

# 长骨液促进骨延长区骨矿化的实验研究

邹培阮默 李主一 李峻辉 翁龙江 周中英 林月秋 孔媛 李光全 靳杭红  
成都军区昆明总医院全军骨科中心 (昆明 650032)

**【摘要】 目的** 观察中药长骨液对骨延长区骨矿化的影响。**方法** 山羊 12 只, 于胫骨上干骺端做成骨延长模型, 分成对照组和中药治疗组, 进行实验, 观察延长区成骨情况。**结果** 内服长骨液组骨延长区 X 线平片平均光密度值、骨密度、以及新骨组织钙含量、灰密度、四环素荧光双标间距等指标均明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。**结论** 中药长骨液具有明显加速骨延长区骨矿化的作用。

**【关键词】** 骨增长 中药 骨矿化

**Experimental Study of the Effect of Zhang Gu Ye on Promotion of Bone Mineralization in Bone Lengthening Region** Orthopedic Center of PLA, Kunming General Hospital of Chengdu Military Region, Kunming (650032) Zou Pei, Ruan Mo, Li Zhuyi, et al

**【Abstract】 Aim** To observe the effect of Chinese medicine Zhang Gu Ye (ZGY) (Bone Growth Fluid) on bone mineralization in bone lengthening region. **Methods** Twelve goats were used to make bone lengthening model in the upper metaphysis of tibia, and then divided into control group and ZGY treated group to examine bone growth in the distracted area. **Results** In ZGY group, the optical density of X-ray film, and the bone density, calcium content and ash density of new bone, and the distance between two fluorescent lines of incorporated tetracycline were significantly increased as compared with those in control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The Chinese medicine, ZGY can obviously play a role in accelerating the bone mineralization in the distracted area.

**【Key words】** Bone lengthening Chinese medicine Bone mineralization

采用中药长骨液来促进骨延长区新骨的再生与成熟。为探讨其对骨延长区新骨矿化作用的影响, 采用山羊胫骨上干骺端骨延长标准模型进行了实验研究。

## 材料与方 法

1. 实验动物及分组: 选用 2~3 岁健康山羊 12 只, 雌雄不拘, 体重 20~26kg。用青粗饲料混合喂养。所有动物随机分成两组, 即对照组 (单纯胫骨延长组), 治疗组 (胫骨延长, 内服中药组)。每组 6 只。再随机分为两个亚组, 每个亚组 3 只动物, 分别在达到最大延长长度后第 3 周、第 6 周处死。

2. 实验方法: (1) 造模: 全部羊术前左后肢剃毛, 以戊巴比妥钠 (30mg/kg) 静脉麻醉后, 按文献报道方法<sup>[1]</sup>造成左胫骨上干骺端标准骨延长模型。术中注意保护骨外膜连续性完整。麻醉清醒后, 任羊自由活动。术后第 7 天开始延长, 延长速度为 1mm/日, 分两次完成。所有动

物延长 22 天。(2) 治疗: 术后第 2 天开始治疗。治疗组每天灌服中药长骨液 1 次 (10ml/kg), 对照组灌服同样剂量生理盐水, 直至处死前 1 天。中药长骨液由昆明大观制药厂根据我们提供的协定处方按标准工艺制成, 每 ml 药液含生药 1g。(3) 四环素荧光双标记: 分别在处死前 14 天, 13 天及 5 天, 4 天浅静脉滴注注射用四环素 (每只用 500mg 四环素加入 500ml 生理盐水中滴注) 作四环素荧光双标记。

3. 标本取材及固定: 实验动物分别达最大延长长度后 3 周、6 周放血处死。处死后立即切取伤肢及健肢胫骨, 剥去附着肌肉, 70% 酒精固定备检。

4. 观测指标及方法:

(1) X 线检查及 X 线片图像分析: 术后 3 天 X 线透视检查截骨处骨端对位情况, 开始延长后 3 天透视检查骨延长情况, 达最大延长长度后 2~6 周, 每周分别摄骨延长区正侧位 X

线片。所有 X 线片统一用 Quantmet970 图像分析系统测量其光密度，并计算出单位面积的平均光密度值。摄片时相误差由图像分析系统作划一处理。

(2) 骨密度检测：用国产 FT-647 型骨矿分析仪，测量离体胫骨延长区及健侧胫骨干骺端相应部位的骨线密度及面密度。分别测量延长区的远段、近端及中央，然后取其平均值。

(3) 骨痂灰密度检测：在延长区同一部位切取骨组织约 1.5cm<sup>3</sup> 大小，去除软组织及髓腔内容物后，根据阿基米德原理测定其体积（精确到 0.0025ml）。然后将标本置于乙醚丙酮 1：1 混合液中脱脂，24 小时更换一次脱脂液，共脱脂 48 小时。置 900℃ 茂福炉中过夜灰化，万分之一电子分析天平称重（Sartorius，西德）。据公式：灰密度 = 灰重 / 骨体积，求得骨痂灰密度值（g/cm<sup>3</sup>）。

(4) 骨痂钙含量测定：准确称取上述灰化样品 0.2g，加入 6N 盐酸和 6N 硝酸（1：4）液中充分消化，亚沸水定溶后，原子吸收分光光度仪（PE3100，USA）测定骨痂钙含量。

(5) 四环素荧光双标间距（Distance between Double Label）及平均矿化沉积率（Mineralization Appositional Rate）测定：分别在延长区相同部位切取新骨组织 2 块，入 1% Villanueva

染色剂中染色 1 周，甲基丙烯酸甲酯包埋，制成不脱钙切片，荧光显微镜下观察（Olympus，日本）。测定四环素双标间距（DDL，μm），并计算出平均矿化沉积率（MiAR，μm/d）。

统计分析：计量资料结果用  $\bar{X} \pm S$  表示，并用“SPMR”医学统计程序包进行统计分析。

### 结 果

1. 骨延长情况：对照组平均延长长度为 19.79 ± 1.17mm，中药治疗组平均延长长度为 19.81 ± 0.78mm，经 t 检验两组延长长度无显著差别（t = 0.025，P > 0.05）。

2. X 线片图像分析结果：治疗组及对照组达最大延长长度后 2~6 周 X 线片图像分析测定平均光密度值结果见表 1。其值越大，说明骨密度越低。

表 1 延长区骨痂平均光密度测量值

	对照组	治疗组
2 周	18002.787 ± 1125.38	12358.598 ± 754.82
3 周	11238.749 ± 905.24	8899.846 ± 998.66△
4 周	10060.275 ± 1391.00	7117.29 ± 831.65*
5 周	9121.308 ± 322.68	6185.877 ± 380.20*
6 周	8655.480 ± 502.53	4946.168 ± 402.56△

\* 与对照组比较 P < 0.05 △ 与对照组比较 P < 0.01

3. 骨延长区骨线密度及面密度值：见表 2。

表 2 延长区骨线密度（BMC）及面密度（BMD）值

	BMC (g/cm)			BMC (g/cm <sup>2</sup> )		
	对照组	治疗组	正常组	对照组	治疗组	正常组
3 周	0.735 ± 0.03▲	1.236 ± 0.12▲△	1.68 ± 0.15	0.368 ± 0.03▲	0.485 ± 0.07△	0.579 ± 0.04
6 周	0.9928 ± 0.14▲	1.745 ± 0.18*☆	1.711 ± 0.08	0.439 ± 0.02▲	0.626 ± 0.08*	0.735 ± 0.14

\* 与对照组比较 P < 0.01 △ 与对照组比较 P < 0.05 ▲ 与正常组比较 P < 0.01 ☆ 与正常组比较 P < 0.05

4. 骨延长区骨痂灰密度值：见表 3。

表 3 延长区骨痂灰密度值（g/cm<sup>3</sup>）

	3 周	6 周
对照组	0.267 ± 0.028	0.35 ± 0.015△
治疗组	0.355 ± 0.042*	0.468 ± 0.015*△

\* 与对照组比较 P < 0.01，△ 与 3 周组比较 P < 0.01

5. 延长区骨钙含量：见表 4。

表 4 延长区骨痂钙含量（mg/g）

	3 周	6 周
对照组	5.598 ± 0.09	6.419 ± 0.02
治疗组	6.145 ± 0.07*	12.554 ± 0.14*△

\* 与对照组比较 P < 0.01，△ 与 3 周组比较 P < 0.01

6. 四环素双标间距（DDL，μm）及平均矿化沉积率（MiAR，μm/d）：见表 5。

表 5 四环素双标间距及平均矿化沉积率

	3 周		6 周	
	对照组	治疗组	对照组	治疗组
DDL, $\mu\text{m}$	10.33 $\pm$ 0.52	16.01 $\pm$ 1.71 *	9.28 $\pm$ 0.58	12.69 $\pm$ 0.80▲ *
MiAR, $\mu\text{m}/\text{d}$	0.90 $\pm$ 0.04	1.09 $\pm$ 0.10 *	0.81 $\pm$ 0.05	1.22 $\pm$ 0.07△ *

\* 与对照组比较  $P < 0.01$     ▲与 3 周组比较  $P < 0.01$     △与 3 周组比较  $P < 0.05$

## 讨 论

1. 骨组织的修复必须经过基质的钙化过程,才能最终演变为骨组织<sup>[2]</sup>。治疗骨折的目的在于恢复受损骨的强度和刚度,使其力学性能接近正常,以适应生理需要。新骨组织的机械强度与基质钙化的程度密切相关。其钙化程度则以骨的矿化程度来衡量。有研究表明,骨矿含量与骨力学性能之间存在着显著的相关性<sup>[3,4]</sup>。因此,骨的矿化程度便作为评价新骨质和量的重要标准之一。在肢体延长术中,延长骨再生修复的骨矿含量的恢复与骨力学性能重建之间也存在着显著的正相关<sup>[5]</sup>。所以,延长区骨矿化程度也就成为评价延长骨质与量的重要标准和拆除外固定的重要参考。从这一意义考虑,加速延长区骨的矿化进程,便可以加速延长骨的成熟,进而缩短治疗周期。

2. 在骨折修复过程中,先由成纤维细胞、软骨细胞及成骨细胞分别合成、分泌基质。基质又通过钙盐沉积而形成钙化软骨和骨组织。基质的钙化必须具备三个条件<sup>[2]</sup>: ①细胞能分泌或形成可钙化的基质小泡; ②能提供基质钙化所必须的钙; ③细胞能合成、分泌可钙化的胶原纤维,并与无机盐紧密结合。因而,设法促进上述各个环节的加快,都将加速骨的矿化,加速骨组织修复的进程,而目前认为,影响骨组织修复最根本的原因是局部血液供应。有资料表明,骨组织修复中力学强度的恢复与局部血管重建及血流率的变化有关<sup>[6]</sup>。骨愈合时,新生血管的长入可将大量的间充质细胞带入缺损区,间充质细胞可进一步转化为成骨细胞,参与骨的形成<sup>[7]</sup>。而且,局部血供的增加,可带入较多的与骨修复有关的因子,从而促进骨组织修复的加速。中药长骨液主要由活血化瘀药(如丹参、土鳖虫、红花等)及补肝肾续筋骨药

(如补骨脂、骨碎补等)组成,具有活血通络、祛瘀生新、接骨续损的作用。这些药物,被认为能增加骨损伤部位的血供,带入骨组织修复需要的材料,并能增强钙的转运能力,使基质小泡及胶原纤维的钙盐沉积增多<sup>[8~10]</sup>,从而加速骨损伤部位的骨组织修复及加速矿化速度,提高矿化质量。本实验结果显示:应用中药长骨液的治疗组骨延长区 X 线片平均光度值,以及新骨组织钙含量、灰密度值、骨线密度、面密度、DDL、MiAR,均高于对照组 ( $P < 0.05$ ),提示:中药长骨液具有促进骨延长区矿化速度及提高矿化质量的作用。

## 参考文献

1. 胡建,李起鸿,曾宪政,等.羊胫骨干骺端骨延长模型的制作.第三军医大学学报,1991,13(6):581
2. 柴本甫,汤雪明.实验性骨折愈合的细胞生物学.中华骨科杂志,1991,11(3):203
3. Carter DR, Hayes WC. Bone compressive strength; the influence of density and strain rate. Science, 1976, 194: 1174
4. Alho A, Husby T, Hiseth A. Bone mineral content and mechanical strength. Clin Orthop, 1988, 227: 292
5. 胡建,曾宪政,李起鸿,等.实验性肢体延长术中的骨矿含量变化.中华外科杂志,1992,30(8):461
6. 王友.骨折愈合过程中的血流动力学变化.中华创伤杂志,1991,7(3):176
7. Shapiro F. Cortical bone repair. J Bone Joint Surg, 1988, 70A(7):106
8. 吴谓昭.试论活血化瘀药加速骨折愈合的理论机制.新中医,1984,(3):55
9. 刘向前,孙之稿,姚又新,等.接骨紫金丹对实验性骨折愈合不同时相骨痂的生物力学性能的影响.中国中医骨伤科,1996,4(6):7
10. 黄伯灵,庞俊,刘永年,等.X线微机图像系统对损伤复元糖浆促进骨折后期骨痂生长情况的定量观察.中国骨伤,1993,6(6):7

(收稿:1997-12-01;修回:1998-03-11)