

骨折端 VIII 因子相关抗原与血流量的实验研究

初同伟¹ 王正国² 朱佩芳² 焦文仓¹ 温建良³

(1. 第三军医大学新桥医院骨科, 重庆 400042; 2. 大坪医院野战外科研究所; 3. 大坪医院)

【摘要】 目的 研究骨折愈合过程中骨折端 VIII 因子相关抗原和血流量变化的规律及其相关性。方法 选用 35 只大耳白兔制作左侧桡骨骨折动物模型, 分别于伤后 8、24、72 h, 1、3、5、8 周利用单光子发射计算机断层显像术 (Single Photon Emission Computerized Tomography, SPECT) 测定骨折端血流量变化, 之后取骨折端标本提取蛋白样本定量检测 VIII 因子相关抗原。结果 骨折端血流量在致伤后 8 h 开始上升, 1 周时达顶峰, 高血流量状态一直维持到第 3 周, 第 5 和第 8 周基本恢复到正常水平; 骨折端 VIII 因子相关抗原在伤后 24 h 开始增高, 骨折后 3 天达到较高的水平, 该状态一直维持到骨折后的第 3 周, 到第 5 周时开始出现较明显的回落, 第 8 周时基本恢复到正常水平。结论 伤后 72 h 骨折端血流量增高与骨折端血管生成有关, 早期的血流量增加可能与骨折后的创伤反应有关。

【关键词】 骨折愈合; 因子 VIII 相关抗原; 血流量

An experimental study of the correlation of blood coagulation factor VIII related antigen and blood flow at the fracture ends CH U Tongwei, WANG Zhengguo, ZHU Peifang, et al. Xinqiao Hospital of Third Military Medical University (Chongqing, 400042, China)

【Abstract】 Objective To study the changing pattern and correlation of blood coagulation factor VIII related antigen and blood flow at the fracture ends in the process of fracture healing **Methods** Thirty five rabbits were selected to establish the fracture model at the left radius; the blood flow was estimated by single photon emission computerized tomography (SPECT) at different intervals (8th, 24th, 72th hour, 1st, 3rd, 5th, 8th week) after fracture, then the specimens were taken to procure protein for assay the changing blood coagulation factor VIII related antigen. **Results** The blood flow began to increase at the 8th hour after fracture and reached the peak on the 1st week; the condition of high blood flow kept to the third week and dropped to normal level at the 5th and 8th week after fracture. Factor VIII related antigen began to increase at the 24th hour after fracture and reached to a higher level at the 72th hour; this state was kept to the 3rd week. The factor VIII related antigen obviously decreased at the 5th week after fracture and dropped to the normal at the 8th week. **Conclusion** The increase of blood flow at fractured sites is related to the angiogenesis after fracture in 72 hours, the increasing of blood flow within 3 days may be related to the traumatic reaction.

【Key words】 Fractures healing; Factor VIII related antigen; Blood flow

血管生成是骨折愈合过程中的重要环节, 研究表明骨折后首先出现骨折部位的血管再生, 骨折端血流量在骨折后也出现有规律的升降。然而, 目前尚不明确骨折端血流量变化与该部位血管生成之间的关系。本实验通过测定伤后不同时间兔桡骨骨折端血流量及 VIII 因子相关抗原变化, 探讨了它们在骨折后的变化规律, 试图揭示两者之间的关系。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备 选用健康大耳白兔 35 只, 体重 2.5~3.0 kg, 雌雄不限。动物随机分为 7 组, 每组 5 只动物。制备左侧桡骨骨折动物模型^[1]。另取 5 只动物仅测定骨折模型制作相应部位的血流量及 VIII 因子相关抗原。

1.2 骨折端血流量的测定及分析 分别于模型制备完毕后的 8、24、72 h, 1、3、5、8 周, 各取一组动物利用 SPECT 测定骨折端血流量变化^[2]。

1.3 组织取材及蛋白样品的制备 各组动物分别

于伤后各时相点处死,取骨折端标本置于 20% EDTA 中 4 ℃ 脱钙 1 周。取脱钙骨组织约 100~ 200 mg 按组织裂解法提取蛋白,用 Bradford 法测定蛋白含量,分装置于 - 20 ℃ 保存备用。

1.4 骨折端 VIII 因子相关抗原表达的 Western 免疫印记分析 聚丙烯酰胺凝胶电泳采用 4% 浓缩胶、12% 分离胶,上样量 60 μg,电压 100 V。电泳结束后取出凝胶,和相同大小的 PVDF 膜置于三层滤纸中间,放入转移槽中,80 mA 转膜 15 h。取出 PVDF 膜放入 1% BSA/PSBT 37 ℃ 封闭 2 h,加鼠抗兔一抗、羊抗鼠 IgG HRP 二抗杂交,化学发光试剂中反应至条带显现,然后在暗室中使 X 线片曝光,常规方法显影定影。

1.5 Western Blot 实验结果分析 实验共对 5 个骨折端蛋白样本进行检测。将 X 线片置于 Gel Doc 2000 图象分析系统,测定目的条带的平均光密度值 (ODU/mm²),并将 5 次实验结果的平均值作为蛋白

表 1 两组动物伤后骨折端血流量变化(为骨折端放射性计数与健侧对应部位放射性计数之比)

伤后时间	8 h	24 h	72 h	1 周	3 周	5 周	8 周
对照组	1.0 ± 0.17	1.0 ± 0.17	1.0 ± 0.17	1.0 ± 0.17	1.0 ± 0.17	1.0 ± 0.17	1.0 ± 0.17
实验组	1.81 ± 0.12	2.14 ± 0.15	1.95 ± 0.09	2.53 ± 0.13	1.90 ± 0.08	1.10 ± 0.13	1.0 ± 0.10
P 值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	> 0.05	> 0.05

表 2 两组动物伤后骨折端 VIII 因子相关抗原蛋白比较 (n = 5 单位: ODU/mm²)

伤后时间	8 h	24 h	72 h	1 周	3 周	5 周	8 周
对照组	11.16 ± 0.77	11.16 ± 0.77	11.16 ± 0.77	11.16 ± 0.77	11.16 ± 0.77	11.16 ± 0.77	11.16 ± 0.77
实验组	12.45 ± 0.45	14.28 ± 0.41	25.69 ± 0.57	22.47 ± 0.47	25.94 ± 0.16	20.29 ± 0.35	10.85 ± 0.61
P 值	> 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	> 0.05

3 讨论

研究表明,骨折后首先出现血管的再生,同时伴有骨折端血流量的改变。Mohanti^[3]对骨折愈合后进行的病理观察发现,骨折后血管自第 3 d 起开始增生、发芽,2 周时达高峰;利用不同方法对骨折端血流量进行的定量分析显示,伤后骨折端血流量呈现出有规律的升高。McCCarthy 等^[4]和 Chidgy 等^[5]都报道人胫骨干骨折后 1~ 2 周血流量达到最高峰,但 McCCarthy 测得骨折 2 周时局部血流量高于正常对照组 5 倍,Chidgy 得出的数据却达正常对照组的 19 倍。而 Ashcrott 等^[6]采用正电子发射 X 线断层照相术,以¹⁵O 标记的水测量了人胫骨中段骨折后血流量,结果证实伤后 24 h 血流量即增加,2 周时是正常对照的 14 倍。血管重建及良好的血供对骨折愈合有重要意义^[7],然而目前尚不明确骨折端血管生成的变化规律及其与骨折部位血流量改变之间的关系。

含量的相对值。

1.6 统计学处理 蛋白含量检测结果以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,并采用 Microsoft Excel 统计分析软件系统进行 t 检验分析。

2 结果

2.1 血流量变化 利用 SPECT 对对照组和应用 VEGF 组进行的血流量测定发现:对照组骨折端血流量伤后 8 h 既出现明显的上升,达到正常的 1.31 倍,到 1 周时达顶峰,为正常的 2.11 倍,高血流状态一直维持到骨折后的第 3 周,到第 5 周时基本恢复到正常值,详见表 1。

2.2 VIII 因子相关抗原变化 骨折端 VIII 因子相关抗原表达进行的统计分析显示,其在骨折后 24 h 开始增高,伤后 3 d 已经达到较高的水平,该状态一直维持到骨折后的第 3 周,到第 5 周时开始出现较明显的回落,第 8 周时基本恢复到正常水平,详见表 2。

VIII 因子相关抗原存在于血管内皮细胞,被认为是血管最特异的标记物而被用作血管的标记及定量研究^[8,9],因此其含量直接反应了骨折端血管的含量情况。对动物骨折端该因子的定量研究反应出骨折后 3 d 已经出现血管的生成,1~ 3 周达到峰值,5 周后增生的血管开始退化,到 8 周时基本恢复到正常水平。表明骨折后局部的血管生成并非无节制的增生,其生成达到一定程度后会自动停止,并且使过度增生的血管退化。进一步证实了血管形成包括一个相互调节的网络系统,受许多正向与负向调节信号之间平衡的严密调控。由于 SPECT 对局部血流量的高灵敏性,目前在临床及实验研究中已被广泛应用于评价某一部位血流量情况^[10,11]。

将骨折端血流量与代表血管生成情况的 VIII 因子相关抗原测定结果比较发现,骨折端高血流状态与血管生成的高峰期时间一致,在血管出现退化的第 5 周,骨折端血流量也出现减少,第 8 周两者都恢复到

正常水平。表明在该时间内骨折端血流量与骨折端血管量有关。而在伤后 8 h 尚新生血管生成期间,骨折血流量也出现了明显的增高,推测可能与创伤导致的炎性反应有关。

参考文献

- 1 初同伟,王正国,朱佩芳,等.骨折愈合过程中 VEGF 及其受体的表达.中华创伤杂志,2001,17(6):66-69.
- 2 初同伟,王正国,朱佩芳,等.骨折愈合过程中骨折端血流量变化及其与病理变化关系的实验研究.第四军医大学学报,2001,11(22):995-997.
- 3 Mohanti RC. Vascular response in fractured limbs with and without immobilization: An experimental study on rabbits. Int Orthop, 1983, 7: 173-177.
- 4 McCarthy ID, Hughes SP. The role of skeletal blood flow in determining the uptake of 99mTc methylene diphosphonate. Calcif Tissue Int, 1983, 35(4-5): 508-511.
- 5 Chidgey L, Chakkalakal D, Blotcky A, et al. Vascular reorganization and return of rigidity in fracture healing. J Orthop Res, 1986, 4(2): 173-179.

- 6 Ashcroft GP, Evans NTS, Roeda D, et al. Measurement of blood flow in tibial fracture patients using position emission tomography. J Bone Joint Surg (Br), 1992, 74(B): 673-677.
- 7 Rowe NM, M ehrara BJ, Luchs JS, et al. Angiogenesis during mandibular distraction osteogenesis. Ann Plast Surg, 1999, 42(5): 470-475.
- 8 Gervaz P, Scholl B, Padrun V, et al. Growth inhibition of liver metastases by the antiangiogenic drug TNP 470. Liver, 2000, 20(2): 108-113.
- 9 Cao Y, O Reilly MS, Marshall B, et al. Expression of angiostatin cDNA in a murine fibrosarcoma suppresses primary tumor growth and produces long term dormancy of metastases. J Clin Invest, 1998, 101: 1055-1063.
- 10 Satoh H, Kurisu K, Ohtani M, et al. Cerebral fat embolism studied by magnetic resonance imaging, transcranial Doppler sonography and single photon emission computed tomography: Case report. J Trauma, 1997, 43(2): 345-348.
- 11 Stodilka RZ, Kemp BJ, Prato FS, et al. Importance of bone attenuation in brain SPECT quantification. J Nucl Med, 1998, 39(1): 190-197.

(收稿:2002-05-15 编辑:李为农)

•手法介绍•

折顶手法整复儿童尺桡骨远端掌背重叠移位骨折

The treatment of overlap displaced fracture of the distal ulna and radius with manipulation

赵龙 沈保英

ZHAO Long, SHEN Baoying

【关键词】 骨折; 正骨手法 【Key words】 Fractures; Bone setting manipulation

我科自 1998 年至今采用以近折端为支点,折顶复位,前臂 U 形石膏夹外固定,治疗儿童尺桡骨远端掌背重叠移位骨折 36 例,效果满意,现报告如下。

1 临床资料

本组 36 例,男 27 例,女 9 例;年龄 3~10 岁。伤后就诊时间 30 min~3 d。均为闭合性骨折,无合并其它部位骨折及血管神经损伤。X 线表现为尺桡骨远端双骨折,为横形、短斜形;远侧骨折端向背侧移位并重叠畸形,重叠程度 0.5~1.5 cm。

2 治疗方法

2.1 手法复位 患儿取坐位或仰卧位,坐位时肩关节前屈,肘关节屈曲 90°;仰卧位时肩关节外展适当角度,前臂中立位。一助手固定前臂骨折近端,术者两手拇指并排置于骨折远端背侧。其余四指环抱前臂掌侧,轻轻牵引下按压远近端向掌侧加大成角,移位大者可折成 90°成角,感断端骨皮质对顶后,突然反折并轻度向背侧成角触摸复位满意后轻轻牵引使骨折断端恢复平直,行石膏固定。

2.2 石膏固定 维持牵引下自掌横纹至肘下予 U 形石膏夹

固定。患肢取前臂旋转中立位,颈肘吊带悬于胸前。复查 X 线片,如不满意,以上法再次重复,直到复位良好。

3 治疗结果

1 次复位成功 31 例,2 次复位成功 5 例。解剖复位 29 例,近解剖复位 5 例,功能复位 2 例。骨折临床愈合时间 3~5 周,平均 26 d。经 5 个月~3 年随访,患肢外观无畸形,前臂旋转、腕关节活动功能均正常。

4 讨论

儿童尺桡骨骨折,其骨折线几乎均在同一平面上,表现为横形或短斜形,而粉碎型、长斜形或螺旋形极为少见。另外,儿童尺桡骨骨折复位后断端相当稳定,很少错位,适合手法整复。

完全移位的远端骨折,因其背侧的骨膜完整,骨端不易牵开。故单纯牵引及提按手法无法使骨折复位,甚至越牵引复位越困难。折顶复位法应用杠杆原理产生的复位力大,符合复位要求,折顶手法应用在复位过程中,反方向地还原了受伤过程,符合“逆创伤机制复位”的原理,是整复本型骨折的有效方法。U 形石膏夹剪开处恰在桡骨茎突顶部,石膏长度自掌横纹至肘下,以便肘关节和手指的充分活动。

(收稿:2001-09-29 编辑:李为农)