

千金骨康散对大鼠胫骨骨折模型的影响

张妙红¹, 姜德建¹, 孙美珍¹, 刘逆夫², 易金阳¹, 孙军¹, 胡玉¹, 曾贵荣^{1,3*}

(1. 湖南省药物安全评价研究中心, 长沙 410331; 2. 株洲千金药业股份有限公司, 湖南 株洲 412000;
3. 北京协和医学院 药用植物所, 北京 100193)

[摘要] **目的:**研究大鼠胫骨骨折模型评价千金骨康散对骨折的治疗作用。**方法:**雄性SD大鼠40只,除正常组10只外,其余30只大鼠采用2%戊巴比妥钠腹腔麻醉,无菌操作于左下肢胫骨粗隆下约1 cm处,以骨剪横向将胫骨剪成3 mm宽,2 mm深的骨缺损,建立胫骨骨折模型,将造模大鼠随机分为3组,分别为模型组,千金骨康散低、高剂量组(0.35, 0.7 g·kg⁻¹),各组分别*ig*给药,给药体积为15 mL·kg⁻¹,每天1次,连续给药21 d。实验末次给药后对大鼠左侧胫骨X射线成像,采血进行血液流变检测、取胫骨骨痂部位进行组织病理学检查。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠有内外轻度骨痂的改变,有错位现象,大鼠血液黏度明显升高,大鼠骨折后骨痂部位组织病理学变化较为明显;与模型组比较,X成像显示千金骨康散低、高剂量能明显促进骨折愈合($P < 0.05$, $P < 0.01$),高剂量能明显降低大鼠胫骨骨折模型血液黏度($P < 0.05$);千金骨康散低、高剂量能明显改造大鼠骨折后骨痂部位组织病理学变化($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:**千金骨康散对大鼠胫骨骨折具有一定的促愈合作用。

[关键词] 千金骨康散; 胫骨骨折模型; 血液黏度

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)03-0151-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017030151

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161107.1521.058.html>

[网络出版时间] 2016-11-07 15:21

Effect of Qianjin Gukang Powder on Tibia Fracture Model of Rats

ZHANG Miao-hong¹, JIANG De-jian¹, SUN Mei-zhen¹, LIU Ni-fu², YI Jin-yang¹,
SUN Jun¹, HU Yu¹, ZENG Gui-rong^{1,3*}

(1. Hunan Center for Drug Safety Evaluation, Changsha 410331, China;

2. Zhuzhou Qianjin Pharmaceutical Co. Ltd., Zhuzhou 412000, China;

3. Institute of Medicinal Plant, Beijing Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To study the Effect of Qianjin Gukang powder on tibia fracture model of rats. **Method:** Forty male SD rats with weight between 180-220 g, were selected. Except for the 10 rats in normal control group, the rest of 30 rats were injected with 2% pentobarbital sodium for anesthesia. Under aseptic conditions, the left lower limb tibia was cut at about 1 cm below tuberosity with bone shear to make 3 mm-wide and 2 mm-deep bone defect, so as to establish the tibia fracture model. The model rats were randomly divided into three groups, namely model group, and Qianjin Gukang powder low and high-dose groups (0.35, 0.7 g·kg⁻¹). Each group was respectively given drugs, with the dosing volume of 15 mL·kg⁻¹, one time a day, for 21 days in a row. After the final administration, efforts were made to make X-ray imaging for the left tibia, collect blood for blood rheological test, and take the tibia bone scabs parts for histopathological examination. **Result:** Compared with normal group, model group showed mild callus changes, malposition, significantly increase in blood viscosity, and

[收稿日期] 20150907(023)

[基金项目] 湖湘青年科技创新创业人才基金项目(2014)

[第一作者] 张妙红, 硕士, 助理研究员, 从事毒性病理学研究, Tel:0731-83285166, E-mail: zhangmiaohong@hnse.org

[通讯作者] * 曾贵荣, 硕士, 助理研究员, 从事神经药理与毒理学研究, Tel:0731-83285166, E-mail: zengguirong@hnse.org

obvious pathological changes in fracture callus parts. Compared with model group, X-ray imaging showed Qianjin Gukang powder low and high-dose groups could obviously promote the fracture healing ($P < 0.05$, $P < 0.01$), high-dose group could obviously reduce blood viscosity of rat tibia fracture model ($P < 0.05$); both Qianjin Gukang powder low and high-dose groups can significantly transform histopathological changes in callus parts after fracture ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Qianjin Gukang powder has a certain effect on promoting healing of rat tibia fractures.

[Key words] Qianjin Gukang powder; fracture model; blood viscosity

骨折是骨的连续性及完整性遭到破坏,大多数骨折都伴随着骨损伤,导致骨不愈及延迟愈合。骨折愈合是复杂的组织学,生物学,内分泌学及生物力学的动态过程,胫腓骨干骨折是骨创伤中最常见的骨折之一。中药治疗骨折愈合已在临床实践中证明有一定的优势,中医认为“跌打损伤皆瘀血在内而不散也,血不活则瘀不能去,瘀不去则折不能续”,肝失血养则骨折愈合得较为缓慢^[1]。因此采用正骨配合具有活血通络、补肾强骨功效的中药配伍进行治疗,千金骨康散主要由补骨脂、淫羊藿、白芍、黄芪、当归等中药组成,具有活血通络,理气止痛的功效。用于治疗骨折及软组织损伤之血瘀证。前期实验研究表明千金骨康散对骨质疏松性骨折具有良好的治疗效果,对骨细胞生长具有重要的促进作用^[2]。但对外伤骨折是否有效未被见报道,因此本研究主要观察千金骨康散对大鼠胫骨骨折模型的治疗作用,为进一步开发提供实验基础。

1 材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 40 只,SPF 级,体重 180 ~ 220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,实验动物合格证号 SCXK(湘)2011-0003;在湖南省药物安全评价研究中心屏障环境 B 区实验室饲养,实验动物使用许可证号 SYXK(湘)2010-0008,所有动物实验研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。实验期间环境温度 20 ~ 26 °C,湿度 40% ~ 70%。

1.2 药物及试剂 千金骨康散(湖南株洲千金药业股份有限公司,批号 20140420,性状:黄色粉末,临床拟用剂量:5 g 生药/日,3 次/日),戊巴比妥钠(德国 Merck 公司,批号 130315),氯化钠注射液(安徽双鹤制药有限责任公司,批号 140218),甲醛(西陇化工股份有限公司,批号 130523)。

1.3 仪器 AUY220 型分析天平(日本岛津公司),柯达 72 型 X 光机(柯达公司),LG-R-80F 型血液黏度仪(北京中勤世帝有限公司生产),LD4 型离心机(北京医用离心机厂),LABOSPECT003 型自动生化

分析仪(日本日立公司生产);RM2235 型石蜡切片机,TP1020 型全自动脱水机,HI1220 型烤片机,HI1210 型摊片机,EG1150H + C 型组织包埋机及 DFC 420C 型病理成像系统(德国 Leica 公司)。

2 方法^[3-8]

2.1 造模与分组 SD 大鼠 40 只,除正常组 10 只外,其余 30 只大鼠采用 2% 戊巴比妥钠腹腔麻醉,左下肢去毛,皮肤常规消毒,于左下肢胫骨粗隆下外侧纵行切开皮肤 1.5 ~ 2 cm,分离肌肉,避开血管神经,暴露胫骨,在胫骨粗隆下约 1 cm 处,以骨剪横向将胫骨剪成 3 mm 宽,2 mm 深的骨缺损,逐层缝合,将造模合格的大鼠随机分为 3 组,分别为模型组、千金骨康散低、高剂量组(0.35,0.7 g·kg⁻¹),正常组和模型组给予等体积的蒸馏水,其余各组灌胃(ig)给药,给药体积为 15 mL·kg⁻¹,每天 1 次,连续给药 21 d。

2.2 检测指标

2.2.1 左侧胫骨 X 光成像检测 并进行胫骨评分 评分标准为①错位:已缺损胫骨无错位(包括错位 < 0.1 cm)1 分;有错位(包括骨折断端错位未超过其断端的 1/2 或骨折端轻度成角)0 分。②骨折缝:已缺损胫骨骨折缝部分模糊或消失 1 分;有骨折缝 0 分。③连接:已缺损胫骨骨折断端连接为一整体 1 分;未连接 0 分。④腓骨:腓骨未断裂或断裂后连接 1 分;腓骨断裂 0 分。⑤愈合:已缺损胫骨未愈合(无内外骨痂或骨折缝依旧)0 分;骨折愈合(有内外轻度骨痂改变,同时骨折缝变浅或模糊)1 分。

2.2.2 血液流变学检测 采用血黏度仪对血液进行血液流变学检测。

2.2.3 HE 染色观察病理组织变化 取大鼠胫骨骨痂部位,10% 甲醛溶液固定,去掉软组织,20% 甲酸脱钙,石蜡切片,HE 染色,观察骨痂组织学的变化。判断标准:断端软骨细胞骨化小于 50% (+),断端软骨细胞骨化 50% (++) ,断端软骨细胞骨化大于 50% (+++)。

2.3 统计学分析 统计学资料采用 SPSS 16.0 软

件进行统计处理,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较方差齐时用单因素方差分析,两两比较,采用 t 检验,等级资料采用非参数检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠胫骨骨折愈合的影响 给药后模型组动物部分动物有内外轻度骨痂的改变,有错位现象 ($P < 0.01$);千金骨康散高剂量组动物少量错位,缺损胫骨骨折断端连接为一整,部分骨痂填满骨缺损,骨折愈合评分与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。见表 1,图 1。

表 1 千金骨康散对大鼠胫骨骨折愈合的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Qianjin Gukang powder on daughter bone health impact on tibial fracture healing of rats ($\bar{x} \pm s$)

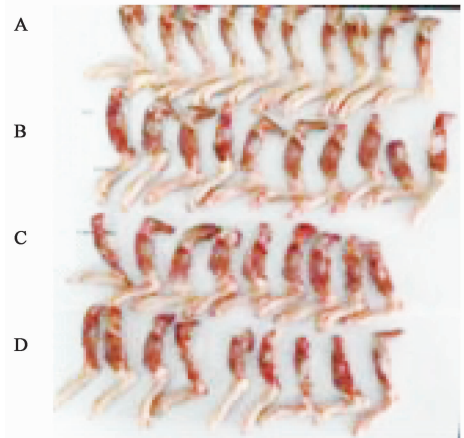
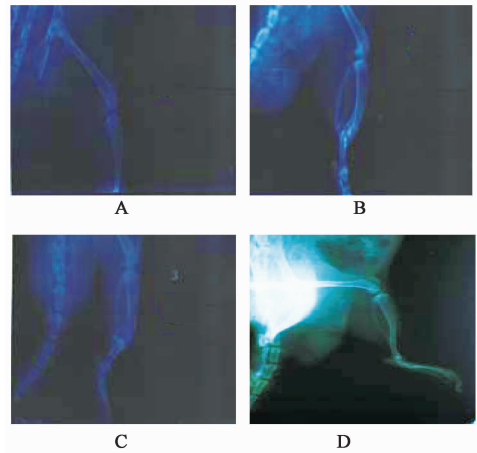
组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	评分/分
正常	-	10	0 ²⁾
模型	-	10	1.2 ± 0.7
千金骨康散	0.35	9	1.8 ± 0.4 ¹⁾
	0.7	9	1.9 ± 1.0 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2,3 同)。

3.2 对大鼠胫骨骨折模型血液流变学的影响 与正常组比较,模型组动物血液黏度均明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较,千金骨康散高剂量能明显降低大鼠胫骨骨折模型血液黏度 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对大鼠胫骨骨折模型组织病理学的影响 千金骨康散组缺损处有较多骨痂形成,千金骨康散低剂量组骨痂部位主要为软骨细胞,含少量的纤维结缔组

织;千金骨康散高剂量组骨痂部位主要为软骨细胞。千金骨康散低、高剂量组能明显促进大鼠胫骨骨折模型愈合 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 2 及表 3。



A. 正常组;B. 模型组;C. 千金骨康散 0.35 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;D. 千金骨康散 0.7 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 大鼠胫骨骨折 X 光片及解剖照片

Fig. 1 Rat tibia fracture X-ray radiography and anatomy of photo

表 2 千金骨康散对大鼠胫骨骨折模型血液黏度的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Qianjin Gukang powder on scattered tibia fracture model of rat blood viscosity ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	全血黏度				血浆黏度
			$200 \cdot \text{s}^{-1}$	$30 \cdot \text{s}^{-1}$	$5 \cdot \text{s}^{-1}$	$1 \cdot \text{s}^{-1}$	
正常	-	10	3.90 ± 0.37 ¹⁾	5.65 ± 0.65 ¹⁾	11.09 ± 1.23 ¹⁾	28.28 ± 3.47 ¹⁾	1.27 ± 0.11 ¹⁾
模型	-	10	4.33 ± 0.57	6.32 ± 0.89	12.51 ± 1.90	32.20 ± 5.24	1.79 ± 0.96
千金骨康散	0.35	9	4.34 ± 0.26	6.41 ± 0.42	12.86 ± 0.95	33.50 ± 2.78	1.47 ± 0.23
	0.7	9	3.86 ± 0.40 ¹⁾	5.59 ± 0.65 ¹⁾	10.95 ± 1.47 ¹⁾	27.91 ± 4.26 ¹⁾	1.34 ± 0.47 ¹⁾

4 讨论

骨折是临床常见病、多发病,其愈合是一个相对缓慢的过程,往往需经过长时间的固定制动,甚至手术治疗才能达到相对满意的效果。中医药在治疗骨折方面具有一定的优势及潜力,已经成为广泛采用的治疗骨折的重要手段。中医药从改善血液循环,

对水肿的作用,促进钙盐的沉积,提高骨痂的生物力学性能,促进基质胶原的合成,提高成骨细胞的活性,提高微量元素的含量,刺激骨生长因子的分泌与合成等方面促进骨折的愈合。骨折愈合过程大体可分为 5 个阶段^[9],主要为骨损伤早期、水肿形成期、肉芽组织形成期、纤维骨痂形成期、骨重建和塑型

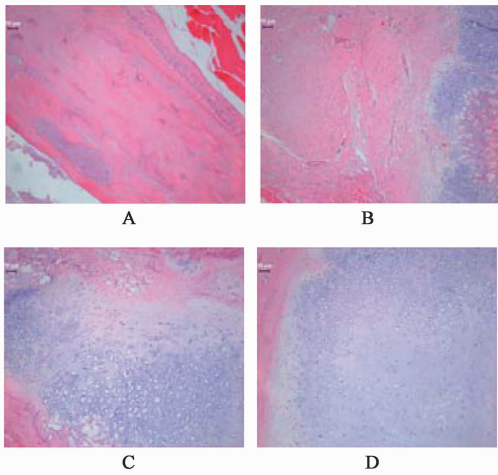


图 2 大鼠胫骨骨痂部位组织病理学图片(HE, ×200)
Fig. 2 Rat tibia bone scabs histopathology images(HE, ×200)

表 3 千金骨康散对大鼠胫骨骨折愈合组织病理学检查的影响
Table 3 Effect of Qianjin Gukang powder on scattered tibial fracture healing of rat histopathological examination

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	断端软骨细胞			P
			+++	++	+	
正常	-	10	0	0	0	- ²⁾
模型	-	10	1	6	3	0.01
千金骨康散	0.35	9	4	5	0	0.04 ¹⁾
	0.7	9	6	3	0	0.01 ²⁾

期。在骨折愈合的过程中,以上各期交叉重叠、连续不断。血液流变学是反映血液循环系统内在环境,同时也是判断血瘀程度的客观指标,骨折以后一方面由于局部血管损伤形成水肿,另一方面肢体血流量下降,组织产生缺血、缺氧、乳酸蓄积,引起血液黏稠度增加,极易出现血液循环障碍和炎性物质渗出,而骨折的愈合需要有良好的微循环和丰富的血运^[10-13]。本研究主要观察千金骨康散对大鼠胫骨骨折模型的治疗作用,为进一步临床应用提供理论基础。结果表明,千金骨康散能明显能明显促进骨折愈合,降低大鼠胫骨骨折模型血液黏度,千金骨康散对大鼠胫骨骨折具有一定的促愈合作用。

[参考文献]

[1] 刘志刚. 影响胫骨骨折愈合的因素分析[J]. 中国医师杂志, 2002, 4(7): 748-749.
 [2] 李志辉, 王兴永, 韦玉玲, 等. 骨康方促进骨质疏松性骨折愈合机理[J]. 中医临床研究, 2014, 6(1): 1-2.
 [3] 张猛, 魏俊强, 段建伟, 等. 外固定架制作兔股骨骨折模型[J]. 中国临床研究, 2016, 29(5): 685-686.
 [4] 沈霖, 林燕萍, 王拥军. 骨伤科实验研究[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2005: 384.
 [5] 张万强, 刘建清, 王莹, 等. 钻孔法制造大鼠胫骨缺损性骨折动物模型初探[J]. 中国骨伤, 2012, 25(6): 509-511.
 [6] Tufts G. New treatment approach for osteopenia[J]. J Midwifery Womens Health, 2011, 56(1): 61-67.
 [7] Mashiba T, Iwata K, Komatsubara S, et al. Animal models for bone and joint disease. Animal fracture model and fracture heal-ing process[J]. Clin Calcium, 2011, 21(2): 235-241.
 [8] 王力, 郑甦, 杨风云, 等. 壮筋续骨汤促进大鼠胫骨骨折愈合[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(20): 3678-3681.
 [9] 秦军志, 王贤傲. 丹参对大鼠胫骨骨折早期愈合过程中血清、骨痂及骨组织中钙、锌、铜的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1992, 12(6): 354-356.
 [10] 牛恒立, 赵国彪, 马中兴, 等. 接骨丹对大鼠骨缺损愈合疗效的影像学研究[J]. 西部中医药, 2016, 5(5): 124-126.
 [11] 庄林波, 王立胜, 余非, 等. 茶多酚的抗氧化作用对大鼠骨折愈合的影响研究[J]. 实用骨科杂志, 2016, 22(1): 33-34, 90.
 [12] 王羿, 何先游, 苏军. 布依药鹿角壮骨煎液对大鼠骨折模型愈合的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2014, 3(31): 260-263.
 [13] 牛恒立, 赵国彪, 马中兴, 等. 接骨丹对大鼠胫骨骨折愈合疗效的影像学研究[J]. 西部中医药, 2015, 28(8): 175-176.

[责任编辑 周冰冰]