

丹参注射液对骨折愈合中钙沉积的影响

上海市伤骨科研究所基础理论研究室

张菊英 刘季兰 柴本甫

内容提要 本文通过 ^{45}Ca —液闪测定, 观察正常小鼠股骨及胫骨 ^{45}Ca 沉积的情况及丹参对小鼠右股骨中段骨折后 ^{45}Ca 沉积的影响。发现正常小鼠, 左右骨相应部位钙沉积相似; 右股骨中段骨折后, 生理盐水组与丹参组小鼠的中段股骨钙沉积不断升高, 而股骨上、下二段反而下降, 丹参组下降更显著。说明丹参可以从邻近骨组织中调动比生理盐水组更多的钙, 以更好地满足新骨形成对钙的需要, 从而使骨折愈合加速。

钙盐沉积是骨折愈合过程中必不可少的重要步骤, 是不同于其它结缔组织创伤愈合的独特之处。在以前的实验中, 通过X线检查及电子显微镜观察已证实^①: 骨折愈合时, 活血化瘀药丹参, 可以产生有利于钙盐沉积的影响。为了进一步了解丹参在骨折愈合中的作用机理, 我们选择了 ^{45}Ca 沉积量作指标, 进行了探索。

材料与方法

实验共用成年雄性健康小白鼠 54 只, 体重 25~35g, 分三组。

一、正常组(13只): 测定左右股骨及右胫骨上、中、下三段的放射活性。

1. 每只小鼠经尾静脉注射 0.2ml 无载体 ^{45}Ca —氯化钙溶液(相当 0.8 微居里)。

2. 注射 ^{45}Ca —氯化钙后 30 分钟、6 小时从小鼠眼底采血 50 μl , 至 48 小时, 用断头法处死, 并迅速采集 50 μl 血标本。将三个血标本, 置入三只闪烁杯中。

3. 取下小鼠两后肢, 剥去皮肤, 放入 10% 中性福尔马林液中固定 24 小时。

4. 经固定的肢体, 用自来水冲洗, 然后解剖左右股骨及右胫骨, 并按股骨小粗隆下 1 mm 处及股膝关节面上缘以上 1 mm 处, 把股骨分为上、中、下三段。胫骨按腓骨与胫骨联接点下 1 mm 处以及联接点到胫骨上关节面的中点分为三段, 所有骨标本分别置入闪烁杯中称重。

5. 每只含血标本及骨标本的闪烁杯加入 0.1ml 60% 高氯酸(HClO_4)和 0.2ml 30% 过氧化氢(H_2O_2) 摇匀后置入 75 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴锅内消化一小时。

6. 每只消化标本冷却后, 加 1% 丁基—PBD 闪烁液 6 ml, 溶剂剂乙二醇乙醚 4 ml。

7. 经制备的样品一律用国产“YSJ—1”液体闪烁仪测定其放射活性, 再经效率、衰变系数及体重校正为 dpm, 其计算公式如下: 骨组织钙沉积量(dpm) = $\frac{\text{CPM} - \text{本底}}{E \cdot f}$ 单位骨组织钙沉积量(dpm/mg) = $\frac{\text{cpm} - \text{本底}}{E \cdot f} \times \frac{\text{动物体重}}{30\text{g} \times \text{标本重}}$ (注: E 为测定效率 f 为 ^{45}Ca 衰变系数 30g 为动物标准体重)

二、骨折生理盐水组(19只): 测定右股骨骨折后, 左右股骨及右胫骨上、中、下三段的放射活性。

在乙醚麻醉下, 用自制骨折器造成小鼠右股骨中段闭合骨折。以骨折当天开始, 每只小鼠, 每天灌喂 0.5ml 生理盐水。所有小鼠在骨折后 5、7、9、13 天分批处死。处死当天不灌喂。处死前 48 小时, 每只小鼠经尾静脉注射同一批号 0.2ml ^{45}Ca —氯化钙溶液。所有标本的采集、消化、测定均与正常组相同。

三、骨折丹参组(22只): 测定右股骨骨折后, 丹参对左右股骨及右胫骨上、中、下三段钙沉积的影响。

除每天灌喂丹参注射液 0.5ml (上海第一制药厂生产, 批号: 820114), 骨折丹参组与骨折生理盐水组的处理完全相同)。

结 果

一、正常组: 正常小鼠股骨上、中、下三段及股骨总的 dpm 分别为: 24,692 $\pm$ 3,301, 15,265 $\pm$ 2,225, 54,645 $\pm$ 8,259, 及 94,601 $\pm$ 12,850 ($M \pm SD$)。正常小鼠右胫骨总 dpm 为 72,362 $\pm$ 9,642, 而其上、中、下三段 dpm 分别为 55,312 $\pm$ 7,023, 9,232 $\pm$ 3,064, 8,449 $\pm$ 2,030 ($M \pm SD$), 同一小鼠左右两股骨上、中、下三段及总股骨的钙沉积量经统计处理均无显著意义($p > 0.05$)。

二、骨折生理盐水组：小鼠右股骨中段骨折后，将左右两股骨上、中、下三段及总股骨dpm的差值作图（见附图）

由此可看出，钙沉积在骨折后的不同时期，不同部位是不相同的。在整个实验期间，股骨总的钙沉积量与股骨中段钙沉积量的趋势是一致的。随时间推移，骨折部位新骨迅速形成，钙沉积也趋增加，到13天达最大值。经统计处理，除第五天总股骨外，所有其它时间的总股骨及所有时间股骨中段dpm差值差异均有非常显著的意义（表1）。

表1 右股骨骨折后生理盐水组小鼠左右两股骨上、中、下三段及总股骨dpm差值自体比较

组 织	天 数	差值均数 (左-右)	T 测 验	P 值
股上段	5	-2560	0.8475	>0.05
	7	-6960	-2.6089	>0.05
	9	-911	0.4239	>0.05
	13	3944	1.8690	>0.05
股中段	5	25767	5.0100	<0.01
	7	68510	20.0666	<0.01
	9	89290	9.8254	<0.01
	13	324110	12.5746	<0.01
股下段	5	-12451	-2.5239	>0.05
	7	-2570	-0.5124	>0.05
	9	-1568	-0.4075	>0.05
	13	9202	1.3355	>0.05
总股骨	5	10755	1.0736	>0.05
	7	58980	9.2676	<0.01
	9	86810	9.6379	<0.01
	13	337254	10.8090	<0.01

这说明骨折后的右股骨中段，有大量的钙沉积。相反右股骨上、下二段与健侧比较，放射活性反而减少，差值出现负数，说明离开骨折部位的右股骨上、下二段的钙沉积反而减少。随时间推移到骨折第13天，左右股骨上段下段dpm差值由原来负数变为正数，提示钙沉积减少情况得到纠正。但经统计处理，差异无显著意义（ $p>0.05$ ）。右股骨骨折以后，右胫骨总dpm均趋下降。而且除第五天外，差异均有显著性意义。其上、中、下三段的dpm也均趋下降，但是以上段更为明显，除第五天外，差异也都有显著或非常显著性意义（表2）。说明右股骨中段骨折以后，不仅其上下二段的钙沉积减少而且同侧胫骨的钙沉积也同时减少。

三、骨折丹参组：使用丹参后，右股骨骨折后的

表2 右股骨骨折后，生理盐水组及丹参组同正常小鼠右胫骨上、中、下三段及总dpm比较

组 织	天 数	M	骨折生理盐水组		骨折丹参组	
			M ₁	P ₁ 值	M ₂	P ₂ 值
胫上段	0	55312				
	5		50713	>0.05	53698	>0.05
	7		38592	<0.01	40279	<0.01
	9		44617	<0.01	47239	<0.05
	13		45070	<0.05	43568	<0.01
胫中段	0	9232				
	5		8536	>0.05	8397	>0.05
	7		9914	>0.05	9228	>0.05
	9		8059	>0.05	8520	>0.05
	13		10350	>0.05	8885	>0.05
胫下段	0	8449				
	5		6653	>0.05	8472	>0.05
	7		6840	>0.05	6042	<0.05
	9		8481	>0.05	7547	>0.05
	13		5766	<0.05	5656	<0.01
总胫骨	0	72362				
	5		65902	>0.05	70549	>0.05
	7		55346	<0.05	55549	<0.01
	9		61157	<0.05	63306	<0.05
	13		61186	<0.05	58109	<0.01

不同时间，不同部位，钙沉积速度也不相同（附图、表3）。

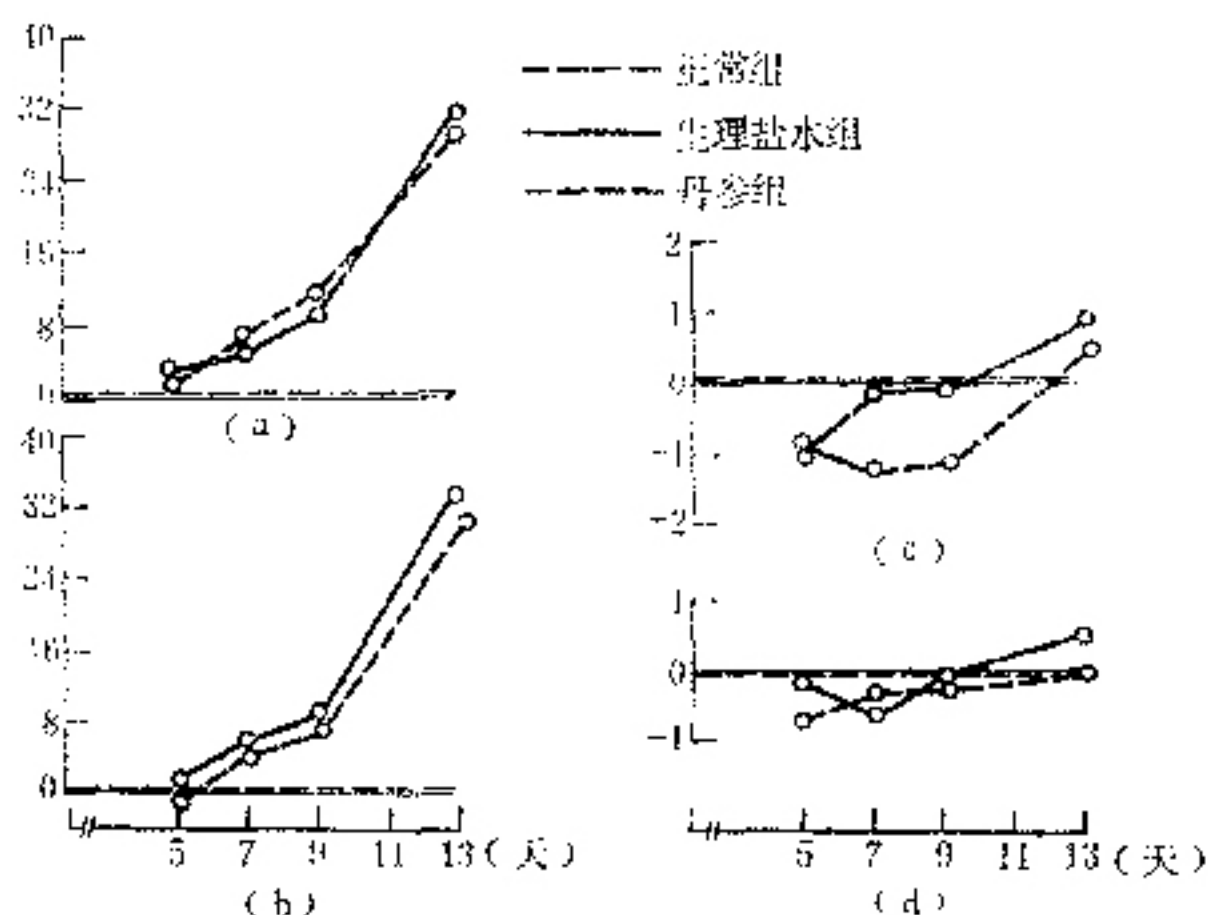
从表3看出，在整个实验期间，股骨总的钙沉积量与股骨中段钙沉积量的趋势是一致，并随时间而不断增加，至第13天达到最大值，经统计处理，均有显著意义。股骨上、下二段放射活性与未骨折侧相应段比较，均趋下降，以致骨折后第13天，上段放射活性仍然是负值，并且除13天上段外，差异均有显著意义。说明用药后，离开骨折部位上、下二段股骨的钙沉积减少情况有所加重（表3）。右股中段骨折后，右胫骨总的dpm均趋下降。从分段情况来看，除上段仍有钙沉积减少外，原来在生理盐水组下段的钙沉积减少情况，由于应用丹参而变得更为明显。并出现显著或非常显著的差异（表2）。说明丹参的应用使伤肢胫骨钙沉积减少情况进一步加重。

讨 论

骨是由细胞、纤维和基质所组成的一个活的组织，它是经常不断地形成与吸收。假如机体骨骼外的钙含量无明显变化，机体钙吸收和排泄之间的差别反

表3 右股骨骨折后,丹参组小鼠左右两股骨上、中、下三段及总股骨dpm差值自体比较

组 织	天数	差值均数 (左-右)	T 测 验	P 值
股 上 段	5	-7592	-5.7488	<0.05
	7	-4118	-3.2108	<0.05
	9	-2765	-3.4482	<0.05
	13	-1696	-0.5535	>0.05
股 中 段	5	17264	4.4457	<0.05
	7	72355	7.8164	<0.01
	9	96205	7.3922	<0.01
	13	301223	16.5848	<0.01
股 下 段	5	-9597	-4.5403	>0.05
	7	-12729	-11.0503	<0.01
	9	-12660	-2.8637	<0.05
	13	5696	2.2741	>0.05
总 股 骨	5	-2340	1.6792	>0.05
	7	55509	5.1164	<0.01
	9	80771	5.2198	<0.01
	13	305224	19.8907	<0.01



附图 正常组、骨折生理盐水组、骨折丹参组上段(d)、中段(a)、下段(c)及总股骨(b)对应部位钙沉积的差值的变化。

映出骨形成和骨吸收之间的平衡状态。即当骨吸收占优势时,呈负钙平衡,当骨形成占优势时,呈正钙平衡。经典的钙代谢平衡研究,虽可以得出骨形成和骨吸收之间的净差别,而无法测出钙结合进骨骼的相对速度,而本实验通过测定钙沉积量从而可以观察骨形成的速度。

正常小鼠股骨上、下两端放射活性比骨干部位高,钙盐沉积多。这是因为两端属松质骨,而且又

是骨生长的部位。所以即使在生长停止以后,放射活性高的情况继续存在。这与Jowsey⁽³⁾放射自显影观察到现象一致。Bauer⁽⁴⁾指出:干骺、脊椎及骨盆扁骨的小梁骨更新率比长骨皮质的小梁骨高得多。都说明同一个问题。但是正常小鼠左右两股骨相应部位的放射活性接近,说明两股骨相应部位,不论是松质骨还是密质骨,其钙沉积相似,也反映出相应部位骨组织的形成与吸收是在相仿的速度下进行。

小鼠股骨干一旦骨折后,股骨不同部位的放射活性起了变化。骨折部位股骨的放射活性在整个实验期间不断升高,一直观察到最后时间,还未见下降。其幅度甚至要比健侧相应部位高2~16倍。这无疑是由于骨折局部,新骨不断形成,钙盐大量沉积的结果。Arnold及其同事⁽⁵⁾应用放射性⁴⁵Ca作定量放射自显影进行观察,发现⁴⁵Ca在生长中哈氏系统内新生骨的沉积,要较不生长的成熟骨多5~10倍。正常生长情况下,尚且有这种现象,骨折愈合过程中的钙盐沉积增多就更易理解。相反骨折股骨的两端,由于离开骨折部位稍远,与健侧相应部位比较其放射活性反而减少。伤肢的胫骨也有相似情况,这些结果与Bauer(1954)大白鼠研究相似。

骨折股骨上、下二段以及伤肢胫骨放射活性的降低,可能是由于骨折后,这些部位的钙盐沉积减少或是由于钙盐吸收增加或两者兼有。既然血清钙在任何情况下都必需维持于正常范围内,因此骨折股骨上、下二段及伤肢胫骨钙沉积减少或吸收增加,是提供骨折部位所需钙的重要来源。这与Koenig⁽⁶⁾用⁸⁵Sr观察到骨折愈合过程中,邻近的骨骼较远离的骨骼提供更多的矿物质是一致的。这种现象:沉积减少或吸收增多,发生在胫骨也是以松质骨部位(上段)较密质骨部位(中段及下段)为突出,而差异具有显著或非常显著意义。当然,引起放射活性降低的问题还有一个伤肢的废用的影响,因为废用对骨转换的影响是使骨形成与骨吸收同时增加,只是骨吸收较骨形成更多,从而造成骨质疏松⁽⁷⁾。右股骨骨折以后,无论是生理盐水组还是丹参组,其健肢股骨总放射活性均较正常组健肢股骨为高,也说明损伤以后,健肢的负重有相应的代偿性增加,引起骨吸收(钙吸收)减少,骨形成(钙沉积)增多,从而造成放射活性增加。

应用丹参以后,使骨折股骨上、下两端的放射活性负值增大,从生理盐水组,原来无显著差异变为有显著差异。也就是说,丹参使这两部位的钙盐沉积减少或吸收增加现象变得更为明显。这种现象也发生在伤肢胫骨,使生理盐水组原来有显著意义的放射活性

减少情况变为丹参组有非常显著意义的减少。丹参的这种作用,就可动员更多的钙,以满足骨折部位新骨形成对钙的需要。柴本甫等⁽¹⁾通过电子显微镜观察,发现丹参使家兔桡骨骨折愈合加速,且愈合过程中,基质小泡及胶原纤维的钙盐沉积明显增多。同位素的定量测定与电子显微镜的形态观察都指出:丹参通过其活血化瘀作用,为骨折愈合创造了有利的条件。

参考文献

1. 柴本甫,等.丹参对实验性骨折愈合影响的超微结构研究.(待发表)1984.
2. 柴本甫,等.超关节石膏固定对骨转换(骨吸收与骨形成)的影响.天津医药·骨科附刊1979;12(4):

168.

3. Jowsey J, ed et. Analysis of Distribution of ^{45}Ca in Dog Bone by a quantitative autoradiographic method. The Journal of Bone and Joint Surgery 1965; 47-A:560.
4. Bauer GCH. Kinetics of calcium and strontium metabolism in man. In: Rodahl K, Nicholson JT and Brown, Bone as a Tissue. New York: McGraw-Hill Book Co 1960:118.
5. Arnold JS, et al. Observations and quantitative radioautographic studies of calcium 45 deposited in vivo in forming haversian systems and old bones of rabbit. Am J of Anatomy 1956; 99:291.
6. Koenig H, et al. Affecting dynamics of bone healing by administration of bone extract. Surg, Gynec & Obst 1960; 111:203.

30组中药复方动物抑瘤实验观察

石家庄市第一医院 杨宝印 贾宝山

以动物移植性肿瘤方法对单味中药进行抑瘤作用筛选,已有很多报道。但是对于中药复方的抑瘤作用筛选研究,尚未见报道。根据我国传统经验,中药复方煎剂较单味药分煎后混合服用疗效为佳。因此,我们从1980年7月以来,应用小复方中药制剂进行动物抑瘤实验,以寻找疗效较好的抗癌药物。

药物制备 30组中药小复方,皆以水提醇沉法制成中药复方注射液。

肿瘤模型 用中国医学科学院药物研究所提供的小鼠肉瘤₁₈₀、小鼠肝癌、黑澳I号、小鼠宫颈癌₁₄、小鼠艾氏腹水癌等。

方法 筛选实验按常规方法进行,给药剂量采用其半数致死量(LD_{50})的 $1/3$ 为每日治疗剂量。于各种给药途径(IV、PO、IP)给药9~15天,实体瘤于末次给药后次日处死动物,剥离瘤体称重,计算抑瘤率;腹水癌则于末次给药后,继续观察并记录生存天数。疗效的判定以1978年全国抗癌药物研究协作会议制定的“抗肿瘤药物体内筛选规程”标准。中药复方药量以每毫升含一克生药计算。

结果 1.有效药物4组:(1)大戟狼毒、土茯苓,10~12g/kg/日,对小鼠肝癌静脉给药抑制率为

38.7~43.3% ($p < 0.05$); (2)黄连、黄柏,3.33g/kg/日,对小鼠艾氏腹水癌生存率为32.0~47.2% ($p < 0.05$); (3)苏木、茜草,7.5g/kg/日,对小鼠肝癌腹腔给药抑制率为25.0%,静脉给药抑制率35.6~48.0% ($p < 0.05$); (4)海藻、皂刺、夏枯草,5g/kg/日,对小鼠肉瘤₁₈₀静脉给药抑制率为30.4~32.2% ($p < 0.05$)。

2.有进一步试验价值的1组:瓜蒌、苦参,12~15g/kg/日,对小鼠肉瘤₁₈₀静脉给药抑制率为22.7%、19.0%、24.0%。

3.无效药物25组:(1)刘寄奴、元胡、五灵脂;(2)柞木枝、刺五加;(3)知母、升麻;(4)黄芪、仙鹤草;(5)黄连、黄柏、人参皂甙;(6)人参皂甙;(7)土元、水蛭;(8)狼毒、苡米;(9)鱼腥草、败酱草;(10)大云、灵仙;(11)苦参、刀豆、补骨脂;(12)瓜蒌、诃子;(13)复方乌骨藤;(14)鱼腥草、葶苈子;(15)槟榔、川朴;(16)大风子、胆矾;(17)鬼箭羽、辛夷;(18)青胡桃、刺五加;(19)桑寄生、淫羊藿、菟丝子;(20)贯仲、使君子;(21)木鳖子、五味子;(22)半夏、乌头;(23)百部、马兜铃、马勃;(24)银柴胡、防己;(25)红牙大戟、山慈姑。

CFU-D growth could be enhanced by 9 of the 12 drugs of the 6 pairs when they were further assayed separately. The majority of the 6 pairs or 9 single drugs have the property of tonifying the kidney. The results of our observation further support the belief that kidney tonics are effective in treating aplastic anemia.

(Original article on page 533)

Effects of Radix Salviae Miltiorrhizae on Calcium Deposition in Experimental Fracture Healing

Zhang Juying (张菊英), Liu Jilan (刘季兰), Chai Benfu (柴本甫)

Shanghai Institute of Traumatology and Orthopedics, Shanghai

⁴⁵Ca deposition in the femur and tibia of normal mice and the effect of Radix Salviae Miltiorrhizae on ⁴⁵Ca deposition following fracture of the right middle femur were studied in three groups of mice, totalling 54 in number.

1. Normal group: The upper, middle and lower thirds of the left and right femora showed identical calcium deposition rates with highest value in the lower thirds. The calcium deposition rate was highest in the upper third of the tibia.

2. Fracture-saline group: Following standardized fracture of the right middle femur, deposition of calcium in the middle third increased considerably throughout the experiment (5, 7, 9, 13 post-fracture days) and showed high statistical significance as compared with the corresponding values in the normal group. This shows that in keeping with the new bone formation in the fracture region, there was massive deposition of calcium salts. On the contrary, the calcium deposition in the upper and lower thirds of the femur and in the tibia decreased significantly as compared with the corresponding values in the normal group. This shows that the bone tissue adjoining the fracture region provided calcium to meet the increased demand in the callus formation through a decrease in deposition or an increase in absorption of calcium.

3. Fracture-Radix Salviae Miltiorrhizae group. Following the fracture of the right middle femur and the administration of Radix Salviae Miltiorrhizae, the increase in calcium deposition of the middle third of the right femur continued, while the decrease in calcium deposition in the upper and middle thirds of the right femur and in the tibia was aggravated. This clearly manifests that Radix Salviae Miltiorrhizae could transfer more calcium from the bone tissue adjoining the fracture region than it did in the saline group, so as to meet the increased need of calcium for the callus. Thus fracture healing could be expedited.

(Original article on page 536)

Experimental Investigation of the Effect of Dried and Prepared Notoginseng on the Serum Lipids

Chen Guozhen (陈国珍), Li Yunshan (李运珊), et al

Kunming Medical College, Kunming

Notoginseng (Pseudoginseng) is one of the best Chinese drugs. It is used as hemostatic and anodyne, for eliminating blood stasis and reducing swelling. We studied the effect of dried and prepared notoginseng on the serum lipids, and have found that they differ a great deal in this respect. Prepared Notoginseng, or Notoginseng treated with high temperature, was found to be able to raise serum cholesterol, triglyceride and β -lipoprotein levels of rats fed on high cholesterol and high fat diet, while dried raw Notoginseng able to inhibit the increase of lipids levels to some extent. Notoginseng, therefore, is not a good hypolipidemic.

(Original article on page 540)

The Changes of Cyclic AMP System and Cyclic GMP System Studied with Four Types of Animal Models

Xia Zongqin (夏宗勤), Yi Ningyu (易宁育), Yu Yimin (余逸明), et al

Isotope Laboratory and Department of Pharmacology, Shanghai Second Medical College, Shanghai

Four types of animal pathological models were established in mice and used in the study of the role of cyclic nucleotides in "Deficiency syndromes" of traditional Chinese medicine.

In thyroxin model (produced by subcutaneous injection of L-thyroxin) the peak value of plasma cAMP induced by isoproterenol was significantly higher than that of normal mice, and was further elevated by oral administration of decoction I (Radix Aconitin Preparata+Cortex Cinnamomi), but was depressed by decoction II (Radix Rehmanniae) and decoction III (Radix Rehmanniae+Plastrum Testudinis). In tapazol model (produced by administration of tapazol in drinking water), the peak value of cGMP after injecting carbachol was higher than normal. Decoction I decreased this value while decoction III increased it.

Two types of hydrocortisone models were also used. In type I (produced by intramuscular injection of hydrocortisone), there was a change of cAMP system similar to that observed in thyroxin model, together with similar responses to decoction I and III. In type II (produced by withdrawal of hydrocortisone after continuous administration of the drug) the plasma cAMP peak after injecting isoproterenol was lower than