

植物性血球凝集素诱导 新骨形成加速骨折愈合

附属第二医院骨科 江 让

长期以来国内、外学者对骨折愈合机理和促进骨折愈合过程作了不少研究。我科自1977年开始通过动物实验和临床实践,在骨折血肿内注射植物性血球凝集素(Phytohemagglutinin,简称PHA,广州医药工业研究所制品)诱导新骨形成加速骨折愈合作了观察,现将结果报道于下,并对有关PHA诱导新骨形成的一些问题作初步讨论。

资 料 和 方 法

实验设计和结果:雄兔40只,体重3kg,实验组30只分成4小组,每组7~8只,对照组分2小组,每组5只。两组动物均在普鲁卡因局部麻醉下,按统一标准操作,用电锯截除桡骨0.5cm,造成骨质缺损。术后第1天在骨缺损处分别注射非特异性诱导物,实验组第1组注射PHA 3mg(2%普鲁卡因溶化),第2组注射链球菌溶血素S 1.3ml,第3组注射1:1,000氯化汞0.5ml,第4组注射葡萄球菌滤液0.5ml,以后每隔3天各组均重复注射1次,连续3~4次。对照组第1组注射等渗盐水0.5ml,方法同实验组,第2组不作任何注射。两组动物术后每隔1周作X线摄片检查,并各提取1只切除术侧桡骨制作标本。

注射各种非特异性诱导物后,出现不同的反应,注链球菌溶血素S组动物反应剧烈(可能制品粗糙),2~3天后全部死亡;注葡萄球菌滤液组动物,局部有亚急性炎症反应;注1:1,000氯化汞组局部疼痛明显;注PHA组无明显局部或全身反应。

X线摄片表现:实验组(除链球菌溶血

素S组外)注射后第2周两骨折端出现新骨反应,末端稍粗;第3组新骨继续增生,各向缺损处延伸,其中葡萄球菌滤液组骨膜下新骨反应较广泛,氯化汞组新骨反应较弱,PHA组新骨较集中于缺损处;第4周两骨折端互相融合,少数尚见缺损痕迹。对照组中1、2两组变化相同、骨折愈合的时间较实验组延迟1周。

组织学表现(PHA组与对照组的光镜下组织学变化对比):兔1(术后第10天),骨折端有大量纤维组织生长,骨样组织、软骨组织增生;对照组亦见纤维组织、骨样组织、软骨组织增生,但不及PHA组活跃。兔3(术后第17天)骨折端除纤维组织、骨样组织、软骨组织外,有多量骨母细胞增生,对照组则骨母细胞增生不明显。兔4(术后第24天),骨折端除有大量骨样组织外,尚有多量骨母细胞增生和骨小梁形成;对照组不明显。兔5(术后第30天),骨折端有多量毛细血管增生,大量骨样组织钙化成骨小梁,亦见到纤维组织移行成骨小梁(图1-1);对照组也出现大量骨小梁,与PHA组相比(图1-2),PHA组成骨活动较对照组约提前1周。对照组中注射组和不注射组组织演变无明显差别。

临床资料:自1978年9月至1980年9月,对42例新鲜骨折作PHA注射治疗。病人年龄最大71岁,最小24岁,平均44岁。42例中30例为粉碎骨折,其中4例为开放性。骨折部位:5例股骨粗隆下粉碎或横行骨折;23例股骨中下粉碎、横行或斜面骨折;9例胫腓骨中下粉碎或横行骨折;5例肱骨中下

粉碎或横行骨折。治疗方法,除4例开放性骨折作清创缝合外,其余均采用手法复位、小夹板固定或加持续牵引装置。

42例中20例骨折后第2天开始向血肿内注射PHA10mg,22例在骨折后第3~7天开始注射(因外地转来)。第1次注射后,每隔1~3天重复1次共4~6次。注射后少数病例局部有胀感和轻微刺痛、个别病例有短暂低热(约2天消失)、胸闷等。

42例中2例治疗失败(1例胫骨因软组织和骨组织缺损,改用带血管皮骨瓣移植治愈,另1例因小夹板固定不妥,改用其他治疗),40例得到临床愈合*。临床愈合所需时间:股骨粗隆下粉碎或横行骨折28~38天;股骨中下1/3粉碎、斜面或横行骨折18~38天;胫腓骨中下1/3粉碎或斜面骨折29~38天;肱骨中下1/3横行或粉碎骨折24~28天。与不注射PHA的病例相比,尽管年龄相近,骨折部位、损伤性质、骨折类型和骨折复位固定均相似,前者愈合时间缩短1/3许(表1),出院时仅给予小夹板防护。

表1 注射和不注射PHA的临床骨折愈合时间比较

骨折部位和类型	注射PHA病例 临床骨折愈合 时间(天)	不注射PHA病例 临床骨折愈合 时间(天)
股骨粗隆下粉碎 或横行骨折	28~38	56~72
股骨中下1/3粉 碎或斜面或横行 骨折	18~38	56~80
胫腓骨中下1/3 粉碎或斜面骨折	29~38	60~80
肱骨中下1/3粉 碎或横行骨折	24~28	30~50

术组42例(包括失败2例)经过半年至2年半的随访观察结果是:1.无1例因注射

* 标准按1981年全国中西医结合骨科会议拟订的力学试验进行评价:1.局部无压痛;2.局部无纵向扣击痛;3.局部无异常活动;4.X线显示骨折线模糊,有连续性骨痂通过骨折线;5.外固定拆除后,下肢不扶杖下地迈5步、上肢向前伸手持1公斤物1分钟;6.连续观察2周骨折不变形。

PHA产生不良影响;2.无1例因确认临床愈合而拆除外固定后发生骨折变形或再骨折;3.缩短骨折修复过程,较早恢复劳动。

典型病例介绍:

例1.女,住院号131059,71岁,1978年9月14日因车祸发生右侧股骨粗隆下横行骨折入院。入院时患者处于低血压状态,仅作皮肤牵引,骨折仍然错位。伤后第7天始于骨折部血肿内注入PHA10mg,后每隔3天重复1次,共4次。骨折后第4周达到临床愈合,3个月后能自由走动,因患肢错位愈合,步态略有跛行(图2)。

例2.男,29岁,住院号131178,1978年9月22日从高处坠下发生左股骨中斜面骨折入院。手法复位、骨牵引、小夹板固定,伤后第1天骨折血肿内注PHA10mg,此后每隔3天重复注射1次,共5次。骨折后第13天X线显示骨痂形成,第18天进行力学试验下地迈5步,未见局部畸形,证实临床愈合(图3)。出院后主动功能锻炼,伤后43天弃杖复工,随访2年余,患肢功能正常。

例3.男,58岁,住院号136085,于1979年9月22日因车祸发生左股骨下粉碎骨折入院。手法复位,骨牵引、小夹板固定。伤后第4天骨折血肿内注入PHA10mg,以后每隔2天重复1次,共6次,第35天进行力学检查、反折试验、站立负重并迈5步试验,以及X线显示骨折线间有骨小梁沟通,骨折线模糊,证实达到临床愈合标准。回家主动功能锻炼,60天后弃杖行走2里路。经1年半随访观察,除骨折复位欠佳,影响膝关节轴线,导致关节轻度酸痛外,骨折部位骨结构正常。

例4.男,53岁,住院号131044,1978年9月12日左小腿被石块压伤,胫腓骨下1/3开放性粉碎性骨折入院。作清创缝合,手法复位,骨牵引,小夹板固定。伤后第2天骨折血肿内注入PHA10mg,以后每隔3天重复1次,共7次。伤后22天X线显示骨折线模糊,28天作力学试验:骨折处无压痛

及纵向扣击痛,反折试验无异常活动。拆除固定与牵引,卧床自由活动患肢,3天后下地负重步行5步,未见局部畸形或疼痛,证实已临床愈合。伤后31天小夹板保护性固定出院,2个月月开始参加农业劳动,随访观察2年半,证实愈合良好能承受应力。

例5.女,28岁,住院号131662,1978年12月28日劳动中衣袖被机器卷入,引起左肱骨下1/3粉碎性骨折入院。手法复位,小夹板固定,伤后第3天开始骨折处血肿内注入PHA10mg,以后每隔2天重复1次,共4次。其间因骨折对位不佳,重作复位1次。伤后第11天病人强求出院。出院后2个月函催来院复查,经力学试验和X线摄片证实骨折确已愈合(伤后71天),据诉约在伤后42天便参加农业劳动,未感到局部疼痛,估计该时已达到临床愈合。伤后1年再次复查,摄片证实骨折处塑形满意(图4),上肢功能完全正常。

讨 论

骨折部位血肿内注射PHA诱导骨折加速愈合,方法简便、费用低廉、疗效令人满意。影响骨折愈合的因素很多,涉及病人年龄、骨折部位血液供应、感染、软组织损伤的程度等。本组病例年龄较大,骨折类型复杂并伴严重软组织损伤,但采用PHA诱导新骨形成,骨折临床愈合所需时间较常规治疗方法缩短1/3~1/2,作者认为与PHA作用有关,现提出下述三方面问题作初步探讨。

一、骨折部位的血液循环:血运丰富是骨折愈合的必需条件,有移位的骨折、特别是粉碎性骨折和软组织损伤严重者,骨膜、骨髓腔及骨周围的血管床均遭断裂、栓塞,有赖新生血管生长修复。1975年Sidky和Auerbach报道一种定量敏感的移植抗宿主反应测验方法,叫做淋巴细胞诱导血管生成。我校免疫组在该法的基础上用PHA、斑钠、生理盐水分别注入3组纯种鼠C₅₇BL

的腹腔内,证实PHA注射点诱发的血管支数最多⁽¹⁾。本文实验动物术后30天注射PHA处增生的毛细血管也较对照组丰富。PHA可使成熟淋巴细胞增殖,诱导血管生成。新生血管不仅加强输送成骨必需物质,而且促进骨折的修复活动,这可能与缩短骨折愈合时间有关。

二、消除血肿坏死组织:骨折部位血肿在骨愈合过程中起促进或延缓作用,目前仍有争论。作者认为欲使胶原纤维(构成骨基质的主要成份)伸入骨折间,必先通过吞噬细胞清除血肿内坏死组织,然后由纤维组织取代。PHA在刺激淋巴细胞转化的过程中,因能释放一系列的“淋巴因子”,其中有吞噬细胞趋化因子和激活因子⁽²⁾,能使吞噬细胞增多和能力加强,清除血凝块、坏死组织及衰亡细胞,使成骨必需的胶原纤维等在骨折处增殖、变性、钙化、骨化,对加速骨折愈合起一定作用。

此外,本组4例开放性骨折包括1例大片软组织坏死,1例软组织缺损均无明显感染,作者认为PHA虽不象抗菌素对炎症起直接作用,但能提高机体的抗感染力⁽³⁾。

三、诱导成骨细胞增殖:以往认为参与成骨活动的细胞发源于骨外膜、骨内膜和骨小梁周围组织的“特殊”细胞,但近年来认为间充质细胞、破骨细胞、骨膜的成纤维细胞和软骨细胞经过一些诱导物质都可转化为成骨细胞。此外,来自红骨髓中的网织细胞通过同种脱矿物盐骨基质也可以诱导转化产生成骨活动的细胞^(4,5);亦有认为迁居在骨折处的间充质细胞以骨基质的生物化学为导向,产生细胞形态学的改变,向成骨细胞的形态转化,颗粒细胞可以促使间充质细胞形态发生的性能改变。经骨基质生化诱导转化为成骨细胞⁽⁶⁾。根据本文动物实验标本提示用药组的成骨细胞活动较对照组活跃,认为可能与PHA有关,但是PHA对成骨细胞增殖起什么作用,我们只能作些推想:PHA可使小淋巴细胞改变形态和(下转第23页)

并将其牵向后侧,暴露屈拇长肌,在上方可见一组口径较粗的血管,此为腓血管抑或胫后血管常难辨认,如在其内侧探得胫后神经,则此血管为腓血管。腓动脉穿入屈拇长肌在下行过程中分出肌枝和骨滋养血管,这些血管大部集中于上、中1/3交界处及中1/3段,因此截取腓骨应以上、中1/3为中心向上下延伸,上方锯口应不低于腓骨上1/4与下3/4交界处。为保持踝关节的稳定性,作下方锯口时应考虑保留腓骨远端不少于4cm,这样取下的腓骨既有血供保证,且又不影响供骨侧下肢的功能。

3.带血管腓骨的移植:受骨区准备就绪,游离腓骨暂置受骨上,先试对合需吻合的血管,并尽量设法将血管吻合口置于腓骨的浅面,以便于吻合操作。如试对合适,则可将腓骨固定于受骨上,要求操作简便,固定可靠。常用的固定是将腓骨一端插入受骨之髓腔或将供、受两骨的骨端修成相对的斜面或梯形,对合时避免软组织嵌入其中,以免影响骨愈合,对合适后,用螺钉固定。值得一提的是作了内固定尚不能取消外固定,本组1例因术后未作外固定而造成移植骨的移位,因此外固定不可忽视。血管吻合

应在手术显微镜下进行,一般吻合1根动脉及1根静脉即可,但本组1例因静脉条件差,只吻合了1根动脉,术后3个月拍片见植骨处已完全愈合,此例移植骨的静脉回流是通过髓腔引流而完成,因此我们认为对于静脉条件差而无法用其他办法补救的病例,也不应放弃动脉吻合。血管吻合通畅后,应仔细止血,以防术后血肿。皮肤缝合不宜有张力,必要时可作植皮或减张缝合。

参 考 文 献

- 1.江 让等:58例外伤性四肢长管骨假关节的治疗.骨科附刊8(4):248~251,1984
- 2.Taylor G I, et al: The free vascularized bone graft: A clinical extension of microvascular techniques. Plast Reconstr Surg 55: 533, 1975
- 3.Buncke H J, et al: Free osteo cutaneous flap from a rib to the tibia. Plast Reconstr Surg 59(6): 799, 1977
- 4.Taylor Watson: One-stage repair of compound leg defects with free revascularized flaps of groin skin and Iliac bone. Plast Reconstr Surg 61(4): 494, 1978
- 5.李世骥等:旋髂浅血管在髂部皮-骨瓣移植中的应用,内部资料,1981

(紧接第14页)生理功能,转化为淋巴母细胞,但能否直接使间质细胞、破骨细胞、骨膜的成纤维细胞等改变形态和生理功能,转化为成骨细胞,没有文献可资引证,但有人给豚鼠皮内注射PHA后,注射部位出现颗粒细胞浸润⁽³⁾。推想骨折处注射PHA后,局部发生多量的颗粒细胞,加强间充质细胞形态发生的性能改变,向成骨细胞方向转化。从而比细胞间自然地相互诱导成为成骨细胞需要的时间有所缩短。确切的情况有待于实验证实。

(图见插页第1页)

参 考 文 献

- 1.浙江医科大学免疫组:PHA增进淋巴细胞诱导血管生成.PHA用于肿瘤及传染病临床报告及有关研究资料选编,第二集,第33页,1979
- 2.广州市医药工业研究所:PHA对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬作用的观察.PHA用于肿瘤及传染病临床报告及有关研究资料选编 第二集,第11页,1979
- 3.苏州医学院免疫研究组:PHA的抗肿瘤作用(综述).PHA用于肿瘤治疗的临床报告及其有关研究资料选编 第一集,第16页,1977
- 4.Nade S M L, et al: Decalcified bone as substrat. for osteogenesis. J Bone and Joint Surg 57B 189, 1977
- 5.Tuli S M, et al: The osteoinductive property of decalcified bone matrix an experimental study. J Bone and Joint Surg 60B, 110, 1978
- 6.Hirashi Nogami, et al: Explants transplants and implants of cartilage and bone morphogenetic matrix Clinical Orthopaedics 103, 253, 1974
- 1.浙江医科大学免疫组:PHA增进淋巴细胞诱导血

植物性血球凝集素诱导新骨形成加速骨折愈合

(正文见第12页)



图1-1 兔5术后第30天,增生的纤维组织形成骨小梁(H.E.×200)

图1-2 对照组骨小梁形成(H.E.×200)

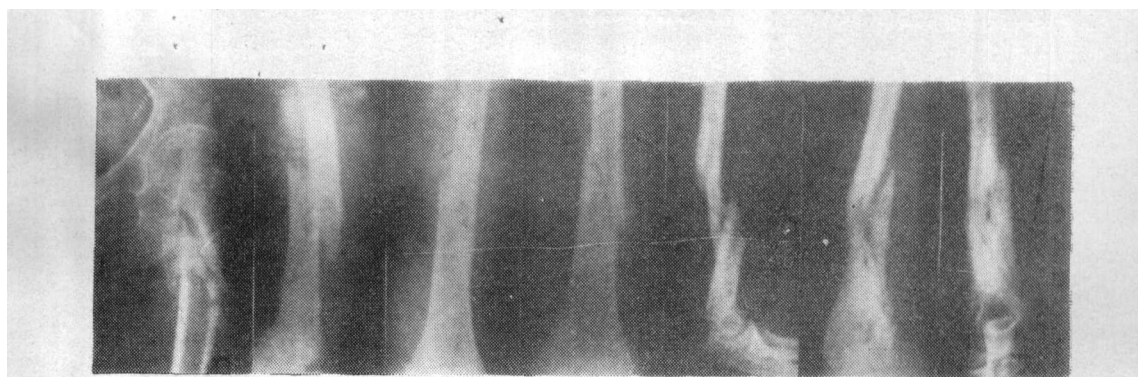


图2
例1骨折后4周

图3-1~3
图3-1 例2骨折后第1天
图3-2 骨折后13天出现骨痂
图3-3 例2骨折后18天

图4-1~3
图4-1 例5骨折后第14天
图4-2 例5骨折后71天
图4-3 例5骨折后1年