

接骨木新品种盐丹对大鼠骨折愈合的促进作用研究^Δ

刘 洋^{1*}, 郭庆梅^{1#}, 姚俊修², 袁俊鹏¹, 王云达¹ (1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东省林业科学研究院/山东省生态林草遗传育种重点实验室, 济南 250014)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)24-3004-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.24.07



摘要 **目的** 研究接骨木新品种盐丹对大鼠骨折愈合的影响。**方法** 将SD大鼠随机分为假手术组、模型组、中华跌打丸组(0.54 g/kg)、野生接骨木组(5.4 g/kg, 以生药量计)和盐丹高、中、低剂量组(10.8、5.4、2.7 g/kg, 以生药量计), 每组12只。除假手术组外, 其余各组大鼠制备股骨骨折模型。于术后第2天起, 各组大鼠灌胃相应药物和蒸馏水, 每日1次, 连续8周。于给药2、4、8周后, 检测大鼠血清中钙、磷、碱性磷酸酶(ALP)和骨钙素(OCN)水平, 利用Micro-CT扫描评价骨折股骨形态和骨微结构参数[骨密度(BMD)、骨体积/组织体积(BV/TV)、骨小梁数量(Tb.N)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、骨小梁厚度(Tb.Th)], 采用苏木精-伊红染色观察骨组织骨折处的形态变化。**结果** 与模型组比较, 盐丹高剂量组大鼠给药2、4、8周后血清中钙水平(给药4周除外)均显著降低, 磷、ALP、OCN水平均显著升高($P<0.05$); 骨折部位可见骨性骨痂形成、骨折断端连接、骨折线逐渐模糊或消失、骨髓腔开通等骨修复过程, 骨组织骨折处可见大量肉芽组织、成纤维细胞、软骨细胞、新生骨小梁以及新生骨板等; 给药8周后的BMD、BV/TV、Tb.N、Tb.Th均显著升高, Tb.Sp显著降低($P<0.05$)。野生接骨木组上述大部分指标变化不明显。**结论** 盐丹具有促进大鼠骨折愈合的作用, 且作用优于野生接骨木。

关键词 接骨木; 盐丹; 骨折; 骨折愈合; 钙磷平衡

The promoting effect of a new variety of *Sambucus williamsii* Hance Yandan on fracture healing in rats

LIU Yang¹, GUO Qingmei¹, YAO Junxiu², YUAN Junpeng¹, WANG Yunda¹ (1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Shandong Academy of Forestry/Shandong Provincial Key Laboratory of Genetic Breeding of Ecological Forest and Grass, Jinan 250014, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effect of a new variety of *Sambucus williamsii* Hance Yandan on the healing in rats with fractures. **METHODS** SD rats were randomly allocated to sham surgery group, model group, Zhonghua dieda pill group (0.54 g/kg), wild *S. williamsii* group (5.4 g/kg, using raw drug dosage), and high-, medium-, and low-dose groups of Yandan (10.8, 5.4, 2.7 g/kg, using raw drug dosage), with 12 rats in each group. Except for the sham surgery group, the remaining groups were prepared with a femoral fracture model. Starting from the second day after surgery, each group was intubated with the corresponding drugs and distilled water once daily for 8 consecutive weeks. At 2, 4, and 8 weeks after administration, the levels of calcium, phosphorus, alkaline phosphatase (ALP), and osteocalcin (OCN) in rat serum were detected. Micro-CT scanning was used to evaluate the morphology and bone microstructural parameters of the fractured femur [bone mineral density (BMD), bone volume/tissue volume (BV/TV), trabecular number (Tb.N), trabecular separation (Tb.Sp), trabecular thickness (Tb.Th)], and hematoxylin-eosin staining was adopted to observe the morphological changes at the bone fracture site. **RESULTS** Compared with the model group, the levels of calcium in rat serum were significantly decreased (except at 4 weeks after administration), and the levels of phosphorus, ALP, and OCN were significantly increased ($P<0.05$) at 2, 4, and 8 weeks after administration in the high-dose group of Yandan; bone callus formation, connection of fracture ends, gradual blurring or disappearance of the fracture line, and opening of the marrow cavity were observed in the bone repair process, and a large amount of granulation tissue, fibroblasts, chondrocytes, new trabeculae, and new bone plates were visible at the fracture site of bone tissue; after 8 weeks of administration, BMD, BV/TV, Tb.N, and Tb.Th were significantly increased, and Tb.Sp was significantly decreased ($P<0.05$). Most of the above indicators in the wild *S. williamsii* Hance group showed no significant changes. **CONCLUSIONS** Yandan has the effect of promoting fracture healing in rats, and its effect is superior to that of wild *S. williamsii*.

KEYWORDS *Sambucus williamsii* Hance; Yandan; fracture; fracture healing; calcium-phosphorus balance

^Δ 基金项目 山东省重点研发计划(No.2020LZGC090502)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向: 中药质量分析与资源开发、中药药效物质基础。E-mail: liuyang95315@163.com

通信作者 教授, 博士生导师, 博士。研究方向: 中药质量分析与资源开发、中药药效物质基础。E-mail: qmguo@sina.com

骨折愈合从组织学和细胞学的变化上可以分为血肿炎症机化期、原始骨痂形成期和骨板形成塑形期3个阶段^[1]。尽管骨骼具有自我修复和再生能力, 但仍有10%~15%的骨折患者会因为各种原因而出现延迟愈合

或不愈合的现象^[2]。目前临床上用于治疗骨折的药物多以化学药物为主,但其会对人体产生不同程度的副作用,例如抑制血管再生、骨化等,诱发血肿感染,长期服用会造成骨折愈合延迟,甚至会导致骨不连。因此,亟待研发毒副作用小、适合长期服用的药物治疗骨折。

接骨木 *Sambucus williamsii* Hance 为忍冬科植物,其根、茎、花、叶均可入药,性味甘、苦、平,无毒,具有接骨续筋、活血止痛、祛风利湿的功效,主要用于治疗跌打损伤、骨折肿痛、外伤出血、风湿痹痛、大骨节病等^[3],且促进骨折愈合的疗效显著,具有疗程短、功能恢复快、疗效高、无毒副作用的特点^[4]。黄河流域盐碱地种植的盐丹是国家林业和草原局认证的接骨木新品种,不仅可以造林,还可以药用。与普通接骨木相比,该品种耐盐碱环境,有利于次生代谢产物的积累,可能具有更强的药理活性。本课题组前期已对该品种进行了活性成分的含量测定,结果显示,盐丹根皮中促进骨折愈合的主要活性成分莫诺苷含量较高,约 7.0 mg/g^[5]。在此基础上,本研究通过建立大鼠股骨骨折模型,考察盐丹对骨折愈合的影响,旨在为开发治疗骨折的新中药品种奠定理论基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 Eppendorf 5804R 型台式高速冷冻离心机(山东奥恒生物科技有限公司)、Micro-CT SkyScan 1276 型小动物成像平台(德国 Bruker 公司)、SpectraMax M5 型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)、DW-86L388J 型恒温培养箱(青岛海尔特种电器有限公司)、Eclipse Ci-L 型正置光学显微镜和 DS-U3 型成像系统(日本 Nikon 公司)。

1.2 主要药品与试剂

中华跌打丸(批号 210215419,规格 6 g/丸)购自广西梧州制药(集团)股份有限公司;注射用青霉素钠(批号 43210916,规格 80 万单位)购自山东鲁抗医药股份有限公司;C004-2-1 型钙、C006-1-1 型磷、A059-2-2 型碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、H152 型骨钙素(osteocalcin, OCN)测试盒(批号分别为 20220629、20220906、20220817、20220923)均购自南京建成生物工程研究所;多聚甲醛溶液、乙二胺四乙酸脱钙液、苏木精染液、伊红染液(批号分别为 CR2209049、CR2207156、CR2209082、CR2211079)均购自武汉塞维爾生物科技有限公司。

接骨木新品种盐丹的根采集自山东省济南市平阴县,野生接骨木的根采集自山东省青州市仰天山,经山东中医药大学药学院周凤琴教授鉴定,均为忍冬科接骨木 *S. williamsii* Hance 的根皮(图 1)。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体质量(200±20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产



A. 盐丹

B. 野生接骨木

图 1 盐丹和野生接骨木的根皮照片

许可证号为 SCXK(京)2021-0011。本实验在山东中医药大学实验动物中心屏障环境设施内进行,动物实验使用许可证号为 SYXK(鲁)2017-0022,并经山东中医药大学动物伦理审查委员会审核批准,批准号为 SDUTCM20211223001。

2 方法

2.1 接骨木根皮提取物制备

参照相关文献^[6-7]的方法制备接骨木根皮提取物。将干燥的接骨木根皮粉碎,分别用 3 倍量 70% 乙醇、95% 乙醇、70% 乙醇加热回流提取 3 次,第 1 次提取 3 h,后 2 次分别提取 2 h,合并乙醇提取液,抽滤,减压浓缩回收溶剂,得接骨木浸膏。盐丹浸膏 1 g 相当于原药材 4.50 g,野生接骨木浸膏 1 g 相当于原药材 3.20 g。

2.2 大鼠股骨骨折模型构建

参照相关文献^[6]的方法制备大鼠股骨骨折模型。SD 大鼠适应性喂养 1 周后进行造模。大鼠造模前 8 h 禁食不禁水,麻醉后取左侧俯卧位,剔除右侧髂部及大腿外侧毛,备右后肢皮肤,消毒后在右股骨外侧切口(长 1.5~2.5 cm),分离股外侧肌,充分暴露股骨,于股骨中段剪断股骨(剪断时应注意骨折断端的完整性),断端间距尽量小于 1 mm;将直径为 1 mm 的克氏针从骨折断端逆行插入股骨干的近端,并在股骨大转子处穿出,复位两个骨折断端,并在复位后将克氏针顺行穿回;活动大鼠术侧膝关节,确认克氏针未插入膝关节内且固定牢靠,剪除多余的克氏针;用适量生理盐水冲洗切口,缝合肌肉和皮肤。假手术组大鼠仅暴露股骨干,不剪断股骨。大鼠术后每天肌内注射青霉素 4×10⁴ 单位/kg,连续 7 d。大鼠股骨骨折模型造模成功率约为 80%,及时排除并补充造模不成功或造模中死亡的大鼠。

2.3 分组与给药

将造模成功的大鼠随机分为模型组,中华跌打丸组(阳性对照;0.54 g/kg,临床等效剂量),盐丹高、中、低剂量组(10.8、5.4、2.7 g/kg,临床等效剂量的 4、2、1 倍,以生药量计),野生接骨木组(5.4 g/kg,临床等效剂量的 2 倍,以生药量计);另取假手术大鼠设为假手术组,每组 12 只,雌雄各半。于术后第 2 天起,各给药组大鼠灌胃相应药物,假手术组和模型组大鼠灌胃等体积蒸馏水,每日 1 次,连续 8 周。

2.4 血清生化指标检测

分别于给药2、4、8周后,每组取4只大鼠,麻醉后于腹主动脉取血,在4℃下以3 000 r/min离心15 min,取上清液,按照试剂盒说明书操作,检测血清中钙、磷、ALP和OCN水平。

2.5 骨折股骨微结构检测

大鼠取血后,剪开右侧股骨外侧皮肤,取出完整的股骨干,剔除股骨干上附着的肌肉、筋膜等软组织,抽出克氏针后,浸泡在4%多聚甲醛溶液中固定,采用Micro-CT扫描右侧股骨。扫描后采用CTAn分析软件对给药8周后骨折线上下共500层的骨微结构参数进行定量分析,获取骨密度(bone mineral density,BMD)、骨体积/组织体积(bone volume/tissue volume,BV/TV)、骨小梁数量(trabecular number,Tb.N)、骨小梁分离度(trabecular separation,Tb.Sp)、骨小梁厚度(trabecular thickness,Tb.Th)。

2.6 股骨形态观察

取Micro-CT扫描后的大鼠右侧股骨骨折端,用磷酸盐缓冲液冲洗20 min×3次,用乙二胺四乙酸脱钙液脱钙,每3 d更换一次新鲜的脱钙液,直至大头针能刺穿股骨、手触碰骨组织有弹性能轻易弯折时停止脱钙,随后脱水、包埋、切片、苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色、封片,于显微镜下观察股骨形态变化并拍照。

2.7 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0.2软件进行统计分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 大鼠血清生化指标比较

3.1.1 钙

与假手术组比较,模型组大鼠给药2周后血清中钙水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,盐丹高剂量组大鼠给药2、8周后血清中钙水平均显著降低($P<0.05$)。盐丹中剂量组大鼠血清中钙水平略低于野生接骨木组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠不同给药时间血清中钙水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=4$, mmol/L)

组别	2周	4周	8周
假手术组	2.12±0.09	2.18±0.18	2.19±0.12
模型组	2.39±0.07 ^a	2.32±0.16	2.32±0.07
中华跌打丸组	2.19±0.14	2.12±0.27	2.13±0.05
野生接骨木组	2.27±0.07	2.21±0.12	2.25±0.09
盐丹低剂量组	2.27±0.09	2.24±0.06	2.26±0.10
盐丹中剂量组	2.18±0.07	2.16±0.09	2.17±0.07
盐丹高剂量组	2.10±0.14 ^b	2.04±0.15	2.05±0.09 ^b

a:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.1.2 磷

与模型组比较,中华跌打丸组大鼠给药4、8周后和盐丹高剂量组大鼠给药2、4、8周后血清中磷水平均显著

升高($P<0.05$)。盐丹中剂量组大鼠血清中磷水平略低于野生接骨木组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠不同给药时间血清中磷水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=4$, mmol/L)

组别	2周	4周	8周
假手术组	2.57±0.09	2.61±0.12	2.58±0.26
模型组	2.75±0.19	3.01±0.29	2.96±0.41
中华跌打丸组	3.18±0.24	3.87±0.42 ^a	3.72±0.36 ^a
野生接骨木组	3.24±0.24	3.58±0.64	3.39±0.15
盐丹低剂量组	2.84±0.21	3.20±0.17	3.06±0.10
盐丹中剂量组	3.22±0.33	3.52±0.26	3.33±0.20
盐丹高剂量组	3.30±0.28 ^a	3.82±0.22 ^a	3.64±0.11 ^a

a:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.1.3 ALP

与假手术组比较,模型组大鼠给药2周后血清中ALP水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,中华跌打丸组大鼠给药2、4周后和盐丹中剂量组大鼠给药2周后以及盐丹高剂量组大鼠给药2、4、8周后血清中ALP水平均显著升高($P<0.05$)。盐丹中剂量组大鼠血清中ALP水平与野生接骨木组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠不同给药时间血清中ALP水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=4$, U/L)

组别	2周	4周	8周
假手术组	1 882.10±91.39	2 077.74±252.76	2 101.30±265.61
模型组	2 426.89±229.19 ^a	2 251.96±241.33	2 015.62±242.05
中华跌打丸组	3 073.06±59.26 ^b	2 870.28±226.34 ^b	2 501.14±127.09
野生接骨木组	2 830.30±217.77	2 674.64±279.17	2 408.32±332.72
盐丹低剂量组	2 517.56±237.05	2 404.75±115.67	2 142.00±139.23
盐丹中剂量组	2 901.70±304.16 ^b	2 682.50±112.10	2 387.62±222.77
盐丹高剂量组	3 110.18±118.52 ^b	2 878.13±107.10 ^b	2 596.82±247.04 ^b

a:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.1.4 OCN

与假手术组比较,模型组大鼠给药2、4周后血清中OCN水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,中华跌打丸组和盐丹中、高剂量组大鼠给药2、4、8周后血清中OCN水平均显著升高($P<0.05$)。盐丹中剂量组大鼠血清中OCN水平略高于野生接骨木组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表4。

表4 各组大鼠不同给药时间血清中OCN水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=4$, ng/mL)

组别	2周	4周	8周
假手术组	7.66±0.46	8.50±0.41	8.02±0.35
模型组	8.97±0.49 ^a	9.78±0.32 ^a	9.17±0.43
中华跌打丸组	10.33±0.71 ^b	11.24±0.68 ^b	10.80±0.71 ^b
野生接骨木组	9.37±0.25	10.35±0.39	9.70±0.59
盐丹低剂量组	9.47±0.56	10.23±0.53	9.64±0.73
盐丹中剂量组	10.40±0.61 ^b	11.13±0.54 ^b	11.02±0.93 ^b
盐丹高剂量组	10.79±0.41 ^b	11.60±0.84 ^b	11.50±0.93 ^b

a:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.2 大鼠骨折股骨微结构比较

3.2.1 Micro-CT 3D图像分析

给药2周即血肿炎症机化期,与假手术组比较,模型组和盐丹低剂量组大鼠骨折股骨处血肿未完全吸收,骨痂形成不明显;中华跌打丸组和盐丹中、高剂量组以及野生接骨木组大鼠骨折股骨处血肿已基本吸收,可见少量骨痂形成(图2)。

给药4周即原始骨痂形成期,与假手术组比较,模型组和盐丹低剂量组大鼠骨折股骨处血肿已基本吸收,骨折间隙较明显,可见少量骨痂形成,但密度较浅;中华跌打丸组和盐丹中、高剂量组以及野生接骨木组大鼠骨折线较模糊,开始形成骨性骨痂,其密度与骨密度相似(图3)。

给药8周即骨板形成塑形期,与假手术组比较,模型组大鼠骨折愈合效果欠佳,间隙较大;盐丹低剂量组大鼠骨折间隙模糊,可见大量骨痂形成,但骨髓腔尚未贯通;中华跌打丸组和盐丹中、高剂量组以及野生接骨木组大鼠骨折线基本消失,骨折愈合、塑形良好,骨髓腔已贯通(图4)。

3.2.2 骨微结构参数

与假手术组比较,模型组大鼠的BMD、Tb.Sp、Tb.Th均显著升高,Tb.N显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,中华跌打丸组大鼠的BMD、BV/TV、Tb.Th均显著升高,Tb.Sp显著降低($P<0.05$);盐丹中剂量组和野生接骨木组大鼠的BMD均显著升高,Tb.Sp均显著降低($P<0.05$);盐丹高剂量组大鼠的BMD、BV/TV、Tb.N、Tb.Th均显著升高,Tb.Sp显著降低($P<0.05$)。盐丹中剂量组大鼠的BMD和BV/TV略低于野生接骨木组,Tb.N、Tb.Th、Tb.Sp略高于野生接骨木组,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果见表5。

3.3 大鼠股骨形态比较

给药2周,与假手术组比较,模型组和盐丹低剂量组大鼠骨组织骨折处可见大量淋巴细胞、粒细胞等炎症细胞浸润以及大面积出血;中华跌打丸组和盐丹中、高剂量组以及野生接骨木组大鼠骨组织骨折处有轻度出血,可见大面积肉芽组织,肉芽组织内有大量成纤维细胞以及少量胶原纤维增生,大量骨小梁排列不规则且不成熟,有小面积透明软骨生成(图5)。

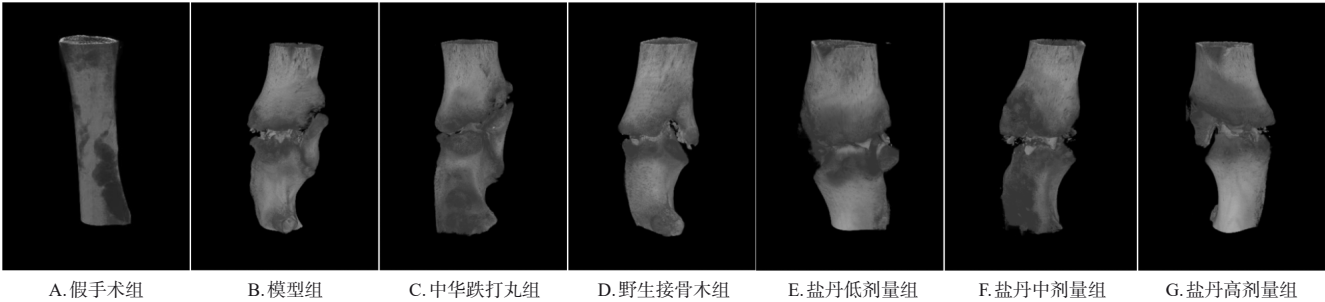


图2 各组大鼠给药2周的骨折股骨Micro-CT 3D图像

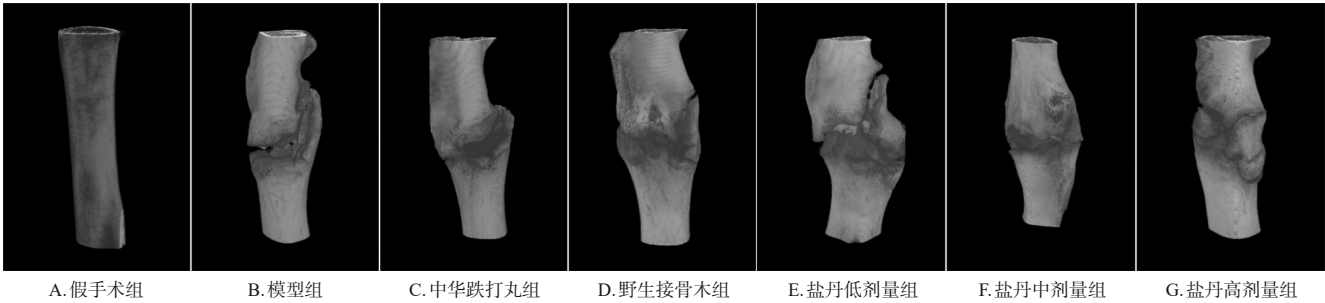


图3 各组大鼠给药4周的骨折股骨Micro-CT 3D图像

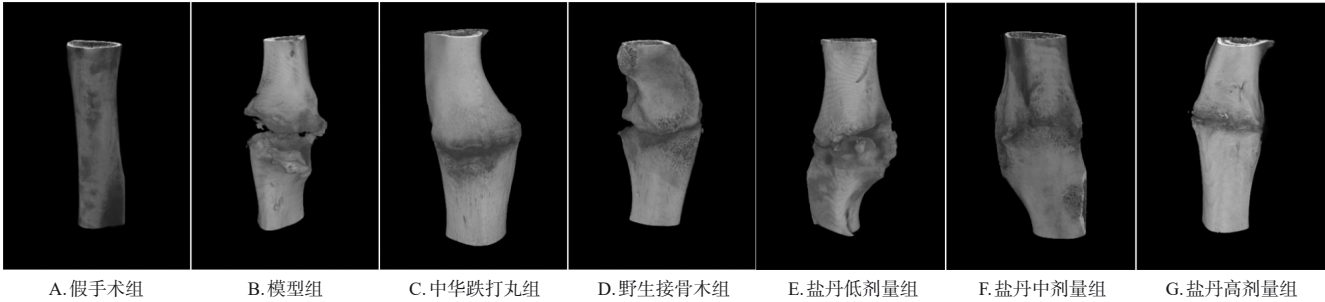
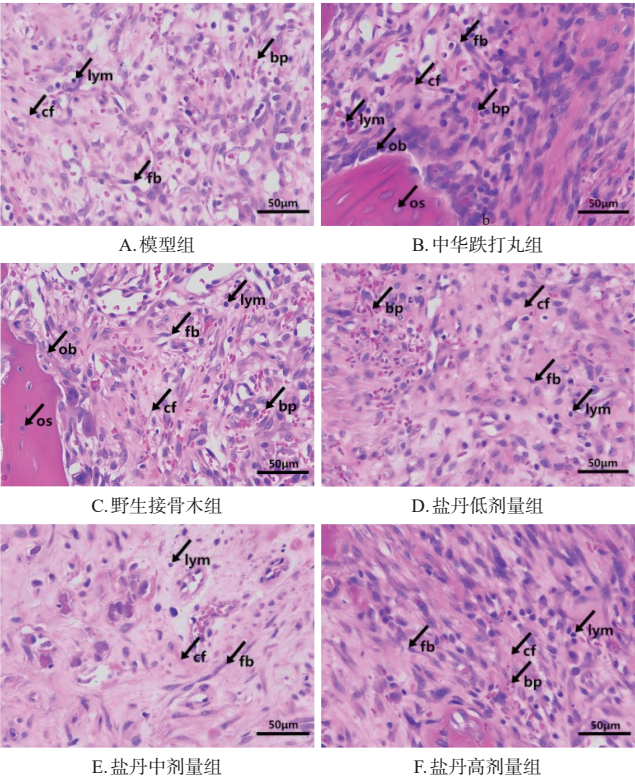


图4 各组大鼠给药8周的骨折股骨Micro-CT 3D图像

表5 各组大鼠骨微结构参数比较($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	BMD/(mg/cm ³)	(BV/TV)/%	Tb.N/mm ⁻¹	Tb.Sp/mm	Tb.Th/mm
假手术组	9.74±0.48	25.59±4.12	3.21±0.67	0.20±0.09	0.09±0.02
模型组	12.35±0.61 ^a	31.64±1.85	0.84±0.13 ^a	1.27±0.15 ^a	0.20±0.01 ^a
中华跌打丸组	16.61±1.57 ^b	38.86±2.49 ^b	1.24±0.14	0.66±0.19 ^b	0.33±0.06 ^b
野生接骨木组	15.94±0.96 ^b	34.38±3.10	1.14±0.17	0.67±0.19 ^b	0.29±0.03
盐丹低剂量组	13.39±0.59	33.37±1.84	1.09±0.16	0.98±0.16	0.28±0.04
盐丹中剂量组	15.17±0.75 ^b	34.08±2.82	1.18±0.19	0.71±0.30 ^b	0.30±0.05
盐丹高剂量组	16.77±1.18 ^b	43.73±3.47 ^b	1.75±0.28 ^b	0.56±0.09 ^b	0.33±0.06 ^b

a:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。



fb:成纤维细胞;cf:胶原纤维;lym:淋巴细胞;bp:出血点;ob:成骨细胞;os:骨细胞。

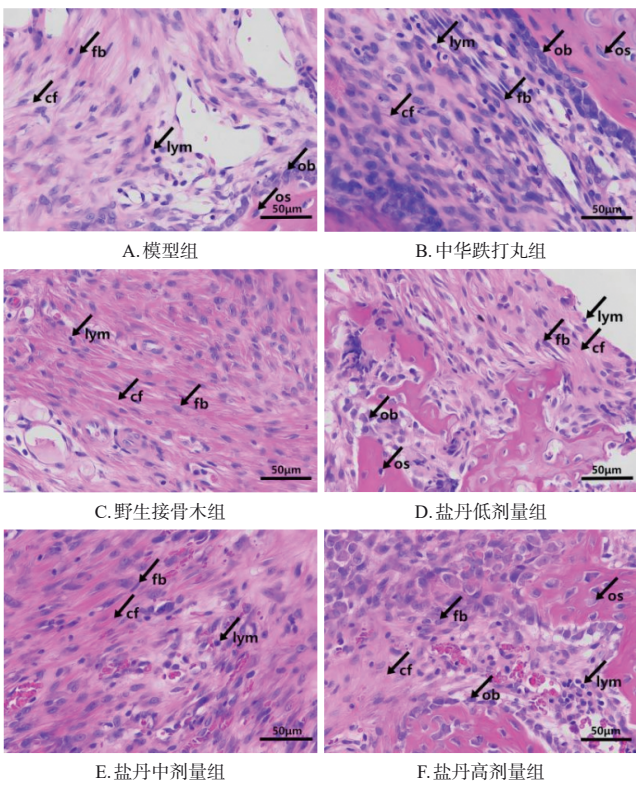
图5 各组大鼠给药2周的骨折端显微镜图(HE染色)

给药4周,与假手术组比较,模型组和盐丹低剂量组大鼠骨组织骨折处局部有轻度出血,可见大量排列不规则且不成熟的骨小梁,有小面积透明软骨生成;中华跌打丸组和盐丹中、高剂量组以及野生接骨木组大鼠骨组织骨折处可见大量排列不规则且逐渐成熟的骨小梁,骨小梁表面可见单行排列的立方柱状的成骨细胞和大面积透明软骨、大量骨细胞及少量新生的骨板(图6)。

给药8周,与假手术组比较,模型组和盐丹低剂量组大鼠骨组织骨折处可见边缘结缔组织增生,软骨的骨化尚在进行,骨小梁排列规则且逐渐成熟,有少量骨细胞和骨板形成;中华跌打丸组和盐丹中、高剂量组以及野生接骨木组大鼠骨组织骨折处可见皮质骨断裂修复,大量致密结缔组织增生,软骨的骨化完成,部分骨性愈合,骨小梁成熟,有大量骨细胞和骨板形成(图7)。

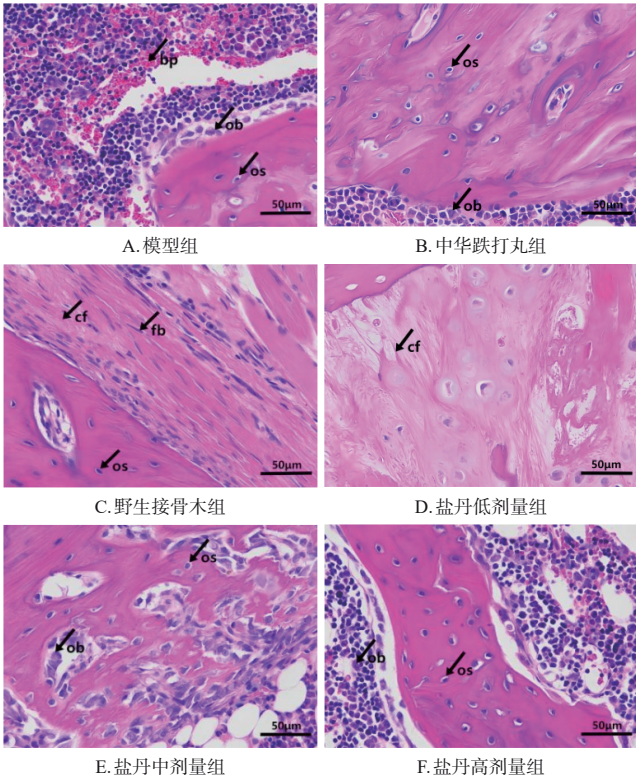
4 讨论

骨折模型的制备主要包括两个过程,即破坏骨骼连续性和固定骨骼^[8]。破坏骨骼连续性分为开放性破坏和



fb:成纤维细胞;cf:胶原纤维;lym:淋巴细胞;bp:出血点;ob:成骨细胞;os:骨细胞。

图6 各组大鼠给药4周的骨折端显微镜图(HE染色)



fb:成纤维细胞;cf:胶原纤维;lym:淋巴细胞;bp:出血点;ob:成骨细胞;os:骨细胞。

图7 各组大鼠给药8周的骨折端显微镜图(HE染色)

闭合性破坏,固定骨骼分为髓内固定和髓外固定。本实验采用开放性破坏、髓外固定的方法制备大鼠股骨骨折

模型,此法的优势在于操作简便、可控性强,易于控制骨折的角度和位置,而且髓外固定可以提供较大的抗旋转力,不会对骨髓腔内组织造成损伤,造模成功率较高,可得到较为稳定的骨折模型。

在骨骼的无机成分中,钙和磷是最主要的成分,其对骨骼代谢过程至关重要。血液中的钙、磷水平是基本恒定的,以维持人体正常的生理机能。但骨折患者的骨折断端会释放钙离子,血清钙水平会升高,这可能导致肾脏负担增大;而血清磷水平偏低,又可能导致骨折不愈合^[9]。本实验发现,与模型组比较,高剂量盐丹能显著降低大鼠血清中钙水平,升高磷水平,从而保证血液中钙磷水平的基本恒定,而野生接骨木组大鼠上述指标无明显变化。

维持骨骼完整性的关键是保持体内成骨细胞与破骨细胞之间的平衡状态,在骨骼中成骨细胞可以合成并分泌ALP,故可将ALP作为成骨细胞活动的标志,其水平升高则表示成骨细胞活动旺盛^[10]。OCN是由成骨细胞合成并分泌的一种特异性非胶原骨蛋白,具有调节骨钙代谢的作用,在新骨形成过程中OCN可以促进基质钙化,加速骨基质成熟。本实验发现,与模型组比较,盐丹高剂量组大鼠血清中ALP水平和盐丹中、高剂量组大鼠血清中OCN水平均显著升高,这说明盐丹可促进成骨细胞合成,促进骨折愈合。而野生接骨木组大鼠上述指标无明显变化,可能是由于该产地野生接骨木的质量一般,导致其促进大鼠骨折愈合作用不明显。

Micro-CT扫描是评估骨折愈合过程最常用的方法,也是评价骨形态和骨微结构的“金标准”。HE染色是常用的病理学检查指标,其临床应用准确率较高,对临床病理诊断和动物实验药效评价具有重要意义。本实验发现,盐丹高剂量组大鼠治疗第2、4、8周,骨折部位可见骨性骨痂形成、骨折断端连接、骨折线逐渐模糊或消失、骨髓腔开通等缓慢而复杂的骨修复过程,骨组织骨折处可见大量肉芽组织、成纤维细胞、软骨细胞、新生骨小梁以及新生骨板等;治疗8周后,大鼠的BMD、BV/TV、Tb.N、Tb.Th显著升高,Tb.Sp显著降低,改善效果优于野生接骨木。这说明盐丹可以改善骨微结构,增强骨强度,从而促进骨折愈合。

综上所述,盐丹具有促进大鼠骨折愈合的作用,且对骨折相关指标的改善作用优于野生接骨木。

参考文献

[1] 郑国尧,彭磊,徐元翠,等.接骨膏促进新西兰兔骨折愈合的活性部位筛选[J].中国药房,2023,34(11):1349-1353.
ZHENG G Y, PENG L, XU Y C, et al. Screening of active fractions of Jiegu ointment for promoting fracture healing in New Zealand rabbits[J]. China Pharm, 2023, 34(11): 1349-1353.

[2] SUN J, FENG H, XING W H, et al. Histone demethylase LSD1 is critical for endochondral ossification during bone fracture healing[J]. Sci Adv, 2020, 6(45): eaaz1410.

[3] 胡熙明,张文康,朱庆生,等.中华本草:第二十卷[M].上

海:上海科学技术出版社,1999:544-548.

HU X M, ZHANG W K, ZHU Q S, et al. Chinese materia medica: volume 20[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 544-548.

[4] 王力,林敏,张俊.复方接骨木胶囊促进胫骨下1/3骨折愈合临床观察[J].实用中医药杂志,2017,33(4):358-359.
WANG L, LIN M, ZHANG J. Clinical observation on compound elderberry capsule promoting fracture healing of the lower 1/3 of tibia[J]. J Pract Tradit Chin Med, 2017, 33(4): 358-359.

[5] 孙丹丹,姚俊修,王刚,等.接骨木3个品种药材成分含量比较分析[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(24):124-130.
SUN D D, YAO J X, WANG G, et al. Comparative study on content of medicinal materials from three varieties of *Sambucus williamsii*[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2019, 25(24): 124-130.

[6] 努尔曼·衣西坚,努尔哈那提·沙依兰别克,吾兰·赛塔合买提,等.西伯利亚接骨木树皮提取物促进大鼠骨折愈合的机制研究[J].新疆医科大学学报,2020,43(8):1036-1042.
Nuerman·Yixijian, Nuerhanati·Shayilanbieke, Wulan·Saitahemaiti, et al. The mechanism of bark extract of *Sambucus sibirica* Nakai promoting fracture healing in rats[J]. J Xinjiang Med Univ, 2020, 43(8): 1036-1042.

[7] 吾兰·赛塔合买提,艾力江·阿斯拉,努尔哈那提·沙依兰别克,等.新疆西伯利亚接骨木树皮提取物促进骨折愈合[J].中国组织工程研究,2020,24(20):3122-3129.
Wulan·Saitahemaiti, Ailijiang·Asila, Nuerhanati·Shayilanbieke, et al. Xinjiang *Sambucus sibirica* Nakai bark extract promotes fracture healing[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2020, 24(20): 3122-3129.

[8] 侯雪峰,高玉海,柏鑫,等.大鼠股骨线性骨折模型建立方法的比较与优化改良[J].实验动物科学,2023,40(5):65-70.
HOU X F, GAO Y H, BAI X, et al. Comparison and improvement of methods for establishing linear fracture model of femur in rats[J]. Lab Anim Sci, 2023, 40(5): 65-70.

[9] 刘震,于训意,曹长征,等.接骨续筋丸促进大鼠骨折愈合的作用机制研究[J].中医正骨,2017,29(10):1-12.
LIU Z, YU X Y, CAO C Z, et al. Study on mechanism of action of Jiegu xujin wan in promoting fracture healing in rats[J]. J Tradit Chin Orthop Traumatol, 2017, 29(10): 1-12.

[10] 刘炜,罗会盛,邹恺平,等.健骨丸对去势大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响[J].中草药,2021,52(18):5615-5619.
LIU W, LUO H S, ZOU K P, et al. Effect of Jiangu pill on osteoporotic fracture healing in ovariectomized rats[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(18): 5615-5619.

(收稿日期:2024-04-30 修回日期:2024-10-29)

(编辑:邹丽娟)