

脑外伤影响肢体骨折愈合相关机制的研究进展

李 磊 夏德萌 许硕贵

摘 要 根据临床现象观察,伴有脑外伤的四肢骨折患者其骨痂形成速度较单纯四肢骨折患者快。本文筛查分析国内外相关文献,综述碱中毒、机械刺激、神经调节以及体液因子等在脑外伤促进骨折愈合中的影响因素,以探寻这一领域未来有价值的研究方向。

关键词 脑外伤 骨折愈合 形成机制

中图分类号 R4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.11.039

现代创伤所导致的骨折患者中有很大比例常在愈合期间发生骨不连,发生率达 10%,因此探究促进骨折愈合的相关机制显得尤为重要^[1]。在临床上 20 世纪就有相关报道,合并有脑外伤的四肢骨折患者与单纯骨折患者的骨折愈合比较过程有所不同。相关研究表明伴有脑外伤的四肢骨折患者骨痂的形成常常快于单纯骨折患者^[2]。因此本文从研究脑外伤对骨折愈合的影响因素出发,对当前已有机制假说等研究成果进行综述,以期能深入了解骨折愈合的机制,为临床应用提供参考。目前对于这一现象的作用因素的假说主要有:①碱中毒学说;②机械刺激学说;③神经调节学说;④体液学说。

一、碱中毒学说

骨折愈合受到局部理化因素的影响,脑外伤常常引起患者的过度通气,使血的 pH 值升高。Newman 等^[3,4]的回顾性研究通过对比合并脑外伤的骨折患者的动脉血 pH 值,发现该类患者的平均动脉 pH 值为 7.49(7.35~7.45)较正常值升高,呈碱中毒。他们推断合并脑外伤的骨折患者轻度碱中毒的内环境促进血钙在骨折处沉淀,进而加速骨痂形成及骨折愈合。但目前未发现有研究者对该假说进行验证。

二、机械刺激学说

骨折处动态的微动可能会刺激新骨形成从而促进骨折愈合。其中 Yamaji 等^[5]认为在骨折间隙较小的情况下骨折处的微动可以在早期促进骨痂形成并加速骨折愈合。因此国内有研究者猜想合并脑外伤

昏迷的骨折患者因脑外伤导致大脑皮质兴奋,患者常有躁动或肢体肌肉痉挛,使得骨折处存在不同程度的活动,刺激骨折处骨形态发生蛋白合成分泌从而骨痂形成加速促进骨折愈合^[6]。Perkins 等^[7]通过髓内针固定的方法排除了骨折处的微动因素,发现合并脑外伤的骨折患者与单纯骨折患者比较,骨痂量仍多且形成速度快。因此,机械因素是否是合并脑外伤的骨折患者骨折愈合加速的主要因素仍有待进一步研究探讨。

三、神经调节学说

研究表明不同水平的神经损伤对骨折愈合影响不同。有研究发现颅脑和外周神经的损伤可以加速骨折愈合而脊髓损伤导致成骨延迟^[8]。骨折时骨及骨膜上感觉神经会释放一种神经肽(neuropeptide, NP),已有研究证实神经肽在骨痂愈合和促进骨折愈合的过程中有重要作用。目前已报道可以促进骨折愈合的神经肽主要有降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptide, cGRP)、P 物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)等^[9]。释放这些神经肽的肽能神经在骨组织分布广泛,主要是骨膜、干骺端等骨组织生长活跃部位,其中含量较多的是免疫反应阳性的 cGRP 肽能神经。国内关于脑外伤加速骨折愈合的神经机制研究也主要是关于 cGRP 的研究。Hara - Irie 等^[10]对正常大鼠和失神经支配的大鼠的骨小梁进行比较,发现失神经支配的大鼠骨小梁密度明显增加,说明骨骺区破骨细胞活动受到降钙素基因相关肽阳性神经纤维的调节。

四、体液学说

Bidner 等^[11]用脑外伤患者的血清培养大鼠成骨细胞,发现合并脑外伤患者的血清促进成骨细胞有丝

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81741111,81571887)

作者单位:200082 上海,海军军医大学附属长海医院急诊科

通讯作者:许硕贵,电子信箱:shuogui126@126.com

分裂活性强于无脑外伤患者且效应存在剂量依赖性,因而提出体液学说。现阶段关于脑外伤后骨折愈合加速的机制的研究主要集中在体液学说方面,即合并脑外伤的骨折患者机体中最广泛的体液成分变化对骨折愈合的影响。研究目标主要是脑脊液和血清中在脑外伤合并骨折患者中有显著变化能够促进骨折愈合的体液因子。目前主要研究的体液种类有两个:激素和细胞因子或生长因子。

1. 激素:患者遭受脑外伤后,由于应激以及颅脑功能的影响,其内分泌系统往往有一系列变化,各种激素水平的变化可能会对骨折愈合产生影响。综合发现可能促进合并脑外伤患者骨折愈合的激素有生长激素(growth hormone, GH)、瘦素(leptin, LP)、甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)和催乳素(prolactin, PRL)。(1)生长激素:生长激素除了对于机体的一般性促生长作用以外,还可以通过直接刺激成骨代谢,作用于软骨细胞等方法促进骨折愈合。生长激素也可以通过刺激胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)合成表达,从而刺激骺板软骨细胞增殖。Bail等^[12]通过微型猪骨折愈合模型证明重组GH可以加速骨折愈合。Wilderburger等^[13]研究发现单纯骨折患者血清的GH水平在创伤早期有一过性升高,而合并脑外伤的骨折患者血清中的GH会有二次上升,且生长激素介导的IGF升高可长达14周,表明生长激素是促成脑外伤患者骨折加速的可能因素。(2)瘦素:瘦素是肥胖基因(OB)编码合成的一种多肽激素,在能量代谢、神经内分泌、血管生成等方面发挥重要作用。研究表明瘦素在中枢系统抑制成骨,而在外周促进成骨。Gordeladze等^[14]在体外培养的成骨细胞中加入瘦素,结果发现瘦素能够通过促进胶原合成从而促使成骨细胞转变为骨细胞。汪雷等^[15]检测对比单纯脑外伤、单纯骨折及骨折合并脑外伤患者血清瘦素水平,发现创伤后瘦素水平升高。姚翔等^[16]研究发现脑外伤中后期血清中瘦素升高明显,提示瘦素可能是加速骨折愈合的因素之一。(3)甲状旁腺激素:甲状旁腺激素是甲状旁腺主细胞分泌的多肽激素,生理功能主要是促进血钙升高,血磷降低。PTH对骨的作用有双向性,大剂量可促进破骨细胞分化,引起骨质吸收;小剂量间断给予PTH刺激成骨细胞,成骨增加。国内外研究者也发现合并脑外伤的骨折患者血清PTH值比单纯骨折患者和单纯脑外伤患者高,表明PTH可能是加速骨折愈合的因素之一。(4)催乳素:催乳素能够诱导人骨髓间充质

干细胞(human mesenchymal stem cell, hMSCs)增殖及向软骨细胞分化^[17]。除了生理状态下的波动,PRL在应激状态或受到包括脑外伤在内的多种创伤影响激素水平会显著改变。Wilderburger等^[18]研究发现,脑外伤合并四肢骨折的患者在创伤后5周血清PRL水平明显升高,其浓度峰值出现于成骨活跃阶段,提示PRL是影响成骨的因素之一。

2. 细胞因子:合并脑外伤的骨折患者血液中可以发现许多促进骨折愈合的细胞因子,这些细胞因子在骨折愈合过程中相互影响共同诱导成骨,又称骨诱导生长因子。目前研究的主要细胞因子有碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、血小板衍生性生长因子(platelet derivative growth factor, PDGF)、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等。(1)碱性成纤维细胞生长因子:FGF主要有aFGF和bFGF两种形式,aFGF主要促进软骨细胞生长,bFGF主要促进成骨过程。bFGF可以促进细胞有丝分裂、趋化、分化、血管形成,促进成骨细胞增生,加速骨、软骨等组织的修复。Wilderburger等^[19]发现单纯骨折患者和单纯脑外伤患者血清中的bFGF水平短暂升高,而脑外伤合并骨折患者血清bFGF水平呈现持续性升高。且Wilderburger团队还发现血清中bFGF的增加往往伴随碱性磷酸酶的显著增加,他们猜测这种变化与脑外伤促进骨折愈合有着重要关系。国内研究者也针对bFGF进行了许多实验,均发现合并脑外伤的骨折患者血清bFGF水平高于其他组且骨折愈合加快。他们推断脑外伤加速骨折愈合的原因可能是以下两点:①脑外伤后血清中bFGF水平增加,直接作用于骨折处,促进成骨细胞增殖,加速愈合;②bFGF作用于骨折处,对成骨细胞产生趋化作用,使更多干细胞向骨折处聚集,加速骨折愈合。(2)胰岛素样生长因子:胰岛素样生长因子受生长激素影响,生长激素在上文已有简述,IGF主要分为IGF-1和IGF-2两种。现有研究表明IGF-1是促进成骨的重要因子,它能减少骨胶原退化,加速胶原形成,增加骨质沉积,促进成骨细胞分化增殖。Wilderburger等^[13]研究发现合并脑外伤的骨折患者血清IGF-1水平较单纯骨折及单纯脑外伤患者高。随后国内对于IGF的研究均验证此现象并发现IGF浓度高峰延迟。郑少涛等^[20]研究

发现, IGF-2 在促进骨折愈合过程中有一定作用。(3) 血管内皮生长因子: 血管内皮生长因子作为一种主要的生长因子, VEGF 诱导骨折处血管生成, 改善缺氧状态并为成骨组织提供充足营养支持从而加速骨折愈合。脑外伤后患者缺氧状态提示 VEGF 可能是加速骨折愈合的一个可能因素。Tarkka 等^[21]第一次通过腺病毒 VEGF-A 基因转移方式验证了 VEGF 在骨折愈合中的作用。国内研究发现合并脑外伤的骨折患者骨折局部的血清 VEGF 表达高峰提前且峰值增加, 并证实脑外伤程度和 VEGF 表达呈正相关。(4) 转化生长因子: TGF- β 是转化生长因子超家族因子中的一种, 能够调节细胞生长分化, 在骨生长及修复中有重要作用。Schmidmaier 等^[22]研究证实使用 TGF- β 可以在早期加速大鼠胫骨骨折愈合。有观点认为骨折早期骨折处血肿内炎细胞和血小板分泌 TGF- β 促进骨折愈合, 而合并脑外伤的骨折患者颅脑血肿进一步分泌 TGF- β 并通过受损的血脑屏障作用于骨折处加速骨折愈合。但王守君等^[23]研究发现合并脑外伤的骨折患者血清 TGF- β 降低, 骨折局部的 TGF- β 浓度升高。他们推测 TGF- β 水平降低的原因是脑外伤合并骨折后 TGF- β 向损伤区趋化加速修复, 而损伤处的修复消耗大量 TGF- β 导致血清 TGF- β 水平下降, 在骨折愈合后恢复正常。(5) 血小板衍生性生长因子: 血小板衍生性生长因子作为骨生长因子能够促进成骨细胞, 成纤维细胞, 平滑肌细胞的分裂与增殖, 协同其他生长因子促进骨折愈合。国内研究者研究发现在合并脑外伤的骨折患者的脑组织及骨折处可检测出 PDGF 显著表达, 体外实验亦证实 PDGF 对骨折愈合的显著促进作用。由此推测 PDGF 可能是脑外伤促进骨折愈合的一种可能因素。(6) 骨形态发生蛋白: 骨形态发生蛋白属于 TGF- β 超家族, 具有诱导成骨作用。Park 等^[24]研究发现 BMP-2 成骨能力更强, 在局部成骨作用强, 且体内外均能成骨, 可以加速骨折愈合。郭启等^[25]通过免疫组化和 RT-PCR 检测合并脑外伤的骨折患者骨痂中 BMP-2 及其基因表达发现, 该类患者骨折处 BMP-2 mRNA 表达显著高于单纯骨折和单纯脑外伤患者。

五、展 望

骨折愈合是指损伤后骨组织及其功能的生理性修复, 是涉及成骨细胞、破骨细胞等多种细胞和影响因素共同参与的复杂过程。而脑外伤的预后取决于创伤后原发性和继发性损伤。颅脑在遭受创伤打击

时发生由脑震荡、脑挫伤、撕裂伤和轴突牵拉伤组成的原发性脑损伤。在原发性损伤后颅脑在复杂的免疫、生化、生理变化下产生继发性脑损伤。而继发性脑损伤受到不同过程的多种因子影响, 如炎症、水肿、细胞死亡、线粒体损伤、自由基产生和血-脑脊液屏障的破坏。骨折愈合与脑外伤之间的相互关系一直是研究的热点。

虽然早在 1960 年 Gibson 等首次报道合并脑外伤的股骨骨折患者的骨折处有大量骨痂形成, 但关于验证脑外伤加速骨折愈合的临床研究仍有待严格的随机对照研究。现有研究关于合并脑外伤的骨折患者骨折愈合加速机制的猜想主要有 4 种, 其中碱中毒和机械因素已有研究将其可能排除, 而体液学说是目前研究的重点^[7]。体液因子加速骨折愈合的机制可能有: (1) 脑外伤导致血-脑脊液屏障损伤, 颅脑内某种体液因子释放入血, 富集到骨折处加速骨折愈合。(2) 脑外伤导致颅脑功能破坏, 激素水平变化, 某种促成骨激素水平升高或抑制成骨激素降低从而促进成骨。(3) 神经学说在某种程度上因为神经支配局部释放的因子可以看作是体液的一种, 亦可以依照体液学说的研究方法进行评估。

目前针对体液学说的研究大多聚焦于某种单一影响因子, 如 TGF、VEGF、BMP 等, 通过在已知血清中促进成骨的因子中筛选脑外伤后快速增加的因子进行实验, 实验方法多是通过将实验动物分为单纯骨折组、单纯脑外伤组、脑外伤合并骨折组以及空白对照组, 对各组血清中研究因子进行测量对比得出结论。骨折愈合过程复杂, 影响因素影响因子繁多, 且不同因子间相互联系共同构成促进成骨的体液网络, 研究单一的体液因子往往忽视了体液整体的促成骨作用。笔者也注意到有些因子, 例如 GH 和 IGF 等, 并非同时产生, 它们之间有着从上至下的整条通路。已有研究者针对某些基因进行研究, 试图在上游找到影响骨折愈合的真正原因^[13]。故笔者针对目前现有基础研究建议可以通过近年来分子生物学中基因组学、蛋白组学、代谢组学等角度对这一现象进行深入研究。而在实验动物的选择上, 笔者发现啮齿类动物 SD 大鼠是众多研究的首选, 但存在着大鼠经受脑外伤后易死亡, 骨折模型难以建立等问题。

综上所述, 目前体液学说是否能正确解释这一现象以及哪些体液因子能够加速脑外伤患者的骨折愈合至今尚未有定论。但本文上述的各类原因有较大可能性解释这个持续了半个多世纪的困惑。倘若能

够针对这几种因子及其上下游进行深入研究,最终阐明这一机制并探明确切因子,利用该因子临床医生能够促进脑外伤患者骨折快速愈合,同时应用临床治疗骨折延迟愈合或骨不连患者,极大改善患者的预后。

参考文献

- Mousaei GM, Matin MM, Kazemi MH, *et al.* Application of mesenchymal stem cells to enhance non-union bone fracture healing[J]. J Biomed Mater Res A, 2019, 107(2): 301-311
- Bargellesi S, Cavin L, Scarponi F, *et al.* Occurrence and predictive factors of heterotopic ossification in severe acquired brain injured patients during rehabilitation stay: cross-sectional survey[J]. Clin Rehabil, 2018, 32(2): 255-262
- Newman RJ. Nuclear magnetic resonance: studies of abnormal muscle [D]. Oxford: University of Oxford, 1983
- Newman RJ, Duthie RB, Francis MJ. Nuclear magnetic resonance studies of fracture repair[J]. Clinical Orthopaedics and Related Research, 1985, 198: 297-303
- Yamaji T, Ando K, Wolf S, *et al.* The effect of micromovement on callus formation[J]. J Orthopaed Sci, 2001, 6(6): 571-575
- 孙庆仲, 刘丕熙. 合并颅脑损伤的肢体骨折异常骨化及其原因分析[J]. 中国厂矿医学, 1998, 11(6): 411-412
- Perkins R, Skirving AP. Callus formation and the rate of healing of femoral fractures in patients with head injuries[J]. J Bone Joint Surg, Br Vol, 1987, 69(4): 521-524
- Madsen JE, Hukkanen M, Aune AK, *et al.* Fracture healing and callus innervation after peripheral nerve resection in rats[J]. Clin Orthopaed Relat Res, 1998, 351: 230-240
- Elefteriou F. Regulation of bone remodeling by the central and peripheral nervous system [J]. Arch Biochem Biophys, 2008, 473(2): 231-236
- Hara-Irie F, Amizuka N, Ozawa H. Immunohistochemical and ultrastructural localization of CGRP-positive nerve fibers at the epiphyseal trabeculae facing the growth plate of rat femurs[J]. Bone, 1996, 18(1): 29-39
- Bidner SM, Rubins IM, Desjardins JV, *et al.* Evidence for a humoral mechanism for enhanced osteogenesis after head injury[J]. Journal of Bone & Joint Surgery, 1990, 72(8): 1144-1149
- Bail HJ, Kolbeck S, Krummrey G, *et al.* Systemic application of growth hormone for enhancement of secondary and intramembranous fracture healing[J]. Hormone Res Paediatr, 2002, 58(suppl 3): 39-42

- Wildburger R, Zarkovic N, Leb G, *et al.* Post-traumatic changes in insulin-like growth factor type 1 and growth hormone in patients with bone fractures and traumatic brain injury [J]. Wiener Klinische Wochenschrift, 2001, 113(3-4): 119-126
- Gordeladze JO, Drevon CA, Syversen U, *et al.* Leptin stimulates human osteoblastic cell proliferation, de novo collagen synthesis, and mineralization: impact on differentiation markers, apoptosis, and osteoclastic signaling[J]. J Cell Biochem, 2002, 85(4): 825-836
- 汪雷, 韦永中, 曹晓建, 等. 大鼠脑外伤并股骨骨折瘦素对骨折愈合的作用[J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25(2): 265
- 姚翔, 汪雷, 章洪喜. 脑外伤合并股骨骨折后 leptin 对骨折愈合的实验研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(1): 1-3
- Ogueta S, Muñoz J, Obregon E, *et al.* Prolactin is a component of the human synovial liquid and modulates the growth and chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. Mol Cell Endocrinol, 2002, 190(1-2): 51-63
- Wildburger R, Zarkovic N, Tonkovic G, *et al.* Post-traumatic hormonal disturbances: prolactin as a link between head injury and enhanced osteogenesis [J]. Journal of Endocrinological Investigation, 1998, 21(2): 78-86
- Wildburger R, Zarkovic N, Petek W, *et al.* Hypertrophic callus formation and craniocerebral trauma: early diagnosis and behavior of basic fibroblast growth factor[J]. Der Unfallchirurg, 1996, 99(1): 17-23
- 郑少涛, 林喜容, 周少鹏. 脑外伤合并骨折患者血清胰岛素生长因子 II 水平的变化[J]. 中国现代医生, 2014, 52(2): 19-20
- Tarkka T, Sipilä A, Jämsä T, *et al.* Adenoviral VEGF-A gene transfer induces angiogenesis and promotes bone formation in healing osseous tissues[J]. J Gene Med, 2003, 5(7): 560-566
- Schmidmaier G, Wildemann B, Ostapowicz D, *et al.* Long-term effects of local growth factor (IGF-I and TGF- β 1) treatment on fracture healing: a safety study for using growth factors[J]. J Orthopaed Res, 2004, 22(3): 514-519
- 王守君, 张柳, 孙良智, 等. 大鼠股骨骨折合并脑外伤时骨愈合过程中 TGF- β 1 的作用[J]. 医学争鸣, 2006, 27(15): 1407-1410
- Park YJ, Kim KH, Lee JY, *et al.* Immobilization of bone morphogenetic protein-2 on a nanofibrous chitosan membrane for enhanced guided bone regeneration [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2006, 43(1): 17-24
- 郭启, 张柳. 脑外伤对骨折愈合中骨形成蛋白 2 表达的影响[J]. 中国修复重建外科杂志, 2007, 21(10): 1040-1044

(收稿日期: 2019-03-15)

(修回日期: 2019-03-20)

(接第 187 页)

- Chow L, Aslam R, Speck ER, *et al.* A murine model of severe immune thrombocytopenia is induced by antibody- and CD8⁺ T cell-mediated responses that are differentially sensitive to therapy [J]. Blood, 2010, 115: 1247-1253
- Audia S, Rossato M, Santegoets K, *et al.* Splenic TFH expansion participates in B-cell differentiation and antiplatelet-antibody production during immune thrombocytopenia [J]. Blood, 2014, 124(8): 2858-2866
- 丁艳, 徐浩, 冯春燕, 等. 外周血 CD4⁺ CXCR5⁺ Tfh 样细胞在 ITP 患者的变化及其临床意义 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2017, 38(19): 2239-2242
- Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW, *et al.* Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura [J]. J Labo Clin Med, 1990, 115(5): 636-645
- Samy E, WaX S, Huard B, *et al.* Targeting BAFF and APRIL in sys-

temic lupus erythematosus and other antibody-associated diseases [J]. Int Rev Immunol, 2017, 36(1): 3-19

- Lee SJ, Oh HJ, Choi B, *et al.* Serum 25-Hydroxyvitamin D3 and BAFF levels are associated with disease activity in primary sjogren's syndrome [J]. J Immunol Res, 2016, 2016: 5781070
- 吕俊廷, 梁海燕, 姜朝晖. BAFF 在原发免疫性血小板减少症发病中的作用 [J]. 临床医学工程, 2018, 25(6): 781-782
- Gözmen S, Karapinar TH, Tüfekçi Ö, *et al.* B cell activating factor, a proliferation inducing ligand and co-stimulatory molecules in the pathogenesis of immune thrombocytopenia in childhood [J]. Blood Coagulat Fibrinolys, 2016, 27(5): 494-499
- 王明镜, 许勇钢, 丁晓庆, 等. 免疫性血小板减少症患者的细胞免疫功能研究 [J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2018, 12(2): 65-69

(收稿日期: 2019-01-04)

(修回日期: 2019-01-15)