

几丁糖与人工骨联合应用预防椎板切除术后硬膜外粘连的实验研究

陈立科, 李康华, 曹盛俊

(中南大学湘雅医院骨科 410008 湖南省长沙市)

【摘要】目的:观察椎板切除术后用几丁糖(CTH)的同时在椎板缺损处植入磷酸三钙人工骨(TCP)预防硬膜外瘢痕粘连的效果。**方法:**40只纯种日本大耳白兔随机分成A、B、C、D四组,制作L4椎板损伤模型。A组硬膜外涂布生理盐水,B组硬膜外涂布几丁糖,C组硬膜外覆盖人工骨,D组硬膜外涂布几丁糖的同时加人工骨覆盖。术后12周对椎板切除部位进行大体观察、组织学观察及生化检查,比较各组间瘢痕形成和粘连情况。**结果:**B、C、D组的改良Rydell-Balazs粘连韧度评分、胶原含量及改良Nussbaum组织学评分均优于A组($P<0.01$),D组优于B组与C组($P<0.05$),B组与C组无显著性差异($P>0.05$)。**结论:**联合应用几丁糖和人工骨能有效预防硬膜外瘢痕粘连的形成,比单独应用几丁糖和人工骨预防效果好。

【关键词】椎板切除术;硬膜;粘连;几丁糖;人工骨

中图分类号:R318.08 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2005)-04-0239-03

Prevention of epidural adhesion after laminectomy by the use of chitin combined with artificial bone/
CHEN Like, LI Kanghua, CAO Shengjun/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2005, 15 (4): 239~
241

【Abstract】 Objective: To observe the effect of chitin cooperated with artificial bone (beta-tricalcium phosphate, TCP) in the prevention of fibrous scar formation in the epidural space after laminectomy. **Method:** 40 rabbits were divided randomly into 4 groups. Laminectomy was performed in lumbar 4 segment, and the exposed duras were covered with saline solution (group A), chitin (group B), TCP (group C), and chitin combined with TCP (group D) respectively. Gross score, biochemical and histological evaluation of the vertebral laminae involved were carried out at 12 weeks postoperatively. **Result:** The Rydel-Balazs score, amount of collagen and Nussbaum score in group B, C, D were obviously higher than those in group A ($P<0.01$), the effect of group D was superior to that of group B and C, no significant difference between group B and C was observed ($P>0.05$). **Conclusion:** Use chitin cooperated with TCP has a better effect on prevention of peridural adhesion after laminectomy than use of chitin or TCP alone.

【Key words】 Laminectomy; Dura mater; Adhesions; Chitin; Artificial bone

【Author's address】 Department of Orthopaedic, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan, 410008, China

椎板切除术后在椎板缺损处可形成大量的瘢痕组织,瘢痕与硬膜及神经根粘连、牵扯、压迫、卡压神经而引起腰腿疼痛,导致下腰部手术失败综合征(FBSS)^[1]。研究有效预防硬膜周围瘢痕粘连的材料和方法仍是骨科领域亟待解决的问题之一。我们依据纤维化形成的三维立体学说,采用几丁糖涂布于硬膜周围,同时在椎板缺损处植入人工骨,以期更好地预防硬膜外瘢痕粘连。

第一作者简介:男(1970-),主治医师,医学博士,研究方向:骨外科

电话:(0731)6495643 E-mail:chenlike5482@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

纯种日本大耳白兔40只,雌雄不限,体重1.5~2.0kg。随机分成4组,每组10只。A组为生理盐水对照组;B组为几丁糖组;C组为人工骨组;D组为几丁糖加人工骨组。几丁糖(chitin)及人工骨(beta-tricalcium phosphate)由上海其胜生物制剂实业公司提供。人工骨术前在无菌条件下制成1.0×0.8cm大小的人工椎板。

1.2 实验方法

实验动物用1%戊巴比妥(30mg/kg)耳缘静脉

注射全麻,俯卧并置于特制的固定架上,手术野去毛,常规络合碘液消毒皮肤,铺巾,以 L4 为中心,切开皮肤及筋膜约 5cm,钝性分离骶棘肌,显露 L4 椎板,以微型小凿慢慢凿去 L4 左侧椎板,开窗约 1.0×0.5cm 大小,钳夹硬膜 3 处,使硬膜受损,但不漏脑脊液。椎板切除损伤模型建立完成。A 组在硬膜外涂布生理盐水 0.5ml, B 组在硬膜外涂布几丁糖 0.5ml, C 组在椎板缺损处植入人工骨椎板, D 组在硬膜外涂布几丁糖 0.5ml 后再在椎板缺损处植入人工骨椎板。各组处理后,缝合切口,术后用络合碘消毒切口,回笼饲养。B 组与 D 组各有 1 只动物死亡,未补充。术后 12 周处死动物,取出实验段腰椎标本进行观察。

1.3 检测方法

1.3.1 粘连性状观察 观察每组动物椎板缺损处疤痕与硬脊膜的关系及周围疤痕生成情况,粘连情况根据改良 Rydell-Balazs 标准^[2]进行粘连韧度评分,0 分:硬膜与疤痕组织无明显粘连;1 分:硬膜外有薄而散的膜性粘连,但牵拉疤痕组织(或充填组织)粘连易与硬膜分离;2 分:硬膜与疤痕粘连较广泛和致密,但仍可钝性分离,分离后硬膜仍完整;3 分:粘连致密,硬膜与疤痕需锐性分离,分离后的硬膜难以保持完整。

1.3.2 生化检查 用直径 2mm 的自制空心穿刺针在椎板与硬膜之间取长 10mm 的组织块。按王秋根等^[3]的原理和方法,推算疤痕含量。

1.3.3 组织学检查 每组标本用 10% 福尔马林液固定 1 周,再用 10% 硝酸脱钙 2 周。将 1.0cm 椎板缺损脊椎标本均等分为 3 段,分别脱水和石蜡包埋,每段横切片 2 枚,厚约 3μm,分别行 HE 染色,普通光镜观察。按改良 Nussbaum 标准^[4]行组织学评分。

1.4 统计学处理

每组测得的粘连韧度评分,组织学评分用 2×2 析因分析,胶原纤维含量结果用 q 检验,统计学显著水平为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 肉眼及体视解剖显微镜下观察结果

A 组在椎板切除部位有大量疤痕形成,硬膜与疤痕组织粘连,硬膜后方疤痕组织对硬膜囊产生压迫,硬膜与疤痕粘连牢固,硬膜与疤痕难以分离,神经根活动度差。B 组椎板切除部位疤痕组织

较少,硬膜与椎板之间疤痕疏松,硬膜与疤痕可分离,分离后硬膜仍可保持完整。C 组椎板后部有较多疤痕组织,人工椎板已被纤维软骨爬行替代,质地较硬,硬膜与椎板之间有少量纤维组织增生,硬膜有轻度粘连。D 组椎板切除部位疤痕组织甚少,人工骨已基本吸收,人工椎板已被纤维软骨替代,其与周围椎板结合牢固,质地较硬,难以压碎,硬膜与椎板之间疤痕组织很少,硬膜与疤痕粘连甚轻,神经根无卡压,活动度可。根据 Rydell-Balazs 标准对粘连韧度的评分结果见表 1。

2.2 生化检查

用穿刺针在椎板与硬膜间取同等量的组织块,测量硬膜外胶原含量,结果见表 1。

2.3 组织学检查

A 组在椎板缺损处有大量致密的纤维细胞,有玻璃样变,硬膜粘连、牵拉明显,纤维组织对硬膜囊压迫严重,硬膜囊明显变形,硬膜囊与椎板之间无间隙,紧邻骨缺损的边缘有编织骨出现,但炎性细胞增生不明显(图 1、2,后插页 II)。B 组在硬膜的后方有少量疤痕组织增生,有少量炎性细胞浸润,几丁糖已被降解吸收,硬膜与疤痕之间有空隙,纤维细胞少量增生,体积小(图 3、4,后插页 II)。C 组椎板外纤维组织较致密,硬膜外纤维组织少,硬膜粘连轻,人工椎板被纤维软骨替代(图 5、6,后插页 II)。D 组硬膜外纤维组织很少,硬膜无明显粘连,硬膜囊无压迫,无炎性细胞浸润,人工椎板被纤维软骨替代(图 7、8,后插页 II)。改良 Nussbaum 组织学评分见表 1。

表 1 各组改良 Rydell-Balazs 粘连韧度评分、硬膜外胶原纤维含量(AOF 值)、改良 Nussbaum 组织学评分 ($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i>	Rydell-Balazs 评分(分)	胶原含量 (mg/g)	改良 Nussbaum 评分(分)
A 组	10	29.0±1.35 ^①	25.43±3.07 ^①	29.5±2.25 ^①
B 组	9	10.5±1.92 ^②	18.33±1.08 ^②	11.0±1.64 ^②
C 组	10	12.0±1.65	17.49±1.32	12.5±1.83
D 组	9	2.5±1.32 ^③	13.94±0.76 ^③	3.0±1.03 ^③

注:①与 B、C、D 组比较 $P<0.01$;②与 C 组比较 $P>0.05$;③与 B、C 组比较 $P<0.05$

3 讨论

3.1 硬膜周围粘连形成的原因

疤痕组织形成是椎板切除术后组织缺损区修复的必然产物。通常在术后 2~3d,成纤维细胞在炎性介质、生长因子的趋化作用下,出现在椎板缺

损区,术后 5~6d 开始生成胶原,产生胶原纤维,约 4 周后,成纤维细胞转变为纤维细胞,瘢痕开始退行性变,趋向成熟^[5]。本实验粘连的形成主要源于椎管后方的创伤、血肿和纤维母细胞的增殖,创伤—血肿—纤维母细胞的增生—瘢痕与硬膜的接触可能是形成硬膜粘连的基本环节。

3.2 几丁糖的生物特性及其防粘连作用

几丁糖是一种聚氨基葡萄糖,具有良好的生物相容性、生物可降解性及生物学活性的高分子多糖类物质。在本实验中几丁糖有较好的预防硬膜外瘢痕粘连作用,其具有高分子纤维网络结构,涂布于硬膜表面起到三维立体防护作用,在组织修复期形成一种暂时的屏障。机体创伤修复过程中,伤后 3 周是胶原纤维形成最旺盛的时期,几丁糖凝胶在椎管内能停留 3 周以上,这一降解吸收时相使之能有效地防止瘢痕与硬膜接触,从而减少粘连形成^[6]。同时选择性促进上皮细胞、内皮细胞生长而抑制成纤维细胞生长,从而促进组织生理性修复,抑制瘢痕形成,减少组织粘连。几丁糖还具有局部止血作用及抑制血纤维蛋白形成,从而减少了因血肿机化而造成的组织粘连。高浓度、高分子量几丁糖能抑制粒细胞迁移和吞噬作用,并且抑制血小板的沉积,显示出几丁糖抗炎特性,能减轻局部的炎性反应,抑制瘢痕组织形成,促进组织生理性愈合。本实验中几丁糖组硬膜外瘢痕组织较对照组明显减少($P<0.01$),硬膜囊无明显牵拉、卡压、变形。

3.3 磷酸三钙的特性及其防粘连作用

将磷酸三钙人工骨制成人工椎板植入椎板缺损处能有效地将硬膜与骶棘肌粗糙面隔离开来,从而防止椎板后方纤维组织向椎管内生长,同时也能防止疤痕组织对硬膜囊和脊髓的压迫。虽然 TCP 能生物降解,但它能引导骨组织内生性生长,它的生物降解与骨再生同步发生^[7]。在术后 4 周开始生物降解,被骨组织爬行替代,至 12 周时人工椎板基本被生物降解,骨组织呈纤维样软骨,其与周围椎板结合较牢固,完全能抵抗来自后方的瘢痕组织的压迫和侵袭,以后再生的椎板已逐渐形成^[8]。从而既有效地防止了硬膜外粘连,同时也保持了脊柱的连续性和稳定性。本实验用人工椎板植入椎板缺损处,与对照组比较其粘连韧度评分、组织学评分及 AOF 均明显优于对照组。

3.4 联合运用几丁糖和人工骨的防粘连作用

虽然几丁糖对预防硬膜外粘连有较好的疗效,但几丁糖术后 3 周开始吸收,6 周时降解吸收完全^[9]。晚期来自后方的纤维组织仍可长入椎管内,使硬膜与瘢痕组织粘连。而人工骨的植入对来自椎板前方的瘢痕粘连效果较差。故在硬膜上涂抹几丁糖的同时再在椎板缺损处植入人工骨,既发挥了几丁糖的止血、抗炎,抑制瘢痕组织形成,促进组织生理性愈合的作用,同时在晚期人工骨能有效地将瘢痕与硬膜隔离开来,从而很好地起到了防粘连的作用。既起到三维立体防护,又恢复了脊柱的连续性和稳定性,起到长期预防硬膜外粘连的作用。本组实验 D 组从组织学评分、粘连韧度评分及胶原纤维含量测定均优于 A、B、C 组。因此,我们认为,用几丁糖联合人工骨防止硬膜外粘连具有良好的效果,为临床脊柱外科术后防止硬膜外粘连提供了一种可参考的方法。

4 参考文献

1. obertson JT. Role of peridural fibrosis in the failed back; a review[J]. Spine, 1996, 5(1): 2-6.
2. Rydell NW, Balazs EA. Effects of intra-articular injection of hyalacrinic acid on the clinical symptoms of oostearhritics on granulation tissue for mation[J]. Clin Orthop, 1971, 11(3): 139-142.
3. 王秋根, 高建章, 刘植珊, 等. 高压氧对周围神经损伤再生作用的实验研究[J]. 解放军医学杂志, 1991, 16(2): 332-333.
4. Nussbaum CE, McDonald JV, Baggs RB. Use of vicryl(polyglacing 910) mesh to limit epidural scar formation after laminectomy [J]. Neurosurg, 1990, 26(11): 649-654.
5. 王正国主编. 创伤愈合与组织修复[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1998. 12.
6. Brothi J, Pirotte B, Dewitte O. Prevention of epidural fibrosis in a prospective series of 100 primary lumb-sacral clisectomy patients: follow up and assessment at re-operation [J]. Neurol Res, 1999, 21(1): 47-50.
7. Wang W, Chen Z, Chen T. Latest progress in studies of self-setting calcium phosphate cement [J]. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Za Zhi, 2000, 17(1): 80-83.
8. Wang J, Chen W, Li Y. Biological evalulation of calcium phosphate cerement vertebral laminae [J]. Biomaterials, 1998, 19(15): 1387-1392.
9. Bendebba M, Alphen H, Long DM. Associated between peridural scar and activity[J]. Neurol Res, 1999, 21(4): 37-42.

(收稿日期: 2004-08-02 修回日期: 2004-09-21)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 卢庆霞)