

基础研究

等离子刀行颈椎间盘髓核成形术安全性的实验观察

康 波¹, 李宽新², 史晨辉¹

(1 新疆维吾尔自治区石河子大学医学院第一附属医院骨一科 832000;

2 华中科技大学同济医学院附属同济医院骨科 430030 武汉市)

【摘要】目的:观察等离子刀在不同能量档位、相同消融时间行颈椎间盘髓核成形术(coblation nucleoplasty, CN)时的效能及安全性。**方法:**7 具 18 月龄新鲜宰杀羊颈椎标本(包括周围肌肉及组织),每具含 6 个颈椎间盘,将其中 40 个椎间盘随机分为 3 个实验组和 1 个对照组,每组 10 个间盘。实验组分别用 80W(1 档,A 组)、100W(2 档,B 组)、120W(3 档,C 组)行 CN,消融时间相同;对照组模拟手术操作,不行消融。术中测量椎间盘前缘、后缘、椎间孔处温度,术后测量 CN 在椎间盘中形成的消融腔截面积大小,并取对应节段双侧脊神经节用免疫组化 S-P 法测定热休克蛋白 70(Heat shock Protein 70, HSP70)的表达。**结果:**术中各组椎体前缘、后缘、椎间孔处的温度无显著性差异,取三个测量点温度平均值,对照组、A 组、B 组、C 组的温度分别为 $20.60^{\circ}\text{C} \pm 0.22^{\circ}\text{C}$ 、 $28.69^{\circ}\text{C} \pm 0.39^{\circ}\text{C}$ 、 $35.47^{\circ}\text{C} \pm 0.51^{\circ}\text{C}$ 、 $41.73^{\circ}\text{C} \pm 0.31^{\circ}\text{C}$,各组间比较有统计学意义;对照组穿刺形成的穿刺腔截面积为 $2.01 \pm 0.00 \text{mm}^2$,A、B、C 组消融腔截面积分别为 $3.00 \pm 0.45 \text{mm}^2$ 、 $9.447 \pm 1.27 \text{mm}^2$ 、 $27.36 \pm 2.00 \text{mm}^2$,A 组与对照组比较无显著性差异($P > 0.05$),B 组与 A 组和对对照组比较有显著性差异($P < 0.05$),C 组与其余三组比较均有显著性差异($P < 0.05$)。温度和消融腔截面积与能量成正相关(温度与能量 $r = 0.97$,消融腔与能量 $r = 0.96$, $P < 0.05$)。C 组免疫组化染色 HSP70 阳性表达,阳性率为 95%(19/20),对照组和 A、B 组 HSP70 表达阴性。**讨论:**相同消融时间下等离子刀髓核成形术的效能、邻近组织的温度与能量成正相关,周围组织热损伤与能量的选择密切相关,相比较而言选择 100W 能量(2 档)行 CN 手术效果和安全性都较为可靠。

【关键词】颈椎间盘;等离子刀髓核成形术;热休克蛋白

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2009.02.12

中图分类号:R681.5 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2009)-02-0130-04

The safety of coblation nucleoplasty in cervical intervertebral disc/KANG Bo,LI Kuanxin,SHI Chenhui//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord,2009,19(2):130-133

【Abstract】Objective:To observe the potency and the security of coblation nucleoplasty(CN) in cervical intervertebral disc at different levels of energy with same time period.**Method:**7 fresh 18-month-old sheep cervical spine with surrounding muscle and tissue were used,each including 6 cervical intervertebral discs.The specimen(40 intervertebral discs) were randomly divided into the experimental group(10 for each subgroups) and the control group(10 disc).The experimental group was subdivided into group A(1 grade,80W),group B(2 grade,100W),group C(3 grade,120W).The control group underwent mimic operation without ablation.Intraoperative measurements of the temperature over anterior and posterior borders of intervertebral disc and intervertebral foramen were performed.After CN,the section area of ablation cavity size in the disc was checked,and heat shock protein 70 (HSP70) expression was investigated by immunohistochemical S-P method.**Result:**There were no significant differences in the temperature measured at anterior and posterior borders of vertebral body and intervertebral foramen for each group ($P > 0.05$),the mean value of the temperature from the three measured sites in control group,group A,group B,and group C were $20.60^{\circ}\text{C} \pm 0.58^{\circ}\text{C}$, $28.70^{\circ}\text{C} \pm 1.57^{\circ}\text{C}$, $35.47^{\circ}\text{C} \pm 0.62^{\circ}\text{C}$, $41.73^{\circ}\text{C} \pm 0.35^{\circ}\text{C}$.Comparison among these groups showed a remarkable difference ($P < 0.05$);the section area of the punctured cavity in control group was $2.01 \pm 0.00 \text{mm}^2$,the sectional area of ablation cavities in group A,B,and C was $3.00 \pm 0.45 \text{mm}^2$, $9.447 \pm 1.27 \text{mm}^2$,and $27.36 \pm 2.00 \text{mm}^2$.There was no significant difference between control group and group A ($P > 0.05$),group B showed significantly different compared with group A and control group,group C presented significantly different compared with the remaining three

第一作者简介:男(1972-),主治医师,医学硕士,研究方向:关节外科

电话:(0993)2859427 E-mail:kangbo72@sina.com

groups ($P<0.05$). The temperature and the section area of ablation cavity had positive correlation to the energy (temperature with energy $r=0.97$, ablation cavity with energy $r=0.96$, $P<0.05$). The immune dyeing of HSP70 expressed positively in group C, with a positive rate 95% (19/20), however the expression of HSP70 was negative in the control group, group A and B. **Conclusion:** The efficacy of CN is positively correlated to the temperature of surrounding tissue and the energy when it is applied at the same time period. However, the thermal injury of the surrounding tissue is closely related to the choice of energy. Comparatively speaking, the efficacy and safety of CN are more reliable by the energy option of 100W (2 grade).

[Key words] Cervical intervertebral disc; Coblation nucleoplasty; Heat shock protein

[Author's address] Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital, Medical College of Shihezi University, Xinjiang, 832000, China

近年来,等离子消融技术得到了迅猛发展,并已应用于脊柱外科。颈椎前路应用等离子髓核消融术(CN)是否安全有效是临床关注的一个焦点。本研究应用不同档位能量对羊颈椎间盘行CN,观察不同能量、相同时间CN时椎间盘周围温度变化、髓核消融腔面积、脊神经节细胞HSP70表达情况,探讨不同能量CN的效能及安全性,为临床安全和有效应用提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 仪器与标本

实验手术器械由石河子大学医学院第一附属医院骨一科提供,电子探针式温度仪购自深圳华谊仪表有限公司,等离子刀手术系统ArthroCare购自美国杰西公司,游标卡尺及测量工具购自上海华强精密量仪有限公司,鼠抗羊HSP70购自Santa Cruze公司。7具18月龄新鲜宰杀羊颈椎购自石河子市牛羊屠宰市场,包括周围肌肉及组织,每具含6个颈椎椎间盘。主要实验用试剂:Tris-HCl, DAB显色剂,磷酸缓冲液(PBS),微波抗原修复液,苏木素染色剂,酸酒精。

1.2 实验方法

将其中40个椎间盘随机分为3个实验组和1个对照组,每组10个。将3枚电子探针式温度仪探头放置在椎间盘前缘、后缘及椎间孔内壁处(包埋于肌肉中),X线透视机证实探头位置放置良好,记录每个椎间盘3个部位的温度。X线透视下用克氏针标记测量穿刺节段椎间隙前后径,并标记进针深度。使用颈椎穿刺套管针进行穿刺,穿刺点在椎间隙前缘中点,进针方向与椎间隙横轴成 90° 角,侧位透视针尖位于椎间盘中 $2/3$ 处,距椎间盘后缘正中5mm处,穿刺成功后退出针芯,换接等离子刀,实验组分别用80W(1档,A

组)、100W(2档,B组)、120W(3档,C组)进行CN,每档能量应用10个椎间盘,治疗刀头前端起点为进入正中纤维环内层、终点为距对侧纤维环内层正中5mm处,脚踏消融键,缓慢插入治疗刀头至终点,此过程为约5s,此时可见烟气自穿刺针口溢出,将治疗刀头按进入速度缓慢撤出至起点,同时脚踏热凝键,此过程为约5s,将消融过程重复1次。刀头治疗长度范围控制在10mm范围内。对照组模拟手术操作,不进行消融;手术时记录各个椎间盘三个点的最高温度值。术后立即分离颈部肌肉,暴露出脊柱,用骨刀及咬骨钳打开椎管,显露双侧椎间孔,暴露双侧脊神经节,小心切取双侧带部分神经根的脊神经节,立即以中性甲醛固定12~24h。将固定后的组织尽快进行常规脱水、二甲苯透明后用石蜡包埋,每个蜡块标本连续切片5张,片厚 $3\sim 4\mu\text{m}$,以备染色。去除横突及每个椎体的附件,保留椎体及与之相连的椎间盘,用锯沿椎间盘两端(包含上下部分椎体)小心锯取完整的颈椎间盘, -40°C 下保存12~24h。

用卡钳卡住刚从 -40°C 冰箱内取出的椎间盘标本,用烧伤用长取皮刀片沿椎间盘消融穿刺点(对照组穿刺点)横轴小心切开椎间盘,显露CN的消融腔(穿刺腔),用测量尺及游标卡尺测量椎间盘汽化消融腔和对照组穿刺腔直径,计算腔的截面积。

切片置于 60°C 烤箱烘烤1h后常规脱蜡水化,加0.3%过氧化氢3min,去除内源性过氧化物酶;PBS水化,加热修复抗原,正常羊血清封闭,分别滴加HSP70一抗 4°C 孵育过夜。加二抗 37°C 、30min;加三抗 37°C 、30min后用DAB显色,苏木素复染,阴性对照以PBS代替一抗,已知阳性切片作阳性对照。细胞浆染成黄色或棕褐色为阳性,每张切片通过电脑计数2次,每次计数200个细

胞,取其均值,阳性细胞超过 10%为阳性,少于 10%为阴性^[1]。

1.3 统计学处理

数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 16.0 统计学软件行统计学处理。各组温度及消融腔截面行单因素方差分析,采用 SNK-q 检验方法进行组间的两两比较,温度、消融腔截面积与能量行等级秩相关分析,以 $\alpha=0.05$ 作为检验水准。

2 结果

实验组消融前和消融时、对照组穿刺后椎间盘周围组织的温度见表 1。各组相同状态下三个不同部位温度无统计学意义($P>0.05$),取三点的平均温度作为椎间盘邻近组织的温度,3 个实验组消融前与对照组椎间盘周围组织温度比较无显著性差异($P>0.05$);消融时与对照组和同组消融

前比较均有显著性差异($P<0.05$);用 80W(A 组)和 100W(B 组)能量消融时椎间盘周围组织温度均未超过 37℃;用 120W(C 组)能量消融时椎间盘周围温度超过 41℃。对照组穿刺腔面积为 $2.01\pm 0.00\text{mm}^2$,A、B、C 三组消融腔截面积分别为 $3.00\pm 0.45\text{mm}^2$ 、 $9.45\pm 1.27\text{mm}^2$ 、 $27.36\pm 2.00\text{mm}^2$ 。A 组消融腔截面积与对照组穿刺腔截面积比较无显著性差异($P>0.05$),B 组与 A 组和对照组比较有显著性差异($P<0.05$),C 组与其余三组比较均有显著性差异($P<0.05$)。各实验组消融时椎间盘周围的温度及消融腔截面积与能量成正相关(温度与能量 $r=0.97, P<0.05$; 消融腔面积与能量 $r=0.96, P<0.05$)。C 组 HSP70 免疫组化染色阳性率为 95%(19/20),其他 3 组均为阴性(图 1~4,后插图 II)。

表 1 实验组消融前及消融时和对照组穿刺后椎间盘周围组织的温度 ($\bar{x}\pm s, ^\circ\text{C}$)

	椎体前缘		椎体后缘		椎间孔处		合计	
	消融前	消融时	消融前	消融时	消融前	消融时	消融前	消融时
对照组	20.60±0.21	—	20.50±0.22	—	20.60±0.23	—	20.60±0.22	—
80W(A 组)	20.80±0.23	28.63±0.39	20.70±0.24	28.70±0.38	20.90±0.25	28.76±0.40	20.80±0.24 ^①	28.69±0.39 ^{②③}
100W(B 组)	21.10±0.25	35.40±0.49	20.90±0.26	35.50±0.52	21.00±0.25	35.60±0.51	21.00±0.25 ^①	35.47±0.51 ^{②③}
120W(C 组)	20.70±0.19	41.67±0.30	20.80±0.21	41.73±0.31	20.90±0.22	41.80±0.32	20.80±0.21 ^①	41.73±0.31 ^{②③}

注:与对照组比较^① $P>0.05$,^② $P<0.05$;^③与同组消融前比较 $P<0.05$

3 讨论

目前 CN 已用于治疗颈、腰椎间盘突出症, CN 不仅可以利用射频能量去除少量髓核组织,并可在髓核内部形成孔道,最终使椎间盘内的压力降低,从而发挥疗效。还有学者^[2]研究证实 CN 可以降低兔退变椎间盘内磷脂酶 A2(PLA2)的活性,其可能是治疗椎间盘源性腰痛的机制之一。Nardi 等^[3]应用 CN 治疗 50 例颈椎间盘突出症患者,术后优良率为 80%;王晓宁等^[4]对 19 例颈椎间盘突出症患者实施了该手术,术后主观满意度优良率达 95%。李放等^[5]治疗椎间盘源性腰痛患者 62 例,采用改良 Stauffer-Coventry 评定系统评价术后的日常活动及满意率,术后 12 个月时随访满意率为 86%。

颈椎 CN 与其他脊柱微创技术相比,应用时间较短,还缺乏临床大样本的应用研究,其临床并发症的报道较少,目前临床上用 CN 治疗椎间盘突出症的并发症主要为穿刺部位疼痛或出现新的疼痛区域、损伤血管形成血肿等。Bhagia 等^[6]对 53

例 CN 术后患者进行随访,76%的患者术后出现穿刺部位疼痛,26%出现麻木或麻痛感,15%出现疼痛加重和出现新的疼痛区,2 周后均自行缓解。表明颈椎 CN 存在周围组织的损伤,其导致损伤的原因有待进一步研究证实。颈椎前路应用该技术进行 CN 是否安全有效已成为临床关注的一个焦点。

等离子刀在低温消融汽化髓核过程中,虽然等离子刀的温度可被精确地控制在 40℃~70℃,但这一温度范围完全达到了导致组织热损伤的临界温度 42℃^[7],故确定椎间盘周围组织避免 CN 热损伤的安全温度有着重要临床价值。热休克蛋白(HSP)是细胞在生理状态下必需而在应激状态特别是热应激时表达增多的一类保护性蛋白质,广泛存于细菌到人类的各种生物中,在受到热刺激后均有 HSP 的表达^[8]。HSP70 是 HSP 中最主要、含量最丰富的一类,HSP70 在热应激后生成最为显著,临床上已开始将 HSP 的表达作为一种早期损伤的标志^[9]。本研究用 3 个能量级对羊椎间盘

行 CN, 并与对照组比较脊神经节细胞 HSP70 蛋白表达情况。结果表明, 在相同时间 CN 时 HSP70 蛋白表达与温度升高有关, C 组能量使椎间盘周围组织温度升高, 达到了导致脊神经节细胞热损伤的温度, 引起脊神经节细胞 HSP70 蛋白表达, 与 Storhbehn 等^[7]的研究结果相符。表明 CN 温度升高引起的热损伤与能量档位的选择密切相关。临床上为避免 CN 可能造成的损伤, 档位的合理选择应在 3 档以下为宜。

通过测定 3 个实验组 CN 消融腔截面积, 与对照组穿刺腔截面积结果进行比较, 发现 C 组 CN 效果最好, A 组效果最差, 证实 CN 消融腔截面积与能量成正相关。综合分析结果, 我们发现 3 档 CN 效果最好, 其形成的有效消融腔最大, 但其导致椎间盘周围组织温度升高超过 41℃, 引起 HSP70 的表达, 导致椎间盘周围组织热损伤的可能性最大; 1 档最安全, 导致椎间盘周围组织热损伤的可能性最小, 但形成的有效消融腔最小, 如在临床应用则可能达不到椎间盘减压的效果; 2 档消融时椎间盘周围组织温度未超过 37℃, 未引起 HSP70 的表达, 热损伤的可能小于 3 档, 形成的有效消融腔介于 1、3 档之间, 选择 2 档能量不但可以避免热损伤, 还可以形成有效的椎间盘减压, 通过效果和安全性综合评定, 相比较而言选择 2 档能量手术效果和安全性都较为可靠。我们认为在经前路颈椎间盘 CN 时, 等离子刀能量应选择 2 档, 低温消融、热凝汽化 20s, 消融工作刀头最远点设定在距椎间盘后缘正中 5mm 处, 可控制椎间盘周围组织温度在 37℃ 以下, 效果较好, 相对较为安全, 既可形成有效减压消融腔, 又可以避免导致椎间盘周围组织尤其是神经组织的热损伤。

当然 CN 出现并发症不仅仅与能量档位选择相关, 还与术者手术操作熟练程度、局部解剖熟悉程度、手术操作不当、适应证和手术所用时间选择不当相关。所以术者除了合理选择合适的消融档位和消融时间外, 还要熟悉局部解剖、熟练手术操作及掌握好手术适应证才能更好地预防并发症的发生, 达到微创治疗的目的。

4 参考文献

1. 左东升, 薄爱华, 常宝, 等. 热休克蛋白 70 在人胃腺癌发展过程中表达的意义[J]. 中国老年学杂志, 2006, 26(2): 166-167.
2. 任大江, 李放, 张志成, 等. 等离子髓核成形术对兔退变腰椎间盘内磷脂酶 A2 活性的影响 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(5): 377-380.
3. Nardi PV, Cabezas D, Cesaroni A. Percutaneous cervical nucleoplasty using coblation technology: clinical results in fifty consecutive cases [J]. Acta Neurochir Suppl, 2005, 92 (Suppl): 73-78.
4. 王晓宁, 侯树勋, 吴闻文, 等. 射频消融髓核成形术治疗颈椎间盘突出症初步报告 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2004, 14 (2): 99-101.
5. 李放, 关凯, 赵广民, 等. 等离子消融技术治疗椎间盘源性腰痛的中期疗效[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(5): 333-335.
6. Bhagia SM, Slipman CW, Nirschl M, et al. Side effects and complications after percutaneous disc decompression using coblation technology [J]. Phys Med, 2006, 85(1): 6-13.
7. Storhbehn JW. Temperature distributions from interstitial electrode hyperthermia systems: theoretical predictions[J]. Int Radiat Oncol Biol Phys, 1983, 9(2): 1655-1667.
8. 梁雪松, 马铁明. 热休克蛋白及其研究概况[J]. 辽宁中医学院学报, 2004, 6(1): 69-71.
9. 马旭, 吕刚. HSP70 与细胞保护的研究进展 [J]. 大连医科大学学报, 2007, 29(2): 194-196.

(收稿日期: 2008-08-11 修回日期: 2008-12-15)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 卢庆霞)

消息

2009北京国际脊柱外科前沿论坛会议通知

由解放军总医院骨科专科医院、解放军骨科专业委员会骨肿瘤分会、《SPINE 中文版》杂志共同主办的“2009 北京国际脊柱外科前沿论坛暨全军第二届脊柱肿瘤学术会议”, 定于 2009 年 4 月 25~26 日在北京解放军总医院召开。此次论坛主要就目前国内外脊柱外科出现的新技术和有争议的、疑难的问题, 组织国内脊柱外科同行进行学术讨论。论坛主要请国内外著名专家对目前脊柱外科出现的最新技术及存在的争议问题进行授课和评述。会议的重点形式是进行广泛的病例讨论, 使与会者都能够参与问题的讨论之中, 更加深入地理解目前脊柱外科出现的新技术及重点问题。

论坛时间: 2009 年 4 月 25~26 日。论坛地点: 解放军总医院外科大楼学术报告厅(17 层)。报到地点: 众品鑫酒店大堂(地铁五棵松站东 200 米—解放军总医院东北角)。报到时间: 2009 年 4 月 24 日全天。

联系人、电话: 王秀丽 (010)66939439, 13910141187。E-mail: xlwang301@yahoo.com.cn。