

基础研究

记忆合金 U 形钉固定对山羊脊柱侧凸椎体的矫形度

宋迪煜, 张永刚, 孟传龙, 郑国权, 白 林, 张 巍, 张如意, 李 涛

(解放军总医院骨科 100853 北京市)

【摘要】目的:观察记忆合金 U 形钉固定对侧凸山羊的椎体矫形度,探讨记忆合金 U 形钉固定对侧凸脊柱椎体生长调节的可行性。**方法:**用单侧椎弓根钉不对称拴系的方法建立雌性幼年山羊侧凸模型。建模 8~10 周后山羊进展为明显的脊柱侧凸,将动物随机分为对照组和治疗组,两组山羊均取出后路拴系物,治疗组取出栓系后凸侧行前路记忆合金 U 形钉固定术,对照组不作处理。继续观察 8~13 周,定期摄 X 线片,记录 Cobb 角。处死前第 18 天和第 3 天分别给予土霉素和钙黄绿素以标记生长板的骨化前缘。处死动物后完整获取顶椎上椎间盘以及两相邻的生长板,聚甲基丙烯酸甲酯包埋,不脱钙切片;荧光显微镜下测量两荧光标记线之间的距离,分别计算椎体两侧生长板的生长率,并根据生长率差异计算记忆合金 U 形钉对椎体的矫形度数。**结果:**在治疗期内,治疗组 Cobb 角矫正 $19.2^{\circ} \pm 8.1^{\circ}$,与治疗前比较有显著性差异 ($P < 0.05$);对照组 Cobb 角无明显变化 ($P > 0.05$)。治疗组凹侧生长板生长率为 $(3.27 \pm 0.96) \mu\text{m}/\text{d}$,明显大于凸侧记忆合金 U 形钉置入侧 $(1.84 \pm 0.52) \mu\text{m}/\text{d}$ ($P < 0.05$);对照组凹侧生长率为 $(2.83 \pm 0.61) \mu\text{m}/\text{d}$,凸侧为 $(2.96 \pm 0.77) \mu\text{m}/\text{d}$,两侧差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫形度平均为 $0.017^{\circ} \pm 0.006^{\circ}/\text{d}$,同主弯整体矫形度之间存在明显的直线相关性 ($R^2 = 0.941, P = 0.006$),其在整体矫形中占 13.18%。**结论:**记忆合金 U 形钉固定能够对椎体产生有效的椎体矫正角度,以达到对侧凸脊柱椎体生长调节的目的。

【关键词】 脊柱侧凸;记忆合金 U 形钉;侧凸矫形;生长板;荧光素标记

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2009.08.15

中图分类号: R687.3, R682.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2009)-08-0618-05

The vertebral correction angles of goat scoliosis by shape memory alloy staple/SONG Diyu,ZHANG Yonggang,MENG Chuanlong,et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord,2009,19(8):618-622

【Abstract】 Objective:To observe the vertebral correction angle of goat scoliosis by shape memory alloy staple and further investigate the feasibility of growth control of scoliosis with shape memory alloy staples.
Method:Experimental scoliosis was made in juvenile female goats using unilateral pedicle screws asymmetric tethering technique.After a period of 8-10 weeks of the tethering,9 goats developed scoliotic curves of significant magnitude and were divided randomly into treated group($n=5$) and control group($n=4$).All tethers were removed in both groups,then treated group underwent anterior vertebral stapling with shape memory alloy staples and nothing to do for the control group.All goats were observed for an additional 8-13 weeks and serial radiographs were taken to document Cobb angles.The fluorochromes oxytetracycline and calcein were administered to the goats respectively 18 and 3 days prior to sacrifice in order to label the ossifying anterior border of the growth plates.Superior intervertebral disc of apical vertebrae and two adjacent growth plates were completely harvested in all goats after sacrifice.All specimens were embedded with polymethyl methacrylate(PMMA) and sliced in undecalcified form.Growth rate of the vertebral growth plates was calculated by measuring the distance between the two fluorescent lines under fluorescence microscope,and then the correction angles of stapled vertebrae were estimated according to the difference of growth rates between two sides.
Result:During the treatment period,treated group had a correction of $19.2^{\circ} \pm 8.1^{\circ}$ with significant difference compared to the angles prior to the treatment ($P < 0.05$),whereas Cobb angles in control group had almost no change ($P > 0.05$).In treated group,the growth rate of growth plate in the concave side was $3.27 \pm 0.96 \mu\text{m}$ per day,which

基金项目:科技部“863”专题课题(编号:2006AA02Z4D6)

第一作者简介:男(1979-),医学硕士,研究方向:脊柱外科(现在第二炮兵总医院骨科)

电话:(010)66343362 E-mail:sondysdy@yahoo.cn

通讯作者:张永刚 E-mail:zhangyg301@hotmail.com

was higher than that in convex stapled side ($1.84 \pm 0.52 \mu\text{m}$ per day) ($P < 0.05$), while the growth rate of the concavity did not show any significantly difference from that of the convexity in control group. The vertebral correction angle of stapled apical vertebra was $0.017^\circ \pm 0.006^\circ$ per day on average, which had significant linear correlation with correction degree of main curvature ($R^2 = 0.941$, $P = 0.006$) and contributed 13.18% of the total correction. **Conclusion:** The shape memory alloy staple can modulate the growth of scoliotic spine by creating effective correction angle of the vertebra.

[Key words] Scoliosis; Shape memory alloy staple; Correction of scoliosis; Growth plate; Fluorochrome

[Author's address] Department of Orthopaedics, General Hospital of Chinese PLA, Beijing, 100853, China

已有研究^[1-4]表明记忆合金 U 形钉(shape memory alloy staple, SMA staple)固定可以改变生长期椎体两侧的生长速度,以达到矫正脊柱侧凸的目的。但目前有关记忆合金 U 形钉固定对椎体矫形度数的定量研究还未见报道,椎体生长率改变引起的侧凸矫正占整体矫形的比例也未完全明确。本研究对山羊侧凸模型进行记忆合金 U 形钉固定矫形,用双荧光素标记的方法测量生长距离,分析单个记忆合金 U 形钉对山羊侧凸椎体的矫形度,为记忆合金 U 形钉的临床应用进一步提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要材料与仪器

健康 2~3 月龄雌性山羊 10 只,体重 6.0~8.5kg,平均 7.1kg,由解放军总医院动物中心提供。记忆合金 U 形钉(钉齿间距 6.5mm,钉齿深度 4mm,北京恒世利德科技有限公司);土霉素(Pfizer 公司,美国);钙黄绿素(Sigma 公司,美国)。BX51 生物显微镜、DP70 图像采集系统(Olympus 公司,日本);Image-Pro Plus 图像分析软件(Media Cybernetics 公司,美国)。

1.2 山羊侧凸模型的建立及侧凸矫正

采用单侧椎弓根螺钉不对称拴系的方法建立脊柱侧凸动物模型,具体方法参照文献^[5,6],建模时间 8~10 周。将建模成功的山羊随机分为治疗组(5 只)和对照组(5 只),对照组单纯后路取出椎弓根钉内固定系统,不进行侧凸矫形;治疗组先行后路手术取出椎弓根螺钉内固定系统,再行前路记忆合金 U 形钉固定矫形,矫形术与既往报道^[1]类似。两组山羊继续观察 8~13 周,术后即刻以及术后每隔 4~6 周进行脊柱正侧位 X 线片检查,记录 Cobb 角,观察脊柱侧凸矫正情况。

1.3 荧光素双标及生长板生长率测量

所有山羊处死前第 18 天和第 3 天分别给予

土霉素 20mg/kg 和钙黄绿素 15mg/kg 肌注,用于标记生长板的骨化前缘。处死山羊后完整获取每只山羊顶椎(即脊柱侧凸主弯弧顶与躯干中轴线垂直距离最远的椎体)上生长板、顶椎上一个椎体的下生长板以及两者之间的椎间盘(包括凹凸两侧)。标本用 40%酒精固定,经酒精梯度脱水、二甲苯透明后,聚甲基丙烯酸甲酯包埋。每个标本冠状位正中切 3 张不脱钙骨切片,层厚 50 μm ,各切片间至少间隔 100 μm 。切片直接封片,用于观察荧光标记。对照组中一标本因未处理妥当,退出后续研究。

用 BX51 生物显微镜及 DP70 图像采集系统获取典型的荧光照片,物镜设为 $\times 20$,图片像素为 1360 $\times$ 1024,将镜头旋转至图片边框垂直线与生长方向重合。将获取的图片用 Image-proplus 图像分析软件进行分析,黄绿两线之间的平均距离即为标记时间间隔内的生长距离,除以 15d 即为生长率。每个标本均进行凹凸侧的测量,范围在凹凸两侧边缘的 1/4 生长板宽度内。每侧生长板各测 3 张切片,每张切片随机测 3 次,共测 9 次,最后再取上下生长板的平均值^[7]。

1.4 记忆合金 U 形钉固定对顶椎的椎体矫形度

用 Olympus BX51 生物显微镜及 Olympus DP70 图像采集系统获取生长板的低倍荧光图片,物镜设为 $\times 1.25$,图片像素为 1360 $\times$ 1024。一个视野不能包括的生长板,分几次取图,再合成整体图像。用 Image-pro plus 图像分析软件测量生长板凹凸侧边缘顶点间的距离,即为生长板宽度。每个生长板各测量 3 张切片,取上下生长板宽度的平均值。利用数学模型计算记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫形度(图 1), $\alpha = \arctg(B-A)/W$, $\beta = \arctg(b-a)/w$,其中 A、a、B、b 分别为凹凸侧椎体生长板生长率, W、w 为上下生长板的宽度。因为测量生长率范围在凹凸两侧边缘的 1/4 生长板宽度内,且最后计算统一取上下生长板的平均值,因此

此处 W 、 w 按实际生长板宽度的 75% 计算, α 与 β 也认为是相等的。记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫形度 θ (实际是包括顶椎上生长板、顶椎上一个椎体的下生长板, 但不考虑椎间盘的矫形) $=\alpha+\beta$, 亦即 $\theta=2\alpha$ 。

1.5 椎体矫形在侧凸整体矫形中的贡献度

侧凸整体矫形度, 即一定时间 (n 天) 内 Cobb 角的变化 (用 A 表示) 可以根据 X 线前后位片测得; 假设记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫形度为 θ (按每日计算, 度/日), 顶椎的椎体矫形在整体矫形中的贡献度为 $X1$, $X1=(\theta*n)/A$ 。

为使 X 线检查的间隔时间和荧光标记的时间段尽量一致, 均计算山羊处死前 7~8 周内的矫形度, 即 n 取值 49~56d。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 15.0 统计软件包进行分析。数据以均数 $\pm$ 标准差表示, 组间 Cobb 角比较采用独立样本 t 检验, 组内治疗术后即刻与治疗最终 (术后 8~13 周) Cobb 角的比较以及生长率自身两侧比

较采用自身配对 t 检验, 记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫形度与整体矫形度的关系采用直线回归分析。 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

观察 8~13 周, 治疗组的侧凸矫形效果明显, 对照组无明显改变 (表 1、图 2)。

治疗组凹侧生长板生长率为 $(3.27\pm0.96)\mu\text{m/d}$, 凸侧 (记忆合金 U 形钉置入侧) 为 $(1.84\pm0.52)\mu\text{m/d}$, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 对照组凹侧生长率为 $(2.83\pm0.61)\mu\text{m/d}$, 凸侧为 $(2.96\pm0.77)\mu\text{m/d}$, 差异无统计学意义 ($P>0.05$) (图 3)。

治疗组顶椎上生长板、顶椎上一个椎体的下生长板的矫形度平均为 $0.017\pm0.006^\circ/\text{d}$, 山羊处死前 7~8 周内 X 线片测量相对应的主弯整体矫形度平均为 $7.6^\circ\pm3.9^\circ$, 两者存在明显的直线回归关系 ($R^2=0.941$, $P=0.006$, 图 4)。

顶椎矫形的贡献度也就是顶椎矫形度数在整体矫形中所占的比例, 山羊处死前 7~8 周内顶椎的矫形度为 $0.92^\circ\pm0.34^\circ$, 其贡献度为 $13.18\%\pm3.04\%$, 其余占 $86.82\%\pm3.04\%$ 。

表 1 两组山羊脊柱侧凸矫正的 X 线观察结果 ($\bar{x}\pm s, ^\circ$)

组别	n	建模后 Cobb角	术后即刻 Cobb角	治疗最终 Cobb角
治疗组	5	$47.2\pm11.2^\circ$	34.8 ± 12.4	$15.6\pm11.7^\circ$ ^①
对照组	4	$51.0\pm17.7^\circ$	49.3 ± 18.0	49.0 ± 17.6

注: ①与术后即刻比较 $P<0.05$

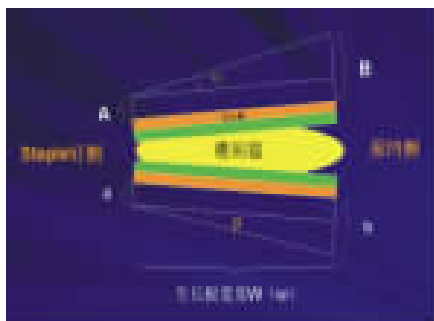


图 1 记忆合金 U 形钉对顶椎椎体矫形度计算: $\theta=\alpha+\beta$, 其中 $\alpha=\arctg(B-A)/W$, $\beta=\arctg(b-a)/w$; A 、 a 、 B 、 b 为每天生长距离, 即生长率, Staple 钉侧即为记忆合金 U 形钉置入侧, θ 单位为: 度/天)

3 讨论

3.1 记忆合金 U 形钉矫正山羊脊柱侧凸的机制

记忆合金 U 形钉固定作为一种非融合、短节



图 2 脊柱侧凸矫正的 X 线片观察 a 治疗组术前 Cobb 角 56° b 治疗组术后即刻 Cobb 角 48° c 治疗组术后 10 周 Cobb 角 20° d 对照组术前 Cobb 角 64° e 对照组术后即刻 Cobb 角 62° f 对照组术后 8 周时 Cobb 角 62°

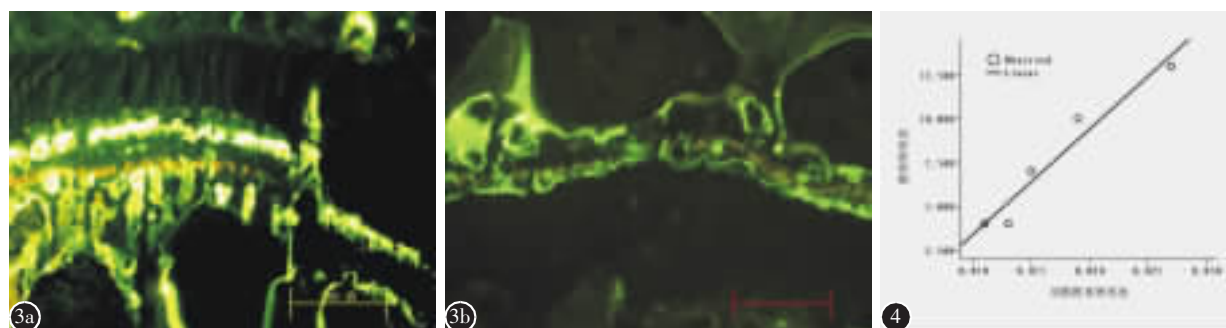


图 3 记忆合金 U 形钉治疗组生长板凹凸侧骨化前缘的荧光双标($\times 20$)显示凹侧两荧光间距离(a)大于凸侧(记忆合金 U 形钉侧)(b) 图 4 记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫正度与整体矫正度的回归直线图($R^2=0.941$, $P=0.006$)

段、机械性调节脊柱生长的手段,可以控制脊柱的生长,减缓、阻止、甚至逆转侧凸进展^[1-4,8]。本研究结果表明,术后观察期内记忆合金 U 形钉治疗组矫正 $19.2^\circ \pm 8.1^\circ$ ($P < 0.05$),而对照组术后 Cobb 角无明显变化。这提示记忆合金 U 形钉在一定程度上能矫正脊柱侧凸畸形,结果同 Braun 等^[1,3]的实验基本一致。

记忆合金 U 形钉矫正脊柱侧凸的理论依据是“Hueter-Volkman”定律。记忆合金 U 形钉可以在生长期改变椎体生长板原有的凹凸侧不对称负荷^[3,9],抑制凸侧生长、相对促进凹侧生长,在后续生长中逆转的凹凸侧生长差异可以矫正侧凸。双荧光素标记生长板软骨内成骨速度的结果提示,山羊侧凸模型经记忆合金 U 形钉矫正后,凹侧生长板平均生长率明显大于记忆合金 U 形钉置入侧($P < 0.05$);而对照组两侧生长率基本相等。这一结果基本和上述理论一致,说明侧凸矫正过程中记忆合金 U 形钉确实改变了椎体的生长率。

3.2 记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫正度及其在整体矫正中的贡献度

侧凸椎体两侧的生长差异势必形成一种椎体矫正角度,但是由于 X 线只能测量单个或若干个椎体的整体畸形角度,而记忆合金 U 形钉横跨了椎间盘及相邻生长板,因此 X 线无法比较精确地计算 1 个记忆合金 U 形钉对椎体的矫正度数。在 Mente 等^[10]的鼠尾椎楔形变建立与矫正的实验中,影像学测量同荧光标记测量的关系证实,无论是椎体畸形的形成还是其后续的矫正都是来源于骨骼的不对称生长,而不是椎体其他部位的改建。这为我们计算单个记忆合金 U 形钉对椎体的矫正能力提供了实验依据。

在本实验中我们利用简单的数学模型,根据

凹凸两侧的生长率差异以及生长板宽度计算了记忆合金 U 形钉对顶椎区单节段的椎体矫正度数。结果表明,1 个记忆合金 U 形钉固定对顶椎的椎体矫正度平均为 $0.017^\circ \pm 0.006^\circ/\text{d}$ 。按此计算,山羊处死前 7~8 周内顶椎的矫正度可达 $0.92^\circ \pm 0.34^\circ$,经 X 线片测量,相对应的主弯整体矫正度平均为 $7.6^\circ \pm 3.9^\circ$,两者存在明显的直线相关性 ($R^2 = 0.941$, $P = 0.006$)。Perdriolle 等^[11]研究了 86 例骨骼未成熟侧凸患者的 X 线片,Cobb 角范围为 $12^\circ \sim 110^\circ$,结果显示顶椎楔形变程度和整个 Cobb 角明显呈线性关系。这提示本实验中计算记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫正度的方法存在一定的合理性,同时表明了侧凸椎体的矫正同生长板生长率的改变有较为密切的关系,记忆合金 U 形钉对椎体生长的控制能有效矫正脊柱侧凸。

特发性脊柱侧凸畸形的主要组成部分是冠状面上的侧曲,它主要来源于椎体和椎间盘的楔形变^[12]。Xiong 等^[13]测量了 13.3~19.3 岁女性脊柱侧凸患者的椎体和椎间盘,发现即使在很轻微的侧凸中,也存在椎体和椎间盘的楔形变。因此明确椎体和椎间盘各自的侧凸组成贡献度以及矫正贡献度有助于侧凸的治疗。有研究^[14]表明,青少年特发性脊柱侧凸患者脊柱的延长主要有赖于椎体高度的变化,而且这一结论同样适用于普通的青少年。根据侧凸进展的“恶性循环”过程,似乎椎体的楔形变占更为主要的地位。但另有研究^[11]认为,在较小的侧凸中,椎间盘的贡献度相对要大,而在较大的侧凸中,椎体和椎间盘的贡献度基本一致。在 Mente 的鼠尾椎模型^[15]中,将不对称压力施加于尾椎以预先造成一个侧凸,并进一步观察侧凸进展,发现最初的畸形 100%是由椎间盘造成的,但 6 周以后,43%的侧凸来源于椎体,剩余 57%仍来源

于椎间盘。Stokes 等^[16]在研究了 44 例侧凸患者(27 例特发性侧凸患者和 17 例脑瘫性侧凸患者)前后连续两次 X 线片后认为,在胸弯中椎体的平均楔形度要大于椎间盘,而在胸腰弯或腰弯中则相反,椎间盘的楔形度要大;而且侧凸大小、侧凸进展度数以及侧凸类型对两者的贡献度比例无明显影响。同时还计算了特发性脊柱侧凸患者中的顶椎楔形度占整个 Cobb 角的比例,在胸弯中为 12.14%~18.09%,在胸腰弯或腰弯中为 13.02%~13.03%。本实验中我们根据记忆合金 U 形钉对顶椎的椎体矫形度计算了椎体矫形度数在整体矫形中所占的比例,即椎体矫形的贡献度,结果发现近 7~8 周内顶椎的矫形贡献度为 $(13.18 \pm 3.04)\%$,其中顶椎主要位于 T11、T12。这与 Stokes 等报道的数值十分接近,提示机械力矫正脊柱侧凸恰好同侧凸进展形式反向类似,记忆合金 U 形钉能够基本抵消椎体原有的楔形变。

Betz 等^[2]采用镍钛记忆合金的新型 U 形钉治疗 21 例特发性脊柱侧凸患者,观察至少有 1 年时间的 10 例患者顶椎楔形度的变化,有 2 例患者的顶椎楔形度平均改善了 3° ,其余 8 例无明显变化。按其在文章中提供的随访时间(分别为 36 个月和 17 个月,每个月按 30 天计算),我们可以发现,记忆合金 U 形钉对特发性脊柱侧凸患者顶椎的椎体矫形度为 $0.00377^\circ/\text{d}$,小于我们的数据。其原因可能为山羊是非直立行走动物,记忆合金 U 形钉无需抵消由于直立产生的一部分脊柱负荷,因此对生长板的阻滞能力相对较大;同时这也可能是其余 8 例特发性脊柱侧凸患者顶椎楔形度无变化的原因。此外不同种属生长板对应力的反应性、U 形钉的差异都会对结果造成影响,因此本实验的结果应用于临床还有待于进一步研究。

本实验中通过荧光素标记的生长率来计算矫正度数,一方面存在测量技术上的不完善及误差,另一方面椎体的楔形变不都是由不对称生长造成的,因此,结果不能完全反映椎体真正的矫形程度。此外,U 形钉的整个矫形能力还应考虑椎间盘的因素。

4 参考文献

- Braun JT, Ogilvie JW, Akyuz E, et al. Fusionless scoliosis correction using a shape memory alloy staple in the anterior thoracic spine of the immature goat [J]. Spine, 2004, 29(18): 1980-1989.
- Betz RR, Kim J, D'Andrea LP, et al. An innovative technique of vertebral body stapling for the treatment of patients with adolescent idiopathic scoliosis: a feasibility, safety, and utility study [J]. Spine, 2003, 28(20): S255-265.
- Braun JT, Hoffman M, Akyuz E, et al. Mechanical modulation of vertebral growth in the fusionless treatment of progressive scoliosis in an experimental model [J]. Spine, 2006, 31(12): 1314-1320.
- Betz RR, D'Andrea LP, Mulcahey MJ, et al. Vertebral body stapling procedure for the treatment of scoliosis in the growing child [J]. Clin Orthop Relat Res, 2005, 434: 55-60.
- Zhang Y, Wang Y, Zheng G, et al. Unilateral pedicle screws asymmetric tethering: an innovative method to create idiopathic deformity [J]. J Orthop Surg Res, 2007, 2: 18.
- 郑国权, 张永刚, 张巍, 等. 单侧椎弓根钉内固定建立新型山羊脊柱侧凸模型的实验研究 [J]. 脊柱外科杂志, 2007, 5(1): 29-32.
- Stokes IA, Aronsson DD, Dimock AN, et al. Endochondral growth in growth plates of three species at two anatomical locations modulated by mechanical compression and tension [J]. J Orthop Res, 2006, 24(6): 1327-1334.
- 张巍, 郑国权, 张永刚. 镍钛形状记忆合金在脊柱外科的应用 [J]. 中华外科杂志, 2006, 44(8): 574-575.
- Wall EJ, Bylski-Austrow DI, Kolata RJ, et al. Endoscopic mechanical spinal hemiepiphysiodesis modifies spine growth [J]. Spine, 2005, 30(10): 1148-1153.
- Mente PL, Aronsson DD, Stokes IA, et al. Mechanical modulation of growth for the correction of vertebral wedge deformities [J]. J Orthop Res, 1999, 17(4): 518-524.
- Perdriolle R, Becchetti S, Vidal J, et al. Mechanical process and growth cartilages: essential factors in the progression of scoliosis [J]. Spine, 1993, 18(3): 343-349.
- Taylor TK, Ghosh P, Bushell GR. The contribution of the intervertebral disk to the scoliotic deformity [J]. Clin Orthop Relat Res, 1981, 156: 79-90.
- Xiong B, Sevastik JA, Hedlund R, et al. Radiographic changes at the coronal plane in early scoliosis [J]. Spine, 1994, 19(2): 159-164.
- Stokes IA, Windisch L. Vertebral height growth predominates over intervertebral disc height growth in adolescents with scoliosis [J]. Spine, 2006, 31(14): 1600-1604.
- Mente PL, Stokes IA, Spence H, et al. Progression of vertebral wedging in an asymmetrically loaded rat tail model [J]. Spine, 1997, 22(12): 1292-1296.
- Stokes IA, Aronsson DD. Disc and vertebral wedging in patients with progressive scoliosis [J]. J Spinal Disord, 2001, 14(4): 317-322.

(收稿日期: 2009-02-27 修回日期: 2009-04-13)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 卢庆霞)