

• 基础研究 •

三七凝胶预防椎板切除术后粘连的实验研究

张兆杰, 周卫

(中国中医科学院望京医院脊柱一科, 北京 100102)

【摘要】 目的: 从大体、组织形态学观察分析三七凝胶预防椎板切除术后粘连的有效性和可行性。方法: 84只 Sprague-Dawley 大鼠 (SD大鼠) 按单纯随机方法分为 4组: 三七凝胶组 (NG)、单纯三七组 (N)、空白对照组 (C)、纤维蛋白胶组 (FG), 每组 21只。切除 L_1-L_2 右侧椎板, 分别在硬膜囊周围涂抹三七凝胶、三七浓缩液、生理盐水、纤维蛋白胶。每组大鼠分别在术后 2、4、8周处死。各组在每个时间段各处死 7只, 其中 1个标本作大体观察瘢痕的量、范围、致密程度以及解剖过程中硬膜囊的完整性, 其余 6个标本作组织切片 (HE染色) 观察术后硬膜外瘢痕粘连的程度、计算椎管内粘连百分率。结果: 术后各个时间段三七凝胶组椎管内预防粘连百分率明显优于单纯三七组、纤维蛋白胶组、空白组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 三七凝胶可以作为一种良好的材料用于预防椎板切除术后硬膜外瘢痕粘连。

【关键词】 三七凝胶; 椎板切除术; 粘连

An experimental study on prevention of adhesion after laminectomy by Sanqi gel (三七凝胶) ZHANG Zhaojie, ZHOU Wei The First Department of Spine, Wangjing Hospital China Academy of Traditional Chinese Medicine Sciences, Beijing 100102, China

ABSTRACT Objective To study the validity and feasibility of Sanqi gel to prevent adhesion after laminectomy through gross anatomy and morphological changes. **Methods** Eighty-four SD rats were divided randomly into four groups: Sanqi gel group (NG), Sanqi group (N), blank control group (C), fibrin glue group (FG) with 21 rats in each group. The right vertebral lamina (L_1-L_2) of the rats were cut and the duras were surrounded with Sanqi gel, Sanqi concentrated solution, normal saline, fibrin glue respectively. Killed 7 rats in each group at 2, 4, 8 weeks after operation respectively. One example and 6 examples were respectively observed with gross anatomy and histology. **Results** The effect of Sanqi gel was superior to that of blank control, Sanqi and fibrin glue group in every time phase ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Sanqi gel has significantly preventive effect on fibrous scar formation after laminectomy, and it could be used as a good medicine to prevent postoperative peridural adhesion.

Key words Sanqi gel; Laminectomy; Adhesions

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma 2007, 20(1): 37-40 www.zggszz.com

椎板切除术后硬膜外粘连是导致术后症状复发的最常见的原因之一, 由于再次手术效果不佳, 所以临床上如何预防硬膜外粘连一直是骨科领域亟待解决的难题之一。本文拟通过动物实验探讨局部内置三七凝胶、单纯三七、纤维蛋白胶对硬膜外粘连的预防作用。

1 材料与与方法

1.1 动物分组 成年雄性 SD大鼠 84只, 体重 280~300 g, 按单纯随机方法分为以下 4组: 三七凝胶组 (NG)、单纯三七组 (N)、空白对照组 (C)、纤维蛋白胶组 (FG), 每组 21只。每组再分别按术后处死时间 2、4、8周分为 3个时间段, 每组在每个时间段各处死 7只, 其中 1只作为大体标本观察, 其余 6只作为镜下组织形态学观察。

1.2 实验方法

1.2.1 模型制作 1%戊巴比妥钠 40 mg/kg 体重腹腔注射麻醉大鼠, 以俯卧位固定, 剃光背部鼠毛, 无菌消毒条件下取背部正中切口, 切除 L_1-L_2 右侧椎板, 保留棘突, 剔除硬膜外脂肪暴露硬膜囊及 L_2 神经根。空白对照组 (C) 在硬膜囊周围涂抹生理盐水后逐层缝合切口; 三七凝胶组 (NG) 在暴露的硬膜囊表面及右侧神经根, 椎管前方纤维环破损处均匀涂抹三七凝胶后逐层缝合; 单纯三七组 (N) 在暴露的硬膜囊表面及右侧神经根, 椎管前方纤维环破损处均匀涂抹三七浓缩液后逐层缝合; 纤维蛋白胶组 (FG) 在椎板切除后喷涂纤维蛋白胶后彻底止血逐层缝合。术后 24 h 各个大鼠分笼饲养, 术后常规应用青霉素肌肉注射预防切口感染, 手术麻醉反应消失后自由活动、进食、摄水。

1.2.2 实验用药 三七 (云南产); 三七浓缩液 (三七经乙醇提取后再加水煮沸提取, 二者提取液混和后加热浓缩制

成流浸膏);纤维蛋白胶(由云南兰茂生物医药有限公司提供);凝胶(由 BF Goodrich提供);三七凝胶(1%凝胶 2.5 g 加入三七浓缩液 7.5 ml 充分搅匀,调 pH 值至中性,制成流浸膏)。

1.3 观察标准

1.3.1 大体观察 从原手术入路逐层解剖,观察瘢痕的量、范围、致密程度以及解剖过程中硬膜囊的完整性,按 Lawson 标准行粘连程度评定。0度,硬膜与瘢痕无明显粘连;1度,硬膜外有薄而散在的膜性粘连,但牵扯瘢痕组织粘连易与硬膜分离;2度,硬膜与瘢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度,粘连致密,硬膜与瘢痕需锐性分离,分离后的硬膜难以保持完整。

1.3.2 光镜下组织形态学观察 HE 染色,观察、比较各组动物在各时间段硬膜外腔瘢痕组织的分布,瘢痕与硬膜囊、神经根的关系。

1.3.3 椎管内预防粘连百分率(c)的计算 根据每个标本椎板缺损处硬膜外间隙的长度(b)和相应椎板切除的长度(a)之比计算椎管内预防粘连百分率(c = b/a)。测量方法:72个组织学标本,从每个标本的 HE 染色中取 3张进行计算机图像分析。分别测量硬膜外椎板内缘缺损的最大距离和椎板缺损处硬膜外间隙长度(图 1)。

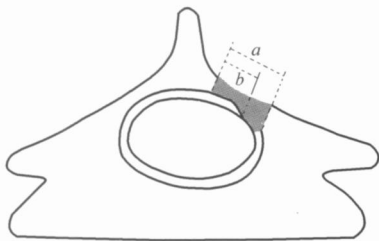


图 1 椎管内预防粘连百分率测量方法 a 硬膜外椎板内缘缺损的最大长度 b 椎板缺损处硬膜外间隙长度

Fig. 1 The measurements of percentage for the prevention of peridural adhesion a The greatest defective length of inner margin of vertebral lamina after laminectomy b The length of peridural space in the defective place of vertebral lamina

1.4 统计学处理 椎管内预防粘连百分率各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。应用 SPSS 11.0 统计软件包分析,三七凝胶组同其他 3 组间两两比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 大体观察 三七凝胶组术后 2 周硬膜外有薄而散在的膜性粘连,但牵扯瘢痕组织粘连易与硬膜分离,术后 4、8 周硬膜与瘢痕无明显粘连。

空白组术后 2 周硬膜外有薄而散在的膜性粘连,但牵扯瘢痕组织粘连易与硬膜分离,术后 4、8 周粘连致密,硬膜与瘢痕需锐性分离,分离后的硬膜难以保持完整。

单纯三七组术后 2、4、8 周均发现硬膜外有薄而散在的膜性粘连,但牵扯瘢痕组织粘连易与硬膜分离。

纤维蛋白胶组术后 2 周硬膜外有薄而散在的膜性粘连,但牵扯瘢痕组织粘连易与硬膜分离,术后 4、8 周硬膜与瘢痕粘连较广泛和致密,但仍可钝性分离,分离后硬膜仍完整。不同时间各组大体观察粘连程度见表 1。

表 1 不同时间大体观察粘连程度(单位:度)

Tab 1 The adhesive degree through observation with gross anatomy in different time and different groups

(Unit: degrees)

组别	2周	4周	8周
NG组	1	0	0
C组	1	3	3
N组	1	1	1
FG组	1	2	2

2.2 组织形态学观察 2 周时间段各组硬膜外腔均被瘢痕组织或肉芽组织填充,空白组不但在硬膜外裸露的地方出现瘢痕组织,而且在椎板缺损相邻的非椎板切除处亦有瘢痕组织。三七凝胶组和单纯三七组在非椎板切除处没有瘢痕组织。纤维蛋白胶组瘢痕致密程度较其他 3 组稍低(图 2)。

4 周时间段三七凝胶组和单纯三七组在硬膜外腔出现不同程度的硬膜外间隙,空白组和纤维蛋白胶组均见硬膜外瘢痕仍与硬膜囊粘连,空白组在椎板缺损相邻的非椎板切除处仍有瘢痕组织粘连(图 3、4)。

8 周时间段三七凝胶组和单纯三七组的硬膜外腔间隙明显,空白组硬膜外粘连广泛,瘢痕组织出现透明变性,空白组硬膜外的胶原纤维量较其他 3 组均多,而且纤维排列紊乱,广泛与硬膜囊粘连,纤维蛋白胶组硬膜外瘢痕组织致密程度较其他 3 组低(图 5)。

4 周时三七凝胶组和单纯三七组硬膜外脂肪重新出现硬膜外腔间隙,而空白组和纤维蛋白胶组直至 8 周时也没有出现。

2.3 椎管内预防粘连百分率(c)的计算 结果见表 2。

表 2 不同时间各组椎管内预防粘连百分率($\bar{x} \pm s$ %)

Tab 2 The percentage for the prevention of peridural adhesion in different time and different group($\bar{x} \pm s$ %)

组别	鼠数	2周	4周	8周
NG组	6	0.43 ± 0.20	0.85 ± 0.13	0.86 ± 0.09
C组	6	0.16 ± 0.15	0.07 ± 0.05**	0.22 ± 0.16**
N组	6	0.27 ± 0.25	0.64 ± 0.12*	0.65 ± 0.25*
FG组	6	0.08 ± 0.01**	0.11 ± 0.06**	0.21 ± 0.14**

注:三七凝胶组与其他 3 组相比,* P < 0.05,** P < 0.01

Note NG compared with other groups * P < 0.05 ** P < 0.01

3 讨论

3.1 关于椎板切除术动物模型的建立 动物的选择:以往的动物模型多用山羊^[1]、犬^[2]、家兔^[3]、大鼠^[4]等。应用山羊、犬等大型动物优点在于手术方便,暴露清楚,易于临床观察,但由于购买大型动物及饲养费均较高,所以多数学者在同一动物模型的不同阶段进行不同实验手段处理,但不能保证各种因素对全身情况的影响及相邻阶段各因素的相互影响。

孙康等^[4]认为在大鼠椎板切除术后 4 周椎板缺损处有大量新生骨形成,椎板闭合约 1/2,8 周时椎板完全闭合,椎板修复闭合时间与粘连发生时间重叠,影响观察与记录各种防粘材料的效果情况,大鼠不宜作为此类实验的观察对象。

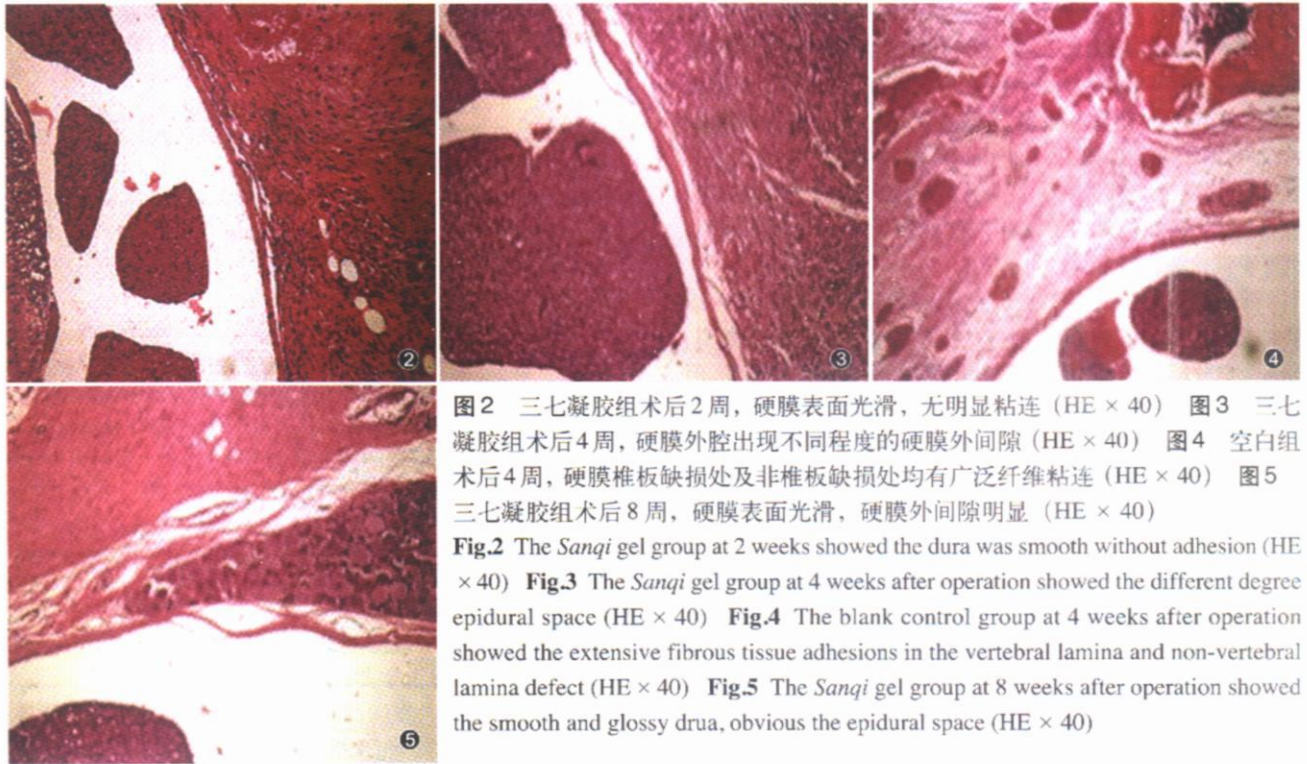


图2 三七凝胶组术后2周,硬膜表面光滑,无明显粘连(HE×40) 图3 三七凝胶组术后4周,硬膜外腔出现不同程度的硬膜外间隙(HE×40) 图4 空白组术后4周,硬膜椎板缺损处及非椎板缺损处均有广泛纤维粘连(HE×40) 图5 三七凝胶组术后8周,硬膜表面光滑,硬膜外间隙明显(HE×40)

Fig.2 The Sanqi gel group at 2 weeks showed the dura was smooth without adhesion (HE × 40) **Fig.3** The Sanqi gel group at 4 weeks after operation showed the different degree epidural space (HE × 40) **Fig.4** The blank control group at 4 weeks after operation showed the extensive fibrous tissue adhesions in the vertebral lamina and non-vertebral lamina defect (HE × 40) **Fig.5** The Sanqi gel group at 8 weeks after operation showed the smooth and glossy dura, obvious the epidural space (HE × 40)

但陆少磊等^[5]应用大鼠作为实验研究对象取得满意的结果。

本实验采用大鼠作为实验动物不仅可以保证动物的数量,而且只在每只动物的一个阶段放一种材料,从而保证各处理因素间不相互影响,本实验的各组大鼠椎板缺损区4周均未发现有新骨形成,术后8周末见1例椎板闭合现象。因而采用大鼠作为实验对象不影响对硬膜外瘢痕粘连的研究。

3.2 椎板切除术后瘢痕粘连的原因 本实验中在没有破坏椎间盘和纤维环的情况下观察结果显示,空白组2、4、8周的光镜下观察不但在椎板切除部位有瘢痕粘连,在硬膜囊的非椎板切除部位亦有瘢痕组织与硬膜囊粘连,因此我们认为椎板切除后硬膜外瘢痕粘连主要与手术干预密切相关。椎板切除术后局部的创伤所引起的炎症反应,以及硬膜囊内血管屏障破坏导致血管通透性改变,是引起硬膜外瘢痕粘连形成的主要因素。所以关于硬膜外瘢痕组织来源问题不仅来源于椎管后方受损的椎旁肌,而且还与局部血管的变化有关。

3.3 各种材料预防硬膜外瘢痕粘连的效果 预防硬膜外粘连形成的理想生物材料以半流体形态最佳^[6],它被注射到所有手术显露区域而没有损伤神经组织的风险,同时又具有生物相容性,会缓慢被吸收^[7]。固体材料不易被吸收,在局部有异物反应,而稀薄的流体材料因在局部很快被吸收,存留时间短。半流体生物材料能够分布到椎板缺损处硬膜外各处,有一定的润滑作用,能够阻隔神经根和硬膜与创面的接触;早期在局部占据一定的空间,并可在创伤愈合过程中降解并被逐渐吸收;同时自身具有一定的抑制创伤性炎症反应,但又不影响纤维环和创面的愈合,生物相容性好等特点。

中药在治疗和预防硬膜外瘢痕粘连等方面有独到之处,

它主要通过活血化瘀,益气止血通络等理论抑制成纤维细胞的活性,对抗炎症介质的释放,促进正常组织的无瘢痕化修复等作用。

三七是临床上常用的止血,活血,软坚散结药之一。现代研究表明三七中既具有钙离子和鞣皮甙等止血活性物质,又具有皂甙类和黄酮类等活血化瘀成分,这充分体现了三七具有止血活血物质的协同作用^[8]。三七能够使毛细血管通透性增高,对多种致炎剂所致的肉芽组织增生有显著的抑制作用。抑制体液的渗出,减少创伤性炎症^[9]。

水凝胶体系的卡波波是聚烷基或聚烷基季戊四醇与丙烯酸交联聚合物的共聚物,因其具有内在特有的交联结构,其良好的黏滞性和亲水性使其具有较好的控缓释作用。凝胶在局部早期起物理阻挡作用而防止成纤维细胞和炎性细胞与硬膜的接触,早期预防瘢痕组织与硬膜粘连。

三七凝胶是由三七浓缩液和1%凝胶充分搅匀,调pH值至中性。本实验结果显示椎板切除术后局部应用三七凝胶不但能够减少局部出血及继发血肿的形成,而且又能够促进局部血肿的吸收,有效地预防腰椎术后硬膜外粘连。凝胶在局部不但起到三维立体的物理阻挡作用而防止成纤维细胞和炎性细胞与硬膜的接触,而且能够作为三七浓缩液载体,使药物在局部存留更长时间,以达到三七缓慢吸收,持续发挥药效,使三七在瘢痕修复的不同时期发挥作用。创伤愈合后期局部三七能够起到活血软坚作用促进瘢痕的软化。

本实验采用的半流质的三七流浸膏,置入椎板缺损处,可以达到术区的任何一个部位,对来自椎管前方和后方的粘连均可起到三维立体的防粘连效果。即使手术时破坏了椎管前

方的椎间盘和纤维环,三七凝胶对椎管前后方的纤维化粘连均可以预防。

硬膜外粘连的形成,主要原因是髓棘肌损伤及椎板切除形成血肿,成纤维细胞和炎性细胞进入血肿,逐渐发生纤维化所致。成纤维细胞是产生胶原等细胞外基质的重要细胞之一,而在创伤修复过程中,大部分成纤维细胞将转化为肌成纤维细胞,后者以含有A-平滑肌肌动蛋白为标记,能使瘢痕收缩^[6]。三七凝胶能够阻挡成纤维细胞和炎性细胞进入血肿,预防硬膜外粘连的发生。

纤维蛋白凝胶目前多被外科用做局部止血制剂,它可以减少腹腔内粘连,防止屈肌腱粘连^[10-11]。本实验研究表明,纤维蛋白胶能够减轻椎板缺损处硬膜外瘢痕的致密程度,但减少硬膜外粘连效果同空白组无明显差异。所以用纤维蛋白胶预防椎板缺损处硬膜外瘢痕粘连的效果有待进一步研究。

关于三七凝胶预防椎板切除术后硬膜外瘢痕粘连的机制,还有待进一步研究。

参考文献

- 1 郑淑慧,石奉文,韩华庆.预防椎板切除术后硬膜外瘢痕粘连的实验研究.中国脊柱脊髓杂志,1996 6(1): 16-19
- 2 官良泰,许复郁,王永惕,等.椎板切除后中厚皮片植入防止硬脊膜

- 粘连的实验研究.中国脊柱脊髓杂志,1998,8(2): 67-70
- 3 樊天佑,侯筱魁,黄河清,等.不同分子透明质酸钠预防术后硬脊膜粘连的定量研究.中国脊柱脊髓杂志,2000,10(1): 30-33.
- 4 孙康,姜长明,吕德成.大鼠是否适合作椎板切除后硬膜外粘连的实验研究.中国脊柱脊髓杂志,2000,10(4): 223.
- 5 陆少磊,黄公怡.腰椎手术后硬膜外腔瘢痕预防的实验研究.中华骨科杂志,2001 21(4): 238-244
- 6 SongerMN, Ghosh L, SpenceDL. Effects of sodium hyaluronate on peridural fibrosis after laminectomy and discectomy. Spine, 1990 15 550.
- 7 王秋根,项耀钧,侯春林,等.预防硬膜外粘连的实验研究与临床观察.中华骨科杂志,1998 18(7): 408-410
- 8 陈可冀,张之南,梁子钧,等.血瘀症与活血化瘀研究.上海科学技术出版社,1990 590-597
- 9 张宝恒.三七总皂甙的抗炎作用及其作用机制.中国药理学通报,1990 6(4): 236
- 10 De Vigilio C, ElbassirM, HidalgoA, et al Fibrin glue reduces the severity of intrabdominal adhesions in a rat model Am J Surg 1999, 178 577-580
- 11 Frykman E, Jacobsson S, Widénfalk B, et al Fibrin sealant in prevention of flexor tendon adhesions An experimental study in the rabbit J Hand Surg 1993, 18 68-75

(收稿日期: 2006-05-15 本文编辑:王宏)

《中国骨伤》编辑委员会名单

名誉主编: (按首字汉语拼音字母顺序为序)

陈可冀(中国科学院院士) 沈自尹(中国科学院院士) 王澍寰(中国工程院院士)
吴咸中(中国工程院院士) 钟世镇(中国工程院院士)

顾问: (按首字汉语拼音字母顺序为序)

陈渭良 魏华 冯天有 顾云伍 胡兴山 蒋位庄 孔繁锦 黎君若 李同生
梁克玉 刘柏龄 孟和 施杞 石印玉 孙材江 袁浩 赵易 朱惠芳
朱云龙 诸方受

主编:董福慧

副主编: (按首字汉语拼音字母顺序为序)

敖英芳 白人骁 杜宁 金鸿宾 李为农(常务) 吕厚山 孙树椿 王岩 王满宜
卫小春

编委委员: (按首字汉语拼音字母顺序为序)

敖英芳 白人骁 毕大卫 陈仲强 董健 董福慧 董清平 杜宁 樊粤光 葛尊信
何伟 胡良平 胡兴山 金鸿宾 雷仲民 李德达 李盛华 李为农 李无阴 刘金文
刘兴炎 刘忠军 刘仲前 罗从凤 马真胜 邱勇 阮狄克 沈霖 沈冯君 石关桐
孙常太 孙树椿 孙天胜 谭明生 涂丰 谭远超 王岩 王爱民 王和鸣 王坤正
王满宜 王序全 王拥军 韦贵康 卫小春 肖鲁伟 徐荣明 杨小平 姚共和 姚树源
余庆阳 袁文 詹红生 张俐 张保中 张春才 张功林 张连仁 张英泽 赵平
赵建宁 赵文海 郑忠东 钟广玲 周卫 朱立国 朱振安 邹季
顾华(美国) John W. Mcdonald(美国)