

• 基础研究 •

低强度超声对幼龄白兔脊柱植骨融合的生物力学影响

费骏¹, 莫斌², 毕大卫³, 王以进⁴, 林立⁵

(1.浙江省中西医结合医院, 浙江 杭州 310003; 2.浙江中医药大学; 3.杭州市萧山区第一人民医院; 4.上海大学生物力学工程研究所; 5.杭州东晶福田医疗器械有限公司)

【摘要】 目的: 评估低强度超声对脊柱植骨融合的生物力学影响。方法: 40 只 12 月龄大白兔制成腰椎双节段同侧横突间后外侧脊柱植骨模型, 随机分试验组(B 组)和对照组(A 组)。试验组用脉冲式超声刺激, 6 周后处死进行生物力学载荷、强度、刚度、扭转等测试比较。结果: 植骨融合 6 周时, 试验组强度、刚度、扭矩和抗扭刚度、极限载荷均比对照组高 6%~7% ($P>0.05$)。结论: 低强度超声可以促进幼龄白兔脊柱植骨融合强度, 加速骨折愈合。

【关键词】 低强度超声; 骨移植; 脊柱融合; 生物力学

Influence of the fusion of bone graft in spine of rabbit treated with lower intensity ultrasound FEI Jun*, MO Bin, BI Da-wei, WANG Yi-jin, LIN Li. *Zhejinag TCM&Westen Medicine Hospital, Hhangzhou 310003, Zhejiang, China

ABSTRACT Objective: To observe the influence of the fusion of bone graft in spine of rabbits which were treated with lower intensity ultrasound. **Methods:** Forty 12-month-old rabbits were made to be the models of bone graft in post-lateral between two homonymy processus transverses in lumbar, and divided into treatment group(B) and control group (A) randomly. Twenty rabbits of treatment group were treated with lower intensity ultrasound, killed after six weeks, and took radiological examination, measured indexes of biomechanics. **Results:** After 6 weeks of fusion of bone graft, treatment group were higher 6%~7% ($P>0.05$) in strength, rigidity, torque and antitwist, maxload than that of control group. **Conclusion:** Lower intensity ultrasound can promote the speed and strength fusion of bone graft in young rabbits.

Key words Lower intensity ultrasound; Bone transplantation; Spinal fusion; Biomechanics

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(11): 846-849 www.zggszz.com

后外侧脊柱融合 (posterolateral lumbar arthrosis, PLLA) 是脊柱侧弯、腰椎退行性变、脊柱不稳等病变常用的手术融合方式, 其中青少年特发性脊柱侧弯是脊柱后外侧融合的主要适应证之一。目前采用了复杂多样的内固定技术, 但后外侧脊柱融合的不愈合率仍高达 20%~50%^[1]。通过动物实验, 以确定低强度超声是否能提高脊柱融合率和融合质量是本实验的研究目的。

1 材料与方

1.1 动物模型和分组 12 月龄新西兰大白兔 40 只, 雌雄各半, 采用抽签法随机分为试验组 (B 组) 和对照组 (A 组) 各 20 只。造模方法参照 Boden 设计的兔的腰椎双节段同侧横突间后外侧脊柱植骨融合模型^[2], 试验组用频率 1.5 MHz 的脉冲式超声刺激, 每天 20 min^[3-4]。动物于 6 周后用耳缘静脉气栓处死, 先进行放射学检查, 然后取标本予 -30 °C 冷藏做生物力学实验。

1.2 生物力学检测 常温解冻, 仔细剔除脊柱上的肌肉, 保持脊柱韧带、骨关节的完整。在腰椎上下节段包埋后, 在动物标本上施加载荷通过应变式传感器分级加载 (0、50、100、150、200 N), 载荷速率为 1.4 mm/min, 加载于力学重心点, 使腰椎能产生中心压缩、前屈、后伸、侧屈和扭转 5 种生理运动状态, 进行观察, 比较两组载荷、强度、刚度、扭转变化。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 10.0 软件进行统计及分析, 所有统计数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用成组设计定量资料的 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 兔腰椎的载荷-应变变化 ①在 50、100、150 N 载荷下, 两组标本在 4 种不同运动工况时的腰椎载荷-应变曲线基本上都呈线性变化, 卸载后能回复原状 (见图 1-2)。其中侧屈运动状态应变较大, A 组的应力-应变方程为 $\sigma_A=0.286 \epsilon$, B 组为 $\sigma_B=0.311 \epsilon$ 。后伸应变最小, A 组的应力-应变方程为 $\sigma_A=1.00 \epsilon$, B 组为 $\sigma_B=1.11 \epsilon$ 。②各组应变比较, 低强度超声刺激脊柱植骨融合组应变较小, 150 N 时平均应变 193 $\mu\epsilon$, 比正常 (A 组) 小 8.5% (见表 1), 其中压缩、前屈、侧屈运动两组间的应变值差异均有统计学意义, 统计值分别为 $P=0.029$ 、

基金项目: 浙江中医药管理局资助项目 (编号: 2004c141)

通讯作者: 费骏 Tel: 0571-56109704 E-mail: jamfee67@medmail.com.cn

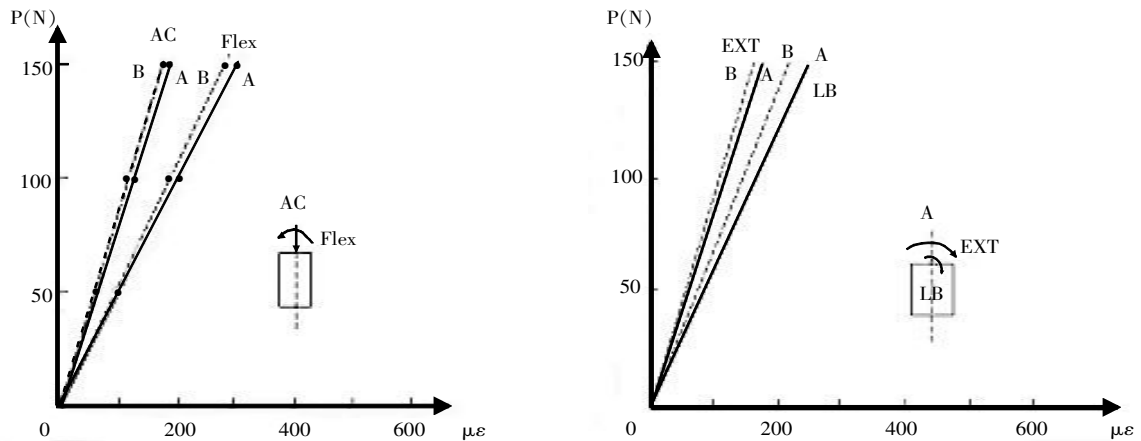


图 1 兔腰椎轴向压缩、前屈时载荷-应变曲线 图 2 兔腰椎后伸、侧屈时载荷-应变曲线

Fig.1 Load-straining curve of axial direction and ante flexion in rabbit lumbar Fig.2 Load-straining curve of extend and lateriflection in rabbit lumbar

表 1 兔腰椎载荷-应变关系($\bar{x} \pm s, \mu\epsilon$)

Tab.1 Relation of load-straining in rabbit lumbar($\bar{x} \pm s, \mu\epsilon$)

组别	应变											
	50 N				100 N				150 N			
	压缩	前屈	后伸	侧屈	压缩	前屈	后伸	侧屈	压缩	前屈	后伸	侧屈
对照组	59±5	96±9	50±4	175±15	119±9	192±17	100±8	251±30	178±14	288±23	150±13	227±46
试验组	56±3	90±6	47±5	161±10	112±7	179±15	94±9	226±25	168±14	267±23	143±12	195±39

0.006 4、0.022 8, 而后伸运动两组的应变差异无统计学意义 ($P=0.084 8$)。应变越小,说明脊柱融合效果越好,低强度超声刺激脊柱植骨融合结果相对比较理想。

2.2 兔腰椎的载荷-位移变化 ①两组标本在 4 种不同运动工况时的腰椎载荷-位移曲线基本呈线性变化(见图 3-4),随着载荷的增加,位移同样成比例增加,卸载能恢复原状。其中以前屈运动状态的位移最小,A 组的载荷-位移方程为 $P_A = 102.04 \Delta l$,B 组为 $P_B = 108.69 \Delta l$,而在压缩状态发生的位移最大,A 组方程为 $P_A = 78.13 \Delta l$,B 组为 $P_B = 81.97 \Delta l$ 。②各组比较,低强度超声刺激脊柱植骨融合组的位移较小,150 N 时平均压缩性位移 1.59 mm,比正常小 7.0%(见表 2)。其中两组间压缩、前屈和侧屈运动的位移变化差异均有统计学意义,其统计值分别为 $P=0.001 7$ 、 $0.000 5$ 、 $0.002 2$,而后伸运动的位移变化差异则无统计学意义 ($P=0.050 2$),试验证明试验组优于正

常组。位移越小,轴向刚度越大,腰椎越稳定,变形越小,说明在低强度超声刺激下脊柱植骨融合,骨折愈合质量得到了进一步的提高。

2.3 兔腰椎的强度和刚度变化 腰椎的强度是指腰椎在植骨融合后用低强度超声治疗后腰椎抵抗破坏能力的表现,通常用它的应力大小来表示。而刚度是指腰椎在轴向载荷作用下抵抗变形能力的表现,通常称为轴向刚度 $EF(N/mm)$ 。

2.3.1 兔腰椎的强度 腰椎在脊柱横突间后外侧植骨融合后,用低强度超声刺激治疗,实验结果表明:它的强度普遍比对照组强度高(见图 5、表 3),轴向压缩时增大 3% ($P=0.191 6$),前屈增大 9% ($P=0.001 8$),后伸增大 2% ($P=0.351 1$),侧屈增大 10% ($P=0.000 1$),平均强度比对照组高 6%,虽然统计显示仅在前屈和侧屈运动中两组的强度差异存在统计学意义,但试验组的总体强度水平已达到甚至超过对照组水平,说明低

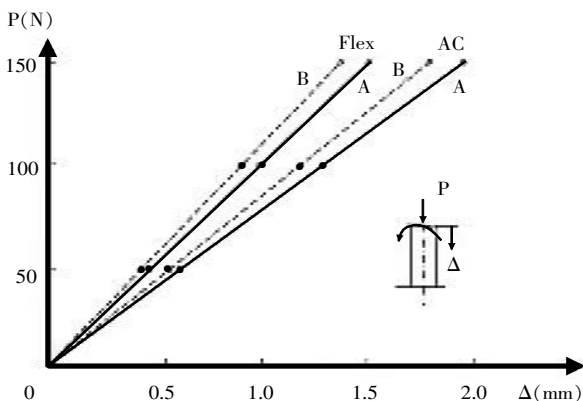


图 3 兔腰椎轴向压缩、前屈时载荷-位移曲线 图 4 兔腰椎后伸、侧屈时载荷-位移曲线

Fig.3 Load-bias curve of axial direction and ante flexion in rabbit lumbar Fig.4 Load-bias curve of extend and lateriflection in rabbit lumbar

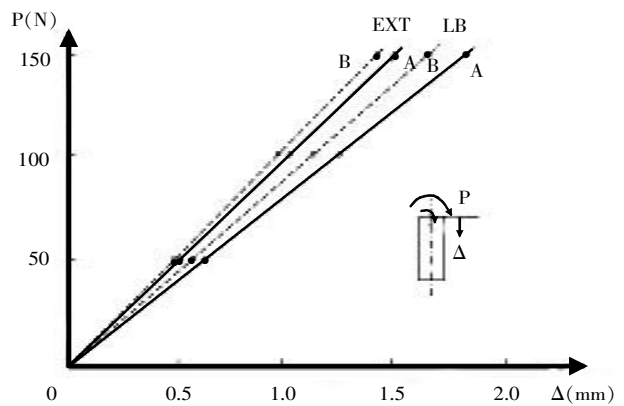


表 2 兔腰椎载荷-位移关系 ($\bar{x} \pm s$, mm)

Tab.2 Relation of load-bias in rabbit lumbar ($\bar{x} \pm s$, mm)

分组	位移											
	50 N				100 N				150 N			
	压缩	前屈	后伸	侧屈	压缩	前屈	后伸	侧屈	压缩	前屈	后伸	侧屈
对照组	0.64±0.05	0.49±0.04	0.52±0.04	0.63±0.05	1.28±0.10	0.98±0.07	1.04±0.08	1.26±0.10	1.92±0.15	1.47±0.10	1.56±0.13	1.89±0.14
试验组	0.61±0.05	0.46±0.03	0.48±0.04	0.59±0.05	1.20±0.07	0.91±0.06	0.98±0.07	1.17±0.08	1.77±0.13	1.35±0.10	1.48±0.12	1.75±0.13

强度超声刺激能有效促进骨折愈合,提高脊柱融合的程度。

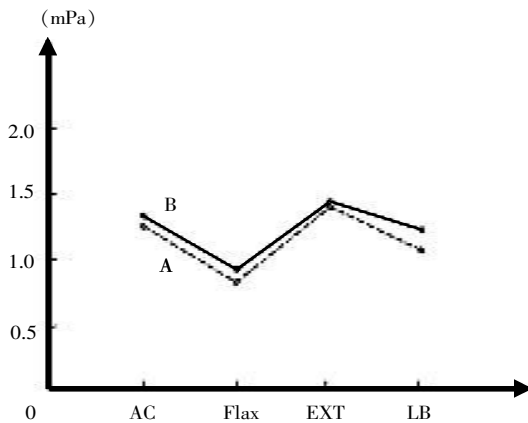


图 5 兔腰椎在 150 N 时不同工况下的强度比较

Fig.5 Intensity comparison of different working conditions of rabbit lumbar in 150 N

表 3 兔腰椎在 150 N 时的强度 ($\bar{x} \pm s$, mPa)

Tab.3 Intensity comparison of rabbit lumbar in 150 N

($\bar{x} \pm s$, mPa)

组别	腰椎强度			
	压缩	前屈	后伸	侧屈
对照组	1.28±0.09	0.83±0.06	1.39±0.11	1.08±0.07
试验组	1.32±0.10	0.91±0.07	1.42±0.09	1.21±0.08

2.3.2 兔腰椎的轴向刚度 兔腰椎的轴向刚度大小,超声刺激后试验组同样普遍高于对照组(见图 6,表 4)。轴向压缩时增加 8%($P=0.0016$),前屈、后伸、侧屈时分别提高 8%($P=0.0018$),5%($P=0.0454$),7%($P=0.0044$),其平均轴向刚度比正常组高 7%,统计显示试验组在 4 种运动工况下的轴向刚度与对照组比较差异均有统计学意义。结果提示低强度超声刺激治疗提高了腰椎抵抗变形的能力。

2.4 兔腰椎的扭转生物力学特性 腰椎的扭转生物力学特性是指腰椎在扭转时它能承受的最大扭矩和抗扭刚度的大小能力的表现。而抗扭刚度是指腰椎在扭转时抵抗扭转变形能力的大小,通常用 G_{jp} 表示,单位 $N \cdot cm/Deg$ 。

兔腰椎的扭矩-扭角变化曲线呈非线性变化(见图 7),在等量扭角变形作用下,其对照组和试验组分别承受最大扭矩为 $0.53 N \cdot m$ 和 $0.58 N \cdot m$ (见表 5),两者相差 9%,差异有统计学意义($P=0.0001$),结果显示试验组扭矩大,抗扭能力强。从扭转刚度分析,A、B 两组的抗扭刚度分别为 11.54、12.50,前者小于后者约 8%,差异有统计学意义($P=0.0018$),提示试验组在抗扭刚度方面占有较大优势。

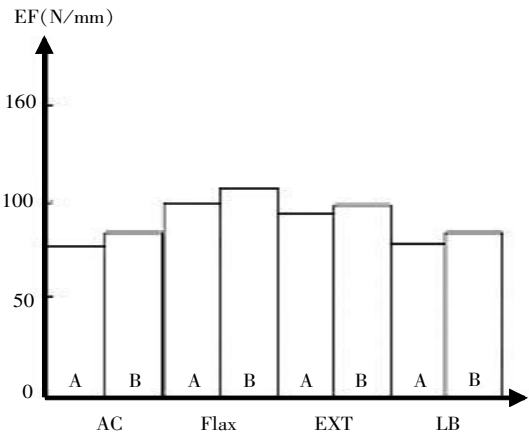


图 6 兔腰椎在 150 N 时轴向刚度比较

Fig.6 Axial direction rigidity comparison of rabbit lumbar in 150 N

表 4 兔腰椎在 150 N 时的轴向刚度 ($\bar{x} \pm s$, N/mm)

Tab.4 Axial direction rigidity of rabbit lumbar in 150 N

($\bar{x} \pm s$, N/mm)

分组	单项刚度			
	压缩	前屈	后伸	侧屈
对照组	78.13±5.47	102.04±7.66	96.15±8.28	79.37±6.34
试验组	84.75±6.75	111.11±9.32	101.35±7.60	85.71±6.88

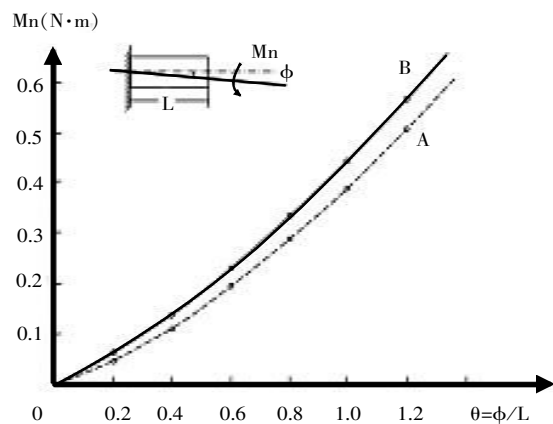


图 7 兔腰椎的扭矩-扭角曲线

Fig.7 Curve of torque and torsion angle in rabbit lumbar

2.5 兔腰椎的极限力学性能 在生理载荷作用力学测量之后,最后进行极限力学性能的测试,目的在于观察两种不同情况下腰椎失稳的情况、破坏的形态以及它们的极限力学性质。兔腰椎正常组的极限载荷为 427 N,而低强度超声刺激脊柱植骨融合组的极限载荷为 469 N,前者比后者小 9.0%(见表

表 5 兔腰椎的扭角-扭矩关系值($\bar{x} \pm s, N \cdot m$)

Tab.5 Relation of torque-torsion angle in rabbit lumbar($\bar{x} \pm s, N \cdot m$)

分组	扭矩						
	扭角:	0.2°	0.4°	0.6°	0.8°	1.0°	1.2°
对照组		0.05±0.01	0.10±0.02	0.18±0.03	0.28±0.04	0.40±0.04	0.53±0.04
试验组		0.07±0.01	0.12±0.02	0.22±0.02	0.32±0.03	0.45±0.03	0.58±0.03

表 6 兔腰椎的极限力学的性能($\bar{x} \pm s$)

Tab.6 Maximum mechanical efficiency in rabbit lumbar($\bar{x} \pm s$)

名称	极限载荷 P(N)	极限位移 Δ (mm)	屈服载荷 P _s (N)	屈服位移 Δ_s (mm)	破坏形态
对照组	427±29	7.24±0.52	320±24	6.73±0.48	L ₅ 压缩性塌陷骨折
试验组	469±32	8.41±0.64	364±27	6.27±0.52	植骨融合处塌陷骨折

6、图 8), 差异有统计学意义($P=0.0001$)。当对照组兔腰椎的极限载荷出现时, 腰椎的体液不断流出, 直到腰椎出现坍塌发生骨折, 清晰地听到骨折声而后导致压扁碎裂。当低强度超声刺激治疗脊柱植骨融合组到达极限载荷时, 会听到骨折的声音, 植骨融合处首先发生脱出, 体液外流, 直到塌陷碎裂而彻底破坏。在发生破坏之前, 试验组腰椎已经失稳, 变形不断增加, 位移加大, 脊柱歪斜, 载荷呈不对称, 而后才发生脊柱椎体的塌陷、骨折而破坏。

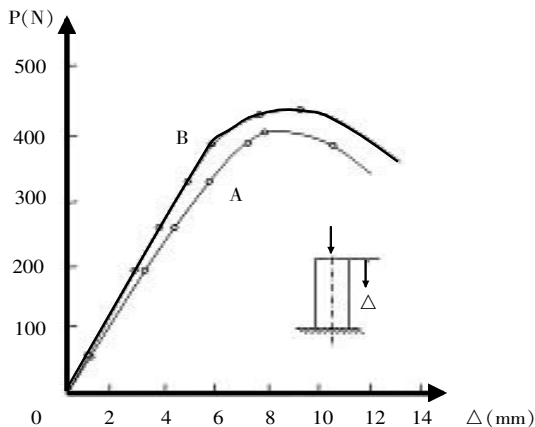


图 8 兔腰椎的极限载荷-位移曲线

Fig.8 Curve of maximum load and offset in rabbit lumbar

3 讨论

低强度脉冲超声是一种经皮传递的非侵入性机械能, 它对骨折愈合过程的促进作用可能与以下生物学机制有关: 超声引起细胞膜结构变化, 从而导致离子通透性的改变及第二信使激活, 后者可引起基因表达的改变, 进一步引起软骨及骨特异基因的表达上调, 从而调节骨折的愈合过程。超声可以刺激血管发生, 促进骨折部位的血流, 从而使生长因子及细胞因子等骨折愈合的必需成分运输加强。超声刺激软骨形成与软骨增生, 导致内生软骨形成提前发生, 从而使骨折部位的强度及抗应力加强, 超声还可直接刺激骨形成, 与本试验同步进行的细胞组织学检查同样得到了论证。

生物力学实验结果表明^[5]: 脊柱植骨融合采用低强度超声治疗能促进并加速骨折愈合, 其标本的强度比对照组提高

6%, 轴向压缩、前屈、后伸、侧屈分别提高 3%、9%、2%、10%。说明采用低强度超声能提高骨的愈合质量, 强度比较大。脊柱植骨融合采用低强度超声治疗不但能提高它的强度, 而且它能提高脊柱的轴向刚度达 7%, 在 4 种运动工况下分别依次提高 8%、8%、5%、7%, 证明低强度超声能促进骨的愈合质量, 抗变形能力大为增加。同样脊柱植骨融合采用低强度超声治疗, 对腰椎的扭转强、刚度分别提高 9%、6%, 抗扭转力学性能同样十分优越。兔腰椎经低强度超声治疗后, 它的承载能力比正常标本高 9%, 平均能承受 469 N 的极限载荷。证明低强度超声对脊柱植骨融合十分有利, 不但能提高脊柱的稳定性, 而且承载能力会大幅度提高, 这对脊柱提高融合, 不发生假关节、退变、畸形愈合是十分有利的。

青少年脊柱侧弯等疾病在选择脊柱后外侧融合术时, 由于脊柱后外侧融合的不愈合率约 20%~50%, 使得该手术的风险性大大上升。通过本试验可见利用低强度超声治疗横突间融合促骨质愈合是十分有利的, 增强融合的生物应力强度, 是比较理想的方法之一, 正实现了轻度腰椎不稳症无须加后路内固定术达到恢复腰椎稳定性的目的。在临床上, 低强度超声应用于四肢骨折文献报道较多, 但未见应用于脊柱有关的文献报道, 故对低强度超声在脊柱方面的临床应用研究是下一步的目标。

参考文献

- [1] Christensen FB. Lumbar spinal fusion: outcome in relation to surgical methods, choice of implant and postoperative rehabilitation. Acta Orthop Suppl, 2004, 75(313): 2-43.
- [2] Appleford MR, Cole JA, Protivinsky J. Ultrasound effect on osteoblast precursor cells in trabecular calcium phosphate scaffolds. Biomaterials, 2007, 28(32): 4788-4794.
- [3] Unsworth J, Kaneez S, Harris S. Pulsed low intensity ultrasound enhances mineralisation in preosteoblast cells. Ultrasound Med Biol, 2007, 33(9): 1468-1474.
- [4] Mizrahi N, Seliktar D, Kimmel E. Ultrasound-Induced angiogenic response in endothelial cells. Ultrasound Med Biol, 2007, 33(11): 1818-1829.
- [5] 王以进. 骨科生物力学实验统计与实施. 中国矫形外科杂志, 2005, 13(1): 69-70.

(收稿日期: 2008-06-25 本文编辑: 连智华)