

体外冲击波联合高压氧治疗兔桡骨骨折骨不连的实验研究

郝少林, 李宏宇, 刘搏宇, 蔡敏, 杨勇, 来文兵

基金项目: 广西医疗卫生重点科研课题(编号:重2011120); 广西卫计委中医药科技专项面上课题(编号:GZPT1242); 广西适宜卫生技术研发推广人才小高地项目(编号:006011)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院骨科

作者简介: 郝少林(1989-), 男, 在读研究生, 研究方向: 关节外科及创伤骨科疾病的诊治。E-mail: 1050271629@qq.com

通讯作者: 李宏宇(1966-), 男, 医学博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 关节外科及创伤骨科疾病的诊治。E-mail: lihongyu36@sohu.com

[摘要] 目的 探讨体外冲击波联合高压氧治疗兔桡骨骨折骨不连的效果及作用原理。方法 选用新西兰雄性健康标准实验大白兔48只(月龄及体重相当), 无菌条件下制作兔双侧桡骨骨不连模型, 采用随机数字表法随机分成四组, 每组12只。其中A组为体外冲击波联合高压氧治疗组; B组为单纯高压氧治疗组; C组为单纯体外冲击波治疗组; D组为对照组, 不做任何处理。分别在治疗前及治疗后第2、4、8、12周摄X线片并处死部分实验动物取活组织进行大体观察、骨折间隙变化、骨痂钙含量测定、光镜检查骨痂成骨细胞计数, 最后进行统计学分析。结果 X线观察, A组与B、C、D组骨不连间隙4、8、12周差异有统计学意义($P < 0.05$)。A、C两组骨痂钙元素含量2、4、8、12周差异有统计学意义($P < 0.05$), 骨痂成骨细胞计数2、4、8周差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 体外冲击波联合高压氧对骨不连的治疗效果优于单纯体外冲击波治疗, 单纯高压氧治疗对骨不连无明显帮助, 高压氧可作为体外冲击波治疗骨不连的一种良好的协同方法。

[关键词] 兔; 桡骨; 骨不连; 体外冲击波; 高压氧

[中图分类号] R 683 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)03-0210-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.03.05

Experimental study on the treatment of bone nonunion of rabbit radius by extracorporeal shock wave combined with hyperbaric oxygen YU Shao-lin, LI Hong-yu, LIU Bo-yu, et al. Department of Orthopaedics, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect and action mechanism of extracorporeal shock wave combined with hyperbaric oxygen in the treatment of bone nonunion. **Methods** Forty-eight health standard experiment New Zealand and white rabbits were chosen (months of age are consistent with weights), and divided into four groups by using the random number table after the models were made by osteotomy (12 in each group). The group A was extracorporeal shock wave combined with hyperbaric oxygen group; The group B was hyperbaric oxygen group; The group C was pure extracorporeal shock wave group; The group D was in control group, X-ray examination was made before treatment and at 2, 4, 8, 12 weeks after treatment; and part of the experimental animals were executed at each time point to get the live tissue for making general observation, observing the change of nonunion gap, detecting the calcium content, using the optical microscope to observe the osteoblast in bone callus, and statistical analysis of the data was made at last. **Results** X-ray observation showed that there was a significant difference in the nonunion gap at 4, 8, 12 weeks between group A and group B, C or D ($P < 0.05$). Callus calcium contents at 2, 4, 8, 12 weeks in group A were higher than those in group C, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was a significant difference in callus osteoblast count at 2, 4, 8 weeks between group A and group C ($P < 0.05$). **Conclusion** Extracorporeal shock wave combined with hyperbaric oxygen treatment for bone nonunion is better than pure extracorporeal shock wave therapy, simple hyperbaric therapy has no obvious help for the treatment of bone nonunion, hyperbaric oxygen can be used as a good synergy method in the extracorporeal shock wave treatment of bone nonunion.

[Key words] Rabbit; Radius; Bone nonunion; Extracorporeal shock wave; Hyperbaric oxygen

自 20 世纪 90 年代体外冲击波用于治疗骨折骨不连以来,其疗效得到了动物实验及临床的证实^[1]。高压氧治疗具有提高氧分压,增加血氧弥散距离,改善缺氧组织状态及改善微循环等优点。研究表明,高压氧治疗可明显促进成骨细胞成骨分化,增加骨痂内钙、磷等多种微量元素的含量^[2]。我们通过将体外冲击波对骨折端产生的力学作用和高压氧促进骨生长、改善微循环的作用结合对兔桡骨骨折骨不连进行治疗,取得了满意效果,为临床治疗骨不连提供了一种良好协同方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物与仪器 选取新西兰雄性健康标准实验大白兔 48 只,体重 3.0 ~ 3.5 kg,兔龄 5 ~ 6 个月;体外冲击波碎石机(多尼尔小王子,德国);动物高压氧舱(型号 03-Y900-001,中国烟台);普通 X 光机(DR);光学显微镜(型号 Olympus BX40,日本);原子吸收分光光度计(型号 180-80,日本)等。

1.2 实验方法

1.2.1 模型制作 麻醉后,截除双侧桡骨中段 1.0 cm 左右(包括骨膜),断端堵塞明胶海绵后,缝合伤口。肌注青霉素 30 万单位,12 周后摄 X 线片,如 X 线显示骨折断端硬化,髓腔封闭,证实骨不连模型建立成功,则纳入研究。

1.2.2 动物分组 造模成功后,将 48 只兔子按体重进行编号,采用随机数字表法将实验动物随机分成四组,每组 12 只 24 条桡骨,A 组为体外冲击波联合高压氧治疗组;B 组为单纯高压氧治疗组;C 组为单纯体外冲击波治疗组;D 组为对照组,不做任何处理。各组饲养和居住环境一致。

1.2.3 体外冲击波治疗 麻醉下在体外冲击波碎石机透视下进行定位,采用冲击波焦点能量为 0.5 mJ/mm²,频率为 70 ~ 80 次/min,冲击量为 800 次,焦点聚焦范围为 1.5 cm²,在透视下调整冲击焦点,分别对骨折远、近端边缘进行冲击。每次治疗时间约 20 min,共治疗一次。

1.2.4 高压氧治疗 采用动物氧舱进行高压氧治疗,压力 0.25 MPa(2.5 ATA),以循环封闭方式吸

氧,加压时间为 20 ~ 30 min,稳压时间 70 min,减压时间 30 ~ 35 min,1 次/d,7 d 为 1 个疗程,共治疗 2 个疗程,2 个疗程之间休息 5 d。

1.2.5 X 线片检查 体外冲击波治疗后 2、4、8、12 周时行 X 线片检查,主要观察骨不连区的间隙距离变化,并在计算机上精确测量治疗前后骨折间隙的平均宽度,采用多点测量取平均值的方法,记录所获得的平均值。

1.2.6 光镜检查 上述每个时间点处死实验动物 3 只(采用空气栓塞法),取出处死动物骨不连部位(长约 1.5 ~ 2.0 cm)组织,生理盐水冲洗后,置入 4% 多聚甲醛溶液进行固定,48 h 后,置入 10% 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)中脱钙 4 周,每周更换脱钙液 1 次。待标本变软(注射针头无阻力穿过)后用梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡处理切片,HE 染色,4 μm 连续切片,HE 染色后制作成切片在光学显微镜下进行组织学观察,主要观察骨痂中成骨细胞计数。

1.2.7 骨痂钙元素含量测定 取骨不连区部分新生骨痂,滤纸吸干后置入烤箱中进行烘干处理(60, 48 h),称重后放入硝酸:高氯酸(4:1)溶液中 24 h,取出标本置于电热板加热消化至白色液体,然后用去离子水稀释定容,定容后直接在原子吸收分光光度计上测定钙元素含量。其计算公式为:钙元素含量(mg/g) = 元素含量(mg)/骨痂干重(g)。

1.3 统计学方法 应用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,不同组间各时间点比较采用单因素方差分析(one-way NOVA),方差齐的采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 X 线观察结果 治疗 12 周后 X 线观察发现,A、C 两组骨不连间隙变化明显,其中 A 组变化较 C 组更为明显。B、D 两组骨折间隙无明显改变,骨折断端仍为硬化骨,骨髓腔封闭,呈现骨不连影像学改变(见图 1)。骨折间隙变化比较见表 1。

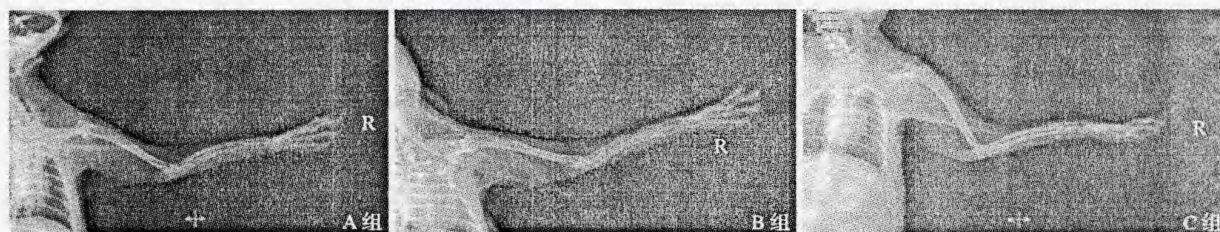


图 1 治疗 12 周后 X 线所见

表1 各组治疗前后X线检查骨折间隙变化情况比较 $[(\bar{x} \pm s), \text{mm}]$

组别	治疗前(n=12)	治疗第2周(n=12)	治疗第4周(n=9)	治疗第8周(n=6)	治疗第12周(n=3)
A组	5.49 ± 0.91	6.27 ± 0.66	7.29 ± 0.60	8.36 ± 0.40	9.50 ± 0.36
B组	5.25 ± 0.57	5.34 ± 0.27 [▲]	5.45 ± 0.76 [▲]	5.60 ± 0.75 [▲]	5.81 ± 0.76 [▲]
C组	5.47 ± 0.78	6.03 ± 0.81	6.75 ± 0.68 [▲]	7.64 ± 0.54 [▲]	9.07 ± 0.39 [▲]
D组	5.57 ± 0.68	5.35 ± 0.70 [▲]	5.41 ± 0.74 [▲]	5.44 ± 0.76 [▲]	5.54 ± 0.85 [▲]
F	0.307	5.156	25.393	57.737	109.546
P	0.820	0.070	0.000	0.001	0.000

注:与A组比较,[▲] $P < 0.05$;与C组比较,[△] $P < 0.05$

2.2 光镜检查结果 A组2周时间隙两端可见间充质细胞及成骨细胞,新生骨小梁形成,骨小梁排列不规则,可见较多纤维骨痂;4周时骨岛形成,骨痂以软骨骨痂和骨性骨痂为主,可见骨小梁周围有成骨细胞,骨小梁增粗;8周时骨样组织逐渐成熟骨化,形成新的骨组织,纤维组织出现钙化和骨化,骨小梁继续增粗增多,可见部分连续骨小梁;12周时骨小梁粗大且致密,连续性较明显,可见大量正常骨成分及成骨细胞。C组2周时大量肉芽组织形成,其内可见新生小血管,新生骨小梁形成,但小梁密度不均匀,体积小;4周时可见骨小梁增粗,骨痂以纤维骨痂和软骨骨痂为主,未见骨性骨痂,骨小梁周围可见有成骨细胞,但数量不及A组;8周时可见骨岛形成,骨小梁较前增粗,可见少量骨化组织,未见连续骨小梁;12周时骨小梁数量明显增多,但排列不规则,可见部分呈网络状的骨小梁,骨组织无生长迹象,纤维组织出现骨化现象。B、D两组各时间点所取骨间隙处无骨痂生成,早期可见炎症细胞浸润,镜下未见活跃的呈增生状的成骨细胞,见较多的成纤维细胞和排列紊乱的纤维结缔组织。A、C两组8周时光镜观察情况见图2。

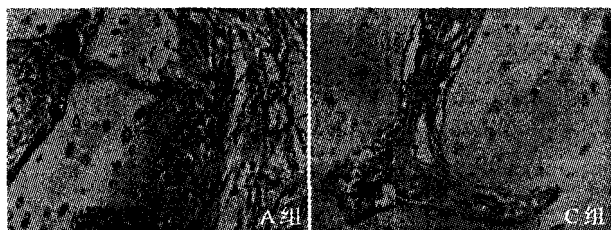


图2 A、C两组8周时光镜观察情况(HE×400)

2.3 A、C两组各时间点骨痂中钙元素含量比较 A、C两组骨痂中钙元素含量比在各时间点均差异有统计学意义(B、D两组各时间点所取骨间隙处无骨痂生成)。见表2。

表2 A、C两组各时间点骨痂中钙元素含量比较(mg/g)

组别	第2周(n=3)	第4周(n=3)	第8周(n=3)	第12周(n=3)
A组	2.25 ± 0.29	3.42 ± 0.36	4.46 ± 0.44	5.34 ± 0.27
C组	1.35 ± 0.26	2.12 ± 0.26	3.28 ± 0.27	3.94 ± 0.24
t	4.002	5.070	3.959	6.712
P	0.008	0.003	0.008	0.001

2.4 A、C两组各时间点骨痂中成骨细胞计数比较 A、C两组在2、4、8周成骨细胞计数差异具有统计学意义,12周时两组成骨细胞计数差异无统计学意义(B、D两组各时间点所取骨间隙处无骨痂生成)。见表3。

表3 A、C两组各时间点骨痂中成骨细胞计数比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	第2周(n=3)	第4周(n=3)	第8周(n=3)	第12周(n=3)
A组	38.50 ± 6.53	72.17 ± 7.47	102.33 ± 6.65	96.67 ± 5.61
C组	25.00 ± 4.73	55.67 ± 4.63	84.50 ± 7.71	92.50 ± 5.75
t	2.900	3.251	3.033	0.899
P	0.022	0.015	0.019	0.209

3 讨论

3.1 体外冲击波的作用原理 体外冲击波治疗骨不连的成功率可达85%^[3]。甚至有学者^[4]认为,体外冲击波可作为骨不连的首选治疗方法。体外冲击波治疗的主要机理是利用冲击波的空化效应和声学原理,造成骨折两端硬化骨和正常骨组织的扭转和能量梯度差,使硬化骨应力碎裂,形成微小骨折。另外,冲击波使骨不连部位形成的大量微骨片向中间移位,使得骨不连间隙变窄,在这两种效应的共同作用下骨不连部位形成新的血肿,血肿处的炎症反应释放炎性介质和生长因子将有利于趋化和募集骨母细胞,重启骨折的愈合机制^[5]。随着对体外冲击波研究的不断深入,其作用原理也得到不断的完善,Hausdorf等^[6]发现体外冲击波治疗可产生一种由成纤维细胞和成骨细胞分泌的具有促进新骨形成作用的成纤维细胞生长因子(FGF-2),产生诱导成骨作用的生物学方面的效应。

3.2 体外冲击波联合高压氧治疗骨不连的意义

高压氧与体外冲击波协同使用时,能加快骨痂生长及骨痂中钙盐的沉积,促进骨的钙化^[7]。体外冲击波联合高压氧作用的可能机制为:(1)体外冲击波使骨折断端产生微骨折的作用,重启骨折愈合机制,而高压氧治疗通过增加动脉血和缺氧组织氧分压梯度而提高骨折处氧供应,改善骨折处缺血缺氧环境,起到加快骨折愈合的作用^[8]。(2)在本实验中,我

们发现体外冲击波联合高压氧治疗组的成骨作用明显强于单纯体外冲击波治疗组,光镜检查也发现,联合高压氧组镜下成骨细胞数明显多于单纯体外冲击波组。(3)促进某些生长因子的作用。国内学者^[9]研究表明高压氧能促进骨折断面生长因子骨形态发生蛋白-2(BMP-2)、骨形态发生蛋白-7(BMP-7)、CD34、血管内皮生长因子(VEGF)表达上调,且 VEGF 与 BMP-2、BMP-7、CD34 呈正相关表达关系,这些因子的存在能起到加快新生骨形成作用,促进骨折愈合。

3.3 本研究表明高压氧对体外冲击波治疗后骨不连部位骨组织生长起到了良好的促进作用,提高了体外冲击波治疗骨不连的有效性,而单纯高压氧治疗对骨不连无明显作用。高压氧的主要协同作用表现为:(1)改善骨不连部位氧供及血供,改善局部微循环,促进骨折愈合;(2)促进骨折端骨痂形成;(3)促进骨痂中钙及其他元素的沉积;(4)促进成骨折端成骨细胞分化。因此,对于使用体外冲击波治疗的骨不连患者,如果无明显禁忌证,可以联合高压氧治疗来提高疗效。

参考文献

1 邢 星,冯 培.体外冲击波治疗骨折延迟愈合及骨不连:动物实

验及临床病例随访[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(9):1625-1628.

2 张传开,史 跃,孙 阳,等.自体骨髓细胞移植联合高压氧治疗四肢骨不连[J].中国组织工程研究,2013,17(19):3515-3520.

3 李宏宇,梁 斌,李丽春,等.冲击波治疗四肢骨折内固定术后骨不连的临床分析[J].中国临床新医学,2010,3(12):1168-1172.

4 杨 军,史 展,邢更彦.体外冲击波疗法治疗肌肉骨骼系统疾病研究的相关进展[J].中国医学前沿杂志,2014,6(1):34-39.

5 Mittermayr R, Antonic V, Hartinger J, et al. Extracorporeal shock wave therapy (ESWT) for wound healing: technology, mechanisms, and clinical efficacy [J]. Wound Repair Regen, 2012, 20(4): 456-465.

6 Hausdorf J, Sievers B, Schmitt-Sody M, et al. Stimulation of bone growth factor synthesis in human osteoblasts and fibroblasts after extracorporeal shock wave application [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2011, 131(3):303-309.

7 Kuffler DP. Hyperbaric oxygen therapy: can it prevent irradiation-induced necrosis? [J]. Exp Neurol, 2012, 235(2):517-527.

8 孙贵平.高压氧在下肢创伤中的疗效分析[D].武汉:华中科技大学,2012.

9 刘 震.高压氧对兔下颌骨牵引区生长因子表达的影响[D].四川:泸州医学院,2012.

[收稿日期 2014-09-09][本文编辑 韦所苏]

课题研究·论著

2011~2013 年广西孕产妇梅毒检测 results 分析

黄越华, 丘小霞, 李 映, 莫 云, 谢小花

基金项目: 广西卫计委科研课题(编号: Z2012216)

作者单位: 530003 南宁, 广西壮族自治区妇幼保健院保健部(黄越华, 丘小霞, 李 映, 谢小花); 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院(莫 云)

作者简介: 黄越华(1958-), 女, 大学本科, 学士学位, 主任医师, 研究方向: 预防艾滋病、梅毒和乙肝母婴传播。E-mail: qfyhyh@sina.com

通讯作者: 莫 云(1960-), 男, 研究生学历, 学士学位, 主任医师, 研究方向: 妇产科临床, 预防艾滋病、梅毒和乙肝母婴传播。E-mail: Moyun1960@163.com

[摘要] 目的 了解广西孕产妇梅毒感染情况, 为制定梅毒母婴传播干预政策提供依据。方法 对首次产检建卡和住院分娩的孕产妇进行免费快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)或甲苯胺红不加热血清试验(TRusrt)筛查, 试验结果呈阳性者采用梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)进行确认。收集 2011~2013 年预防艾滋病梅毒和乙肝母婴传播信息系统月报表, 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析。结果 2011 年、2012 年、2013 年全区孕产期接受梅毒检测的孕产妇数分别为 798 305 人、924 622 人和 852 306 人, 三年合计筛查 2 575 233 人, 孕产妇梅毒检测率分别为 96.12%、99.55%、99.84%, 呈逐年上升趋势。2011 年、2012 年、2013 年发现感染梅毒孕产妇总数分别为 1 778 人、870 人和 1 410 人, 孕产妇梅毒检出率分别为 0.22%、0.09% 和 0.17%, 2013 年较 2012 年上升了近一倍。孕产妇孕期梅毒检测率 2013 年较 2011 年上升了