

· 基础研究 ·

低强度脉冲超声对兔关节软骨损伤修复的影响

贾小林 陈文直 孙保勇 王智彪

【摘要】目的 探讨低强度脉冲超声对兔受损关节软骨修复的影响。**方法** 于 10 只兔双侧股骨髁间窝软骨面处全层钻孔,作为动物模型。术后左后肢膝关节缺损处予以低强度脉冲超声辐射作为治疗组,右后肢膝关节予以假辐射作为对照组。于术后 8 周全部处死,行大体评分、组织学评分及修复组织中蛋白多糖含量测定。**结果** 治疗组大体评分、组织学评分及甲苯胺蓝染色光密度值均比对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 低强度脉冲超声能促进受损关节软骨修复,且修复组织类似透明软骨。

【关键词】 低强度脉冲超声; 软骨; 损伤; 修复

The effects of low intensity pulsed ultrasound on repair of articular cartilage injury in rabbits JIA Xiao-lin*, CHEN Wen-zhi, SUN Bao-yong, WANG Zhi-biao. * Department of Orthopedics, Chongqing Zhongshan Hospital, Chongqing 400013, China

【Abstract】Objective To investigate the effects of low intensity pulsed ultrasound (LIPU) on articular cartilage injury in rabbits. **Methods** Ten adult New Zealand white rabbits with bilateral, full-thickness osteochondral defects in the cartilage surfaces of intercondylar fossas were used as model. The left knees in these rabbits treated with LIPU were used as experimental group. The right knees treated with sham intervention were used as controls. All the rabbits were sacrificed at the 8th week postoperation for gross appearance grading, histological grading and semi-quantitation of proteoglycan in the repairing tissue. **Results** Compared with controls, defects treated with LIPU improved significantly as shown by gross appearance grades, histological grades and optical density of toluidine blue at the 8th week postoperation (both $P < 0.05$). **Conclusion** LIPU could accelerate repairing of articular cartilage injury.

【Key words】 Low intensity pulsed ultrasound; Cartilage; Injury; Repair

关节软骨损伤是骨科较常见的损伤,因关节软骨自身修复能力差,最终常导致关节活动功能受限,故如何促进受损关节软骨修复,一直是骨科领域的难题。在辅助修复方法上,脉冲电磁场的研究较为广泛,然而其治疗时间过长,患者不易接受,目前还仅局限于动物实验。超声广泛应用于临床诊断及治疗,其中低强度脉冲超声(low intensity pulsed ultrasound, LIPU)促进受损的结缔组织,尤其是骨组织修复的研究较为深入^[1],但其对受损软骨修复的影响的研究尚少。本实验旨在探讨 LIPU 对兔受损关节软骨修复的影响。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验动物:纯种成年健康新西兰兔 10 只,雌雄

不拘,体重 2.0 ~ 2.5 kg,由重庆医科大学实验动物中心提供。

2. 低强度脉冲超声治疗仪:由重庆医科大学医学超声工程研究所自行研究、设计、制造。它由电源供给系统、功率发生器(功率源)和超声换能器三部分组成。声头直径为 2 cm,超声信号的频率为 1.5 MHz、脉冲宽度为 200 μ s、重复频率为 1 kHz、强度为 30 mW/cm²。

二、实验方法

常规脱毛、麻醉(戊巴比妥钠 30 mg/kg 体重)、消毒、铺巾,于无菌条件下,在双侧膝关节前切口,纵向切开约 2 cm 长皮肤,逐层深入,暴露股骨髁间窝关节面,行直径 3.0 mm、深 5.0 mm 的骨软骨缺损,以生理盐水冲洗创口,逐层缝合。术后连续 3 d 肌注抗生素,不外固定,笼内喂养。3 d 后,左膝关节骨软骨缺损处以 LIPU 行接触固定法辐射,右膝关节骨软骨缺损处予以假辐射作为对照。辐射前均以 5% 麻醉剂量的戊巴比妥钠肌注进行镇静,常规剪毛。每天治疗 1 次,每次 20 min,共 56 次。

三、实验分组

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.05.006

基金项目:国家“九五”重点科技攻关项目(96-905-02-01),国家自然科学基金重点项目(396303340)

作者单位:400013 重庆,重庆市中山医院骨科(贾小林);重庆医科大学医学超声工程研究所(陈文直、孙保勇、王智彪)

10 只兔均于术后 56 d 全部处死,每只左后肢膝关节为治疗组,右后肢膝关节为对照组。

四、观察项目

1. 大体评分:观察关节面缺损处是否光滑平整、凹陷、不规则或高出周围软骨,膝关节腔内有无粘连、软骨碎裂、骨赘形成。评分标准见文献[2]。

2. 组织学评分:将标本用 10% 中性甲醛固定,常规脱钙、包埋,行苏木精-伊红(hematoxylin eosin, HE)染色。观察修复组织细胞形态特征、软骨下骨板有无重建、缺损填充程度、表面光滑度、与相邻软骨的连接等。评分标准见文献[3]。

3. 修复组织中蛋白多糖含量测定:以甲苯胺蓝行组织化学染色后,对所染切片用图像数字分析仪作定量分析,根据所得光密度(optical density, OD)大小,表示蛋白多糖的相对含量。

五、统计学分析

采用 SAS 8.0 版统计分析软件,进行配对 *t* 检验统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、大体观察

治疗组和对照组的膝关节均无畸形、红肿,活动范围正常,关节液清亮,关节内无粘连。治疗组骨软骨缺损区填充物色泽与周围软骨相似,表面光滑、透明,富有弹性,与周围关节面相平,但与周围软骨仍有稍模糊的界线,评分为 (6.700 ± 0.823) 分;对照组骨软骨缺损区填充物为灰白色、半透明、较硬、略凹,部分标本缺损区边缘高出正常软骨组织,与周围软骨连接较好,但有较明显的分界线,评分为 (5.500 ± 0.850) 分。2 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 2 组治疗后大体评分、组织学评分及光密度值比较
($\bar{x} \pm s$)

组 别	大体评分 (分)	组织学评分 (分)	光密度值
治疗组	6.700 ± 0.823^a	10.000 ± 0.816^a	0.235 ± 0.014^a
对照组	5.500 ± 0.850	8.600 ± 0.966	0.202 ± 0.018

注:与对照组比较, $^a P < 0.05$

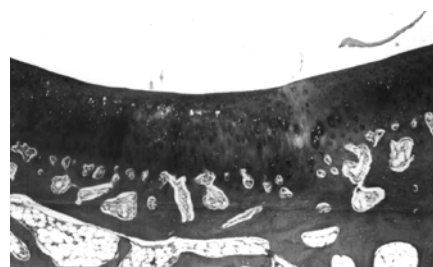
二、组织学观察

治疗组骨软骨缺损区填充组织为透明软骨样组织,与周围软骨高度相同,细胞排列规则,陷窝明显,分层明显,基质异染明显、均匀,接近于周围正常软骨,软骨下骨板重建基本完成,评分为 (10.000 ± 0.816) 分;对照组骨软骨缺损区填充组织也为软骨样组织,填充程度较治疗组差,细胞排列不甚规则,分层不明显,仅少部分细胞形成陷窝样结构,基质异染不均一,略淡,软骨下骨板有一定程度的重建,评分为 $(8.600 \pm$

$0.966)$ 分,见表 1、图 1、图 2。

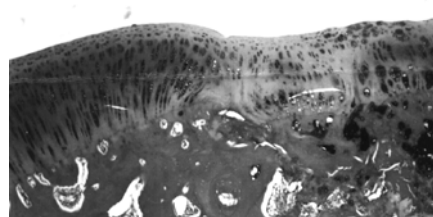
三、修复组织中蛋白多糖含量

甲苯胺蓝对软骨基质中的蛋白多糖有异染特性,染色后,再进行图像数字分析仪分析,得出光密度值,其大小代表了蛋白多糖的相对含量。测定结果表明,术后 56 d 治疗组甲苯胺蓝染色光密度值较对照组明显增高 ($P < 0.05$),见表 1。



注:细胞排列规则,陷窝明显,分层明显,基质异染明显、均匀,接近于周围正常软骨,软骨下骨板重建基本完成

图 1 术后 56 d 治疗组组织学观察 (HE 染色, $\times 40$)



注:细胞排列不甚规则,分层不明显,仅少部分细胞形成陷窝样结构,基质异染不均一,略淡,软骨下骨板有一定程度的重建

图 2 术后 56 d 对照组组织学观察 (HE 染色, $\times 40$)

讨 论

动物实验提示, LIPU 可促进大鼠骨干骨折愈合, 提高愈合强度^[4]。临床研究也提示, LIPU 可明显缩短骨折愈合时间, 促进骨不连的愈合^[5]。研究还表明, LIPU 促进骨折愈合的一个重要方面即是加速了软骨内化骨的过程^[6]。本研究证实, LIPU 对受损关节软骨的修复有促进作用, 并且发现它能促进受损软骨修复组织中蛋白多糖的合成与释放。

蛋白多糖占透明软骨基质的 10% ~ 15%, 在遇水后会膨胀, 并产生软骨基质的膨胀, 使软骨具有良好的抗震性能^[7]。目前对较微量的蛋白多糖尚无简单易行又精确的测量方法, 加之本研究中尚涉及取材时标本体积、质量误差很大, 就不可能运用传统意义上的蛋白定量方法。甲苯胺蓝对软骨基质中的蛋白多糖有异染性, 可进行特殊染色后行软骨缺损修复区图像数字分析仪分析, 得到相应的光密度值, 对蛋白多糖含量进行半定量。术后 56 d 治疗组甲苯胺蓝染色光密

度值比对照组明显增高,进一步证实了 LIPU 能加速受损关节软骨的修复,提高修复质量。

LIPU 的机械效应可导致生物组织在细胞水平上的反应,不同的细胞对这种机械作用的反应也不相同。LIPU 可以促进纤维母细胞增殖,并且可以促进其合成蛋白、分泌胶原^[8]。LIPU 对软骨细胞的作用表现为:使 aggrecan 基因表达明显提高,刺激蛋白多糖的合成^[9]。最近研究还发现,LIPU 可促进 I 型及 II 型前胶原 mRNA 表达的提高^[10],然而它不能刺激软骨细胞增殖^[11]。当然,超声信号对间充质干细胞也有很大的影响,但其存在时间较短,很快就转化为纤维母细胞、软骨细胞,超声对它的影响尚待进一步深入研究。

本研究结果表明,LIPU 可促进免受损关节软骨的修复,并且明显提高修复组织的质量,对维持关节的功能具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Takikawa S, Matsui N, Kokubu T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound initiates bone healing in rat nonunion fracture model. J Ultrasound Med, 2001, 20: 197-205.
- [2] Moran ME, Kim HK, Salter RB. Biological resurfacing of full-thickness defects in patellar articular cartilage of the rabbit. Investigation of autogenous periosteal grafts subjected to continuous passive motion. J Bone Joint Surg Br, 1992, 74: 659-667.
- [3] Caplan AI, Elyaderani M, Mochizuki Y, et al. Principles of cartilage repair and regeneration. Clin Orthop Relat Res, 1997, 342:

254-269.

- [4] Wang SJ, Lewallen DG, Bolander ME, et al. Low intensity ultrasound treatment increases strength in a rat femoral fracture model. J Orthop Res, 1994, 12: 40-47.
- [5] Nolte PA, vander Krans A, Patka P, et al. Low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of nonunions. J Trauma, 2001, 51: 693-702.
- [6] Azuma Y, Ito M, Harada Y, et al. Low intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fracture callus. J Bone Miner Res, 2001, 16: 671-680.
- [7] Poole AR, Kojima T, Yasuda T, et al. Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. Clin Orthop Relat Res, 2001 (391 Suppl): S26-33.
- [8] Ramirez A, Schwane JA, McFarland C, et al. The effect of ultrasound on collagen synthesis and fibroblast proliferation in vitro. Med Sci Sports Exerc, 1997, 29: 326-332.
- [9] Parvizi J, Wu CC, Lewallen DG, et al. Low intensity ultrasound stimulates proteoglycan synthesis in rat chondrocytes by increasing aggrecan gene expression. J Orthop Res, 1999, 17: 488-494.
- [10] Zhang ZJ, Huckle J, Francomano CA, et al. The influence of pulsed low-intensity ultrasound on matrix production of chondrocytes at different stages of differentiation: an explant study. Ultrasound Med Biol, 2002, 28: 1547-1553.
- [11] Nishikori T, Ochi M, Uchio Y, et al. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on proliferation and chondroitin sulfate synthesis of cultured chondrocytes embedded in Atelocollagen gel. J Biomed Mater Res, 2002, 59: 201-206.

(修回日期:2008-07-02)

(本文编辑:松 明)

· 短篇论著 ·

早期综合康复治疗对脑卒中后抑郁的疗效观察

李长华

脑卒中后抑郁(poststroke depression, PSD)是脑卒中患者常见并发症之一,其发病人数占脑卒中患者总数的 25% ~ 60%^[1],直接影响患者生活质量及身心健康。早期诊断、治疗 PSD 对降低脑卒中患者病死率、提高生活质量具有重要意义。我科对 PSD 患者给予早期综合康复治疗,取得满意疗效。现报道如下。

一、资料与方法

共选取 2005 年 11 月至 2007 年 5 月间在我院治疗的急性脑卒中并发抑郁症患者 48 例,均符合 1995 年全国第四届脑血管病会议制订的脑卒中诊断标准^[2],并经颅脑 CT 或 MRI 确诊为首次发病。所有患者既往无抑郁病史,且意识清晰,无严重失语,能配合进行抑郁评定,均符合“中国精神疾病分类方案与

诊断标准”中的抑郁诊断条件^[3]。将上述 48 例患者随机分为治疗组及对照组,2 组患者一般情况及病情详见表 1,经统计学分析,组间差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

表 1 2 组患者一般情况及病情比较

组 别	例数	性别(例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	脑卒中类型(例)	
		男	女		脑出血	脑梗死
治疗组	24	15	9	60.9 $\pm$ 10.8	14	10
对照组	24	16	8	62.2 $\pm$ 11.2	13	11

2 组患者均给予常规内科处理,其中缺血性脑卒中患者给予改善脑循环、抗血小板聚集、促脑代谢及神经保护等治疗;出血性脑卒中患者则给予降颅压、脑保护剂、钙离子拮抗剂等治疗。治疗组患者于病情及生命体征稳定后即给予早期康复训练,包括早期在病床上进行肢体功能位的正确摆放及各关节的被动运动,协助患者进行桥式运动、主动翻身练习,并逐步进行