

· 综述 ·

物理和生物因素对骨折愈合的影响

夏长所 叶发刚 邹云雯 纪淑香

骨折的愈合涉及到一系列力学和生物学过程,其最终目的是恢复骨的完整性和生物机械特性。在一些情况下,骨的愈合受到影响,产生骨的延迟愈合或骨不愈合(骨不连),约 10% 的骨折患者由于不能愈合而需要手术治疗^[1]。骨不连和骨缺损最好的治疗方法是自体骨移植,但由于自体骨的来源受到限制,而且供骨部位容易产生疼痛、血肿和感染等并发症,于是近年来,人们发展一些替代治疗方法如物理或生物方法,在促进骨折愈合的同时,避免了并发症的发生。常用的物理方法有使用机械刺激、电磁场、高压氧、冲击波和低强度超声波等;生物方法是生物材料、生长因子和组织工程的应用。本文就近几年这方面的进展综述如下。

物理方法

一、机械刺激(微动)

人们都知道合适的机械负荷能加速骨折的愈合,骨折部位的机械因素影响骨折的愈合方式^[2],如在骨折断端存在很小程度的活动,则产生软骨内化骨和膜内化骨使骨折愈合,在这类愈合过程中,合适的断端活动显著增加骨折的愈合率、骨痂的形成范围和血流量,而过多的活动则影响毛细血管形成,产生骨不连^[3]。Yamaji 等^[4]以羊横行截骨进行研究,环式外固定,允许负重时产生轴向微动,以骨折间隙 2 mm、6 mm 和骨折断端间相对移位 0.3 mm、0.7 mm 为 4 组,结果发现随着间隙的增加,骨折愈合延迟。Claes 等^[5]以羊横行截骨模型进行研究,外固定支架维持 2 mm 间隙,通过负重产生控制的微动,分为 0.2 mm(A 组)和 1 mm(B 组)两组,9 周时通过组织学研究截骨部位组织的分化和血管的形成。结果发现 A 组血管数目明显多于 B 组, A 组与 B 组相比,骨组织的比例明显增高,纤维软骨的比例明显降低,微动与新生血管的分布和组织形成分化的关系,说明较大的轴向微动导致血管数目的减少、愈合区域骨形成的减少和纤维软骨增多。故只有合适强度的机械负荷,才能对骨折的愈合起促进作用。

二、电磁场

电磁场对细胞的影响仍然不清楚,在体外,电磁场可刺激骨细胞分泌大量的生长因子,如骨形态蛋白 2 和 4,转移生长因子 β (TGF- β) 和胰岛素样生长因子 II^[6]。Lohmann 等^[7]将 MG63 人类成骨样细胞依时间分为 1 d、2 d、4 d 三组,每日 8 h 置于 15 Hz 20 脉冲的 Helmholtz 线圈中。实验结果表明,脉冲电磁信号引起成骨细胞的增殖与 3 H-胸苷的减少,细胞碱性磷酸酶的活性明显增强,在照射的第 1 天就达到最大效应。

临床上应用电磁场治疗骨延迟愈合和骨不愈合,治疗胫骨干骨不连的有效率是 64% ~ 87%^[6]。有人通过随机的双盲试

验,研究电磁场治疗骨不愈合形成的假关节,总共 23 个患者在伤后(平均 28 个月)产生骨不愈合,用电磁场治疗的患者,在平均治疗 21 周后,60% 的患者治愈,而对照组无 1 人治愈,故认为电磁场对骨不愈合的治疗起积极的作用^[8]。

三、低强度脉冲超声波

虽然动物和临床研究已经证实超声波能提高骨折的愈合率,但确切的生理机制仍然不清楚。在体外,低强度超声波直接影响细胞生理,在培养的软骨和骨细胞中能刺激大量与骨愈合有关的基因表达,如胰岛素样生长因子和转化生长因子 β 等,并能增加骨痂的形成和早期产生软骨内骨化^[9]。汤荣光等^[10]对大鼠双侧胫骨近侧骨缺损模型进行超声波治疗,结果发现低强度脉冲超声波通过增加骨痂内 I、II 型胶原的合成来促进骨折的愈合,其中以 II 型胶原作用尤其明显。Mayr^[11]对腕舟骨进行了实验,CT 结果显示:实验组愈合速度提高 30%,而且在第 6 周,实验组骨小梁融合率高于对照组 50%;Warden 等^[12]在两组随机对照的临床实验中,再次证明了应用超声波治疗的实验组临床骨折愈合时间缩短了 38%。Mayr 等^[13]研究了 29 例骨延迟愈合(平均骨折时间 4.5 个月)和骨不连(平均骨折时间 35 个月)的患者,给予超声波治疗,约 100 d 后愈合率分别达到 88% 和 93%。在另一项研究中 Mayr 对 951 例骨延迟愈合和 366 例骨不连的患者进行超声波治疗后获得了 91% 和 86% 的愈合率^[14]。以上数据表明,低强度脉冲超声波不但促进了新鲜骨折的愈合,而且是治疗骨延迟愈合和骨不连的一种恰当选择。

四、高压氧

在骨折愈合过程中,高氧合作用在骨折愈合过程中,具有促进肿胀消退、新骨再生的特点。研究发现高压氧治疗后胶原蛋白生成增加,骨痂内钙、镁、磷、锌等元素增多^[15];Mutschler 等^[16]指出,高压氧在骨外伤、放射性骨坏死和慢性伤口愈合治疗中是很好的辅助治疗方法。徐旭光等^[17]通过动物实验发现,高压氧治疗组大鼠经 2 周治疗后,骨痂形成,骨折区外观膨大,对照组骨痂形成较晚、钙化不良。组织学观察见治疗组较对照组骨折端皮质反应活跃,出现较多成骨细胞和新形成的类骨基质。林忠豪等^[15]对临床骨折患者给予高压氧综合治疗发现,在早期软组织肿胀消退、初期骨痂形成质量、临床愈合方面,综合治疗明显优于单纯常规治疗。因此,高压氧疗法对促进骨折愈合,预防和治疗骨延迟愈合、骨不连等骨科难题提供了一种安全、可行的方法。

五、冲击波

体外冲击波是由电子水压装置、电磁装置等产生的一种声波,它可在固体和液体物质中发挥作用^[18]。一些研究表明,体外冲击波可增强成骨活性。但它促进骨折愈合的机制尚不十分清楚。Wang 等^[19]的动物实验显示,用能量流密度为 0.16 mJ/mm² 的体外冲击波冲击骨组织 500 次,转化生长因子 β 1 的产生较对照组显著增多。大量体内、外实验表明,骨折修复过程中骨髓微环境产生的转化生长因子 β 1 在调节和刺激骨

基金项目:青岛市科技发展指导计划(No. Kz-04)

作者单位:266003 青岛,青岛大学医学院附属医院创伤外科(夏长所、叶发刚为华中科技大学同济医学院在读博士)

先质细胞的分化过程中起重要的作用,因此体外冲击波可能是通过诱导成骨生长因子即转化生长因子 $\beta 1$ 的产生来促进骨髓间充质细胞的生长和分化,进而促进骨折愈合。大量研究表明,体内、外冲击波对骨折不愈合有显著疗效。Wang 等^[20]报告冲击波治疗 72 例长骨骨不连的患者,股骨和胫骨应用 28kV-6 000 脉冲,肱骨应用 28kV-3 000 脉冲,尺、桡骨应用冲击波能量为 24kV-2 000 脉冲,发现治疗后 3 个月骨折愈合率达到 40%,6 个月时为 60.9%,随访 12 个月时骨折愈合率为 80%,认为冲击波治疗骨折不愈合与手术治疗的结果是相似的,是一种安全可靠的方法。Schaden 等^[21]用体外冲击波治疗 115 例骨不连和骨折延迟愈合的患者,87 例(75.7%)在接受一次冲击波治疗后出现骨质愈合。局部反应为肿胀、血肿形成、局部皮下瘀血、出血等,无全身并发症的发生。因而提出体外冲击波作为一种非侵袭性的完全有效的治疗方法,应是治疗骨不连和骨折延迟愈合的首选方法。

生物方法

一、骨传导生物材料

生物材料在体内对新生骨起支持作用,一般需要的孔径是 100 ~ 500 μm 。一些自然和合成的生物材料如磷酸钙陶瓷和珊瑚都具备这些特性,磷酸钙陶瓷包括羟基磷灰石、磷酸三钙和生物活性玻璃,羟基磷灰石因为与骨的矿物成分相似而被采用,磷酸钙陶瓷的吸收率与钙磷的比率成反比,也与密度、颗粒和孔径的大小有关。在体内,钙磷比率为 1.5 的磷酸三钙可吸收性很高,而钙磷比率为 1.67 的羟基磷灰石则几乎不能降解。联合羟基磷灰石和磷酸三钙(60% 羟基磷灰石 + 40% 磷酸三钙)的大孔双磷酸钙有中等程度的降解率。上述物质与骨组织都有极好的结合能力,但它们极脆,不能抵抗压力。羟基磷灰石和磷酸三钙已广泛应用于动物和临床研究,在治疗小的骨缺损方面取得良好的效果,并可以用于脊柱后路融合术^[22]。Sanchez-Sotelo^[23]使用骨水泥治疗 110 例 Colles' 骨折,并与传统的治疗方法进行比较,结果显示骨水泥治疗能更好地恢复组织功能和产生更低的对位不良发生率。

自然的珊瑚架来源于海中礁石,由碳酸钙组成,经处理后的珊瑚具有良好的生物相容性和可降解性。在 70 年代中期它用于替代骨移植,临床上用于各种骨和颅骨的缺损修补^[24]。

磷酸钙骨水泥又称羟基磷灰石骨水泥,是一种非陶瓷型的羟基磷灰石类人工骨材料。最先由 Brown 和 Chow 于 1985 年研制成功。与陶瓷类生物材料相比,不需要烧结,具有制备简便、塑型容易和缓慢降解等优点。与传统骨水泥相比,在固化的塑型过程中不产热,适应了临床骨缺损的需要。固化后形成的磷酸钙结晶晶体主要由短棒状晶体和少量扁平状晶体构成,晶体大小约 20 μm ,空隙直径约 30 μm ,形态学与自然骨非常相似^[25]。闵若良等^[26]通过临床应用磷酸钙骨水泥修复小儿局部骨缺损 18 例,未发现局部和全身不良反应,手术前、后血 pH 值和钙磷代谢无异常改变,X 线显示磷酸钙人工骨与宿主骨接触紧密,无脱落,术后 3 个月出现降解,新骨形成。故认为,磷酸钙人工骨安全无毒,使用方便,易塑型,生物相容性好,能在体内降解。

以上这些生物材料虽然有非常好的骨的传导特性,但却缺乏骨诱导性,临床上常发现内生骨只是生长在这些材料的浅表,

故它们不适合于大的骨缺损的治疗。而真正能够诱导骨形成的是生物活性物质如生长因子或成骨细胞。

二、生长因子

生长因子是一种低分子糖蛋白,能诱导细胞的游出、增生和分化,骨折部位的生长因子主要来源于血凝块和骨本身。在凝血时,血小板积聚并释放大量调节分子如血小板源性生长因子和 TGF- β 。在骨折部位骨释放的生长因子包括:骨形态发生蛋白、TGF- β 、血小板源性生长因子、胰岛素样生长因子和酸性成纤维细胞生长因子等,这些生长因子的释放在骨折愈合初期起重要作用,因为它们能促进血管生成和骨细胞的有丝分裂^[27]。一般认为,一旦细胞进入伤口,其增殖和分化能力主要是由骨折部位的生长因子的类型和水平决定,其中最重要的是骨形态发生蛋白,骨形态发生蛋白是仅能在异位诱导骨形成的生长因子,其作用是通过诱导未分化的间质细胞分化为成骨细胞。骨形态发生蛋白诱导成骨过程大致可分为 4 个时期:趋化期、分化期、骨质形成期和骨质重塑期。首先是骨形态发生蛋白诱导未分化的间充质细胞分化为软骨细胞合成骨细胞,然后通过钙盐沉积形成新骨,最后形成骨髓,从而使骨组织修复^[28]。Bouxsein 等^[29]建立的兔尺骨骨折模型生物力学实验显示,骨形态发生蛋白组新骨强度、抗折性能明显高于对照组。临床主要使用骨形态发生蛋白治疗骨不连和部分骨缺损。Johnson^[30]用人骨形态发生蛋白和骨移植治疗 30 例患者,当骨缺损大于 2 cm 时,附加自体骨移植,在植入骨形态发生蛋白后平均 6 个月,24 例患者治愈。这些结果是令人鼓舞的,但由于骨形态发生蛋白使用量高,在局部存留时间过短,所以,人们正在研究如何获得骨形态发生蛋白的缓慢释放系统,以减少植入的剂量和维持较长的存留时间。

三、组织工程

组织工程学是根据细胞生物学和工程学的原理,应用正常具有特定生物学活性的组织细胞与生物材料相结合,在体外或体内构建组织、器官或其生物学替代物,以维持、修复、再生或改善损伤组织和器官功能的一门科学。骨组织工程主要研究内容包括种子细胞、生物材料及组织工程化骨的构建等。常用的方法有两种:(1)含活细胞和生物材料的杂混体系。如将骨髓间充质干细胞与磷酸三钙材料体外复合培养,在适当生长因子的调控下,构建出人工骨,再植入体内;(2)仅用生物材料而无细胞的体系。置入体内后在其负载的或体内自身的生长因子(如骨形态发生蛋白)的调控下,经生命过程使细胞整合^[31]。目前用于骨组织工程的种子细胞主要有成骨细胞、组织干细胞及胚胎干细胞等。主要来源于自体,亦可来源于同种异体甚至异种。成骨细胞则主要有以下几个来源:骨、骨外膜、骨髓及骨外组织^[32]。其中骨髓来源的间充质细胞具有多分化潜能,较容易向成骨方向诱导,同时取材方便、增殖能力强、易于基因操作、同种异体形态发生蛋白移植排斥反应较弱,分离和使用也不存在伦理问题,因而成为骨组织工程重要而实用的种子细胞^[31]。用于骨组织工程细胞种植材料有两大类,一类是天然细胞种植材料,如:胶原、甲壳素、珊瑚、纤维蛋白和藻酸盐等;另一类为人工合成材料,如:羟基磷灰石、钙磷陶瓷、生物活性玻璃陶瓷、磷酸三钙、聚乳酸和聚羟基乙酸等。这些材料在骨组织工程试验研究中都显示出良好的成骨效应^[32]。毛天球等^[33]用骨髓基质细胞接种于珊瑚,修复兔颅骨缺损的动物实验,取得了满意的治疗

效果,他们还用形态发生蛋白/聚羧基丁酸酯复合物修复兔颅骨缺损,移植后 12 周取材,从大体观察、X 线片及组织形态学检查都证实,其修复效果明显优于单独用聚羧基丁酸酯或空白对照组。祝联等^[34]用骨髓基质干细胞及珊瑚复合物修复羊股骨缺损的实验研究表明,骨髓基质干细胞经诱导分化后,具有成骨细胞表型和功能,珊瑚/骨髓基质干细胞复合物可再生新骨组织,并完好修复股骨缺损,其修复能力明显优于单纯珊瑚,由此认为组织工程学技术再生的骨组织可以达到真正意义的生物学修复效果,组织工程化骨已经成为最有希望进入临床的工程成果。

结 论

各种治疗骨不愈合和骨缺损方法的发展,为大量的患者提供了美好的前景,也给医务人员提供可选择的治疗方法。物理方法是非侵袭性的,能为新鲜骨折、骨不愈合和骨延迟愈合提供有效的治疗,且方便、经济。近来,利用组织工程重建骨组织的发展给大块骨缺损的治疗带来希望,但在临床广泛使用之前,有些问题需要进一步解决,植入生长因子的长期作用必须小心评估,寻找合适的载体使活性分子能缓慢释放到靶区尤为关键,故需要进一步的动物和临床研究,以便探索促进和改善骨折愈合最有效的方法。

参 考 文 献

- 梁伟,苟三怀. 低强度脉冲超声波促进骨折愈合的研究进展. 中国矫形外科杂志, 2003, 11: 251-253.
- Claes LE, Heigele CA, Neidlinger-Wilke C, et al. Effects of mechanical factors on the fracture healing process. Clin Orthop, 1998, 355 (Suppl): 132-147.
- Wallace AI, Draper ER, Strachan RK, et al. The vascular response to fracture micromovement. Clin Orthop, 1994, 301: 281-90.
- Yamaji T, Ando K, Wolf S, et al. The effect of micromovement on callus formation. J Orthop Sci, 2001, 6: 571-575.
- Claes L, Eckert-Hubner K, Augat P. The effect of mechanical stability on local vascularization and tissue differentiation in callus healing. J Orthop Res, 2002, 20: 1099-1105.
- Ryaby JT. Clinical effects of electromagnetic and electric fields on fracture healing. Clin Orthop, 1998, 355 (Suppl): 205-215.
- Lohmann CH, Schwartz Z, Liu Y, et al. Pulsed electro-magnetic field stimulation of MG63 osteoblast-like cells affects differentiation and local factor production. J Orthop Res, 2000, 18: 637-646.
- Scott G, King JB. A prospective double blind trial of electrical capacitive coupling in the treatment of nonunion of long bones. J Bone Joint Surg, 1994, 76-A: 820-826.
- Hadjiargyrou M, McIed K, Ryaby JP, et al. Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound. Clin Orthop, 1998, 355 (Suppl): 216-219.
- 汤荣光, 罗建中, 郑昱新. 低强度超声波对骨折愈合中胶原代谢影响的实验研究. 中国骨伤, 2001, 14: 733-735.
- Mayr E, Rutzki MM, Rutzki M, et al. Does low intensity, pulsed ultrasound speed healing of scaphoid fracture? Handchir Mikrochir Plast Chir (German), 2000, 32: 115-122.
- Warden T, Bennell KL, McMeeken JW, et al. Acceleration of fresh fracture repair using the sonic accelerated fracture healing system; a review. Calcif Tissue Int, 2000, 66: 157-163.
- Mayr E, Frankel V, Ruter A. Ultrasound an alternation healing method for nonunion? Trauma, 2001, 120: 1-8.
- Mayr E, Mockl C, Lenich A, et al. Is low intensity ultrasound effective in treatment of disorders of fracture healing? Unfallchirurg, 2002, 105: 108-115.
- 林忠豪, 张玲, 练克俭, 等. 高压氧综合治疗肢体创伤疗效观察. 中华理疗杂志, 2000, 23: 147-149.
- Mutschler W, Muth CH. Hyperbaric oxygen therapy in trauma surgery. Unfallchirurg, 2001, 104: 101-102.
- 徐旭光, 宋映女, 曹连生, 等. 高压氧对骨折愈合的临床观察. 中华理疗杂志, 1989, 12: 97-98.
- Ogden JA, Toth-Kischkatat A, Schultheiss R, et al. Principles of shock wave therapy. Clin Orthop, 2001, 387: 8-17.
- Wang FS, Yang KD, Chen RF, et al. Extracorporeal shock wave promotes growth and differentiation of bone-marrow stromal cells towards osteoprogenitors associated with induction of TGF-beta1. J Bone Joint Surg Br, 2002, 84: 457-461.
- Wang CJ, Huang HY, Chen HH, et al. Effect of shock wave therapy on acute fractures of the tibia. Clin Orthop, 2001, 387: 112-118.
- Schaden W, Fischer A, Sailler A. Extracorporeal shock wave therapy of nonunion or delayed osseous union. Clin Orthop, 2001, 387: 90-94.
- Block JE, Thorn MR. Clinical indications of calcium-phosphate biomaterials and related composites for orthopaedic procedure. Calcif Tissue Int, 2000, 66: 234-238.
- Sanchez-Sotelo J, Munuera L, Madero R. Treatment of fractures of the distal radius with a remodellable bone cement; a prospective, randomised study using Norian SRS. J Bone Joint Surg [Br], 2000, 82: 856-863.
- Vuola J, Bohling T, Kinnunen J, et al. Natural coral as bone-defect-filling material. J Biomed Mater Res, 2000, 51: 117-122.
- 孙明林, 胡蕴玉. 骨形态发生蛋白的载体材料的研究和应用现状. 国外医学生物医学分册, 2001, 24: 128-132.
- 闵若良, 苏昌祺, 付阳, 等. 自固化磷酸钙人工骨修复小儿局部骨缺损的临床应用. 上海生物医学杂志, 2002, 23: 11-15.
- Bostrom MP, Saleh KJ, Einhorn TA. Osteoinductive growth factors in preclinical fracture and long bone defects models. Orthop Clin North (Am), 1999, 30: 647-658.
- 石健, 林月秋. 骨形态发生蛋白与骨缺损的治疗. 实用骨科杂志, 2002, 8: 271-273.
- Bouxsein MI, Tourek T, Blake CA, et al. RhBMP accelerates healing in AVN rabbit ulnar osteomy model. J Bone Joint Surg (Am), 2001, 83: 1219-1230.
- Johnson EE, Urist MR. Human bone morphogenetic protein allografting for reconstruction of femoral nonunion. Clin Orthop, 2000, 371: 61-74.
- 郑启新, 郭晓东. 骨组织工程研究现状与展望. 中华实验外科杂志, 2003, 20: 487-488.
- 金黎明, 刘万顺, 韩宝芹, 等. 骨组织工程研究进展. 中国骨伤, 2003, 16: 382-384.
- 毛天球, 杨维东, 陈富林, 等. 组织工程骨的研究. 中国修复重建外科杂志, 2003, 17: 122-124.
- 祝联, 崔磊, 王敏, 等. 应用珊瑚及骨髓基质干细胞复合物修复股骨缺损的实验研究. 中华骨科杂志, 2003, 23: 483-488.

(修回日期: 2003-11-11)

(本文编辑: 熊芝兰)