

保留残端纤维与剩余束支重建前交叉韧带的再血管化研究

唐经励, 石展英^①

(广西柳州市工人医院, 广西医科大学第四附属医院骨4科, 广西 柳州 545005
E-mail: szy107@126.com)

摘要: **目的** 研究保留残端纤维、剩余束支对自体肌腱重建前交叉韧带后移植物再血管化的影响, 旨在为临床上提高肌腱移植物成活质量提供一种新方法。 **方法** 取成年新西兰大白兔, 建立膝关节前交叉韧带(ACL)完全断裂模型。研究分 ACL 离断后清理残端纤维(清理残端组)、保留残端纤维(保留残端组)、部分剪断 ACL 纤维束, 保留剩余束支残端纤维(单束重建组)。观察术后 2、4、8 周大白兔肌腱移植物生长情况, 移植物血管形成情况。 **结果** 术后各组均可见明显滑膜增生, 术后 8 周单束重建组滑膜内血管面积均大于清理残端组和保留残端组, 保留残端组滑膜内血管面积大于清理残端组; 术后 2、4 周单束重建组的纤维母细胞形成数均多于清理残端组和保留残端组, 但尚不能认为保留残端组的纤维母细胞形成数与清理残端组有差异。 **结论** 保留残端、剩余束支重建前交叉韧带较清理残端组术后早期移植物再血管化显著增加, 促进良好的腱-骨愈合。

关键词: 前交叉韧带重建; 再血管化; 保留残端; 剩余束支

中图分类号: R68 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2014)03-0336-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2014.03.006

Effects of retention stump fiber and residue bundle on the graft revascularization in autologous anterior cruciate ligament reconstruction

Tang Jingli, Shi Zhanying

(Liuzhou Workers Hospital, Department of Orthopedics, the Fourth Affiliated Hospital to Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, Guangxi E-mail: szy107@126.com)

Abstract: **Objective** To study the effect of retention stump fiber and residue bundle before autologous anterior cruciate ligament (ACL) reconstruction on the graft revascularization for improving the function of the grafted tendon, so as to provide a new method for clinical practice. **Methods** New Zealand adult rabbits were bought for developing self-control model of complete-ruptured bilateral knee joint ACL. Experimental rabbits were divided into ACL stump from the rear to clean fiber (stump debridement group), retained stump fiber (stump residual group), or ACL augmentation partial tear model (stump left group). Growth and vascularization of graft formation of New Zealand white rabbits were evaluated at two, four, eight weeks after surgery. **Results** All samples in each group showed obvious synovial hyperplasia, the revascularization of the graft in stump left group was superior to stump residual group and stump debridement group at eight weeks, the revascularization of the graft in stump residual group was superior to stump debridement group; fibroblast cell counts in graft of stump residual group were more than stump debridement group and residual group at two and four weeks, but fibroblast cell counts stump residual group still did not differ from stump debridement group. **Conclusion** Compared to ACL reconstruction with stump debridement, early graft revascularization in ACL reconstruction with retention stump and residue bundle was significantly increased postoperatively, then promoting process of tendon - bone healing.

Key words: anterior cruciate ligament reconstruction; revascularization; retention stump fiber; residue bundle

前交叉韧带(anterior cruciate ligament, ACL)损伤在运动性损伤疾病中相当常见,需行韧带重建手术进行治疗。目前,以骨-髌腱-骨(BPTB)及腓绳肌腱移植重建作为 ACL 重建的金标准。实验研究表明:骨膜、TGF- β 1、透明质酸、间充质干细胞等均已证实有促进肌腱移植物在骨隧道内腱-骨愈合的作用。在传统的韧带重建基础上保留 ACL 残端可能促进移

植物的再血管化,从而改善患者术后膝关节稳定性以及本体感觉的恢复,而保留残端重建 ACL 的临床依据尚不明确^[1]。因此,本研究通过比较保留 ACL 残端和去除 ACL 残端重建术后的再血管化,利用动物模型观察术后 ACL 残端的形态及愈合状况,评估保留残端重建兔 ACL 的形态学意义。

^① 通讯作者

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年新西兰大白兔 36 只(普通级),体质量 2.2~2.4 kg,雌雄各半,购自广西医科大学实验动物中心。实验动物运动正常,无膝关节周围肿胀,双膝关节前抽屉试验、Lachman 试验阴性。实验过程中对动物的处置应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

1.2 实验方法 从 36 只健康成年新西兰大白兔中随机抽 18 只大白兔行双侧 ACL 重建术,以左右膝关节做随机分组,一侧切除清理残端纤维(清理残端组),对侧保留残迹纤维(保留残端组);另 18 只大白兔行随机选择 1 侧膝关节行 ACL 重建术,做剪断 ACL 纤维束,保留剩余束支残端纤维处理(单束重建组);麻醉生效后,在胫骨结节外侧 0.5 cm 处做一纵行切口,选取趾长伸肌肌腱,两断端对齐毯边缝合制备成双股肌腱移植植物。瞄准 ACL 胫骨止点钻出胫骨隧道,然后钻出股骨隧道。将肌腱移植植物自股骨隧道向胫骨隧道拉出,股骨、胫骨隧道入口附近取适当部位用骨桥固定^[2]。术后常规给予预防感染处理,患肢不固定,分笼饲养,正常饮食,自由活动。观察进食、活动及切口愈合情况。重建术后 2、4、8 周时,在各观察时间点分别取 6 只研究对象行 ACL 移植血管形成数量图像测量。

1.3 观察指标 对研究对象行关节腔内腱-骨愈合大体观察,以小骨刀切取双侧前交叉韧带,两断端点均带少量隧道壁骨质,作病理组织学观察。重建术后 2、4、8 周,在各观察时相点观测 ACL 移植血管形成数量情况。

1.4 统计学方法 通过 Image-Pro[®] Plus 5.0 医学图像分析系统进行图像测量,实验结果均用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析法,组间多重均数差异比较采用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物的一般情况 实验兔 36 只均进入结果分析,无脱落。术后动物饮食,活动正常,伤口愈合良好,无炎症反应,局部无化脓性感染。膝关节重建的交叉韧带连续性均完整。经观察所有动物前交叉韧带上下止点位置、愈合情况均良好。保留残端组 1 只动物见股骨远端少许破坏外,其余动物未见明显关节软骨破坏。

2.2 不同手术方式移植再血管化情况分析 各组动物均可见明显滑膜增生,单束重建组在术后 2、4、8 周可见明显的滑膜内血管再生,清理残端组、保留残端组仅在术后 8 周见滑膜内血管再生。术后 8 周三种手术方式动物滑膜内血管面积相比差异总的来说有统计学意义($F = 50.500, P < 0.001$)。经两两比较,单束重建组滑膜内血管面积与清理残端组和保留残端组比较差异均有统计学意义($q = 13.852, P < 0.01; q = 9.683, P < 0.01$),单束重建组滑膜内血管面积均大于清理残端组和保留残端组。保留残端组滑膜内血管面积与清理残端组比较差异均有统计学意义($q = 4.169, P < 0.05$),保留残端组滑膜内血管面积大于清理残端组。病理学检查结果表明,移植韧带表面可见滑膜包裹,滑膜内有血管供养,成纤维细胞呈梭状,分布于胶原之间,清理残端组术后 2 周移植植物表面未见滑膜生长。保留残端组、单束重建组移植植物表面移植植物表面有滑膜包裹滑膜生长,单束重建组的血供相对于清理残端组、保留残端组较为丰富,见表 1、图 1。

表 1 不同手术方式韧带表面滑膜内血管面积比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	2 周	4 周	8 周
清理残端组	0	0	684 ± 56
保留残端组	0	0	842 ± 65
单束重建组	496 ± 25	631 ± 16	1209 ± 136

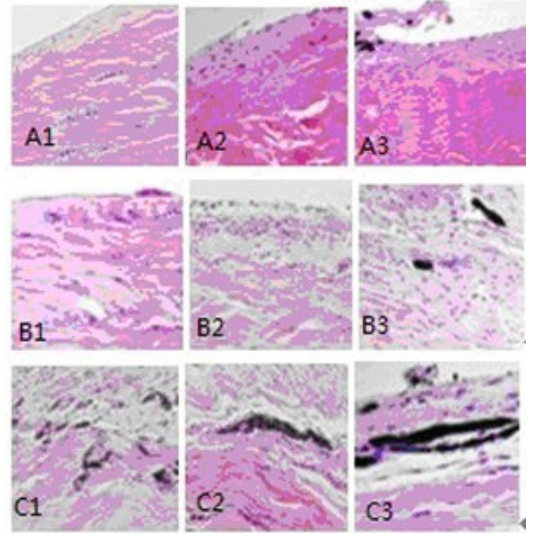


图 1 不同手术方式韧带表面滑膜内血管面积比较 A、B、C 代表术后 2、4、8 周,1、2、3 代表清理残端组、保留残端组、单束重建组

2.3 不同手术方式移植纤维母细胞形成情况分析 三种手术方式在术后 2、4、8 周均有纤维母细胞的形成,术后 2 周三组移植植物内纤维母细胞数均较少,但差异总的来说有统计学意义($F = 12.360, P < 0.001$)。经两两比较,单束重建组的纤维母细胞形成数与清理残端组和保留残端组比较差异均有统计学意义($q = 7.007, P < 0.01; q = 4.004, P < 0.05$),单束重建组的纤维母细胞形成数均多于清理残端组和保留残端组;保留残端组的纤维母细胞形成数与清理残端组比较差异无统计学意义($q = 3.003, P > 0.05$)。术后 4 周三组移植植物内纤维母细胞前增多,差异总的来说有统计学意义($F = 12.530, P < 0.001$),其中单束重建组的纤维母细胞形成数与清理残端组和保留残端组比较差异均有统计学意义($q = 6.854, P < 0.01; q = 4.964, P < 0.01$),单束重建组的纤维母细胞形成数均多于清理残端组和保留残端组;保留残端组的纤维母细胞形成数与清理残端组比较差异无统计学意义($q = 1.891, P > 0.05$)。术后 8 周三组移植植物内纤维母细胞前继续增多,但差异无统计学意义($F = 3.160, P = 0.072$),见表 2、图 2。

表 2 不同手术方式韧带内的纤维母细胞计数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	2 周	4 周	8 周
清理残端组	6	29 ± 9.836	102 ± 18.68	310 ± 60.626
保留残端组	6	44 ± 11.120	126 ± 29.492	351 ± 45.081
单束重建组	6	64 ± 15.125	189 ± 41.001	384 ± 45.984

3 讨论

临床上大多数 ACL 损伤发生在韧带实质部或股骨止点处,胫骨止点处通常残留不少韧带纤维,韧带残迹内保存了自体血供和神经感受器等重要结构。如果 ACL 重建时尽量保护韧带残迹纤维,借助韧带残迹内自身血供营养,可能对重建术后移植植物血供恢复有所帮助^[3]。本研究通过动物实验比较了保留残迹与切除残迹、保留束支对 ACL 重建术后移植植物血供恢复的影响。结果显示,保留残迹纤维加快了重建术后移植植物血供恢复,有利于移植血管重塑,促进移植血管形成,对于移植植物远期存活及功能发挥有着重要意义^[4]。本研究结果也表明重建术后早期保留残端组移植植物血供明显好于清理残端

组,提示保留残迹可促进移植物早期血管化。

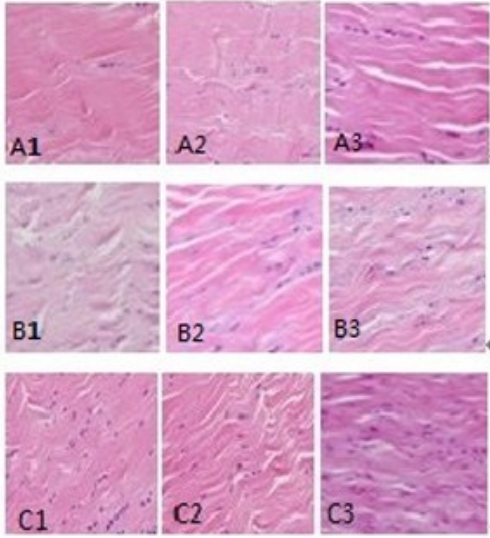


图 2 不同手术方式韧带内的纤维母细胞计数比较
A、B、C 代表术后 2、4、8 周,1、2、3 代表清理残端组、保留残端组、单束重建组

Krych 等^[5]通过对兔的异体肌腱移植研究发现,在移植肌腱坏死和塑形的同时,宿主的腱细胞迁移到植入腱的胶原纤维骨架上。异体肌腱在移植后第 2 周出现血管化征象,6~8 周进入高峰,而肌腱的完全血管化需 30 周,达到正常水平需 1 年左右。Tanaka 等^[6]经动物实验显微血管造影证实,移植后肌腱的再生血管和成纤维细胞均来自自体组织周围和缝合口两端。无论是自体肌腱还是异体肌腱,术后 6 个月才有近似正常交叉韧带的止点形成。Mifune 等^[7]研究表明大鼠行自体肌腱前交叉韧带重建 2 周时保留部分束支组毛细血管网密度明显多于清理残端重建组,源于前交叉韧带未断束支细胞迁移。Matsumoto 等^[8]进一步研究表明保留束支血管干细胞(CD34⁺ T 细胞)迁移促成了移植物血管内皮生长因子(VEGF)表达,分化为血管内皮细胞、成纤维母细胞、成骨母细胞,明显促进移植物再血管化及腱-骨愈合。术后 2~3 周 VEGF 明显表达增加,组织学观察移植物血管形成;术后 3~8 周 VEGF 表达下降,毛细血管网密度明显下降^[9]。

前交叉韧带两端血供丰富,保留残端纤维可以更好地促进移植物血运的建立,滑膜包裹是移植物血运建立的重要途径,前交叉韧带单束损伤时,保留剩余束支重建 ACL 有利于滑膜包裹移植物,从而有利于移植物血运的建立^[10]。保留剩余束支重建 ACL 更接近于解剖重建,而且剩余束支本身对膝关节的稳定性具有重要作用,清理残端纤维与保留残端纤维虽然有利于手术操作,但不利于术后移植物血运的建立,不利于新生组织爬行替代和塑型改建^[11]。

前期临床报道和相关基础表明,保留残迹和保留剩余束支有利于重建术后移植物再血管化,但其对重建 ACL 远期生物

力学功能的影响还需要临床前瞻性随机对照研究进一步证实。本实验没有观察到神经感受器的情况,可能与实验方法不恰当和观察时间短有关。该方法是否利于移植物神经感受器的长入尚需寻求新的方法或做更长时间的观察,有待于进一步探索。

参考文献:

- [1] Vourazeris JD, Lawless MW, Markert rj, et al. Semitendinosus muscle fatty infiltration following tendon harvest in rabbits[J]. J Orthop Res, 2013, 31(8): 1234-1239.
- [2] 黄爱华. 关节镜下膝关节前交叉韧带断裂人工韧带重建的术中配合[J]. 右江民族医学院学报, 2011, 33(6): 880-881.
- [3] 张力, 田京, 唐银丽, 等. 膝关节前交叉韧带重建兔模型的建立[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(2): 228-231.
- [4] 李士光, 吴波, 赵宗娇, 等. 保留残迹前交叉韧带重建对移植物血流量的影响[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(4): 378-380.
- [5] Krych AJ, Jackson JD, Hosin IL, et al. A meta-analysis of patellar tendon autograft versus patellar tendon allograft in anterior cruciate ligament reconstruction[J]. Arthroscopy, 2008, 24(3): 292-298.
- [6] Tanaka Y, Yonetani Y, Shiozaki y, et al. MRI analysis of single-, double-, and triple-bundle anterior cruciate ligament grafts[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2013.
- [7] Mifune Y, Ota S, Takayama K, et al. Therapeutic advantage in selective ligament augmentation for partial tears of the anterior cruciate ligament; results in an animal model[J]. Am J Sports Med, 2013, 41(2): 365-373.
- [8] Matsumoto T, Kubo S, Sasaki Y, et al. Acceleration of tendon-bone healing of anterior cruciate ligament graft using autologous ruptured tissue[J]. Am J Sports Med, 2012, 40(6): 1296-1302.
- [9] Yoshikawa T, Tohyama H, Mastsumotor H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in patellar tendon grafts in the early phase after anterior cruciate ligament reconstruction[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2006, 14(9): 804-810.
- [10] Vavken P, MM Murray. The potential for primary repair of the ACL[J]. Sports Med Arthrosc, 2011, 19(1): 44-49.
- [11] 孙磊, 吴波, 田敏, 等. 保留与切除残迹前交叉韧带重建移植物形态学比较[J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(7): 577, 582-589.

收稿日期: 2014-05-07; 修回日期: 2014-06-04