

• 基础研究 •

嵌入固定法重建前交叉韧带:肌腱-骨和肌腱结 的生物力学和组织学研究

周密 刘玉杰 柴伟 陈桂明 汪爱媛 田月 李光辉 赵斌

【摘要】 目的 探讨肌腱-骨和肌腱结两种移植物重建前交叉韧带(ACL)的生物力学效果和组织学转归情况。方法 生物力学部分采用猪膝关节 45 个模拟交叉韧带重建,实验分为:骨-髌腱-骨(B-PT-B)界面螺钉固定法($n=11$)、股骨端单纯肌腱结($n=13$)和肌腱-骨($n=11$)嵌压固定法;猪正常膝关节($n=8$)ACL 作为实验对照组。观察最大载荷拔出、刚度和最大位移等指标,数据进行统计学处理。组织学部分用 10 只山羊膝关节为实验模型,股骨隧道呈倒置瓶颈状,分别以髌腱-胫骨结节骨块或趾长伸肌腱结为移植物,在股骨隧道内嵌压固定重建前交叉韧带。术后 4、8、12、16 周取材,分别进行放射学、大体形态和组织切片检查,观察隧道宽度变化及移植物的组织学转归。结果 最大载荷:肌腱结和肌腱-骨嵌压固定法>B-PT-B 界面螺钉固定,前者可以满足正常生理强度需求。两组移植术后各时间点放射检查未见隧道扩大;HE 染色检查显示 12 周后有明显的腱-骨连接形成。结论 股骨端肌腱结和肌腱-骨两种移植物采用嵌压固定法重建 ACL,其最大载荷强度>B-PT-B 界面螺钉固定法,能满足日常生理活动需求,有利于移植物的愈合。

【关键词】 交叉韧带;肌腱移植;动物实验;生物力学;组织学

A biomechanical and histological study of reconstruction of anterior cruciate ligament with tendon knot and bone-tendon implant fixation

ZHOU Mi, LIU Yujie, CHAI Wei, et al.

Department of Orthopedic Surgery, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To evaluate the biomechanical and histological outcome of anterior cruciate ligament (ACL) reconstruction with tendons knot and bone-tendon implant fixation. Methods Forty-five porcine knees were divided into 4 groups: 11 knees of bone-patellar tendon-bone(B-PT-B) group had their ACL reconstructed with interface screw, 13 kness were reconstructed with tendon knot implant fixation, 11 were reconstructed with bone-tendon implant fixation, and 8 normal knees served as controls. Ultimate strength and stiffness were evaluated as the biomechanical parameters of reconstruction. For histological study, 10 goats were chosen as the animal models. A customized reamer was used to built the bottleneck-like femoral tunnel and the patellar tendon-tibial tuberosity bone block or extensor digitorum longus was taken as the autograft. The knot was tied on the tibial bony bridge for fixation. The animals were sacrificed at 4th, 8th, 12th, and 16th weeks postoperatively. Radiological, macromorphological, and histological examinations were carried out. Results Both tendon knots and bone-tendon implant fixation had greater ultimate strength than B-PT-B ($P<0.05$). Radiological studies did not find evidence of enlargement of the bone tunnel. Histological studies showed obvious bone-tendon ingrowth and bone block-tunnel incorporation 12 weeks postoperatively. Conclusions Reconstruction of ACL with tendons knot or bone-tendon implant fixation showed excellent biomechanical properties and could satisfy daily physiological demand. They also exhibited satisfactory biological fixation results.

【Key words】 anterior cruciate ligament; tendon transplantation; animal experiment; biomechanics; histology

收稿日期:2006-04-24

作者单位:100853 北京市,解放军总医院骨科

基金项目:全军“十五”攻关课题资助项目(01MA123)

作者简介:周密,男,1975年1月生,辽宁省辽阳市人,在读博士研究生,住院医师

通讯作者:刘玉杰, Liujy301yy@yahoo.com

前交叉韧带(anterior cruciate ligament, ACL)损伤多发生于激烈的体育运动竞技项目和交通事故,有逐年增多的趋势。ACL损伤后,难以自行愈合,保守治疗效果欠佳,关节镜下交叉韧带重建技术,已经成为当今治疗的主流。采用何种材料和方法重建 ACL是当今研究的热点。本文就肌腱结和肌腱-骨块两种自体移植物嵌压固定重建 ACL的生物力学和组织学转归进行了相关的实验研究。

1 材料与方法

1.1 生物力学研究 (1)实验材料:深低温冷冻保存的猪膝关节 45 个,常温下解冻,模拟股骨侧不同的交叉韧带重建方法并进行比较。试验材料分为:骨-髌腱-骨两端都用界面螺钉固定法($n=11$)、股骨端单纯肌腱结($n=13$)和骨块-肌腱($n=11$)嵌压固定法;猪正常膝关节($n=8$)ACL 作为实验对照组。(2)造模术式:设计统一规格的阶梯状联合钻头,即前 1/3 直径为 6 mm,长度为 10 mm;后 2/3 段直径为 11 mm,长度 20 mm。成型后的股骨隧道呈倒置的酒瓶状。肌腱结组双股肌腱的直径为 7 mm,肌腱中间打结后直径约 10mm;骨块-肌腱组骨块直径约 10mm,肌腱直径 7 mm。均嵌入瓶颈状股骨隧道内固定(图 1)。骨-髌腱-骨(B-PT-B)界面螺钉固定法,界面螺钉直径 9 mm,长度 20 mm,髌腱宽 8 mm,将髌骨和胫骨两端骨块统一加工成直径 8 mm,长 20 mm 的圆柱状骨块,分别将骨块塞入股骨和胫骨隧道内,用界面螺钉固定于骨块的松质骨侧。(3)力学测试:采用美国明尼苏达 MTS 858 Mini Bionix II 型生物材料试验机。股骨或胫骨端标本固定在实验台上,肌腱的另一端用夹具固定,从股骨隧道内口到夹具之间的长度均为 32 mm。加载速度为 10mm/min,每次实验前对标本进行预载,以消除肌腱及韧带的黏滞性,记录载荷-位移曲线。进行最大载荷、最大位移、100N 和 400N 载荷位移、抗拉刚度等实验。各实验参数行统计学处理和显著性检验。采用 SPSS10.0 统计软件对上述数据进行统计学分析。

1.2 组织学研究 (1)试验动物:成年山羊 8 只,雌雄不分,体重 26~28kg。随机分为肌腱结组和骨块-肌腱组,每组 4 只动物,双膝手术。(2)手术方法:氯胺酮 0.6ml/kg 肌注复合麻醉。术中追加 3%戊巴比妥钠 15mg/kg。骨块-肌腱组从髌骨内上方 2cm 切开至胫骨结节。取髌腱中部宽约 4 mm,长约 6.5cm,自髌骨附着部切断,下方带有胫骨结节附着部骨块约 6mm×6mm×5mm,移植物总长约 7cm。骨块修成近似圆柱体,髌腱游离末端用 2-0 ETHIBOND EXCEL

不可吸收缝线编织缝合,留牵引线 4 根于胫骨端骨桥打结备用(图 2)。肌腱结组小腿外侧纵切口,取同侧趾长伸肌腱,切取约 10~15 cm。对折后中间打结。末端编织缝合留线备用,移植物予张力。髌间窝左 10 点、右 2 点处用自制的阶梯状联合钻头从外向内建立股骨隧道,钻头前 1/2 直径 4 mm,长 6mm,后 1/2 直径 6 mm,长 6mm。成型后的隧道呈倒置的瓶颈状。取 4 mm 钻头钻出胫骨隧道。将移植物从股骨隧道外口关节腔穿出胫骨隧道。在胫骨隧道外口下方 5mm 处钻一个 4 mm 骨孔,潜行分离并与胫骨隧道外口沟通形成胫骨骨桥。将 4 根牵引线分 2 股自上、下骨孔引出,确认移植骨块完全嵌入股骨隧道后,将缝线拉紧后反复被动屈伸活动膝关节 10 次,缝线在胫骨骨桥上打结固定。(3)术后 4、8、12、16 周从 2 组中各选取 1 只动物,取双侧标本,常规脱水、透明、包埋、切片,经 HE 染色后于光镜下进行组织学观察。



图 1 采用离体猪膝关节进行生物力学测试后,将标本从中间剖开

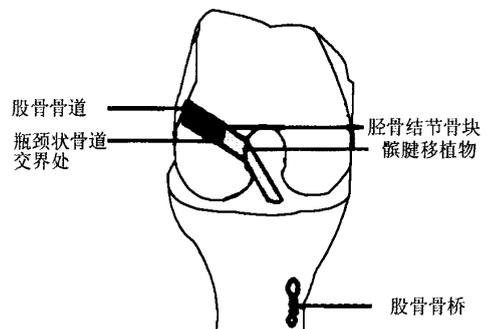


图 2 嵌压固定法重建前交叉韧带的示意图

2 结果

2.1 生物力学测试 见表 1。最大载荷:腓绳肌腱结和骨块-肌腱嵌压固定法 > B-PT-B 界面螺钉固定,前者可以满足正常生理强度需求,差异有显著性 ($P < 0.05$);刚度:猪正常 ACL > 骨块-肌腱固定组 > B-PT-B 界面螺钉 > 腓绳肌腱结固定组。最大位移:猪正常 ACL < B-PT-B 界面螺钉 < 骨块-肌腱固定组 < 腓绳肌腱结固定组,后者应注意克服位移因素,防止术后松弛。

2.2 组织学观察 (1)骨块-肌腱组:术后 4 周,腱-骨界面间有炎性细胞浸润的疏松结缔组织填充,肌腱保持部分腱性特征,细胞核呈长梭形,有增殖像;内部可见胶原纤维卷曲、断裂。移植骨块与隧道之间间隙存在。术后 8 周,肌腱-隧道界面胶原连接增多,基本沿应力方向排列;肌腱内纤维母细胞增生明显,移植骨块内部出现重塑现象,骨块与隧道之间界限不清。术后 12 周,腱-骨连接进一步增多,与内部纤维连续,连接中可见明显的类软骨过渡区,潮线形成,界面组织部分消失;靠近隧道口部位腱骨连接明显多于隧道内部。肌腱内部可见血管长入,移植骨

块内部成骨细胞活跃,类骨质形成增多。术后 16 周,腱-骨界面纤维连接接近成熟,潮线清晰可见。移植肌腱内部细胞和胶原沿纵轴方向排列整齐,细胞核呈长杆状。移植物内部血管进一步增多,其间可见来自隧道壁的圆形细胞。骨块与隧道界面连续(图 3~5)。(2)肌腱结组:术后 4 周,肌腱内大量胶原纤维卷曲、断裂,腱-骨界面为炎细胞浸润的疏松结缔组织层,没有连续的胶原纤维跨过;术后 8 周,肌腱内有炎性反应区;部分纤维母细胞增生,核有分裂相。部分界面出现少量纤维连接,界面组织消失。术后 12 周,肌腱内可见新生血管长入,增生细胞核呈短杆状。腱-骨界面纤维连接增多,出现四层结构;术后 16 周,纤维母细胞和胶原沿纵轴方向排列整齐,细胞增殖明显。腱-骨之间的锚定胶原纤维连接牢固紧密(图 6,7)。

3 讨论

膝关节 ACL 具有控制胫骨旋转、防止膝关节过伸、限制胫骨向前移动和维持股骨与胫骨稳定的对应关系,文献^[1]报告约 86% 的限制力由 ACL 承担。ACL 损伤可产生明显的膝关节前向不稳,继发

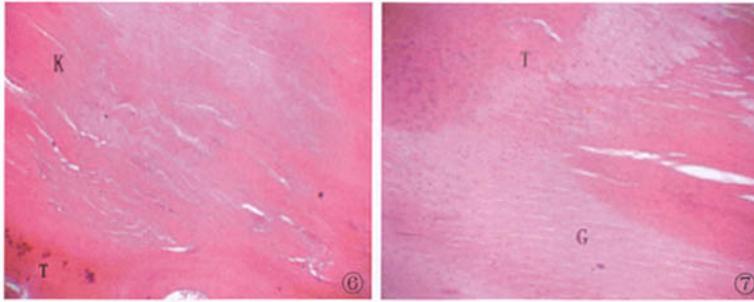
表 1 各组力学参数表 ($\bar{x} \pm s$)

组别	最大载荷(N)	最大位移(mm)	抗拉刚度(N/mm)	100N 位移(mm)	400N 位移(mm)
正常猪 ACL(n=8)	699±153	6.9±1.07	170.0±33.5	1.4±0.87	3.38±1.42
B-PT-B 界面钉(n=11)	459±147	9.04±3.13	88.8±35.1	3.17±1.21	7.49±2.67
肌腱结组(n=13)	680±130	22.6±7.32	54.6±17.1	3.4±0.78	9.85±2.96
骨块-肌腱组(n=11)	910±131	12.2±4.24	122±10.9	2.19±1.09	4.43±1.87



图 3 移植骨块内部类骨质增多,骨块与隧道界面连续。图 4 肌腱-隧道界面纤维连接紧密,可见到类似潮线的波浪状深染线。图 5 移植肌腱内部细胞和胶原沿纵轴方向排列整齐,细胞核呈长杆状。B:移植骨块;T:骨隧道壁;G:移植肌腱

图 3~5 带骨块的肌腱组术后 16 周组织学转归



K:肌腱结;T:骨隧道壁;G:移植肌腱

图6 肌腱结内纤维排列整齐有序,与隧道之间的纤维连接增多紧密,其内可见血管成分。

图7 肌腱-隧道之间的锚定胶原纤维连接进一步成熟,止点结构规律整齐。

图6,7 肌腱结术后16周组织学转归

关节软骨和半月板损伤,导致退行性关节炎^[2,3],严重影响关节功能。关节镜下 ACL 重建技术已经成为当今治疗的主流。自体中 1/2B-PT-B 移植界面螺钉固定被称为 ACL 重建的“金标准手术”,但螺钉切割移植,且供区并发症较多。近年来人们发现四股腓绳肌腱也有良好的强度和刚度^[4~6],术后取材部位并发症少,一些学者越来越推崇采用半腱肌、股薄肌腱移植重建 ACL。多股腓绳肌腱 ENDOBUTTON 固定由于固定位置远离解剖止点,容易造成隧道扩大、移植体松弛等问题,已引起学者的高度注意,并有相关报道^[7]。这些方法都使用高值耗材进行内固定,不属于生物固定,而且价格昂贵。目前,嵌压固定法正逐渐引起人们的重视。采用该方法重建 ACL,移植体在股骨隧道内嵌压固定,生物相容性好;由于没有内植物,能够与隧道周围产生全方位接触,愈合牢固;带骨块的移植体会在隧道内形成骨-骨愈合,抗拉强度高;固定部位接近正常解剖止点,避免悬吊所带来的隧道扩大问题;免除使用高值耗材,节约医疗费用。笔者设计并采用股骨端用带股四头肌的髌骨块和腓绳肌腱结嵌压固定,胫骨端采用编制缝合线在胫骨桥上打结固定法,重建 ACL 取得了良好效果^[8~10]。

本实验发现,由于采用嵌压固定方法,没有使用内植物,在移植体-隧道的界面都可以观察到腱-骨连接和骨-骨连接不断成熟的过程,显示了生物固定的优势。Goradia 等^[11]动物实验显示用腓绳肌重建 ACL 后,在隧道的横断面部分周缘上并没有出现 Sharpey 纤维。我们采用带骨块的肌腱和肌腱结进行嵌压固定,由于嵌压作用,移植体与隧道壁之间形成了牢固的骨性愈合,解决了这一问题。本实验表

明,肌腱结组和骨块-肌腱嵌压固定组的最大载荷均优于 B-PT-B 界面螺钉组,完全可以满足 ACL 重建的初始固定需求,达到稳定膝关节的作用。

ACL 重建后移植体要经历缺血坏死和细胞增生、再血管化和细胞新生以及新生组织重塑的过程,人们希望移植体能够形成正常 ACL 所具有的腱-骨连接结构^[12]。本实验采用嵌压固定法研究 ACL 重建后的组织形态学变化,结果显示术后 8 周出现腱-骨连接,12 周时形成清晰的潮线,移植骨块与隧道界面趋于融合,16 周时腱-骨连接进一步成熟;移植体内部细胞从 4 周时呈现明显的腱性外观,经过组织坏死和增生重塑阶段,12 周时纤维母细胞和胶原纤维沿长轴方向排列,显示移植体趋向成熟。

临床病例研究认为,髌腱自体移植体的组织学转归与动物实验的发现有共同之处,即可在移植体的内部见到再血管化的现象。穿刺活检发现术后大约有 30% 的髌腱自体移植体会发生坏死。一例 ACL 重建术后 18 个月的尸检报道则显示移植肌腱深部活性细胞较多,而骨块深部则存在坏死与重塑共存的现象^[13]。

在本试验中,由于力学测试更强调骨骼形态与人体一致,因此我们选用离体的猪膝关节进行测试。而在组织学测试中,则采用被认为是满意的交叉韧带重建实验动物的山羊进行测试^[11]。未来,我们还将进一步探索建立更为合理动物模型。

本实验还显示:(1)嵌压固定法重建交叉韧带在生物力学上是可行的,与 B-PT-B 组相比具有一定的力学优势;(2)其组织学转归过程类似于其它固定方法,但由于采用生物学固定,移植体与宿主骨的愈合更为满意。术后 12 周是移植体转归的重要时间

(下转第 296 页)

参考文献

1 English KM, Mandour O, Steeds RP, et al. Men with coronary heart disease have lower levels of androgens than men with normal coronary angiograms. *Eur Heart*, 2000,21:890-894.

2 高琳琳,翟同钧,陈融,等. 外膜炎症诱发载脂蛋白 E 基因敲除鼠冠状动脉粥样硬化病灶. *中国动脉硬化杂志*, 2003,11:415-418.

3 谷伯起,张筠庭,崔可心,等. 80 岁以上尸检动脉年龄性改变及粥样硬化病变的观察. *中华病理学杂志*, 1985,14: 3-6.

4 陆菊明. 糖尿病大血管病变. *临床内科杂志*, 1997, 14: 121-122.

5 Haug A, Hostmark AT, Spydevold O, et al. Hypercholesterolaemia, hypotriacylglycerolaemia and increased lipoprotein lipase activity following orchidectomy in rats. *Acta Endocrinol*, 1986, 113:133-139.

6 Alexandersen P, Haarbo J, Byrjalsen I, et al. Natural androgens inhibit male atherosclerosis, a study in castrated, cho-

lesterol-fed rabbits. *Circ Res*, 1999,84:813-819.

7 Benghuzzi HA, England BG. Long-term sustained delivery of androgens by means of TCPL devices and the effect on high-density lipoprotein in castrated rams. *Biomed Sci Instrum*, 1995, 31:165-170.

8 施新猷. *医学实验动物方法*. 北京:人民卫生出版社, 1980. 325-326.

9 Marsh JD, Lehmann MH, Ritchie RH, et al. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation*, 1998, 98:256-261.

10 付海霞,许家,蒋锡嘉,等. 雄激素对损伤的血管组织 VCAM-1 的表达和内膜增殖的影响. *中华老年心脑血管病杂志*, 2001, 3(增刊):63-66.

11 Hanke H, Lemz C, Hess B, et al. Effect of testosterone on plaque development and androgen receptor expression in the arterial vessel wall. *Circulation*, 2001, 103:1382-1385.

12 Somjen D, Kohen F, Jaffe A, et al. Effects of gonadal steroids and their antagonists on DNA synthesis in human vascular cell. *Hypertension*, 1998, 32:39-45.

(上接第 291 页)

点,在腱-骨连接部位可见潮线深染带,在生物学和力学作用下形成了比较牢固的愈合。这提示我们在进行临床病人的康复指导时,术后 1~2 个月内应在支具保护下进行限制性功能锻炼是十分必要的;术后 3 个月时,可以进行积极的康复训练。

参考文献

1 Butler DL, Noyes FR, Grood ES. Ligament restraints to anterior-posterior drawer in the human knee: a biomechanical study. *J Bone Joint Surg*, 1980, 62:259-270.

2 敖英芳. 关节镜下重建膝十字韧带的临床现状. *中华骨科杂志*, 2001, 21:588.

3 陈百成,张庆民,冯建刚,等. 自体中 1/3 髌韧带重建前十字韧带术后膝关节内并发症的探讨. *中华骨科杂志*, 2000, 20:216-218.

4 Rosenberg TD, Franklin JL, Baldwin GN, et al. Extensor mechanism function after patellar tendon graft harvest for anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*, 1992, 20: 519-525.

5 Aglieitti P, Buzzi R, D'Andria S, et al. Long-term study of anterior cruciate ligament reconstruction for chronic instability using the central one-third patellar tendon and a lateral extraarticular tenodesis. *Am J Sport Med*, 1992, 20:38-45.

6 Hamner DL, Brown CH Jr, Steiner ME, et al. Hamstring tendon grafts for reconstruction of the anterior

cruciate ligament; biomechanical evaluation of the use of multiple strands and tensioning techniques. *J Bone Joint Surg Am*, 1999, 81:549-557.

7 Allum R. Aspects of current management: complications of arthroscopic reconstruction of the anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg*, 2003, 85:12-17.

8 刘玉杰,李众利,王志刚,等. 腓绳肌腱结嵌压固定法重建交叉韧带的临床应用与生物力学研究. *中华外科杂志*, 2005, 42:239-242.

9 刘玉杰,王志刚,王岩,等. 半腱肌腱股薄肌腱打结骨栓嵌入固定镜下重建前十字韧带的初步观察. *中华创伤杂志*, 2003, 19 :167-169.

10 刘玉杰,王志刚,李众利,等. 腓绳肌腱结与骨栓嵌入固定法关节镜下重建后交叉韧带初探. *中国运动医学杂志*, 2003, 22:375-378.

11 Goradia VK, Rochat MC, Grana WA, et al. Tendon-to-bone healing in a semitendinosus tendon autograft used for ACL reconstruction in a sheep model. *Am J Knee Surg*, 2000, 13:143-151.

12 Yoshiya S, Nagano M, Kurosaka M, et al. Graft healing in the bone tunnel in reconstruction. *Clin Orthop Relat Res*, 2000, 376: 278-286.

13 Brian SD, Brian EM, Eugene RM. Observation on a retrieved patellar tendon autograft used to reconstruct the anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg*, 2002, 84:1433-1437.