

持续加压应力对兔骨折局部 IGF- I 和骨钙素含量的影响

高堂成¹, 张春才^{1*}, 康庆林¹, 倪灿荣², 王志伟¹, 许硕贵¹, 沈洪兴¹

(1. 第二军医大学长海医院骨科, 上海 200433; 2 长海医院病理科)

[摘要] 目的: 探讨天鹅记忆接骨器(SMC)固定下持续加压应力对骨折局部胰岛素样生长因子 I (IGF- I) 和骨钙素含量的影响。方法: 30 只新西兰大白兔两侧肱骨行中段断骨处理, 建立肱骨骨折模型, 随机选择一侧肱骨用 SMC 固定, 对侧用 4 孔加压钢板(DCP)固定, 分别于术后第 2、3、4、6、8 和 12 周各处死 5 只兔取材, 标本按内固定物分为 SMC 组和 DCP 组($n=5$)。用放射免疫技术测定骨折局部 IGF- I 和骨钙素的含量。结果: SMC 组和 DCP 组 IGF- I 和骨钙素的含量随时间延长均呈增高趋势。术后 3、4 和 6 周, SMC 组 IGF- I 含量分别为(2.98 ± 0.32)、(3.36 ± 0.18)和(3.47 ± 0.17) ng/mg, DCP 组 IGF- I 含量分别为(2.54 ± 0.21)、(2.78 ± 0.43)和(3.06 ± 0.62) ng/mg, SMC 组明显高于 DCP 组($P < 0.05$); 术后 4、6 和 8 周, SMC 组骨钙素含量分别为(387 ± 23)、(395 ± 31)和(416 ± 37) ng/mg, DCP 组骨钙素含量分别为(323 ± 16)、(356 ± 51)和(378 ± 26) ng/mg, SMC 组明显高于 DCP 组($P < 0.05$)。结论: SMC 固定后所产生的持续稳定的记忆加压应力有利于促进兔骨折端 IGF- I 和骨钙素的分泌。

[关键词] 骨折固定术, 内; 应力; 胰岛素样生长因子 I; 骨钙素

[中图分类号] R 683.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2004)11-1220-04

Effect of sustained compressive stress on content of IGF- I and osteocalcin at experimental fracture sites in rabbits

GAO Tang-Cheng¹, ZHANG Chun-Cai^{1*}, KANG Qing-Lin¹, NI Can-Rong², WANG Zhi-Wei¹, XU Shuo-Gui¹, SHEN Hong-Xing¹ (1. Department of Orthopedics, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pathology, Changhai Hospital)

[ABSTRACT] **Objective:** To explore the effect of sustained compressive stress on the contents of IGF- I and osteocalcin at experimental fracture sites fixed by swan-like memory connector(SMC) in rabbits. **Methods:** Totally 30 rabbits were used to establish experimental fracture model. An osteotomy was performed on one humerus in midshaft by wire saw at random, and the bone fracture was stabilized by SMC (SMC group). The contralateral humerus was osteotomized in the same way and was fixed with 4-hole dynamic compression plate (DCP) as control group (DCP group). Five rabbits were sacrificed each time and bone samples were excised at 2, 3, 4, 6, 8 and 12 weeks postoperatively. The contents of IGF- I and osteocalcin at fracture sites were measured with radioimmunoassay. **Results:** The contents of IGF- I and osteocalcin increased at the subsequent time periods in both groups. At 3, 4 and 6 weeks after operation, the IGF- I contents in SMC group [(2.98 ± 0.32) ng/mg, (3.36 ± 0.18) ng/mg, and (3.47 ± 0.17) ng/mg, respectively] were significantly higher than that in DCP group [(2.54 ± 0.21) ng/mg, (2.78 ± 0.43) ng/mg, and (3.06 ± 0.62) ng/mg, respectively] ($P < 0.05$). At 4, 6 and 8 weeks postoperatively, the osteocalcin contents in SMC group [(387 ± 23) ng/mg, (395 ± 31) ng/mg, and (416 ± 37) ng/mg, respectively] were significantly higher than that in DCP group [(323 ± 16) ng/mg, (356 ± 51) ng/mg, and (378 ± 26) ng/mg, respectively] ($P < 0.05$). **Conclusion:** The sustained compressive stress produced by memory fixation of SMC promotes the excretion of IGF- I and osteocalcin at fracture sites in rabbits.

[KEY WORDS] fracture fixation, internal; stress; insulin-like growth factor I; osteocalcin

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(11): 1220-1223]

* 应力环境影响骨折愈合过程已成为共识, 适宜的加压应力和牵张应力都能促进骨折愈合。随着分子生物学理论和技术的发展, 骨生长因子在调节骨折愈合过程中的作用也逐渐被人们认识^[1-3]。既往对骨折模型中骨生长因子的研究多侧重于各种因子的定位和表达, 而定量研究较少。胰岛素样生长因子 I (insulin-like growth factor I, IGF- I) 和骨钙素

是参与调节骨折愈合过程的重要骨生长因子。本实验拟通过测定天鹅型记忆接骨器 (swan-like memory connector, SMC) 和加压钢板 (dynamic compression plate, DCP) 内固定下兔肱骨骨折局部 IGF- I

* [作者简介] 高堂成 (1969-), 男 (汉族), 硕士, 主治医师。现在解放军第 414 医院骨科, 南京 210015。E-mail: gaotc@163.com

* Corresponding author. E-mail: zhangchuncai@vip.sina.com

和骨钙素的含量, 以探讨不同内固定应力环境对其含量的影响。

1 材料和方法

1.1 内固定器械 SMC: 由厚度为 1.5 mm 的镍钛合金板材制成, 镍含量为 50% ~ 53%, 热处理取向单程, 形状恢复温度为 (33 ± 2) , 近端内径 7 mm, 远端内径 5 mm, 长度 35 mm, 浙江湖州天鹅生物医疗器械公司定制。DCP: 医用 316L 不锈钢, 4 孔, 长 × 宽 × 厚: 35 mm × 4 mm × 1.5 mm, 螺钉直径: 1.8 mm, 上海浦卫医疗器械厂定制。

1.2 动物模型 取新西兰大白兔(购自第二军医大学实验动物中心) 30 只, 体质量 2.0 ~ 2.5 kg, 雌雄不限。以氯胺酮和地西洋腹腔内注射麻醉后, 随机选择一侧肱骨行中段断骨处理, 以 SMC 固定, 对侧以 DCP 固定作为对照。手术前后用市售饲料喂养, 饮用自来水, 自由负重。

1.3 放射学观察 术后当日及术后 2、4、8、12 周时摄双侧肱骨正侧位 X 线片, 观察骨折愈合情况。

1.4 标本取材和处理 分别于术后第 2、3、4、6、8 和 12 周, 处死动物 5 只。以骨折线两侧 0.5 cm 范围内为取材区。标本按内固定物分为 SMC 组和 DCP 组。以生理盐水将标本洗净, 去除软组织, 依次用 100% 三氯乙酸 40 °C 下 48 h、100% 乙醇 60 min、乙醇/乙醚 (1:1) 120 min、100% 乙醚 120 min 脱脂, 空气干燥过夜, -196 °C 液氮下粉碎为直径 40 ~ 160 μm 的颗粒, -20 °C 深低温冰箱保存备用。

1.5 IGF- I 和骨钙素测定 参照王兵等^[4]方法, 取骨粉 15 mg 放入 1.5 ml 的微量离心管内。用 pH 为 6.2 浓度为 0.5 mol/L 的 EDTA (含蛋白酶抑制剂 5 mmol/L) 脱钙 18 h, 再离心 30 min (1 200 r/min), 吸取上清液分别测定 IGF- I 和骨钙素。取上清液用 Bio-RAD 层析仪层析脱盐, LABCONCO 真空冷冻干燥机干燥后用 IGF- I 放免试剂盒 (长海医院病理科提供) 按说明步骤测定 IGF- I 含量。另取上清液用 0.025 mol/L 的 EDTA-Na₂ 测定缓冲液稀释, 用骨钙素放免试剂盒 (购自上海维思化学有限公司) 按说明步骤测定骨钙素的含量。γ 计数仪为瑞典 LAK 公司生产。

1.6 统计学处理 分别统计 SMC 组和 DCP 组各时期 IGF- I 和骨钙素含量, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 显著性检测用 *t* 检验。

2 结果

2.1 放射学观察 术后当日摄 X 线片, 两侧肱骨骨折复位固定良好。术后 2 周, 两组均无骨痂形成, SMC 组骨折线逐渐模糊, DCP 组骨折线清晰。术后 4 周 (图 1A、B), SMC 组无骨痂形成, 骨折线消失; DCP 组有骨痂生成, 骨折线可见。术后 8 周, SMC 组骨折线消失, 骨折端接由板层骨替代, 仍无骨痂形成; DCP 组骨折线模糊, 局部有大量骨痂 (图 1C、D)。术后 12 周, SMC 组骨折处已完全骨性连接, 局部无骨痂, 也无骨质疏松; DCP 组骨折处有外骨痂, 且板下皮质骨出现骨质疏松。

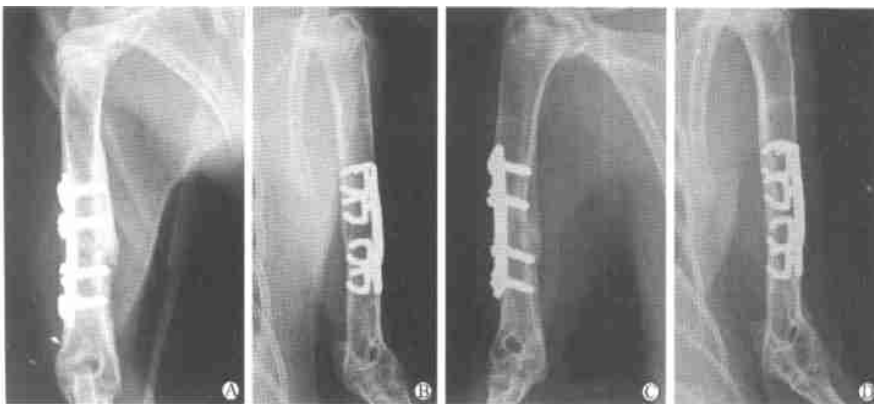


图 1 SMC (A、C) 和 DCP (B、D) 内固定术后 4 周 (A、B) 和 8 周 (C、D) X 线片

Fig 1 X-ray after internal fixations with SMC (A, C) and DCP (B, D)

A, B: 4 weeks after operation; C, D: 8 weeks after operation

2.2 IGF- I 和骨钙素含量 随着骨折愈合时间的延长, 两种内固定下, 骨折局部 IGF- I 和骨钙素含量均呈增高的趋势。术后 3、4 和 6 周, 骨折局部 IGF- I 含量有显著性差异, SMC 组高于 DCP 组

($P < 0.05$)。术后 4、6 和 8 周, 骨折局部骨钙素含量有显著性差异, SMC 组高于 DCP 组 ($P < 0.05$)。其他时间 SMC 组和 DCP 组骨折局部 IGF- I 和骨钙素含量均接近, 无统计学差异 (表 1)。

表1 SMC和DCP固定下骨折端 IGF- I 及骨钙素含量

Tab 1 Contents of IGF- I and osteocalcin at fracture sites fixed by SMC and DCP

Index	Group	Time after operation (t/week)					
		2	3	4	6	8	12
IGF- I	SMC	2.21 ± 0.52	2.98 ± 0.32*	3.36 ± 0.18*	3.47 ± 0.17*	3.69 ± 0.31	3.81 ± 0.41
	DCP	2.35 ± 0.64	2.54 ± 0.21	2.78 ± 0.43	3.06 ± 0.62	3.51 ± 0.29	3.76 ± 0.27
Osteocalcin	SMC	284 ± 23	336 ± 55	387 ± 23*	395 ± 31*	416 ± 37*	421 ± 43
	DCP	291 ± 19	313 ± 35	323 ± 16	356 ± 51	378 ± 26	417 ± 19

(n = 5, $\bar{x} \pm s$, ng · mg⁻¹)

* P < 0.05 vs DCP group

3 讨论

近年来,随着生物力学、分子生物学等的研究进展,对应力环境影响骨折愈合的认识正逐渐深入。在适宜的应力环境下,骨折局部细胞活性增加,相关基因的表达含量会发生变化,产生各种调节骨折愈合的细胞因子,促进骨折愈合。目前在该方面有关牵张应力的实验研究较多^[2,3],而针对持续压应力下骨折愈合过程的研究较少。

IGF- I 是一个由 70 个氨基酸残基组成的单链多肽,由 3 个二硫键连接,相对分子质量为 7 600。骨组织是 IGF 丰富的储藏库。成骨细胞和破骨细胞以及某些间充质细胞都可分泌 IGF,通过自分泌和旁分泌途径发挥作用。体内外实验证实,IGF- I 对骨代谢有调节作用,可促进成骨细胞增殖和分化,刺激成骨细胞生成骨钙素等非胶原蛋白和 I 型胶原,促进骨基质的形成,促进骨折愈合^[5,6]。骨钙素相对分子质量为 5 800,含 49 个氨基酸,约占非胶原蛋白总量的 10% ~ 20%,是骨样组织中最丰富的非胶原蛋白。骨钙素对钙和羟基磷灰石都有很高的亲和力,在钙存在的条件下,可促进骨钙素对羟基磷灰石的结合,沉积于骨基质中从而调节钙盐沉积^[7]。骨钙素由成骨细胞合成和分泌,被认为是成骨细胞最具特征性的表型标志,是反映成骨细胞活性敏感而特异的指标。

本实验结果显示:随着骨折修复时间的延长,骨折局部 IGF- I 和骨钙素含量均呈增高的趋势;在早期,SMC 组和 DCP 组骨折局部 IGF- I 和骨钙素含量接近;随着骨折修复的进行,骨折局部 IGF- I 和骨钙素含量表现出显著性差异,SMC 组高于 DCP 组。可能机制如下:在骨折愈合早期,两组骨折端骨生长因子均可随血肿吸收,IGF- I 和骨钙素含量接近且较低。血肿机化后,骨折端 IGF- I 和骨钙素得以保留并储存。同时,DCP 为骨折端提供的加压应力随骨折线的吸收而减弱,而 SMC 为镍钛合金材

料制造,具有形状记忆效应,其记忆回复力能为骨折端提供持续稳定的加压应力^[8,9]。在不同应力环境中,各种具有成骨功能的细胞的活性和数量不同^[11],虽然 IGF- I 和骨钙素含量均呈增加趋势,但增加速度不一致,表现出含量的差异。

既往研究表明,骨钙素是由成骨细胞受 IGF- I 刺激后产生。本实验中两组 IGF- I 的含量较早即表现出差异性,骨钙素的差异性滞后,这一现象也支持以上研究结论。本实验证实:在骨折愈合过程中,骨折局部 IGF- I 和骨钙素含量均呈逐渐增高的趋势,两者之间在一定联系;不同应力环境对骨折局部 IGF- I 和骨钙素分泌的影响不同,结合骨折固定术后 X 线片表现可以发现,SMC 产生的持续加压应力有利于成骨细胞分泌 IGF- I 和骨钙素,促进骨折愈合。IGF- I 和骨钙素之间具体如何联系,以及加压应力如何影响有关细胞分泌 IGF- I 和骨钙素,还需要深入研究。

[参考文献]

- [1] Nomura S, Takano-Yamamoto T. Molecular events caused by stress in bone[J]. *Matrix Biol*, 2000, 19(2): 91-96
- [2] Sato M, Ochi T, Nakase T, et al. Mechanical tension-stress induce expression of bone morphogenetic protein BMP-2 and BMP-4, but not BMP-6, BMP-7, and GDF-5 mRNA, during distraction osteogenesis[J]. *J Bone Miner Res*, 1999, 14(7): 1084-1095
- [3] Kawata A, Mikuni-Takagaki Y. Mechanotransduction in stretched osteocytes-temporal expression of immediate early and other genes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 246(2): 404-408
- [4] 王兵, 刘贻运, 郑介柏, 等. 骨延长术中的骨钙素和胰岛素样因子- I 含量变化[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 9(3): 267-269
Wang B, Liu YY, Zheng JB, et al. The change of osteocalcin and IGF- I in the bone lengthening[J]. *Zhongguo Jiaoxing Waike Zazhi (Orthop J Chin)*, 2002, 9(3): 267-269
- [5] Richman C, Baylink DJ, Lang K, et al. Recombinant human insulin-like growth factor-binding protein-5 stimulates bone formation parameters in vitro and in vivo[J]. *Endocrinology*, 1999, 140(10): 4699-4705

- [6] Ueno T, Mizukawa N, Sugahara T, *et al*. Experimental study of bone formation from autogenous periosteal graft following insulin-like growth factor I administration [J]. *J Craniofac Surg*, 1999, 27(5): 308-313.
- [7] 刘宏, 吴积芬, 王勤涛, 等. 胰岛素样生长因子 I 对外培养人牙周膜细胞骨钙素分泌的影响 [J]. 第二军医大学学报, 2001, 22(5): 456-458.
- Liu H, Wu ZF, Wang QT, *et al*. Effect of insulin-like growth factor I on osteocalcin secretion of periodontal ligament cells [J]. *Dier Junyi Daxue Xuebao (Acad J Sec Mil Med Univ)*, 2001, 22(5): 456-458.
- [8] 许硕贵, 张春才, 苏佳灿, 等. 天鹅型记忆接骨器治疗肱骨骨折和骨不连的生物力学研究 [J]. 第二军医大学学报, 2001, 22(10): 946-948.
- Xu SG, Zhang CC, Su JC, *et al*. Biomechanical study of swan-like memory compressive connector for treating fractures and nonunions humerus [J]. *Dier Junyi Daxue Xuebao (Acad J Sec Mil Med Univ)*, 2001, 22(10): 946-948.
- [9] 张春才, 许硕贵, 王家林, 等. 上肢骨干天鹅型记忆接骨器的设计与临床应用 [J]. 第二军医大学学报, 2001, 22(10): 939-942.
- Zhang CC, Xu SG, Wang JL, *et al*. Design and clinical application of swan-like memory compressive connector for upper limb diaphysis [J]. *Dier Junyi Daxue Xuebao (Acad J Sec Mil Med Univ)*, 2001, 22(10): 939-942.
- [收稿日期] 2004-03-04 [修回日期] 2004-08-16
[本文编辑] 孙岩

· 研究简报 ·

超声检查在诊治阑尾炎中的临床意义

Ultrasonography in diagnosis and treatment of appendicitis

覃东琼, 谭杰琳, 陈桂荣, 张 炜

(广西壮族自治区柳州市人民医院超声科, 柳州 545001)

[关键词] 阑尾炎; 超声诊断

[中图分类号] R 574.61

[文献标识码] B

[文章编号] 0258-879X(2004)11-1223-01

* 阑尾炎的临床诊断主要靠病史、临床表现、血常规检查等, 易与右侧泌尿系、妇科及胆系病变混淆。老人、孕妇、尤其是难以获取真实病史的儿童, 查体不理想, 症状不典型。近年许多文献相继报道了阑尾病变的超声表现, 超声诊断获得较高的准确率, 得到了临床的肯定。本文对临床确诊为阑尾炎的 153 例患者的超声诊断作回顾性分析, 旨在阐明超声对阑尾炎的诊断及指导治疗的价值, 提高诊治水平。

1 资料和方法

1.1 一般资料 本组 153 例, 均为 2002 年 5 月至 2003 年 12 月我院外科收治的患者, 全部病例经手术切除病理诊断或保守治疗缓解证实为阑尾炎。男性 85 例, 女性 68 例, 年龄 7~71 岁, 平均年龄 35.2 岁。其中 < 14 岁 15 例, > 60 岁 30 例, 孕妇 8 例。多数患者有右下腹痛及不同程度的压痛和(或)反跳痛, 血常规 WBC 增高。

1.2 超声检查 采用 HP Image Point 及 Logiq 500 超声诊断仪, 凸阵或线阵探头, 频率 3.5~7.5 MHz。肥胖者可适当充盈膀胱。以麦氏点为中心向周围扫查, 加压探头, 在压痛最明显处作重点观察。注意是否有阑尾肿大、积液、局部包块、网膜聚集包裹、肠管扩张等征象。同时扫查子宫附件、胆囊、膀胱、右侧肾及输尿管。

1.3 治疗方法 根据超声结果和临床症状, 分别采取急诊手术、保守治疗和保守治疗后二期手术切除等方法治疗。

2 结果

急性单纯性阑尾炎表现为病变局限在浆膜层, 浆膜水肿

充血, 超声下表现为一厚壁的小盲管样回声(图 1A)。化脓性炎症表现为管壁增厚、不连续, 管腔内大量的絮状渗出, 表现出典型的“同心圆征”或边缘不完整的低回声包块(图 1B)。坏疽性炎症和阑尾周围脓肿表现为管壁坏死穿孔, 脓液增多, 与周围组织粘连(图 1C)和阑尾周围脓肿(图 1D), 超声下腹腔可见囊性包块, 包膜粗糙不平, 囊内可见更多的絮状物沉积。探到阑尾粪石是直接提示本病的另一重要征象。超声在阑尾盲管内或在“同心圆”中央探到强回声伴声影, 阑尾粪石诊断即可确立。慢性阑尾炎的表现与急性单纯性阑尾炎相似, 只是水肿程度较轻, 超声常无法作出判断。

153 例中手术切除并行病理切片 121 例(其中急性单纯性 69 例, 化脓性 27 例, 坏疽性 15 例, 慢性 10 例), 阑尾周围脓肿行抗炎引流 20 例, 慢性阑尾炎保守治疗 12 例。全部病例超声显示有异常改变 138 例, 显示率 90% (138/153)。69 例急性单纯性病变中, 超声显示阑尾水肿 40 例, 网膜聚集 10 例, 声像图改变不明显 19 例, 漏诊率 27.5% (19/69); 62 例化脓或坏疽性改变中超声均提示有右下腹包块, 显示率为 100% (62/62); 12 例保守治疗的慢性病变中, 超声提示异常的有 6 例, 漏诊 6 例, 漏诊率 50% (6/12); 53 例儿童、老人及孕妇患者的超声漏诊率达 47% (25/53)。

(下转第 1227 页)

* [作者简介] 覃东琼(1970-), 女(壮族), 主治医师

Email: dongdong_000@you.com