

- method[J]. *J Neurotrauma*, 2001,18(11):1217—1227.
- [8] 周良辅主编. 现代神经外科学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2001.220.
- [9] Ikeda Y, Mochizuki Y, Nakamura Y, et al. Protective effect of a novel vitamin E: derivative on experimental traumatic brain edema in rats—preliminary study [J]. *Acta Neurochir*, 2000, 76: 343—345.
- [10] Tanaka M. Pharmacological and clinical profile of the free radical scavenger edaravone as a new protective agent [J]. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 2002,119:301.
- [11] Edaravone Acute Infarction Study Group. Effect of a novel free radical scavenger—edaravone (MCI-186), on acute brain infarction. Rando mized, placebo controled, double-blind study at multicenters[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2003,15: 222.
- [12] Tabrizchi R. Edaravone Mitsubishi-Tokyo[J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2000,1:347.
- [13] 狄晴, 葛剑青, 陈道文, 等. 依达拉奉治疗急性脑梗死的临床观察 [J]. *临床神经病学杂志*, 2004,17(3):184—186.
- [14] 顾学兰, 丁新生, 狄晴, 等. 依达拉奉注射液治疗急性脑梗死的临床疗效评价[J]. *中国新药与临床杂志*, 2005,24(2):113—116.
- [15] Tanahashi N, Fukuchi Y. Treatment of acute ischemic stroke: recent progress[J]. *Intern Med*, 2002,41:337—341.

· 基础研究 ·

超短波疗法对兔膝关节内侧副韧带断裂自身修复的组织学影响

岳亮¹

摘要 目的:探讨超短波疗法对内侧副韧带断裂自身修复的组织学影响。**方法:**成年兔 20 只, 随机分为对照组(手术横断内侧副韧带)10 只、超短波治疗组(手术横断内侧副韧带 24h 后给予超短波治疗, 每天 1 次, 微热量, 10—15min, 共 10 次)10 只。于手术后 7 周取两组兔膝关节内侧副韧带, 观察组织学改变。**结果:**从大体形态、HE 染色和 I、III 型胶原免疫组化染色比较对照组与超短波治疗组之间均有显著性差异 ($P < 0.05$) **结论:**①超短波疗法对兔膝关节内侧副韧带断裂自身修复有促进作用, 并能减少瘢痕形成。②兔膝关节内侧副韧带断裂有自身修复能力。

关键词 膝关节; 内侧副韧带; 超短波; 组织学

中图分类号: R493, R686 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-1242(2007)-08-0734-02

在交通意外、运动过程中膝关节韧带常会受到损害, 内侧副韧带 (medial collateral ligament, MCL) 损伤最为常见, 内侧副韧带损伤会直接影响到关节的稳定性。国内普遍认为内侧副韧带 III° 撕裂需要手术修复, 近年来国外有学者认为内侧副韧带 III° 撕裂可以自行修复, 不需手术修复。

超短波疗法自从 20 世纪 50 年代引入我国, 现已广泛应用于临床。众所周知, 超短波疗法作用于人体时可产生明显的温热效应及非热效应, 主要机制是: ①通过扩张局部小血管, 改善血液循环, 加强组织血供, 加速炎症产物和代谢产物的清除, 减轻水肿; ②血液循环改善, 组织营养增强, 成纤维细胞增殖, 肉芽组织、结缔组织生长加快, 可促进组织修复愈合; ③免疫功能增强, 使吞噬细胞数量增多, 吞噬能力增强, 血供改善使补体、抗体、凝集素、调理素增多, 促使炎症产物排除; ④降低感觉神经兴奋性, 干扰痛觉冲动传导, 从而达到缓解疼痛的作用。

本研究选择兔的内侧副韧带作为研究对象, 在内侧副韧带 III° 撕裂未手术修复的情况下, 早期给予超短波治疗, 从组织形态学方面研究超短波疗法对兔内侧副韧带 III° 撕裂的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组

健康成年家兔 20 只, 兔龄 4—5 个月, 雌雄不限, 体重 2000—3300g, 各兔均采用外科手术横断左内侧副韧带建模。采用随机数字表法随机抽样, 分为对照组和超短波治疗组, 每

组各 10 只。对照组模型制备后不做任何处理; 超短波治疗组模型制备 24h 后给予超短波治疗。

1.2 膝关节内侧副韧带断裂模型制备

术前称重编号, 先用 3% 戊巴比妥钠按 1ml/kg 经兔耳缘静脉注射麻醉, 仰卧位, 将兔左后肢平位固定在动物固定仪上, 膝关节内侧备皮, 75% 酒精消毒皮肤, 膝关节内侧纵向切开皮肤, 暴露内侧副韧带, 将韧带与周围组织分离, 从内侧副韧带中部横行断离, 两断端之间间距 1mm, 不手术缝合断端, 仅无菌非吸收性外科缝线缝合皮肤并再次消毒伤口。

1.3 建模后的处理

对照组: 笼内自由活动, 不给予任何治疗干预。

超短波治疗组: 采用上海医疗器械高技术公司生产的 CDB-1 型超短波 (其最大输出功率为 50W, 输出电流为 20mA), 两极板对置, 极板与皮肤之间间距为 4—5cm, 微热量, 每天治疗一次, 每次 15min, 共治疗 10 天。

1.4 肉眼观察

制模后 7 周, 切取标本时观察内侧副韧带的修复及增生情况、与周围组织有无粘连。

1.5 组织学观察

麻醉下取内侧副韧带, 按组织学常规切片, HE 和免疫组化染色 (I 型、III 型胶原), 光学显微镜下观察组织形态。

¹ 湖南省娄底市卫生学校, 417000

作者简介: 岳亮, 女, 讲师

收稿日期: 2006-11-20

1.6 图像分析

免疫组化染色结果在光学显微镜高倍镜下,每张组织切片上随机选择5个视野,每个视野拍摄1幅照片,每例照片为25幅,用计算机图像分析系统测定其灰度值,取其平均值。每个被测点灰度值代表被测物含量的大小,灰度值与含量成反比关系。

1.7 统计学分析

采用两样本 *t* 检验,α 值取 0.05。

2 结果

2.1 肉眼观察

对照组:MCL 断端修复,韧带与周围组织结构分界欠清,粘连严重,表面不光滑,无光泽,透明度差,明显可见较正常韧带变小变薄。超短波治疗组:MCL 断端修复,呈白色,表面光滑,有光泽,轻微增厚,透明度较正常韧带稍差,与周围组织结构界限清晰、无粘连。

2.2 HE 染色

对照组:可见大量成纤维细胞样细胞增殖,排列不规律,细胞核主要为圆形和椭圆形,胶原纤维排列紊乱,正常胶原纤维束消失(图1,见前置彩色插页8)。超短波治疗组:可见成纤维细胞样细胞比对照组有所减少,细胞分布较均匀,排列明显规律,细胞核主要为杆状和纺锤体状,圆形和椭圆形细胞核明显减少,胶原纤维排列规律,出现胶原纤维束,但未见胶原纤维波浪排列(图2,见前置彩色插页8)。

2.3 免疫组化染色

2.3.1 I 型胶原: 免疫组化阴性片细胞间质未见棕黄色物质,阳性片为细胞间质有染成棕黄色物质。两组均呈阳性染色,弥散分布于韧带中,成纤维细胞样细胞核染呈蓝色(图3—4,见前置彩色插页8)。两组灰度值比较有显著性差异。见表1。

2.3.2 III 型胶原: 两组均阳性染色,在细胞间质可见染成棕黄色或棕红色的物质,弥散分布于韧带中,染色较 I 型胶原变淡变浅,说明 III 型胶原开始降解(图5—6,见前置彩色插页8)。两组灰度值比较有显著性差异(表1)。

表1 兔 MCL 断裂 7 周两组 I 型与 III 型胶原灰度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	III 型胶原灰度值	I 型胶原灰度值
对照组	10	80.91±4.82	27.83±3.10
超短波治疗组	10	76.12±5.19 ^②	23.35±3.80 ^①

与对照组比较:①P=0.010,df=18;②P=0.046,df=18

3 讨论

膝关节内侧副韧带 III° 损伤是否采用手术修复国内外存在很大争议。国外一些学者认为 MCL 有自身修复能力,Indelicato 等^[1]认为 ACL 和 MCL 联合损伤后,如果 ACL 被重建,MCL 没有必要手术修复;急性单纯性 MCL 损伤采用保守治疗。Millett 等^[2]对 18 例 ACL 和 MCL 联合损伤的患者进行 ACL 重建和 MCL 非手术治疗,预后良好。Trinath 等^[3]认为 MCL 完全断裂如果没有导致明显膝关节不稳定可采用保守治疗。还有学者对比了 ACL 和 MCL 损伤后修复,发现 MCL 预后明显好于 ACL。例如:Bray 等^[4]观察了兔 ACL 和 MCL 损

伤后血流变化情况,发现 ACL 血容量增加了 2 倍,但血流量却未增加,而 MCL 损伤后,血容量增加 6 倍,血流量增加约 8 倍,认为 MCL 伤后能形成充分的血流供应,极大促进其愈合。Chun 等^[5]研究证实在体外培养 MCL 的单个成纤维细胞的胶原合成比 ACL 成纤维细胞要高,认为,这能解释在体内损伤预后的不同。Hsieh 等^[6]在研究中发现牵拉能诱导 MCL III 型胶原的基因表达增加,而牵拉诱导 ACL I 型胶原基因表达增加,这种反应可以帮助解释 MCL 有较好的治愈率。此研究结果显示兔膝关节内侧副韧带 III° 损伤 7 周后,两组内侧副韧带都愈合。而损伤早期给予超短波干预,肉眼观察可见瘢痕粘连减少。I 型胶原、III 型胶原的含量测定多于对照组,两组有显著性差异。可见超短波疗法能减少瘢痕的形成,促进膝关节内侧副韧带的自身修复;膝关节内侧副韧带断裂有自身修复能力。其作用机制可能是:①通过消除水肿、减轻组织张力,缓解痉挛,减轻疼痛间接引起兔膝关节活动增加,使胶原排列规则。②增强免疫功能,使水肿消散、炎症产物排除,有利于炎症控制、消散,减少瘢痕形成。③改善血液循环,组织营养增强,成纤维细胞增殖,肉芽组织、结缔组织生长加快,促进组织自身修复愈合。

另外,损伤的过度修复会形成增生性瘢痕,增生性瘢痕主要是致密粗大的胶原纤维。有文献报道^[7],早期的组织缺氧导致增生性瘢痕的发生,持续的组织缺氧又可以限制瘢痕的发展,也是加压治疗的机制。而超短波有改善血液循环,增加氧供的作用,胶原的合成需要依赖于氧的供应,由此笔者推测超短波疗法有可能会引起胶原的过度增生,故认为 MCL 断裂在急性期使用比较好,时间不宜过长。至于治疗多长时间,多少次为最佳有待进一步探讨。

此研究只是从组织形态学上观察兔膝关节内侧副韧带损伤后自身修复情况,如何评价韧带修复后的生物力学特性,有待下一步进行生物力学实验。

参考文献

- Indelicato PA. Isolated medial collateral ligament injuries in the knee[J]. Am Acad Orthop Surg, 1995, 3(1):9—14.
- Millett PJ, Pennock AT, Sterett WL, et al. Early ACL reconstruction in combined ACL-MCL injuries [J]. Knee Surg, 2004, 17(4):94—98.
- Trinath KK, Derek RB. Knee instability[J]. West J Med, 2001, 174(4): 266—272.
- Bray RC, Leonard CA, Salo PT. Correlation of healing capacity with vascular response in the anterior cruciate and medial collateral ligament of the rabbit[J]. J Orthop Res, 2003, 21(6): 1118—1123.
- Chun J, Tuan TL, Han B, et al. Cultures of ligament fibroblasts in fibrin matrix gel[J]. Connect Tissue Res, 2003, 44(2):81—87.
- Hsieh AH, Tsai CM, Ma QJ, et al. Time-dependent increases in type - III collagen gene expression in medial collateral ligament fibroblasts under cyclic strains[J]. J Orthop Res, 2000, 18(2):220—227.
- 沈锐, 利天增. 组织缺氧与增生性瘢痕的关系[J]. 国际外科学杂志, 2006, 33(1):70—73.