

网络出版时间: 2017-7-29 12:00 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170729.1200.005.html

## 应用自-异体混编肌腱重建兔前交叉韧带的生物力学分析

谢迎<sup>1</sup>, 何俊山<sup>2</sup>, 王亚东<sup>2</sup>, 吴继云<sup>2</sup>, 邓亚开<sup>2</sup>, 陈伟南<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 比较应用兔的自-异体混编肌腱与异体肌腱重建前交叉韧带(ACL)的生物力学特性方面的差异。方法

兔40只,随机分成混编组及异体组,每组20只,分4个时间节点(术后3、8、12、24周),每个时间节点样本量为5只。均行右膝关节ACL重建。混编组采用自体肌腱与异体肌腱混合编织后重建ACL,异体组则完全采用异体肌腱编织后重建ACL。分别于术后3、8、12、24周处死每组的5只兔子,取右膝关节能制成标本,行单轴拉力实验并对实验数据进行统计分析。结果 术后3、8、12、24周,标本拉力测试显示,混编组的极限负荷、刚度均高于异体组,混编组拉伸长度均低于异体组,两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。术后3、8周标本毁损模式两组均以移植物自骨隧道拔出为主,术后12、24周两组均为移植物实质部断裂。4个时间节点毁损模式 Fisher 确切检验均差异无统计学意义。结论 重建ACL,自-异体混编肌腱的生物力学特性优于异体肌腱。

**关键词** 前交叉韧带;自-异体混编肌腱;异体编织肌腱;生物力学

中图分类号 R 686.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)10-1437-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.10.005

生物力学对于人体关节的运动、稳定及退变过程意义重大。膝关节作为人体下肢运动的重要关

节,其稳定及运动基本由韧带控制,其中前交叉韧带(anterior cruciate ligament, ACL)在维持膝关节稳定及运动方面意义重大<sup>[1]</sup>。ACL的损伤可导致膝关节生物力学发生变化,引起膝关节的不稳,甚至可导致膝关节骨性关节炎,因此手术重建ACL显得至关重要。目前临床上供选择替代损伤的ACL的移植物类型较多,临床多采用自-异体混编肌腱重建损伤的ACL,许沛荣等<sup>[2]</sup>通过临床术后长期随访观察发现自-异体混编肌腱重建ACL临床疗效明确。邓亚开、吴继云等<sup>[3-4]</sup>使用兔重建ACL模型发现,自-异体混编肌腱重建ACL有利于促进移植物的组织学愈合过程。然而对于应用自-异体混编肌腱重建ACL后移植物的相关生物力学特性的研究相对较少,因此该研究使用兔建立自-异体混编肌腱与异体肌腱重建ACL模型。观察及比较术后3、8、12、24周两组移植物的生物力学方面指标之间的差异。

## 1 材料与方法

**1.1 动物分组与模型制作** 健康成年新西兰兔40只(无锡市血吸虫防治中心提供),2.7~3.3 kg,雌雄各20只。将兔随机分成自-异体混编肌腱组(混编组)及异体肌腱组(异体组),每组20只。40只兔运动正常,膝关节前抽屉检查及Lachman试验均阴性。所有兔行右膝关节ACL重建手术。混编组采用自体趾长伸肌腱与另一只兔的趾长伸肌腱混合编织后行ACL重建术,异体组则完全采用另外一只兔的两侧趾长伸肌腱编织后重建ACL。

2017-04-18 接收

基金项目:南京军区重大研究专项项目(编号:12MA011)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学无锡临床学院骨科,无锡 214044

<sup>2</sup>中国人民解放军第101医院骨科,无锡 214044

作者简介:谢迎,男,硕士研究生;

陈伟南,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-

mail: chenweinan@med-mail.com.cn

showed that in three types of endothelial cells from brain, heart and liver, the expression level of TRPV4 channel was highest but the expression level of TRPC3 was lowest in brain microvascular endothelial cells. TRPV4, TRPP2 and TRPC1 were expressed in the endothelial and smooth muscle layers of the cerebral basilar artery as well. GSK1016790A, an agonist of TRPV4, concentration-dependently relaxed the cerebral basilar artery which was pre-constructed by phenylephrine. Additionally, GSK1016790A-induced vessel relaxation was inhibited by HC067047, an antagonist of TRPV4. **Conclusion** Compared with the microvascular endothelial cells from heart and liver, the brain microvascular endothelial cells show significantly high expression in TRPV4 channel. Therefore, TRPV4 may have a critical role in the function of brain microvascular endothelial cells.

**Key words** transient receptor potential channel; endothelial cell; TRPV4; brain vessel

**1.2 肌腱取材与保存** 使用 10% 水合氯醛(0.30 ml/100 g) 耳缘静脉注射全身麻醉,生效后双侧后肢皮肤,仰卧位将动物固定于手术台,常规消毒铺无菌洞巾(图 1A)。切取双侧后肢踝关节处的趾长伸肌腱作为重建 ACL 的移植物。切取肌腱长度为 3.0 cm(图 1B),选取一根肌腱用作自体移植重建 ACL,另一根浸入二甲基亚砒保护液中深低温冷冻处理,用作同种异体肌腱移植的材料。

**1.3 ACL 重建术** 取兔右膝关节外侧切口,将髌骨内翻,显露 ACL 并切断。固定膝关节位置,使用 2.0 mm 钻头在原 ACL 起止点处分别钻取股骨隧道及胫骨隧道。将编织合适的移植物从胫骨隧道引入穿过关节腔引出股骨隧道,被动屈曲膝关节直至移植物拉紧(图 1C),使用手术缝线将移植物两端固定于周围的骨膜、筋膜等软组织,检查移植物张力适中,前抽屉检查及 Lachman 试验均阴性,逐层缝合切口,无菌纱布包扎。分笼饲养,自由活动及进食。术后连续 3 d 应用青霉素 80 万单位肌肉注射,1 次/d。

**1.4 生物力学测试** 分别于术后 3、8、12、24 周处死每组的 5 只兔,于胫骨及股骨端距离膝关节 4 cm 处截断,去除所有膝关节周围软组织,仅保留移植物,骨水泥分别包埋股骨端及胫骨端,制备成股骨-移植物-胫骨复合体,置于电子万能试验机(Instron E10000)的夹具上,调整骨隧道与拉力方向一致,进行拉力测试(图 1D)。首先,施加 0~5 N 拉力,速度为 2 mm/min,循环 5 次,使移植物预张,然后再以 10

mm/min 的拉伸速度施加拉力至标本毁损,记录标本毁损模式,以试验机绘制的载荷-位移曲线确定移植物的极限负荷(曲线最高点的值)、刚度(曲线线性上升段的斜率)、拉伸长度。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 对实验数据进行分析。混编组与异体组极限负荷及刚度比较采用独立样本 *t* 检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。4 个时间节点标本毁损模式采用 Fisher 确切检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 组间比较** 术后 3、8、12、24 周,混编组的极限负荷、刚度均高于异体组(表 1、2),混编组的拉伸长度低于异体组(表 3),两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。就标本毁损模式来看,术后 3、8 周两组多为移植物自骨隧道拔出(图 2A),术后 12、24 周两组则多为移植物实质部断裂(图 2B、表 4) 4 个时间节点毁损模式 Fisher 确切检验均差异无统计学意义。

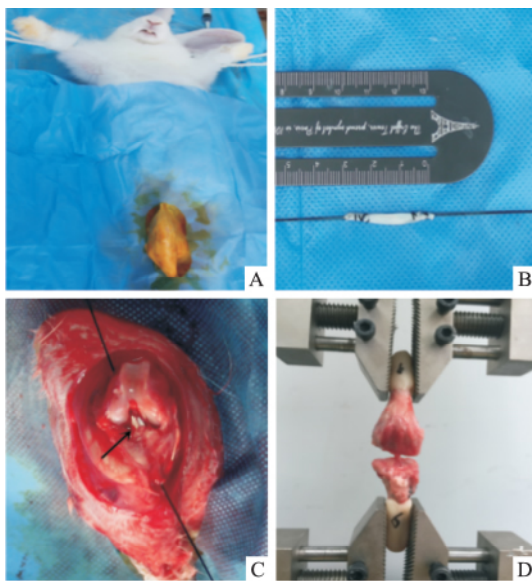


图 1 兔 ACL 重建手术及力学测试相关图片

A: 实验动物的消毒、铺单; B: 混合编织后的移植物; C: 重建后的前交叉韧带; D: 移植物生物力学测试

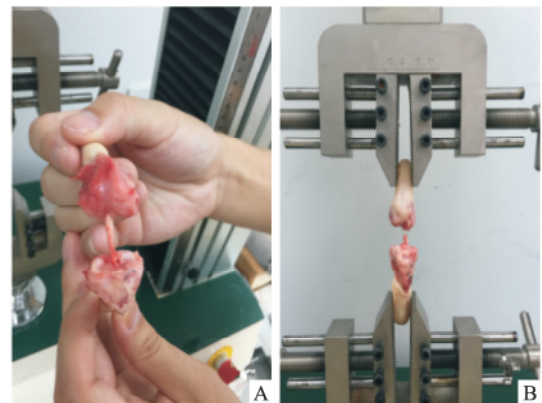


图 2 移植物的两种毁损模式

A: 移植物自骨隧道拔出; B: 移植物实质部断裂

表 1 两组移植物不同时间点的极限负荷( $N, n = 5, \bar{x} \pm s$ )

| 时间   | 混编组           | 异体组           | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|------|---------------|---------------|------------|------------|
| 3 周  | 63.31 ± 7.93  | 52.20 ± 5.72  | 2.539      | 0.035      |
| 8 周  | 37.54 ± 4.21  | 29.12 ± 1.80  | 4.108      | 0.003      |
| 12 周 | 80.67 ± 4.62  | 67.36 ± 11.96 | 2.320      | 0.049      |
| 24 周 | 111.52 ± 9.91 | 96.66 ± 7.50  | 2.674      | 0.028      |

表 2 两组移植物不同时间点的刚度( $N/mm, n = 5, \bar{x} \pm s$ )

| 时间   | 混编组          | 异体组          | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|------|--------------|--------------|------------|------------|
| 3 周  | 16.63 ± 0.98 | 14.90 ± 0.60 | 3.378      | 0.010      |
| 8 周  | 10.52 ± 1.03 | 8.23 ± 1.17  | 3.279      | 0.011      |
| 12 周 | 20.65 ± 0.99 | 18.58 ± 1.66 | 2.390      | 0.044      |
| 24 周 | 30.67 ± 2.97 | 24.87 ± 2.39 | 3.409      | 0.009      |

表3 两组移植术不同时间点的拉伸长度 (mm  $n=5 \bar{x} \pm s$ )

| 时间  | 混编组         | 异体组         | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|-----|-------------|-------------|------------|------------|
| 3周  | 5.71 ± 0.68 | 7.34 ± 0.71 | -3.681     | 0.006      |
| 8周  | 4.98 ± 0.75 | 6.07 ± 0.40 | -2.850     | 0.022      |
| 12周 | 4.65 ± 0.78 | 5.84 ± 0.58 | -2.729     | 0.026      |
| 24周 | 3.82 ± 0.50 | 5.16 ± 0.54 | -4.030     | 0.004      |

表4 两组移植术不同时间点力学测试毁损模式(*n*)

| 时间  | 混编组   |       | 异体组   |       | <i>P</i> 值 |
|-----|-------|-------|-------|-------|------------|
|     | 实质部断裂 | 骨隧道拔出 | 实质部断裂 | 骨隧道拔出 |            |
| 3周  | 2     | 3     | 1     | 4     | 0.417      |
| 8周  | 2     | 3     | 1     | 4     | 0.417      |
| 12周 | 4     | 1     | 3     | 2     | 0.417      |
| 24周 | 5     | 0     | 4     | 1     | 0.500      |

2.2 组内比较 混编组及异体组的极限负荷及刚度变化趋势均为随着术后时间的推移,均呈现由强到弱再逐渐增强的过程。

### 3 讨论

ACL 损伤是膝关节常见伤病,手术重建为目前治疗的主流。目前对于移植物的选择较为宽泛,临床多采用自体肌腱与异体肌腱联合使用重建 ACL,但是对于此种移植术后的生物力学变化尚缺乏详细的研究。了解自-异体混编肌腱重建 ACL 术后的生物力学变化可指导此类患者术后康复计划的制定,更好地恢复膝关节功能。生物力学测试是间接反映膝关节交叉韧带重建后移植愈合、塑型过程的重要手段,主要应用于评估移植物的固定强度<sup>[5-6]</sup>、腱-骨愈合等方面。其中单轴拉力实验因相对简单而被广泛应用于动物实验<sup>[7]</sup>。

对于此次应用自-异体混编肌腱与异体肌腱重建兔 ACL 模型术后 3、8、12、24 周不同时间节点的相关生物力学特性结果来看,自-异体混编肌腱组的移植极限负荷及刚度均大于异体肌腱组,提示应用自-异体混编肌腱重建 ACL 在移植物的成熟和塑型等方面优于单纯应用异体肌腱。分析原因:①可能是混编组中自体肌腱的存在,可提供大量的活性腱细胞,可直接加快移植物的成熟、塑型过程;②自体肌腱更有利于多种促进韧带成熟的生长因子如血管内皮生长因子及转化生长因子-β 等表达<sup>[8]</sup>。而对于应用异体肌腱重建 ACL,可能存在成熟、塑型缓慢及腱-骨界面愈合不佳的问题。虽然异体肌腱通过了深低温处理,但不可能完全去除其免疫原性,移植术与受体之间存在一定的排斥反应,同时深低温处理后直接导致异体肌腱中的活性腱细

胞失活,直接影响移植物的成熟、塑型过程。

拉伸长度可以间接地反应 ACL 重建后移植抗拉伸应力、应变的能力。张远鹰等<sup>[9]</sup>通过尸体标本实验得出 ACL 在应力状态下有典型的松弛、蠕变现象,这种现象是因为 ACL 具有粘弹性特性。ACL 的粘弹性特性在膝关节的运动中有重要的缓冲作用,能够极大地减少 ACL 损伤的风险。因此在 ACL 重建手术时,移植术也需要具备良好的粘弹性特性。分析移植术拉伸长度指标显示,自-异体混编肌腱组术后不同时间节点的移植术拉伸长度均低于异体肌腱组。这说明在对抗拉伸应力方面,自-异体混编肌腱相对于异体肌腱应变小,抗拉强度更具优势。

术后 3、8 周,混编组及异体组样本的毁损模式多为移植术从骨隧道拔出,这说明在术后 3、8 周时间段,移植术与骨隧道之间的腱-骨愈合程度较差,不足以对抗较大的拉伸应力。术后 12、24 周两组移植术则多表现为移植术的关节腔内实质部分断裂,提示随着腱-骨界面的愈合不断加强,对抗拉伸应力的能力亦不断提升。

进一步分析实验结果显示混编组及异体组均表现出同样规律,即随着术后时间的延长,移植术的生物力学特征也不断变化,总的过程可视为移植术的极限负荷及刚度由强急剧减弱再逐渐增强。袁锋等<sup>[10]</sup>用犬的自体肌腱重建 ACL 模型亦发现同样规律。究其原因,可能与移植术的组织学愈合过程有关。移植术组织学愈合需要经历缺血坏死炎症期、再血管化过程、成纤维细胞增殖和植入期以及韧带的塑型改造期,最终才能成为类似于 ACL 生物特性的替代韧带<sup>[11]</sup>。邓亚开、吴继云等<sup>[3-4]</sup>通过基础研究发现,移植术组织学愈合经历的四期变化主要在 3、8、12、24 周,与本次实验生物力学变化时间相吻合,可有效地解释这一变化过程。

通过对本次动物实验研究提示应用自-异体混编肌腱重建 ACL 在生物力学特性方面较单纯使用异体肌腱优势明显,为临床使用自-异体混编肌腱重建 ACL 提供一定的理论依据。同时清晰地认识 ACL 重建术移植术的生物力学特性变化规律,特别是移植术的极限负荷以及刚度在不同时间节点的变化,对于指导应用此种移植术重建膝关节 ACL 的患者术后康复有一定的积极意义。

本次实验尚存在不足,主要在于:①未行兔 ACL 生物力学方面测试,缺少正常 ACL 与移植术之间的比较;②观察时间较为局限,终止在重建 ACL 术后 24 周,未能进一步延长观察时间,未能充分了

解生物力学特性何时达到峰值以及趋于平稳; ③ 实验建立的为兔子前交叉重建模型, 故所得实验结果可能与人膝关节 ACL 重建术后生物力学指标的变化存在差异。

### 参考文献

- [1] Piontek T, Ciemiewska-Gorzela K, Szulc A, et al. Arthroscopically assisted combined anterior and posterior cruciate ligament reconstruction with autologous hamstring grafts-isokinetic assessment with control group [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82462.
- [2] 许沛荣, 陈伟南, 金根洋, 等. 关节镜下自体-同种异体混编肌腱重建前交叉韧带的临床疗效分析 [J]. *实用临床医药杂志*, 2013, 17(9): 37-9, +43.
- [3] 邓亚开, 陈伟南, 何俊山, 等. 混编肌腱重建兔膝前交叉韧带关节腔内愈合的组织学研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2016, 24(22): 2093-8.
- [4] 吴继云, 陈伟南, 邓亚开, 等. 自体-异体混编肌腱重建前交叉韧带移植骨愈合的实验研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2015, 23(24): 2283-8.
- [5] Lee Y S, Han S H, Kim J H. A biomechanical comparison of tibial back side fixation between suspensory and expansion mechanisms in trans-tibial posterior cruciate ligament reconstruction [J]. *Knee*, 2012, 19(1): 55-9.
- [6] Monaco E, Labianca L, Speranza A, et al. Biomechanical evaluation of different anterior cruciate ligament fixation techniques for hamstring graft [J]. *J Orthop Sci*, 2010, 15(1): 125-31.
- [7] Sun L, Wu B, Tian M, et al. Comparison of graft healing in anterior cruciate ligament reconstruction with and without a preserved remnant in rabbits [J]. *Knee*, 2013, 20(6): 537-44.
- [8] Wei X, Mao Z, Hou Y, et al. Local administration of TGFbeta-1/VEGF165 gene-transduced bone mesenchymal stem cells for Achilles allograft replacement of the anterior cruciate ligament in rabbits [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 406(2): 204-10.
- [9] 张远鹰, 王雪晖, 应洪亮, 等. 前交叉韧带粘弹性特性的实验研究 [J]. *中国生物医学工程学报*, 2007, 26(2): 260-4.
- [10] 袁 锋, 赵金忠, 皇甫小桥, 等. 自体肌腱重建前交叉韧带后的生物力学转归 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(33): 101-3.
- [11] Muller B, Bowman K F Jr, Bedi A. ACL graft healing and biology [J]. *Clin Sports Med*, 2013, 32(1): 93-109.

## Biomechanical analysis of application of auto/allo-graft reconstruction of the anterior cruciate ligament in rabbits

Xie Ying<sup>1</sup>, He Junshan<sup>2</sup>, Wang Yadong<sup>1</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Orthopedics, Wuxi Clinical School of Anhui Medical University, Wuxi 214004;

<sup>2</sup>Dept of Orthopedics, 101st Hospital of Chinese People's Liberation Army, Wuxi 214004)

**Abstract Objective** To compare the differences of biomechanical properties between using auto/allo-graft and allo-graft in anterior cruciate ligament(ACL) reconstruction in rabbits. **Methods** 40 rabbits were randomly divided into auto/allo-graft group and allo-graft group( $n=20$ ), 4 time node (3, 8, 12, 24 weeks), the number of samples at each time point was 5. The right knee joint underwent ACL reconstruction. Auto-graft and allo-graft mixed woven was used in auto/allo-graft group but allo-graft group completely used allograft tendon. Five rabbits in each group were killed at 3, 8, 12 and 24 weeks after operation. The specimens were taken from the right knee joint, and the uniaxial tensile experiment was carried out and the experimental data were analyzed statistically. **Results** After 3, 8, 12, 24 weeks, the tensile test of specimens showed that the limited load and stiffness of auto/allo-graft group were higher than the allo-graft group, but the stretched length of auto/allo-graft group were lower than the allo-graft group, the difference between the two groups were statistically significant( $P < 0.05$ ). 3, 8 weeks after operation, the damaged mode of two groups were mostly represent the graft pull out the tunnel, but 12, 24 weeks after operation in two groups were more substantial graft rupture. There was no significant difference in Fisher exact test at 4 time points. **Conclusion** The reconstruction of ACL, the auto/allo-graft is better than the allo-graft in biomechanical properties.

**Key word** anterior cruciate ligament; auto/allo-graft; allo-woven-graft; biomechanics