

临床研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.01.021

涂有 rhBMP-2 的克氏针对长管状骨骨折愈合作用的影响

邹 刚, 吴术红, 刘 毅, 熊华章, 王小艳

(遵义医学院附属医院骨一科, 遵义 563003)

【摘要】目的:观察涂有重组人骨形态发生蛋白-2(recombinant human bone morphogenetic protein 2, rhBMP-2)克氏针对骨折愈合影响。**方法:**36 只新西南大白兔, 随机分成两组, 在其双侧胫骨制作骨折模型, 扩髓, 实验组胫骨骨折髓腔内插入 rhBMP-2/左消旋聚乳酸(poly-D, L-lactide, PDLLA)涂层的克氏针固定骨折, 对照组髓腔内插入单纯 PDLLA 涂层的克氏针固定骨折, 术后分别于 4、8、12 周处死大白兔, 取胫骨骨折标本进行骨形态学分析和生物力学测定, 比较两组骨折处新骨形成、生物力学情况。**结果:**实验组新骨形成优于对照组; 实验组断裂应力、最大应力高于对照组($P<0.05$)。**结论:**rhBMP-2、PDLLA 混合后涂抹在克氏针表面来固定骨折, 随着 PDLLA 降解, 缓慢释放 rhBMP-2, 促进骨折愈合, 缩短骨折愈合时间。

【关键词】涂层; 重组人骨形态发生蛋白-2(rhBMP-2); 克氏针; 骨折愈合

【中国图书分类法分类号】R322.7⁺¹

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-21

Effects of rhBMP-2-coated Kirschner wire on the recovery of long tubal bone fracture

ZOU Gang, WU Shuhong, LIU Yi, XIONG Huazhang, WANG Xiaoyan

(Department of Orthopaedics, the Affiliated Hospital, Zunyi Medical College)

【Abstract】Objective: To observe the effects of rhBMP-2-coated Kirschner wire on the recovery of long tubal bone fracture. **Methods:** Totally 36 new southwest big white rabbits were randomly divided into two groups. Kirschner wire coated with rhBMP-2/poly-D, L-lactide(PDLLA) was inserted into the medullary cavity of fractured tibia in experimental group while Kirschner wire coated with only PDLLA was inserted into the medullary cavity in control group. Bone morphology and bending strength were analyzed and measured at 4, 8, 12 weeks postoperatively. **Results:** Osteogenesis was better in experimental group compared with that in control group; fracture stress and maximum stress were higher in experimental group compared with those in control group($P<0.05$). **Conclusions:** Kirschner wire coated with rhBMP-2 and PDLLA can promote the bone fracture recovery and shorten the fracture recovery time with the dissolution of PDLLA and release of rhBMP-2.

【Key words】coating; recombinant human bone morphogenetic protein-2(rhBMP-2); Kirschner wire; fracture recovery

临床上对长管状骨骨折不愈合的治疗较为棘手。国内外学者不断的寻找新方法以促进骨折的愈合。重组人骨形态发生蛋白-2(recombinant human bone morphogenetic protein 2, rhBMP-2)是一种高效的骨诱导生长因子。研究证明^[1-2]左消旋聚乳酸(poly-D, L-lactide, PDLLA)作为载体与 rhBMP-2 复合后治疗骨缺损, 有较好骨缺损修复能力。本研究将复合材料 rhBMP-2/PDLLA 涂层在克氏针上, 应用于兔长管状骨骨折的治疗, 观察涂有 rhBMP-2 克氏针固定骨折后骨折愈合情况。

作者介绍: 邹 刚, Email: 390351002@qq.com,

研究方向: 四肢创伤。

通信作者: 吴术红, Email: 3226@163.com。

基金项目: 遵义医学院硕士启动基金资助项目(编号: 200738)。

1 材料与方法

1.1 实验材料

新西南大白兔 36 只(8 月龄), 体质量 2.5~3.0 kg, 雌(无孕)雄各半, 遵义医学院动物实验中心提供。PDLLA, 济南岱罡生物技术有限公司生产。rhBMP-2 由中国军事医学科学院基础医学研究所提供。乙酸乙酯, 佛山南海今佳贸易有限公司提供。主要仪器: 微量天平, 上海先悦衡器设备有限公司提供。WD-D/E 微型机控电子万能实验机, 广州市光精密仪器有限公司提供。

1.2 实验步骤

1.2.1 利用涂层技术制备结合 rhBMP-2/PDLLA 的髓内针方法: 术前 1 d, 无菌条件下、常温下将 rhBMP-2、PDLLA 按照一定质量比例(1:10)混合后溶解于乙酸乙酯溶液中, 将无菌的不锈钢克氏针(直径 2 mm、长度 6.5 cm)充分浸泡于上

诉溶液中,取出,无菌条件下晾干,再将克氏针放回溶液中浸泡,再取出晾干,重复上述过程 5 次。将单纯的 PDLLA 溶解于乙酸乙酯溶液中,按照上述涂层方法制备单纯 PDLLA 涂层的克氏针,每根涂好 rhBMP-2/PDLLA 的克氏针 rhBMP-2 的含量为 0.6 mg,涂层后克氏针的直径 2.1 mm,将涂布有 rhBMP-2/PDLLA、PDLLA 的克氏针于无菌条件下储存备用。

1.2.2 骨折模型的制作与固定 将实验兔子随机分为两组,麻醉:氯氨酮(0.1 g/kg)肌肉注射麻醉后,术区去毛、消毒手术野、铺无菌巾,取双后腿中下段前内侧作纵形切口,右为实验组,左为对照组,逐层切开皮肤、皮下组织,显露胫骨中下段,线锯锯断胫骨中下段制作骨折-骨缺损(约 2 mm)模型,于胫骨近端纵行切开显露胫骨平台前斜坡处,沿胫骨纵轴方向戳孔、扩髓(用直径 2.2 mm 的克氏针扩髓,避免克氏针插入髓腔时因摩擦使 rhBMP-2/PDLLA、PDLLA 丢失),实验组 A:骨折髓腔内插入结合 rhBMP-2/PDLLA 克氏针;对照组 B:骨折髓腔内插入单纯 PDLLA 涂层的克氏针。检查骨折复位固定满意,缝合切口,包扎伤口,术后苏醒,观察、饲养,术后用青霉素(20 万 U/kg)肌肉注射预防感染 3 d。

1.3 检测项目

术后第 4、8、12 周,用空气栓塞法处死兔子,分别检测。

1.3.1 肉眼观察与 X 线检查 每组随机取 6 只胫骨标本,肉眼观察并拍摄胫骨骨折部位(保留克氏针)的正侧位 X 线片,观察骨折愈合。

1.3.2 生物力学测定 取出 1.3.1 胫骨标本克氏针,做 3 点弯曲实验测量骨折部位的生物力学。

1.3.3 组织切片 每组取 6 只胫骨标本,固定、包埋,切片,HE 染色,显微镜下观察,拍照,观察骨折部位成骨细胞、骨小梁情况。

1.4 统计学处理方法

实验数据采用 SPSS 16.0 进行数据处理。计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,方差齐,两组数据比较用两独立样本 t 检验;方差不齐采用非参数检验。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧),以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

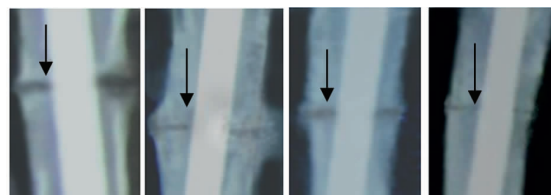
2.1 观察肉眼标本、X 片检查

肉眼观察及 X 线片检查结果,第 4 周,对照组骨折、骨缺损存在,见极少骨痂生长;实验组骨折周围见骨痂生长,骨缺损被骨痂填充变窄。第 8 周,对照组骨折线可见,可见骨痂生长,见图 1A;实验组骨折线模糊,骨折处大部分骨连接,见图 1B。第 12 周,对照组骨折线模糊,可见骨痂生长,骨折处见少量骨连接,见图 1C;实验组骨折线消失,骨折完全骨性连接,见图 1D。实验组骨痂形成、骨折愈合优于对照组,实验组骨折愈合时间早。

2.2 骨折部位的组织切片

第 4 周,对照组,成骨细胞稀疏,血管少(图 2A);实验组病理切片,成骨细胞多、密集,血管丰富(图 2B)。第 8 周,对照组成骨细胞开始增多、密集,无骨小梁形成;实验组,成骨细胞多、密集,有骨小梁形成。第 12 周,对照组骨小梁少,排

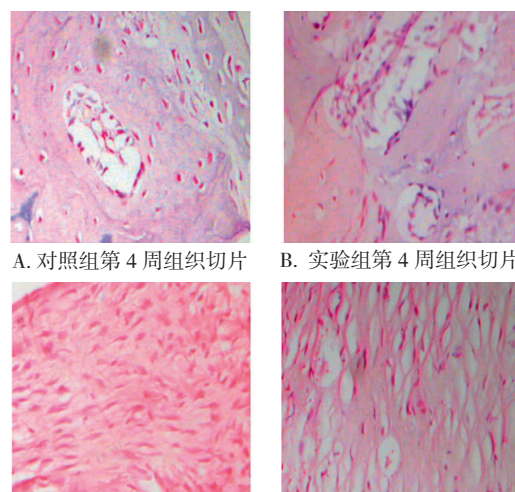
列紊乱、无序(图 2C);实验组骨小梁多,排列紧密、规则,纵横交连(图 2D)。实验组骨折的愈合、塑形早于对照组。



A. 对照组 第 8 周 X 片 B. 实验组 第 8 周 X 片 C. 对照组 第 12 周 X 片 D. 实验组 第 12 周 X 片
箭头指示处为骨折部位

图 1 对照组与实验组第 8、12 周 X 片

Fig.1 X-ray film of fracture sites in experimental group and control group at the 8th and 12th week



A. 对照组第 4 周组织切片 B. 实验组第 4 周组织切片 C. 对照组第 12 周组织切片 D. 实验组第 12 周组织切片

图 2 对照组与实验组第 4、12 周骨折部位组织切片 (HE, 20 $\times$)

Fig.2 Tissue sections of fracture sites in experimental group and control group at the 4th and 12th week (HE, 20 $\times$)

2.3 生物力学测定断裂应力、最大应力(表 1)

表 1 生物力学测定断裂应力、最大应力

Tab.1 Comparison of fracture stress and maximum stress between experimental group and control group

实验阶段	实验项目	分组	例数 (n)	$\bar{x} \pm s$	T 值 ^a	P 值
第 4 周	断裂应力	对照组	6	1.835 $\pm$ 0.591	24.00	0.016
		实验组	6	2.801 $\pm$ 0.538		
	最大应力	对照组	6	2.460 $\pm$ 0.436	25.00	0.025
		实验组	6	3.456 $\pm$ 0.677		
第 8 周	断裂应力	对照组	6	2.884 $\pm$ 0.734	25.00	0.025
		实验组	6	4.159 $\pm$ 0.762		
	最大应力	对照组	6	3.663 $\pm$ 0.895	24.00	0.016
		实验组	6	4.932 $\pm$ 0.635		
第 12 周	断裂应力	对照组	6	4.549 $\pm$ 0.454	21.00	0.004
		实验组	6	5.921 $\pm$ 0.557		
	最大应力	对照组	6	6.398 $\pm$ 0.625	24.00	0.016
		实验组	6	7.387 $\pm$ 0.498		

注:a.统计方法采用 Wilcoxon W 检验,检验统计量为 T 值

第 4、8、12 周两组的断裂应力、最大应力作方差齐性检验 $P < 0.05$, 方差不齐, 采用 Wilcoxon W 检验。在检验水准为 α (双侧) = 0.05, $P \leq 0.05$, 有统计学意义。可认为分别在第 4、8、12 周时实验组断裂应力、最大应力大于对照组, 第 4、8、12 周实验组再断裂的外力大于对照组, 实验组骨折愈合的力学稳定性好。

3 讨论

研究表明 rhBMP-2 具有明显的诱导成骨活性, 从 Urist^[3]提出诱导成骨以来, 在修复骨质缺损和促进骨折愈合方面 rhBMP-2 的作用最强得到证实^[4-6], rhBMP-2 是一类特殊的骨生长因子, 能在体内外诱导骨的生成, rhBMP-2 在不同的动物模型的不同部位可成功地诱导骨的生成, 单纯 rhBMP-2 在体内扩散快, 易被蛋白酶降解, 不能持续稳定发挥诱导成骨, 因此要有载体承载并使之缓慢释放, rhBMP-2 释放的量和速度尽可能与骨折愈合同步, 持续诱导成骨且新形成的骨与自然形成骨在生物力学上具有相同的力学性能^[7]。

本实验成功的关键是 rhBMP-2/PDLLA 涂层的克氏针固定骨折后, rhBMP-2 能否发挥诱导成骨, rhBMP-2 发挥诱导成骨作用的关键是 rhBMP-2 在骨折局部浓度及其持续作用的时间。因此, 在获得了高纯度、高活性的 rhBMP-2 后, 适宜载体的选择对于最大发挥 rhBMP-2 骨诱导非常重要。Schmidmaier 等^[8]认为 PLLA 具有良好的组织相容、生物降解特性, 并且 PLLA 降解吸收时间可由分子量控制^[9], 本实验采用分子量为 6 万的 PLLA, 有望在 90 d 内完全降解, 不发生免疫反应, 对骨折愈合干扰极小, 是当前使用较多的骨修复材料的载体。本实验将 PLLA、rhBMP-2 按照比例溶解于乙酸乙酯中, 使 rhBMP-2、PLLA 能充分均匀混合, 且不会改变 rhBMP-2 活性^[10], 有利于骨折愈合诱导物质 (rhBMP-2) 均匀涂布在中心内固定物克氏针上, 用涂有 rhBMP-2 的克氏针固定骨折, 实验后第 4、8、12 周取出克氏针见针上残留的 rhBMP-2/PDLLA 涂层逐渐变少, 第 12 周时基本消失, 第 4、8 周时, 实验组骨折周围形成新骨多于对照组, 第 8 周时实验组新骨形成的量达到了顶峰, 对照组开始有新骨形成; 到第 12 周时, 实验组的成骨已完成, 对照组的成骨仍在进行, 上述变化说明涂在克氏针上的 rhBMP-2 能够缓慢持续释放, 本实验用髓内固定, 适度的轴向固定可提高骨组织的强度和刚度^[11], 同时

rhBMP-2 在相对闭合局部环境, 可维持 rhBMP-2 在骨折局部的浓度, 避免异位骨化。本实验观察到实验组有丰富的毛细血管生成, 与 rhBMP-2 促进血管内皮细胞增生的重要介质血管内皮生长因子的表达有关^[12], 利于 rhBMP-2 诱导成骨, 上述变化提示涂有 rhBMP-2 的克氏针固定长管状骨骨折有早期成骨的作用, 能使骨折愈合峰期提前。

本实验将 rhBMP-2、PLLA 溶解于乙酸乙酯中, 利用 PLLA 的黏附能力将 rhBMP-2 涂敷在克氏针上, 髓内固定骨折, 随着 PLLA 降解同时缓慢释放 rhBMP-2, 维持 rhBMP-2 在骨折局部的浓度, 为骨折愈合提供稳定的生物力学环境^[13], 利于 rhBMP-2 诱导成骨, 同时通过固定物上涂有的 rhBMP-2 的缓慢持续释放, 促进骨折的愈合。以 PLLA 为 rhBMP-2 的载体, 将 rhBMP-2/PLLA 涂在克氏针上治疗长管状骨骨折, 髓内中心稳定固定, 缓慢释放 rhBMP-2, 为骨折提供稳定力学环境同时改变骨折局部生物学环境, 促进骨折愈合, 并缩短骨折愈合时间。这类研究有望扩展 rhBMP-2 的临床用途, 为长管状骨骨折不愈合或延迟愈合提供新的治疗方法, 预防治疗骨折不愈合。

参考文献

- [1] 罗恩, 周立伟, 魏世成, 等. 聚 D, L 乳酸螺钉复合骨形成蛋白行骨折内固定的实验研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2003, 21(6): 422-444.
- [2] Luo E, Zhou L W, Wei S C, et al. Poly D, L lactic acid screws composite of bone morphogenetic protein line fracture fixation experimental study [J]. West China Journal of Stomatology, 2003, 21(6): 422-444.
- [3] 蒋月桂, 宋健玲, 王宝彦, 等. rhBMP-2/HA/Co 复合材料异位诱导成骨中钙含量的检测[J]. 口腔医学, 2010, 30(11): 652-654.
- [4] Jiang Y G, Song J L, Wang B Y, et al. RhBMP-2/HA/Co composite materials ectopic bone induced the calcium content of the detection[J]. Stomatology, 2010, 30(11): 652-654.
- [5] Urist M R. Bone formation by auto induction[J]. Science, 1965, 150: 893-899.
- [6] 王岩, 陈国栋, 庞天舒. SIM 对人骨形态发生蛋白-2 诱导成骨的 X 线学研究[J]. 中国实用医药, 2011, 6(2): 31-32.
- [7] Wang Y, Chen G D, Pang T S. SIM human bone morphogenetic protein-2 induces osteoblast X-ray studies[J]. China Practical Medicine, 2011, 6(2): 31-32.
- [8] Visser R, Arrabal P M, Becerra J, et al. The effect of an rhBMP-2 absorbable collagen sponge-targeted system on bone formation in vivo [J]. Biomaterials, 2009, 30(11): 2032-2037.
- [9] 胥少汀, 葛宝丰, 徐印坎. 实用骨科学[M]. 3 版, 北京: 人民军医出版社, 2007: 340-342.

临床研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.01.022

自体皮片游离植皮术在难愈性创面治疗中的疗效观察

肖 亮¹, 贺光照¹, 李 晶¹, 王 灿¹, 任玉涵²

(重庆医科大学附属第一医院 1. 烧伤整形外科; 2. 感染科, 重庆 400016)

【摘要】目的:观察自体皮片游离植皮术在难愈性创面中的应用效果和价值。**方法:**选择难愈性创面患者 352 例, 经创面处理, 基础病治疗, 全身支持治疗, 创面肉芽新鲜后, 视创面部位行自体表层皮片联合中厚皮片游离植皮术, 用烧伤敷料加压包扎。**结果:**352 例患者, 322 例行一期清创植皮, 30 例行一期清创、二期植皮, 其中 340 例植皮后超过 90% 皮片存活, 创面愈合或接近愈合后出院, 12 例植皮后有小于 1/3~1/2 皮片未成活, 经换药或补植后, 创面愈合出院, 平均住院时间(16±2) d, 术后平均愈合时间(19±3) d。**结论:**自体皮片游离植皮术有助于难愈性创面愈合或提高存活率。

【关键词】难愈性创面; 自体皮片游离植皮术; 回顾性分析

【中国图书分类法分类号】R622+.1

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-13

Efficacy of autologous free skin graft in the treatment of refractory wound

XIAO Liang¹, HE Guangzhao¹, LI Jing¹, WANG Can¹, REN Yuhuan²

(1. Department of Burns and Plastic Surgery; 2. Department of Infection, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To observe the efficacy and value of applying autologous free skin graft in the treatment of refractory wound. **Methods:** Totally 352 patients with refractory wound were selected. Wound treatment, basic disease treatment and systemic support were performed until the granulation became fresh. Autologous free skin graft (the surface layer and middle thick layer) was provided

作者介绍: 肖 亮, Email: 459516565@qq.com,

研究方向: 创面不愈与瘢痕防治。

通信作者: 贺光照, Email: glenghz@yahoo.com.cn。

Xu S T, Ge B F, Xu Y K. Practical bone science[M]. 3rd ed. Beijing: People's Military Medical Press, 2007: 340-342.

[7] Wu Z X, Liu D, Wan S Y, et al. Sustained-release rhBMP-2 increased bone mass and bone strength in an ovine model of postmenopausal osteoporosis[J]. J Orthop Sci, 2011, 16(1): 99-104.

[8] Schmidmaier G, Wildmann B, Bail H, et al. Local application of growth factors from a biodegradable poly(D, L-lactide) coating of osseosynthetic implants accelerates fracture healing in rats[J]. Bone, 2001, 28: 341-350.

[9] 刘海鹏, 荣 莉, 赵自然, 等. 聚左旋乳酸可吸收螺钉型接骨板在体内降解特性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(36): 7105-7109.

Liu H P, Rong L, Zhao Z R, et al. Poly-L-lactic acid can absorb the screw plate type in the body degradation characteristics [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2008, 12(36): 7105-7109.

[10] 计 艳, 胡勤刚, 童 昕, 等. 新型种植体涂层材料 PDLLA/rhBMP-2 诱导成骨作用的观察[J]. 口腔医学研究杂志, 2009, 25(1): 4-7.

Ji Y, Hu Q G, Tong X, et al. New implant coating material PDLLA/

rhBMP-2 induced bone formation observed[J]. Oral medicine research magazine, 2009, 25(1): 4-7.

[11] Epari D R, Kass J P, Schell H, et al. Timely fracture-healing requires optimization of axial fixation stability[J]. J Bone Joint Surg Am, 2007, 89(7): 1575-1585.

[12] 洪 涛, 常 祺, 黄常林, 等. 联合应用 rhBMP-2 与 bFGF 对兔骨髓基质细胞表达 VEGF 及其成骨潜能的影响[J]. 中医正骨, 2009, 21(3): 6-9.

Hong T, Chang Q, Huang C L, et al. The combined application of rhBMP-2 and bFGF of rabbit bone marrow stromal cells expressed VEGF and osteogenic potential of influence[J]. The Journal of Traditional Chinese Orthopaedics and Traumatology, 2009, 21(3): 6-9.

[13] Ruedi T P, Buckley R E, Moran C G. 骨折治疗的 AO 原则[M]. 危杰, 刘 潘, 吴新宝, 等, 译. 北京: 华夏出版社, 2006: 526-527.

Ruedi T P, Buckley R E, Moran C G. AO principles of fracture treatment [M]. Wei J, Liu P, Wu X B, et al, translated. Beijing: Huaxia Press, 2006: 526-527.

(责任编辑: 关蕴良)