

不同分子量透明质酸钠防止屈肌腱粘连作用的比较

漏德宝(上海 200235 上海市第八人民医院)

摘要 目的:以鸡爪为动物模型,研究不同分子量的透明质酸钠(Sodium hyaluronate product;以下简称 SHP),对防止肌腱粘连的不同作用。方法:72 只莱亨鸡分成实验组 A、B、C 和对照组 D,每组又根据术后时间不同分为 3 周、5 周、8 周三组($n=6$);实验手术斜坡形横断左足第 II 趾屈趾深肌腱,鞘管内注射不同分子量的 SHP,A 组分子量为 250 万,B 组为 100 万,C 组为 50 万,对照组为生理盐水。结果:经生物力学测定和粘连范围病理组织学评分,实验组 A、B 与对照组 D 有显著性差异($P<0.01$),而实验组 C 和对照组 D 无显著性差异($P\geq 0.01$)。结论:不同分子量的 SHP 防止肌腱粘连的作用不同;分子量大于 100 万的 SHP 具有防止粘连的作用;分子量为 50 万的 SHP 和生理盐水作用相似,不具有防止粘连的作用。

关键词 分子量;透明质酸钠;屈肌腱;粘连

Protecting Flexor Tendon from Adhering by Sodium Hyaluronate Products with Different Molecular Weight

Lou Debao(Shanghai 8th People's Hospital, Shanghai 200235)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To explore the effect of sodium hyaluronate products (SHPs) with different molecular weight (Mol Wt) in preventing adhesion formation in a surgically prepared chicken flexor tendon model. **METHOD:** 72 chickens were divided into four

groups: group A,B,C were study groups and group D was used as a control. Each group was further divided into three subgroups- 3 week group,5 week group and 8 week group based on the postoperative time. For intrathecal injection with SHPs the deep muscle tendon in the chicken's third digit were transected. The chickens in group A, B, C were injected with SHPs with the Mol Wt of 2.5 million,1 million and 0.5 million, respectively, and those in the control group were injected with saline. **RESULTS:** Adhesion scopes measured by pathologically histological scoring in group A and B were not wider than those in the control group ($P < 0.01$), whereas those in group C were not different to the control group($P \geq 0.01$). **CONCLUSION:** SHPs with different Mol Wt had different effects on adhesion of chicken (muscle) tendon. SHPs with Mol Wt equal to or more than 1 million protected chicken's tendon from adhering, whereas SHP with molecular weight of 0.5 million did not, like saline.

KEY WORDS molecular weight, sodium hyaluronate products, flexor tendon, adhesion

透明质酸钠(Sodium hyaluronate product; SHP)具有防止肌腱粘连的作用,已被公认。但不同分子量的SHP,防止粘连作用是否有区别,有何区别并不明确。本实验旨在观察不同分子量的SHP防止肌腱粘连的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物:雌性健康莱亨鸡 72 只,体重 2.0 ~ 3.0 Kg。随机分成实验 A、B、C 组和对照组 D,每组又根据术后时间不同分为 3 周、5 周、8 周三组,每组 6 只。

1.2 试验材料:1%SHP 由杭州嘉伟生物制品有限公司生产。平均分子量为 250、100、50 万道尔顿。

1.3 手术方法:实验组以 4%戊巴比妥钠 40mg/Kg 肌注麻醉,俯卧左足后伸直固定于手术板上,常规消毒铺单。切开左足第Ⅲ趾掌侧皮肤和鞘管,游离屈趾深肌腱,斜坡形横断其周径的 2/3,再从横断处向近、远端纵向各切开 0.8cm,呈“卜”字型。再将切断的腱瓣用 7-0 无创尼龙缝线行 Becker 法缝合于原位。从切口处插入一根直径为 0.5mm 的聚乙烯导管,通过导管向鞘管内注射不同分子量的 SHP 0.5ml, A 组分子量为 250 万、B 组为 100 万、C 组为 50 万,用 9-0 尼龙缝线缝合鞘管,拔管止血缝皮。对照组注射生理盐水 0.5ml,手术和注射方法同上。术后屈曲位石膏固定 3-8 周,届时按计划处死,进行观察。右足不行手术,为健康足。

1.4 检测方法:(1)生物力学测定:实验鸡处死后,将左腿于膝关节处解脱,固定于测试台上,于足跟处分离出第Ⅲ趾的屈趾深肌腱,加以 500g 的拉力牵拉屈趾深肌腱,使鸡趾由 180° 伸直位逐渐屈曲,测量该趾远、近趾间关节和跖趾关节的屈曲角度,计算关节总屈曲角度,与右足相应健康趾比较,求其比值。同时测量肌腱滑移距离,与健康侧相比较,求其比值。(2)肉眼观察:以肉眼和显微镜观察术后肌腱粘连和愈合状况。(3)肌腱粘连范围测量:标本取材后,10%福尔马林固定,石蜡包埋,常规切片,HE 染色。光镜下按 Nyska 氏法评分测定肌腱与周围腱鞘的粘连范围。肌腱与周围腱鞘未粘连为 0 分;肌腱周径的 1/4 以下与腱鞘粘连为 1 分;肌腱周径的 1/4 ~ 1/2 与腱鞘粘连为 2 分;肌腱周径的 1/2 以上与腱鞘粘连为 3 分。

1.5 透射电镜观察:动物处死后立即切取腱吻合部,3%戊二醛固定,超薄切片。

2 结果

2.1 趾关节总屈曲度比值(表 1)

表 1 左/右趾关节总屈曲角度比值($\bar{x} \pm s$)

分组	3 周	5 周	8 周
实验组 A	0.86 ± 0.05**	0.89 ± 0.08**	0.92 ± 0.11**
实验组 B	0.81 ± 0.04**	0.83 ± 0.07**	0.86 ± 0.09**
实验组 C	0.51 ± 0.05*	0.49 ± 0.08*	0.45 ± 0.10*
对照组 D	0.49 ± 0.06	0.46 ± 0.08	0.44 ± 0.10

实验组与对照组比较 * $P \geq 0.01$ ** $P < 0.01$

2.2 肌腱滑移距离比值(表 2)

表 2 左/右屈趾深肌腱滑移距离比值($\bar{x} \pm s$)

分组	3 周	5 周	8 周
实验组 A	0.83 ± 0.04**	0.89 ± 0.05**	0.94 ± 0.05**
实验组 B	0.80 ± 0.04**	0.86 ± 0.05**	0.92 ± 0.05**
实验组 C	0.46 ± 0.03*	0.51 ± 0.03*	0.52 ± 0.04*
对照组 D	0.45 ± 0.02	0.50 ± 0.03	0.51 ± 0.04

实验组与对照组比较 * $P \geq 0.01$ ** $P < 0.01$

2.3 肉眼观察:实验组 A、B 3 周时腱周可见透明薄膜包绕,此膜两端与腱鞘相延续,薄膜下腱周间隙有少量滑液样液体。腱吻合处略膨大,表面光滑,与周围组织无粘连或轻微疏松粘连。5 周时可见透明薄膜增厚,类似腱鞘,其余接近正常。8 周时已类似正常结构。

实验组 C、对照组 D 3 周时腱吻合处可见膜样粘连,致密,钝性分离较困难。

5 周时吻合处包裹于周围组织中,肌腱与腱周组织分界不清。8 周时吻合处粘连略减轻,但切口部位粘连仍紧密。

2.4 肌腱粘连范围病理组织学评分(表 3)

表 3 左屈趾深肌腱粘连范围病理学评分($\bar{x} \pm s$)

分组	3 周	5 周	8 周
实验组 A	0.36 ± 0.07**	0.30 ± 0.04**	0.26 ± 0.03**
实验组 B	0.35 ± 0.06**	0.32 ± 0.05**	0.28 ± 0.04**
实验组 C	2.18 ± 0.22*	2.65 ± 0.21*	2.58 ± 0.19*
对照组 D	2.19 ± 0.21	2.63 ± 0.19	2.59 ± 0.18

实验组与对照组比较 * $P \geq 0.01$ ** $P < 0.01$

2.5 透射电镜观察:术后 3 周可见腱细胞增生,核大、圆,常染色质增多,偶见双核。细胞器成分多,见大量增生扩张的粗面内质网、线粒体和溶酶体。血管内皮细胞增生,突入管腔。胶原纤维排列紊乱,周期性横纹模糊。术后 8 周可见腱细胞及胶原纤维排列较规则,细胞较纤细,核呈长杆状,细胞器较前减少,胶原纤维结构清楚,周期性横纹明显。在超微

结构中四组间均未见明显差异。

3 讨论

实验结果分析 大体标本肉眼观察屈肌腱粘连情况,实验组 A、B 粘连无或轻微,实验组 C、对照组 D 粘连致密。粘连范围病理组织学评分,实验组 A、B 与对照组 D 有显著性差异($P < 0.01$),实验组 C 与对照组 D 无显著性差异($P \geq 0.01$)。实验组 A、B 3 周时腱周可见透明薄膜包绕,5 周可见透明薄膜增厚,类似腱鞘,8 周时,已类似正常结构。实验组 C、对照组 D 3 周时可见膜样粘连,5 周时吻合处组织分界不清,8 周时粘连略减轻,但粘连仍紧密。生物力学测定结果表明,肌腱滑移距离比值越大,趾关节总屈曲度比值也越大,则粘连越轻,反之越重。以上结果可以推测分子量超过 100 万的 SHP 具有防止粘连的作用,分子量低于 50 万的 SHP 不具有防止粘连的作用。

高分子量透明质酸钠防止肌腱粘连机理的探讨 SHP 是透明质酸的钠盐形式,具有透明质酸的一切生物特性。透明质酸是由 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰氨基葡萄糖构成的双糖为基本单位,重复连接而成的直链粘多糖。根据直链长短不同,分子量大小不等,在溶液中分子链能任意盘卷形成连续不断的三维空间网络。这种网络结构有许多生理功能:润滑、阻隔、支撑及分子筛样作用。SHP 的分子量越大,一个分子所占的容积范围就越大,其物理阻隔作用和润滑作用就越强。

在正常情况下,透明质酸对肌腱的作用为保证营养物质渗透并促进肌腱在腱鞘内滑动。在肌腱损伤时,有促进肌腱内源性愈合,减少外源性粘连的作用,其作用机理为:(1)促进内源性愈合机制^[1,2]。透明质酸可与纤维母细胞上的透明质酸结合蛋白结合,使纤维母细胞表现出运动活性,向肌腱损伤处移行,参与愈合。它有保证营养物质渗透作用,为损伤处腱细胞增生并合成、分泌胶原提供充足营养。(2)抑制

外源性粘连机制。高浓度、高分子量的透明质酸可以抑制粒细胞的吞噬和游走,从而抑制炎症反应,减少粘连形成^[2]。透明质酸还有生物屏障作用,它存在于损伤肌腱与腱周组织之间,阻碍外源性组织细胞与肌腱损伤处接触,减少粘连形成,这与透明质酸的溶变学特性有关,包括粘度、弹性及假鞘形成特性。SHP 具有良好的生物相容性,它可以恢复关节液及关节组织基质流变学内环境的恒定,增强机械性润滑,缓解滑膜炎,恢复透明质酸分泌功能,减轻软骨破坏和关节粘连,改善关节功能^[3]。

本实验证实分子量大于 100 万的 SHP 具有防止粘连的作用,分子量为 50 万的 SHP 和生理盐水作用相似,不具有防止粘连的作用。SHP 的有效作用浓度,意见不一。一些学者认为 SHP 的高分子量、高浓度剂型在鞘管中的降解速率较慢,疗效持续时间较长^[4,5]。本实验浓度为 10 mg/ml,证明有效。

参考文献

- 1 Gaughan E M. Effects of sodium hyaluronate on tendon healing and adhesion formation in horses. *Am J Vet Res*.1999,52 (5):764.
- 2 David Amiel: Hyaluronan in flexor tendon repair. *The Journal of Hand Surgery*.1999,14 A(5):837.
- 3 Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. *J Rheumatol*, 1993,20 Suppl:3.
- 4 Hagberg L, Gerding B. sodium hyaluronate as an adjunct in adhesion prevention after flexor tendon surgery in rabbits. *J Hand surg (Am)*, 1992,17:935.
- 5 5. Aviad AD, Houpt JB. The molecular weight of therapeutic hyaluronan (sodium hyaluronate): how significant is it? *J Rheumatol*, 1994,21:297.