兔胫骨干骺端截骨延长术骨膜成骨作用的实验研究

周建明 李起鸿 赵媛莉 （第三军医大学西南医院骨科）630038

提 要 本实验对 45 只大耳白兔行左胫骨干骺端截骨延长术。动物被分成 3 组。其中 A 组保留骨内外膜；B 组环形切除截骨端上下部分骨外膜；C 组截骨后刮除截骨端上下部分骨髓及内膜组织。所有动物延长速度为 1mm/d。结果发现 A 组延长区新骨形成和塑形快，质量好，愈合后新骨的力学性能强；B 组延长区新骨形成慢，新骨的力学性能差；C 组延长早期成骨受一定影响，后期新骨的组织形态与力学性能均接近 A 组。骨膜随缓慢牵拉同步增长，成骨十分活跃，未发生骨膜撕裂。同时，截骨术和机械牵拉可刺激和加速骨膜的成骨作用。作者认为：完整的骨膜套可为两骨端和骨膜向延长区成骨和新骨连接提供贴附生长的限制性支架，对于延长区成骨具有重要意义。在延长区骨愈合过程中，骨外膜成骨作用比骨内膜成骨作用重要。

关键词 骨增长；骨膜；骨发生；骨内膜

80 年代初，Monticelli 与李氏分别提出肢体延长新方法——经干骺端截骨延长术。许多学者在这方面做了大量的研究。但目前对骨膜在延长区的成骨作用报道尚少，本实验将对这一问题作初步探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用 4 月左右健康纯种日本大耳白兔 45 只，雌雄不限。体重 1.90～2.10kg，平均 2.0kg。按手术方式不同分 3 组，每组 15 只。

1.2 动物模型的制备

术前摄左胫骨全长 X 线片，精确测量胫骨原长度。手术于无菌条件下进行，戊巴比妥钠静脉麻醉 (30mg/kg)，在左胫骨结节稍上方和骨干中上 1/3 处交叉穿 2 组 1.5mm 克氏针，骨干中下 1/3 处穿一枚 1.5mm 克氏针。A 组：左胫骨上干骺端横行截骨，兔用半环槽式外固定器固定。B 组：环形切除截骨线上下各 0.7cm 骨外膜，截骨后固定。C 组：截骨后刮除断端上下各 0.7cm 骨髓及内膜。3 组兔术后摄 X 线片证实截骨端对位对线良好。各动物于术后第 4 天开始延长。延长速度均为 1mm/d。9 只兔延长 10 d 处死，余延长 20 d。

1.3 X 线观察及组织学标本制备

延长 3 d 时，抽 A 组 3 只兔。活体取延长区两端骨外膜及近髓腔的再生组织供电镜观察。延长 10、20 d 及停止延长 10、20 d 所有兔摄 X 线片了解胫骨延长情况及观察延长区段骨再生修复过程。各时相点每组抽 3 只取延长区骨痂及骨膜组织送组织学检查。取 3 只正常骨膜同时送检，常规光、电镜取材、制片后，分别在光镜及日本 H－300 型电镜下观察。

1.4 扭转试验

在停止延长后 20 d，每组抽 6 只行力学试验，新鲜胫骨置于力学试验机上，记录最大扭矩、扭转角及断裂部位，测量断面的几何参数，由公式计算抗扭强度及刚度。

$$Tb(\text{抗扭强度})=\frac{Mn(\text{最大扭矩})}{Wn(\text{抗扭截面模量})}$$

$$GJP(\text{抗扭刚度})=\frac{Mn\cdot l(\text{长度})}{\theta(\text{扭转角})}$$

1.5 数据处理

所有数据采用“SPMR”统计程序包，在电子计算机上行统计分析。

2 实验结果

2.1 延长度

45 只兔均顺利延长。36 只兔观察时间满 20 d 以上，延长长度为 19.0～21.3mm，延长率为 19.0%～21.3%，平均 20%。

2.2 延长区 X 线征象

A 组兔在延长 10 d 时两截骨端可见低密度骨痂影。20 d 时见片状均质骨痂影由截骨端向中央生长。第 30 天见新生骨皮质征象。第 40 天，新干骺端形成，可见完整骨皮质影。B 组兔在延长 20 d 前几乎

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

无新生骨痂征象。第 30 天骨痂影由截骨端向中央生长。第 40 天见新干骺端轮廓，但未形成连续性骨皮质。C 组兔延长 10 d 时几乎无新生骨痂征象。20 d 时见新生骨痂由截骨端向中央生长。第 30 天见新生骨皮质征象。第 40 天新干骺端初步形成，改建不如 A 组兔。

2.3 延长区组织学改变

2.3.1 骨痂组织观察

2.3.1.1 A 组兔：延长 10 d 时光镜见纤维组织及大片软骨，增生的纤维组织内有丰富的毛细血管。电镜见成纤维细胞内粗面内质网丰富。说明其合成蛋白质功能旺盛。另见少数成骨细胞。延长 20 d 时，光镜见大量骨小梁形成，小梁边缘有大量成骨细胞。电镜见成骨细胞含丰富的粗面内质网。说明成骨细胞功能活跃。第 30 天时光镜见大量排列方向较一致的骨小梁沿骨膜内缘由两端向中央生长，小梁边缘成骨细胞减少。电镜观察见骨细胞，细胞突形成，细胞器减少，核大，异染色质丰富。第 40 天时光镜见大量板层骨形成，骨小梁边缘成骨细胞明显减少。电镜见退变的骨细胞及破骨细胞。说明延长区已进入改建阶段。

2.3.1.2 B 组兔：在开始延长 20 d 内光镜见延长区以纤维组织及软骨组织居多。电镜观察到大量成纤维细胞及少数成骨细胞。第 30 天时光镜见大量骨小梁形成，小梁边缘成骨细胞多，有肌肉组织嵌入骨小梁征象。软骨组织仍多。电镜见大量功能活跃的成骨细胞。第 40 天时光镜见网状骨小梁及许多软骨组织。电镜见骨细胞。

2.3.2 骨膜组织观察

正常骨外膜再生层与骨内膜主要由骨生成细胞(Osteogenic cell)组成。细胞长梭形，核为梭形，常染色质占优势，核与细胞质比例大，胞质中有少量粗面内质网及线粒体。延长 3 d 时骨外膜再生层骨生成细胞开始发生外形变化，梭形变成椭圆形，核与细胞质比例减小，胞质较丰富。延长 10 d 时骨外膜骨生成细胞许多已转化为成骨细胞，骨内膜骨生成细胞开始分化。延长 20 d 时骨内外膜骨生成细胞大多已分化为成骨细胞，骨内膜骨生成细胞仍有未分化完全者。第 30 天成骨细胞仍多。第 40 天许多成骨细胞已转变为骨细胞。

2.4 扭转力学试验结果

2.4.1 断裂部位及形状(表 1)

18 只延长胫骨标本扭断时，A 组有 2 例不在延长区断裂，其余 4 例在延长区断裂；B 组 6 例均断在延长区；C 组 1 例非延长区断裂。

表 1 18 只骨标本扭断时断裂部位及形状

Tab 1 Area and shape in tibial of torsion test

Groups	n	Area			Shape	
		Lengthening area	Part lengthening area	Non-lengthening area	Spiral	Horizontal
A	6	4	1	1	4	2
B	6	6	——	——	1	5
C	6	5	1	——	3	3

2.4.2 测试结果(表 2)

把所测数据带进公式，计算抗扭强度及抗扭刚度，单位长度扭转角。

表 2 扭力测试结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Results of torsion test

Group	Mn (kg·cm)	Tb (g/mm²)	GJP (gcm²/度)	θ (度/cm)
A	9.51±1.70	1503.67±177.93	3807.73±206.59	2.48±0.34
B	3.58±1.06	751.38±223.52	2133.56±391.37	1.65±0.29
C	8.40±0.87	1414.90±117.08	3755.02±142.79	2.23±0.17

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

在Apple－Ⅱ型计算机上用"SPMR"统计程序包"PDA－2"程序处理所得数据，结果表明最大扭矩(Mn)、抗扭强度(Tb)、抗扭刚度(GJP)、单位长度扭转角(θ)，B组与A、C组均相差非常显著($P<0.001$)，A组与C组相差不显著($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 延长成骨方式与干骺端截骨延长的优势

A组兔在延长停止20 d时新干骺端即已形成。这与选择的截骨延长平面关系密切。干骺端骨膜下截骨对血供干扰不大，仍保持较好的成骨能力，故新骨形成速度快，质量好，其形态与原干骺端轮廓相似[1]。胫骨干骺端富含松质骨，其间除有大量毛细血管外，尚有能转化为成骨细胞的间充质细胞，故与骨干相比有更强的成骨能力[2]。A组15只兔，观察时间满20 d以上12只，延长率19.0%、20.8%，超过了Kawamura用胫骨干截骨延长后，延长度为原胫骨长度10%～15%的限度，未发生骨不连。因此，可以认为胫骨干骺端不但是截骨延长的理想平面，而且可提高肢体延长度。

骨折的修复方式有两种，即膜内成骨和软骨内成骨。肢体延长区域的骨再生修复亦由这两种方式共同完成。实验结果提示，兔胫骨干骺端截骨延长骨愈合方式为膜内成骨与软骨内成骨。从骨愈合整个过程看，软骨组织早期就已大量存在，但其骨化速度慢，形成范围仍不及膜内成骨形成范围。可以认为，干骺端截骨延长区域修复过程中，膜内成骨作用大于软骨内成骨作用。

3.2 胫骨干骺端截骨延长骨膜成骨作用

实验中观察到所有A、C组兔骨外膜均保持完整，且随着牵拉逐渐增厚，同步增长。新骨在完整的骨膜套内形成。利用完整的"骨膜袖"技术早在30年代就应用于胫骨延长，Ring，Kawamura，Korkala均指出完整的骨膜套可使血肿局限和防止软组织介入。李氏[3]在介绍胫骨干骺端截骨延长技术时就强调骨膜存在的重要性。

实验结果提示，骨外膜骨生成细胞在延长区骨修复过程中反应最早，而且随着机械牵拉，刺激骨生成细胞迅速、大量分化为成骨细胞。

切除骨外膜对延长区骨修复有很大影响。延长区纤维骨痂及软骨组织停留时间长，且有肌肉组织嵌入骨小梁间，这无疑对成骨是很大的干扰。Kojimoto[4]实验中也观察到切除骨外膜后，延长区新骨形成少，不能顺利地完成骨愈合过程。

刮除骨内膜及骨髓使延长早期成骨受到一定影响，在后期这种影响逐渐减弱。Kojimoto亦得出相似的结论。Delloye[5]试验证明髓腔血循环恢复快，大约在术后1周即已完成。因此可以认为虽然刮除了骨内膜及骨髓，破坏了血循及成骨能力，但由于血循的重建，这种影响逐渐减弱。

3.3 扭转力学测试对延长区骨强度的评价

Paavolainen[6]认为，对长管状骨的力学性能测试扭转试验是一各较合适的方法。在停止延长20 d，新干骺端基本形成，选定这一时相点对3组18只兔延长侧胫骨进行测试。

实验结果提示，B组兔由于破坏了骨延长区的骨外膜，使延长区成骨受到严重影响，新骨的力学性能差。C组兔延长区早期成骨受到一定影响，但在后期，各组力学指标均与A组无明显差别。

通过观察45只纯种兔延长区骨再生修复过程及18只兔力学测试。我们认为，胫骨干骺端截骨延长术保留骨膜的完整性对于延长区成骨具有重要意义。采用1mm/d慢速延长，保持骨膜套完整，对延长区骨再生修复十分重要。

参考文献

1. 李起鸿 周仲安 马树枝，等。骨骺牵伸下肢延长术

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

55 例报告。中华外科杂志,1985;23:106
2. Kawamura B, Hosono S, Takahashi T, et al. Limb lengthening by means of subcutaneous osteotomy. J Bone Joint Surg,1968;50(A):851
3. 李起鸿 区伯平 周仲安,等。胫骨干骺端截骨延长术。中华外科杂志,1986;24:109
4. Kojimoto H, Yasui N, Goto T, et al. Bone lengthening in rabbits by callus distraction: the role of periosteum and endosteum. J Bone Joint Surg,1988;70B:543
5. Delloye C. Bone regenerate formation in cortical bone during distraction lengthening. Clin Orthop,1990;250:34
6. Paavolainen P. Studies on mechanical strength of bone. Acta Orthop Scand,1978;49:497

(收稿:1993-03-12;修回:1993-08-28)

A study on periosteal and endosteal osteogenesis in metaphysiotomy lengthening of the tibia in immature rabbits

Zhou Jianming, Li Qihong, Zhao Yuanli (Department of Orthopedics, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The histological and biomechanical aspects of the osteogenesis in metaphysiotomy lengthening of the tibia were observed in 45 immature rabbits, which were divided into 3 groups as follows:

(1)Group A:After metaphysiotomy, the periosteum and endosteum of the transected bone ends were well—preserved.

(2)Group B:After metaphysiotomy, the periosteum about 0.7 cm in width on the 2 bone ends was circumcised. Then the 2 bone ends were aligned without disturbing the endosteum.

(3)Group C:After metaphysiotomy, a part of the bone marrow and endosteum in the 2 bone ends wwere removed. Then the 2 bone edns were well aligned and the periosteum was sutured up.

In all the experimental animals, the tibia was lengthened by 1mm/day.

It was found that in Group A, the formation and remodelling of the new bone in the lengthened area occurred quite early after metaphysiotomy and the new bone was good in its biomechanical quality; in Group B, the formation of new bone was retarded and the biomechanical quality of the new bone was not satisfactory; and in Group C, new bone formation was sluggish in the early stage after metaphysiotomy but it wwas active in the late stage, and the neww bone formed was similar to that of Group A in its histological morphology and biomechanical quality. The periosteum could grow synchronously with the slow traction without any tearing. In addition, osteotomy and mechanical traction could stimulate and accelerate periosteal osteogenesis.

It is believed that an intact periosteal cuff is of significance in the osteogenesis of the lengthened area since it serves as a restriction framework for the adherent growing of the connection between the new bones of the 2 bone ends and periosteal osteogenesis plays a more important role than endosteal osteogenesis in the bony healing of the lengthened area.

Key words bone lengthening; periosteum; osteogenesis; endosteum

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net