

实验研究

文章编号: 1008- 5572(2007)11- 0666- 03

糜蛋白酶防止肌腱粘连的实验研究

林浩东, 彭敏, 陈德松

(复旦大学附属华山医院手外科, 上海 200040)

摘要:目的 探讨糜蛋白酶对肌腱粘连的影响。方法 将36只健康白色纯种来亨鸡,随机平均分成实验组和对照组。均以右侧第3趾为实验对象,切断趾深屈肌腱后采用改良 Kessler法缝合。实验组向鞘管内滴注4 000 U/mL的糜蛋白酶1 mL,对照组采用生理盐水滴注。术后第2周、4周、6周处死动物,收集两组右侧缝合的趾深屈肌腱,分别进行大体观察、生物力学检测、组织学观察。结果 实验组肌腱粘连程度较对照组明显减轻,在肌腱修复术后第4周和第6周肌腱的最大载荷也明显增强,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 糜蛋白酶有防止肌腱粘连的作用。

关键词:糜蛋白酶;肌腱损伤;腱粘连

中图分类号: R687.2 文献标识码: A

Experimental Study of Chymotrypsin on Prevention of Flexor Tendon Adhesions

LIN Hao-dong, PENG Min, CHEN De-song

(Department of Hand Surgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

Abstract Objective To investigate the effect of chymotrypsin in decreasing the rate of post-operative adhesion. **Methods** 36 female healthy white leghorn chickens were randomly divided into experimental group and control group. The tendons of flexor profundus of 3rd claws were cut and repaired using modified Kessler method. Experimental group received exposure of chymotrypsin at a concentration of 4000 U/mL at tendon suture site, while the control group received a concentration of 0.9% saline solution. After 2 4 6 weeks following surgery, tendons from the 3rd toes were taken for gross, histological, and biomechanical examination. **Results** Compared with control group, the degree of adhesions of experimental group was significantly less. For biomechanical testing, the two groups have marked difference in maximum load 4 6 weeks after operation ($P < 0.05$). **Conclusion** A single intraoperative application of chymotrypsin with a concentration of 4000 U/mL appears to be an effective method for prevention of postoperative flexor tendon adhesion.

Key words chymotrypsin; tendon injury; tendon adhesion

肌腱损伤是手外科较为常见的疾病,肌腱修复后粘连是影响肌腱修复效果的主要原因。肌腱损伤术后产生的粘连导致手功能恢复效果不理想,是手外科领域亟待解决的一大难题^[1-2]。近年来,很多药物被应用于肌腱粘连的预防^[3-4],也取得了一定疗效,但仍有许多不足。目前实验研究和临床应用均已证实糜蛋白酶可预防腹腔术后的肠粘连^[5],但是否能预防肌腱粘连则还不清楚。为此,我们设计了本实验。

1 资料与方法

1.1 动物模型的制作及分组 取健康白色雌性来亨鸡36只,体重1.5~1.8 kg,随机分为实验组与对照组,每组18只。氯胺酮肌肉注射麻醉(20 mg/kg)后,常规消毒巾,上高位止血带。在无菌条件下,取两组鸡的右足第3趾(最长趾),采用“L”形切口暴露第3趾的趾浅及趾深屈肌腱。于中节趾骨处切断趾浅及趾深屈肌腱。两组动物的趾浅屈肌腱不进行处理,趾深屈肌腱在断裂处用5-0无创可吸收缝线,采用改良

Kessler法缝合。实验组用5 mL注射器向鞘管内滴4 000 U/mL糜蛋白酶1 mL,随后用8-0无创缝线关闭腱鞘。3-0丝线间断缝合皮肤切口,长腿石膏将其固定于屈曲位。对照组除用0.9%生理盐水代替糜蛋白酶向鞘管内滴注外,其余步骤均与实验组相同。术后3周解除外固定,让鸡自由活动。自术后第1天起,每日肌肉注射青霉素钠40万U,连续3 d。

1.2 观察项目

1.2.1 大体观察 术后2 4 6周观察两组动物右足第3趾皮肤切口的愈合,肌腱的色泽、吻合口处的愈合形态、粘连范围及性质。

1.2.2 组织学观察 实验趾与对照趾各随机抽取3个标本,切取肌腱缝合区,经10%福尔马林液固定,石蜡包埋,连续纵切片10张,HE染色,光镜下观察。

1.2.3 生物力学测定 每组动物各6只在移植后2 4 6周处死,取出肌腱,用0.9%氯化钠注射液保湿处理后,放在IN-

STRON 5542型材料力学测定仪的夹具上行拉伸负荷试验。夹具间肌腱的长度统一为4 cm,以消除因长度不等引起拉伸形变带来的影响。预置1.0N的前负荷后重新调零,用游标卡尺测量肌腱断端直径后输入计算机,使计算机用25 mm/min的拉伸速度等速拉伸两组肌腱直至完全断裂。

1.3 统计学处理 各组数据均用SPSS11.0统计软件处理,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析进行检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 大体组织观察 实验组与对照组动物术后2、4和6周伤口皮肤均无红肿,硬结等感染征象。实验组术后2周,肌腱与周围组织间可见白色半透明状胶冻样组织填充,肌腱与周围组织易分离。术后4周,可见缝合口处略膨大,表面光滑,与周围组织无粘连或轻微疏松粘连。术后6周,吻合口膨大消失,腱外形恢复正常,肌腱表面光滑与周围组织无粘连。对照组术后2周,仍可见组织水肿,吻合口部开始膨大。术后4周,肌腱周围水肿减轻,可见肌腱断端与周围组织结合紧密,可分离,但较困难。术后6周,可见炎症反应消退,肌腱与周围组织明显粘连,无法钝性分离。

2.2 组织学检查 实验组术后2周,少量腱外周成纤维细胞移行至肌腱断端,成纤维细胞增生不明显,腱周有少量炎性细胞,胶原纤维排列规则,少量增生。术后4周,炎症反应明显减轻,腱周及肌腱内可见大量成纤维细胞增生,胶原纤维排列规则。术后6周,肌腱断端及周围无明显炎症反应,较成熟的纤维母细胞和胶原纤维通过吻合口并与腱长轴方向基本一致,部分呈涡流样排列。对照组2周后肌腱断端可见大量的中性粒细胞和淋巴细胞为主的炎症浸润,肉芽组织增生明显,胶原纤维排列不规则。术后4周,炎症反应稍减轻,腱周及肌腱内可见大量成纤维细胞增生,胶原纤维增加,但排列紊乱。术后6周,炎症反应基本消失,沿肌腱长轴线断端间可见无序排列的成纤维细胞及胶原纤维(见图1~4)。

2.3 生物力学测定 术后2周,两组吻合口抗张力强度显著降低,但组间无显著差别。术后4、6周实验组吻合口抗张力强度大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表1)。

表1 两组生物力学测定比较(N, n=6)

组别	2周	4周	6周
对照组	11.12±1.66	14.19±1.27	17.86±1.12
实验组	11.88±1.73	18.10±1.14	21.54±0.93

* 和对照组相比 $P < 0.05$

3 讨论

肌腱断裂修复后易形成粘连,常导致患者机体功能障碍。

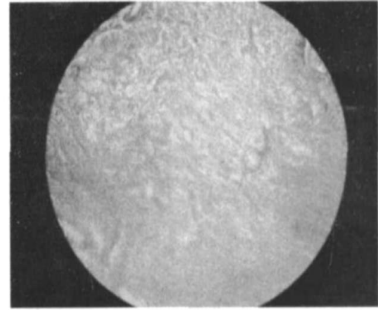


图1 实验组术后2周,可见增生的成纤维细胞,胶原形成不明显 HE×40

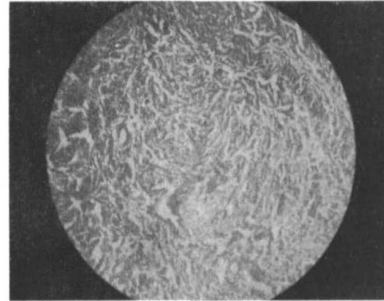


图2 对照组术后2周,可见大量的成纤维细胞和浸润的中性粒细胞和淋巴细胞 HE×40

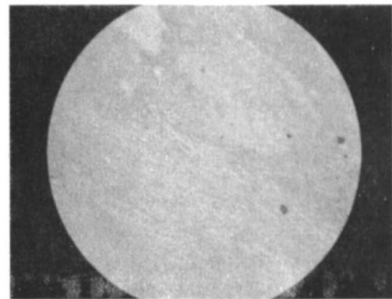


图3 实验组术后6周,可见排列有序的成纤维细胞和胶原纤维 HE×40

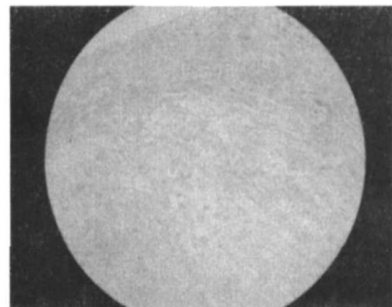


图4 对照组术后6周,可见无序排列的成纤维细胞及胶原纤维 HE×40

碍。如何防止或减轻肌腱粘连一直是手外科的难题之一。肌腱愈合过程中形成粘连的原因有如下几点: a)肌腱在外源性愈合中,由于成纤维细胞由周围组织向肌腱断端生长,形成肌腱与周围组织的粘连。 b)由于炎症反应,局部组织渗出增

多,机化后加重肌腱的粘连。c)肌腱细胞自身增殖的过程中与周围形成粘连^[6]。在肌腱修复过程中,既有外源性愈合机制,又有内源性愈合机制,两者同时存在,均对肌腱愈合有利。因此,防止肌腱粘连理想的局部药物是既能减轻肌腱水肿及与周围组织的粘连,又能促进肌腱愈合,促进局部血液循环,并且对人体无副作用。糜蛋白酶可能正是可选择使用的理想药物之一。糜蛋白酶又称胰凝乳蛋白酶,是从牛或猪胰中提取的一种蛋白水解酶,具有肽链内切酶的作用,通过切断蛋白质肽链中酪氨酸、苯丙氨酸的羧基肽链作用,专一水解羧基芳香族氨基酸(酪氨酸、色氨酸、亮氨酸)或侧链大体积疏水性残基甲硫氨酸等。大量实验表明,炎性反应渗出是粘连形成的第一步,而炎性渗出物的纤维蛋白在体腔中沉积是粘连形成的第二步^[7]。糜蛋白酶可以分解炎症部位纤维蛋白的凝结核,促进血凝块及坏死组织的溶化分解,从而净化创面,使肉芽组织新生,促进伤口愈合。此外,糜蛋白酶还能改善微循环,使局部组织渗出液和出血不因水份吸收浓缩或血液凝固机化进一步发展成粘连。

本实验肌腱修复处局部应用糜蛋白酶与应用生理盐水相比较,结果发现应用糜蛋白酶之后,肌腱与周围组织粘连明显减轻,且不降低肌腱的生物力学强度,这说明糜蛋白酶具有防止肌腱粘连的作用。从组织学研究结果也证实了上述结论。光镜下观察,实验组术后2周时炎性反应较对照组明显轻,随着时间的推移,成纤维细胞增生,实验组生成的胶原纤维排列整齐,增加较快,而对照组成纤维细胞增生慢且胶原排列紊乱。

因为肌腱粘连是肌腱损伤修复后最常见的并发症和影响修复直接效果的最主要因素,术后早期主动活动是预防肌腱粘连的最佳方法^[8],但由于此时肌腱尚未愈合,不适当的手指屈伸活动可能使肌腱断裂导致手术失败。应用糜蛋白酶

后可减轻早期肌腱愈合过程中未行主动和被动活动所产生的肌腱粘连。但是肌腱断裂、损伤后的修复及功能恢复,受多种因素影响。肌腱粘连的预防要从多方面、多角度出发,力求达到最佳效果。

参考文献:

- [1] Jones M E, Burnett S, Southgate A, *et al.* The role of human-derived fibrin sealant in the reduction of post-operative flexor tendon adhesion formation in rabbits [J]. *J Hand Surg (Br)*, 2002, 27(3): 278-282
- [2] Gudemez E, Eksioğlu F, Korkusuz P, *et al.* Chondroitin sulfate-coated polyhydroxyethyl methacrylate membrane prevents adhesion in full-thickness tendon tears of rabbits [J]. *J Hand Surg (Am)*, 2002, 27(2): 293-306.
- [3] 王济纬,兰树华,张立岩,间歇应用透明质酸钠预防手指屈指肌腱粘连[J]. *实用骨科杂志*, 2004, 10(3): 251-252.
- [4] 熊雁,张正治.核心蛋白聚糖抑制兔屈趾肌腱术后粘连的实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2006, 20(3): 251-255.
- [5] 孙广荣,汤义军,周先亭,等.脂肪乳剂糜蛋白酶预防术后肠粘连的实验研究与54例临床应用观察[J]. *中国实用外科杂志*, 1998, 18(2): 96-97.
- [6] Demirkan F, Colakoglu N, Herek O, *et al.* The use of amniotic membrane in flexor tendon repair: an experimental model [J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2002, 122(7): 396-399.
- [7] Thompson J, Whawell SA. Pathogenesis and prevention of adhesion formation [J]. *Br J Surg*, 1995, 82(1): 3-8.
- [8] 糜箐熠,邵新中,徐建光,等.主被动活动促进屈肌腱腱鞘修复的实验研究[J]. *中华手外科杂志*, 2002, 18(4): 248-250.

收稿日期: 2007-04-30

作者简介: 林浩东(1978-),男,医师,复旦大学附属华山医院手外科,200040

欢迎订阅《中华骨科杂志》

《中华骨科杂志》是中国科协主管、中华医学会主办、天津医院承办的骨科专业期刊。一贯坚持面向临床、面向科研、普及与提高相结合的办刊宗旨,受到广大骨科医生的关注与青睐。

为了进一步提高载文量、缩短刊出周期,我刊从2008年第1期页码由现在的80页增加到88页,突出我刊信息量大、时效性强的特色。每月1日出版。由我刊编辑出版的内部资料—《骨科动态》(《JBJS中文版》),随36912期赠送,回馈订户。

欢迎广大骨科医生与科研工作者订阅。2008年定价不变,每期15.00元,全年180.00元。全国各地邮局均可订阅。国内邮发代号:6-17,国外代号:M369。也可向编辑部直接邮购,汇款地址:天津市河西区解放南路406号天津医院内《中华骨科杂志》编辑部,邮政编码:300211。联系电话:(022)28334734,28278929