

## Staple 半侧加压造成山羊胸椎不平衡发展的组织学观察

张巍, 张永刚, 郑国权, 张如意, 赵斌, 王岩

解放军总医院 骨科, 北京 100853

**摘要:** **目的** 通过对 Staple 固定、加压生长期山羊胸椎的组织学观察, 探讨加压侧对脊柱生长发育的影响。**方法** 9 只未成年雌性山羊随机分为实验组 (n=6) 和对照组 (n=3); 实验组采用单侧多节段 (T<sub>6</sub>-T<sub>11</sub>) 跨椎间隙 Staple 固定; 对照组只作相同切口暴露, 不进行固定。4 个月后获取 T<sub>8</sub>、T<sub>9</sub> 间隙 (对照组相应节段) 椎间盘及生长板, 采用 HE、Giemsa 染色, 镜下观察生长板及椎间盘情况。**结果** 对照组未出现脊柱侧凸畸形, 两侧生长板高度以及生长板肥大层细胞和终板软骨细胞形态无明显差异。实验组出现轻度脊柱侧凸畸形, 术后 4 个月 Cobb 角为  $17.9^{\circ} \pm 5.6^{\circ}$ ; 椎间隙上方生长板高度: 加压侧 ( $1.27 \pm 0.34$ ) mm 低于非加压侧的 ( $2.05 \pm 0.19$ ) mm, 椎间隙下方生长板高度加压侧 ( $0.77 \pm 0.31$ ) mm 也低于非加压侧的 ( $2.1 \pm 0.29$ ) mm; 加压侧生长板肥大层细胞数量少、形态异常、排列不规则, 非加压侧生长板肥大层细胞排列整齐, 细胞形态饱满, 胞质丰富, 细胞核完整, 与对照组无差别; 终板软骨细胞也呈同样变化, 加压侧与非加压侧软骨细胞数量明显减少, 排列不紧密, 细胞体积小, 胞质较少, 胞核扁平。**结论** 半侧固定、加压抑制了固定侧脊柱生长板及终板软骨细胞的发育, 可造成脊柱两侧不平衡发展。

**关键词:** Staple; 脊柱侧凸; 生长板; 组织学

**中图分类号:** R 682.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2014)01-0089-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2014.01.028

**网络出版时间:** 2013-11-15 16:44

**网络出版地址:** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20131115.1644.001.html>

### Histology of thoracic vertebral imbalanced development in goats after hemiepiphyseal staple compression

ZHANG Wei, ZHANG Yong-gang, ZHENG Guo-quan, ZHANG Ru-yi, ZHAO Bin, WANG Yan

Department of Orthopedics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: ZHANG Yong-gang. Email: zhangyg301@hotmail.com

**Abstract: Objective** To study the effect of hemiepiphyseal compression on spinal growth by observing the histology of thoracic vertebrae after staple fixation. **Methods** Nine premature female goats were randomly divided into experimental group (n=6) and control group (n=3). Thoracic vertebrae of T6-T11 in experimental group were fixed with unilateral multi-segment cross intervertebral space staple fixation and those in control group were exposed but not fixed. Intervertebral disc and growth plates were taken from T8-T9 4 months after operation and observed with H&E and Giemsa staining. **Results** No scoliosis occurred in control group with no significant difference found in the height of growth plate, morphology of mastocytes in growth plate and chondrocytes in end plate. Mild scoliosis occurred with a Cobb angle of  $17.9^{\circ} \pm 5.6^{\circ}$  in experimental group 4 months after operation. The height of growth plate over and below the intervertebral disc was significantly shorter in the compression side than in the non-compression side ( $1.27 \pm 0.34$  mm vs  $2.05 \pm 0.19$  mm,  $0.77 \pm 0.31$  mm vs  $2.1 \pm 0.29$  mm). The number of mastocytes was smaller in the compression side than in the non-compression side with no significant difference between experimental group and control group. The morphology of mastocytes in growth plate was abnormal and the mastocytes in growth plate were irregularly arranged while the mastocytes in growth plate were regularly arranged and their morphology was normal with rich cytoplasm and intact nuclei in the compressed side of experimental group. The number, volume and cytoplasm of chondrocytes were smaller, the chondrocytes were less compactly arranged in end plate and the nuclei of chondrocytes were flatter in the compression side than in the non-compression side of experimental group. **Conclusion** Unilateral fixation of thoracic vertebrae and hemiepiphyseal compression inhibit the growth of growth plate and development of chondrocytes, thus leading to imbalanced development of spine at both sides.

**Key words:** staple; scoliosis; growth plate; histology

有研究<sup>[1-2]</sup>表明, 骨骺软骨对机械性压力十分敏感, 压力高的一侧骨骺生长会减慢, 因此有可能通过半侧骨骺加压来控制脊柱生长。本研究在

山羊胸椎单侧植入记忆合金 Staple 并对该侧加压, 组织学观察两侧生长板发育情况, 并同正常生长板对比, 旨在探讨单侧压力负荷在调节脊柱生长中的作用。

**收稿日期:** 2013-08-01

**作者简介:** 张巍, 男, 博士, 主治医师。研究方向: 骨科学。Email: bszw@hotmail.com

**通信作者:** 张永刚, 男, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师。Email: zhangyg301@hotmail.com

### 材料和方法

**1 实验动物** 年龄 2 ~ 3 个月的健康雌性山羊 10

只, 体质量 6 ~ 10 kg(由解放军总医院动物中心提供), 随机分为实验组 (n=6) 和对照组 (n=3)。

**2 手术过程** 1) 实验组<sup>[3]</sup>: 麻醉后经气管插管, 呼吸机辅助呼吸。动物取左侧卧位, 切除第 7 肋骨, 开胸, 显露 T<sub>6</sub> ~ T<sub>11</sub> 椎体; 将 5 mm 记忆合金矫形钉置于冰水混合物中, 用撑开钳把两齿撑开至 10 mm, 使矫形钉由原始的“C”形变成开口的矩形, 备用; 使用椎体开口器跨 T<sub>6</sub>、T<sub>7</sub> 椎间隙于肋横突关节侧前方 T<sub>6</sub> 椎体下端和 T<sub>7</sub> 椎体上端打孔, 将撑开的记忆合金矫形钉植入孔道内, 锤击、压紧; 同法, 依次于 T<sub>7</sub>、T<sub>8</sub>, T<sub>8</sub>、T<sub>9</sub>, T<sub>9</sub>、T<sub>10</sub>, T<sub>10</sub>、T<sub>11</sub> 椎间隙侧前方植入 Staple, 每个间隙 2 枚, 共 10 枚; 接着用 40° ~ 50° 的 0.9% 氯化钠注射液水纱布覆盖记忆合金矫形钉, 使之形变; 最后将第 6 和第 8 肋骨靠拢、缝合、关闭胸腔; 术后动物有自主呼吸和咀嚼动作后, 拔除气管插管。2) 对照组: 做相同切口显露, 只切除第 7 肋骨, 靠拢、缝合第 6 和第 8 肋骨, 关闭胸腔而不进行内固定。

**3 观察方法** 所有山羊术后即刻以及术后 2 个月、4 个月分别进行 X 线检查, 4 个月后处死山羊, 获取实验组山羊 T<sub>8</sub>、T<sub>9</sub> 间隙椎间盘及生长板, 对照组在相应节段取材。大体观察顶椎及相邻椎体生长板高度以及椎间盘变化情况。所有标本均冠状面解剖, 进行自身两侧对照。将标本用酒精固定、梯度脱水、透明、包埋、切片等程序后, 进行 Giemsa 染色和 HE 染色, 显微镜下观察椎体两侧生长板高度、肥大细胞形态变化以及骨骺软骨细胞的形态和排列变化情况。

**4 统计学分析** SPSS12.0 软件进行统计学分析, 两侧生长板高度比较采用完全随机设计的 *t* 检验法。检验的显著性水准均设定在  $\alpha = 0.05$ 。

## 结果

**1 放射学评估** 对照组山羊均未出现脊柱侧凸。实验组山羊在 2 个月时开始产生脊柱侧凸, 4 个月时产生轻度的脊柱侧凸, Cobb 角为  $17.9^\circ \pm 5.6^\circ$  (图 1), 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**2 标本组织学** Giemsa 染色: 对照组: 切片直接观察可见生长板两侧高度差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 椎间盘无楔形变。实验组: 椎间隙上方生长板高度加压侧 ( $1.27 \pm 0.34$ ) mm, 非加压侧 ( $2.05 \pm 0.19$ ) mm, 椎间隙下方生长板高度加压侧 ( $0.77 \pm 0.31$ ) mm, 非加压侧 ( $2.1 \pm 0.29$ ) mm (图 2), 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**3 HE 染色** 对照组: 低倍镜下两侧椎间隙等高。

高倍显微镜下生长板的各层 (静止层、肥大层、增殖层、钙化层) 细胞高度及细胞形态无明显差别。实验组: 低倍镜下椎间盘楔形变明显, 非加压侧高于加压侧。高倍镜下生长板非加压侧可见肥大层细胞排列整齐, 高度基本一致, 细胞形态饱满, 胞质丰富, 细胞核完整, 与对照组无差别; 加压侧见肥大层细胞凌乱, 高度不等, 细胞形态大小不一, 胞质不丰富, 细胞核少且不完整; 骨骺软骨细胞也呈同样变化, 加压侧比非加压侧软骨细胞数量明显减少, 排列不紧密, 散在分布, 细胞体积小, 胞核扁平, 胞质较少 (图 3~4)。

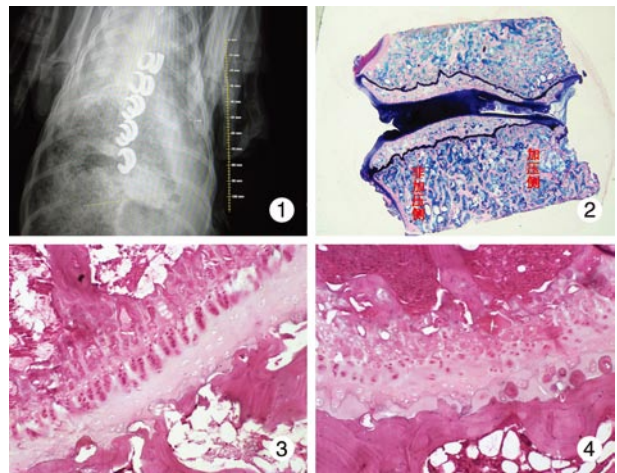


图 1 术后 4 个月, 实验组山羊出现轻度的脊柱侧凸, 其中一只 Cobb 角为  $26^\circ$

图 2 在实验组 T<sub>8</sub>、T<sub>9</sub> 间隙, 生长板高度加压侧低于非加压侧

图 3 非加压侧肥大层细胞排列整齐, 形态饱满 (×100)

图 4 加压侧肥大层细胞排列紊乱, 发育不良 (×100)

Fig.1 Mild scoliosis in experimental group 4 months after operation with a Cobb angle of  $26^\circ$  in 1 animal

Fig.2 Height of growth plate between T<sub>8</sub> and T<sub>9</sub> is shorter in compression side than in non-compression side

Fig.3 Regular arrangement and normal morphology of mastocytes in non-compression side (×100)

Fig.4 Irregular arrangement and dysplasia of mastocytes in compression side (×100)

## 讨论

脊柱在生长发育过程中存在多个生长中心, 这样就有可能通过控制某个生长中心的发育来改变脊柱的生长方向。椎体和长骨的生长模式一样, 其高度的增加是椎体上下两端骨骺软骨内化骨的结果, 因此对椎体骨骺进行加压固定, 也极有可能像限制长骨生长一样, 限制椎体的生长<sup>[4]</sup>。本实验采用目前国际上广为流行大动物 - 生长期的山羊作为研究对象, 在山羊胸椎单侧植入 Staple, 记忆合金在恢复形变过程中可以产生持续的压力<sup>[3]</sup>, 因此通过半侧骨骺加压成功地控制了山羊脊柱的

生长, 制造了胸椎侧凸模型。X 线结果和大体标本均证实山羊胸椎侧凸凸向非加压侧, 意味着加压侧脊柱生长受到限制, 其生长速度慢于非加压侧, 与 Bylski-Austrow 等<sup>[5]</sup>的实验结果基本一致。

Bylski-Austrow 等<sup>[6]</sup>的研究认为, 椎体的生长同椎体生长板的关系密切, 椎体生长板发挥着与长骨骨髓相同的作用, 是脊柱纵向生长的最重要结构。椎体的纵向生长, 是椎体上下两端生长板软骨内化骨的结果, 而软骨由软骨细胞和软骨基质组成, 在人类长骨的生长过程中, 有 44%~59% 来源于软骨细胞高度的增加, 其他来源于软骨细胞分泌的软骨基质<sup>[7]</sup>, 其构成软骨细胞生活的微环境。细胞外基质既可敏感地反映细胞生命活动的变化, 亦能对其产生重要影响, 其主要组成成分是胶原纤维、蛋白多糖、碱性磷酸酶等, 这些成分很容易受到力学因素的影响<sup>[8]</sup>。

Stoke 等在小鼠第 7 尾椎单侧分别给予纵向压力和张力, 结果表明, 压力侧椎体的生长率是对照组的 52%、而张力侧则为 113%, 在纵向生长方向上生长板肥大区的高度及肥大软骨细胞的成熟度与椎体生长率呈明显正相关<sup>[9]</sup>。此外他们还发现, 软骨细胞增殖速率及基质增加均受力学负荷调节, 二者共同参与对椎体生长板生长的影响。本研究采用的山羊侧凸模型是目前研究脊柱侧凸比较好的大动物模型, 取材后, 切片 Giemsa 染色直接观察到实验组加压侧与非加压侧生长板高度不同, 加压侧明显低于非加压侧, 说明加压侧受到力学影响后, 生长较对侧缓慢, 而非加压侧未受到压力影响, 正常发育, 与对照组同节段生长板高度无差别。HE 染色切片上, 生长板非加压侧肥大层细胞排列整齐, 细胞形态饱满, 而肥大层细胞凌乱, 高度不等, 细胞形态大小不一。终板软骨细胞也呈同样变化, 凹侧比凸侧软骨细胞数

量明显减少, 排列不紧密, 散在分布, 细胞体积小。由于软骨细胞的最终分化与细胞的体积以及细胞分泌的细胞外基质(包括胶原, 碱性磷酸酶等)密切相关<sup>[9]</sup>, 因此生长板增殖区、肥大区软骨细胞的异常结构和排列必然导致软骨细胞分泌及分化功能下降, 最终影响软骨化骨, 导致加压侧生长缓慢, 脊柱两侧生长不平衡, 出现侧凸畸形。

本研究观察到半侧骨骺加压产生的不对称力学负荷对山羊胸椎生长板的组织学影响, 丰富了半骨骺加压理论, 为采用不对称力学定向控制脊柱生长提供了理论基础。

#### 参考文献

- 1 Shi L, Wang L, Guo Z, et al. A study of low elastic modulus expandable pedicle screws in osteoporotic sheep [J]. *J Spinal Disord Tech*, 2012, 25 (2): 123-128.
- 2 Kumar B, Bylski-Austrow DI, Liu Y. Finite element model of spinal hemiepiphysodesis: effect of contact conditions, initial conditions, and growth [J]. *Stud Health Technol Inform*, 2012, 176: 99-103.
- 3 张永刚, 张巍, 郑国权, 等. 记忆合金加压钉抑制山羊半侧脊柱生长的实验研究 [J]. *中华外科杂志*, 2007, 45 (8): 537-539.
- 4 Tompkins M, Ebersen C, Ehrlich M. Hemiepiphyseal stapling for ankle valgus in multiple hereditary exostoses [J]. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, 2012, 41 (2): 23-26.
- 5 Bylski-Austrow DI, Glos DL, Sauser FE, et al. In vivo dynamic compressive stresses in the disc annulus: a pilot study of bilateral differences due to hemiepiphyseal implant in a quadruped model [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2012, 37 (16): E949-E956.
- 6 Bylski-Austrow DI, Wall EJ, Glos DL, et al. Spinal hemiepiphysodesis decreases the size of vertebral growth plate hypertrophic zone and cells [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2009, 91 (3): 584-593.
- 7 Damron TA, Zhang M, Pritchard MR, et al. Microarray cluster analysis of irradiated growth plate zones following laser microdissection [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 74 (3): 949-956.
- 8 Garzón-Alvarado DA. A mathematical model of the growth plate [J]. *J Mech Med Biol*, 2011, 11 (5): 1213-1240.
- 9 Villemure I, Stokes IA. Growth plate mechanics and mechanobiology. A survey of present understanding [J]. *J Biomech*, 2009, 42 (12): 1793-1803.