

中小功率微波照射对钛合金植入物周围组织的热损伤观察

叶冬梅 陈琛 白跃宏 沈梅

【摘要】 目的 观察中、小功率单次微波照射对钛合金植入物周围组织的热损伤作用。方法 通过手术将钛合金内固定物植入兔右侧股骨上段,并将该侧作为实验侧,左侧下肢相同部位作为对照侧。根据微波照射功率将实验兔分为 4 组,分别是 20 W 组、40 W 组、60 W 组及 80 W 组。各组实验兔经麻醉后分别给予相应功率微波照射(微波频率均为 2450 MHz,持续照射 30 min),实时测量微波照射区域钛合金表面及毗邻肌组织温度变化;随后采用肌电图检测各组实验兔坐骨神经复合肌肉动作电位(CMAP)情况;最后处死动物,取股骨旁钛合金周围肌组织、神经组织进行病理学检查。结果 与对照侧骨骼肌比较,经 20 W、40 W 微波照射后实验侧骨骼肌温度升高不显著($P>0.05$),经 60 W、80 W 微波照射后实验侧骨骼肌温度升高显著($P<0.05$)。坐骨神经电生理检查结果显示,经 60 W、80 W 微波照射后,实验侧坐骨神经 CMAP 潜伏期明显延长($P<0.05$),神经传导速度显著变慢($P<0.05$),但波幅均无明显下降($P>0.05$)。病理学检查结果显示,经 60 W 微波照射后,实验侧骨骼肌细胞间隙明显充血、出血,坐骨神经无明显病理学改变;经 80 W 微波照射后肌细胞出现空泡,肌细胞结构遭到破坏,坐骨神经髓鞘肿胀。结论 60~80 W 微波(频率为 2450 MHz)连续照射 30 min 可引起钛合金植入物周围组织热损伤,20~40 W 微波连续照射 30 min,钛合金植入物周围组织未见明显热损伤,提示对钛合金植入部位进行小功率微波照射安全性相对较好。

【关键词】 微波; 钛合金; 金属植入物; 温度

基金项目:国家自然科学基金(81601982);大连大学博士启动专项基金(20152QL005)

The observation of low or middle power microwave radiation on tissues adjacent to titanium alloy implants

Ye Dongmei*, Chen Chen, Bai Yuehong, Shen Mei. * Department of Rehabilitation, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian 116001, China

Corresponding author: Ye Dongmei, Email: shuiyan_1980@163.com

【Abstract】 Objective To observe the influence of low or middle power microwave radiation on tissues adjacent to titanium alloy implants. **Methods** Titanium alloy internal fixation plates were implanted into the upper femur of the right side of New Zealand white rabbits, the left femurs served as the control. Then the femurs were exposed to 20, 40, 60, or 80 W of microwave radiation at a frequency of 2450 MHz for 30 minutes, and real-time temperature of the implants and its adjacent muscles were recorded. The nerve conduction study of the sciatic nerve was performed by stimulating the nerve and recording from gastrocnemius in both groups. Finally, all the rabbits were sacrificed and histological studies were performed on nerve and muscle sections. **Results** Compared to the control limbs, temperatures of limbs with titanium alloy implants increased significantly when exposed to microwave radiation at 60 and 80 W ($P<0.05$) but no significant differences were revealed when exposed to radiation at 20 and 40 W ($P<0.05$). For the sciatic nerve conduction, significantly prolonged distal latency of CMAP ($P<0.05$) and slower nerve conduction velocity ($P<0.05$) were observed in the experimental limbs when exposed to microwave radiation at 60 and 80 W, but the decrease of CMAP amplitude was not significant ($P>0.05$). Pathological examination showed obvious congestion and bleeding in the intercellular spaces of skeletal muscle cells in the experiment group when exposed to radiation at 60 W, with no obvious pathological changes found in the sciatic nerve. However, when exposed to radiation at 80 W, vacuoles appeared in myocytes, the cellular structure was destroyed and the myelin sheath of the sciatic nerve swelled. **Conclusion** Exposure to microwave irradiation at 20 and 40 W, but not 60 and 80 W exerts no adverse effects on nerves and muscles adjacent to titanium alloy internal fixation plates. Consequently, continuous wave microwave irradiation at low powers (20~40 W) is a safer auxiliary treatment for limbs with titanium alloy implants.

【Key words】 Microwave; Titanium alloy; Metal implants; Temperature

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.12.017

作者单位:116001 大连,大连大学附属中山医院康复科(叶冬梅、沈梅);大连大学医学院解剖学教研室(陈琛);上海交通大学附属第六人民医院(白跃宏)

通信作者:叶冬梅,Email: shuiyan_1980@163.com

Fund program: National Science Foundation of China (81601982); The Research Initiation Funds for PhD of Dalian University (20152QL005)

微波是 300 MHz~300 GHz 的高频交变电磁波,其生物学效应主要与热量生成有关,但从物理学角度考虑,金属会在外加电磁场中通过磁损耗机制吸能并转换成热量,因此照射区域内存在金属一直被列为微波治疗禁忌。钛是顺磁性金属且具有相对低的磁导率及电导率,在电磁场中吸收射频能量较少^[1]。已有体外研究发现钛及钛合金在电磁场中温度变化较其他医用金属小^[2],但目前尚缺乏体内研究证据。本实验通过兔股骨钛合金内固定术观察不同功率微波照射后钛合金周围组织温度、形态学及电生理参数变化情况,旨在了解钛合金毗邻组织温度变化与微波照射功率间的关系,探讨微波疗法应用于钛合金内固定术后的安全性。

材料与方法

一、动物模型建立

本实验选用 12 只新西兰大白兔,体重 2.0~3.2 kg,按每千克体重 30 mg 从耳缘静脉注射戊巴比妥钠麻醉成功后,常规消毒、铺巾。以大白兔右腿作为实验侧,分离右侧股后部肌层并充分显露股骨,由于兔股骨长度及围度与人掌骨类似,因此选用人掌骨钛合金板进行固定。将钛合金内固定物(LCP, Synthes, USA)固定于实验兔股骨上段,完毕后清洗、缝合伤口。以大白兔左腿作为对照侧,切开并钝性分离肌层,充分显露股骨,但不植入钛合金内固定物。

二、微波照射及温度检测

于术后第 3 天进行微波照射及温度检测。根据微波照射功率采用随机数字表法将所有实验兔分为 4 组,分别是 20 W 组、40 W 组、60 W 组及 80 W 组,每组 5 只。实验动物予以戊巴比妥钠(每千克体重 15 mg)静脉注射麻醉,待麻醉剂生效后各组动物分别给予相应功率微波照射,调整微波探头使之垂直照射手术切口,探头距离手术切口 10 cm,设定微波频率为 2450 MHz,连续照射 30 min。各组动物首先照射左侧肢体(对照肢体),照射 30 min 后休息 1 h,待动物体温恢复正常后继续照射右侧肢体(实验肢体)。在微波照射期间同时进行温度检测,实验室温度保持 24℃,在测量实验侧肢体金属植入物温度时,将传感器垂直插入肌肉直至探头垂直接触钛合金植入物表面;在测量钛合金植入物毗邻肌组织温度时,根据前期研究结果^[3],将肌组织测温点定位于钛合金板中间孔上方 5 mm 处(将温度传感器垂直插入钛合金毗邻肌组织,达到钛合金板表面后垂直上提 5 mm)。对照侧肌组织温度测量位置及测温方法同上。

三、复合肌肉动作电位检测

待微波照射结束后,于麻醉状态下采用 Keypoint Portable 生理信号采集系统以及相关设备检测实验兔双下肢电生理参数。将接地线置于实验兔小腿皮肤上,沿原手术入路切开皮肤、肌肉,解剖分离坐骨神经组织,将 1 个双极针状刺激电极钩在大腿中段坐骨神经上,将记录电极刺入同侧腓肠肌,调整好电极位置,保持电极与神经干良好接触。将两个刺激电极分别钩在坐骨神经的近侧端及远侧端,保持电极与神经干良好接触,先刺激近侧端,找出引起诱发动作电位的阈值,待示波器屏幕上显示诱发复合肌肉动作电位(compound motor action potential, CMAP)图形稳定、伪迹及动作电位起点清楚后图像。测量、分析各实验兔 CMAP 潜伏期、动作电位波幅,然后刺激远侧端进行相同电生理检测,最后测量两刺激电极距离并计算神经传导速度。

四、组织病理学检查

待测温及 CMAP 检测结束后注射过量麻醉药处死各组实验兔,提取实验侧肌组织及神经组织,经福尔马林固定标本常规脱水、石蜡包埋后行 4~5 μm 切片,常规脱蜡水化,苏木素染色 2 min,伊红衬染 20 s,经脱水、透明、封片后置于光学显微镜下观察。

五、统计学分析

本研究所得计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 14.0 版统计学软件包进行数据分析,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、微波照射后金属植入物表面及毗邻肌组织温度变化分析

实验兔植入钛合金表面温度变化情况如图 1 所示,与毗邻肌肉温度比较(包括对照侧和实验侧),微波照射区域内钛合金表面温度最高,且随着微波照射功率增加,温度升高幅度明显。分别经 20 W、40 W、60 W 及 80 W 微波照射 30 min 后,发现实验侧肢体植入的钛合金表面温度分别升高(2.2 ± 0.2)℃、(5.7 ± 0.5)℃、(10.3 ± 0.5)℃和(16.7 ± 0.9)℃,经统计学比较后发现,经不同功率微波照射后钛合金表面温度升高差异显著($P < 0.01$)。

金属植入物毗邻肌组织温度变化情况如图 1 所示。与对照侧比较,经 20 W、40 W 微波照射后实验侧肌组织温度升高不显著($P > 0.05$);而经 60 W、80 W 微波照射后,实验侧肌组织温度显著高于对照侧肌组织($P < 0.05$)。经 80 W 微波照射后实验侧肌组织温度升

高(14.8±0.7)℃,约为对照侧升高幅度[(7.0±0.9)℃]的 2 倍($P<0.05$)。经 60 W 微波照射后对照侧及实验侧肌组织温度分别升高(6.1±0.5)℃和(9.2±0.3)℃,升温幅度两侧间差异亦具有统计学意义($P<0.05$)。经 20 W、40 W 微波照射后,对照侧与实验侧肌组织峰值温度差异不显著($P>0.05$),但经 60 W、80 W 微波照射后,发现对照侧与实验侧肌组织峰值温度差异显著($P<0.05$);另外值得注意的是经 60 W、80 W 微波照射后,实验侧肌组织峰值温度均超过 45℃,已达到既往报道指出的组织损伤温度。

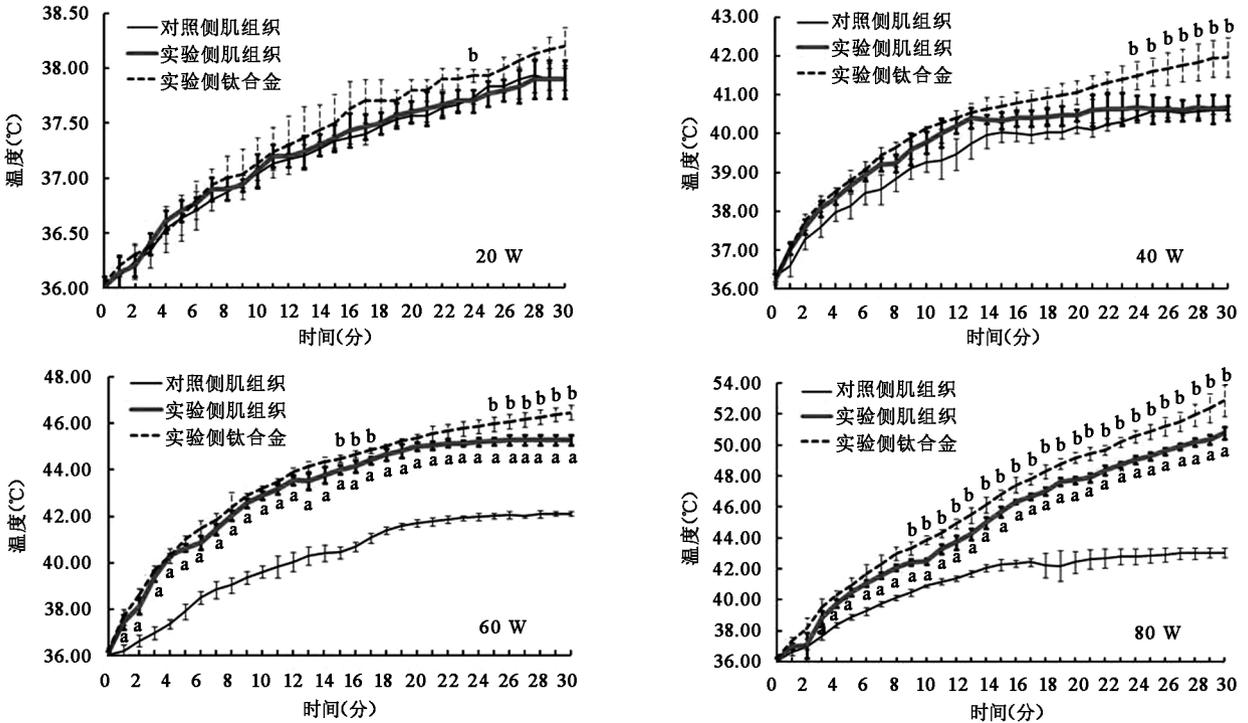
二、微波照射后实验兔坐骨神经电生理结果分析

经 20 W、40 W 微波照射 30 min 后,发现对照侧与实验侧坐骨神经 CMAP 潜伏期及神经传导速度差异均无统计学意义($P>0.05$)。经 60 W 微波照射后,发现实验侧坐骨神经 CMAP 潜伏期[(1.33±0.08)ms]较对照侧潜伏期[(1.10±0.06)ms]明显延长($P<0.05$),

神经传导速度[(52.7±2.03)m/s]较对照侧[(65.0±4.58)m/s]下降了 29.0%($P=0.03$)。经 80 W 微波照射后,发现实验侧坐骨神经 CMAP 潜伏期[(1.71±0.17)ms]较对照侧潜伏期[(1.07±0.07)ms]显著延长($P<0.01$),神经传导速度[(23.7±6.66)m/s]较对照侧[(60.3±5.13)m/s]下降了 60.6%($P<0.01$)。通过观察坐骨神经 CMAP 波幅,发现随着微波照射功率升高,各实验兔对照侧、实验侧坐骨神经 CMAP 波幅均无显著下降(均 $P>0.05$),见图 2。

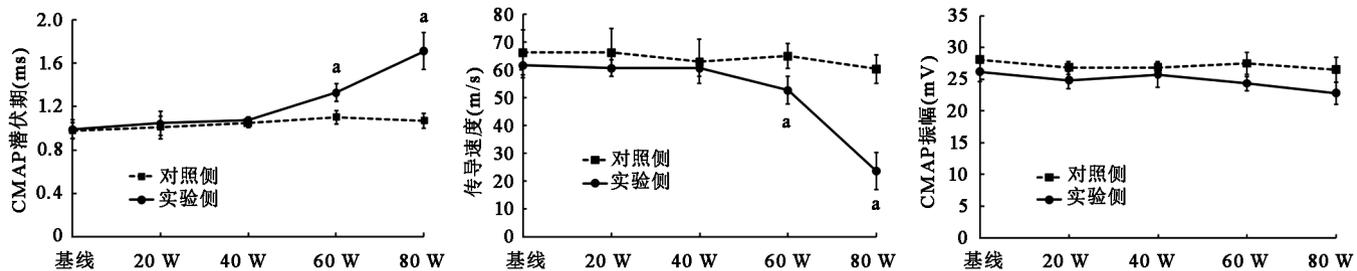
三、微波照射后实验兔骨骼肌及坐骨神经病理学分析

经 20 W、40 W 微波照射后,发现实验兔对照侧及实验侧骨骼肌细胞均未出现水肿、结构紊乱、细胞坏死等异常形态;经 60 W 微波照射后,发现实验侧骨骼肌细胞间隙明显充血、出血,肌细胞水肿不明显,未见细胞结构紊乱、细胞坏死等异常;对照侧骨骼肌未见明显



注:与对照侧肌组织温度比较,^a $P<0.05$;与实验侧肌组织温度比较,^b $P<0.05$

图 1 经不同功率微波照射后钛合金植入物表面及毗邻肌组织温度变化情况分析



注:与对照侧比较,^a $P<0.05$

图 2 经不同功率微波照射后各组实验兔坐骨神经电生理结果分析

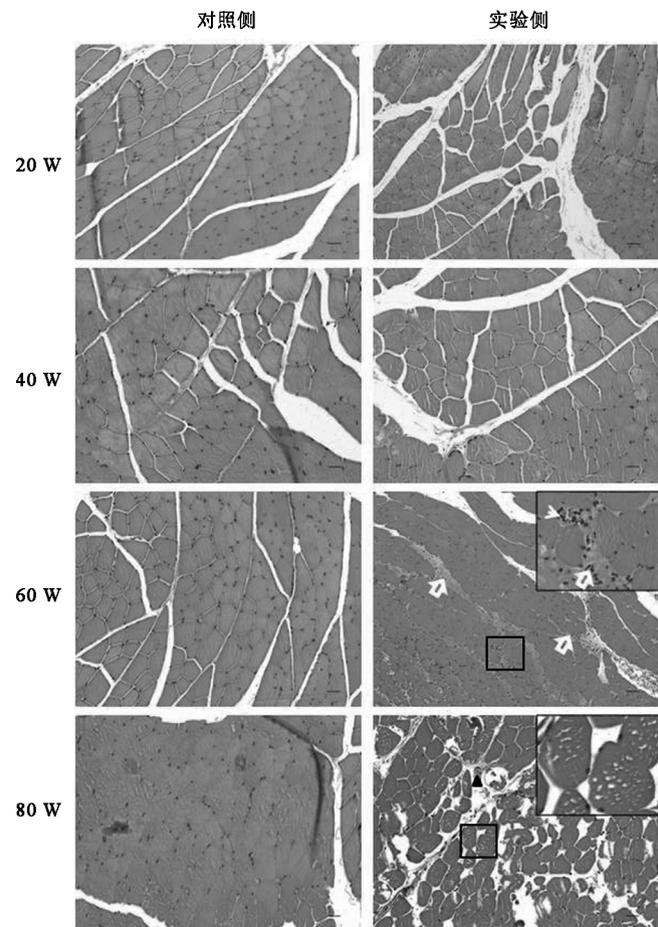
异常;经 80 W 微波照射后,发现实验侧肌细胞出现直径 1~10 μm 空泡,肌细胞结构遭到破坏,亦可见肌组织血管内血栓形成等异常形态;对照侧除偶见肌细胞水肿外,再未见明显形态学异常。具体情况见图 3。

经 80 W 微波照射后,发现实验侧坐骨神经轴索完整,可见不同程度髓鞘肿胀,对照侧坐骨神经未见明显异常;经 20 W、40 W、60 W 微波照射后,对照侧及实验侧均未见坐骨神经轴索断裂、髓鞘水肿、结构紊乱等异常形态学改变。具体情况见图 4。

讨 论

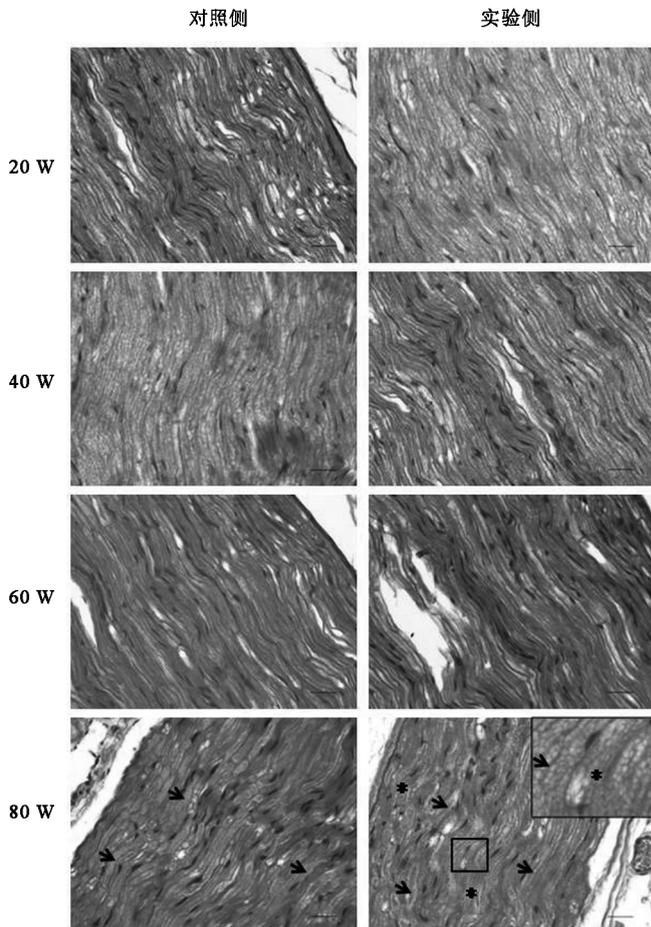
近年来对体内存在钛合金植入物能否进行高频电疗一直存在争议。根据物理学原理,当磁性材料处于交变磁场条件下时,磁性材料自身会通过诸如涡流、磁滞等磁损耗机制吸收能量。涡流大小与介质电导率成正比,由于钛合金材料属于电导率较低的金属,因此由

涡流效应将电磁场能量转化为热能(即焦耳热)所造成的能量消耗较小。Muranaka 等^[4]以明胶模拟人体组织包裹髋关节金属植入物并置于射频电场中,使用计算机模拟金属表面涡流,研究结果表明,钛合金股骨植入物涡电流密度及升温幅度均明显低于同型钴铬合金植入物。另一方面,由磁滞诱发的能量衰减和消耗(即磁滞损耗)一般以热能形式消耗电磁波。钛合金为顺磁性物质^[5],磁化率为很小的负值(10⁻⁵~10⁻⁶量级)^[6],由于其磁化强度较低,故钛合金在高频电磁场中温度变化较镍等铁磁性金属明显减弱^[7]。但对此部分学者仍持谨慎态度,因为频率低于 10¹⁶ Hz 的电磁波无法穿透金属,只能进入金属浅层,其能量几乎完全被反射^[8],医用微波也在此频段之内,故当微波治疗功率或治疗时间不适当时,可导致微波反射过量,造成金属植入物周围组织热损伤。因此寻找合适的微波照射功率和治疗时间使得微波电疗既能发挥治疗效



注:经 20 W、40 W 微波照射后,对照侧及实验侧骨骼肌均未见明显异常;经 60 W 微波照射后,实验侧可见骨骼肌细胞间隙充血(白色实心箭头处)和出血(白色空心箭头处);经 80 W 微波照射后,实验侧可见肌细胞内出现直径 1~10 μm 空泡及肌细胞结构破坏,血管内有血栓形成(黑色实心三角处)

图 3 经不同功率微波照射后实验兔骨骼肌病理形态学分析(HE 染色,×200)



注:经 80 W 微波照射后,实验侧可观察到坐骨神经髓鞘不同程度水肿(黑色星号处),对照侧未见明显异常;经 20 W、40 W、60 W 微波照射后,实验侧及对照侧坐骨神经均未见明显异常;黑色实心箭头处为轴索组织

图 4 经不同功率微波照射后实验兔坐骨神经病理形态学分析(HE 染色,×200)

应,又不引起组织热损伤是当前物理因子疗法中亟待解决的重要问题之一。

有研究发现当温度超过 43 ℃ 时,人体细胞蛋白及酶即开始变性,因此在应用高频电疗法时局部温度一般控制在 39~42 ℃^[9]。本研究结果表明,在无钛合金植入情况下,肢体接受 20~80 W 微波照射时,其局部组织温度均低于 42 ℃;当存在钛合金植入物时,小功率(20 W、40 W)微波照射对钛合金周围肌组织温度影响不显著,在 60 W 微波场作用下,骨骼肌升温过程表现出速度快、峰值高等特点;当 80 W 微波照射 30 min 后肌组织峰值温度即达到 50.8 ℃,已明显超出微波温热疗法安全治疗温度;通过电生理学及病理学检查也证实,异常热聚集可导致局部组织热损伤。上述结果提示,60 W 或 60 W 以上功率微波照射能导致钛合金植入物产生局部热聚集,从而造成组织损伤。

微波照射可对深部组织产生热效应,局部温度有赖于微波照射产热与组织正常散热间的平衡。血流是耗散组织热量的重要因素,血液与组织发生热量交换通常位于毛细血管部位。毛细血管管径为 0.005~0.015 mm,血流速度较慢。既往研究发现,微波照射最初 30 min 内此类血管血流速度显著加快,肌组织局部血管开放数量提高 20%~25%,但随着时间延长,微波照射的血流改变效应逐渐减弱^[10]。由此推测延长微波治疗时间及过高功率均有可能导致组织热平衡被打破。在机体存在钛合金植入物情况下,20~40 W 微波照射时金属植入物产热、周围组织吸热与微循环加快造成散热相互平衡,此时组织温度保持在安全范围内;但 60~80 W 微波照射使该散热平衡被打破,可能由于钛合金植入物对微波的反射导致局部微波密度增大,金属毗邻区域温度快速升高,病理学检查可发现骨骼肌组织微循环通透性升高及毛细血管微血栓形成,最终使局部散热障碍^[11],从而表现为钛合金毗邻肌组织温度显著升高。

相关研究报道,机体周围神经组织较肌组织对热更敏感。本研究结果发现实验侧肢体经 60 W、80 W 微波照射后,其坐骨神经传导速度显著下降,HE 染色表现为髓鞘水肿,这可能是导致神经传导速度下降的重要原因。早前 Hoogveen 等^[12]研究发现,坐骨神经暴露于 45 ℃ 环境下持续 30 min 会出现施旺细胞破坏及髓鞘瓦解呈球状,进而出现脱髓鞘改变;也有学者认为透热治疗可直接影响坐骨神经髓鞘组织^[13]。由于 CMAP 波幅代表神经束内所有神经纤维电位总和,若其下降表明神经轴索损伤^[14]。本研究结果显示各组实验侧与对照侧坐骨神经 CMAP 波幅均未见显著下降,提示 80 W 微波照射并未对钛合金植入物毗邻区域坐骨神经轴索造成不可逆损伤。

综上所述,本研究结果表明,随着微波照射功率增

加,金属植入物周围蓄积焦耳热可达到组织损伤温度,可见临床针对植入钛合金患者安全使用高频电的关键在于功率控制,通过对钛合金植入部位进行小功率微波照射,可能为术后携带钛合金金属板、螺钉、内固定针等生物医用植入材料患者提供一种辅助治疗手段。后续本研究还将继续深入探讨钛合金形状、大小等因素对治疗安全性的影响,为医用金属植入术后微波安全应用提供参考资料。

参 考 文 献

- [1] Lee MJ, Kim S, Lee SA, et al. Overcoming artifacts from metallic orthopedic implants at high-field-strength MR imaging and multi-detector CT [J]. *Radiographics*, 2007, 27 (1): 791-803. DOI: 10.1148/rg.273065087.
- [2] Draper DO, Castel JC, Castel D. Low-watt pulsed shortwave diathermy and metal-plate fixation of the elbow [J]. *Athl Ther Today*, 2004, 9 (5): 28-32. DOI: 10.1123/att.9.5.28.
- [3] Ye D, Xu Y, Zhang H, et al. Effects of low-dose microwave on healing of fractures with titanium alloy internal fixation: an experimental study in a rabbit model [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9): e75756. DOI: 10.1371/journal.pone.0075756.
- [4] Muranaka H, Horiguchi T, Ueda Y, et al. Evaluation of RF heating on hip joint implant in phantom during MRI examinations [J]. *Nihon Hoshasen Gijutsu Gakkai Zasshi*, 2010, 66 (7): 725-733.
- [5] Multigner M, Frutos E, González-Carrasco JL, et al. Influence of the sandblasting on the subsurface microstructure of 316LVM stainless steel; implications on the magnetic and mechanical properties [J]. *Mat Sci Eng*, 2009, 29 (4): 1357-1360. DOI: 10.1016/j.msec.2008.11.002.
- [6] Costes JP, Duhayon C, Vendier L. Synthesis, structural characterization, and magnetic properties of a copper-gadolinium complex derived from a hydroxybenzohydrazide ligand [J]. *Inorg Chem*, 2014, 53 (4): 2181-2187. DOI: 10.1021/ic4027283.
- [7] Muranaka H, Horiguchi T, Ueda Y, et al. Evaluation of RF heating due to various implants during MR procedures [J]. *Magn Reson Med Sci*, 2011, 10 (1): 11-19.
- [8] Rudinsky S, Gauvin R, Brochu M. The effects of applied current on one-dimensional interdiffusion between copper and nickel in spark plasma sintering [J]. *J Appl Phys*, 2014, 116 (15): 154901. DOI: 10.1063/1.4898158.
- [9] Castor CW, Yaron M. Connective tissue activation; VIII. The effects of temperature studied in vitro [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 1976, 57 (1): 5-9.
- [10] Akyürekli D, Gerig L, Raaphorst G. Changes in muscle blood flow distribution during hyperthermia [J]. *Int J Hyperthermia*, 1997, 13 (5): 481-496.
- [11] Franckena M. Review of radiotherapy and hyperthermia in primary cervical cancer [J]. *Int J Hyperthermia*, 2012, 28 (6): 543-548. DOI: 10.3109/02656736.2012.670835.
- [12] Hoogveen J, Troost D, Van Der Kracht A, et al. Ultrastructural changes in the rat sciatic nerve after local hyperthermia [J]. *Int J Hyperthermia*, 1993, 9 (5): 723-730.
- [13] De Vrind H, Wondergem J, Haveman J. Hyperthermia-induced damage to rat sciatic nerve assessed in vivo with functional methods and with electrophysiology [J]. *J Neurosci Meth*, 1992, 45 (3): 165-174.
- [14] Gupta R, Steward O. Chronic nerve compression induces concurrent apoptosis and proliferation of Schwann cells [J]. *J Comp Neurol*, 2003, 461 (2): 174-186. DOI: 10.1002/cne.10692.

(修回日期:2016-09-23)

(本文编辑:易浩)