

文章编号:1004-7220(2011)05-0471-05

大鼠胫骨骨折固定术后同侧股骨骨密度和生物力学性能的变化

李晓捷^a, 侯永福^a, 李晋川^b, 陈孟诗^b, 朱智敏^a

(四川大学 a. 华西口腔医学院; b. 建筑与环境学院, 成都 610041)

摘要:目的 探讨胫骨骨折后大鼠股骨骨密度及股骨生物力学性能变化及其与胫骨骨折愈合状况的关系。方法 将40只3月龄雌性SD大鼠随机分为2组:手术组和对照组,每组20只。手术组实行右侧胫骨中段骨折内固定术。手术前和实行手术后第2、4、6、8、10、12周测量右侧股骨骨密度,第6周和第12周分别处死10只手术组和10只对照组大鼠,进行右侧胫骨和股骨生物力学性能的测量。结果 术后6周,胫骨骨折的放射学愈合率为50%,机械愈合率为70%;术后12周胫骨骨折的放射学和机械愈合率均为100%。手术组股骨骨密度与对照组相比,术后2、4、6、8周降低($P < 0.05$),术后10、12周时与对照组差异无统计学意义。术后6周右侧胫骨和股骨的生物力学性能明显低于术后12周($P < 0.05$)。相关分析显示胫骨愈合情况与力学性能高度相关($P < 0.01$),胫骨力学性能与股骨骨密度和股骨力学性能高度相关($P < 0.001$)。结论 胫骨骨折早期同侧股骨骨密度及生物力学性能下降,发生了废用性骨质疏松;但晚期随胫骨骨折愈合,股骨的骨密度和生物力学性能恢复正常。

关键词: 骨折; 骨质疏松; 骨密度; 固定; 力学性能; 生物力学

中图分类号: R 683.42, R 681.4 文献标志码: A

Changes of bone mineral density and biomechanical properties of the femur after ipsilateral tibia fracture and fixation in rats

LI Xiao-jie^a, HOU Yong-fu^a, LI Jin-chuan^b, CHEN Meng-shi^b, ZHU Zhi-min^a (a. West China College of Stomatology; b. College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of bone mineral density (BMD) and biomechanical properties of the femur after ipsilateral tibia fracture in rats, and its relationship with the tibia fracture union. **Methods** Forty 3-month-old female SD rats were divided into 2 groups randomly and evenly: the surgery group and the control group. The surgery group received middle shaft fracture and fixation surgery on the right tibia. BMD of the right femur was measured both before the surgery and at 2nd, 4th, 6th, 8th, 10th, 12th week after the surgery, respectively. Ten rats in the surgery group and ten rats in the control group were executed at 6th and 12th week after the surgery, respectively, to test the biomechanical properties of their right tibia and femur. **Results** The radiological union rate and mechanical union rate of the tibia were 50% and 70%, respectively, at 6th week after the surgery, and those at 12th week after the surgery were both 100%. At 2nd, 4th, 6th, 8th week after the surgery, BMD of the right femur in the surgery group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). Compared with the control group, there was no statistical difference in BMD of the right femur at 10th, 12th week after the surgery. Biomechanical properties of the right tibia and femur at 6th week after the surgery showed obviously worse than those at 12th week after the surgery ($P < 0.05$). Analysis showed that the fracture union was highly related with mechanical properties of the tibia ($P < 0.01$), which was also highly related with BMD and mechanical properties of the femur ($P < 0.001$). **Conclusions** In the early stage of tibia fracture, disuse osteoporosis

收稿日期:2011-03-08; 修回日期:2011-04-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10872137)。

通讯作者:李晋川,副教授,E-mail: Li7364@163.com。

sis might occur due to the decrease of BMD and worse mechanical properties in the ipsilateral femur, but as the tibia fracture united, BMD and biomechanical properties of the femur became normal again.

Key words: Fracture; Osteoporosis; Bone mineral density; Fixation; Mechanical properties; Biomechanics

骨组织对力学环境有良好适应性^[1]。当骨的正常负荷减弱或消失时,与外力负荷相对应的骨重建随之发生,引起骨质萎缩、机械强度下降。长时间局部制动,缺乏应力刺激,如脊髓损伤、偏瘫等,可以造成局部废用性骨质疏松^[2],骨密度(bone mineral density, BMD)和生物力学性能降低,骨折的危险性增加。胫骨骨折后,如果得不到有效固定,或制动时间过长,由于缺乏力学刺激传导,股骨可能发生废用性骨质疏松,机械性能下降;加之机体平衡能力下降易摔倒,容易发生二次骨折。然而胫骨骨折在有效固定后,对股骨力学刺激的缺乏是暂时的,胫骨骨折愈合、充分活动后将恢复力学刺激的传导。因此,在胫骨骨折愈合之前的这个短暂时期内,股骨是否已经发生了骨质疏松?股骨 BMD 和力学性能变化与胫骨骨折愈合情况关系如何?有关胫骨骨折后股骨 BMD 和生物力学性能变化还没有见报道。本文实验通过制作大鼠胫骨骨折内固定模型,探讨胫骨骨折后股骨 BMD 及生物力学性能的变化,以及其与胫骨骨折愈合情况的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

选用 40 只雌性四川大学华西实验动物中心引进的 3 月龄清洁级 SD 大鼠,体质量(200 ± 20) g,适应性喂养 1 周。

1.2 方法

1.2.1 制备实验动物模型 将大鼠随机分为手术组和对照组,每组 20 只。手术组大鼠在 10% 水合氯醛腹腔麻醉下,备皮消毒铺巾,暴露右侧膝关节及胫骨中段,用金刚砂盘(厚度 0.2 mm)导致右侧胫骨中段开放性骨折,于胫骨斜坡处开口,插入直径为 1.0 mm 克氏针进行髓腔内固定,缝合创口。术毕置于大鼠专用饲养笼,连续 3 d 以 10 万 U/d 青霉素肌注预防感染。对照组大鼠未做任何处理。实验期间给予充足的清洁饮水、摄食(饲料为华西医科大学提供的标准鼠饲料)。室温保持在(22 ± 2) °C,人工控制室内照明,保持 12 h 光照(8:00 ~

20:00),12 h 黑暗(20:00 ~ 次日 8:00)交替循环。

1.2.2 胫骨愈合情况观察 手术后第 6 和 12 周分别在 10% 水合氯醛腹腔麻醉下处死 10 只手术组和 10 只对照组大鼠,取右侧胫骨标本,剔除肌肉和筋膜,拍摄右侧胫骨 X 线片进行放射学观察。胫骨骨折处前后方有骨桥形成者记为愈合,仅有一侧有骨桥形成者记为不完全愈合,前后均无骨桥形成者记为不愈合,计算放射学愈合率(radiological-union rate)。取右侧胫骨标本用手指感觉胫骨中段骨折愈合情况,两骨折段不可活动者视为愈合,计算机械愈合率(mechanical-union rate)。

1.2.3 股骨 BMD 测定 手术前和实行手术后第 2、4、6、8、10 和 12 周,用 10% 水合氯醛麻醉,用 Lunar-iDXA 型双能 X 线骨密度仪(美国 GE 公司生产,由四川大学附属华西第一医院骨密度科提供)进行 BMD 测定,同时测量对照组。

1.2.4 生物力学指标测定 手术后第 6 和第 12 周分别处死 10 只手术组和 10 只对照组大鼠,取右侧胫骨和股骨,剔除肌肉和筋膜,取出髓内针,用生理盐水纱布、塑料封口袋包裹,放入 -20 °C 冰箱保存,1 个月内完成力学测试。测试时,将 -20 °C 保存的胫骨和股骨常温解冻,用 AG-IS-20 型万能试验机(日本,岛津制作所)对胫骨和股骨干进行 3 点弯曲试验(由四川大学建筑与环境学院生物力学实验室完成)。将大鼠右侧胫骨或股骨置于试验机支座上,加载速度为 1.0 mm/s,跨距(L)为 18 mm。在胫骨骨痂或股骨正中间施加压力载荷至断裂,测试系统自动记录载荷变形曲线,根据曲线即可得到股骨和胫骨在受弯情况下的弹性模量、最大载荷、弯曲刚度等生物力学指标。

1.2.5 统计学处理 数据用百分率(%)和均数、标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据统计使用 SPSS 16.0 软件。用重复测量的方差分析检验胫骨骨折对股骨 BMD 是否有影响;用单因素方差分析分别比较实验组和对照组内不同时间点股骨 BMD 的差异;用 *t* 检验比较同一时间点实验组和对照组股骨 BMD 是否存在差异,以及比较 6 周和 12 周胫骨和股骨的力学性能

差异;用相关分析对胫骨愈合情况(放射学愈合情况:不愈合=0,部分愈合=1,完全愈合=2;机械愈合情况不愈合=0,愈合=1)与胫骨力学性能之间、胫骨力学性能与股骨 BMD 及力学性能之间的相关性进行分析。

2 结果

2.1 胫骨愈合情况

图 1 显示了大鼠胫骨骨折术后 6 周和 12 周的 X 线观察情况。10 只大鼠胫骨骨折术后 6 周放射学愈合率为 50%, 2 例为不完全愈合(20%), 3 例不愈合(30%);机械愈合率为 70%, 3 例不愈合(30%);手术后 12 周,10 只大鼠胫骨骨折的放射学愈合率和机械愈合率均为 100%。

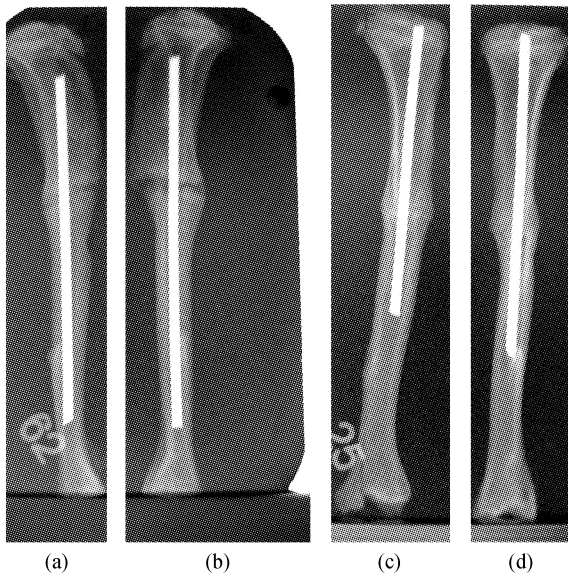


图 1 大鼠右侧胫骨骨折术后 X 线观察结果 (a) 术后 6 周,部分愈合;(b) 术后 6 周,不愈合;(c)、(d) 术后 12 周,愈合

Fig.1 Radiological observation of the tibia after the fracture surgery in rats (a) Partial union at 6th week after the surgery, (b) Non-union at 6th week after the surgery, (c), (d) Complete union 12 weeks after the surgery

2.2 胫骨骨折后大鼠股骨 BMD 变化

大鼠胫骨骨折后股骨 BMD 的变化趋势如图 2 所示。经重复测量的方差分析发现,胫骨是否骨折对股骨 BMD 的变化有显著影响($P < 0.01$),且不同测量时间的 BMD 值存在显著差异($P < 0.01$)。用单因素方差分析进行组内比较,对照组内大鼠的股

骨 BMD 随时间变化有所增加,12 周时高于 0、2、4、6 周($P < 0.01$);手术组内各个时间之间 BMD 存在差异,术后 2、4、6 周低于 0、8、10、12 周($P < 0.05$)。经 t 检验分析,手术组 BMD 与同时间对照组相比,0 周时没有统计学差异($P > 0.05$);2、4、6 周时明显低于对照组($P < 0.01$),8 周时仍低于对照组($P < 0.05$),10、12 周时与对照组相比无统计学差异($P < 0.05$)。术后 2 周和 4 周时 BMD 较对照组降低 2.5 个标准差以上。

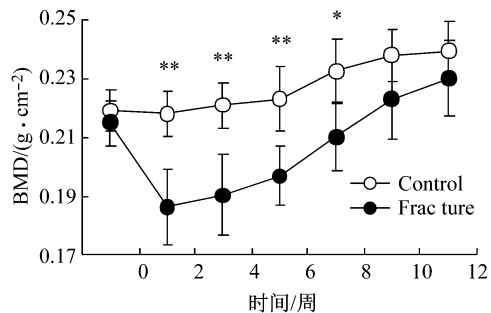


图 2 大鼠右侧胫骨中段骨折术后右侧股骨 BMD 变化(g/cm^2) (与对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$)

Fig.2 Changes of BMD of the right femur before and after the right tibia middle-shaft fracture surgery in rats

2.3 胫骨骨折内固定术后大鼠胫骨骨痂和股骨生物力学性能变化

由图 3 可见,术后 6 周右侧胫骨和股骨的弹性模量、最大载荷和弯曲刚度均低于术后 12 周时($P < 0.01$, $P < 0.05$)。由图 4 可见,术后 6 周右侧股骨弹性模量、最大载荷和弯曲刚度与对照组相比降低($P < 0.05$),术后 12 周与对照组相比无统计学差异($P > 0.05$)。

2.4 胫骨骨折愈合与胫骨力学性能、胫骨力学性能与股骨 BMD 和股骨力学性能的相关性分析

术后 6 周胫骨骨折愈合情况与胫骨力学性能的相关分析结果见表 1。胫骨的放射学愈合情况与胫骨的各项力学性能高度正相关($P < 0.05$),机械性愈合情况与胫骨的各项力学性能高度正相关($P < 0.01$)。胫骨力学性能与股骨 BMD 和股骨力学性能的相关分析结果见表 2。胫骨的各项力学性能与股骨 BMD 高度正相关($P < 0.001$);胫骨的各项力学性能与股骨的股骨各项力学性能高度正相关($P < 0.001$)。

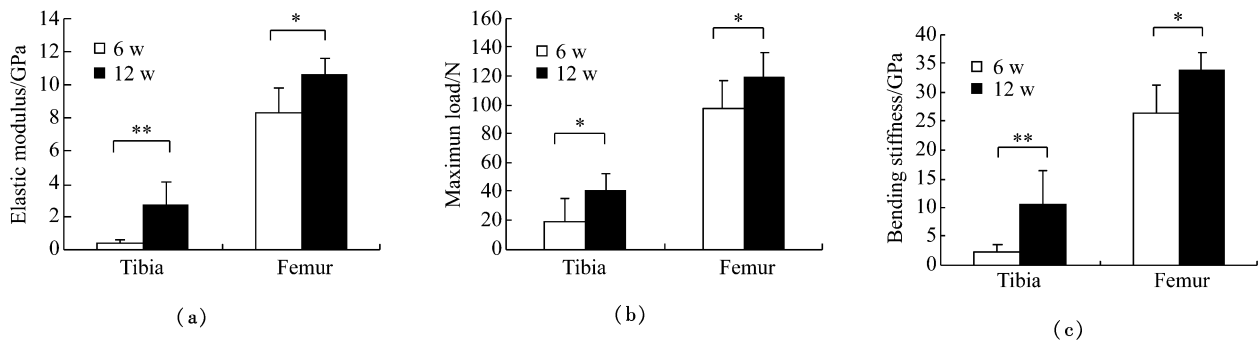


图3 大鼠右侧胫骨中段骨折术后右侧胫骨和股骨力学性能的变化 (a)弹性模量, (b)最大载荷, (c)弯曲刚度 (与术后12周相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig.3 Changes of mechanical properties of the right tibia and femur after the right tibia middle shaft fracture surgery in rats (a) Elastic modulus, (b) Maximum load, (c) Bending stiffness

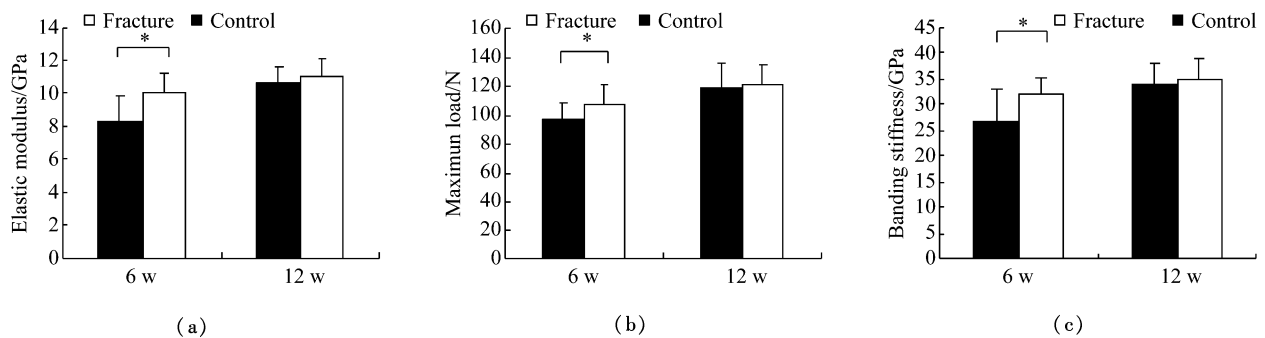


图4 大鼠右侧胫骨中段骨折术后右侧股骨力学性能的变化 (a)弹性模量, (b)最大载荷, (c)弯曲刚度 (与对照组股骨相比, * $P < 0.05$)

Fig.4 Changes of mechanical properties of the right tibia and femur after the right tibia middle shaft fracture surgery in rats (a) Elastic modulus, (b) Maximum load, (c) Bending stiffness

表1 胫骨骨折愈合与胫骨力学性能的 Spearman 等级相关系数 r

Tab.1 Spearman's correlation coefficients between the tibia fracture union and the mechanical properties

	弹性模量	最大载荷	弯曲刚度
放射学愈合	0.783 ($P=0.007$)	0.875 ($P=0.001$)	0.737 ($P=0.015$)
机械性愈合	0.798 ($P=0.006$)	0.798 ($P=0.006$)	0.798 ($P=0.006$)

表2 胫骨力学性能与股骨 BMD、股骨力学性能的 Pearson 相关系数 r ($P < 0.001$)

Tab.2 Pearson's correlation coefficients between mechanical properties of tibia, femoral BMD and mechanical properties of the femur ($P < 0.001$)

	股骨 BMD	股骨弹性模量	股骨最大载荷	股骨弯曲刚度
胫骨弹性模量	0.756	0.804	0.742	0.720
胫骨最大载荷	0.835	0.821	0.709	0.831
胫骨弯曲刚度	0.773	0.817	0.731	0.739

3 讨论

本研究根据废用性骨质疏松的发病机制^[3], 提出胫骨骨折后, 股骨可能发生废用性骨质疏松的假设。废用性骨质疏松是由于运动能力受限或功能障碍而引起骨矿含量减少所致的骨质疏松。局部的骨质疏松与肢体的负荷有直接的关系^[4], 骨骼生长发育遵循 Wolff 定律: 生长对机械应力总是以对他最有利的结构性反应产生形态改来适应。由于患肢长期制动, 其受到的有效应力刺激减少, 使成骨活动减弱, 骨吸收活动增强; 久之会表现为明显的废用性骨质疏松, 身体平衡及协调和对外界的保护性反应降低, 骨折危险性增加^[5]。胫骨骨折后, 股骨由于缺乏胫骨传导的力学刺激, 有可能发生废用性骨质疏松。期间若保护不当, 可能造成二次骨折, 延长愈合时间, 增加患者痛苦。因此有必要研究胫骨骨折后股骨是否发生了骨质疏松。

本实验采用的大鼠骨折模型是开放性骨折模型,与闭合性骨折模型相比,实验条件容易控制,直视下截骨具有定位准确、切断方法方便、内固定方法牢固、可靠的优点,样本的一致性和可比性较高。大鼠开放性骨折的机械性愈合时间一般在5~6周左右^[6],此时已有骨痂形成,可以做力学测试,但是力学传导功能没有完全恢复。骨折放射学愈合时间一般在8~12周,也就是骨折愈合晚期,此时为骨痂改建阶段。12周左右骨性骨痂已形成,基本完全恢复力学传导功能。因此,选择术后6周和12周作为力学性能的观察时间点。双能X线检测法允许在麻醉的生活状态下进行BMD检测,选用密集的时间点(术前,术后2、4、6、8、10、12周)动态观察股骨BMD的变化,可以实现同一个体的重复测量,减少个体差异。大鼠股骨的BMD和力学性能随鼠龄变化,成年大鼠股骨的BMD和力学性能高于未成年大鼠,6个月时处于较稳定状态,12个月以后发生增龄性骨质疏松,BMD和力学性能下降^[7]。本实验所选大鼠为12周大的刚刚成年的年轻大鼠,其BMD和力学性能仍然处于增加状态。为消除年龄因素对股骨BMD和力学性能的影响,在每个时间点都设了正常对照组。另外,试验设计中没有用左侧股骨作为对照组,是考虑到左侧股骨有可能发生代偿性的BMD和力学强度增加,因此用空白组作为对照,才能说明右侧股骨相对于正常股骨确实发生了骨质疏松,而不是相对于对侧而言。本实验使用的双能X线骨密度仪检测是目前临床上最常用的检测BMD的方法^[8],灵敏度与精确度较高,测定值已被世界卫生组织(WHO)定为骨质疏松诊断的金标准。本实验3点弯曲生物力学实验检测了股骨的弹性模量、最大载荷、弯曲刚度等生物力学性能的变化,他们能反映出骨的材料性能、结构力学性能等骨质量的变化。

本实验发现,胫骨是否骨折对股骨BMD的变化有显著影响,而且不同测量时间的股骨BMD有显著差异。胫骨骨折早期(2、4、6周),股骨BMD明显低于其他测量时间;术后2周和4周时较对照组降低了2.5个标准差以上,发生了骨质疏松^[9]。骨质疏松的症状之一是力学性能下降,易发生骨折。实验中发现手术后6周时右侧股骨生物力学性能指标均较对照组降低($P < 0.05$),符合骨质疏松的表现。可以认为大鼠胫骨骨折早期,同侧股骨发生了废用

性骨质疏松。相关分析结果表明,骨折后6周胫骨愈合情况与胫骨力学性能密切相关;胫骨力学性能与股骨BMD、股骨力学性能密切相关,其因果关系可表示为:胫骨愈合情况→胫骨力学性能→股骨BMD和股骨力学性能。胫骨愈合情况决定了胫骨力学性能;胫骨的力学性能代表其传导力学刺激的能力,胫骨的力学传导功能与股骨的骨质量相关,失去力学刺激,股骨发生适应性骨小梁微结构和密度的变化^[10],BMD下降;而BMD与骨的力学性能相关,可以作为预测骨质疏松骨的力学性能的指标之一^[11]。因此,胫骨愈合情况与股骨BMD和力学性能密切相关。从实验的检测时间来看,术后6周时,胫骨的愈合情况较差,力学性能低,同时股骨的BMD和力学性能下降,发生了骨质疏松;术后12周时,胫骨已完全愈合,力学性能提高,此时股骨的BMD和力学性能恢复正常,骨质疏松状态消失。这说明胫骨的愈合情况与股骨的骨质疏松状态密切相关。本实验结果得出两个主要结论:胫骨骨折早期,同侧股骨发生了废用性骨质疏松;股骨的BMD和力学性能恢复与胫骨的愈合情况密切相关。

实验结果提示,在临床上,不应只注重骨折的手术、固定等治疗,还要注重骨折恢复期的康复过程。预防和治疗局部的废用性骨质疏松,是骨折整个治疗过程中的一个重要环节。要预防骨质疏松的发生,必须正确处理骨折部位固定与功能锻炼的关系,使患肢能早期活动。坚强的骨折内固定,可免除石膏外固定或缩短外固定的时间;通过早期进行功能锻炼,减少废用性骨质疏松的发生和程度。

参考文献:

- [1] Judex S, Gupta S, Rubin C. Regulation of mechanical signals in bone [J]. *Orthod Craniofac Res*, 2009, 12(2): 94-104.
- [2] Dudley-Javoroski S, Shields RK. Muscle and bone plasticity after spinal cord injury: Review of adaptations to disuse and to electrical muscle stimulation [J]. *J Rehabil Res Dev*, 2008, 45(2): 283-296.
- [3] Bikle DD, Sakata T, Halloran BP. The impact of skeletal unloading on bone formation [J]. *Gravit Space Biol Bull*, 2003, 16(2): 45-54.

(下转第481页)