

高能震波对骨质疏松骨的结构及力学性能影响

李晓林 马焕芝 曾炳芳

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)05-0317-05

摘要:目的 探讨高能震波对骨质疏松骨的结构及力学性能影响。方法 40 只雌性新西兰兔去势, 建立骨质疏松动物模型。应用高能震波处理一侧股骨近端, 能量密度 0.26 mJ/mm^2 , 频率 60 次/min, 冲击量为 2000 次; 另一侧作为对照。分别于术后 4、8、12、24 周, 行 micro-CT、骨计量学及生物力学检测。结果 micro-CT 分析显示治疗组表观骨密度(Density of TV)、相对骨体积(BV/TV)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁数目(Tb.N)均明显高于对照组, 而骨表面积体积比(BS/BV)、骨小梁间隙(Tb.Sp)、骨小梁结构模型指数(SMI)较对照组少($P < 0.01$)。骨组织形态计量学检测显示治疗组骨小梁体积和骨小梁厚度增加, 骨小梁间距减少, 骨矿化沉积率明显降低($P < 0.05$), 骨小梁数目变化不明显($P > 0.05$)。股骨粗隆最大压缩载荷治疗组为 186.13 ± 15.64 , 对照组为 121.83 ± 17.82 , 治疗组明显高于对照组($P < 0.05$)。结论 高能震波能促进骨质疏松骨形成, 改善骨小梁的三维结构, 增加骨质密度, 改善力学性能, 可被用来局部治疗骨质疏松及骨质疏松性骨折, 预防再次骨折发生。

关键词: 骨质疏松症; 高能震波; micro-CT; 骨计量学; 生物力学

Effects of high energy shock waves on the bone structure and mechanical strength in experimental osteoporosis LI Xiaolin, MA Huanzhi, ZENG Bingfang. Department of Orthopedic Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Abstract: **Objective** To investigate the influence of the high energy shock waves on the bone structure and mechanical strength in experimental osteoporosis. **Methods** Forty female New Zealand white rabbits were underwent ovariectomy(OVX) to establish the osteoporotic models. Three months after OVX, the left limb(the study side) received shock wave therapy(0.26 mJ/mm^2 energy flux density with 2000 impulses) to the proximal femur. The right limb(the control side) received no shock wave therapy. Biopsies of the the proximal femurs were performed and each of them was examined by by micro-CT, bone histomorphometry, biomechanical testing at 4, 8, 12 and 24 weeks after treatment. **Results** Microstructure of the trabecular bone in proximal femur 24 weeks after treatment showed that the Density of TV, BV/TV, Tb.Th, Tb.N at the study side increased significantly Compared with the control side, however the BS/BV, Tb.Sp, SMI and MAR decreased significantly($P < 0.01$). In biomechanical testing, the maximum compressing strength of trabecular bone in the study side 24 weeks after treatment was higher than that in control side($P < 0.05$). **Conclusion** High energy shock wave treatment can accelerate the bone formation, increase the bone density, decreasing the rate of bone turnover and the good change of the microstructure, improve the bone quality and bone biomechanical strength. fracture in rats, and improves the mechanical strength. It maybe an alternative method to local treatment of osteoporosis and osteoporotic fractures clinically.

Key words: Osteoporosis; High energy shock wave; micro-CT; Microstructure; Mechanical testing

骨质疏松症及骨质疏松骨折发病率高、死亡率及致残率高、保健费用巨大, 是一个严重的公共健康

问题。骨质疏松性骨折复位固定困难, 易移位松动失败, 骨愈合迟缓恢复期长, 骨质疏松加重极易再次发生骨折。高能震波是近来骨科领域的崭新非侵入性治疗方法, 被证实能刺激骨痂生长, 诱导血管再生, 促进骨愈合, 用于治疗骨不连、股骨头坏死等。

为了探讨高能震波对骨质疏松的治疗作用,我们观察了高能震波对骨质疏松大鼠骨结构及力学性能的影响并探讨其机理。初步报道如下。

1 材料和方法

1.1 骨质疏松症动物模型的建立

取健康成年雌性新西兰白兔 40 只,平均年龄为 5 个月,体重 3.0~4.0 kg,平均 3.4 kg。由上海宝牧实验动物养殖场提供。采用去势方法来建立模型,即以 0.25% 的戊巴比妥静脉麻醉,在无菌条件下由正中切开腹腔,切除双侧卵巢。给以低钙饮食(钙含量 0.025%)。去势后 3 个月后经双能 X 线骨密度仪(HOLOGIC QDR-4000)测量,BMD 与去势前比较均小于去势前均值的 2.5 SD,证实骨质疏松模型建立。

1.2 高能震波治疗实验

采用以色列 MEDISPEC 公司生产的 Orthospec(TM)骨伤科震波治疗仪进行治疗实验。治疗前用脱毛剂(硫酸钡)将兔双髌皮肤绒毛脱净,涂上医用超声耦合剂 2.5% 的戊巴比妥静脉麻醉,绑扎固定于自制兔台上,将高能震波的焦点对准股骨近端。所有实验兔左后腿作为治疗侧,用能流密度 0.26 mJ/mm²,频率 60 次/min,冲击量为 2000 次的高能震波治疗,右后腿作为对照侧,不予治疗。

1.3 观察指标

1.3.1 Micro-CT 测定:高能震波治疗后 4、8、12 和 24 周分别注射过量麻醉剂处死 5 只兔,取出左右股骨近端标本,10% 的甲醛溶液固定 24~48 h 后进行 micro-CT 检测。将样本置于 Micro-CT 系统的检测试管内,沿标本的长轴方向扫描,获取连续的 Micro-CT 图像,平面图像分辨率 2048×1024,像素点尺寸 20×20 μm,层间距 20 μm。扫描完成后在主机上手动圈出感兴趣区域(range of interests, ROI),CT 值高于 1000 定为骨组织。兴趣区:股骨颈、股骨粗隆部。进行扫描图像的三维重建后,采用直接法和间接法计算评估。检验参数包括:①骨小梁的体积(bone volume, BV),样本的体积(total volume, TV)与骨体积分数(bone volume fraction, BVF),即 BV 除以 TV;②骨小梁间隙(trabecular spacing, Tb. Sp);③骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb. Th);④骨小梁数目(trabecular number, Tb. N);⑤结构模型指数(structure model index, SMI)。

1.3.2 骨组织不脱钙切片的制备与观察:骨组织形

态计量学分析于高能震波治疗后 4、8、12 和 24 周分别注射过量麻醉剂处死 5 只兔,在动物处死前的 14 和 2 d 腹腔注射及钙黄绿素 30 mg/kg 和四环素(华美生物工程公司)50 mg/kg。取出左右股骨近端标本,去除附件及附着的软组织,用自来水反复冲洗,Million's 液 4℃ 时固定 72 h,乙醇梯度脱水,甲基丙烯酸甲酯渗透包埋。硬化后不脱钙切片机行 5 和 20 μm 两种切片。厚片用中性树脂封片后在荧光显微镜下观察,薄片用乙二醇乙醚乙酸酯脱塑,三色法染色后作形态计量学分析。测定以下参数:①组织面积(T. Ar)是骨小梁面积与髓腔面积之和;②骨小梁面积(Tb. Ar);③骨小梁表面总长度(Tb. Pm)。标记间距离(dL. Wi)然后计算下列参数:骨小梁体积(TV/BV),平均骨小梁宽度(Tb. Th),平均骨小梁间距(Tb. SP),骨小梁数(Tb. N)和标记间距离(dL. Wi)。根据以上测量指标计算以下指标:骨小梁体积(TV/BV)=Tb. Ar/T. Ar×100%;平均骨小梁宽度(Tb. Th)=2000/1.199×(Tb. Ar/Tb. Pm);平均骨小梁间距(Tb. SP)=2000/1.199×(T. Ar-Tb. Ar)/Tb. Pm;骨小梁数(Tb. N)=1.199/2×(Tb. Pm/T. Ar);骨矿化沉积率(MAR)=dL. Wi/10。

1.3.3 生物力学检测:将术后 24 周已行 Micro-CT 测定股骨标本,-20℃ 冰箱中取出,自然解冻,去除股骨头、颈,小心截取 1 cm 长粗隆骨,两端打磨成上下平行的平面。将制备好的试样置于德国产 Zwick Roell Z010 试验机压盘中心进行压缩实验。计算机处理系统实时监控测验过程,自动得出每批试样测量值。

1.4 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计学软件进行数据分析,组间均数比较用 *t* 检验,率比较用卡方检验。*P* < 0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

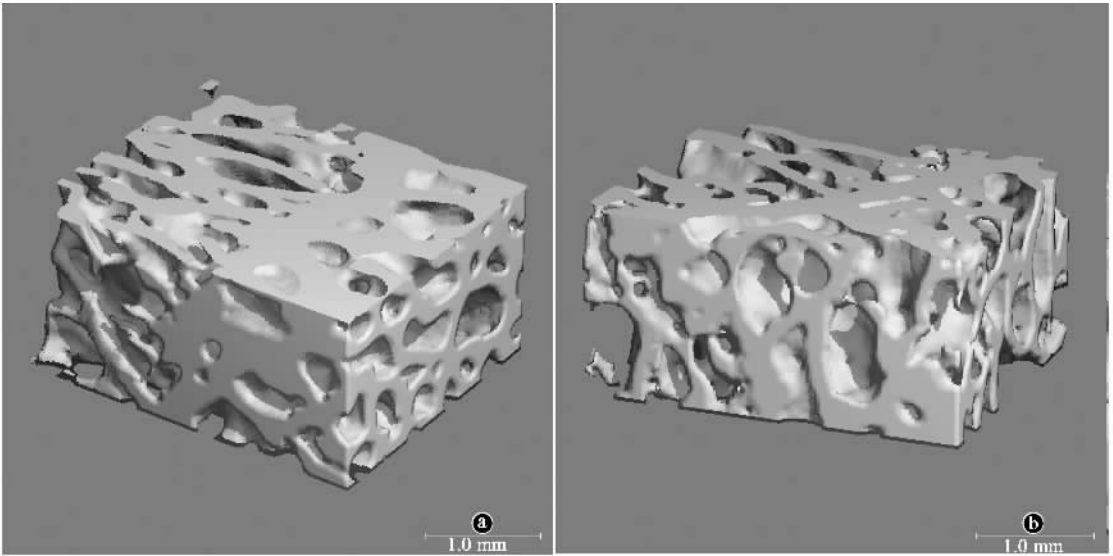
2.1 Micro-CT 测定

高能震波治疗后 8 周开始骨质疏松兔治疗侧股骨粗隆样本的表现骨密度(Density of TV),相对骨体积(BV/TV),骨小梁厚度(Tb. Th),骨小梁数目(Tb. N)明显高于对照侧,而骨表面积体积比(BS/BV),骨小梁间隙(Tb. Sp),骨小梁结构模型指数(SMI)较对照组少(表 1)。三维重建图像也直观地显示出治疗组的骨小梁密度及粗细程度均高于对照组(图 1)。

表 1 高能震波治疗后 24 周兔股骨粗隆样本的空间结构参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	Density of TV (mg HA/ccm)	(BV/TV)%	BS/BV (mm ⁻¹)	Tb·Th (mm)	Tb·N (mm ⁻¹)	Tb·Sp (mm)	SMI
对照组	6	393.5 ± 26.8	47.2 ± 6.8	6.29 ± 1.32	0.32 ± 0.08	1.78 ± 0.18	0.48 ± 0.05	0.74 ± 0.11
治疗组	6	234.9 ± 20.3**	18.7 ± 4.1**	13.01 ± 2.8**	0.19 ± 0.05*	1.14 ± 0.12*	0.80 ± 0.07*	1.53 ± 0.16*

注 :两组间比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$



a 为治疗组 ,骨小梁体积大 ,密度高 ,间隙小 ;b 为对照组 ,骨小梁的体积、数目少 ,间隙大

图 1 股骨粗隆部松质骨三维重建图像

2.2 骨组织形态计量学

光镜组织形态图像分析 ,高能震波治疗后 4 周骨组织形态计量学指标变化不明显 ,8 周开始治疗

组骨小梁体积和骨小梁厚度增加 ,骨小梁间距减少 ,骨矿化沉积率明显降低($P < 0.05$) ,骨小梁数目变化不明显($P > 0.05$ 表 2)

表 2 高能震波治疗后 24 周兔股骨粗隆骨计量学参数比较($\bar{x} \pm s$)

分组	动物数	TV/BV (%)	Tb. Th(μm)	Tb. N(/mm)	Tb. Sp(μm)	MAR($\mu\text{m/d}$)
治疗组	6	52.967 ± 10.598 *	362.47 ± 62.968 *	1.018 ± 0.06	350.01 ± 80.779 *	2.337 ± 0.249**
对照组	6	16.907 ± 7.737	169.44 ± 19.855	1.024 ± 0.03	631.58 ± 81.286	2.909 ± 0.236

注 :两组间比较 * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$

2.3 骨生物力学

高能震波治疗后 24 周 ,股骨粗隆最大压缩载荷分别为 :治疗组 233.13 ± 15.64 ,对照组 121.83 ± 17.82。治疗组最大载荷明显高于对照组($P < 0.05$)

3 讨论

随着人口的老年化骨质疏松及骨质疏松性骨折发病率不断增加^[1-3]。髌部骨折因其致残、致死率高 ,后果最为严重 ,研究显示髌部骨折发生后 ,12%

~ 20% 的患者死亡 ,50% 需要终生他人护理 ,没有人可以恢复到骨折前的功能水平^[3-4]。骨质疏松性骨折复位固定困难 ,易移位松动失败 ,骨愈合迟缓恢复期长 ,骨质疏松加重极易再次发生骨折。外科治疗骨质疏松性骨折的同时应重视骨质疏松症的治疗 ,减少骨丢失防止再次骨折 ,但药物治疗周期长、费用高、依从性较差 ,这要求临床医生探索新的经济、方便治疗方法。

高能震波(high energy shock waves , HESW)是高压放电而产生的一种高能冲击波 ,以声学特性传播 ,

只有在相同声阻抗的递质中才能不衰减地直线传导。它是利用液电能量转换和传递原理,在不同密度组织之间产生能量梯度差及扭拉力。由于人体软组织的声阻抗和水相似,而骨组织和结石的声阻抗相同,大约是水的5倍。高能震波穿过人体软组织时不会衰减和引起组织损伤,遇到不同密度或声阻抗界面时(如骨组织和结石),由于声阻抗突然改变,震波能量就会释放出来,产生切应力和空化效应,造成结石或骨的碎裂,引起组织细胞的生物化学效应。高能震波最早是用来碎石的,随着人们对冲击波的物理学特性及其对组织的影响进行了广泛深入的研究,体外冲击波治疗的应用范围也越来越广泛。1988年,德国人运用体外冲击波在人体治疗骨不连获得成功。1993年骨科专用体外冲击波治疗仪研制成功,对长骨骨折不愈合、钙化性肌腱炎、骨外上髁炎及足底筋膜炎的治愈率已达到65%~91%,而且没有或仅有较少并发症。1995年,人们开始尝试利用冲击波的物理特性治疗其他疾病,如股骨头缺血性坏死。由此,逐渐演变产生了治疗骨肌系统疾病的体外冲击波疗法(Extracorporeal Shock Wave Therapy, ESWT)。高能震波的最大优点就是它的非侵入性和非常小的局部并发症,安全性高,同时高能震波治疗的价格适中,疗程短,使用简单方便^[18-21]。

随着高能震波治疗的应用和研究广泛开展,对高能震波的生物学特性的认识不断加深。研究显示,高能震波对骨组织不仅能造成微小骨折、形成小血肿,刺激骨痂生长,诱导骨生长,促进骨愈合,同时也有促进多种骨生长因子的生成作用。研究表明,高能震波能促进多种骨生长因子的生成^[22-26],它们共同作用可刺激成骨细胞的活性,调节局部成骨。如BMP、转化生长因子(TGF)- β 、血小板衍生生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、VEGF、上皮生长因子(EGF)等,可进一步刺激间充质细胞聚集、增殖及血管形成。同时BMP有较强的跨种属诱导成骨活性和骨损伤修复作用。Wang等^[27]在造成新西兰兔股骨骨折后分别用0.18 mJ/mm²能量震波,2000次震波剂量和0.47 mJ/mm²能量震波,4000次震波剂量处理,并于对照组比较,发现高能震波促进骨愈合,增加骨密度和骨强度,并呈剂量依赖关系。我们用能流密度0.26 mJ/mm²,频率60次/min,冲击量为2000次的高能震波治疗兔骨质疏松动物模型,结果显示其能提高骨质疏松兔股骨粗隆观骨密度、相对骨体积、骨小梁厚度、骨小梁数目,骨小梁间距减少,骨矿化沉积率

明显降低。生物力学检测显示高能震波治疗后股骨粗隆最大压缩载荷明显高于对照组。

国内外大量文献报道均认为高能震波是一种十分安全可靠的治疗方法。Brümmer等^[28]复习大量文献表明,ESWT临床应用或动物实验都不会损伤组织、器官,它的安全性主要表现在以下2个方面:①人体软组织与水有着相似的声阻抗,高能震波穿过时不会引起能量释放而损伤组织;②高能震波能精确定位和聚焦,使能量高度集中于靶区内发挥效应。虽然如此,高能震波也不是毫无创伤性的,它在治疗过程中可以引起周围正常组织的轻度、可复性损伤(如肿胀、皮下淤血、淤斑等);高能震波还可以干扰心电引起心律失常,心电监护、心电起爆可以减少严重并发症的发生。故凝血异常以及严重的心律失常为禁忌证^[29]。另外,高能震波治疗作用的靶区范围较小,对于骨质疏松干预治疗来说区域太小需要不断调整位置给治疗带来不方便。

总之,研究结果提示高能震波能促进骨形成,降低骨矿化沉积率,改善骨小梁的三维结构,增加骨质密度,改善力学性能;可能被用来局部治疗和预防髌部或其他部位骨质疏松症或骨质疏松性骨折,治疗的合适能量强度和剂量参数有待于进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] Dennison E, Cole Z, Cooper C. Diagnosis and epidemiology of osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol*, 2005, 17: 456-461.
- [2] Cooper C, Campion G, Melton LJ 3rd. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int*, 1992, 2(6): 285-289.
- [3] Górecki A, Chmielewski D. Osteoporotic fractures-reduction of the risk is possible. *Ortop Traumatol Rehabil* 2006, 8(4): 422-424.
- [4] Andersson GB, Bostrom MP, Eyre DR, et al. Consensus summary on the diagnosis and treatment of osteoporosis. *Spine*, 1997, 22(24 Suppl): 63S-65S.
- [5] Wu XP, Liao EY, Zhang H, et al. Determination of age-specific bone mineral density and comparison of diagnosis and prevalence of primary osteoporosis in Chinese women based on both Chinese and World Health Organization criteria. *J Bone Miner Metab*, 2004, 22: 382-391.
- [6] Li NH, OU PZ, Zhu HM, et al. Prevalence rate of osteoporosis in the mid aged and elderly in selected parts of China. *Chinese Medical journal* 2002, 115(5): 773-775.
- [7] Huang GY. Diagnosis and treatment of osteoporotic fracture. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2006, 26(4): 233-235 (in Chinese).
- [8] Stromsoe K. Fracture fixation problems in osteoporosis. *Injury*, 2004, 35(2): 107-112.
- [9] Hao YJ, Zhang G, Wang YS, et al. Changes of microstructure and mineralized tissue in the middle and late phase of osteoporotic fracture

- healing in rats. Bone , 2007 , 41 :631-638.
- [10] Hao YO , Dai KR. Ultrastructure observation of experimental osteoporotic fracture healing. Chinese Journal of Orthopaedics , 2004 , 24(11) : 670-673 (in Chinese).
- [11] Hao YO , Dai KR. An experimental study on the correlation of osteoporotic fracture healing with bone mass , bone structure and mechanical strength. Chinese Journal of Osteoporosis , 2005 , 11 (3) 273-277 (in Chinese).
- [12] Schroder HM , Peterson KK , Erlandsen M. Occurrence and incidence of the second hip fracture. Clin Orthop , 1993 :289-296.
- [13] Klotzbuecher CM , Ross PD , Landsman PB , et al. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures : a summary of the literature and statistical synthesis. J Bone Miner Res , 2000 , 15(4) : 721-739.
- [14] van Staa TP , Leufkens HG , Cooper C. Does a fracture at one site predict later fractures at other sites ? A British cohort study. Osteoporos Int , 2002 , 13(8) :624-629.
- [15] Rosier RN. Expanding the role of the orthopaedic surgeon in the treatment of osteoporosis. Clin Orthop , 2001 , (385) :57-67.
- [16] Delmas PD. Treatment of postmenopausal osteoporosis. Lancet , 2002 , 359(9322) :2018-2026.
- [17] Hochberg M. Preventing fractures in postmenopausal women with osteoporosis. A review of recent controlled trials of antiresorptive agents. Drugs Aging , 2000 , 17(4) :317-330.
- [18] McClure SR , Van Sickle D , White MR. Effects of extracorporeal shock wave therapy on bone. Vet Surg , 2004 , 33(1) :40-48.
- [19] Wang CJ. An overview of shock wave therapy in musculoskeletal disorders. Chang Gung Med J. 2003 , 26(4) :220-232.
- [20] Flinn S , Riordan J. Extracorporeal Shock Wave Therapy (ESWT) in Musculoskeletal Disorders. Internal Medicine Journal , 2002 , 32(1-2) :A9.
- [21] Schaden W , Fischer A , Sailler A. Extracorporeal shock wave therapy of nonunion or delayed osseous union. Clin Orthop , 2001 (387) :90-94.
- [22] Wang L , Qin L , Lu HB , et al. Extracorporeal shock wave therapy in treatment of delayed bone-tendon healing. Am J Sports Med , 2008 , 36(2) :340-347.
- [23] Ma HZ , Zeng BF , Li XL. Upregulation of VEGF in Subchondral Bone of Necrotic Femoral Heads in Rabbits with Use of Extracorporeal Shock Waves. Calcif Tissue Int , 2007 , 81(2) :124-131.
- [24] Ma HZ , Zeng BF , Li XL , et al. Temporal and spatial expression of BMP-2 in subchondral bone of necrotic femoral heads in rabbits by use of extracorporeal shock waves. Acta Orthopaedica , 2008 , 79 (1) :98-105.
- [25] Chen YJ , Wang CJ , Yang KD , et al. Extracorporeal shock waves promote healing of collagenase-induced Achilles tendinitis and increase TGF-beta1 and IGF-I expression. J Orthop Res , 2004 , 22 (4) :854-861.
- [26] Chen YJ , Wurtz T , Wang CJ , et al. Recruitment of mesenchymal stem cells and expression of TGF-beta 1 and VEGF in the early stage of shock wave-promoted bone regeneration of segmental defect in rats. J Orthop Res , 2004 , 22(3) :526-534.
- [27] Wang CJ , Yang KD , Wang FS , et al. Shock wave treatment shows dose-dependent enhancement of bone mass and bone strength after fracture of the femur. Bone , 2004 , 34(1) :225-230.
- [28] Brümmer F , Brauner T , Hulser D. Biological effects of shock waves. World J Urol , 1990 , 8 :224-232.
- [29] Haupt G , Haupt A , Ekkemkamp A , et al. Influence of shock waves on fracture healing. Urology , 1992 , 39 :529-532.

(收稿日期 : 2009-01-05)