

· 论著 ·

振动力学刺激对骨质疏松性骨折愈合的影响

施鸿飞 梁国穗 张颖恺 熊进 陈一心 邱勇

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2012)02-0130-05

摘要: 目的 本研究旨在探讨高频率低能量的振动力学刺激对骨质疏松性骨折愈合的影响。方法 59只大鼠建立大鼠卵巢切除骨质疏松模型,建模成功后构建股骨骨折模型,并随机分为振动力学刺激组和对照组。骨折后第5天开始对振动组使用高频率低能量振动平台(35Hz,峰振幅0.3重力加速度)行每天20min的振动力学刺激,对照组则行假治疗。每周摄X线片观察骨折愈合的情况,并采用显微计算机断层扫描和生物力学测试评估骨痂生成的情况及其力学属性。结果 X线随访显示,振动组的骨折愈合速度和愈合率均优于对照组。前者新生矿化骨痂的体积在治疗后第2周和第4周时均显著高于后者。第8周时,振动组成熟骨痂的体积以及整体的力学强度均显著优于对照组。结论 高频率低能量振动力学刺激可促进骨质疏松性骨折的愈合。

关键词: 振动;力学刺激;骨折愈合;骨质疏松

Effects of mechanical stimulation in the form of vibration on osteoporotic fracture healing SHI Hongfei¹, LEUNG Kwok-sui², CHEUNG Winghoi², et al. ¹Department of Orthopedics, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China; ²Department of Orthopedics and Trauma, Chinese University of Hong Kong

Corresponding author: SHI Hongfei, Email: dr.hfshi@gmail.com

Abstract: Objective To explore the effects of low-magnitude high-frequency vibration stimulation (LMHFV) on osteoporotic fracture healing. Methods Closed femoral shaft fracture was established in 59 SD rats following bilateral ovariectomy. The rats were randomly divided into the vibration group and the control group. The LMHFV treatment (35Hz with peak vibration 0.3 Gravity acceleration) was performed to the rats at vibration group for 20 minutes every day beginning at the 5-day after the fracture. Sham-treatment was performed to the rats at the control group. Weekly radiographies were taken to assess the healing status. Three-dimensional quantification of mineralized callus formation was performed with micro-CT. Mechanical outcomes were checked with four-point-bending tests. Results Radiographic follow-up results showed that the healing rate of rats in the vibration group was higher than that in the control group. The newly formed mineralized callus area of rats in the vibration group was larger than that in the control group after 2 and 4 weeks of the treatment. At 8 weeks, rats in the vibration group presented significantly larger volume of matured callus and better mechanical properties than rats in the control group. Conclusion LMHFV enhances the healing of osteoporotic fracture.

Key words: Vibration; Mechanical stimulation; Fracture healing; Osteoporosis

随着人口老龄化,骨质疏松及其所诱发的骨折已成为严重危害中老年人健康的疾病^[1]。研究表明

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助(0214-1434-0029);南京市青年科技人才启动项目(QYK10147)

作者单位:210008 南京,南京大学医学院附属鼓楼医院骨科(施鸿飞、熊进、陈一心、邱勇);香港中文大学矫形外科及创伤学系(梁国穗、张颖恺)

通讯作者:施鸿飞,Email:dr.hfshi@gmail.com

明,骨质疏松性骨折的愈合存在着种种不利因素。首先,高龄伴随着间充质干细胞、骨细胞和成骨细胞数量和活性的下降^[2],降低了骨修复与再生的能力;其次,骨组织微结构的退化降低了内固定的强度^[3],妨碍了手术后早期的功能锻炼和有益的力学刺激,延缓了骨折的愈合^[4]。这些因素导致骨质疏松性骨折愈合的时间明显延长,增加了临床治疗的难度。如何促进骨质疏松性骨折的愈合,是骨科临

床及科研工作者所迫切需要解决的问题。

高频率低能量的振动力学刺激 (low-magnitude high-frequency vibration, LMHFV) 是一种无创的生物物理学治疗方式, 其被证实可有效提高骨质疏松患者的骨量^[5-7]。笔者在前期的动物实验中发现, LMHFV 还具有促进非骨质疏松性骨折愈合的作用, 其对骨痂形成、矿化和改建等生物学过程均可提供正性干预^[8]。基于 LMHFV 既可以治疗骨质疏松、又可以刺激骨折愈合的特点, 笔者推测其对骨质疏松性骨折的愈合可能发挥一定的促进作用。本研究拟通过动物模型来探讨 LMHFV 对骨质疏松性骨折愈合的影响, 以期为进一步的临床应用和机制研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 动物模型及分组

59 只 6 月龄雌性 Sprague-Dawley 大鼠, 体重 200~250g。参照笔者前期研究中的方法构建骨质疏松模型^[9]: 大鼠在 6 月龄时经背侧切口切除双侧卵巢, 饲养 3 个月后, 在 9 月龄时达到骨质疏松状态。随后构建股骨骨折模型^[8]: 大鼠麻醉后取右膝内侧纵行切口, 暴露髌股关节面并向股骨髓腔内逆行置入直径 1.2 mm 的克氏针, 缝合切口后使用特制的三点折弯骨折装置于股骨干中段制造闭合性的横行骨折, 摄前后位及侧位 X 线片以确定骨折线为横行, 不符合者剔除。

骨质疏松性骨折模型构建成功后, 将大鼠随机分为振动力学刺激组(简称振动组)和对照组。振动组自骨折后第 5 天(已恢复患肢负重行走)开始, 采用香港中文大学矫形外科及创伤学系研制的动物实验用振动平台进行每天 20min、每周 5d 的全身性 LMHFV 治疗(35 Hz, 峰振幅 0.3g, g 代表一个重力加速度), 对照组则接受假治疗^[8]。本实验中振动力学刺激的规格被证实在骨质疏松的情况下具有明显的成骨作用^[10,11]。

1.2 骨折愈合的影像学评估

治疗开始后每周摄大鼠股骨前后位及侧位 X 线片(Faxitron X-ray Corporation, 美国)以评估骨折愈合情况。当两个平面的 X 线片上均观察到骨折周围骨性骨痂的桥接时, 考虑骨折已愈合^[12]。于第 4 周和第 8 周时计算两组的骨折愈合率。

1.3 矿化骨痂的三维影像学评估

于第 2、4、8 周取股骨标本(每组 6 只), 去除克氏针后采用显微计算机断层扫描仪(μ CT-40, Scanco

Medical, 瑞士)进行扫描, 行三维重建后分析骨痂生长及改建情况。通过内建软件对骨折周围钙化骨痂的体积进行分类定量, 骨痂中密度较低的部分(CT 值介于 120~325 之间)被认为代表新生矿化骨痂, 而密度高的部分(CT 值 > 325)代表原始皮质骨以及骨痂中较成熟的部分^[8], 其体积分别由 BV_i 和 BV_b 来代表, 这两部分骨痂的体积总和为 BV_t。

1.4 生物力学测试

治疗后 8w 时, 振动组和对照组各处死 8 只大鼠, 取股骨并去除克氏针后行四点弯曲生物力学测试(H25KS Hounsfield Test Equipment Ltd, 英国)。测试时内、外支点的间距分别为 8mm 和 20mm, 而支点的位移速率为 5 mm/min^[8]。测量标本的最大载荷(UL)和硬度(stiffness)以评价其生物力学属性。

1.5 统计学处理

每个随访时间点测得的 BV_i、BV_b、BV_t、UL 和硬度等实验结果均行独立样本 t 检验(SPSS 15.0, SPSS Inc, 美国)以比较振动组和对照组之间的差异。P < 0.05 时认为其有统计学意义。

2 结果

2.1 骨折愈合的影像学分析

59 只大鼠中, 2 只行卵巢切除术后意外死亡, 另 5 只因骨折类型非横行而被排除, 余 52 只(每组 26 只)被纳入分析。治疗开始后 2w 时, 两组在 X 线片上均观察到明显的外骨痂生成, 随后透亮的骨折线逐步被矿化骨痂填充并消失, 骨痂形成桥接。连续的随访观察到, 振动组骨折端骨痂桥接的速度快于对照组(图 1)。治疗后 4w 时, 治疗组 14.3% 的骨折观察到了影像学愈合, 对照组愈合率为 0%; 8w 时, 振动组愈合率为 100%, 对照组则为 71.4%。

2.2 矿化骨痂的三维影像学评估

矿化骨痂的三维定量分析结果见表 1。治疗后 2w 时, 骨折区域周围均出现新生矿化骨痂, 振动组新生骨痂较对照组明显(图 2), 前者的 BV_i 和 BV_t 高均显著高于后者(P = 0.005 和 0.003); 治疗后 4w, 振动组骨折区域未被矿化骨痂桥接的间隙小于对照组(图 2), 前者 BV_i 和 BV_t 仍显著高于后者(P = 0.002 和 <0.001); 8w 时, 振动组骨折区域已完全由矿化骨痂桥接, 而对照组中仍可见到骨折间隙(图 2), 两组 BV_i 和 BV_t 的值均已降低, 而 BV_b 则显著增高, 其中振动组 BV_b 显著高于对照组(P = 0.049)。

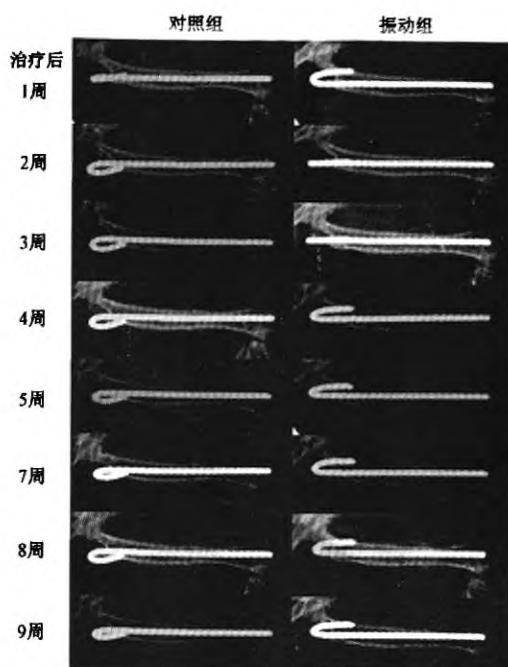


图1 随访X线片显示,振动组骨折端
骨痂桥接的速度快于对照组

表1 骨折端矿化骨痂的三维定量分析($\bar{x} \pm s$)

时间	分组	BV ₁ (mm ³)	BV _h (mm ³)	BV _t (mm ³)
治疗后2w	振动组	47.8 ± 4.9*	29.2 ± 2.9	77.0 ± 6.3*
	对照组	40.1 ± 2.2	26.6 ± 1.5	66.7 ± 1.8
治疗后4w	振动组	49.0 ± 3.0*	31.5 ± 2.3	80.5 ± 2.5*
	对照组	40.1 ± 4.1	30.7 ± 2.6	70.9 ± 2.8
治疗后8w	振动组	23.5 ± 1.0	44.3 ± 4.2*	67.8 ± 4.0
	对照组	26.3 ± 3.5	38.0 ± 5.4	64.4 ± 6.8

注: * 振动组与对照组存在显著性差异($P < 0.05$, 独立样本t检验)

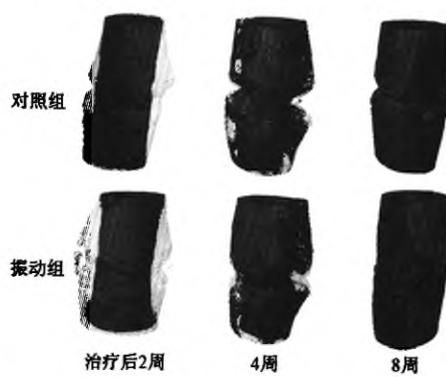


图2 振动组和对照组不同时期取材标本矿化骨痂的
显微计算机断层扫描三维重建图像

2.3 生物力学测试

治疗后8w时,振动组测得的股骨UL较对照组高23.1% ($P = 0.019$),前者的硬度也显著高于对

照组($P = 0.033$)。

3 讨论

3.1 骨质疏松性骨折愈合的特点和临床干预进展

骨折愈合是一个以恢复骨的解剖形态和生理功能为目的的、有着复杂调控机制的、有序的修复和重建过程。骨质疏松性骨折的愈合与普通骨折类似,包含了血肿生成、炎性反应、血管生成、骨痴形成、骨痴矿化和改建等的生物学过程,然而临床和基础研究均提示,骨质疏松性骨折的愈合明显慢于普通骨折^[13]。Nikolaou等^[14]发现,骨质疏松症患者股骨骨折的平均愈合时间较非骨质疏松性骨折延长了19.7%。在动物实验中,Wang等报道了骨质疏松导致骨折愈合过程中软骨内成骨过程延长的现象^[15],笔者则在前期研究中证实,骨质疏松对骨折愈合膜内成骨的过程也产生负性作用^[9]。郝永强研究发现,骨质疏松骨折新生骨痴组织的有机成分组成、显微结构等均有异常改变,而这与成骨细胞和破骨细胞的功能活性改变有关^[16]。

Goldhahn^[17]认为,对骨质疏松性骨折进行临床干预,应以加速骨折愈合、促进功能康复和降低并发症为目标。现有的干预方法包括术中进行同种异体骨移植和磷酸钙骨水泥填充,其均旨在提供额外的力学稳定性和骨传导支架,以促进骨折愈合^[18,19]。此外,使用骨形态发生蛋白(BMP-2、OP-1和GDF-5等)、甲状旁腺激素(PTH)、生长激素(GH)等来促进骨折愈合已为人们所熟知,但这些生物学手段的有效性尚未在骨质疏松性骨折中得到证实^[20]。Pountos^[21]在体外实验中发现,BMP-2可促进骨质疏松患者间充质干细胞的增殖和成骨分化,这为使用BMP-2来促进骨质疏松性骨折愈合提供了一定的理论依据。

3.2 振动力学刺激的生物学效应

力学刺激在骨骼的生长发育、改建以及修复过程中起着举足轻重的作用。笔者在前期研究中,致力于寻找安全有效且易于控制的力学刺激方法,以期干预并促进骨折愈合的过程。本研究中所采用的35Hz、峰振幅0.3重力加速度的振动力学刺激(LMHFV),在前期研究中被证实对非骨质疏松性骨折的愈合具有促进作用^[8,22]。而在本研究中,振动组骨折端骨痴的桥接快于对照组,前者的骨折愈合率在治疗后4w及8w时均明显高于后者,从而证实了笔者的实验假设,即LMHFV可有效促进骨质疏松性骨折的愈合。

本研究中,三维影像学定量分析显示,振动组在2w时的新生骨痂体积(BV_1)高于对照组,这提示LMHFV具有促进骨痂生成的作用。随着新生骨痂的矿化和改建,其逐渐被成熟骨痂所替代,也伴随着 BV_1 值的降低以及 BV_b 值的升高。振动组和对照组相比,在第8周时,前者的 BV_1 值已低于后者,而 BV_b 值则显著高于后者,这说明LMHFV可促进骨痂的矿化和改建,并加速新生骨痂向成熟骨痂转化的过程。这一影像学结果得到了生物力学测试指标的支持,振动组在治疗后8w时,表现出明显优于对照组的力学属性。这些现象进一步明确了LMHFV的作用特点,即其对骨质疏松性骨折愈合中的骨痂形成、矿化和改建等生物学过程均具有促进作用。

3.3 临床应用前景

虽然缺乏深入的机理研究,LMHFV对骨质疏松性骨折愈合的促进作用在本研究的动物模型中得到了充分证实。由于其提供的是接近生理状态的力学刺激^[23,24],安全无创,并且不依赖于复杂的操作,使用简便而经济,因此有望成为一种简单有效的临床治疗手段。笔者所在课题组正在进行一项前瞻性的针对老年股骨转子间骨折患者的多中心随机对照研究,初步结果显示,LMHFV可以促进股骨转子间骨折的愈合,并提高患者的康复效果。

综上所述,本研究证实高频率低能量的振动力学刺激可有效促进大鼠骨质疏松性骨折的愈合,该促进作用表现在促进骨痂生成、矿化、以及改建方面,并最终使骨折获得更好的生物力学强度。LMHFV作为一种有效的生物物理学干预手段,在促进骨质疏松性骨折愈合方面具有广阔的临床应用前景。

【参考文献】

- [1] China Health Promotion Foundation White Paper on Osteoporosis in China. Chin J Health Manage, 2009, 3(3): 148-154.
- [2] Augat P, Simon U, Liedert A, et al. Mechanics and mechano-biology of fracture healing in normal and osteoporotic bone. Osteoporos Int, 2005, 16 Suppl 2: S36-S43.
- [3] Shi HF, Xiong J, Chen YX, et al. Management of proximal humeral fractures in elderly patients with uni-or polyaxial locking osteosynthesis system. Arch Orthop Trauma Surg, 2011, 131(4): 541-7.
- [4] DiPietro L. Physical activity in aging: changes in patterns and their relationship to health and function. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2001, 56(2): 13-22.
- [5] Ward K, Alsop C, Caulton J, et al. Low magnitude mechanical loading is osteogenic in children with disabling conditions. J Bone Miner Res, 2004, 19(3): 360-369.
- [6] Iwamoto J, Takeda T, Sato Y, et al. Effect of whole-body vibration exercise on lumbar bone mineral density, bone turnover, and chronic back pain in post-menopausal osteoporotic women treated with alendronate. Aging Clin Exp Res, 2005, 17(2): 157-163.
- [7] Rubin C, Recker R, Cullen D, et al. Prevention of postmenopausal bone loss by a low-magnitude, high-frequency mechanical stimuli: a clinical trial assessing compliance, efficacy, and safety. J Bone Miner Res, 2004, 19(3): 343-351.
- [8] Shi HF, Leung KS, Cheung WH, et al. Beneficial effects of low-magnitude high-frequency vibration on fracture healing in rats. Chin J Orthop Trauma, 2009, 11(12): 1155-1158.
- [9] Shi HF, Leung KS, Cheung WH, et al. Quantitative analysis of the effects of ovariectomy on intramembranous and endochondral bone formation during fracture healing in rats. Chin J Osteoporos, 2010, 16(3): 161-165.
- [10] Rubin C, Turner AS, Bain S, et al. Anabolism. Low mechanical signals strengthen long bones. Nature, 2001, 412(6847): 603-604.
- [11] Judex S, Donahue LR, Rubin C. Genetic predisposition to low bone mass is paralleled by an enhanced sensitivity to signals anabolic to the skeleton. Faseb J, 2002, 16(10): 1280-1282.
- [12] Leung KS, Shi HF, Cheung WH, et al. Low-magnitude high-frequency vibration accelerates callus formation, mineralization, and fracture healing in rats. J Orthop Res, 2009, 27(4): 458-465.
- [13] Leung KS, Ko PS. Practical Manual for Musculoskeletal Trauma. Edited, Springer, 2001.
- [14] Nikolaou VS, Efstathopoulos N, Kontakis G, et al. The influence of osteoporosis in femoral fracture healing time. Injury, 2009, 40(6): 663-668.
- [15] Wang JW, Li W, Xu SW, et al. Osteoporosis influences the middle and late periods of fracture healing in a rat osteoporotic model. Chin J Traumatol, 2005, 8(2): 111-116.
- [16] Hao YQ, Dai KR. Ultrastructure observation of experimental osteoporotic fracture healing. Chin J Orthop, 2004, 24(11): 670-673.
- [17] Goldhahn J, Scheele WH, Mitlak BH, et al. Clinical evaluation of medicinal products for acceleration of fracture healing in patients with osteoporosis. Bone, 2008, 43(2): 343-347.
- [18] Mattsson P, Alberts A, Dahlberg G, et al. Resorbable cement for the augmentation of internally-fixed unstable trochanteric fractures. A prospective, randomised multicentre study. J Bone Joint Surg Br, 2005, 87(9): 1203-1209.
- [19] Rajan CP, Fornaro J, Trentz O, et al. Cancellous allograft versus autologous bone grafting for repair of comminuted distal radius fractures: a prospective, randomized trial. J Trauma, 2006, 60(6): 1322-1329.

(下转第129页)

2、3、4 及近端股骨的股骨颈 (neck)、股骨粗隆 (trochanter) 的测定结果作为诊断依据。通过双能 X 线吸收仪的研究显示:正常组、A 组以及 B 组的 BMD 逐渐下降。因此,腰椎体 2、3、4 及近端股骨的股骨颈 (neck)、股骨粗隆 (trochanter) 及 Ward 氏三角区 BMD 的测定结果及其均值对个体骨质疏松性骨折的症状具有预示作用。

骨质疏松性骨折定义为伴有脆性骨折诊断为重度骨质疏松性骨折。骨组织的强度有 75% ~ 85% 与 BMD 有关^[11]。我们的研究结果显示:3 组之间在 T 值人数分配的差别具有统计学意义 ($P < 0.05$)。提示:骨折疏松的患者不一定导致骨折,骨量减少的患者也会产生骨质疏松性骨折。即 BMD 值与骨质疏松性骨折发生不呈正相关。

但是我们的研究结果还显示:患者的 BMD 与骨质疏松性骨折有相关性。由此,腰椎体 2、3、4 及近端股骨的股骨颈 (neck)、股骨粗隆 (trochanter) 及 Ward 氏三角区 BMD 的测定结果及其均值对个体骨质疏松性骨折的症状具有预示作用,骨折疏松的患者不一定导致骨折,骨量减少的患者也会产生骨质疏松性骨折。我们认为,本地区所收治的胸腰椎骨折病人,即为临床上的低能损伤病例所致的骨折、即骨质疏松性骨折,不管 BMD 是否下降,我们全部应诊断判定为骨质疏松症。

【参考文献】

- [1] 章振林. 骨质疏松性骨折诊断与骨密度检查报告的解读. 中国全科医学, 2010, 11(2):11.
- [2] 罗先正. 骨质疏松性骨折症的流行病学概况. 中国乡村医药, 2010, 6(2):7.
- [3] 文天林, 孙天胜, 王玲. 骨质疏松性骨折症的流行病学、病因和分类. 人民军医, 2010, 2(9):38-39.
- [4] 隋满姝, 那士平, 解汝娟, 等. 护骨素基因 T149C、T950C 多态性与糖皮质激素性骨质疏松性骨折症的关系. 中国血液净化, 2008, 7(3):31-35.
- [5] Nielsen FH, Lukaski HC, Johnson LK, et al. Reported zinc, but not copper, intakes influence whole-body bone density, mineral content and T score responses to zinc and copper supplementation in healthy postmenopausal women. Br J Nutr, 2011, 1:1-8.
- [6] 夏维波. 骨质疏松性骨折症的防治. 中国全科医学, 2010, 6(2):12-14.
- [7] 李巧羽, 苏涛, 蔡小玲. 老年妇女骨折与骨密度关系的探讨. 实用预防医学, 2010, 3(1):127-128.
- [8] Kiefer RA. The effect of social support on functional recovery and wellbeing in older adults following joint arthroplasty. Rehabil Nurs, 2011, 36(3):120-126.
- [9] Akamatsu Y, Mitsugi N, Taki N, et al. Relationship between low bone mineral density and varus deformity in postmenopausal women with knee osteoarthritis. J Rheumatol, 2009, 36(3):592-597.
- [10] Sucak GT, Aki SZ, Yuzbaşioğlu B, et al. Prognostic value of bone marrow microvessel density and angiogenic cytokines in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplant. Leuk Lymphoma, 2011, 52(7):1281-1289.
- [11] Rizzoli R, Akesson K, Bouxsein M, et al. Subtrochanteric fractures after long-term treatment with bisphosphonates: a European Society on Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis, and International Osteoporosis Foundation Working Group Report. Osteoporos Int, 2011, 22(2):373-390.

(收稿日期: 2011-09-02)

(上接第 133 页)

- [20] Nauth A, Miclau T, 3rd, Bhandari M, et al. Use of osteobiologics in the management of osteoporotic fractures. J Orthop Trauma, 2011, 25 Suppl 1: S51-S55.
- [21] Pountos I, Georgouli T, Henshaw K, et al. The effect of bone morphogenetic protein-2, bone morphogenetic protein-7, parathyroid hormone, and platelet-derived growth factor on the proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from osteoporotic bone. J Orthop Trauma, 2010, 24(9): 552-556.
- [22] Shi HF, Leung KS, Cheung WH, et al. Effects of whole-body

low-magnitude high-frequency vibration on endochondral bone formation during fracture healing. Chinese Journal of Bone and Joint Injury, 2010, 25(2): 121-123.

- [23] Vaz MA, Herzog W, Zhang YT, et al. Mechanism of electrically elicited muscle vibrations in the *in situ* cat soleus muscle. Muscle Nerve, 1996, 19(6): 774-776.
- [24] Fritton SP, McLeod KJ, Rubin CT. Quantifying the strain history of bone: spatial uniformity and self-similarity of low-magnitude strains. J Biomech, 2000, 33(3): 317-325.

(收稿日期: 2011-10-13)

振动力学刺激对骨质疏松性骨折愈合的影响

作者: 施鸿飞, 梁国穗, 张颖恺, 熊进, 陈一心, 邱勇

作者单位: 施鸿飞, 熊进, 陈一心, 邱勇(南京大学医学院附属鼓楼医院骨科, 南京, 210008), 梁国穗, 张颖恺(香港中文大学矫形外科及创伤学系, 南京, 210008)

刊名: 中国骨质疏松杂志 

英文刊名: Chinese Journal of Osteoporosis

年, 卷(期): 2012, 18(2)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201202008.aspx