

· 药物研究 ·

利塞膦酸钠对大鼠骨质疏松性非典型性骨折愈合的影响

何立江[#] 柯呈辉[#] 戴章生 蔡思清 庄雪瑜 吴文华^{*}

福建医科大学附属第二医院骨科, 福建 泉州 362000

中图分类号: R681.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 12-1790-08

摘要: **目的** 探讨利塞膦酸钠对大鼠骨质疏松性非典型性骨折愈合的影响。**方法** 选取健康 6 月龄 SD 雌性大鼠 60 只, 随机分为正常对照组(A 组)、去卵巢模型+股骨干骨折模型+利塞膦酸钠灌胃治疗组(B 组)、去卵巢模型+股骨干骨折模型+生理盐水灌胃组(C 组), 每组 20 只。骨折模型建模后第 3 周和第 6 周时动态观察股骨骨密度(bone mineral density, BMD)、骨矿物质含量(bone mineral content, BMC)、影像学及骨组织显微形态学的改变。**结果** ①通过 X 线检查结果可知, B 组在第 3、第 6 周时, 骨折处骨痂形成, 局部骨密度越来越高, 前 3 周骨折出现愈合加速, 后 3 周出现明显延迟愈合情况; 同时期 B 组、C 组骨折处相比较, 前 3 周 B 组大鼠出现骨折处骨连续性较 A 组、C 组好, 但在第 6 周时, B 组大鼠出现骨折处骨连续性较 A 组、C 组差, 骨折处局部出现骨折延迟愈合情况; ②同时期各组大鼠病理切片结果对比, B 组大鼠在前 3 周骨折处增殖的软骨细胞较 A 组、C 组多, 骨小梁较密集, 骨小梁相互之间连接性较好, 骨皮质厚度更大, 骨折愈合情况更好; 但在后 3 周时, B 组大鼠较 A 组、C 组骨折处增殖的软骨细胞少, 骨小梁稀疏, 骨小梁相互之间连接性差, 骨皮质厚度变化不明显, 出现骨折愈合延迟现象; 在同时期前后对比中, B 组大鼠在前 3 周局部骨折处出现明显加速现象, 后 3 周则出现明显延迟愈合现象; ③各组大鼠 BMD、BMC 组间、组内对比中, 结果具有统计学意义, 说明利塞膦酸钠在前 3 周可显著提高大鼠骨折处 BMD、降低大鼠骨折处 BMC, 且显著提高骨折处 BMD 增加速度, 延缓骨折处 BMC 降低速度, 但在后 3 周出现延迟骨折愈合情况。**结论** 早期骨质疏松性非典型性骨折患者愈合过程中建议使用利塞膦酸钠, 中、后期则不建议使用。

关键词: 骨质疏松性非典型性骨折; 骨密度; 骨矿物质含量; 利塞膦酸钠

Effect of risedronate sodium on osteoporotic atypical fracture healing in rats

HE Lijiang[#], KE Chenghui[#], DAI Zhangsheng, CAI Siqing, ZHUANG Xueyu, WU Wenhua^{*}

Department of Orthopaedics, Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China

[#]: Co-first author

^{*} Corresponding author: WU Wenhua, Email: 550566805@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of risedronate on the healing of atypical osteoporotic fracture in rats. **Methods** In this study, 60 healthy female SD rats of 6 months old were randomly divided into three groups (20 in each group) including normal control group (group A), ovariectomized model + femoral shaft fracture model + risedronate sodium gavage treatment group (group B) and ovariectomized model + femoral shaft fracture model + saline gavage group (group C). Femoral bone density (BMD), bone mineral content (BMC), imaging and microstructural changes in bone tissue were observed dynamically at 3 and 6 weeks after fracture model modeling. **Results** ①According to the result of X-ray examination, in group B, at 3 and 6 weeks the callus was formed at the fracture site, and the local bone density kept on increasing. The fracture healing accelerated in the first 3 weeks, but delayed healing occurred in the last 3 weeks. At the same time, comparing the fracture site of the B and C groups, in the first 3 weeks, the bone continuity of the fracture site in the B group was better than that in the A and C groups. However, at the 6th week the bone continuity of the fracture site in the B group was worse, and delayed fracture healing occurred locally in the fracture

基金项目: 福建省自然科学基金(2016J01519); 泉州市科技项目(2015QZZD4); 泉州市科技创新领军人才项目(泉科[2014]61 号文); 泉州市高级人才创新创业项目计划(泉科[2018]31 号文)

[#]: 共同第一作者

^{*} 通信作者: 吴文华, Email: 550566805@qq.com

site compared with the A and C groups. ②Comparing the result of pathological sections of rats at the same period, rats in group B had more chondrocytes proliferating than those in the A and C groups in the first 3 weeks; the trabecular bone was denser, the trabecular bones were better connected to each other, the thickness of the cortical bone was larger, and the fracture healing was better. However, in the last 3 weeks, compared with rats in the A and C groups, rats in the B group had less cartilage cells, sparse trabeculae, poor connectivity between trabecular bone and no obvious changes in cortical bone thickness, and had delayed fracture healing at the fracture site. For before and after comparison of the same period, the rats in group B showed obviously accelerated healing of local fractures in the first 3 weeks, but significantly delayed healing in the last 3 weeks; ③ For the between and within group comparison of BMD and BMC, the result were statistically significant, indicating that in the first 3 weeks risedronate sodium could significantly increase BMD and decrease BMC in the fracture site, and significantly increase the rate of BMD increase at the fracture site and slow down the BMC reduction rate, but in the last 3 weeks delayed fracture healing occurred. **Conclusion** It is recommended to use risedronate at the early stage of healing in patients with osteoporotic atypical fractures. It is not recommended to use risedronate in the middle and late stages.

Key words: atypical osteoporotic fracture; bone mineral density; bone mineral content; risedronate

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以低骨量为特征的疾病,导致骨质减少和骨强度受损。它被认为是引起骨折的主要原因,在美国大约有 1 000 万 50 岁以上成人受其影响^[1]。据世界卫生组织(WHO)估计,全球每年会发生 166 万例髌骨骨折,预计到 2050 年该数字将增加 4 倍^[2]。虽然绝经后女性服用双膦酸盐类药物(bisphosphonate drugs, BPs)后典型骨折的发生率有所下降,但非典型骨折的发生率在过去十年中却有所增加^[3]。而 BPs 类药物被认为是预防和治疗 OP 的一线用药,并且已在大型多国随机对照试验(RCTs)^[4-7]中被证明可降低典型髌部骨折的发生率。BPs 通过增加骨矿物质密度和预防脆性骨折来实现这一目标^[8-10]。然而,长期使用 BPs 有潜在的严重抑制骨转换的风险,可能会损害骨重塑的能力,最终导致微损伤的累积以及骨韧性的降低和脆性的增加^[11-19]。本实验拟模拟 BPs 类药物对于骨质疏松性非典型性骨折(osteoporotic atypical fracture, OPF)的愈合影响,探讨 BPs 类药物与非典型骨折愈合的相关性,为临床长期应用 BPs 类药物提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及试剂、设备

1.1.1 实验动物:选取同时期出生的健康 6 月龄雌性 SD 大鼠(清洁级)60 只,所有大鼠均购自闽侯县吴氏实验动物贸易有限公司。大鼠均在实验前适应性喂养 1 周,室内(中国人民解放军第 180 医院动物实验中心)分组笼养,室温控制在(22±2) °C, 8:00 ~20:00 时自然光线或开灯,其余时间关灯。由专人喂养,自由饮水,并根据大鼠的生长速度调节饲料和饮用水的高度。所有饲料均购自闽侯县吴氏实验

动物贸易有限公司。将大鼠随机分为正常对照组(A 组)、去卵巢模型+股骨干骨折模型+利塞膦酸钠灌胃治疗组(B 组)、去卵巢模型+股骨干骨折模型+生理盐水灌胃组(C 组),每组 20 只。

1.1.2 实验试剂和设备:利塞膦酸钠胶囊(江苏正大清江制药有限公司,江苏);水合氯醛(CP 沪试,≥99.0%,250 g,国药试剂 cas302-17-0;上海);克氏针若干,规格为直径 1.5 mm;DR 数字化摄影机(德国,飞利浦公司);骨组织标本制作装置:切片机、载玻片、石蜡等(福建医科大学附属第二医院病理科);光学显微镜(德国,leica 公司);双能 X 线吸收仪(美国,HOLOGIC 公司);常规动物手术器械(中国人民解放军第 180 医院骨科实验室);电动跑步机(美国,REEBOK 公司)。

1.2 实验前称重和摄片

大鼠每周称重并记录。实验时间为每天晚上 6 点~8 点。时间为 1.5 个月。所有大鼠均在 10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉下摄脊柱全长正位片,体位为站立位,将头部和身体摆正好后摄片。

1.3 骨质疏松症模型和股骨干骨折模型建模

1.3.1 骨质疏松模型制作:A 组:用 10%水合氯醛(300 mg/kg)进行腹腔注射麻醉,选用背侧入路,取脊柱旁开 1 cm、髂骨脊上 2 cm 处为手术切口,纵行切开约 1 cm,切开皮肤和皮下组织,分离肌层,切掉与 B 组、C 组切除卵巢等量的脂肪组织块。逐层关闭切口。严格无菌手术操作,术后连续 3 d 予肌注青霉素 80 万单位,2 次/天。术后笼中自由活动与进食。B 组、C 组:用 10%水合氯醛(300 mg/kg)进行腹腔注射麻醉,选用背侧入路,取脊柱旁开 1 cm、髂骨脊上 2 cm 处为手术切口,纵行切开约 1 cm,切开皮肤和皮下组织,分离肌层,显露腹腔内双侧卵巢,分

别切除卵巢后残端结扎,逐层关闭切口。严格无菌手术操作,术后连续 3 d 予肌注青霉素 80 万单位,2 次/天。术后笼中自由活动与进食。骨质疏松检测:卵巢切除术后 4 周,经双能 X 线吸收仪检测 A 组、B 组与 C 组大鼠左侧股骨骨密度,确定骨质疏松动物模型制备成功。

1.3.2 股骨干骨折模型的制作:①骨质疏松模型建模成功后,每天分别将 3 组大鼠双上肢悬空固定,双下肢在速度为 10 km/h 的跑步机上进行跑步运动,每次跑步时间为 1 h,实验时间为下午 6 点~7 点,持续 4 周。4 周后对 A、B、C 组大鼠予 10% 水合氯酸 (300 mg/kg) 进行腹腔注射麻醉,选取左侧股骨中段为手术切口,纵行切开约 1 cm,切开皮肤和皮下组织,分离肌层显露股骨,持续局部加压股骨干使其发生骨折后,选用直径 1.5 mm 克氏针经髓腔固定骨折断端,逐层缝合各层组织。严格无菌手术操作,术后连续 3 d 予肌注青霉素 80 万单位,2 次/天;②给药途径与剂量:B 组于骨折术后 3 d 开始每天给予利塞膦酸钠[0.1 mg (kg·d)]灌胃治疗;A 组、C 组给予同等剂量 0.9% 生理盐水灌胃。动物室内分组笼养,室温控制在 (22±2)°C。由专人喂养,自由饮水;③A、B、C 组大鼠在术后第 3、6 周分别进行 X 线拍摄,比较骨痂的连续性、骨密度 (bone mineral

density, BMD)、骨矿物质含量 (bone mineral content, BMC)。每组在第 3、6 周分别随机处死 10 只大鼠,取右侧股骨病理组织,制作成切片,在电子显微镜下观察骨折愈合情况。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件分析数据,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对于 BMD、BMC 的差异进行描述性统计分析,对于 BMD、BMC 组间对比采用配对 *t* 检验,组内对比采用方差分析,方差齐采用 LSD 检验,方差不齐采用 Tamhane's T2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 影像学结果

各组大鼠术前全身骨骼正常,未发现双侧任何股骨骨折及髋、膝关节病变,符合实验要求 (图 1)。B 组在第 3、6 周时,骨折处骨痂形成,局部骨密度越来越高,在前 3 周骨折出现愈合加速,后 3 周出现明显延迟愈合情况 (图 2、图 3);同时期 B 组、C 组骨折处相比较,在前 3 周, B 组大鼠出现骨折处骨连续性较 A 组、C 组好,但在第 6 周时, B 组大鼠出现骨折处骨连续性较 A 组、C 组差,骨折处局部出现骨折延迟愈合情况。

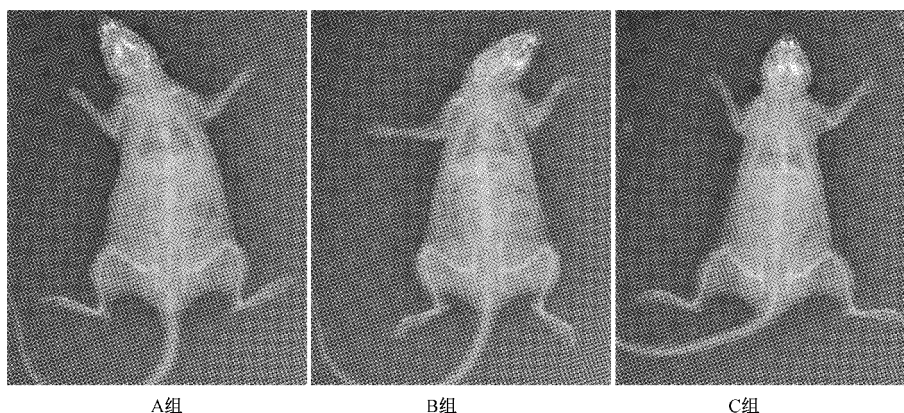


图 1 A、B、C 组大鼠手术前 X 线拍摄情况 (摄片参数为 41 kV, 2.80 mAs)

Fig.1 X-ray imaging of rats in groups A, B and C (camera parameters were 41 kV, 2.80 mAs)

2.2 病理学结果

由图 4、图 5 可知, A 指骨皮质, B 指骨小梁, C 是增殖的软骨细胞。同时期各组大鼠病理切片结果对比, B 组大鼠在前 3 周骨折处增殖的软骨细胞较 A 组、C 组多, 骨小梁较密集, 骨小梁相互之间连接性较好, 骨皮质厚度更大, 骨折愈合情况更好;但在后 3 周时, B 组大鼠较 A 组、C 组骨折处增殖的软骨细胞少, 骨小梁稀疏, 骨小梁相互之间连接性差, 骨

皮质厚度变化不明显, 出现骨折愈合延迟现象;在同时期前后对比中, B 组大鼠在前 3 周局部骨折处出现明显加速现象, 在后 3 周则出现明显延迟愈合现象。

2.3 实验检测 BMD 结果

在组间均值比较中, 骨质疏松性非典型性骨折 (osteoporotic atypical fracture, OPF) 建模前, 各组 BMD 均值差异不明显;在 3 周时, 各组 BMD 均值差

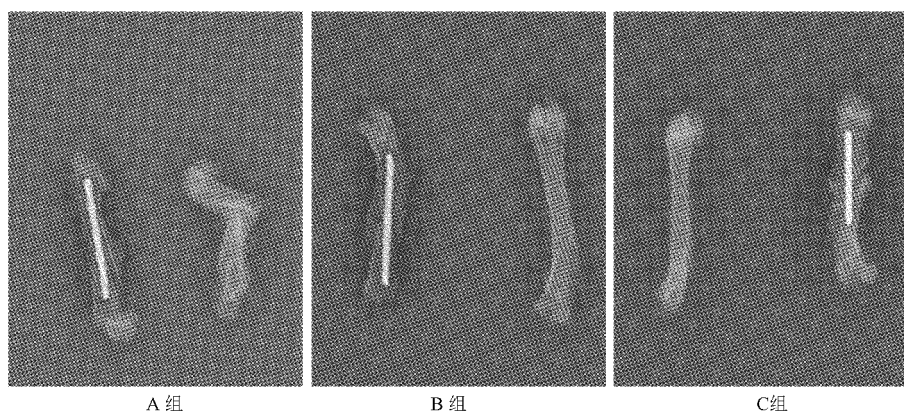


图 2 各组大鼠 3 周时骨折处 X 线拍摄情况 (摄片参数 41 kV, 2.80 mAs)

Fig.2 X-ray images of fracture sites at 3 weeks in each group (photographing parameters 41 kV, 2.80 mAs)

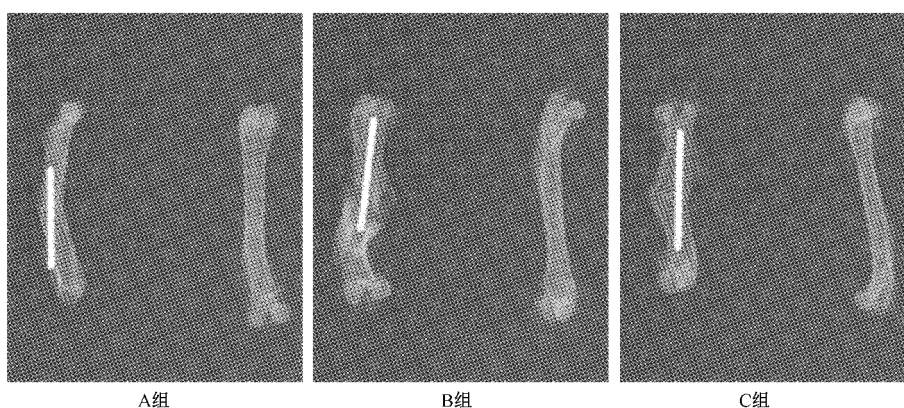


图 3 各组大鼠 6 周时骨折处 X 线拍摄情况 (摄片参数 41 kV, 2.80 mAs)

Fig.3 X-ray images of fracture sites at 6 weeks in each group (photographing parameters 41 kV, 2.80 mAs)

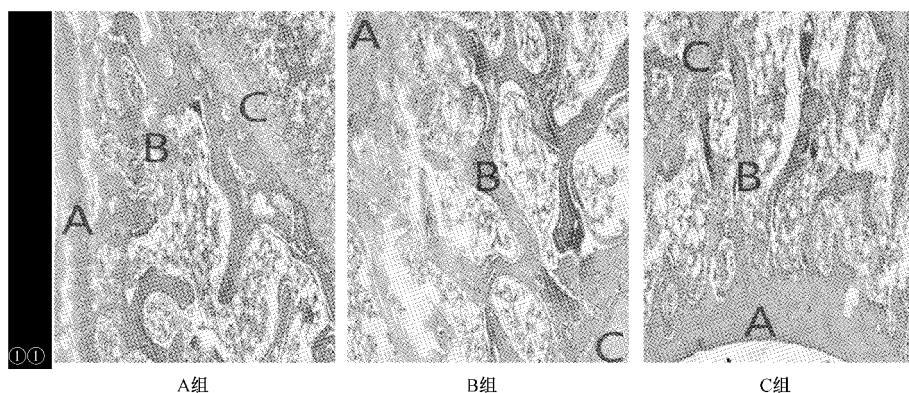


图 4 各组大鼠 3 周时骨折处病理组织情况 (低倍镜头: 40 * 10; HE 染色)

Fig.4 Pathological tissue of the fracture sites at 3 weeks in each group (low magnification: 40 * 10; HE staining)

异明显,其中 A 组最大,其次 B 组,C 组最小;在 6 周时, $P_{3;AB} = 0.006 < 0.05$, $P_{3;BC} = 0.001 < 0.05$, 均值差异明显,即该时期 B 组 BMD 均值大于 A 组、C 组,说明利塞膦酸钠可显著提高骨折处骨密度增加。组内均值比较中,A、B、C 3 组 BMD 均值差异变化显

著,说明利塞膦酸钠可显著提高骨折处 BMD 增加速度。见表 1。

2.4 实验检测 BMC 结果

组间均值比较中,OPF 建模前,各组 BMC 均值差异不明显;在 3 周时,各组 BMD 均值差异显著,其

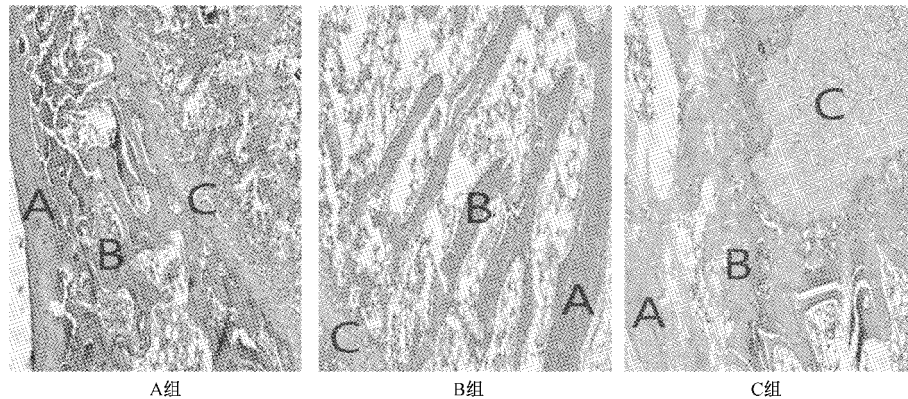


图 5 各组大鼠 6 周时骨折处病理组织情况(低倍镜头:40 * 10, HE 染色)

Fig.5 Pathological tissue of the fracture sites at 6 weeks in each group (low magnification: 40 * 10; HE staining)

中 A 组最大,其次 B 组,C 组最小;在 6 周时,A 组最大,其次 B 组,C 组最小,说明利塞膦酸钠可显著降低骨折处 BMC。组内均值比较中,A、B、C 3 组 BMD

均值差异变化均显著,说明利塞膦酸钠可显著延缓骨折处 BMC 降低速度。见表 2。

表 1 各组大鼠骨质疏松性骨折建模前后 BMD 值组间、组内对比情况($n=10$, g/cm^2 , $\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of BMD values between and within groups before and after osteoporotic fractures modeling($n=10$, g/cm^2 , $\bar{x}\pm s$)

组别	OPF 建模前 ^d	建模后 3 周 ^e	建模后 6 周 ^f	统计值	P 值
A 组	0.14±0.01	0.18±0.01	0.25±0.20	$t_{A,de} = -6.752$ $t_{A,ef} = -15.094$	$P_{A,de} = 0.001^{**}$ $P_{A,ef} = 0.001^{**}$
B 组	0.14±0.07	0.12±0.00	0.28±0.02	$t_{B,de} = 7.851$ $t_{B,ef} = -18.547$	$P_{B,de} = 0.001^{**}$ $P_{B,ef} = 0.001^{**}$
C 组	0.15±0.01	0.11±0.01	0.23±0.02	$t_{C,de} = 7.851$ $t_{C,ef} = -18.547$	$P_{C,de} = 0.001^{**}$ $P_{C,ef} = 0.001^{**}$
统计值(F)	0.899	120.274	11.555		
P 值	$P_1 = 0.419$	$P_2 = 0.001^{**}$	$P_3 = 0.001^{**}$		

注: * 标注 P 值中, $P_2 = 0.001 < 0.05$, 差异有统计学意义, 且组间均值对比中, P 均 < 0.05 , 差异有统计学意义; $P_3 = 0.001 < 0.05$, 差异有统计学意义, 且组间均值对比中, $P_{3,AB} = 0.006 < 0.05$, $P_{3,BC} = 0.001 < 0.05$, 差异有统计学意义。组内均值对比中, 各组 P 均 $= 0.001 < 0.05$, 差异有统计学意义。

表 2 各组大鼠骨质疏松性骨折建模前后 BMC 值组间、组内对比情况($n=10$, g/cm^2 , $\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of BMC values between and within groups before and after osteoporotic fractures modeling($n=10$, g/cm^2 , $\bar{x}\pm s$)

组别	OPF 建模前 ^g	建模后 3 周 ^h	建模后 6 周 ⁱ	统计值	P 值
A 组	0.33±0.023	0.38±0.024	0.52±0.051	$t_{A,gh} = 0.804$ $t_{A,hi} = 0.665$	$P_{A,gh} = 0.442$ $P_{A,hi} = 0.523$
B 组	0.32±0.027	0.18±0.021	0.04±0.013	$t_{B,gh} = 17.741$ $t_{B,hi} = 14.277$	$P_{B,gh} = 0.001^{**}$ $P_{B,hi} = 0.001^{**}$
C 组	0.32±0.026	0.04±0.019	0.02±0.011	$t_{C,gh} = 31.575$ $t_{C,hi} = 2.512$	$P_{C,gh} = 0.001^{**}$ $P_{C,hi} = 0.033^{**}$
统计值(F)	1.264	655.104	834.165		
P 值	$P_4 = 0.299$	$P_5 = 0.001^{**}$	$P_6 = 0.001^{**}$		

注: * 标注 P 值中, $P_5 = 0.001 < 0.05$, 差异有统计学意义, 且组间均值对比中, P 均 < 0.05 , 差异有统计学意义; $P_6 = 0.001 < 0.05$, 差异有统计学意义, 且组间均值对比中, P 均 < 0.05 , 差异有统计学意义。组内均值对比中, B、C 组组内对比 P 均 < 0.05 , 差异有统计学意义。

3 讨论

OP 是一种全身高发骨骼疾病, 其特点主要为骨密度下降、骨矿物质减少、破坏骨组织微细结构布

局, 进而导致骨机械强度下降、脆性增高, 容易发生病理性骨折。OPF 是 OP 最严重并发症之一, 多发于老年人, 发生率较高, 因 OP 的特征故导致 OPF 多呈粉碎型, 愈合慢。且因骨强度低和骨脆性高而容

易引起内固定松动和再次骨折的发生,进而残疾率和死亡率相对较高^[20]。因此对于 OPF 的防治成为目前国内的主要研究方向。在 OPF 的防治方面,BPs 因为其对于骨骼特殊的药理作用而具有非常良好的前景。在过去的 20 年中,人们认识到 BPs 对骨骼有双重作用。第一种是通过减少破骨细胞生成和促进破骨细胞凋亡而破坏破骨细胞的数量来阻止骨质流失^[21-22],第二种是在各种病理条件下抑制骨细胞和成骨细胞凋亡^[23-24]。在预防 OPF 方面,宋超伟等^[25]经过研究认为日前临床应用 BPs 类药物可以使脊椎骨折发生率降低 40%~70%,王琳等^[26]的研究认为应用 BPs 类药物可使髌部骨折发生率降低 40%~50%。在治疗方面,规范的 BPs 类药物治疗也可在短期内对于骨折的愈合起到积极的影响^[27]。

然而,长期使用 BPs 类药物抗骨质疏松治疗存在潜在危险性。主要体现在,长期使用 BPs 类药物治疗后 OPF 的发生率有所下降,但非典型性骨折的发生率却有所增加^[28-31]。所谓非典型骨折,是一种罕见的无创伤性或极小创伤性或应力性股骨骨折,主要为转子下骨折和股骨干骨折。2013 年,美国骨与矿物研究学会特别工作组制定了非典型股骨骨折的修订案例定义^[32]。其定义为股骨干骨折,骨折位置从股骨干向两侧远端延伸,到达小转子和肱骨髁上突出近端,这是目前全球唯一规定的标准。早在 2005 年,Odvin 等^[33]报道了 9 名接受阿仑膦酸盐治疗达 8 年后出现自发性非椎体骨折的患者,其中 6 名患者的骨折愈合受损,作者认为这些骨折是过度的抑制骨转换而导致的。Katerina 等^[34]通过对 4 名发生股骨应力性骨折的妇女进行回顾性研究的过程中发现,所有患者均存在持续应用阿仑膦酸盐达 5 年的情况。所以该学者大胆假设,长期持续应用阿仑膦酸盐可能是导致股骨应力性骨折(即非典型性骨折)的一个危险因素。且在非典型性骨折的发生时间窗口相关研究中表明,使用 BPs 类药物 5 年后,非典型骨折的风险增加^[33,35-36]。

本实验基于当前关于长期应用 BPs 类药物导致骨质疏松性非典型性骨折的考虑,运用逆向思维直接通过 BPs 类药物对于骨质疏松性非典型性骨折愈合的影响,进一步探讨长期应用 BPs 类药物与非典型性骨折的相关性。本实验应用手术方式,切除大鼠双侧卵巢进行骨质疏松症建模,而后首次进行非典型性骨折(即应力性骨折)模型建模。拟在大鼠模型上模拟出现非典型性骨折的情况后使用

BPs 类药物治疗,观察其对于非典型性骨折愈合的影响,进一步了解并分析 BPs 类药物与非典型骨折的相关性,为临床长期应用 BPs 类药物提供一定的实验依据。

在本实验的影像学结果中,不难发现利塞膦酸钠对于非典型性骨折愈合早期的促进作用。用药组大鼠的骨折处,新形成的愈合组织体积明显增大,随着时间的进展,局部骨密度明显增高。愈合组织的体积明显增大,主要是由于局部骨小梁明显增大、增粗、连接性更好,这点在本实验的病理组织中也得到明显的印证。本实验的病理组织提示在前 3 周 B 组骨折愈合过程中,愈合速度最快、愈合组织最大、骨小梁最粗大、连接性最好、最密集,其次是 A 组, C 组最差;但在后 3 周时, B 组大鼠较 A、C 组骨折处增殖的软骨细胞少,骨小梁稀疏,骨小梁相互之间连接性差,骨皮质厚度变化不明显,出现骨折愈合延迟现象。且本实验的影像学检查结果也提示了这一点。说明在骨折早期, BPs 类药物可能因其药理作用而促进骨折愈合。Ito 等^[37]学者的研究中也发现 BPs 类药物的药效主要是通过局部骨量的增加而起作用,明显改善了局部骨组织微结构的机械性质,使骨小梁连接性明显升高。但在实验 6 周时, B 组大鼠出现明显骨折延迟愈合情况,是否因为长期使用利塞膦酸钠损害了骨重塑能力,进而导致非典型性骨折出现延迟愈合的情况呢?而且为何会在长期应用利塞膦酸钠时出现这种问题呢?在本实验对于局部骨折处 BMD、BMC 的测量中,也许能解释这个问题。在对 BMD、BMC 两者的测量结果观察中,发现两者的变化趋势存在特殊性。BMD 的增加趋势、BMC 的减少趋势都一定程度的存在时间依赖性,即随着时间的进展愈快和愈慢。因此本实验组认为,基于利塞膦酸钠的药物效应,它在局部骨折处可能存在蓄积效应。因为事实上, BPs 类药物从骨骼中消除的半衰期长达 10 年^[38]。在观察停止 BPs 类药物治疗 8 年后的患者尿液中仍可检测到帕米膦酸钠^[39]。所以当 BPs 类药物在骨折局部过度蓄积时,骨重塑能力明显受损,骨折愈合第三个阶段明显受限,即编织骨向板状骨形成过程受限。所以本实验结果也反向印证了长期应用 BPs 类药物防治骨质疏松症会因为损害骨重塑能力,导致新发骨折形成,即非典型性骨折。

当然,本实验仍然存在不足之处。本实验未进一步探讨利塞膦酸钠对于非典型性骨折愈合过程中导致延迟骨折愈合情况的进一步用药方面的研究,

且对于骨折愈合组织未进行生物力学方面的检测,进一步了解利塞膦酸钠对于愈合组织在生物力学方面的影响。在对于大鼠 BMD、BMC 的检测中,仅进行了骨折愈合处的测量,未进行骨折远端测量,以进一步了解利塞膦酸钠对于非典型性骨折后全身 BMD、BMC 的影响。本文的结论是基于去卵巢大鼠骨质疏松模型而得到的,是否适用于其它类型骨质疏松模型动物,尚需进一步研究。

综上,骨质疏松性非典型性骨折患者愈合过程的中、长期不建议使用利塞膦酸钠。下一步的研究重点主要为对中、长期应用利塞膦酸钠的用药频率、用药时长、用药时间间隔、用药剂量等方面展开深入探讨,为临床 BPs 类药物的规范化使用提供依据。

【 参 考 文 献 】

- [1] US Department of Health and Human Services. Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. Rockville, MD: US Dept of Health and Human Services, Office of the Surgeon General, 2004.
- [2] Recommendations for Preventing Osteoporosis. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases Report of the Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2002.
- [3] Wang Z, Bhattacharyya T. Trends in the incidence of subtrochanteric fragility fractures and bisphosphonate use among the US elderly, 1996-2007[J]. J Bone Miner Res, 2011,26: 553-560.
- [4] Black DM, Cummings SR, Karpf DB et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures[J]. Lancet, 1996, 348: 1535-1541.
- [5] Cummings SR, Black DM, Thompson DE et al. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial[J]. JAMA, 1998, 280: 2077-2082.
- [6] Black DM, Schwartz AV, Ensrud KE et al. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): a randomized trial[J]. JAMA, 2006, 296: 2927-2938.
- [7] Wustrack R, Seeman E, Bucci-Rechtweg C, et al. Predictors of new and severe vertebral fractures: results from the HORIZON Pivotal Fracture Trial[J]. Osteoporosis International, 2012, 23 (1): 53-58.
- [8] Black DM, Delmas PD, Eastell R, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis [J]. New England Journal Of Medicine, 2007, 356(18): 1809-1822.
- [9] Boivin GY, Chavassieux PM, Santora AC, et al. Alendronate increases bone strength by increasing the mean degree of mineralization of bone tissue in osteoporotic women[J]. Bone, 2000, 27: 687-694.
- [10] Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women[J]. N Engl J Med, 2004, 350: 1189-1199.
- [11] Eastell R, Barton I, Hannon RA, et al. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate[J]. J Bone Miner Res, 2003, 18: 1051-1056.
- [12] Allen MR, Iwata K, Phipps R, et al. Alterations in canine vertebral bone turn- over, microdamage accumulation, and biomechanical properties following 1-year treatment with clinical treatment doses of risedronate or alendronate[J]. Bone, 2006, 39: 872-879.
- [13] Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, et al. Long-term treatment of incadronate disodium accumulates microdamage but improves the trabecular bone microarchitecture in dog vertebra[J]. J Bone Miner Res, 2003, 18: 512-520.
- [14] Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, et al. Suppressed bone turnover by long-term bisphosphonate treatment accumulates microdamage but maintains intrinsic material properties in cortical bone of dog rib[J]. J Bone Miner Res, 2004, 19: 999-1005.
- [15] Mashiba T, Hirano T, Turner CH, et al. Suppressed bone turnover by bisphosphonates increases microdamage accumulation and reduces some biomechanical properties in dog rib[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15: 613-620.
- [16] Mashiba T, Turner CH, Hirano T, et al. Effects of suppressed bone turnover by bisphosphonates on microdamage accumulation and biomechanical properties in clinically relevant skeletal sites in beagles[J]. Bone, 2001, 28: 524-531.
- [17] Stepan JJ, Burr DB, Pavo I, et al. Low bone mineral density is associated with bone microdamage accumulation in postmenopausal women with osteoporosis[J]. Bone, 2007, 41: 378-385.
- [18] Giusti A, Hamdy NA, Papapoulos SE. Atypical fractures of the femur and bisphosphonate therapy: A systematic review of case/case series studies[J]. Bone, 2010, 47: 169-180.
- [19] Li J, Mashiba T, Burr DB. Bisphosphonate treatment suppresses not only stocks- tic remodeling but also the targeted repair of microdamage[J]. Calcif Tissue Int, 2001, 69: 281-286.
- [20] 何渝熙, 魏庆中, 熊启良, 等. 骨质疏松性骨折与骨密度关系的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(2): 219-224.
- [21] Hughes DE, Wright KR, Uy HL, et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo[J]. Journal of Bone & Mineral Research, 1995, 10(10): 1478-1487.
- [22] Jobke B, Milovanovic P, Amling M, et al. Bisphosphonate-osteoclasts: changes in osteoclast morphology and function induced by antiresorptive nitrogen-containing bisphosphonate treatment in osteoporosis patients [J]. Bone, 2014, 59(59): 37-43.
- [23] Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, et al. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin[J]. J.clin.invest, 1999, 104(10): 1363-1374.
- [24] Follet H, Li J, Phipps RJ, et al. Risedronate and alendronate suppress osteocyte apoptosis following cyclic fatigue loading[J].

- Bone, 2007, 40(4):1172-1177.
- [25] 宋超伟, 费琦, 林吉生, 等. 双膦酸盐相关性非典型骨折的研究进展[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(7):558-560.
- [26] 王琳, 沈芸. 骨质疏松性骨折预测方法的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(5):638-642.
- [27] Kreutle V, Blum C, Meier C, et al. Bisphosphonate-induced hypocalcemia - report of six cases and review of the literature[J]. Swiss medical weekly, 2014, 144(144):w13979.
- [28] Wang Z, Bhattacharyya T. Trends in the incidence of subtrochanteric fragility fractures and bisphosphonate use among the US elderly, 1996-2007[J]. Bone Miner Res, 2011, 26: 553-560.
- [29] Park-Wyllie LY, Mamdani MM, Juurlink DN, et al. Bisphosphonate use and the risk of subtrochanteric or femoral shaft fractures in older women[J]. JAMA, 2011, 305(8): 783-789.
- [30] Dell R, Greene D, Ott S, et al. A retrospective analysis of all atypical femur fractures seen in a large California HMO from the years 2007 to 2009[J]. Bone Miner Res, 2010, 25(1):61-63.
- [31] Giusti A, Hamdy NA, Papapoulos SE. Atypical fractures of the femur and bisphosphonate therapy: A systematic review of case/case series studies[J]. Bone, 2010, 47(2):169-180.
- [32] Shane E, Burr D, Abrahamsen B, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: second report of a task force of the American society for bone and mineral research. [J]. Bone Miner Res, 2014, 29:1-23.
- [33] Odvina CV, Zerwekh JF, Rao DS, et al. Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy [J]. J clin endocrinol metab, 2005, 90(3):1294-1301.
- [34] Cermak K, Shumelinsky F, Alexiou J, et al. Case reports: subtrochanteric femoral stress fractures after prolonged alendronate therapy [J]. Clinical Orthopaedics & Related Research, 2010, 468(7):1991-1996.
- [35] Allen MR, Iwata K, Phipps R, et al. Alterations in canine vertebral bone turnover, microdamage accumulation, and biomechanical properties following 1-year treatment with clinical treatment doses of risedronate or alendronate[J]. Bone, 2006, 39(4):872-879.
- [36] Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, et al. Long-term treatment of incadronate disodium accumulates microdamage but improves the trabecular bone microarchitecture in dog vertebra[J]. Journal of Bone & Mineral Research, 2003, 18(3):512-520.
- [37] Ito M, Nishida A, Aoyagi K, et al. Effects of risedronate on trabecular microstructure and biomechanical properties in ovariectomized rat tibia[J]. Osteoporosis International, 2005, 16(9):1042-1048.
- [38] Matos MA, Tannuri U, Guarniero R. The effect of zoledronate during bone healing [J]. Journal of Orthopaedics & Traumatology, 2010, 11(1):7-12.
- [39] Amanat N, McDonald M, Godfrey C, et al. Optimal timing of a single dose of zoledronic acid to increase strength in rat fracture repair? [J]. Journal of Bone & Mineral Research, 2007, 22(6):867-876.

(收稿日期: 2018-10-31;修回日期: 2019-02-20)