

• 基础研究 •

悬吊模拟失重及解悬吊对大鼠骨密度及生物力学的影响

佟海英¹, 胡素敏¹, 周鹏¹, 傅睿¹, 李谨², 高学敏¹, 张建军¹

(1.北京中医药大学基础医学院中药教研室,北京 100029;2.北京积水潭医院放射科骨密度室)

【摘要】 目的:观察尾部悬吊模拟失重及解悬吊后大鼠骨密度及生物力学的变化。方法:20 只 Wistar 雄性大鼠随机分成空白组和模型组。模型组尾部悬吊 14 d,解悬吊后继续饲养 14 d,空白组则正常饲养 28 d。实验第 14 天活体检测各组大鼠颅骨、T₂ 椎体、L₄ 椎体、骨盆、右侧桡尺骨和右侧股骨的骨密度(bone mineral density, BMD);实验第 28 天处死大鼠,检测右侧股骨及 L₄ 椎体 BMD 及生物力学强度。**结果:**与空白组相比,实验第 14 天,模型组大鼠股骨、骨盆、腰椎 BMD 明显低,差异有统计学意义($P<0.001, P<0.001, P<0.01$);颅骨、胸椎、桡尺骨 BMD 无明显变化($P>0.05$)。实验第 28 天,模型组大鼠股骨、腰椎 BMD 和股骨最大载荷明显低,差异有统计学意义($P<0.01, P<0.001, P<0.01$)。**结论:**大鼠尾部悬吊 14 d 即可引起骨代谢的紊乱;承重骨骨矿盐大量丢失;即使解悬吊 14 d 后承重骨 BMD 及力学强度也明显降低,表明骨代谢紊乱短期内不能恢复正常。

【关键词】 骨; 骨密度; 生物力学; 失重模拟; 代谢

Effects on rats' bone mineral density and bone biomechanics by suspensory simulated weightlessness and removing suspension TONG Hai-ying*, HU Su-min, ZHOU Peng, FU Qian, LI Jin, GAO Xue-min, ZHANG Jian-jun. *Laboratory of the TCM, Preclinical Medical College of Beijing University of TCM, Beijing 100029, China

ABSTRACT Objective: To study the effects on rats' bone mineral density and bone biomechanics by suspensory simulated weightlessness and removing suspension. **Methods:** Twenty Wistar rats were divided into two groups randomly as control group and model group. Suspend the model group rats for 14 days, then remove suspension and continue to feed for another 14 days. Feed control group rats for 28 days. Detect the bone mineral density (BMD) in vivo of cranial bone, second thoracic vertebra, fourth lumbar vertebra, pelvis, right radioulna and right femoral bone of each group at the 14th day. At the 28th day, execute all the rats and take out of right femoral bone and fourth lumbar vertebra for detecting BMD and the intensity of biomechanics. **Results:** At the 14th day in experiment, being compared with control group, the BMD of femoral bone, pelvis and lumbar vertebra in model group decreased significantly ($P<0.001, P<0.001, P<0.01$) and the change of BMD of cranial bone, thoracic vertebra and radioulna in model group was not remarkable ($P>0.05$). At the 28th day in experiment, the BMD of femoral bone and lumbar vertebra, the maximal load of femoral bone decreased significantly in model group as compared with control group ($P<0.01, P<0.001, P<0.01$). **Conclusion:** BMD in vivo body showed that suspensory simulated weightlessness for 14 days could cause disorder of bone metabolism and remarkable mineral loss of weight bearing bone, even BMD and biomechanical intensity of weight bearing bone decrease obviously when removing suspension for 14 days. The results suggest that the disorder of bone metabolism could not be recovered in short time.

key words Bones; Bone density; Biomechanics; Weightlessness simulation; Metabolism

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(4): 276-279 www.zggszz.com

航天医学证明,太空飞行中,人和动物的骨矿物质代谢出现了实质性的变化。在飞行的全过程,钙的负平衡持续地、进行性地发展着,骨矿盐含量下降、骨质疏松^[1]。由于空间飞行机会宝贵,实验条件和研究的系统性都受到限制,因此地面模拟实验已成为研究空间骨丢失的主要方式。尾部悬吊模型是

目前国际公认的模拟空间飞行对骨代谢影响最适宜的动物模型^[2]。国内外学者用上述模型对模拟失重状态下骨质的变化进行了大量的研究^[3-4]。本研究采用尾部悬吊模拟失重模型,观察悬吊和解悬吊 14 d 大鼠骨密度(bone mineral density, BMD)及生物力学的变化,从而为空间骨丢失及其防护和恢复的研究提供参考。

1 材料与方 法

1.1 动物分组 Wistar 大鼠,雄性,体质量(180±20) g,由北

基金项目:1.国家自然科学基金(编号:30500663);2.国家基础科学人才培养基金科研训练项目(编号:20070110)

通讯作者:胡素敏 Tel:010-64287006 E-mail:cinndyhu@yahoo.com.cn

京维通利华公司提供,合格证号:SCXK(京)2002-0003。适应环境 7 d 后按随机区组试验设计法分为空白组和模型组,每组 10 只。空白组大鼠自由活动,均用悬吊笼单笼饲养,自由饮食,室温(24±1)℃,相对湿度(60±10)%,实验周期 28 d。模型组尾部悬吊 14 d,解悬吊继续饲养 14 d,空白组正常饲养 28 d。

1.2 尾部悬吊模型的建立 将大鼠在悬吊笼中尾部悬吊,后肢离地,使躯干与地面成 30°角,前肢着地可以自由活动。

1.3 仪器 Y 型精密电子天平,美国双杰兄弟(集团)有限公司;双能 X 线骨密度仪,美国 LUNAR 公司;WD-1 型电子万能试验机,长春第二试验机厂。

1.4 观测指标与方法

1.4.1 体重 实验第 1、3、5、7、9、11、13、15(当天模型组悬吊)、18、20、22、24、26、28 天时用天平称量大鼠体重。

1.4.2 活体 BMD(g/cm²)的测定 实验第 14 天,将大鼠用乙醚麻醉,然后置于双能 X 线骨密度仪上,采用小动物骨密度测定软件行全身 BMD 扫描检测,首先自动测量全身 BMD,然后划区测算颅骨、T₂椎体、L₄椎体、骨盆、右侧桡尺骨、右侧股骨等不同部位的 BMD。

1.4.3 离体 BMD(g/cm²)的测定 实验第 28 天处死大鼠,取右侧股骨和 L₄椎骨,去净附着结缔组织,腰椎去除棘突、横突和关节突起,分别用生理盐水纱布包裹,即刻保存于-70℃冰箱中,并尽快进行 BMD 测定。测定前取出上述样本,室温下复温,然后将各样本分别置于有机玻璃板上,固定位置,以全长的 1/2 交界处为测量点,应用双能 X 线骨密度仪作骨横越扫描,荧光屏显示测量图像,自动打印测量结果。

1.4.4 股骨生物力学 实验前取出保存的大鼠股骨,室温下复温,进行 3 点弯试验。跨距 20 mm,加载速度 2 mm/min,同时记录载荷-变形曲线,计算最大载荷(kg)、最大挠度(mm)、能量吸收(kg·mm)。

1.4.5 L₄椎体压缩试验 测定前取出大鼠腰椎样本,室温下复温,进行压缩试验。将标本置于万能试验机上进行压缩力

学试验,加载速度为 2 mm/min,同时记录载荷-变形曲线,计算最大载荷(kg)。

1.5 统计方法 采用 SPSS 12.0 统计软件包进行统计。各组数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,作独立样本 t 检验。

2 结果

2.1 实验期间各组动物体重的变化 结果见表 1。表 1 表明,与空白组相比,实验第 3、5、7、9、11、13、15、18、22 天模型组大鼠体重明显低,差异有统计学意义,实验第 20、24、26、28 天体重差异无统计学意义。说明 7 d 尾部悬吊使大鼠体重明显降低,15 d 更显著;解悬吊后第 3 天开始逐渐增加,第 9 天起 2 组大鼠体重无明显差异。

2.2 大鼠活体 BMD 的变化 结果见表 2。表 2 表明,与空白组相比,模型组大鼠股骨、骨盆、腰椎 BMD 明显降低,差异有统计学意义;与空白组相比,模型组大鼠颅骨、桡尺骨、胸椎 BMD 差异无统计学意义。说明大鼠尾部悬吊 14 d 后,股骨、骨盆、腰椎等承重骨 BMD 明显降低;颅骨、胸椎、桡尺骨等非承重骨 BMD 无明显变化。

2.3 解悬吊后大鼠生物力学的变化 结果见表 3。表 3 表明,与空白组相比,解悬吊 14 d 后,模型组大鼠股骨最大载荷明显低,差异有统计学意义,股骨最大挠度、能量吸收及腰椎最大载荷差异无统计学意义。说明,解悬吊后骨的抗挤压和抗破坏能力仍很低,发生骨折危险依然存在。但在悬吊期间出现的退行性变化、抵抗外力负荷能力的降低情况有所恢复。

2.4 解悬吊后大鼠离体 BMD 的变化 结果见表 4。表 4 表明,与空白组相比,解悬吊 14 d 后,模型组大鼠股骨、腰椎 BMD 明显低,差异有统计学意义。因活体与离体 BMD 条件不平行,故不具可比性。说明,解悬吊 14 d 的股骨、腰椎 BMD 仍明显低于空白组,表明失重性骨丢失在解悬吊期还没有恢复到正常水平。

3 讨论

大鼠尾部悬吊模拟失重模型对动物应激作用很小,是保

表 1 实验期间两组动物在不同时间体质量的变化($\bar{x} \pm s, g$)
Tab.1 Changes of weight in two groups at different time point($\bar{x} \pm s, g$)

组别	鼠数	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d	18 d	20 d	22 d	24 d	26 d	28 d
空白组	10	270±10	292±9	306±20	320±14	334±17	341±19	351±17	340±19	347±20	357±26	370±22	365±29	374±25	355±22
	10	270±15	277±20*	285±20*	292±19*	299±21***	305±22***	310±24***	301±22**	311±27*	329±33	336±29*	334±39	350±28	332±33*
t 值		0.036	2.221	2.304	3.637	3.993	3.944	4.473	4.288	3.373	2.103	2.914	2.050	2.034	1.801

注:与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001
Note: Compared with control group,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

表 2 两组动物实验第 14 天活体股骨、骨盆、腰椎、颅骨、胸椎、桡尺骨骨密度的变化($\bar{x} \pm s, g/cm^2$)
Tab.2 Changes of BMD of femur, pelvis, lumbar vertebrae, cranial bone, thoracic vertebrae and radioulna in vivo at 14th day in two groups($\bar{x} \pm s, g/cm^2$)

组别	鼠数	股骨	骨盆	L ₄ 腰椎	颅骨	T ₂ 胸椎	桡尺骨
空白组	10	0.224 7±0.017 4	0.174 0±0.012 1	0.237 0±0.026 0	0.217 8±0.006 2	0.139 3±0.016 2	0.077 5±0.008 0
模型组	10	0.180 6±0.012 4***	0.156 1±0.006 3***	0.202 6±0.021 5**	0.213 9±0.008 5	0.146 7±0.018 4	0.075 9±0.008 5
t 值		6.306	3.975	3.127	1.156	0.929	0.425

注:与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001
Note: Compared with control group,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

表 3 两组动物实验第 28 天股骨最大载荷、最大挠度、能量吸收及腰椎最大载荷的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparisons of maximum load, maximum deflection, energy absorption of femur and maximum load of lumbar vertebrae at 28th day in two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	股骨最大载荷(kg)	股骨最大挠度(mm)	股骨能量吸收(kg·mm)	腰椎最大载荷(kg)
空白组	10	10.271 8±1.230 8	0.664 0±0.102 4	4.999 1±1.096 6	38.714 2±11.767 5
模型组	10	8.693 2±1.120 1**	0.690 9±0.038 6	4.435 2±0.759 9	32.678 4± 5.783 1
t 值		2.912	0.740	1.288	1.392

注:与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

Note:Compared with control group,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

表 4 两组动物实验第 28 天离体股骨、腰椎骨密度的变化($\bar{x}\pm s, g/cm^2$)

Tab.4 Changes of BMD of femur and lumbar vertebrae ex vivo at 28th day in two groups($\bar{x}\pm s, g/cm^2$)

组别	鼠数	实验第 28 天	
		股骨	L ₄ 腰椎
空白组	10	0.153 5±0.010 2	0.143 8±0.007 9
模型组	10	0.135 3±0.011 2**	0.128 9±0.006 9***
t 值		3.712	4.354

注:与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

Note:Compared with control group,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

持了大鼠健康生长的一种模型,但是由于不同实验室所用的大鼠品系、年龄、饲养条件和处理方法不统一而模型所得的某些指标可能存在差异。马永烈等^[5]的研究表明,SD 大鼠 7 d 尾部悬吊使大鼠体重增长速度减慢,15 d 更显著;王玉等^[6]的研究表明,雌性 SD 大鼠尾部悬吊模拟失重 2 周后空白组与模型组体重无明显差异。在本实验中,我们观察到 7 d 尾部悬吊使大鼠体重明显降低,15 d 更显著;解悬吊后第 3 天开始逐渐增加,第 9 天起两组大鼠体重无明显差异。在悬吊期间大鼠体重的下降与失重时体液的头向转移引起的水电解质丢失、进食减少^[7]、肌肉萎缩和骨质丢失等^[8]因素有关。在解悬吊期,后肢负重后肌肉得到锻炼、进食增加等加快体重的增长,但骨质的丢失却很难恢复。

失重性骨质丢失多发生在承重骨,不同部位 BMD 下降程度存在差异,位置越低丢失的矿物质越多。以人体为例,腰椎、骨盆、下肢骨最为明显;而上半身骨骼(胸椎、肋骨、上肢骨骼及颅骨)变化不大^[9]。本实验中,大鼠尾部悬吊 14 d 后,股骨、骨盆、腰椎 BMD 明显降低;颅骨、胸椎、桡尺骨 BMD 无明显变化,这与失重状态下人体骨丢失的变化情况基本一致。研究表明,模拟失重(微重力)时承重骨骨质丢失的主要原因是骨形成的减少。说明尾部悬吊模拟失重时,后肢去负荷后肌肉萎缩、骨应力刺激消失、骨骼血液供应不足等减少了对成骨细胞的刺激而导致成骨细胞增值和分化速率减慢,骨形成降低,引起大鼠承重骨骨矿盐大量丢失;但对非承重骨影响不大。

本实验结果还显示,大鼠尾部悬吊 14 d 解悬吊 14 d 的股骨、腰椎 BMD 明显低于空白组,说明失重性骨丢失在解悬吊期还没有恢复到正常水平。在悬吊和解悬吊期间,模型组大鼠股骨 BMD 较空白组低 19.63%和 11.86%;腰椎 BMD 低 14.51%和 10.36%。表明解悬吊后股骨、腰椎 BMD 与空白组的差异明显低,提示 BMD 逐渐恢复,认为去负荷后刺激成骨细胞活性,

增强骨形成有关,但骨形成与吸收的耦联还未恢复正常而导致骨矿盐含量仍低于空白组。而且,在本实验过程中股骨 BMD 的变化比腰椎明显,考虑股骨受重力影响较大所致。

力学特性是反映骨生长代谢情况的一个重要指标,航天失重和模拟失重均可引起力学特性的显著降低。王玉民等^[10]研究发现,大鼠尾部悬吊 21 d 解悬吊 7 d 后 L₃ 椎体载荷能力、应力水平、强度和硬度等未见明显变化,解悬吊 21 d 后有恢复趋势。本实验结果显示,解悬吊 14 d 后,模型组大鼠股骨最大载荷明显低于空白组。表明在悬吊期间,有可能胶原纤维结构的改变^[11]影响无机元素在其中的矿化和沉积,从而可能影响到骨无机物的丢失以及骨皮质厚度的改变等使其在解悬吊期骨力学强度降低,因此导致了骨的抗挤压和抗破坏的能力下降,且发生骨折的危险依然存在。但股骨最大挠度、股骨能量吸收、腰椎最大载荷与空白组比较无显著差异,说明在悬吊期间股骨、腰椎出现的退行性变化、抵抗外力负荷能力的降低情况有所恢复。

总之,14 d 的尾部悬吊模拟失重可引起大鼠承重骨 BMD 明显降低,对非承重骨影响不大;解悬吊 14 d 后承重骨 BMD 有恢复趋势,但还没有恢复到正常水平,表明骨代谢紊乱短期内不能恢复,骨力学实验进一步证实了此结果。提示对失重骨丢失的防护不应仅在失重期进行,对恢复期骨质的研究并进一步提出防治措施是十分重要的。

参考文献

- 1 沈羨云. 载人航天引起的骨质疏松及其防护研究. 中国航天, 2005, 2:33-35.
- 2 陈英, 李岩, 杨春敏, 等. 模拟失重对生物机能的影响研究进展. 空军总医院学报, 2007, 23(1): 40-45.
- 3 Wimalawansa SM, Chapa MT, Wei JN, et al. Reversal of weightlessness-induced musculoskeletal losses with androgens: quantification by MRI. J Appl Physiol, 1999, 86(6): 1841-1846.
- 4 李晓云, 吴伟康, 沈羨云, 等. 中药水煎剂对模拟失重大鼠血循环指标、骨骼及肌肉组织的保护特点. 中国临床康复, 2006, 10(31): 43-46.
- 5 马永烈, 杨鸿慧, 孙亚志, 等. 尾吊对大鼠骨骼肌力学特征的影响. 中华航空航天医学杂志, 1999, 10(2): 104.
- 6 王玉, 李华凤, 杨沛, 等. 缺氧预处理对模拟失重大鼠比目鱼肌萎缩的预防. 航天医学与医学工程, 2006, 19(4): 269-272.
- 7 Dehority W, Halloran BP, Bikle DD, et al. Bone and hormonal changes induced by skeletal unloading in the mature male rat. Am J Physiol, 1999, 276 (1 PT 1): 62-69.
- 8 Ohira Y, Yoshinaga T, Nomura T. Gravitational unloading effects on muscle fiber size, phenotype and myonuclear number. Adv Space Res,

· 基础研究 ·

前下后上型齿突骨折螺钉内固定的生物力学研究

方弘伟¹, 李建军¹, 吴增晖², 欧阳钧³, 钟世镇³, 林文录⁴, 蒋良俊⁴, 赵俊强¹, 于继华¹, 王向阳⁵

(1.金华市中医医院骨科, 浙江 金华 321017; 2.广州军区总医院; 3.广州第一军医大学; 4.金华市公安局; 5.温州医学院附属第二医院)

【摘要】 目的:评价前下后上型齿突骨折螺钉内固定的生物力学效果。**方法:**收集 20 具新鲜成人上颈椎标本, 分为 3 组, 模拟齿突 II 型骨折模型, 骨折线为前下后上, 截骨角度分别为 0° 6 具, 17° 8 具, 25° 6 具, 并进行齿突螺钉固定。进行旋入力矩、最大轴向拔出力和刚度测试。**结果:**各组最大螺钉旋入力矩、抗拔出力差异无统计学意义。骨折端错位程度随着截骨角度的增加而增加, 在 17° 组平均移位 1.61 mm, 25° 组平均移位 2.88 mm。抗扭转力矩随着截骨角度的增加而增加。各组剪切刚度差异无统计学意义。**结论:**一定角度范围内的前下后上型骨折可使用齿突螺钉固定进行治疗。

【关键词】 颈椎; 齿突尖; 骨折; 骨折固定术, 内; 生物力学

A biomechanical study of anterior screw fixation for type II odontoid fracture with anteroinferior-posterosuperior fracture line FANG Hong-wei*, LI Jian-jun, WU Zeng-hui, OU-YANG Jun, ZHONG Shi-zhen, LIN Wen-lu, JIANG Liang-jun, ZHAO Jun-qiang, YU Ji-hua, WANG Xiang-yang. *Department of Orthopaedics, Traditional Chinese Medical Hospital of Jinhua, Jinhua 321017, Zhejiang, China

ABSTRACT Objective: To investigate the biomechanical effect of anterior screw fixation on the type II fractured odontoid process. **Methods:** Twenty fresh human C₁-C₂ vertebrae specimens were harvested and randomly divided into three groups. The angle of type II fracture line was 0° in group I (n=6), 17° in group II (n=8) and 25° in group III (n=6). The fractures were treated by anterior screw fixation. Insertion torque, maximal axial pullout force and stiffness of the bone-screw were tested. **Results:** There was no significant difference of screw insertion torque and the pull-out strength between each group. The displacement of the odontoid fragment had an association to the angle of the fracture line, the displacement of the small angle was significantly higher than that of the large one (P<0.5). No significant difference of structure stiffness of the bone-screw was found between each group. **Conclusion:** Anterior screw fixation is feasible for type II odontoid fracture with certain fracture line extends from anteroinferior to posterosuperior.

Key words Cervical vertebrae; Odontoid process; Fractures; Fracture fixation, internal; Biomechanics

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(4): 279-281 www.zggszz.com

齿突骨折是一种常见的颈椎损伤, 根据 Anderson 分型: I 型为齿突尖部骨折, 临床少见, 有症状时才需治疗; II 型为齿突腰部骨折, 预后较差, 不愈合率高, 通常需要手术治疗; III 型为齿突基底部延伸至枢椎椎体骨折, 闭合复位与固定治疗的愈合率高。通常对 Anderson II 型齿突骨折的治疗, 是根据骨折线走向来决定治疗方案。对骨折线呈横形或前上后下型的骨折, 首选齿突螺钉内固定; 而对前下后上型的骨折, 因螺

钉固定可能造成骨折端错位与不稳, 而用寰枢椎融合术可使寰枢椎旋转活动减少 45°, 伸屈减少 15°^[1]。在临床上我们发现有些前下后上型的骨折采用前路齿突螺钉固定也获得愈合, 因此, 我们设想某些前下后上型的 Anderson II 型骨折采用前路螺钉内固定可能获得较好的稳定性。本文通过对前下后上型齿突骨折螺钉固定的试验测试, 了解其骨折端错位和稳定性, 探索该型骨折进行螺钉固定的生物力学依据。

1 材料与方

1.1 标本准备与制作 22 具新鲜青壮年上颈椎标本, 经肉

通讯作者: 方弘伟 Tel: 0579-83431502 E-mail: HWF25888@163.com

2002, 30(4): 777-781.

9 付崇建, 郁冰冰, 朱国雄, 等. 失重/模拟失重对骨骼系统的影响及其机制. 实用医药杂志, 2003, 20(7): 546-549.

10 万玉民, 崔伟, 张曼夫, 等. 尾部悬吊大鼠恢复期腰椎骨骨质和生物

力学特性的变化. 中华航空航天医学杂志, 2000, 11(2): 96-100.

11 应航, 詹红生, 井夫杰, 等. 兔颈椎终板胶原结构变化对运动节段力学性能的影响. 中国骨伤, 2003, 16(10): 577-579.

(收稿日期: 2007-10-30 本文编辑: 王玉蔓)