

· 基础研究 ·

大鼠股骨干开放骨折愈合模型的建立及生物力学性能评价

邢丹¹, 马信龙^{1,2}, 马剑雄², 王杰², 陈阳¹, 杨阳¹, 朱少文¹, 马宝意¹, 冯睿²

(1.天津医院骨研所生物力学室 天津医科大学骨科临床学院,天津 300211; 2.天津医科大学总医院骨科,天津 300052)

【摘要】目的:比较闭合骨折髓内钉固定和开放骨折钢板固定大鼠股骨干骨折愈合模型的建立及生物力学性能。**方法:**将 40 只 8 周龄 SD 雄性大鼠通过随机数字表法分为两组,分别建立左侧股骨干闭合骨折髓内钉内固定模型和开放骨折钢板内固定模型,每组 20 只。建立骨折模型后,分别于术后 4、6、8、12 周 4 个时间点对两组大鼠进行分批处死后取材,测量骨折处骨痂的最大横截面积、体积,计算骨痂的最大载荷、最大载荷恢复率。比较两种不同骨折愈合模型的力学性能。**结果:**两种骨折模型的平均手术时间比较,差异有统计学意义($P<0.001$)。两种骨折模型术后各时间点的平均骨痂最大横截面积和平均骨痂体积差异具有统计学意义($P<0.05$)。两种骨折固定模型术后各时间点的平均最大载荷以及平均最大载荷恢复率,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**骨折愈合过程中,闭合骨折髓内钉固定模型的力学性能优于开放骨折钢板内固定模型,提示轴向的力学刺激在骨折愈合过程中起重要作用。

【关键词】 股骨骨折; 内固定器; 动物,实验; 生物力学

DOI:10.3969/j.issn.1003-0034.2013.08.016

Biomechanical study on open fracture model with plate fixation compared with closed fracture model with intramedullary nail fixation in rats XING Dan, MA Xin-long*, MA Jian-xiong, WANG Jie, CHEN Yang, YANG Yang, ZHU Shao-wen, MA Bao-yi and FENG Rui. *Department of Orthopaedics Institute, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

ABSTRACT Objective: To compare biomechanical effect of the closed fracture model with intramedullary nail fixation and the open fracture model with plate fixation in rats. **Methods:** Forty 8-week-old Sprague-Dawley male rats were divided into two groups randomly. Left femoral shaft closed fractures model was created in 20 rats, and treated with intramedullary nail. Other 20 rats received open osteotomy on the left femoral shaft, and were fixed by plate. Rats were sacrificed and draw the materials at 4, 6, 8 and 12 weeks in batch. Across section area and volume of callus were measured, peak load, restoration rate of peak load were tested. The biomechanical efficiency of two methods of femoral shaft fracture fixation were compared. **Results:** The difference of surgical duration was statistically significant between two groups ($P<0.001$). At 4, 6, 8 and 12 weeks, the difference of peak load, restoration rate of peak load, volume and area of callus was also statistically significant between two groups ($P<0.05$). **Conclusion:** Open fracture model with plate fixation led to delayed healing compared with closed fracture model with intramedullary nail. However, open fracture model with plate fixation model could be a valuable research tool to study the healing consequences of cortical bone, which may provide insight into the pathogenesis and ideal treatment of fractures or non-unions.

KEYWORDS Femoral fractures; Internal fixators; Animals, laboratory; Biomechanics

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(8):676-680 www.zggszz.com

骨折的愈合是一个复杂的生物学过程,近年来,大鼠骨折模型的应用逐渐增多^[1]。随着分子生物学的发展,其广泛用于骨折愈合分子机制的研究^[2]。目前国际上大多采用闭合骨折髓内钉固定模型^[3],虽然此种造模手术简单,对骨折周围的软组织破坏小,

但有其自身的不足,如:不能很好地控制轴向稳定性和旋转稳定性以及髓腔损伤的风险^[4-6]。临床工作中在治疗长骨骨折时,需根据不同的适应证选择钢板或髓内钉固定。为此,笔者建立一种开放骨折钢板内固定骨折模型,并将其与常用的闭合骨折髓内钉内固定模型进行生物力学性能的比较,为今后研究骨折愈合提供参考。

1 材料与方

1.1 实验动物 8 周龄雄性 SD 大鼠 40 只(SPF 级,解放军卫生装备研究所动物实验中心提供),体质量(245±35)g。采用随机数字表法将其分为闭合

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81102607);天津市科技支撑重点项目(编号:11ZCGYSY01800);天津市卫生局科技攻关项目(编号:11KG137)

Fund program: National Natural Science Foundation of China (No. 81102607)

通讯作者:马信龙 Tel:022-60362062 E-mail:mjx969@163.com

骨折髓内钉固定组和开放骨折钢板固定组, 每组 20 只。饲养于天津医科大学总医院标准动物实验中心, 标准鼠粮适应性饲养 2 周, 自由饮水, 室温(23±2) °C, 间隔 12 h 照明, 定期消毒及通风。

1.2 实验器材 5 ml 一次性无菌注射器针头(直径为 1.5 mm, 长 4 mm, 厦门大博颖精医疗器械有限公司)(如图 1)。Endura TEC ELF 3200 力学实验仪器及其配套的 Wintest 生物力学测试软件(Bose 公司, 美国); 闭式四用游标卡尺(苏州利丰精密仪器有限公司, 江苏)。

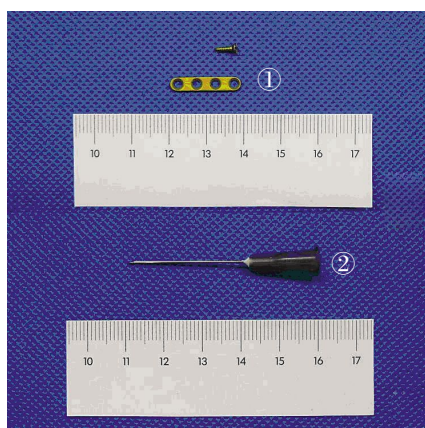


图 1 两种不同内固定材料 ① 普通钢板及螺钉 ② 注射器针头

Fig.1 Two materials for internal fixation ① plate and screw ② syringe needle

1.3 骨折模型制作方法

1.3.1 闭合骨折髓内钉固定模型 使用 3.5% 的水合氯醛(1 ml/100 g)行腹腔麻醉成功后, 常规消毒, 取左下肢髌骨外侧缘纵行切口, 长约 1 cm, 逐层切开皮肤及部分股四头肌腱性组织, 屈曲膝关节并向内侧脱位髌骨, 充分显露股骨髌间凹。从股骨髌间凹处逆行插入 1 根 5 ml 注射器针头沿髓腔至股骨粗隆间。剪断多余的针头, 并将其远端埋于股骨髌间骨皮质下。碘伏及生理盐水反复冲洗切口后, 使用 3-0 丝线逐层缝合切口。将动物左下肢外展内旋位固定于造模支架上, 通过三点弯曲实验的原理打击大腿中部, 致股骨中断横行骨折(如图 2)。

1.3.2 开放骨折钢板内固定模型 使用 3.5% 的水合氯醛(1 ml/100 g)行腹腔麻醉成功后, 取左下肢沿股骨干全长的外侧切口, 长约 2.5 cm, 切开皮肤后沿肌间隙入路显露股骨全长, 将钢板贴附于股骨干的外侧并先后打入 4 枚皮质骨螺钉, 将钢板与股骨固定。然后, 在股骨干中点利用直径为 0.8 mm 的线锯制作横行骨折模型。使用碘伏及生理盐水冲洗伤口后缝合肌肉及皮肤(如图 3)。

1.3.3 术后处理 术后立即在麻醉状态下拍摄患肢正侧位 X 线片, 了解骨折类型及移位程度, 要求



图 2 闭合骨折髓内钉内固定模型的建立: 左侧股骨髌间凹处进针, 逆行插入髓腔

Fig.2 Closed fracture model with intramedullary nail fixation: nail retrograde through medullare from intercondylar fossa of the left femur

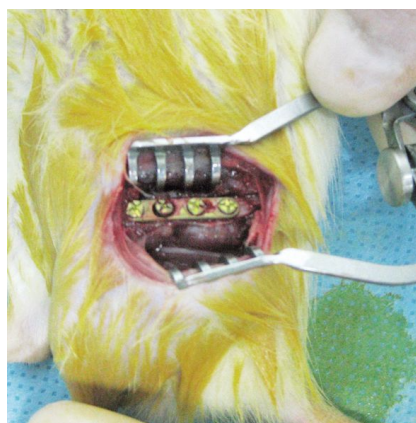


图 3 开放骨折钢板内固定模型的建立: 暴露左侧股骨全长, 固定钢板及螺钉后制作骨折模型

Fig.3 Open fracture model with plate fixation; fractured femoral shaft fixed by plate and screw

骨折类型为股骨中段横行骨折或短斜形骨折, 骨折端固定理想无明显移位, 内固定器位置理想。造模不合格的大鼠予以剔除, 并及时补充样本量。大鼠单笼饲养, 定时添足饲料, 饮水不加限制, 每 2~3 d 更换一次垫料, 保持干燥。

1.4 观察项目与方法

1.4.1 标本取材 两组分别于术后 4、6、8、12 周各时间点各取 5 只大鼠, 过量麻醉处死, 取手术侧及健侧股骨全长标本, 剔除附着股骨干的肌肉, 取下内固定后用湿盐水纱布包裹置 -20 °C 冰箱中低温保存(如图 4)。

1.4.2 骨折模型制作时间 全部造模过程由同一名研究者完成, 分别计算两组骨折造模的平均时间。

1.4.3 骨痂最大横截面积及体积 用游标卡尺(0.02 mm)测量骨痂前后径、左右径以及上下径, 计算骨痂最大横截面积以及体积。骨痂最大横截面积按照公式: $\pi \times \text{左右径} \times \text{前后径} \div 4$ 计算。骨痂的体积按

件:可重复性、安全性、可比性、可操作性、相似性。虽然目前国内外对于骨折愈合的模型大多采用闭合骨折髓内钉内固定模型,但是此模型存在自身的缺陷,也无法模拟人体开放骨折以及钢板固定的情况。因此,本研究的目的是建立大鼠股骨开放骨折钢板内固定模型,并将其与闭合骨折髓内钉固定模型进行生物力学性能的比较,为今后研究长骨干骨折愈合提供参考。

3.1 不同力学环境对骨折愈合的影响分析 本研究结果显示髓内钉固定组骨痂的最大横截面积和体积随时间的推移逐渐减小,相反,钢板组骨痂的最大横截面积和体积随时间推移有增大的趋势,但各时间点比较差异无统计学意义。力学性能指标显示,各时间点的力学性能髓内固定组与钢板固定组的比较均有统计学意义。虽然两组模型的力学性能随时间推移逐渐增加,但钢板组在术后 8、12 周力学性能差异无统计学意义。这说明由于闭合骨折可能没有损伤骨折端的骨膜,在骨折端形成的血肿被骨膜包裹,故在骨折端保留了大量的骨原细胞以及骨髓间充质干细胞,最终会促进骨痂的形成^[7],因此,髓内钉组早期的骨痂面积以及体积较大。随着时间的推移,髓内钉组骨痂的体积、面积逐渐减小,而力学性能逐渐提高,说明与髓内钉固定时,骨折断端存在的微动促进骨痂的矿化有关,使得最初在骨折端形成的体积较大的纤维骨痂向骨性骨痂转化,使骨痂的体积逐渐变小,力学性能也不断提高。同时,一定程度的力学刺激促使骨髓间充质干细胞向成骨细胞转化。在矿化骨痂形成以后,骨即进入塑形及重塑阶段。在这个阶段,机械应力的变化影响骨的形成。Gardner 等^[8]比较了两种弹性模量不同的内固定物对小鼠股骨干骨折愈合的影响。结果显示,术后 2 周时,内固定硬度低的小鼠骨折愈合程度高,骨痂体积小,软骨所占的比例少。Sigurdson 等^[9]建立大鼠胫骨骨折模型,比较了粗细两种髓内钉对骨折愈合的影响,发现粗髓内钉的固定强度超过细髓内钉的 3 倍,但细髓内钉的微动刺激可能促进了骨折愈合。应用细钉比粗钉可以获得更大的骨痂和更好的矿化程度,使骨密度增加,并具有更高的抗弯强度。Sigurdson 等^[10]通过建立大鼠胫骨骨折模型,认为轴向压缩与轴向拉伸相比可以提高骨的矿化程度、机械强度及刚度。本实验中,髓内钉组可能正是因为存在轴向的微动促进了骨痂的矿化以及力学性能的提高,尤其在术后第 8、12 周时,其力学性能较前明显提高,这可能由于骨折愈合进入了重塑阶段,骨痂的力学性能获得明显提高。而钢板组在每个时间点的力学性能均弱于髓内钉组,提示骨折愈合的速度较慢。术后 8、

12 周时,其力学性能的差异没有统计学意义,这可能是由于钢板固定所形成的应力遮挡效应使得应力无法传导至骨折断端,最终影响了骨痂的矿化。

3.2 两种模型的优缺点 闭合骨折髓内钉固定模型只须在髌骨外侧做一很小的手术切口,出血少,手术时间短,对大鼠的手术创伤相对较小。由于手术切口远离骨折端,因此降低了手术切口局部对骨折愈合的影响。另外,闭合骨折没有对骨折端局部的软组织、骨膜等进行剥离,在一定程度上保护了局部的血运,也会减少对骨折愈合的影响。但是,由于此种骨折模型骨折的建立无法在直视下进行,所以会导致打击后形成的骨折线的类型无法得到很好的控制。同时,还应注意这种普通髓内钉无法满足骨折端的旋转稳定性以及轴向稳定性的要求^[11-12],在一定程度上也会影响骨折的愈合。

开放骨折钢板内固定模型需要做一沿股骨全长的切口,出血量较大,而且需要剥离附着股骨全长的肌肉,均可能对骨折愈合产生影响。制作横行骨折线时,摆锯对骨折端以及骨膜的热损伤可能导致骨折不愈合率较高^[13]。手术时间的延长会增加切口污染的可能性,手术切口的感染也会影响骨折的愈合。另外,摆锯截骨过程中在骨折端会形成微小的骨缺损,这可能导致此模型在一定程度上难以模拟临床上骨折端解剖复位加压固定的过程。由此可见,开放骨折钢板内固定模型中影响骨折愈合的因素较多,但是开放骨折具有截骨面光整,骨折角度与位置可控等优点^[13]。

3.3 钢板固定模型愈合延迟原因分析 通过对本研究的力学数据分析,发现开放骨折钢板内固定模型的骨折愈合程度滞后于闭合骨折髓内钉固定模型,这可能与下列原因有关:①开放骨折钢板内固定组的骨折端规整,钢板固定牢靠,使得骨折端缺少力学刺激,从而影响骨折的愈合^[14]。②开放骨折钢板内固定模型建立过程中,摆锯截骨使得骨折端存在一定的微小缺损,影响了骨折的愈合。③开放骨折钢板内固定手术过程中对骨膜、软组织的破坏以及髓腔的暴露使得骨折端附近失去了主要的骨原细胞以及骨髓间充质干细胞,并且使得骨折端的血供减少^[7]。④钢板内固定存在的应力遮挡效应,使得骨折端缺乏一定的应力刺激,影响了骨折愈合^[15]。以上这些因素均不同程度的影响了骨折后骨痂的形成,最终影响骨折的愈合进程。

虽然本研究结果显示开放骨折钢板内固定比闭合骨折髓内钉固定的骨折愈合进程慢。但是提供了一种新型的骨折模型即开放骨折钢板内固定模型。本研究的局限性在于,由于样本量小,其结果的稳定

性可能不足,同时,未来还须对骨痂进行组织形态学的研究,以明确不同力学性能骨痂的组织结构及成分。本研究通过比较两种不同大鼠股骨干骨折模型力学性能的比较,为研究皮质骨骨折愈合提供了一定的参考。研究者需根据不同的研究目的选择不同的骨折模型。

参考文献

[1] 汤译博,赵亮,苏佳灿.骨折动物模型的研究进展[J].中国骨伤,2011,24(1):91-93.
Tang YB,Zhao L,Su JC. Progress of animal model of fracture[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma,2011,24(1):91-93. Chinese with abstract in English.

[2] Jacenko O,Olsen BR. Transgenic mouse models in studies of skeletal disorders[J]. J Rheumatol Suppl, 1995,43:39-41.

[3] Manigrasso MB,O'Connor JP. Characterization of a closed femur fracture model in mice[J]. J Orthop Trauma,2004,18(10):687-695.

[4] Krischak GD,Augat P,Sorg T,et al. Effects of diclofenac on periosteal callus maturation in osteotomy healing in an animal model [J]. Arch Orthop Trauma Surg,2007,127(1):3-9.

[5] Krischak G D, Augat P, Blakytyn R, et al. The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac reduces appearance of osteoblasts in bone defect healing in rats[J]. Arch Orthop Trauma Surg,2007,127(6):453-458.

[6] Histing T,Holstein JH,Garcia P, et al. Ex vivo analysis of rotational stiffness of different osteosynthesis techniques in mouse femur frac-

ture[J]. J Orthop Res,2009,27(9):1152-1156.

[7] Rhinelander FW. The normal microcirculation of diaphyseal cortex and its response to fracture[J]. J Bone Joint Surg Am,1968,50(4):784-800.

[8] Gardner MJ,Putnam SM,Wong A, et al. Differential fracture healing resulting from fixation stiffness variability;a mouse model[J]. J Orthop Sci,2011,16(3):298-303.

[9] Sigurdson U,Reikeras O,Utvag SE. Conversion of external fixation to definitive intramedullary nailing in experimental tibial fractures [J]. J Invest Surg,2010,23(3):142-148.

[10] Sigurdson U,Reikeras O,Utvag SE. The influence of compression on the healing of experimental tibial fractures[J]. Injury,2011,42(10):1152-1156.

[11] Holstein JH,Matthys R,Histing T, et al. Development of a stable closed femoral fracture model in mice[J]. J Surg Res,2009,153(1):71-75.

[12] Garcia P,Holstein JH,Histing T, et al. A new technique for internal fixation of femoral fractures in mice;impact of stability on fracture healing[J]. J Biomech,2008,41(8):1689-1696.

[13] Park SH,O'Connor K,Sung R, et al. Comparison of healing process in open osteotomy model and closed fracture model[J]. J Orthop Trauma,1999,13(2):114-120.

[14] Einhorn TA. The science of fracture healing[J]. J Orthop Trauma,2005,19(10 Suppl):S4-6.

[15] Dimitriou R,Jones E,McGonagle D, et al. Bone regeneration; current concepts and future directions[J]. BMC Med,2011,9:66.

(收稿日期:2012-12-12 本文编辑:李宜)

·读者·作者·编者·

在线浏览《中国骨伤》杂志全文的通知

《中国骨伤》杂志社自 2010 年正式启用稿件远程处理系统以来,读者、作者和编者即可在线 <http://www.zggszz.com> 浏览《中国骨伤》杂志全文。

读者、作者和编者可通过 <http://www.zggszz.com> 注册的 E-mail 和密码登录,在线浏览《中国骨伤》杂志全文。读者需在线充值方可浏览;作者是指自 2011 年第 1 期刊登文章的所有第一作者和通讯作者可免费在线浏览;编委和特约审稿人可免费在线浏览。

欢迎广大的读者、作者和编者在线浏览《中国骨伤》杂志全文。

《中国骨伤》杂志社