

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00569

## 骨质疏松大鼠胫骨骨缺损应用硫酸钙骨水泥填充后骨密度的变化

Change of bone mineral density after fixation of tibial defect with calcium sulfate cement in osteoporotic rats

张咏, 周许辉, 陈雄生, 顾晓民, 贾连顺\*

第二军医大学长征医院骨科, 上海 200003

**[摘要]** **目的:**观察骨质疏松大鼠胫骨骨缺损应用硫酸钙骨水泥填充后骨密度(BMD)的变化,探讨骨质疏松病理条件下应用骨水泥修复骨缺损的意义。**方法:**36只成年SD雌性大鼠随机分为3组:空白对照组,仅行输卵管结扎术;骨质疏松组,卵巢切除术后3个月胫骨近端形成骨缺损;骨水泥治疗组,卵巢切除术后3个月胫骨近端形成骨缺损后应用硫酸钙骨水泥填充。卵巢切除术后3个月测定大鼠全身BMD判断骨质疏松模型制备情况。胫骨近端骨缺损形成后2、4、8、12周取缺损处标本进行BMD检测。**结果:**空白对照大鼠全身BMD( $\text{g}/\text{cm}^2$ )明显高于卵巢切除大鼠( $0.399 \pm 0.035$  vs  $0.302 \pm 0.042$ ,  $P < 0.05$ ),证实骨质疏松模型建立成功。骨水泥治疗组大鼠硫酸钙骨水泥填充后2周和4周骨缺损处样本BMD明显高于骨质疏松组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),填充后8周和12周时BMD差异无统计学意义。**结论:**骨质疏松大鼠骨缺损填充硫酸钙骨水泥早期能增加骨密度,但其在体内降解较快,成骨效应受到骨质疏松条件的限制,在使用骨水泥治疗的同时,应针对骨质疏松症进行积极治疗。

**[关键词]** 骨密度;骨质疏松;硫酸钙骨水泥;骨缺损;胫骨

**[中图分类号]** R 683 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2008)05-0569-03

临床工作中出于植骨的需要,对移植骨的需求量非常大。自体骨因用量有限在临床应用中受到限制,因此,硫酸钙和磷酸钙等合成骨移植替代物在临床上得到广泛的应用。可注射自凝固骨水泥被广泛应用于椎体压缩性骨折、四肢创伤及肿瘤所致骨缺损的治疗中。离体实验和正常体质动物实验发现其植入后有相当的抗压强度,具有良好的可降解性能和一定的诱导成骨能力<sup>[1-2]</sup>。目前可注射自凝固骨水泥广泛应用于临床骨质疏松椎体压缩性骨折椎体成形术<sup>[3]</sup>,但是其在骨质疏松病理条件下的抗压强度、可降解性能和诱导成骨能力如何仍缺乏相关研究。本研究将可注射式硫酸钙骨水泥应用于治疗骨质疏松病理条件下的大鼠骨折,观察术后骨缺损局部骨密度(bone mineral density, BMD)的变化,为后续研究奠定基础。

### 1 材料和方法

**1.1 实验动物及分组** 成年清洁级雌性 Sprague-Dawley (SD)大鼠 36 只,6 个月龄,体质量 300~400 g,由第二军医大学实验动物中心提供(二级合格动物)。大鼠随机分为 3 组( $n=12$ ):空白对照组,仅行输卵管结扎术;骨质疏松组,卵巢切除术后 3 个月胫骨近端形成骨缺损;骨水泥治疗组,卵巢切除术后 3 个月胫骨近端形成骨缺损后予硫酸钙骨水泥充填。

**1.2 卵巢去势制备骨质疏松大鼠模型** 骨质疏松组及骨水泥治疗组大鼠按 0.3 ml/100 g 体质量腹腔注射质量分数为

10%水合氯醛溶液,10 min 后麻醉满意后,俯卧位固定。于腰部作正中切口,并向两侧游离皮下组织,于一侧腰背筋膜的肌肉与筋膜交界处切开,用手指挤压该侧腹腔使腹膜后脂肪显露于切口内,在肾脏下约 1 cm 处见到粉红色的输卵管(直径约 3~4 mm)和白色桑椹状卵巢,结扎输卵管后游离切除卵巢,缝合筋膜;同样方法进行另一侧卵巢切除术,切口内放入青霉素 8 万 u,缝合皮肤。空白对照组只结扎输卵管离卵巢,而不行卵巢切除;其余则完成卵巢切除术。术后 3 个月测定全身 BMD 值鉴定模型制备情况。

**1.3 胫骨缺损骨水泥修补术** 卵巢切除术后 3 个月,骨水泥治疗组骨质疏松大鼠按 0.3 ml/100 g 体质量腹腔注射质量分数为 10%水合氯醛溶液,麻醉效果满意后,先行全身 BMD 测量,然后于左侧胫骨近端外侧切开,分离软组织显露胫骨近端,咬骨钳咬除部分骨质,硫酸钙骨水泥填充骨缺损后关闭切口,同法处理右侧。骨质疏松组咬除部分骨质后,将咬除的碎骨填充骨缺损。

**1.4 骨密度检测** 在胫骨近端骨缺损形成手术中,使用质量分数为 10%水合氯醛麻醉后,将大鼠置于 Lunar-DXA IQ 骨密度仪上,采用小动物模式行全身骨密度扫描检测,自动测量全身 BMD 值( $\text{g}/\text{cm}^2$ )。分别于手术后第 2、4、8、12 周各时间点处死大鼠( $n=3$ ),检测双侧胫骨近端标本的 BMD,将感兴趣区(region of interest, ROI)的面积设定为 0.36  $\text{cm}^2$ 。

**1.5 统计学处理** 采用 Stata 统计软件进行方差分析,计量

**[收稿日期]** 2007-09-06 **[接受日期]** 2007-12-14

**[作者简介]** 张咏,博士,主治医师. E-mail: zhangyongzyx@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-63610109-73321, E-mail: jialianshun@163.com

资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 骨质疏松大鼠模型及骨缺损模型制备情况 卵巢切除术后3个月测定全身BMD值,空白对照大鼠为  $(0.399 \pm 0.035) \text{ g/cm}^2$ , 卵巢切除大鼠为  $(0.302 \pm 0.042) \text{ g/cm}^2$ , 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结果表明卵巢去势后3个月大鼠BMD明显降低,持续缺乏雌激素造成大鼠骨质疏松,骨质疏松大鼠模型制备成功。骨缺损手术后模型组有2只大鼠单侧后肢跛行,取材时见骨折后假关节形成。其余大鼠运

动正常,切口愈合良好。

2.2 胫骨缺损术后各组大鼠BMD值的比较 胫骨缺损术后各时间点各组大鼠BMD值结果见表1。结果表明空白对照组大鼠胫骨近端在各时间点一直维持正常BMD值,骨质疏松组大鼠胫骨近端在各时间点BMD均低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ),说明卵巢去势后大鼠未经治疗一直维持骨质疏松状态。胫骨缺损骨水泥修补术后2周时检测该部位BMD值明显上升,4周时仍在较高水平 ( $P < 0.01$ ),之后迅速下降,8周时与骨质疏松组相比已经没有统计学差异,说明骨水泥修补术后经过8周左右局部BMD与骨质疏松大鼠相似。

表1 大鼠胫骨近端标本BMD测量结果

( $n=3, \bar{x} \pm s, \text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )

组别	术后时间 $t/\text{week}$			
	2	4	8	12
空白对照组	$0.159 \pm 0.019^*$	$0.156 \pm 0.016^*$	$0.157 \pm 0.013^*$	$0.154 \pm 0.013^*$
骨质疏松组	$0.128 \pm 0.011$	$0.127 \pm 0.013$	$0.128 \pm 0.012$	$0.126 \pm 0.014$
骨水泥治疗组	$0.327 \pm 0.025^{**}$	$0.193 \pm 0.018^{**}$	$0.137 \pm 0.016$	$0.129 \pm 0.015$

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  与骨质疏松组比较;BMD:骨密度

## 3 讨论

3.1 骨质疏松动物模型的制备 骨质疏松的发病因素有很多,目前考虑与遗传因素、激素、骨代谢局部调节因子、营养因素、不良的生活习惯以及缺乏运动和机械刺激的废用性因素等有关。因此,有多种骨质疏松动物模型,如营养不良型、废用型和激素紊乱型等<sup>[4]</sup>。流行病学调查显示,无论人种、民族还是地区差异,40岁以下的男性和女性骨质疏松症的发病率均在10%以下,而在50岁以后开始增高,60岁以上人群中,女性骨质疏松症的患病率是男性的3~6倍。其中原发性骨质疏松症中的I型即绝经后骨质疏松症占大多数,以女性为主,年龄50~70岁,多数表现为骨形成和骨吸收的生化指标均增高,即高转换型。因此,雌激素缺乏造成的骨质疏松模型与临床绝经后骨质疏松的发病过程最为吻合<sup>[5]</sup>。本研究使用雌性去势后大鼠制作绝经后骨质疏松症的模型,也是公认的绝经后骨质疏松症病理模型,是美国FDA认证的抗骨吸收药物临床前实验模型<sup>[6]</sup>。实验结果说明,成年雌性大鼠去势后3个月,全身BMD值明显降低,在此后的各时间点空白对照组与骨质疏松组大鼠胫骨近端标本BMD值也有显著性差异,证实骨质疏松大鼠模型建立成功。实验周期中大鼠处于6~12个月龄,该阶段大鼠骨代谢相对稳定,可以作为制作骨质疏松模型和实验的对照。

3.2 人工骨的降解 一般说来,硫酸钙在体内的吸收比磷酸钙要快,临床使用X线检查,吸收时间一般在4~8周,动物实验组织学检查吸收时间在6~24周<sup>[7]</sup>。医用硫酸钙是具有特定大小和形状的晶体结构,因此有稳定的吸收速度。通常认为在正常体内硫酸钙的吸收速度与新骨生长速度一致(4~8周)<sup>[8]</sup>,当医用硫酸钙被吸收的同时,新骨塑形并恢复解剖学特点和结构特性。雌激素缺乏骨质疏松的病理情况下,骨的吸收和形成均加快,骨代谢相对旺盛,处于高代谢

状态,可能会影响到骨水泥的吸收速度。本实验检测BMD在4~8周逐渐下降,8周时已经低于正常水平,与骨质疏松组的BMD大体相当,在12周时骨水泥治疗组的BMD已经非常接近骨质疏松大鼠,说明骨水泥降解吸收速度有所加快。骨水泥吸收过快,与新生骨的生长速度不能保持同步,就会阻碍新骨的爬行替代,影响到新骨的形成质量。

3.3 抗压强度 在椎体成形术中使用骨水泥需要将压缩塌陷的椎体撑开,尽量恢复到接近正常的椎体高度。骨水泥充填入骨缺损区后首先要起到支撑的作用,以维持恢复的椎体高度,其强度至少要超过正常松质骨的强度。硫酸钙骨水泥固化后的机械强度介于松质骨与皮质骨之间,可以起到良好的支撑作用<sup>[9]</sup>。本实验显示,骨水泥填充的初期,局部BMD明显增高,超过对照组标本BMD,间接说明骨水泥填充后有着足够的抗压能力。但是由于存在着骨质疏松的病理条件,在8~12周BMD迅速下降,这势必影响到骨水泥的抗压强度。由于本实验所使用的实验动物比较小,需要使用大型动物进行生物力学方面的检测才能给出更为明确的证据。

3.4 诱导成骨能力 硫酸钙骨水泥在正常机体内有着较强的诱导成骨能力,随着骨水泥的不断降解吸收,新骨逐渐爬行替代<sup>[8]</sup>。本实验显示骨质疏松大鼠体内植入硫酸钙骨水泥后,在8~12周BMD迅速下降,低于空白对照组,与骨质疏松组相当。这可能有两方面的原因:一方面是因为骨质疏松的高代谢状态下,骨水泥降解吸收加快,使得新骨形成不良有关;另一方面可能是由于硫酸钙骨水泥的成骨效应受到骨质疏松病理条件的制约,无法形成正常质量的新骨,形成的新骨也同样存在着骨质疏松的病理状态。

总之,尽管骨水泥在临床中已经得到了较为广泛的应用,但是在骨质疏松的病理条件下,骨水泥无法维持正常的抗压强度、均衡的降解速度和良好的诱导成骨能力。这提示在临床工作中,在使用骨水泥手术治疗的同时,应该针对骨

质疏松症进行积极的治疗。

#### [参考文献]

- [1] Thomas M V, Puleo D A, Al-Sabbagh M. Calcium sulfate: a review[J]. *J Long Term Eff Med Implants*, 2005, 15: 599-607.
- [2] Wang M L, Massie J, Allen R T, Lee Y P, Kim C W. Altered bioreactivity and limited osteoconductivity of calcium sulfate-based bone cements in the osteoporotic rat spine[J]. *Spine J*, 2008, 8: 340-350.
- [3] Clayer M. Injectable form of calcium sulphate as treatment of aneurysmal bone cysts[J]. *ANZ J Surg*, 2008, 78: 366-370.
- [4] Jee W S, Yao W. Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2001, 1: 193-207.
- [5] Jee W S, Ma Y. Animal models of immobilization osteopenia [J]. *Morphologie*, 1999, 83: 25-34.
- [6] Thompson D D, Simmons H A, Pirie C M, Ke H Z. FDA Guidelines and animal models for osteoporosis[J]. *Bone*, 1995, 17(4 Suppl): 125S-133S.
- [7] Turner T M, Urban R M, Gitelis S, Kuo K N, Andersson G B. Radiographic and histologic assessment of calcium sulfate in experimental animal models and clinical use as a resorbable bone-graft substitute, a bone-graft expander, and a method for local antibiotic delivery. One institution's experience[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2001, 83-A Suppl 2(Pt 1): 8-18.
- [8] Kelly C M, Wilkins R M. Treatment of benign bone lesions with an injectable calcium sulfate-based bone graft substitute[J]. *Orthopedics*, 2004, 27(1 Suppl): s131-s135.
- [9] Yetkinler D N, McClellan R T, Reindel E S, Carter D, Poser R D. Biomechanical comparison of conventional open reduction and internal fixation versus calcium phosphate cement fixation of a central depressed tibial plateau fracture[J]. *J Orthop Trauma*, 2001, 15: 197-206.

[本文编辑] 贾泽军