

·基础研究·

复合振动对去势骨质疏松大鼠骨强度的作用*

邓轩赓¹ 陈建庭² 冯 鹰³

摘要 目的:观察复合振动骨质疏松大鼠骨强度的影响。**方法:**4.5月龄SD雌性未育大鼠24只,随机分为对照组和两个实验组。卵巢摘除法骨质疏松造模成功后,实验组各自接受不同的复合振动,分别测大鼠腰椎、股骨骨密度,胫骨骨微结构,腰椎、股骨力学性能。**结果:**两振动组大鼠腰椎、股骨骨密度均有明显增加,腰椎:0.0055±0.0126g/cm²,0.0132±0.0078g/cm²,股骨:0.0078±0.0081g/cm²,0.0145±0.0053g/cm²,但仅振动2组骨结构(小梁骨数量、间距、连接密度、骨体积分数)和骨极限强度有显著性改善。**结论:**特定复合振动可以增强去势骨质疏松大鼠骨强度,与同类研究比较可降低振动强度,在治疗骨质疏松方面有应用前景。

关键词 骨质疏松;骨强度;复合振动

中图分类号:R331 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2009)

The effect of compound vibration on bone strength in ovariectomized SD rat osteoporosis models/DENG Xuangeng, CHEN Jianting, FENG Ying//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009,

Abstract Objective: To observe the effect of compound vibration on bone strength in ovariectomized SD rats. **Method:** Twenty-four ovariectomized SD rats of 4.5-months were randomly divided into three groups (n=8): one control group and two vibration groups. The vibration groups received different vibrations respectively. The lumbar and femur bone mineral density (BMD), tibia bone microarchitecture, lumbar and femur bone biomechanical property were measured. **Result:** After compound vibration intervention, the gain of lumbar and femur BMD in two vibration groups improved significantly compared with control. L:0.0055±0.0126g/cm²,0.0132±0.0078g/cm²; F:0.0078±0.0081g/cm²,0.0145±0.0053g/cm². But only vibration group 2 showed significant improvement on some parameters of bone microarchitecture (trabecular number, trabecular separation, connectivity density and bone volume fraction) and bone biomechanics (ultimate strength). **Conclusion:** Specified compound vibration could enhance bone strength of ovariectomized rats with osteoporosis. Compound vibration could reduce the vibration magnitude compared with the other relative research, which led to the perspective of osteoporosis treatment or rehabilitation in clinic.

Author's address Dept. of Spine Sichuan Orthopaedics Hospital, Chengdu, 610041

Key words osteoporosis; bone strength; compound vibration

骨质疏松和骨质疏松性骨折正逐渐成为一个重要的公共健康问题,随着研究的深入,全身振动用于骨质疏松的预防和治疗得到实验证实^[1-4],前期实验中^[5],一定的复合振动可以有效预防去势大鼠骨质疏松,本实验选用前期实验有效复合振动对骨质疏松大鼠骨强度的影响进行了对比研究。

1 材料与方法

1.1 复合振动

复合振动由自行研制的复合振动仪(专利公开号:CN101224159)提供,本次实验复合振动设置为振动Ⅰ:频率45—55Hz,加速度0.05—0.1g;振动Ⅱ:45—55Hz,0.12—0.21g(1g=9.8m/s²)。

1.2 实验动物和实验干预方法

3月龄雌性未育SD大鼠24只,由广东省实验动物中心提供(均为SPF级),合格证号:SCXK(粤)2003—0002。大鼠体重240.25±10.25g(最大体重

257g,最小体重219g),适应性喂养6周后随机数字法随机平分为对照组(control group, CG)、治疗1组(vibration group 1, VG1)、治疗2组(vibration group 2, VG2)作为实验组。4鼠一笼,清洁级喂养,自由摄取食、水。分组后所有大鼠以2%戊巴比妥钠30mg/kg腹腔内注射麻醉,背侧双切口入路切除双侧卵巢。

术后3个月BMD检查确认造模成功后开始实验。对照组不进行振动干预。VG1组采用振动Ⅰ, VG2组采用振动Ⅱ,每次振动20min,1次/d,5次/周,休息间隔不大于2d,实验干预时间3个月。

* 基金项目:广东省自然科学基金(06024394)

1 四川省骨科医院脊柱骨科,成都,610041

2 南方医科大学南方医院脊柱骨病科

3 井冈山大学医学院

作者简介:邓轩赓,男,博士

收稿日期:2008-12-04

1.3 检测指标及方法

术前、术后 3 个月以及实验结束时所有大鼠均测量腰椎、股骨 BMD (Lorland XR-46, 南方医科大学南方医院骨密度室)。实验结束后过量麻醉处死大鼠取第 3 腰椎、右侧股骨、胫骨, 剔尽软组织, 0.9% 氯化钠液纱布包裹, -20°C 低温冻存待查, 每组随机选择 6 具标本行腰椎垂直压缩实验、股骨三点弯曲实验 (858mini Bionix, 南方医科大学生物力学实验室)。检查前 4h 室温解冻, 0.9% 氯化钠溶液保持湿润, 胫骨每组随机选择 3 个标本进行 microCT (SCANCO u-CT80, 四川大学口腔医学院教育部重点实验室) 扫描分析骨微结构。

1.4 统计学分析

SPSS13.0 统计软件包统计, BMD、骨微结构参数和力学性能参数均以均数 $\pm$ 标准差表示, 单向方差分

析 (组间比较 LSD 法), 造模判断采用配对 t 检验, $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

大鼠无死亡脱落, VG2 组切口疝 1 例, 进食活动无异常, 未特殊处理。所有振动组大鼠约经 3—4d 适应振动后, 于振动平台上活动无异常。

2.1 BMD 变化

各组腰椎、股骨 BMD 测得值分见表 1—2。造模前后两组比较腰椎 BMD 均下降, 股骨 BMD 各组均增长, 仅腰椎造模成功。实验结束时腰椎 BMD 增加绝对值 VG1 和 VG2 组与对照组均有显著性差异。股骨 BMD 仅 VG2 组明显高于对照组, 但两治疗组股骨 BMD 变化值增加均有显著性。

2.2 骨微结构

表 1 各组腰椎 BMD 变化比较

($\bar{x}\pm s, \text{g/cm}^2$)

组别	造模前	造模后	t	P	实验结束时	增加值
对照组	0.2024 $\pm$ 0.0134	0.1898 $\pm$ 0.1156	5.020	0.002	0.1834 $\pm$ 0.0070	-0.0065 $\pm$ 0.0077
治疗组 1	0.1969 $\pm$ 0.0108	0.1822 $\pm$ 0.0121	4.965	0.002	0.1877 $\pm$ 0.0109	0.0055 $\pm$ 0.0126
治疗组 2	0.1986 $\pm$ 0.0068	0.1828 $\pm$ 0.0121	6.125	0.000	0.1965 $\pm$ 0.0081	0.0132 $\pm$ 0.0078
F	0.610	1.113	—	—	9.590	16.326
P	0.553	0.347	—	—	0.001(0.052, 0.000)	0.000(0.007, 0.000)

表 2 各组股骨 BMD 变化比较

($\bar{x}\pm s, \text{g/cm}^2$)

组别	造模前	造模后	t	P	实验结束时	增加值
对照组	0.1505 $\pm$ 0.0080	0.1616 $\pm$ 0.0086	5.020	0.002	0.1616 $\pm$ 0.0110	-0.0000 $\pm$ 0.0140
治疗组 1	0.1526 $\pm$ 0.0075	0.1619 $\pm$ 0.0067	4.965	0.002	0.1696 $\pm$ 0.0066	0.0078 $\pm$ 0.0081
治疗组 2	0.1513 $\pm$ 0.0078	0.1633 $\pm$ 0.0141	6.125	0.000	0.1779 $\pm$ 0.0141	0.0145 $\pm$ 0.0053
F	0.153	0.433	—	—	6.164	5.536
P	0.859	0.654	—	—	0.008(0.058, 0.002)	0.012(0.016, 0.006)

microCT 扫描骨微结构结果见表 3, 分别比较骨小梁数量 (trabecular number, Tb.N)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁间距 (trabecular separation/spacing, Tb.Sp)、各向异性程度 (degree of anisotropy, DA)、结构模型指数 (structure model index, SMI)、连接密度 (connectivity density, Conn.D.)、骨体积分数 (BV/TV)。与对照组相比较, VG1 组仅 Tb.Sp 有显著性减小, 而 VG2 组 Tb.N、Tb.Sp、Conn.D 以及 BV/TV 均有显著性差异。

见图 1, 见彩色插页。对照组骨小梁稀疏, 间距较大, 治疗组 1 小梁骨数量有所增多, 间距缩小, 而治疗组 2 有进一步改善。

2.3 骨力学性能

腰椎极限强度 (lumbar ultimate strength, LUS)、股骨极限强度 (femur ultimate strength, FUS) 仅治疗组 2 获得明显改善, 而弹性模量 (elastic modulus, EM) 以及股骨极限应变 (femur ultimate strain, FUSn) 无显著性差异。见表 4。

3 讨论

寻找安全有效的预防和治疗骨质疏松的非药物方法是目前本领域的研究热点。全身振动用于骨质疏松的预防和治疗国外研究已经较为深入, 但存在的问题是研究所使用的振动强度基本在 0.3g 以上^[1-4], 人体不适感较为明显, 这也是振动临床应用的障碍之一。

表 3 各组 microCT 扫描参数

($n=3, \bar{x}\pm s$)

组别	对照组	治疗组 1	治疗组 2	F	P
骨小梁数量	0.871 $\pm$ 0.136	1.009 $\pm$ 0.106	1.143 $\pm$ 0.089	4.419	0.066(0.183, 0.025)
骨小梁厚度	0.057 $\pm$ 0.010	0.065 $\pm$ 0.006	0.069 $\pm$ 0.004	2.137	0.199
骨小梁间距	1.040 $\pm$ 0.079	0.895 $\pm$ 0.046	0.838 $\pm$ 0.066	7.661	0.022(0.034, 0.009)
连接密度	7.03 $\pm$ 0.70	9.25 $\pm$ 1.70	10.18 $\pm$ 1.27	7.243	0.060(0.082, 0.025)
结构模型指数	1.642 $\pm$ 0.185	1.703 $\pm$ 0.137	1.703 $\pm$ 0.143	0.154	0.860
各向异性程度	2.170 $\pm$ 0.298	2.243 $\pm$ 0.104	2.287 $\pm$ 0.278	0.175	0.843
骨体积分数	0.066 $\pm$ 0.002	0.070 $\pm$ 0.004	0.074 $\pm$ 0.002	7.358	0.024(0.102, 0.009)

表4 各组腰椎、股骨生物力学参数

(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	腰椎极限强度(MPa)	腰椎弹性模量(GPa)	股骨极限强度(MPa)	股骨弹性模量(GPa)	股骨极限应变(%)
对照组	61.65±13.1	1.10±0.70	177.16±16.15	8.90±1.05	3.97±1.42
治疗组 1	76.49±21.91	1.01±0.40	194.76±19.89	8.60±1.28	4.31±0.77
治疗组 2	90.10±20.4	1.30±0.85	207.55±24.91	9.32±0.83	4.69±1.72
F	3.415	0.291	23.256	0.68	0.706
P	0.060(0.193,0.020)	0.752	0.067(0.162,0.023)	0.521	0.509

BMD 测量目前是临床诊断骨质疏松的主要方法,反映单位面积内骨量的情况。复合振动 3 个月后两振动组腰椎、股骨 BMD 变化绝对值均有显著性增加,表明复合振动可以有效增加去势骨质疏松大鼠骨量,对抗或延缓 BMD 下降。但仅 VG2 组在实验结束时 BMD 显著高于对照组。而 VG1 组 BMD 增加仅为 VG2 组增加值的 50%左右,提示振动 I 增加骨量作用相对较小,尚不足以显著提高 BMD,其临床应用前景可能有限。

本实验中大鼠卵巢切除 3 个月后腰椎 BMD 显著下降,而股骨 BMD 却继续增加,术后 6 个月才表现出下降的趋势,这与其他报道不同^[5-6],前期实验也有类似表现^[5]。可能是由于卵巢摘除后大鼠体重增加,而股骨为负重骨,体重的增加使股骨的力学负荷加大,从而导致了股骨的适应性结果。

由于 BMD 测量易受皮质骨和小梁骨难以区分、周围软组织和骨髓干扰等因素影响,通常情况下 BMD 只能反映 60%—70%的骨强度,骨量的增加并不必然意味着骨强度的提高^[8-9]。除骨量以外,骨结构对骨强度也具有重要的影响。microCT 骨扫描可以对小梁骨结构进行更广泛和准确的分析测定,从而更好地了解骨质量^[10]。在本系列实验研究中^[11],和正常大鼠相较,去势后胫骨骨微结构破坏和生物力学性能下降十分显著。经复合振动干预后,振动 II 可以一定程度上提高 BV/TV,维持 Tb.N,减小 Tb.Sp 以及维持骨小梁 Conn.D,与对照组比较,显著改善了骨微结构。在这些骨结构参数中 Tb.Th 变化较缓慢^[12],Gong 等^[14]研究显示在其他结构参数随增龄改变的同时而 Tb.Th 却基本保持稳定,可能这也是小梁骨适应力学负荷的结果,本实验也体现了此变化特点。但 Tb.Th 值两振动组与对照组数值上已经出现了较大差异,其临床意义已有所体现,如果增大样本含量可能会出现统计学差异。BV/TV 代表了骨量的大小,振动 II 所致 BV/TV 的增加,应是小梁骨数量增加和间距缩小的直接反应,这也和 BMD 测量结果相吻合,侧面提示了骨量和结构之间的相互关系。

骨是由羟基磷灰石和胶原纤维组成的复合材料,弹性模量反映了骨刚度大小,极限强度代表骨破裂前的最大应力,是骨强度的重要衡量指标。极限应变反映了骨的柔韧性情况。实验结果显示 VG2 组腰

椎、股骨极限强度均得以显著提高,表明特定的复合振动可以有效提高骨强度。与期望结果不一致的是所有振动组骨刚度和柔韧性均无明显改善,提示复合振动对骨力学性能改善有一定的局限。本研究显示,VG1 组振动期间腰椎、股骨 BMD 也有显著增加,但相应骨极限强度并未明显提高,表明尽管 VG1 组可增加单位面积骨量,但可能增加量较小不足以提高骨强度,且 microCT 扫描数据也显示振动 I 对骨微结构改善作用相对有限,因而骨生物力学性能改善不明显。提示在同等振动频率下,振动强度(加速度)对作用效果具有重要影响。

Judex 等^[13]研究发现高频低强度振动可致小梁骨数量和微结构发生变化,在不同方向上增加骨强度,而且在给定负荷情况下减少了应变与应力水平,有效地避免了非轴向负荷损害以及降低了骨折率。振动成骨机制目前尚不明确,但其成骨作用受多种因素影响如应变数量、应变速率、应变强度、应变方向和应变分布等,不同方式的振动对成骨具有不同的影响。复合振动实际上是在不断的平衡干扰中振动,通过受振对象主动平衡恢复以强化肌肉收缩,对骨组织施加额外的、多变的应力刺激,可使骨组织应变的空间性和方向性不断发生改变,可能这是复合振动能在更低强度下成骨的原因之一。

两复合振动结果比较显示,振动 II 似乎在增加 BMD、改善骨微结构和骨生物力学性能方面优于振动 I,具有较好地增加骨强度的作用。与前期实验^[9]相比较,两不同复合振动作用也出现分化,可能与实验对象的变化有关。未明确复合振动在大鼠体内传递情况以及在不同的部位振动参数变化情况是本实验设计的一个遗憾。由于费用高昂每组扫描标本量较少,也是本实验的不足。另外由于不同检测标本要求不同,受制于标本数量(对侧股骨标本冰冻保存留待复验),骨微结构测定选用了同为负重骨的胫骨,使本实验在逻辑推导上存在一定的困难,是实验实施过程中的一个两难选择。

一定的复合振动可以有效提高卵巢切除骨质疏松大鼠 BMD,改善骨微结构及相应骨生物力学性能,增强骨强度。同时与文献比较^[1-4],复合振动降低了振动强度,为临床应用提供了可能,在骨质疏松治

(下转 892 页)