

# 低负荷对大鼠皮质骨结构和力学性能影响的实验研究

闫景龙 戴克戎 裘世静 薛文东 徐秀林

**提要** 为了进一步探讨低负荷(废用)对皮质骨的影响,本研究从几何形态和力学性能方面观察了大鼠胫骨皮质骨的变化。实验选240g雌性S-D大鼠56只,随机分为对照及实验两组。实验组行左后肢固定造成肢体废用模型。实验动物分别于4、12、20和28周处死,取胫骨进行三点弯曲试验及其横断面的形态计量学观察。根据三点弯曲试验记录的载荷-变形曲线,分析胫骨的材料力学性能和结构力学性能。形态计量学观察主要检测胫骨截面的截面总面积、皮质骨面积、外径周长、骨髓腔面积和骨内径周长。实验结果表明,从实验4周至28周,对照组胫骨截面总面积和骨外径周长明显增加( $P < 0.05$ )。而实验组截面总面积、骨外径周长则没有明显增加,实验20周后二者明显低于对照组( $P < 0.05$ ),皮质骨面积也低于对照组( $P < 0.005$ )。但是,骨髓腔面积和骨内径周长两组间无明显差异。力学测试结果表明,从实验4周至28周,对照组大鼠胫骨的结构强度、刚度均逐渐增加( $P < 0.05$ ),而实验组则变化不明显。在实验20周后实验组的结构力学强度和刚度均明显低于对照组。但是两组间在各个实验阶段,胫骨皮质骨的材料力学性能无明显差异。上述结果说明,低负荷(废用)抑制骨外膜的骨增加改变骨干的横截面形态,从而导致其力学性能降低。

**关键词** 固定 皮质骨 生物力学 结构

骨骼对变化的负荷产生适应性改变,已为很多研究证实,但一些观点仍存在争议。人们通过观察发现,皮质骨的塑型过程是在骨外膜侧逐渐形成骨而在骨内膜侧逐渐吸收骨,因此,骨外径逐渐扩张而骨髓腔逐渐增大。这一变化过程需要不断的应力刺激。Frost<sup>[1-5]</sup>认为,增加受力可以促进骨的生长和塑型引起的骨增加,减少重建引起的骨丢失。相反,降低受力可以抑制骨生长和塑型引起的骨增加,促进重建引起的骨丢失。在有关皮质骨对低负荷反应的研究中,主要对骨量进行研究,而且对骨量减少机制的认识不一致<sup>[6-8]</sup>。本文拟从几何形态和力学性能方面探讨降低负荷对皮质骨的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 实验选用** 3个月龄240g的雌性S-D大鼠56只,随机分为实验及对照两组,每组28只。实验组大鼠用2.5%的戊巴比妥钠皮下注射麻醉(每公斤体重30mg),然后将左后肢用铝条

固定。固定后左后肢位于腹部,大鼠行走时不接触笼底。实验动物经1~2日适应后即可用三条腿行走,可以右后肢为支撑双前肢扶于笼壁站立。其右后肢在站立和活动承担了左后肢应承受的负荷,因而负荷增加;左后肢因不承载体重而负荷降低。

实验动物分笼饲养,室温控制在20~25℃。固定后4、12、20、28周各处死7只动物。

## 1.2 力学性能测试

取左侧胫骨,去除表面软组织,在岛津材料试验机上进行三点弯曲试验,直到骨折。试验以胫骨近3/5和远2/5交界部为加载点,支点跨距为2.0cm,加载速度为1mm/分钟。描记载荷-变形曲线。并根据该曲线和皮质骨内外径,分析胫骨的力学性能参数。大鼠胫骨近3/5和远2/5交界部截面近似圆形,为了便于计算,该截面的骨内外直径按等效圆直径计算。

本试验检测的完整胫骨结构力学性能参数

为:

- (1)最大抗弯强度,以屈服点的载荷计算。
- (2)结构刚度,在弹性范围内以载荷-变形曲线的斜率表示,即载荷与变形量之比。

胫骨皮质骨的材料力学性能参数:

- (1)强度极限,由最大应力表示。
- (2)刚度,由弹性模量表示。

### 1.3 形态计量学观察

将折断的胫骨断面轻柔磨平,再于距断面远侧 2cm 处切断。截下的骨段置于 4%多聚甲醛 2.5%戊二醛混合固定液中固定 24 小时,然后蒸馏水冲洗,并用 10%次氯酸钠处理 8 小时,经乙醇逐级脱水空气干燥后,将骨段近端截面向上粘于样品台上,用离子溅射法真空镀金,在 JSM-840 扫描电镜下放大 25 倍摄片。最后再将底片输入图象分析系统进行形态测量,所测指标包括截面总面积、皮质骨面积、骨外径周

长、骨髓腔面积和骨内径周长。对测量结果进行两组间 *t* 检验。

## 2 实验结果

### 2.1 形态计量学观察

表 1 示对照组和固定组大鼠胫骨皮质骨的形态计量学结果比较。对照组从实验 4 周至 28 周,截面总面积和骨外径周长均逐渐增加,20 周后与 4 周有显著差异( $P < 0.05$ ),而骨髓腔面积、皮质骨面积和骨内径周长在各个阶段无显著差异,但也有逐渐增加的趋势。固定组的截面总面积、骨皮质面积和骨外径周长则没有随年龄增加的趋势。与对照组相比较,上述参数在固定后各个阶段均处于低水平,在持续固定 20 周后,固定组明显低于对照组。然而,固定组的骨髓腔面积和骨内径周长则与对照组无明显差异。

### 2.2 力学性能测试

表 2 示对照组和实验组的胫骨力学性能结

表 1 低负荷对大鼠胫骨干皮质骨影响的形态计量学分析( $M \pm S$ )

时间 (周)	截面总面积( $\text{mm}^2$ )		皮质骨面积( $\text{mm}^2$ )		骨外径周长(mm)		骨髓腔面积( $\text{mm}^2$ )		骨内径周长(mm)	
	对照	实验	对照	实验	对照	实验	对照	实验	对照	实验
4	1.85	4.54	3.47	3.22	7.64	7.54	1.18	1.31	4.84	4.05
	0.27	0.38	0.21	0.30	0.23	0.33	0.97	0.22	0.16	0.31
12	4.92	4.61	3.78	3.15	7.84	7.46	1.43	1.17	3.7	3.72
	0.687	0.36	0.395	0.38	0.550	0.48	0.376	0.19	0.610	0.39
20	5.21*	1.47*	3.832	3.31*	8.090	7.24**	1.185	1.16	3.855	3.70
	0.467	0.54	0.421	0.48	0.358	0.56	0.127	0.15	0.198	0.26
28	5.425	4.57*	4.015	3.10***	8.247	7.37*	1.410	1.47	4.180	4.29
	0.580	0.52	0.288	0.49	0.436	0.44	0.248	0.25	0.424	0.39

注: \* ( $P < 0.05$ ), \*\* ( $P < 0.01$ ), \*\*\* ( $P < 0.005$ )

表 2 低负荷对大鼠胫骨干影响的力学性能分析( $M \pm S$ )

时间 (周)	屈服点载荷(N)		载荷/变形(N/mm)		强度极限(MPa)		弹性模量(GPa)	
	对照	实验	对照	实验	对照	实验	对照	实验
4	52.506	56.11	131.36	131.79	288.986	259.695	18.182	15.24
	2.488	8.24	14.77	11.66	69.922	33.29	1.463	4.17
12	68.204	67.05	145.55	120.69**	238.304	249.93	13.627	13.51
	13.821	7.48	14.88	11.29	42.588	26.21	4.502	2.51
20	65.109	58.14*	141.39	114.67**	204.24	232.91	11.67	11.72
	6.72	1.72	17.10	9.17	31.75	48.19	1.87	2.75
28	76.471	60.11**	156.31	128.77**	231.988	211.26	12.51	11.5
	6.74	1.2	7.18	10.28	28.969	40.92	1.5	1.46

注: \* ( $P < 0.05$ ), \*\* ( $P < 0.01$ ), \*\*\* ( $P < 0.005$ )

果比较。从实验4周至28周,对照组大鼠胫骨的抗弯强度逐渐增加,12周后各阶段均明显高于4周。固定组胫骨最大抗弯强度有逐渐减小的趋势。在固定后20周和28周,固定组明显低于对照组。随着固定时间延长,固定组胫骨的结构刚度逐渐减小,在20周时明显低于4周。与对照组相比较,在12周以后各阶段固定组胫骨的结构刚度均明显降低。

胫骨皮质骨的材料力学性能测试结果表明,在对照组和固定组,强度极限和弹性模量均有随时间延长而减少的趋势,但是,在各个阶段两组间均无显著差异。

### 3 讨论

骨骼有四个表面,即骨外膜面、骨内膜面、皮质骨哈佛氏系统表面及骨小梁表面。骨的塑型过程发生在骨外膜面和骨内膜面,而重建过程则在四个表面均可进行。在生长期,骨的增粗主要是通过骨外膜面骨形成增加而实现,而此时骨内膜面则主要表现为骨吸收,因而骨髓腔扩大。在本研究中,从3个月龄至10个月龄,对照组大鼠在正常负荷作用下,通过塑型而使胫骨增粗,髓腔也有所扩大。但由于骨外膜面骨形成大于内膜面骨吸收,因而产生了皮质骨面积的净增加。而在实验组大鼠,力学刺激减少使外膜面成骨活动受抑制,阻碍了皮质骨的增粗,也影响了皮质骨面积的净增加。

骨骼对变化的机械负荷可以产生结构的适应性变化<sup>[9-11]</sup>。我们在皮质骨所观察到的结果支持这一观点。而结构的变化多伴有骨量和力学性能变化。在骨骼对不同机械负荷的反应过程中,存在反馈机制。即当机械负荷增加时,骨的应变增加,结果使骨量增加、骨结构也产生变化,而骨量、骨结构的改变影响骨的力学性能,使骨的应变降低,最终骨量和骨结构稳定在一个新的水平。相反,当机械负荷降低时,骨的应变减小,结果骨量丢失、骨结构也发生改变。这一变化又使骨的力学性能产生改变,骨应变升高,最终骨量和骨结构变化也稳定在一个新水平。因此,骨骼对变化的负荷的功能适应性反应,实际上包括骨结构、骨量和力学性能三个方

面。

本研究对大鼠胫骨的力学性能进行测试结果表明,负荷降低对皮质骨的材料力学性能没有明显影响,而大鼠胫骨的结构力学性能却因负荷降低而产生明显变化。在固定后12周低负荷就使胫骨的结构刚度明显降低,而持续固定20周时,胫骨的最大抗弯强度也明显低于对照组。而胫骨的整骨力学性能决定于材料力学特性和胫骨的宏观结构。因此,胫骨皮质骨的几何形态的改变可能是其力学性能下降的主要原因。而形态计量学观察结果恰恰支持这一结论。尽管骨髓腔面积和骨内径周长没有明显增加,但负荷降低却明显地阻碍了骨外径的扩张,因此,胫骨干相对变细。但是,我们的研究发现,在骨的这种结构发生明显变化之前,低负荷就使胫骨的力学性能降低(在固定后12周,胫骨的结构刚度就明显下降,而骨外膜骨形成明显受抑制发生在20周后)。这说明力学性能的改变可能更准确地反映皮质骨对改变的负荷的功能适应情况。因此,单纯考虑骨结构的适应变化并不全面,应该从骨量、骨结构和力学性能三个方面研究骨骼对改变的负荷的适应反应。

### 参考文献

- 1 Frost HM. Osteogenesis imperfecta. The scapula proposal. *Clin Orthop*, 1986, 215: 280.
- 2 Frost HM. Bone "mass" and the "mechanostat", a proposal. *Anat Rec*, 1987, 219: 1.
- 3 Frost HM. The mechanostat: a proposed pathogenic mechanism of osteoporosis and bone mass effects of mechanical and nonmechanical agents. *Bone Mineral*, 1987, 2: 73.
- 4 Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU). 1. Redefining Wolff's law, the bone modeling problem. *Anat Rec*, 1990, 226: 405.
- 5 Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU). 2. Redefining Wolff's law, the bone remodeling problem. *Anat Rec*, 1990, 226: 414.
- 6 Turner RT, et al. The effects of immobilization on bone histomorphometry in rats. *J Bone Miner Res*, 1986, 1: 399.
- 7 Conway H, et al. Immobilization and bone mass in rats: Effects of parathyroidectomy and acetazolamide. *Calcif Tissue Int*, 1975, 11: 323.
- 8 Murey ER, et al. Inhibition of bone formation during space flight. *Science*, 1978, 201: 1138.
- 9 Martin RB. The effects of geometric feedback in the devel

- velopment of osteoporosis. J Biomech, 1973, 5: 477.
- 10 Martin RB, et al Age and sex related changes in the structure and strength of the human femoral shaft. J Biomech, 1977, 10: 215.
- 11 Cowin SC Mechanical modeling of the stress adaptation process in bone. Calcif Tissue Int, 1984, 36: 98.
- 12 Rubin CT. Skeletal strain and the functional significance of bone architecture. Calcif Tissue Int, 1984, 36: 311.
- 13 Rubin CT, Lanyon LE. Regulation of bone formation by applied dynamic loads. J Bone Joint surg, 1984, 66: 397.

(上接第 45 页)

### 3 讨论

临床资料表明,在骨质疏松患者中并发骨质增生较多见。骨质疏松是一种全身性骨代谢疾病<sup>[1]</sup>,而骨质增生是由于劳损、应力以及骨代谢异常等多种原因引起的骨骼疾病,二者具有同样的激素基础。老年人甲状腺分泌过盛,降钙素分泌也明显增加,前者促进骨破坏,后者促进骨形成。降钙素的分泌增加是对甲状腺分泌过盛的代偿,而骨质增生也是对骨质疏松的一种代偿<sup>[1,5]</sup>。我们的测定结果也证实了这一点,三个疾病组的碱性磷酸酶和尿钙、尿磷均高于对照组,骨质增生组和骨质疏松与增生并存组虽然存在着明显的失骨现象,但不如单纯骨

质疏松组严重。碱性磷酸酶的增高,主要表现为骨细胞活跃而部分患者合并骨软化。我们认为骨质疏松和骨质增生都是骨代谢紊乱所致,骨质疏松是骨质增生的主要诱因之一,同时提示骨质增生的临床治疗应强调骨代谢的调整。

### 参考文献

- 1 朱宪彝主编. 代谢性骨病学. 第1版,天津科学技术出版社,1989,262~300.
- 2 王劫,刘建立,张全,等. 老年骨代谢改变及其与雌激素的关系. 中华老年医学杂志,1992,11(5): 259.
- 3 朱爱军,姚舜华,林仙芝. 绝经后骨质疏松症. 颈腰痛杂志,1994,15(1): 13.