

联合应用运动和钙对卵巢切除大鼠骨量减少的影响*

廖威明 周肇平 曲广运 徐栋梁 付明 黄永亮 李佛保



摘要 目的:了解运动和钙摄入对切除卵巢大鼠骨量和生物力学改变的影响。材料与方法:切除卵巢大鼠分成模型组、补钙组、运动组、运动和服钙联合组、雌激素组、制动组和正常对照组。检测各组骨密度(BMD)和生物力学有关指标,并进行比较分析。结果:联合组 BMD 为 0.306 ± 0.026 ,运动组为 0.305 ± 0.026 ,显著高于模型组的 0.275 ± 0.018 。制动组 BMD 均显著低于各实验组。生物力学实验显示:(1)单纯运动组、补钙组和激素组的弯曲破坏载荷,强度极限,最大挠度比与正常组无显著性差异;而在刚性系数和韧性系数与正常组则有显著性差异;(2)联合组各项指标与正常组无显著性差异;(3)运动和补钙各组之间的各项指标无显著性差异;(4)激素组的 BMD 与正常组无显著差异,但生物力学性能显示韧性差;(5)制动组的各项指标与运动和补钙组有显著性差异。结论:运动对去势后大鼠骨量的维持和生物力学性能的改善有作用,运动和补钙联合应用可通过不同途径发挥作用,联合组 BMD 值最高,生物力学性能最接近正常。

关键词 骨质疏松 运动 钙 大鼠 骨量

Influence of exercise and high calcium intake on osteopenia in ovariectomized rats

Liao Weiming, Zhou Zhaoping, Qu Guangyun, et al.

1. Department of Orthopedic Surgery, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen university of Medical Sciences, Guangzhou, 510080

2. Department of Orthopedic Surgery, the University of Hong Kong

Abstract Objectives: To assess the influence of exercise and high calcium intake on osteopenia in ovariectomized rats. Methods: Ovariectomized rats were divided into six groups: (1) osteoporosis model (OVX) (2) calcium intake (Ca-group) (3) exercise (ex-group) (4) combined exercise and calcium (ex + Ca - group) (5) female hormone (H-group) (6) immobilization (I-group), six rats in each group. Six rats with sham operation were established as normal control group. BMD (bone mineral density) and parameters of biological mechanics measured and analyzed. Results: BMD in the E + Ca-Group and Ex-Group were 0.306 ± 0.026 and 0.305 ± 0.026 respectively, which were significantly higher than

作者简介:廖威明,男,41岁,博士学位,骨科副主任,副教授,硕士生导师,中山医科大学学术骨干。长期从事骨质疏松,关节外科和骨肿瘤的研究,近年获国家教委科技成果3等奖1项,主持卫生部基金课题2项,并参加国家自然科学基金等各级基金课题研究3项。

* 本工作得到香港大学 Mrs. Ivy Wu Fellowships 资助

作者单位:广州 510080 中山医科大学附属第一医院骨科(廖威明,徐栋梁,付明,李佛保),香港大学骨科学系(周肇平,曲广运,黄永亮)

that in OVX group. BMD in I-group was obviously lower than in all other groups. The result of biomechanic tests showed that (1) no significant difference was observed among Ex-group, Ca-group, H-group, and normal group in load F_{max} , maximum stress, and maximum strain except in rigidity coefficient and flexibility coefficient. (2) no significant difference was obtained between Ex+Ca-group and normal group in all parameters. (3) no significant difference was shown among Ex-, Ca- and Ex+Ca-groups in all parameters. (4) BMD in H-group was not statistically different from that in normal group, but biomechanic test showed that flexibility in H-group was worse than in normal group. (5) There was significantly difference between I-group and all other groups in each parameter. Conclusion: Exercise and calcium intake were shown to be independent effects for keeping bone mass and improving biomechanic nature by respective mechanism in ovariectomized rats. Compared with other experimental groups, Ex+Ca-group was shown to have the highest BMD value and best biomechanic natures.

Key words Osteoporosis Exercise Calcium Rat Bone

妇女绝经后骨质疏松发生率高,防治该症的有关药物层出不穷,但由于骨质疏松的发生进展是一个长期的过程,药物的服用可以根据病情持续一段时期,而难以较长时期的维持。而且作为绝经后的预防措施,长期服药显然不切实际。寻求大多数人均可长期接受的方法或方式作为预防和治疗的辅助措施是骨质疏松症群防群治的重要课题,其中钙的摄入和运动作为安全、可长期应用的手段受到了重视,但钙和运动对骨质疏松症防治的作用只停留在一般的认识上,其确切的作用仍有争议,两者的联合应用对骨密度和生物力学的影响如何,是否具有协同递增作用仍不清楚。本文旨在研究在同一条件下,钙和运动分别和联合作用对大鼠去势后骨质疏松的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组

4月龄、体重290~320克的SD雌性大鼠42只(香港大学动物中心, Lab of Animal Unit)随机分成7组,分组如下:

1)假手术组;(即正常对照组);2)骨质疏松模型组(OVX);3)单纯运动组(Ex, Exercise);4)单纯补钙组(Ca, Calcium);5)运动与钙联合组(Ex+Ca);6)激素组(H, Hormone);给予雌激素;7)制动组(I, Immobilization);同时切断右下肢坐骨神经,导致肢体的制动。各组体重均

无显著性差异。除正常组仅作腹部切开外,其余六组均作双侧卵巢切除,术后室温下分笼饲养,用药后自由摄水和标准饲料(Rat diet, Manufactured by PMI Feeds Inc),含0.66%钙,维生素D 1500IU/100g。

1.2 实验处理

1)卵巢切除:1%戊巴比妥钠腹腔内麻醉(50mg/kg 体重),在无菌条件下经腹腔行双侧卵巢切除,手术时间15~20分钟,基本无出血,无一例死亡,切口愈合好,术后2~3天恢复正常进食和活动。切下卵巢经病理切片证实。

2)运动处理:设计大鼠专用跑笼使大鼠跑动,圆周匀速转动,每分钟12米。运动组大鼠术后第七天起每天匀速运动半小时,每周六天,持续12周。

3)药物摄入:钙摄入以10%葡萄糖酸钙注射液给予,剂量按钙25mg/kg 体重/天经饮水摄入,同时给予适量的鱼肝油(含维生素D),500IU/kg 饲料。激素用乙烯雌酚片剂,0.8mg/kg 体重/天。以上药物以水配成液体,按15ml/只/天置入饮水瓶中由大鼠摄入,药液摄完后才供应日常的饮用水。

1.3 测量指标

各组动物均于卵巢切除后第13周处死,以过量戊巴比妥钠腹腔内注射麻醉和称重,解剖完整取出双侧股骨置于低温冰箱内。

1)体重变化:比较实验前和处死时的体重

变化。

2)BMD(骨密度,Bone mineral density)分析:以双能X线骨密度仪(QDR4500 Fanbeam X-ray bone densitometer,HOLOGIC)测量左侧股骨颈骨密度。

3)生物力学检测:从冰箱取出右侧股骨复温,以万能材料试验机(MTS 858 Bi-axial material test machine,MTS Inc. USA)作整骨三点弯曲试验以反映其整体的抗弯力学性质。为减少扭转的效应,被检测的股骨两端以直径1.5mm的克氏钉垂直股骨长轴钻入固定,两端跨距是24mm,然后两克氏钉再固定在支架上,加载速度为2mm/min,检测过程由计算机系统以每0.2秒自动记录瞬时压力和变形数据直至发生骨折。由于克氏钉参与了参载过程,因此所得的数值受到克氏钉弹性的影响,但因为整个检测条件和过程都是相同的,所以并不影响各组间的比较。

生物力学指标:

根据直梁弯曲理论,计算以下指标^[1]:1)弯曲破坏载荷:股骨发生骨折时的最大负荷。2)弯

曲强度极限:按 $\sigma_{\max} = M_{\max}/W_z$ 的公式计算,设股骨简化为圆柱体,其抗弯截面模量按 $W_z = \pi d^3/32$ 计算。3)最大挠度比:弯曲载荷时的最大位移与跨度之比。4)刚性系数。5)韧性系数:单位载荷的位移。

1.4 统计学分析:所有数据输入计算机SPSS软件进行统计学分析,采用Anova进行各组间差异的显著性分析。

2 结果

2.1 体重变化

各组实验前后体重变化见表1。除激素组外,各组在实验前后的体重均有显著性的增加。与实验后的正常组比较,除激素组无显著性差异外,其余各组差异有显著性。

2.2 直径、面积和BMD的测定结果

各组直径、面积和BMD结果见表2。各组的直径和面积均无显著性差异。BMD测定显示,正常组除了与制动组有显著性差异外,与其他各组并无明显差异;模型组与运动有关的两组有显著性的差异;制动组明显低于其他各组。

表1 各组实验前和处死时的体重结果^a(单位:g, $\bar{x} \pm s$)

分组	①假手术组	②OVX	③EX	④Ca	⑤E+Ca	⑥H	⑦I
实验前	297.5±20.4	295.8±17.7	305.0±27.4	296.7±24.4	305.8±19.1	307.2±24.1	300.8±27.3
实验后	346.7±19.1 ^a	441.7±28.6 ^{ab}	450.0±46.2 ^{ab}	415.0±39.4 ^{ab}	430.8±38.5 ^{ab}	328.3±18.6	420.0±32.2 ^{ab}

a:各组实验前后的比较, $P < 0.05$;b:实验后各组与假手术组的比较, $P < 0.05$ * 每组6只

表2 各组左侧股骨直径(mm)、面积(mm²)和BMD(g/cm³)测定结果($\bar{x} \pm s$)

项目	①假手术组	②OVX	③EX	④Ca	⑤E+Ca	⑥H	⑦I
直径	3.53±0.07	3.69±0.22	3.61±0.15	3.67±0.15	3.67±0.15	3.64±0.23	3.65±0.10
面积	9.71±0.46	10.70±1.32	10.24±0.89	10.59±0.87	10.60±0.86	10.44±1.33	10.45±0.56
BMD ^a	0.287±0.016	0.275±0.018	0.305±0.026 ^{b,c}	0.283±0.022 ^c	0.306±0.026 ^{b,c}	0.291±0.029 ^c	0.256±0.011 ^a

* BMD分析(Anova):全组方差分析, $f=5.05$, $P < 0.01$

a:与①假手术组比较, $P < 0.05$;b:与②OVX组比较, $P < 0.05$;c:与⑦制动组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 生物力学测定结果

生物力学各指标的检测结果见表3。1)载荷极限:除制动组外,正常组与其他各组无显著性

差异;模型组除与制动组和正常组外,与其余各组有显著性差异;制动组与各组的差异显著(模型组除外)。2)强度极限:基本改变同载荷极限。

3)最大挠度比:模型组和联合组最大,制动组和激素组最小。正常组除与模型组和制动组外,与其余各组无显著性差异。4)刚性系数:激素组最大,模型组和制动组最小,并与正常组有显著性差异。激素组与各组有显著性差异。正常组和联

合组无显著性差异,正常组与补钙组和单纯运动组间有显著性差异。5)韧性系数:性质和数值与刚性系数相反,激素组最小,模型组和制动组最大。各组间的差异类似刚性系数。

表3 各组弯曲生物力学指标测定结果($\bar{x} \pm s$)

分组 ^a	载荷极限 (N)	强度极限 (N/mm ²)	最大挠度比 (10 ⁻³)	刚性系数 (Nmm ²)	韧性系数 (10 ⁻² mm/N)
①假手术组	121.8±6.1	152.9±7.9	55.0±3.1	20158±2388	14.4±1.5
②OVX	114.4±6.2	141.2±18.3	65.2±10.5 ^{b)}	17558±1731 ^{a)}	16.5±1.6 ^{a)}
③Ex	129.6±6.8 ^{b,c)}	169.5±17.4 ^{b,c)}	54.5±5.9 ^{b,c)}	23909±1083 ^{a,b,c,d)}	12.1±0.6 ^{a,b,c)}
④Ca	128.2±6.2 ^{b,c)}	159.4±17.1 ^{b,c)}	54.2±6.5 ^{b,c)}	23943±1461 ^{a,b,c,d)}	12.1±0.8 ^{a,b,c)}
⑤Ex+Ca	130.6±6.8 ^{b,c)}	161.3±10.2 ^{b,c)}	59.0±13.0 ^{c,d)}	22233±1172 ^{b,c,d)}	13.0±0.7 ^{b,c,d)}
⑥H	125.7±14.4 ^{c)}	159.5±12.7 ^{b,c)}	46.0±7.8 ^{b)}	26542±2852 ^{a,b,c)}	10.9±1.1 ^{a,b,c)}
⑦I	107.9±4.8 ^{a)}	136.3±10.2 ^{a)}	44.0±4.7 ^{a,b)}	18318±2676	16.0±2.4

a)与①假手术组比较, $P<0.05$;b)与②OVX组比较, $P<0.05$;

c)与③制动组比较, $P<0.05$;d)与⑤激素组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

饮食钙、补钙与绝经后骨量减少的关系。摄入钙不足与绝经后骨量减少有关,但当饮食钙含量正常时,绝经后的补钙对骨量减少的预防是否有作用仍有争议。本实验显示,额外补钙对去势大鼠的骨密度有所增加,但与正常钙含量饲料的模型组并无显著性差异,而模型组的骨密度虽然低于正常组,但差异也无显著性,这与SHEN的结果相似^[2],尽管这种差异不显著可能与实验的样本较小、实验动物较年轻或实验期不够长,选材部位等因素有关^[1],但也在一定程度上提示,正常膳食钙包括合理的维生素D摄入,是去势后保持骨量的因素之一。而适量增加钙和维生素D的摄入,在本实验显示骨密度呈上升趋势,在骨的生物力学性能上优于模型组,虽然未显示出显著性差异。

运动和补钙联合应用对骨量减少的作用。以药物预防骨质疏松在群体预防上,无论在经

济,或药物使用的剂量、时间、副作用和实施上等许多方面都是困难的和不切实际的。实施群防应以群体所能长期接受的方式方法才能达到目的。去势后以运动和钙两个因素延缓骨量减少的研究鲜有报道。我们的工作显示,运动可提高骨密度,联合组、单纯运动组和服钙组的生物力学指标较接近正常组,优于模型组、制动组和激素组。Peng也证实,运动可减缓切除卵巢大鼠骨量的丢失,减轻股骨颈机械强度的降低^[4]。这是由于运动可通过对骨的机械刺激改善其生物力学性能。以往的研究显示,通过运动增加长期骨量可减轻老年骨质疏松的程度^[5],而且,运动时的适量负重,较运动时间的长短更重要^[6]。而钙和维生素D有利于钙在骨的沉积,提高骨量。运动和钙通过不同的途径发挥各自的作用,虽然本实验并未发现两者的协同的效果,但已显示出联合组较高的骨密度和最优的生物力学性能。

去势后骨质疏松发生的条件。本实验显示,正常钙含量膳食的去势大鼠在一定时间内的骨

量减少不严重,这与有关的研究一致^[2]。本实验进一步提示,只有在运动减少(如制动)时,才会发生明显的骨质疏松。这也从另一角度说明,运动对保持骨量和良好的生物力学性能具有重要的作用。去势后的低钙饮食和运动减少,骨质疏松表现最明显。

生物力学指标对骨的性能的评价。研究显示去势大鼠骨结构的改变直接影响骨的力学性能^[7],因此可通过生物力学性能变化的分析推断其结构的变化。

正常骨应该具有合适的强度、韧性和弹性,单一指标不能准确反映骨的生物力学性能。破坏载荷反映整骨的最大承载力,强度是在载荷作用下抵抗破坏的能力,由于考虑了构件的几何形状和受力面积,因而是较合理衡量材料强度的指标。本实验由于各组骨的直径和面积无显著差异,因此,该两个指标的意义是基本一致的。最大挠度比反映骨的变形能力,刚性系数指在外力作用下抵抗变形的能力,而韧性系数则反映单位载荷下的变形,本实验以上述5个指标较全面表达骨的力学性能。

骨的最佳生物力学性能,在数值上应以正常骨作为标准。本实验显示,联合组在各项指标中较为接近正常组,反映了其较好的生物力学性能。激素组的刚性系数很高,但韧性系数和挠度比很低,尽管强度极限不低,仍然可以推断,该组骨骼的脆性高,生物力学性能并不好。制动组的韧性系数最大,从单一指标看似骨很柔韧,但由于其挠度比很低,强度极限小,当载荷力很小时已经发生了破坏,因此,该组骨的性能是不良的。由此可见,骨的生物力学性能必须从强度、刚度(弹性)、韧性和变形等不同的方面予以反映。

本研究采用的实验方法与人类实际情况有差异,去势大鼠并不等同于老年绝经的大鼠,这也是本实验中正常组和模型组骨密度差异无显著性的原因之一,此类情况在多项研究中存在^[2,11,8]。但本实验关于运动和钙对提高骨密度,改善骨的生物力学性能有一定作用的提示,为绝经后骨质疏松的群防提供了有价值的实验依据。

参 考 文 献

- 1 顾志华,高瑞亭主编.骨伤生物力学基础,第一版.天津大学出版社,1990,135~149.
- 2 V Shen, R Birchman, R Xu, et al. Short-term changes in histomorphometric and biochemical turnover markers and bone mineral density in estrogen-and/or dietary calcium-deficient rats. *Bone*, 1995, 16(1):149~156.
- 3 Carmen G M, Calvo O M, Herrero S, et al. Heterogeneous decrease of bone mineral density in the vertebral column of ovariectomized rats. *Bone*, 1995, 16(4): (Supplement) 295S.
- 4 Peng Z, Tnuukkanen J, Vaananen H K. Exercise can provide protection against bone loss and prevent the decrease in mechanical strength of femoral neck in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res*, 1994;9(10):1559~64.
- 5 章明放,张乃金,谭郁彬.运动对雌性大鼠去势后骨质疏松的作用. *中华骨科杂志*, 1994;14(6):365.
- 6 H. E. van der Wiel, P. Lips, W. C. Graafmans, et al. Additional weight-bearing during exercise is more important than duration of exercise for anabolic stimulus of bone; a study of running exercise in female rats. *Bone*, 1995, 16(1):73~80. =7 阎景龙,戴克戎,裘世静,卵巢切除和固定对大鼠松质骨结构的影响. *中华骨科杂志*, 1995, 15(5):273.
- 8 Mosekilde L, Danielsen C C, SQgaard C H, et al. The anabolic effects of parathyroid hormone on cortical bone mass, dimensions and strength—assessed in a sexually mature, ovariectomized rat model. *Bone*, 1995, 16(2):223~230.