

· 论 著 ·

全身振动训练联合正弦交变电磁场对去卵巢骨质疏松大鼠骨密度、骨代谢指标的影响研究

刘玉琳^{1*} 解浩东²

1.重庆城市管理职业学院,重庆 401331

2.西南大学体育学院,重庆 400715

中图分类号: R-332 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 07-0947-07

摘要: **目的** 探讨全身振动训练联合正弦交变电磁场对去卵巢骨质疏松大鼠骨密度、骨代谢、骨生物力学性能的影响。**方法** 将100只大鼠随机分为切除卵巢组和对照组,分别进行卵巢切除术和假手术,大鼠进行6周恢复,恢复后将造模成功的切除卵巢大鼠随机分为模型组(MO组)、全身振动训练组(W组)、正弦交变电磁场组(S组)、全身振动训练+正弦交变电磁场组(WS组),对照组列为假手术组(SO组),进行为期16周干预,干预结束后对大鼠进行骨密度、骨代谢、骨生物力学性质的检测。**结果** 16周干预完成后,MO组、S组大鼠体重显著高于SO组、W组、WS组大鼠($P<0.05$);W组、WS组、SO组大鼠骨密度指标、血清雌二醇浓度指标明显高于大鼠MO组($P<0.05$);SO组大鼠血清雌二醇浓度指标明显高于S组、W组、WS组($P<0.05$);M组大鼠血清OC、ALP浓度明显高于SO组、W组、S组、WS组大鼠($P<0.05$);尿液DPD/Cre、Ca/Cre、P/Cre浓度方面,M组大鼠明显高于SO组、W组、S组、WS组大鼠($P<0.05$)。SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨最大载荷和弹性模型明显高于MO组大鼠($P<0.05$)。SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨断裂载荷组间无明显差异($P>0.05$);SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨弹性模量明显高于MO组大鼠($P<0.05$)。SO组大鼠股骨弹性模量明显高于S组大鼠($P<0.05$),但与W组、WS组大鼠没有明显差异($P>0.05$)。L4椎体压缩试验,SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨最大载荷和弹性模型明显高于MO组大鼠($P<0.05$)。SO组大鼠高于S组、W组,差异有统计学意义($P<0.05$),但与WS组大鼠没有明显差异($P>0.05$)。**结论** 全身振动训练、正弦交变电磁场、全身振动训练联合正弦交变电磁场3种干预方式施用于去卵巢骨质疏松大鼠均能提升骨密度、抑制骨吸收、平衡骨代谢、改善骨骼结构力学和材料力学性能。而全身振动训练联合正弦交变电磁场能的治疗效果优于单独使用全身振动训练或正弦交变电磁场,在临床应用中有一定推广价值。

关键词: 振动训练;正弦交变电磁场;骨密度;骨质疏松;动物实验;大鼠

Effects of whole body vibration training combined with sinusoidal alternating electromagnetic field on bone mineral density and bone metabolism in ovariectomized osteoporotic rats

LIU Yulin^{1*}, XIE Haodong²

1. Chongqing Management Vocational College, Chongqing 401331

2. College of Physical Education, Southwest University, Chongqing 400715

* Corresponding author; LIU Yulin, Email: zhangtingran@aliyun.com

Abstract: Objective To investigate the effects of whole body vibration training combined with sinusoidal alternating electromagnetic field on bone mineral density, bone metabolism and bone biomechanical properties in ovariectomized osteoporotic rats. **Methods** One hundred rats were randomly divided into the ovariectomized group and the control group. Ovariectomy and sham operation were performed respectively. The rats were recovered for 6 weeks. After recovery, the successfully ovariectomized rats were randomly divided into model groups (MO group), whole body vibration training group (W group), sinusoidal alternating electromagnetic field group (S group) and whole body vibration training + sinusoidal alternating electromagnetic field group (WS group), and the control group was classified as sham operation group (SO group). The intervention was performed for 16 weeks. After the intervention, the rats were tested for bone mineral density, bone metabolism and bone biomechanical properties. **Results**

* 通信作者: 刘玉琳, Email: zhangtingran@aliyun.com

After 16 weeks of intervention, the body weight of the rats in the MO group and the S group was significantly higher than that in the SO group, W group and WS group ($P < 0.05$); bone density index and serum estradiol concentration in the W group, WS group and SO group were significantly higher than that of the MO group ($P < 0.05$). The serum concentration of estradiol in the SO group was significantly higher than that in the S group, W group and WS group ($P < 0.05$). Serum concentration of OC and ALP in the M group was significantly higher than that of SO group, W group, S group and WS group ($P < 0.05$). For urinary DPD/Cre, Ca/Cre and P/Cre concentration, M group rats had significantly higher levels than rats in SO group, W group, S group and WS group ($P < 0.05$). The maximal femoral load and elasticity model of rats in SO group, W group, S group and WS group were significantly higher than those in MO group ($P < 0.05$). There was no significant difference in femoral fracture load between SO group, W group, S group and WS group ($P > 0.05$). The femoral elastic modulus of SO group, W group, S group and WS group was significantly higher than that of MO group ($P < 0.05$). The femoral elastic modulus of the rats in the SO group was significantly higher than that in the S group ($P < 0.05$), but was not significantly different from that in the W group and the WS group ($P > 0.05$). In the L4 vertebral compression test, the maximal femoral load and elasticity model of SO group, W group, S group and WS group were significantly higher than those of MO group ($P < 0.05$); rats in the SO group had significantly higher values than those in the S group and the W group ($P < 0.05$), but was not significantly different from rats in the WS group ($P > 0.05$).

Conclusion Whole body vibration training, sinusoidal alternating electromagnetic field, whole body vibration training combined with sinusoidal alternating electromagnetic field can be applied to ovariectomized osteoporotic rats to increase bone density, inhibit bone resorption, balance bone metabolism, and improve bone structure and mechanical properties of materials. Whole body vibration training combined with sinusoidal alternating electromagnetic field energy is better than the simple use of whole body vibration training or sinusoidal alternating electromagnetic field, thus has certain promotion value in clinical application.

Key words: whole body vibration training; sinusoidal electromagnetic fields; bone mineral density; osteoporosis; animal experiment; rat

骨质疏松症主要病理特征为骨量加剧流失、骨纤维结构受到破坏、骨骼脆性增加,导致骨折风险升高,患者生活质量严重降低。骨质疏松症的形成机制非常复杂,其成因主要包括内分泌紊乱、代谢紊乱以及机械性因素。骨质疏松症主要分为原发性骨质疏松和继发性骨质疏松。其中原发性骨质疏松可以细分为绝经后骨质疏松、老年性骨质疏松以及青年(特殊性)骨质疏松^[1]。其中绝经后骨质疏松症和老年性骨质疏松在骨质疏松人群中占比最高。目前,绝经后骨质疏松的治疗方法主要以药物为主,但调节激素和抗骨质疏松症药物会带来较为严重的副作用,影响患者健康^[2]。安全无创有效的生理刺激对治疗骨质疏松症具有较好的发展前景。目前全身振动训练(whole body vibration training, WBVT)和正弦交变电磁场治疗(sinusoidal electromagnetic fields, SEMFs)均为新兴疗法,WBVT和SEMFs具有安全性高、副作用小、易操作、见效快等特点,逐渐成为骨质疏松预防治疗领域的研究热点。WBVT是由专业运动员肌力训练方法演化而来,在最大肌力量和快速力量方面的干预效果已经被大量研究所证实。近年,全身振动训练逐渐被用于骨质疏松的治疗,巴洪冰等^[3-4]研究证实WBVT对于老年骨质疏松患者的骨密度具有改善效果,其进一步研究发现中高频振动干预能够延缓骨量流失。叶琼^[5]研究证实全

身振动训练可以诱导体内生长激素(growth hormone, GH)和胰岛素样生长因子-1(insulin like growth factor, IGF-1)水平提升,促进骨组织生长,结束干预后较长时间保持骨量。国内高频磁场测试发生器技术日渐成熟,SEMFs疗法也开始有较多的应用,相关研究逐渐增加。高玉海等^[6]研究发现正弦交变电磁场疗法可以促进大鼠骨量积,提升大鼠峰值骨量。李文苑等^[7]研究发现正弦交变电磁场疗法能够提高骨密度、改善骨组织微结构,延缓骨量流失。周延峰等^[8]研究表明SEMFs能够改善大鼠骨生物力学性质。叶琼^[5]先前研究发现加压训练结合振动训练对骨密度改善效果优于单纯振动训练或加压训练。也有许多研究证实多手段联合干预能够获得更好的治疗效果^[4,9-10]。所以将全身振动训练与正弦交变电磁场疗法结合作为骨质疏松治疗方案,可能会取得加层效果。此外,目前SEMFs法主要研究对象为正常大鼠或失重性骨质疏松大鼠,所以其对于绝经期骨质疏松的治疗效果也有待进一步探究。本研究将振全身振动训练联合正弦交变电磁场作为干预方法,去卵巢骨质疏松大鼠为研究对象,探讨其对骨密度、骨代谢、骨生物力学性质的影响,为制定抗骨质疏松的非药物治疗方案提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 设计

制造动物模型、平行对照实验。

1.2 时间和地点

2017 年 9 月至 2018 年 2 月在国家体育总局体质评价与运动技能监控重点实验室。

1.3 材料

1.3.1 实验动物:购自广西医科大学动物实验中心(批准编号:SCXK20090002)的 16 周龄、未生育、SPF 级健康雌性(sprague dawley, SD)大鼠共 100 只,体质量(270.6 ± 13.5) g。大鼠抵达实验室先进行适应环境,在适应期大鼠分笼进行饲养,每笼 10 只,大鼠在笼内自由活动,自由择食、饮水,动物房温度保持在 $20\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 23\text{ }^{\circ}\text{C}$,湿度保持 $50\% \sim 55\%$,明暗分期 12/12 h。

1.3.2 实验试剂:水合氯醛,武汉大华伟业生物公司提供;双氧水,杭州精欣化工有限公司提供;青霉素钠,石家庄太行医药有限公司提供。地塞米松磷酸钠注射液,上海现代哈森药业有限公司,国药准字 H41021924;大鼠骨钙素(osteocalcin, OC)检测试剂盒-ELISA 检测试剂盒,美国 Linco 生物科技有限公司生产;大鼠抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)检测试剂盒-ELISA 检测试剂盒,美国 Linco 生物科技有限公司生产。雌二醇检测试剂盒-ELISA 检测试剂盒,美国 Linco 生物科技有限公司生产。

1.3.3 实验设备:美国 GE(通用) LUNAR DPX DUO 双能 X 线骨密度仪;日本 HITACHI(日立) 7600 全自动生化分析仪;美国 AWARENESS Statfax 4200 酶标仪;德国 power plate-PRO5 振动训练仪;德国 HILO-TEST 高频磁场测试发生器;上海企想 QX-W600 生物骨科材料试验机。

1.4 实验方法

1.4.1 实验设计:第 1 步:大鼠适应喂养 1 周。第 2 步:将 100 只大鼠随机分为切除卵巢组($n=80$)和对照组($n=20$),切除卵巢组进行卵巢切除术,对照组进行假手术,大鼠进行 6 周恢复。第 3 步:进行恢复后将造模成功的切除卵巢大鼠随机分为模型组、全身振动训练组、正弦交变电磁场组、全身振动训练+正弦交变电磁场组,对照组列为假手术组,进行为期 16 周干预。第 4 步:全部干预完成后大鼠分别放入代谢笼 24 h,进行尿液采集,次日进行全身扫描,并对全部大鼠进行腹腔取血,取血后处死大鼠,剥离出大鼠双侧股骨、L4 椎并去除椎体附件及两端椎间盘。进行骨密度、骨代谢、骨生物力学性质的检测。

1.4.2 动物模型:利用浓度为 3% 水合氯醛遵照 $1\text{ mL}/100\text{ g}$ 行对大鼠进行腹腔内注射,使大鼠全身麻醉,在大鼠背部进行双切口,在腰椎骶棘肌两侧进行背部肌肉切开,拨开皮层,在脂肪包裹中有深粉色颗粒状卵巢和与之相连的子宫角。去卵巢组大鼠在子宫角上部进行结扎,并进行卵巢摘除,对照组大鼠只切除包裹卵巢的脂肪组织检查出血情况,利用双氧水进行冲洗,利用可吸收缝合线将腹膜缝合,后缝合背部肌肉和表皮。术后,术后手对所有大鼠注射 8 万 IU/kg 青霉素钠,每日 1 次,共 5 d,防止伤口感染全部大鼠自由择食、饮水,室温与湿度同适应期一致。大鼠进行 6 周的恢复,6 周后,对照组有 19 只大鼠存活、去卵巢组大鼠有 77 只大鼠存活。

1.4.3 分组方案:将去卵巢组大鼠分为模型组(MO 组, $n=19$)、全身振动组(W 组, $n=19$)、正弦交变电磁场组(S 组, $n=19$)、全身振动训练+正弦交变电磁场组(WS 组, $n=20$)组。将进行假手术对照组的 19 只大鼠定为假手术组(SO 组, $n=19$)。见表 1。

表 1 大鼠分组方案
Table 1 Grouping scheme of rats

组别	去卵巢	SEMFS 方案			振动方案		
		磁场强度方案	时长	频率	振动强度方案	时长	频率
SO 组	否	—	—	—	—	—	—
M 组	是	—	—	—	—	—	—
W 组	是	—	—	—	2 mm, 30 Hz	20 min/d	5 次/周
S 组	是	50 Hz, 0.1 mT	3 h/d	5 次/周	—	—	—
WS 组	是	50 Hz, 0.1 mT	3 h/d	5 次/周	2 mm, 30 Hz	20 min/d	5 次/周

SO 组和 MO 组笼内饲养,笼内自由活动,自由

饮食;W 组利用德国 power plate-pro5 振动训练平台

进行振动干预(振幅为 2 mm、振频 30 Hz、每次振动 20 min,每周干预 5 次),S 组利用德国 HILO-TEST 高频磁场测试发生器接受 SEMFS(参照高玉海的研究^[6] 磁场强度为 50 Hz 0.1 mT,时间长为 3 h/d,每周 5 次,干预时间在 9:00~15:00 进行),WS 组大鼠既要接受振动干预同时接受 SEMFS,振动训练方式与 SEMFS 方式同 W 组和 S 组。所有大鼠接受 16 周干预,干预结束后有大鼠均存活,生活状态良好。

1.4.4 样本采集:16 周干预完成后,即刻将大鼠放于代谢观测笼内,收集大鼠尿液。尿样采集后对大鼠进行腹腔取血,保存于 EDTA 抗凝管中,血样采集完成后处死大鼠,剥离出大鼠双侧股骨清除股骨上附着的肌肉组织和结缔组织。利用电子天平测量鲜股骨重量,1%浓度 NaCl 浸泡纱布对股骨进行包裹,进行标号,保存于-40℃超低温冰箱妥贮藏室内。

1.4.5 骨密度检测:大鼠麻醉后用美国 GE(通用) LUNAR DPX DUO 双能 X 线骨密度仪小动物模式检测全身骨密度(bone mineral density, BMD)。

1.4.6 骨生物力学测试:(1) 股骨三点弯曲测试。测试前 24 h,在-20℃低温贮藏室内将大鼠左侧股骨取出,常温静置自然解冻。把大鼠股骨置于 QX-W600 生物骨科材料试验机上完成测试,支点间距 18 mm,在股骨中间位置加压,加载速度设定 2 mm/min,通过实验和数据处理系统,记录载荷实时数据曲线。并且计算出最大载荷、屈服强度、弹性模量等指标。(2) L4 椎体压缩试验。测试前 24 h,将-20℃低温贮藏室内将取出大鼠 L4 椎,常温静置自然解冻。将大鼠 L4 椎放置在材料机平台上,椎体上表面水平,下表面贴合材料机平台平面,压头加载方向与平面垂直,加载速度设定为 2 mm/min,压缩程

度以超过最大载荷为限,通过实验和数据处理系统,记录载荷实时数据曲线。并且计算出最大载荷、屈服强度、弹性模量等指标。

1.4.7 骨代谢指标检测:血样常温静置自然解冻,通过高速离心机,3 000 r/min 离心 10 min。利用酶联免疫法-ELISA 检测血清骨钙素(OC)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)进行检测;利用全自动生化分析仪检测血清中钙(Ca)、碱性磷酸酶(ALP)、磷(P)含量;利用全自动免疫分析仪检测尿脱氧吡啶啉(deoxypyridinoline, DPD)。

1.4.8 激素代谢指标:血样常温静置自然解冻,通过高速离心机,3 000 r/min 离心 10 min。通过酶联免疫法检测血清雌二醇(E₂)浓度。

1.5 统计学处理

本研究使用 SPSS 22.0 软件对实验数据进行分析。数据以 Mean±SD 表示,以 one-way ANOVA 针对所有变量进行统计分析,使用 two-way ANOVA 比较组间差异,若有显著差异则使用 Scheffe's post-hoc test 进行事后检验。本文设定显著水平为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠体质量测试结果

大鼠购回初始体质量,SO 组、MO 组、W 组、S 组、WS 组组间无明显差异($P>0.05$),不会对动物模型构建和干预结果造成影响;所有大鼠接受去卵巢或假手术后,其中接受去卵巢手术的 MO 组、W 组、S 组、WS 组大鼠体质量明显高于接受假手术的 S 组大鼠($P<0.05$);16 周干预完成后,MO 组、S 组大鼠体质量显著高于 SO 组、W 组、WS 组大鼠($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠干预前后体重变化(g)

Table 2 Weight changes of rats before and after intervention in each group(g)

组别	初始体重	干预前	干预 8 周	干预 16 周
MO 组	269.5±12.8	352.7±12.3 ^b	427.1±9.3 ^{bcd}	446.1±9.3 ^{bcd}
SO 组	270.1±9.6	311.2±10.4	358.8±10.7 ^a	392.2±11.7 ^a
W 组	269.2±11.9	349.3±12.4 ^b	390.2±11.5 ^{ab}	406.6±12.9 ^a
S 组	271.4±10.8	350.5±11.3 ^b	413.2±12.9 ^{bcd}	438.7±14.7 ^{bcd}
WS 组	271.2±9.2	353.2±10.4 ^b	386.4±10.3 ^{ab}	403.4±11.4 ^a

注:^a表示与 MO 组间具有显著差异($P<0.05$);^b表示与 SO 组具有显著差异($P<0.05$);^c表示与 W 组间具有显著差异($P<0.05$);^d表示与 S 组具有显著差异($P<0.05$);^e表示与 WS 组具有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 大鼠骨密度和激素分泌指标检测结果

W 组、WS 组、SO 组大鼠骨密度指标、血清雌二醇浓度指标明显高于大鼠 MO 组($P<0.05$);SO 组大鼠骨密度指标高于 W 组、S 组、WS 组大鼠,但差

异无统计学意义($P>0.05$),SO 组大鼠血清雌二醇浓度指标明显高于 S 组、W 组、WS 组($P<0.05$),WS 组大鼠血清雌二醇浓度指标明显高于 S 组($P<0.05$)。见表 3。

表3 各组大鼠骨密度和血清雌二醇浓度测试结果**Table 3** Comparison of BMD and E₂ concentration in each group

组别	骨密度/(g/cm ²)	E ₂ /(pg/mL)
MO组	0.206±0.012 ^{bde}	3.32±0.42 ^{bde}
SO组	0.261±0.014 ^a	6.05±0.55 ^a
W组	0.232±0.013 ^a	4.68±0.52 ^{ab}
S组	0.234±0.009 ^a	3.86±0.73 ^b
WS组	0.249±0.018 ^a	5.07±0.65 ^{abd}

注: ^a表示与MO组间具有显著差异($P<0.05$); ^b表示与SO组具有显著差异($P<0.05$); ^c表示与W组间具有显著差异($P<0.05$); ^d表示与S组具有显著差异($P<0.05$); ^e表示与WS组具有显著性差异($P<0.05$)。

2.3 大鼠骨代谢指标检测结果

血清OC、ALP浓度方面,M组大鼠明显高于SO组、W组、S组、WS组大鼠($P<0.05$)。W组、S组、WS组大鼠血清OC、ALP浓度高于SO组大鼠,但差异不具有统计学意义($P>0.05$)。尿液DPD/Cre、Ca/Cre、P/Cre浓度方面,M组大鼠明显高于SO组、W组、S组、WS组大鼠($P<0.05$),W组、S组、WS组高于SO组大鼠但差异不具有统计学意义($P>0.05$)。Ca和P浓度方面,MO组、SO组、W组、S组、WS组组间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表4。

表4 各组大鼠OC、ALP、DPD/Cre、Ca、P指标比较**Table 4** Comparison of OC, ALP, DPD/Cre, Ca and P in each group

组别	OC/(ng/mL)	ALP/(U/L)	DPD/Cre/(nmol/mmol)	Ca/(mmol/L)	P/(mmol/L)	Ca/Cre	P/Cre
MO组	3.61±1.23 ^{bde}	187.20±21.45 ^{bde}	0.62±0.04 ^{bde}	2.85±0.09	1.81±0.05 ^{bde}	0.28±0.11 ^{bde}	1.67±0.31 ^{bde}
SO组	2.62±1.89 ^a	95.43±13.72 ^a	0.30±0.09 ^a	2.49±0.34	1.59±0.25 ^a	0.15±0.02 ^a	0.63±0.20 ^a
W组	2.80±0.68 ^a	129.54±13.89 ^a	0.36±0.11 ^a	2.53±0.17	1.62±0.07 ^a	0.20±0.04 ^a	0.70±0.24 ^a
S组	2.78±0.50 ^a	132.32±14.76 ^a	0.35±0.07 ^a	2.55±0.41	1.62±0.33 ^a	0.18±0.05 ^a	0.71±0.28 ^a
WS组	2.65±0.67 ^a	110.33±22.87 ^a	0.31±0.08 ^a	2.50±0.33	1.61±0.52 ^a	0.15±0.043 ^a	0.65±0.14 ^a

注: ^a表示与MO组间具有显著差异($P<0.05$); ^b表示与SO组具有显著差异($P<0.05$); ^c表示与W组间具有显著差异($P<0.05$); ^d表示与S组具有显著差异($P<0.05$); ^e表示与WS组具有显著性差异($P<0.05$)。

2.4 大鼠股骨骨生物力学指标结果

股骨三点弯曲测试中,SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨最大载荷明显高于MO组大鼠($P<0.05$)。SO组大鼠高于S组、W组,达到显著性差异($P<0.05$),但与WS组大鼠没有明显差异($P>0.05$)。SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨断裂载荷明显高于MO组大鼠($P<0.05$)。SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨断裂载荷组间无明显差异($P>0.05$);SO

组、W组、S组、WS组大鼠股骨弹性模量明显高于MO组大鼠($P<0.05$)。SO组大鼠大鼠股骨弹性模量明显高于S组大鼠($P<0.05$),但与W组、WS组大鼠没有明显差异($P>0.05$)。L4椎体压缩试验,SO组、W组、S组、WS组大鼠股骨最大载荷和弹性模型明显高于MO组大鼠($P<0.05$)。SO组大鼠高于S组、W组,达到显著性差异($P<0.05$),但与WS组大鼠没有明显差异($P>0.05$)。见表5。

表5 各组大鼠股骨骨生物力学指标比较**Table 5** Comparison of biomechanical indexes of femoral bone in rats of each group

组别	三点弯曲测试			椎体压缩测试	
	最大载荷/N	断裂载荷/N	弹性模量/MPa	最大载荷/N	弹性模量/MPa
MO组	124.89±13.88 ^{bde}	106.37±23.98 ^{bde}	71.21±18.13 ^{bde}	120.33±20.35 ^{bde}	72.67±18.76 ^{bde}
SO组	169.40±20.76 ^{acd}	159.06±22.35 ^a	126.32±14.45 ^{ad}	173.65±18.23 ^{acd}	122.67±20.98 ^{acd}
W组	156.12±18.33 ^{ab}	147.76±20.48 ^a	118.67±22.26 ^a	154.89±17.33 ^{ab}	111.21±16.09 ^{ab}
S组	154.34±12.87 ^{ab}	147.23±22.79 ^a	115.35±22.15 ^{ab}	155.34±22.12 ^{ab}	111.34±22.45 ^{ab}
WS组	165.21±16.21 ^a	155.90±19.31 ^a	121.11±23.90 ^a	163.34±20.30 ^a	120.87±17.55 ^a

注: ^a表示与MO组间具有显著差异($P<0.05$); ^b表示与SO组具有显著差异($P<0.05$); ^c表示与W组间具有显著差异($P<0.05$); ^d表示与S组具有显著差异($P<0.05$); ^e表示与WS组具有显著性差异($P<0.05$)。

3 讨论

骨质疏松是属于常见疾病,致病原因较为多样,

主要表现为骨量流失、骨结构被破坏,在骨生物力学方面表现为骨骼弹性、韧性下降,骨组织脆性增加。虽然骨质疏松不直接致命,但骨质疏松导致骨折的

风险大大增加。骨质疏松患者以老年人居多,老年人一旦发生骨折,可能导致长期卧床,从而导致人体机能下降,严重影响健康和生活质量。流行病学研究显示,日前老年骨质疏松、绝经后骨质疏松、糖尿病并发骨质疏松为较多发生^[2]。绝经后骨质疏松是由于妇女绝经后卵巢功能退化导致雌激素分泌下降,体内雌激素浓度水平较低,从而导致骨质疏松的发生。SEMFs对骨质疏松引起的骨量流失、疼痛具有显著疗效,并且有安全性高、副作用小的特点^[8]。WBVT在2005年前后进入我国,主要用于运动训练,近年开始应用于骨质疏松治疗^[3],相比传统运动方式,WBVT在治疗骨质疏松中表现出见效迅速、运动风险低、训练时长短的优势。本研究采用4月龄未经产SD大鼠行切除双侧卵巢手术建立绝经后骨质疏松模型,进行WBVT、SEMFs、WBVT+SEMFs等干预,为期16周,研究其对去卵巢骨质疏松大鼠骨密度、骨代谢、骨生物力学性质等指标的影响。

3.1 WBVT、SEMFs干预对大鼠体质量的影响

大鼠在经过卵巢切除后、体内雌激素水平明显下降,骨量流失增加、骨密度下降加剧,机体出于防止骨丢失产生一种代偿性机制即通过体质量提升刺激骨的生成作用,增加骨密度,防止骨质疏松的出现。大多数研究认为,该机制下体质量增加显著高于骨密度的提升,甚至该机制对于防止骨量流失没有显著性作用^[5]。然而体质量的增加对骨质疏松动物而言,极大地增加了骨折的危险度。本研究中大鼠接受去卵巢或假手术后,其中接受去卵巢手术的MO组、W组、S组、WS组大鼠体质量明显高于接受假手术的S组。所有大鼠在相同饲养条件下,经过16周干预,SO组、W组、WS组大鼠体质量明显低于MO组。这表明WBVT能够有助于控制大鼠体质量、降低大鼠骨折的风险,而SEMFs干预并不能为控制体质量提供帮助。本研究雌激素检测结果显示,W组和WS组大鼠血清 E_2 水平显著提升,提示WBVT通过提高机体内雌激素水平,进而降低去卵巢骨质疏松大鼠的体质量。

3.2 WBVT、SEMFs干预对大鼠骨密度、骨代谢的影响

骨组织中具有无机物和有机物两种成分,使骨既有一定的硬度,又有一定韧性。其中有机物占骨量的30%,主要成分为I型骨胶原;无机物约占骨量的70%,主要成分为磷酸钙盐。骨组织的主要成分在血液和尿液的含量是骨代谢状态的常用指示物^[11]。本研究选用OC、ALP、DPD、CA、P等指标,

分别指示骨组织中有有机物和无机物的代谢状态。16周干预结束后,血清OC、ALP,M组大鼠明显高于SO组,说明去卵巢骨质疏松大鼠骨转换率升高。尿液DPD/Cre、Ca/Cre、P/Cre浓度,M组大鼠明显高于SO组,说明去卵巢骨质疏松大鼠骨吸收增强。进行了WBVT、SEMFs、WBVT+SEMFs等干预的去卵巢骨质疏松大鼠,血清OC、ALP、尿液Ca/Cre、P/Cre均有显著低于模型大鼠,说明WBVT、SEMFs干预能够显著改善去卵巢大鼠骨质疏松大鼠的骨代谢,降低骨转换作用,抑制骨吸收作用、达到抗骨质疏松的作用。

全身骨密度能够反映骨质量和骨强度的变化。所以骨密度常作为对骨质量的检测标准,也是诊断骨质疏松症的重要指标。本研究显示,大鼠接受去卵巢手术22周后,MO组大鼠全身BMD显著低于SO组,这一现象说明本研究中去卵巢骨质疏松模型造模成功。与MO组比较,进行了WBVT、SEMFs、WBVT+SEMFs等干预的去卵巢骨质疏松大鼠全身BMD显著提升,WBVT+SEMFs干预的大鼠与正常大鼠骨密度基本一致。Jing等^[12]研究发现电磁场疗法治疗去势大鼠的动物模型取得骨密度显著提升。高玉海等^[6]研究发现SEMFs能够提升大鼠的峰值骨量。李文苑等^[8]研究发现SEMFs刺激能够降低失重性骨质疏松大鼠松质骨的机械强度和结构的恶化。周延峰等^[7]认为SEMFs促进成骨细胞的增殖,并能显著促进其分化成熟和钙化,从而提升骨密度。Bezratibenayed等^[13]研究发现WBVT干预8周可以显著提升去卵巢大鼠骨密度。巴洪冰等^[4]研究认为12周WBVT可以显著抑制老年人骨吸收作用。Huang等^[14]认为WBVT可以刺激机体IIa型肌纤维收缩,利于骨血灌注,从而促进骨生成、抵制骨量丢失。Stewart等^[15]认为WBVT能够改善机体外周血液循环,增加了外周淋巴和静脉血流,进而增加骨密度。WBVT、SEMFs干预能够显著抑制大鼠骨吸收,降低骨转换,提升骨密度,而WS组大鼠的骨代谢指标低于W组、S组,骨密度高于W组、S组,说明WBVT、SEMFs两种方式联合使用优于单一方法使用。

3.3 WBVT、SEMFs干预对大鼠骨生物力学性质的影响

骨骼强度受到BMD、骨的何形态、骨微观结构、骨材料学性质以及矿化作用等多方面的影响。而骨几何形态决定骨结构力学性质,骨的微结构决定骨材料学性质。骨生物力学性质能够有效反映抗骨

折能力,也是骨结构力学性质和材料力学性质的共同体现。日前常用于骨质疏松治疗标准评价的骨生物力学性质指标主要有最大应力、最大载荷、断裂载荷、弹性模量等,其中最大应力、最大载荷、断裂载荷为抗骨折能力指标,弹性模量为材料力学指标^[16-17]。有学者提出绝经后骨质疏松发生时伴随骨量流失与骨结构退化,会直接导致生物力学性能和骨强度下降^[18]。因此,生物力学性能检测是绝经后骨质疏松治疗效果的重要评价指标。本研究中三点弯曲试验经过WBVT、SEMFs、WBVT+SEMFs干预的大鼠,其股骨最大载荷、断裂载荷和弹性模型均显著优于骨质疏松模型大鼠,其中WBVT+SEMFs干预的大鼠提升幅度最大。弹性模型测试中经过WBVT、SEMFs、WBVT+SEMFs干预的大鼠,其股骨最大载荷、弹性模型均显著优于骨质疏松模型大鼠,WBVT+SEMFs干预的大鼠提升幅度也最为显著。先前高玉海和周延峰的研究均发现SEMFs能够改善大鼠生物力学性能^[7-8],虽然改善幅度与本研究有所差异,其原因可能是先前研究所采用的研究对象是正常大鼠,而本研究对象为骨质疏松大鼠。先前巴洪冰等^[13]、Hinton等^[19]的研究发现中高频振动训练可以改善股骨生物力学性质,也与本研究结果类似。本研究中WBVT+SEMFs干预的大鼠最大载荷、弹性模型优于单纯使用WBVT或SEMFs的大鼠,这可能与因为两种干预的作用机制不同而导致叠加效应。但是有关WBVT和SEMFs改善骨生物力学性能的作用机制尚不非常清楚,有待进一步研究。

4 结论

全身振动训练、正弦交变电磁场、全身振动训练联合正弦交变电磁场3种干预方式施用于去卵巢的骨质疏松大鼠均能提升骨密度、抑制骨吸收、平衡骨代谢、改善骨骼结构力学和材料力学性能。而全身振动训练联合正弦交变电磁场能的治疗效果优于单纯使用全身振动训练或正弦交变电磁场,在临床应用中有一定推广价值。

【参考文献】

- [1] Kononikhin AS, Starodubtseva NL, Pastushkova LK, et al. Spaceflight induced changes in the human proteome[J]. Expert Review of Proteomics, 2017, 14(1): 15-29.
- [2] 黄相杰,毕晓英,姜红江,等.绝经后骨质疏松症治疗的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2010,16(8): 602-605.
- [3] 巴洪冰,程亮.高频全身振动训练及停练后对老年女性骨密度的影响[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(4): 428-430.
- [4] 巴洪冰,程亮.全身振动训练对老年女性骨密度的影响[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(3): 324-342.
- [5] 叶琼.加压训练搭配振动训练对老年男性骨代谢和骨密度影响[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(3): 290-293.
- [6] 高玉海,陈克明,葛宝丰,等.不同强度正弦交变电磁场对大鼠骨生物力学性能的影响[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(10): 1170-1174.
- [7] 周延峰,高玉海,甄平,等.1.8MT不同频率正弦电磁场对青年大鼠骨生物力学性能的影响[J].浙江大学学报(医学版), 2016, 45(6): 561-567.
- [8] 李文苑,慈慧荣,高玉海,等.50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场通过促进骨形成抑制尾吊大鼠的骨量丢失[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(6): 706-711.
- [9] Ho TJ, Ho LI, Hsueh KW, et al. Tai Chi intervention increases progenitor CD34(+) cells in young adults[J]. Cell Transplant, 2014, 23(4-5): 613-620.
- [10] Rea G, Cristofaro F, Pani G, et al. Microgravity-driven remodeling of the proteome reveals insights into molecular mechanisms and signal networks involved in response to the space flight environment[J]. J Proteomics, 2015, 137(4): 3-18.
- [11] Kononikhin AS, Starodubtseva NL, Pastushkova LK, et al. Spaceflight induced changes in the human proteome[J]. Expert Rev Proteomics, 2017, 14(1): 15-29.
- [12] Jing D, Guo L, Zhao L, et al. Efficient solar hydrogen production by photocatalytic water splitting: From fundamental study to pilot demonstration[J]. Int J Hydrogen Energy, 2010, 35(13): 7087-7097.
- [13] Bezratibenayed I, Nasrallah F, Feki M, et al. Urinary creatine at rest and after repeated sprints in athletes: a pilot study[J]. Biology of Sport, 2014, 31(1): 49-54.
- [14] Huang RP, Rubin CT, McLeod KJ. Changes in postural muscle dynamics as a function of age[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 1999, 54(8): 352-357.
- [15] Stewart JM, Karman C, Montgomery LD, et al. Plantar vibration improves leg fluid flow in perimenopausal women[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005, 288(3): 623-629.
- [16] Nagaraja MP, Risin D. The current state of bone loss research: Data from spaceflight and microgravity simulators[J]. J Cell Biochem, 2013, 114(5): 1001-1088.
- [17] Kumm J, Tamm A, Lintrop M, et al. Diagnostic and prognostic value of bone biomarkers in progressive knee osteoarthritis: a 6-year follow-up study in middle-aged subjects[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2013, 21(6): 815-822.
- [18] 朱再胜,章振林.不同模式骨折风险评估工具在绝经后女性的应用和评估[J].中国全科医学,2014,17(16): 1851-1854.
- [19] Hinton PS, Nigh P, Thyfault J. Effectiveness of resistance training or jumping-exercise to increase bone mineral density in men with low bone mass: A 12-month randomized, clinical trial[J]. Bone, 2015, 79: 203-212.

(收稿日期: 2018-08-19; 修回日期: 2018-09-28)