基础研究 文章编号:0253-3626(2010)08-1198-03

被动运动和电刺激对失神经大鼠骨 BGP 和 TRACP 含量的影响

李军汉[1],黄 雷[2]

(1.绵阳师范学院体育与健康教育学院,绵阳 621000;2.四川省骨科医院住院部,成都 610041)

【摘 要】目的:实验性研究被动运动和电刺激对废用性骨质疏松的预防作用;方法:切断大鼠坐骨神经和股神经,造成失神经支配大鼠废用性骨质疏松模型,并随机将大鼠分为假手术组、对照组(Denervation group,NCG)、被动运动组(Passive movement groups,PMG)、电刺激组(Electric stimulation group,ESG)和混合干预组(Passive movement and electric stimulation group,PMESG)5组,观察各大鼠骨代谢生化指标骨钙素(Bone gla protein,BGP)和抗酒石酸盐酸性磷酸酶(Tartrate-resistant acid phosphatase,TRACP)的变化;结果:与假手术组比较,各干预组 BGP 值均呈显著性降低($P<0.01$)、TRACP 值升高,但差异不具显著性($P>0.05$);与对照组比较,各干预组 BGP 值均升高,其中混合干预组呈显著性升高($P<0.05$)、TRACP 值均呈非常显著性降低($P<0.01$)。结论:大鼠失神经支配可致骨形成减少、骨吸收增加,电刺激和被动运动治疗可有效抑制大鼠去神经后的骨形成减少以及骨吸收增加,一定程度上表明了被动运动和电刺激对去神经所致大鼠废用性骨质疏松的预防作用。

【关键词】失神经;被动运动;电刺激;废用性骨质疏松;骨代谢

【中国图书分类法分类号】R87 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-04-10

The influence of passive movement and electric stimulation on the bone BGP and TRACP in rats with denervation

LI Jun-han, et al

(*Department of Sports and Health Education, Mianyang Normal University*)

【Abstract】*Objective*: To discuss the preventive function of passive movement and electric stimulation on rats with disuse osteoporosis. *Methods*: Through cutting the sciatic nerve and femoral nerve of experimental rats, we made an animal model of disuse osteoporosis, and divided them into five groups: the pseudo operation group, the denervation group(DG), denervation with passive movement group(PMG), denervation with electric stimulation group (ESG), and denervation with passive movement and electric stimulation group (PMESG). Then the changes of biochemistry indicators of bone metabolism were observed in all groups. *Results*: Compared with sham group, the Bone gla protein(BGP) value in the other groups were markedly lower ($P<0.01$). The tartrate -resistant acid phosphatase(TRACP) value in the other groups all had a significant increase, but insignificant in statistics ($P>0.05$). Compared with DNG, the BGP value in the other groups increased, especially that the BGP in the PMESG was significantly increased($P<0.05$), however, the TRACP value in the other groups all exhibited a very significant reduction($P<0.01$). *Conclusion*: Denervation of rats' sciatic and femoral nerves can make bone formation decrease and bone absorption increase, but passive movement and electric stimulation can inhibit the decrease of bone formation and the increase of bone absorption, which shows that passive movement and electric stimulation can prevent disuse osteoporosis made by denervation on a certain extent.

【Key words】Denervation; Passive movement; Electric stimulation; Disuse osteoporosis; Bone metabolism

近年来的研究显示,大鼠失神经支配后可造成废用性骨质疏松[1]。废用性骨质疏松症是指由于长期卧床、制动或失重而导致骨量减少,骨细微结构退化致骨脆性增加,易于发生骨折的一种全身性骨骼系统疾病,属继发性骨质疏松症的一种特殊类型。本实验采用大鼠失神经方法制造废用性骨质疏松的动物模型,通过对失神经大鼠骨代谢生化指标的综合评价及干预的研究,探讨被动运动和电刺激治疗对大鼠失神经所致废用性骨质疏松的预防作用。

作者介绍:李军汉(1979-),女,讲师,硕士,
研究方向:运动医学。

1 材料与方法

1.1 研究对象

从四川大学华西医学院实验动物中心购买 50 只 2 月龄纯种健康雄性 SD 大鼠,体重为(208.4 ± 13.44) g。

1.2 研究方法

1.2.1 动物分组和饲养 驯化喂养 7 d 后将 50 只大鼠分别称体重，按随机设计法，将大鼠分成 A、B 两组，其中 A 组 10 只为假手术组（Sham 组），B 组 40 只为造模组，待手术造模。造模后 40 只大鼠按完全随机法分为去神经组（Denervation group，DG）；去神经被动运动组（Passive movement group，PMG）；去神经电刺激组（Electric stimulation group，ESG）；去神经混合干预组（Passive movement and electricity stimulation group，PMESG）4 组，每组各 10 只，各组内依次编号并用不同颜色的记号笔做好标记。所有大鼠自由进食、饮水。

1.2.2 动物手术处理 B 组造模组大鼠在 3%的戊巴比妥钠（25 mg/kg）麻醉下，先将大鼠俯卧位固定于手术台，以碘伏将左后肢股骨近段和尾部近段消毒铺巾，触摸到股骨大转子后，在大腿后方靠近尾部行长约 1 cm 的切口，逐层分离，在半腱肌、半膜肌和股二头肌之间找到左侧坐骨神经，靠近上段予以切除 5 mm，并将神经断端打结处理以预防断端包块的形成，然后缝合切口；再置大鼠于仰卧位，正中纵切口，于腹股沟韧带水平切断大鼠左侧股神经，游离远端 5 mm，同样将神经断端进行打结处理，并缝合切口[2]。假手术组只分离显露坐骨神经和股神经后缝合切口，最后肌注庆大霉素（4 mg/100 ml）0.1 ml，以预防感染。每天用酒精棉球和碘酒擦拭伤口，直至伤口愈合。

1.2.3 被动运动方法 去神经支配手术分组后 6 h 内，对 PMG 和 PMESG 组大鼠行去神经肢体的被动牵引。将大鼠置于自制的网夹内，拉出左后肢，抓住趾部，与脊柱呈 45°向后外方牵拉，直至左后肢完全伸直（膝关节、踝关节均伸直），然后再向与牵拉方向相反的方向，将左后肢推向身体使之完全屈曲紧贴身体（膝关节完全屈曲，踝关节完全背屈），如此一个往复为一个周期。2 次/d，5 min/次，每侧后肢每天共活动 600 个周期[3]。整个过程中动作轻柔，速度适中，全关节幅度活动，以伤口不渗血为度。

1.2.4 电刺激方法 ESG 与 PMESG 组在去神经支配手术分组后 6 h 开始电刺激治疗，将大鼠置于自制的网夹内，以拉出左后肢，大鼠左小腿硫化钡脱毛后，以双层生理盐水浸湿纱布包裹，采用 JNR22 型神经肌肉康复仪进行电刺激，将电极固定于皮肤表面，正极置于肢体近侧（左股骨大转子部与尾骨尖之间），负极置于远侧，正负两极距离为 8 mm，刺激频率为 2 Hz，刺激电压为 20~25 V[4]，强度以见到肌肉明显收缩为标准，每次刺激时间 15 min，上下午各 1 次。

1.2.5 动物处死与取材 实验 6 周后，各组在安静状态下称重。所有动物股动脉放血处死，处死时由大鼠股动脉取血，用离心管接取血液，在室温下静置 2 h 后，于低速离心机离心，速度 3 000 r/min，留取血清，置冰箱内 -20℃冷冻保存。

1.2.6 骨代谢生化指标的测定 血浆抗酒石酸盐酸性磷酸酶（Tartrate-resistant acid phosphatase，TRACP）运用 722 型可见光分光光度计（上海精密仪器厂生产）在成都中医药大学附属医院病理中心实验室测出，抗酒石酸盐酸性磷酸酶试剂盒由上海麦莎生物科技有限公司提供，操作步骤根据使用说明书。骨钙素（Bone gla protein，BGP）采用双位点免疫放射法（IR-MA），骨钙素放免分析试剂盒由北京中国原子能科学研究院提供，操作步骤根据使用说明书。

1.2.7 数据处理与统计学方法 所有指标均以平均值 + 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，数理统计采用统计软件 SPSS11.5 进行单因素方差分析（One-way ANOVA），组间相互比较采用 LSD 法，对 F 值明显的指标，用 t 检验对各组均值进行多重比较。

2 结 果

2.1 大鼠去神经后的一般情况

大鼠手术后 30 min 左右清醒，左后肢无主动屈伸功能，后爪屈曲，以脚掌支持体质量，躯体重心减低并前移，前进时以臀部和左肢肌群帮助行走，后退时靠腰腹部肌群收缩代偿，手术后大鼠活动量明显减少。被动牵引和电刺激 3 d 后，大鼠足部肿胀减退，活动量逐渐加大。

2.2 各组大鼠骨代谢生化指标的比较

2.2.1 各组大鼠血清 BGP 指标比较 由表 1 可以看出，其他各组 BGP 值较假手术组均呈非常显著性降低（$P<0.01$）；与对照组比较，各干预组 BGP 值均明显升高，其中混合干预组呈显著性升高（$P<0.05$），具有统计学意义；各干预组组间比较，混合干预组较单独干预组 BGP 值虽然增加，但不具显著差异性（$P>0.05$）。

由表 2 可以看出，与假手术组比较，除对照组 TRACP 值显著性升高外（$P<0.01$），其余各组也表现为升高，但差异不具显著性（$P>0.05$）；与对照组比较，各组大鼠 TARP 值均呈非常显著性降低（$P<0.01$）；被动运动、电刺激、混合干预组各组间比较未见明显差异（$P>0.05$）。

表 1 各组大鼠 BGP 值比较（$n=8, \bar{x} \pm s$）

组别	BGP
Sham	$9.43 \pm 4.96^{\triangle\square}$
DG	$2.66 \pm 0.96^{\star}$
PMG	$3.90 \pm 1.77^{\star}$
ESG	$3.69 \pm 2.16^{\star}$
PMESG	$5.82 \pm 2.37^{\star\blacktriangle}$

注：与假手术组比较 $^{\star}P<0.01$；与对照组比较 $^{\blacktriangle}P<0.05$，$^{\triangle}P<0.01$；与混合干预组比较 $^{\square}P<0.05$

表 2 各组大鼠 TRACP 值比较（$n=8, \bar{x} \pm s$）

组别	TRACP
Sham	$3.62 \pm 0.96^{\triangle}$
DG	$7.27 \pm 0.69^{\star\square}$
PMG	$4.00 \pm 2.40^{\triangle}$
ESG	$3.83 \pm 1.80^{\triangle}$
PMESG	$4.12 \pm 1.52^{\triangle}$

注：与假手术组比较 $^{\star}P<0.01$；与对照组比较 $^{\triangle}P<0.01$；与混合干预组比较 $^{\square}P<0.05$

3 讨 论

血清 BGP 由成骨细胞合成，是骨组织内非胶原骨蛋白的主要成分，它是反映成骨细胞活性、骨转换和骨形成的特异指标[5]。血中 BGP 与骨内 BGP 含量呈密切正相关关系，测定血中骨钙素浓度可以反映骨组织中骨钙素水平。Delamas 认为当骨形成与骨吸收耦联时，BGP 是反映骨转换的指标；当骨形成与骨吸收解藕联时，BGP 是反映骨形成的特异指标。研究亦发现，血中 BGP 水平与骨的形态计量测定的骨形成指标呈正相关[6]。血清骨钙素水平在高骨代谢患者中表现为升高[7]。

TRACP 是酸性磷酸酶的第 5 型同工酶，主要由骨吸收功能细胞——多核破骨细胞释放，具有很高活性，是破骨细胞功能的重要标志，它的活性与破骨细胞呈正相关。因此可以作为鉴定骨吸收的重要指标[8]，血清中 TRACP 水平能很好反映出破骨细胞活性和骨吸收状态。

本研究结果显示，与假手术组比较，各干预组 BGP 值均呈非常显著性降低（$P<0.01$）；与对照组比较，各干预组 BGP 值均明显升高，其中混合干预组呈显著性升高（$P<0.05$）；同时与假手术组比较，各干预组 TRACP 表现为升高，但差异不具显著性（$P>0.05$）；与对照组比较，各干预组 TRACP 均呈非常显著性降低（$P<0.01$）。

众多实验表明，运动能够防治废用性骨质疏松。自 1989 年 Woff 定律提出以来，已有大量研究表明负重和运动能促进骨形成。国外文献率先报道了运动与废用性骨质疏松的关系。1948 年 Abrams 就指出运动能防止截瘫所致骨质疏松。Freeman 报道运动甚至静立都可对预防和康复骨质疏松有明显作用，然而早期运动训练对预防和减轻骨质疏松的重要性，并没有引起人们的广泛重视。早期运动使肌肉收缩活动产生对骨的压力，可以刺激骨形成，减少骨矿物质的损失。钟绍芬[9]研究发现：早期运动治疗组发生骨质疏松症病人低于非运动对照组，说明早期运动能有效地预防和减轻外伤后长期卧床引起的骨质疏松症。

电刺激对成骨细胞有增殖作用，能影响骨的代谢和重建，达到抑制骨衰退和逆转骨质疏松症的作用。根据骨生长与骨重建的力电理论，周围神经功能性电刺激可以产生类似于负重锻炼或重力刺激所产生的骨压电效应，进而影响骨重建平衡，使骨形成大于骨吸收，有利于提高骨量和改善骨的结构。李明等[10]曾报道：大鼠在切断坐骨神经后，予以 6 KHz 中频电流连续刺激 12 d 显示，大鼠胫骨平均干、湿、灰重等指标与正常组无明显差异。本实验研究结果显示：与对照组比较，电刺激组骨形成指标 BGP 值显著性升高（$P<0.05$），骨吸收指标 TRACP 活性显著性降低（$P<0.05$），也说明了电刺激能有效促进骨形成，抑制骨吸收。这与最近国外文献报道结果一致[11]。张远华[12]临床研究报道早期接受功能性电刺激治疗可缓解截瘫后骨钙的丢失，而对于已经发生的骨质疏松则无法使其完全逆转。

被动运动和电刺激，是临床康复中预防肌肉萎缩和保持关节活动度的常用方法，而两种方法对失神经支配后，是否能有效地保持一定骨量尚未明确。过去研究认为，通过电刺激可对骨产生压电效应，使骨处于一定的应力环境中。被动运动则可能通过机械牵伸影响骨的微循环。然而被动运动和电刺激预防废用性骨质疏松的作用机制还有待进一步研究。

4 结 论

大鼠失神经支配后，骨形成减少，骨吸收增加，形成废用性骨质疏松模型，这与以往文献研究报道一致。被动运动和电刺激均能有效抑制大鼠去神经后的骨形成减少以及骨吸收增加，在一定程度上表明了被动运动和电刺激对去神经所致大鼠废用性骨质疏松的预防作用。因此，被动运动和电刺激治疗对废用性骨质疏松非药物防治手段的选择具有一定参考价值。

参 考 文 献

[1] 高 润，张素珍，刘吉林，等.大鼠失神经支配后股骨密度变化的实验研究[J].河南实用神经疾病杂志，2003，6(6)：2-3.

[2] 潘孝贵，高 润. 去神经大鼠骨小梁结构变化及被动运动的逆转作用[J].中国临床康复，2005，9(4)：182-183.

[3] 李长宏，吴 倩.被动运动和电刺激对尾吊大鼠比目鱼肌肌纤维的影响[J].中华物理医学与康复杂志，2004，26(3)：133-135.

[4] 马学军. 被动运动和电刺激对失神经大鼠骨 IGF-1，BAKP 和 TRAP 含量的影响[J].山东大学学报(理学版)，2005，(4)：118-122.

[5] 薛 延.骨质疏松的生化诊断[J].中国骨质疏松杂志，1995(1)：58.

[6] 张 林，杨锡让，薛 延，等.健骨运动对绝经后女性骨代谢生化标志物的影响[J].中国运动医学杂志，2000，19(2)：609-611.

[7] 陈佑学，李国平，姚鸣恩，等.骨钙素及运动对其水平的影响[J].中国运动医学杂志，2000，19(2)：188-191.

[8] 于世凤.破骨细胞及其骨吸收调控研究[J].中国骨质疏松杂志，2000，6(1)：78-83.

[9] 钟绍芬，张继红.早期运动训练预防外伤后长期卧床引起的骨质疏松症[J].护理研究，2002，16(1)：36.

[10] 李 明，刘植珊，高建平，等.中频电流预防废用性骨质疏松症的实验观察[J].中华理疗杂志，1991，(4)：195-196.

[11] Clinton T，Rubin，Jifferson，et al.Inhabitation ofosteopenia by low magnitude high-frequence mechanical stimuli[J].DDT，2001，6(16)：1041-1042.

[12] 张远华，陈 琳.截瘫病人并发症的早期预防及护理[J].湖南中医药导报，2004，10(8)：43-44.

（责任编辑：关蕴良）