0254-6124/2019/39(1)-100–05 *Chin. J. Space Sci.* 空间科学学报

WANG Min, WANG Shouhui, YANG Xiao, HUANG Yunfei, SUN Lianwen, FAN Yubo. Design and experimental validation of hindlimb unloading rat suspension device with adjustable body position (in Chinese). *Chin. J. Space Sci.*, 2019, **39**(1): 100-104. DOI:10.11728/cjss2019.01.100

大鼠后肢去负荷体位调节装置设计与实验研究 *

王 敏[1] 王守辉[1] 杨 肖[1,2]
黄云飞[1] 孙联文[1,2] 樊瑜波[1,2,3]

1(北京航空航天大学生物与医学工程学院 生物力学与力生物学教育部重点实验室 北京 100083)

2(北京航空航天大学 生物医学工程高精尖创新中心 北京 102402)

3(国家康复辅具研究中心 北京市老年功能障碍康复辅助技术重点实验室 北京 100176)

摘 要 通过对大鼠尾吊模型进行改进, 研制出一种新型可调节体位的大鼠后肢去负荷悬吊装置, 研究模拟微重力效应下体液分布变化对大鼠骨代谢的影响. 将 36 只 SD 大鼠均分为对照组 (CON)、头低位后肢去负荷组 (HDT)、水平位后肢去负荷组 (HH) 和头高位后肢去负荷组 (HUT) 4 组, 实验 21 天后, 利用 DXA 检测大鼠的骨密度 (BMD). 模拟微重力效应下的三组大鼠后肢均发生严重骨丢失, 其中 HH 和 HUT 组后肢 BMD 显著大于 HDT 组. 实验结果表明, 体液分布变化可能在模拟微重力效应导致的骨丢失中起到重要作用, 新型大鼠后肢去负荷悬吊装置能够调节大鼠体位 (体液) 进行模拟微重力效应研究.

关键词 去负荷, 模拟微重力, 体液分布, 骨密度

中图分类号 R 852.22

Design and Experimental Validation of Hindlimb Unloading Rat Suspension Device with Adjustable Body Position

WANG Min[1] WANG Shouhui[1] YANG Xiao[1,2] HUANG Yunfei[1]
SUN Lianwen[1,2] FAN Yubo[1,2,3]

1(*Key Laboratory for Biomechanics and Mechanobiology of Ministry of Education, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing* 100083)

2(*Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Beihang University, Beijing* 102402)

3(*Beijing Key Laboratory of Rehabilitation Technical Aids for Old-Age Disability, National Research Center for Rehabilitation Technical Aids, Beijing* 100176)

Abstract The rat tail-suspension model was improved in this paper to develop a new type of adjustable body position hindlimb unloading suspension device for rats, which was used to investigate

* 国家自然科学基金创新研究群体项目 (11421202) 和教育部 111 引智项目 (B13003) 共同资助
2018-01-30 收到原稿, 2018-06-22 收到修定稿
E-mail: wangmin1991a@163.com. 通信作者 孙联文, E-mail: sunlw@buaa.edu.cn

the effect of changes in body fluid distribution under simulated microgravity on bone metabolism in rats. 36 Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: Control (CON) group, Head-Down-Tilt (HDT) group, Head-Horizontal (HH) group and Head-Up-Tilt (HUT) group. 21 days later, rats were detected for Bone Mineral Density (BMD) with DXA. Severe bone loss occurred in all three groups of rats under the simulated microgravity effect, and the hindlimb BMD of HH and HUT groups significantly increased compared with HDT group. The experimental results show that the changes in body fluid distribution may play an important role on the bone loss caused by simulated microgravity effect, and the new rat hindlimb unloading suspension device can adjust the body position (body fluid) of rats for simulated microgravity effect study.

Key words Unloading, Simulated microgravity, Body fluid distribution, Bone mineral density

0　引言

空间微重力环境会导致航天员发生严重的骨丢失, 月均骨矿盐丢失量可达 2%[1], 且返回地面后的恢复十分困难 [2,3]. 目前, 航天飞行中常用的对抗骨丢失的措施均未起到有效缓和作用 [4,5]. 这主要是由于失重性骨丢失机制尚不清楚. 微重力下航天员身体不同部位骨丢失的量不同, 其中承重骨的骨丢失最为严重 [6,7], 因此目前公认骨骼负荷的减少或消失是引发失重性骨丢失的关键因素之一. 另一方面, 空间飞行会导致人体血液及骨髓间质液等的循环及压力发生改变 [8], 体液分布发生变化 [9], 一些地面模拟微重力效应的研究结果显示, 体液分布变化也与失重性骨丢失紧密相关 [10−15].

大鼠尾吊模型作为公认的模拟微重力效应动物模型被广泛应用 [16,17], 该模型将大鼠后肢悬空提起, 保持去负荷状态, 前肢依然触地承重, 从而使大鼠后肢处于模拟微重力状态 [18]. 此外, 尾吊大鼠体液的头向转移还可模拟大鼠体液循环在航天飞行中的改变. 尾吊大鼠的后肢同时受到去负荷与体液减少的影响发生严重的骨质疏松.

为研究单独的体液分布变化在该模型中对骨丢失的作用, 本文对大鼠尾吊模型进行改进, 设计出可调节后肢去负荷大鼠体位的新型模拟微重力效应悬吊装置 [19]. 新型装置能够在所有大鼠均保持后肢去负荷的状态下, 通过改变体位使悬吊大鼠全身的体液分布发生变化, 从而研究模拟微重力效应中体液对大鼠后肢肌骨系统产生的影响.

本研究利用自主研制的后肢去负荷大鼠体位调节装置, 对大鼠进行了 21 天的模拟微重力效应实验, 利用 DXA 检测大鼠全身及不同部位的骨密度, 模拟微重力效应下体液分布变化对大鼠骨密度的影响.

1　装置设计

1.1　结构设计

新型大鼠模拟微重力效应悬吊装置主要由大鼠尾吊实验箱、滑轨、悬吊铁链、塑料套筒、平台 (食盒)、水杯、抽拉式箱底组成, 其结构如图 1 所示.

尾吊实验箱上方设计有横向与纵向自由滑轨, 使大鼠在悬吊状态下能够自由移动, 摄取水和食物. 平台距箱底 15 cm, 可保证实验中调节悬吊大鼠体位并不接触箱底. 塑料套筒前后两端分别连接有两条带扣环的悬吊链条, 通过连接悬吊链条的不同扣环位置调节大鼠体位. 当大鼠后肢低于头部时在套筒后方添

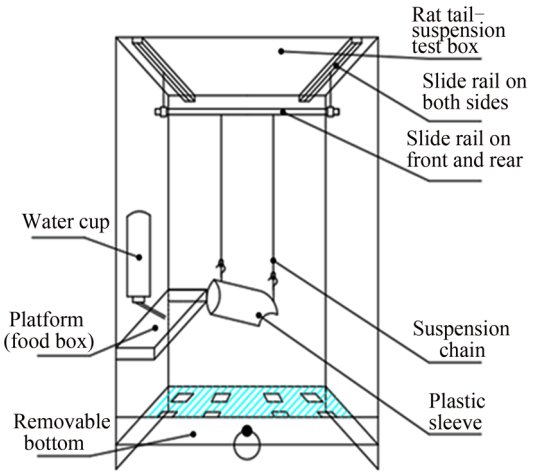


图 1　大鼠模拟微重力效应悬吊装置结构

Fig. 1　Structure diagram of the rat's simulating microgravity effects suspension device

加横向铁丝防止大鼠脱出. 此外, 抽拉式箱底的设计使悬吊大鼠的粪便与食物残渣等废弃物方便清理.

1.2 装置工作原理

使用本装置悬吊大鼠时, 其躯干大多处于倾斜状态, 与底面接触并受到压力 F_1 (见图 2), 但由于大鼠尾部的拉力 F_2 与前肢支撑力 F_3 相对较大, 使得底面压力 F_1 相对较小, 这与传统的尾吊大鼠模型中大鼠受力分布基本一致. 处于头高位或水平位的大鼠在向后方倾斜或移动时还会受到臀部后方铁丝的阻力 F_4, 但由于这一受力方向与大鼠躯干方向平行并且垂直于其后肢, 因此不会对大鼠后肢产生力的分量, 可保证大鼠后肢始终处于去负荷状态.

使用该装置进行实验时, 大鼠会处于以下三种体位. (1) 大鼠头部低于后肢的头低位体位. 此时大鼠全身体液向头部转移, 后肢体液减少, 与传统大鼠尾吊模型情况相同. (2) 大鼠躯干保持水平的水平体位, 此时大鼠全身体液不会发生明显转移. (3) 大鼠头部高于后肢的头高位体位, 此时大鼠体液向后肢转移, 头部体液相对减少, 用于模拟微重力效应下大鼠后肢体液充盈的情况. 本装置在保持大鼠后肢悬空和自由饮食的同时, 通过调节大鼠的悬吊体位改变身体各部位的体液分布, 研究体液分布改变对去负荷后肢肌骨系统造成的影响.

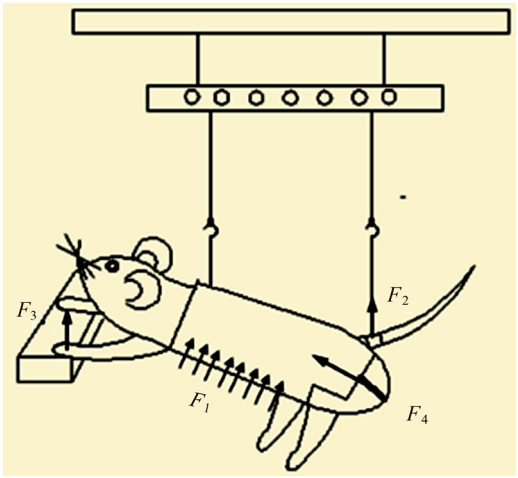


图 2 大鼠受力分析

Fig. 2 Force analysis diagram of the rat

2 动物实验

2.1 实验方法

2.1.1 实验动物与分组

选取清洁级雌性 8 周龄的 SD 大鼠 36 只, 室温保持在 23±2°C, 实行 12 h 光照与 12 h 黑暗交替循环. 适应性喂养 3 天后随机分为 4 组 (每组 9 只): 对照组 (CON), 头低位后肢去负荷组 (HDT), 水平位后肢去负荷组 (HH), 头高位后肢去负荷组 (HUT).

实验持续 21 天. 利用新型后肢去负荷大鼠体位调节装置实现体液分布的调整 (见图 3): HDT 组与传统大鼠尾吊模型一致, 大鼠与水平面呈 30° 夹角; HH 组大鼠与水平面呈 0° 夹角; HUT 组大鼠与水平面呈 −30° 夹角. 对照组大鼠未经任何处理.

2.1.2 DXA 检测骨密度

悬吊实验结束后, 使用 Hologic 双能 X 射线骨密度仪对各组大鼠进行全身活体扫描, 检测大鼠全身的骨密度 BMD. 在大鼠的全身扫描图像上划分出全身 (Body)、头部 (Head)、腰椎 L1~L5 (Lumbar)、后肢 (Hindlimb) 4 个区域 (见图 4), 计算各区域的骨密度 BMD.

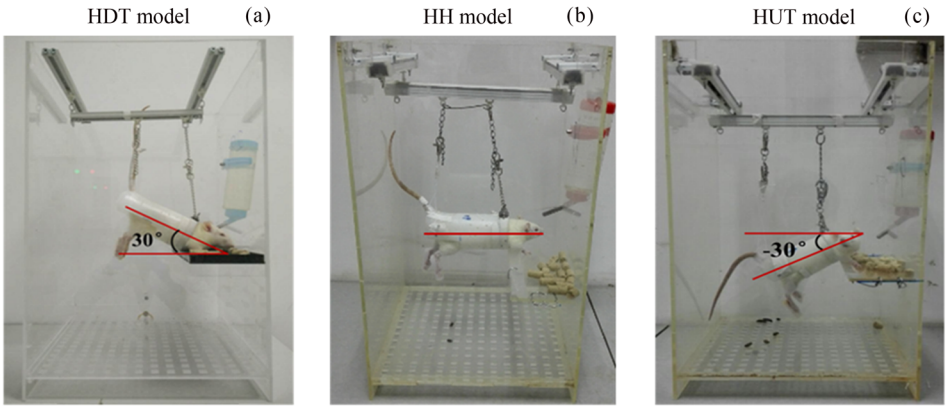


图 3 后肢去负荷大鼠体位调节装置

Fig. 3 Body position adjustment device of hindlimb-unloading rats

利用 SPSS 22.0 数据处理软件对各项数据进行分析处理与显著性检验, 使用单因素方差分析验证分析实验结果. $P < 0.05$ 认为统计结果存在显著性差异, $P < 0.01$ 认为统计结果差异性十分显著.

2.2　实验结果

大鼠全身及各分区的面积骨密度如图 5 所示, 对于大鼠全身 BMD, HDT、HH、HUT 三组间无显著差异, 但是均显著小于 CON 组 ($P < 0.01$); 大鼠头部 BMD 各组均无显著差异; 对于大鼠腰椎 (L1～L5) BMD, CON 和 HUT 组显著大于 HDT 组 ($P < 0.05$); 对于大鼠后肢 BMD, HDT, HH, HUT 组均显著小于 CON 组 ($P < 0.01$), 同时 HH 和 HUT 组显著大于 HDT 组 ($P < 0.05$).

结果显示, 模拟微重力效应对大鼠全身及承重骨的骨密度有显著影响, 而对非承重骨 (头骨) 无显著影响. 大鼠后肢体液分布增加, 则后肢骨丢失情况显著减弱; 大鼠头部体液分布减少, 则头部有发生骨丢失的趋势.

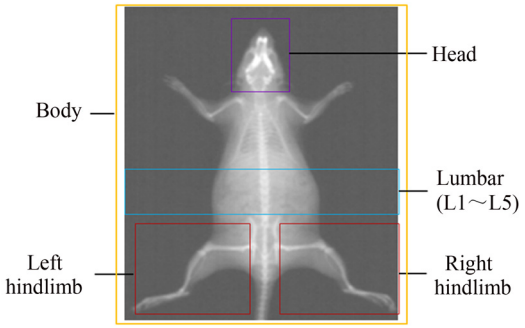


图 4　大鼠全身分区

Fig. 4　Diagram of rat body partition

2.3　讨论

本研究中头低位悬吊组大鼠全身各部位的骨丢失状况与空间飞行或模拟微重力效应下的大鼠骨丢失情况相符 [9,15,20−23], 表明新型装置的大鼠头低位悬吊模型与传统尾吊模型模拟微重力效应的结果一致. 头低位、水平位及头高位三种体位的后肢去负荷悬吊大鼠全身及后肢均发生明显的骨丢失, 水平位及头高位大鼠后肢骨密度显著高于头低位, 提示后肢体液分布增加可能在对抗骨丢失中起到一定作用, 该装置可用于地面模拟微重力效应的研究.

头低位大鼠的腰椎发生明显骨质疏松, 这与尾吊大鼠及航天员的腰椎骨丢失情况相符 [15,20−23], 头低位大鼠很可能由于腰椎负荷降低, 骨间隙液减少发生骨丢失 [15]. 水平位大鼠腰椎的负荷与体液分布均未发生明显变化, 而头高位组大鼠在接触到身体后方阻挡其滑落的铁丝时腰椎会受到身体轴向的分力, 骨骼负荷增加, 从而更加有效地对抗骨丢失. 这也提示外部负载改变对承重骨的影响可能远大于体液变化对其产生的影响.

头骨为非承重骨, 在模拟微重力效应实验中不会显著受到力学负荷的影响 [12]. 头低位大鼠与对照组的头部骨密度无显著差异, 这与以往尾吊大鼠的头骨检测实验结果一致 [19,24]. 头高位大鼠的头部骨密度与对照组虽无显著性差异, 但是相比其他三组却有骨

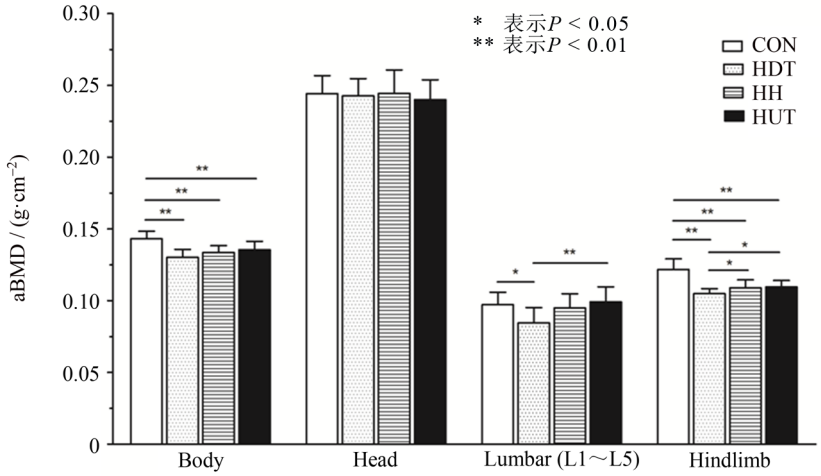


图 5　大鼠全身各分区面积骨密度 (aBMD)

Fig. 5　Rat body partition area BMD

密度降低的趋势, 这可能是由于受到头部体液分布减少的影响. 此外, 受体液分布增加的影响, 头高位与水平位大鼠的后肢 (承重骨) 骨丢失情况相比头低位减弱, 而头骨 (非承重骨) 在各组间均无显著变化, 这表明体液分布对承重骨的影响可能比非承重骨更大.

3 结论

利用新研制的后肢去负荷悬吊大鼠体位调节装置, 证实体液改变是失重性骨丢失的可能发生机制之一, 其具体作用机制还有待更深入的研究. 新型装置可以对后肢去负荷大鼠的体液分布进行调节, 这为研究体液对失重性骨丢失的影响机制提供了基础.

参考文献

[1] RIGGS B L, KHOSLA S, MELTON L J. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men [J]. *J. Bone Mineral Res.*, 1998, **13**(5): 763-773

[2] CARPENTER R D, LEBLANC A D, EVANS H, *et al.* Long-term changes in the density and structure of the human hip and spine after long-duration spaceflight [J]. *Acta Astron.*. 2010, **67**(1/2): 71-81

[3] VICO L, LAFAGE-PROUST M H, ALEXANDRE C. Effects of gravitational changes on the bone system *in vitro* and *in vivo* [J]. *Bone*, 1998, **22**(5): 95S-100S

[4] SMITH S M, HEER M, SHACKLFORD L C, *et al.* Bone metabolism and renal stone risk during International Space Station missions [J]. *Bone*, 2015, **81**: 712-720

[5] SIBONGA J D, SPECTOR E R, JOHNSTON S L, *et al.* Evaluating bone loss in ISS astronauts [J]. *Aeros. Med. Human Perform.*, 2015, **86**(12): A38-A44

[6] OGANOV V S, GRIGOR'EV A I, VORONIN L I,*et al.* Bone mineral density in cosmonauts after flights lasting 4.5-6 months on the Mir orbital station [J]. *Aeros. Environ. Med.*, 1992, **26**(5/6): 20-24

[7] OGANOV V S, RAKHMANOV A S, NOVIKOV V E, *et al.* The state of human bone tissue during space flight [J]. *Acta Astron.*, 1991, **23**: 129-133

[8] ZHU Bin, GUO Hua, HAO Xi juan, *et al.* Mechanism of weightlessness osteoporosis and preventive and therapeutic effect of traditional Chinese medicine [J]. *China J. Orthop. Traum.*, 2012(7): 611-616

[9] CLÉMENT G. Fundamentals of Space Medicine [M]. Berlin: Springer Netherlands, 2005

[10] SUN Lianwen, ZHUANG Fengyuan. Researches of microgravity induced osteopenia in cosmonauts [J]. *Chin. J. Aeros. Med.*, 2004(1): 54-58

[11] SIKAVITSAS V I, BANCROFT G N, HOLTORF H L, *et al.* Mineralized matrix deposition by marrow stromal osteoblasts in 3D perfusion culture increases with increasing fluid shear forces [J]. *PNAS*, 2003, **100**(25): 14683-14688

[12] DENG Hongwen, LIU Yaozhong. Bone Biomechanics [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 61 (邓红文, 刘耀中. 骨生物学前沿 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 61)

[13] CAO Xinsheng, WU Xingyu, WU Yanhong, *et al.* Effects of intermittent +45° head-up-tilt on mechanical parameters of femural bone in tail-suspended rats [J]. *Space Med. Med. Eng.*. 2000, **13**(5): 328-331

[14] ZHANG Yingang, YANG Zhi, ZHANG Hong, *et al.* Negative pressure technology enhances bone regeneration in rabbit skull defects [J]. *BMC Muscul. Disord.*. 2013, **14**: 76

[15] LI Wenting, HUANG Yunfei, SUN Lianwen, *et al.* Would interstitial fluid flow be responsible for skeletal maintenance in tail-suspended rats [J]. *Microg. Sci. Techn.*, 2017, **29**(1/2): 107-114

[16] MOREY-HOLTON E R, GLOBUS R K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects [J]. *J. Appl. Physiol.*, 2002, **92**(4): 1367-1377

[17] MOREY-HOLTON E, Globus R K, KAPLANSKY A, *et al.* The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data [J]. *Adv. Space Biol. Med.*, 2005, **10**: 7-40

[18] SUN Lianwen, XIE Tian, FAN Yubo. Application of exercise and effect on musculoskeletal system in tail- suspension rats [J]. *Chin. J. Biomed. Eng.*, 2009(5): 766-770

[19] SUN Lianwen, WANG Shouhui, WANG Min, *et al.* An adjustment device for the distribution of body fluid in rats under simulated weightlessness: 201610603340.2 [P]. China, 2016.12.14

[20] GUO Rui, HU Min, SUN Zhenyu, *et al.* Effects of simulated weightlessness on rats mandible, lumbar vertebar and femur [J]. *Space Med. Med. Eng.*, 2005, **18**(3): 165-169

[21] ZHAO Fan, LI Dijie, ARFAT Yasir, *et al.* Reloading partly recovers bone mineral density and mechanical properties in hind limb unloaded rats [J]. *Acta Astron.*, 2014, **105**(1): 57-65

[22] SUN Y, SHUANG F, CHEN D M, *et al.* Treatment of hydrogen molecule abates oxidative stress and alleviates bone loss induced by modeled microgravity in rats [J]. *Osteoporosis Int.*, 2013, **24**(3): 969-978

[23] LEBLANC A, SCHNEIDER V, SHACKELFORD L, *et al.* Bone mineral and lean tissue loss after long duration space flight [J]. *J. Muscul. Neur. Inter.*, 2000, **1**(2): 157-160

[24] COLLERAN P N, WILKERSON M K, BLOOMFIELD S A, *et al.* Alterations in skeletal perfusion with simulated microgravity: a possible mechanism for bone remodeling [J]. *J. Appl. Physiol.*, 2000, **89**(3): 1046-1054