

CIĘŻA A BIOMECHANIKA KOŚCI

Człowiek i Zdrowie Nr 1 (V) 2011, s. 21-28

Grażyna Olchowik¹, Marek Tomaszewski², Mateusz Polberg³, Monika Tomaszewska⁴

¹Katedra i Zakład Biofizyki Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

²Katedra i Zakład Anatomii Prawidłowej Człowieka Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

³Oddział Neurologii WSzS im. Stefana Kardynała Wyszyńskiego w Lublinie,

⁴I Zakład Radiologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Streszczenie: Cięża jest szczególnym okresem w życiu kobiety, który powoduje między innymi zmiany w matczynej homeostazie wapniowej. Konsekwencją tego może być zaburzenie struktury kości, prowadzące do osłabienia jej wytrzymałości mechanicznej na obciążenia. Zbyt duże odwapnienie kości w czasie ciąży może być także przyczyną rozwoju osteoporozy w późniejszym wieku. Celem pracy było oznaczenie gęstości kości jak również badanie wytrzymałości mechanicznej kości ciężarnych samic szczurzych bezpośrednio po porodzie.

Słowa kluczowe: ciąża, poród, tkanka kostna, gęstość kości, parametry biomechaniczne kości.

Wstęp

Ciąża jest szczególnym okresem w życiu kobiety, który powoduje wiele fizjologicznych zmian, między innymi w matczynej homeostazie wapniowej. Konsekwencją tego mogą być zmiany strukturalne kości prowadzące do osłabienia jej wytrzymałości mechanicznej na obciążenia. Zbyt duże odwapnienie kości w czasie ciąży może być także przyczyną rozwoju osteoporozy w późniejszym okresie życia kobiety.

Szkielet płodu w terminie porodu zawiera około 30g wapnia [Kalkwarf i Specker 2002, Kovacs i Kronenberg 1997]. Większość (25g) tego pierwiastka dostarczana jest w trzecim trymestrze ciąży [O'Leary i wsp. 2004]. Zapotrzebowanie płodu na wapń w pierwszym trymestrze ciąży wynosi ok. 2-3 mg/d, w drugim ok. 50 mg/d, podczas gdy w trzecim trymestrze ciąży wynosi już 250 mg/d [Kalkwarf i Specker 2002].

Matczyna odpowiedź na zapotrzebowanie płodu na wapń obejmuje: zwiększenie jego absorpcji w jelitach, zmniejszenie wydalania wapnia przez nerki oraz zwiększony metabolizm tkanki kostnej [Cross i wsp. 1995, Kovacs 2005].

W okresie ciąży pojawiają się także zmiany adaptacyjne w poziomie $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$. Już w pierwszym trymestrze następuje szybki wzrost poziomu $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ i osiąga maksymalne wartości pod koniec trymestru trzeciego. W ciąży zmienia się także poziom hormonów wpływających na metabolizm tkanki kostnej, takich jak prolaktyna, estrogeny, laktogen łożyskowy, łożyskowy hormon wzrostu i insulinopodobny czynnik wzrostu-1. Hormony te mogą indukować zmiany w syntezie $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$, resorpcji wapnia w jelitach oraz przemianach kostnych [O'Leary i wsp. 2004].

Pomimo zwiększonego wchłaniania wapnia w jelitach, często jego ilość nie jest wystarczająca i organizm musi sobie radzić, pobierając wapń z kości, co zdaniem wielu autorów [Aguado i wsp. 1998, Sowers i wsp. 2000] prowadzi do osłabienia wytrzymałości mechanicznej tkanki kostnej. W pracy [Paoletti i wsp. 2003] wykazano, że u kobiet w ciąży (pomiędzy 8 a 38 tygodniem) i podczas 6 miesięcy laktacji zwiększają się znacząco w moczu poziomy markerów kościogubnych, takich jak pirydolina i deoksypirydolina. Markery te w 32, 34, 36 i 38 tygodniu ciąży korelowały z poziomem ludzkiego hormonu łożyskowego w surowicy i wróciły do wartości wyjściowych w 12 miesięcy po porodzie. Jednakże w badaniu prospektywnym [Moré i wsp. 2003] stwierdzono, że w ciąży następuje zwiększenie poziomu markerów obrotu kostnego, zarówno kościotwórczych jak i kościogubnych, który nie powrócił do poziomu wyjściowego nawet w 12 miesięcy po porodzie. W pracy tej, u kobiet w ciąży oznaczane były markery kościotwórcze w surowicy, takie jak: fosfataza zasadowa swoista dla kości, osteokalcyna i wydłużone łańcuchy peptydowe kolagenu typu I oraz marker kościogubny w moczu-deoksypirydolina.

Autorzy pracy [Ulrich i wsp. 2003] mierzyli BMD (ang. *Bone Mineral Density*- Gęstość Mineralna Kości) u kobiet przed zajściem w ciążę i dwa tygodnie po porodzie. Oznaczali również markery resorpcji kości w moczu: krzyżowe wiązania hydroksypirydynowe kolagenu typu I, krzyżowo połączone końcowe fragmenty peptydowe kolagenu typu I oraz markery kościotwórcze w surowicy: fosfatazę zasadową swoistą dla kości i osteokalcynę. Oznaczali także poziom wapnia całkowitego w surowicy przed ciążą, podczas trwania ciąży i po porodzie. Zaobserwowano, że podczas ciąży BMD zmniejszało się znacząco w odcinku lędźwiowym kręgosłupa i w krętarzu kości udowej. Oznaczane markery resorpcji kości osiągały maksymalne wartości w trzecim trymestrze ciąży i po porodzie. Zwiększeniu resorpcji kości towarzyszył obniżony poziom wapnia

w surowicy w trzecim trymestrze. Poziom fosfatazy zasadowej swoistej dla kości obniżył się w pierwszym trymestrze, a w drugim trymestrze obniżył się poziom osteokalcyny. Poziom tychże markerów zwiększył się w trzecim trymestrze i po porodzie. Powyższe wyniki wskazują, że w okresie ciąży następuje zwiększenie obrotu kostnego, z przewagą procesów kościogubnych, a resorpcja kości osiąga maksymalne nasilenie w trzecim trymestrze. Zmniejsza się także znacząco BMD w miejscach bogatych w kość beleczkową, czyli w odcinku lędźwiowym kręgosłupa i w krętarzu kości udowej. Opisane są także przypadki stwierdzenia osteoporozy w okresie trwania ciąży oraz złamań osteoporotycznych po porodzie [Philips i wsp. 2000, Rizzoli i Bonjour 1996].

Ciąża powoduje zmiany w postawie, powodując przesunięcia położenia środka ciężkości ciała i hiperlordozę odcinka lędźwiowego kręgosłupa, które, nakładając się na mały, lecz przewlekły ubytek w masie kostnej, może prowadzić do uszkodzenia osłabionej kości. Autorzy pracy [Philips i wsp. 2000] badali metodą densytometryczną kości kobiet w ciąży z objawami osteoporozy, takimi jak: ból pleców, złamania kompresyjne kręgow lub bólem biodra. Kobiety obserwowano do ośmiu lat po porodzie. BMD do sześciu miesięcy po porodzie pozostawało niskie. Po tym okresie BMD zwiększało się stopniowo, aż do dolnej granicy normy, którą osiągało w okresie czterech lat po porodzie. Ta odwracalna utrata masy kostnej mogła być spowodowana przez ciążę. Jednak u badanych kobiet nie można było wykluczyć obniżonej wartości BMD i istnienia osteopenii przed ciążą.

Wpływ ciąży na metabolizm tkanki kostnej jest złożony i nie do końca poznany. Doniesienia literaturowe dotyczące wpływu ciąży na tkankę kostną są nadal niejednoznaczne. Wielu autorów [Eisman 1998, Kalkwarf i Specker 2002, Karlson i wsp. 2001, Kaur i wsp. 2003, Morę i wsp. 2003] uważa, że ciąża nie ma wpływu na wystąpienie złamań osteoporotycznych w okresie poporodowym.

Celem tej pracy było badanie wytrzymałości mechanicznej kości ciężarnych samic szczurzych bezpośrednio po porodzie.

Badania wytrzymałościowe w warunkach laboratoryjnych wyizolowanych próbek kości umożliwiają dokładniejszą ocenę wydolności podporowej i ochronnej kości, niż pomiary ich gęstości [Filip 2007].

Materiał i metody

Badania przeprowadzono za zgodą Komisji Etycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Część doświadczalną wykonano w Centralnej Zwierzętni UM w Lublinie, znajdującej się pod stałym nadzorem weterynaryjnym.

Badania przeprowadzono na szczurach białych szczepu Wistar CRL: (WI)WUBR, pochodzących z Ośrodka Hodowli Zwierząt Laboratoryjnych (Rembertów, Warszawa, Polska). Wszystkim zwierzętom doświadczalnym zapewniono stałe warunki otoczenia oraz stały dostęp do wody i paszy [Górska 2000, White 2001]. Żywiono je wyłącznie standaryzowaną paszą bryki eto włą LSM® (Wytwórnia Koncentratów i Mieszanek Paszowych Agropol s.j.; Motycz, Polska). Zużycie pokarmu i wypitej wody monitorowano codziennie. Do doświadczeń użyto zwierząt o średniej wadze początkowej 200-250 g.

Po aklimatyzacji trwającej dwa tygodnie, dziewicze samice podzielono na dwie grupy: kontrolną (K) i doświadczalną (E) liczące po 8 osobników. Samice z grupy doświadczalnej łączono na noc z samcami w stosunku 5:2. O skutecznej kopulacji świadczyła obecność plemników lub czopu, zawierającego mieszaninę nasienia i złuszczonego nabłonka pochwy w porannym wymazie pochwowym. Za pierwszy dzień ciąży uznawano dzień zaplemnienia.

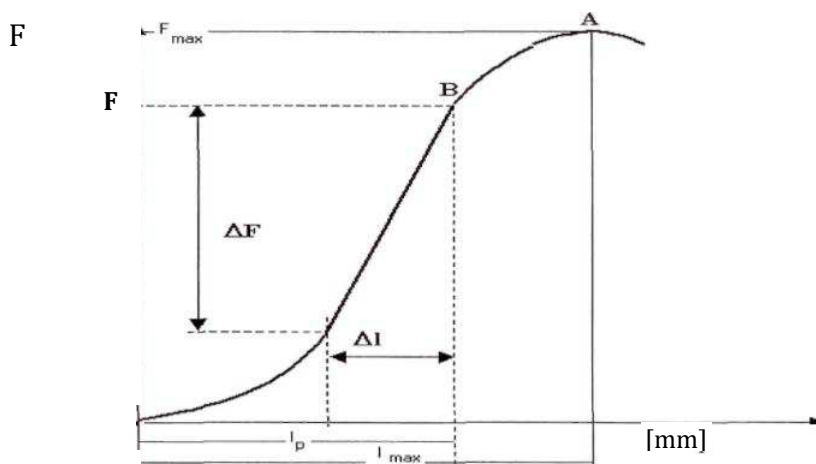
Metodyka badań i pomiarów

W okresie eksperymentu wszystkie zwierzęta obserwowano co najmniej trzy razy dziennie. W odstępach trzydniowych kontrolowano także masę ciała samic. W 21 dniu ciąży samice uśmiercano przez dekapitację z użyciem specjalnie przystosowanej gilotyny laboratoryjnej. Śmierć następowała poprzez przerwanie ciągłości rdzenia kręgowego bez naruszenia ciągłości powłok zewnętrznych. W tym samym okresie w analogiczny sposób uśmiercano samice nieciążarne z grupy K. Do badań pobierano kości udowe. Pobrane kości oczyszczano z tkanek miękkich. Próbkę do badań biomechanicznych kości przechowywano w temperaturze -15°C. Ocenę jakości tkanki kostnej szczurów w grupie eksperymentalnej i kontrolnej przeprowadzono na podstawie pomiarów gęstości kości i badań wytrzymałościowych.

W pracy oceniano średnią gęstość kości, zdefiniowaną jako stosunek masy całej kości wraz z nasadami i zawartymi wewnątrz płynami fizjologicznymi do jej objętości. Gęstość kości określano metodą hydrostatyczną.

Badanie parametrów biomechanicznych kości przeprowadzano za pomocą trój punktowej próby wytrzymałościowej na zginanie [Olchowik 2002]. Testy wytrzymałościowe próbek kości udowych wykonano przy użyciu skomputeryzowanego zestawu urządzenia Lloyd, typu LRX. Przed wykonaniem badań wytrzymałościowych kości udowe rozmrażano w temperaturze pokojowej przez 12 godzin. Po rozmrożeniu układano je na specjalnie skonstruowanej podstawie i poddano poprzecznym obciążeniom z szybkością 2 mm/min, powodując złamanie.

Typowy przebieg zależności siły (F), przykładanej do środkowej części trzonu kości udowej, w zależności od przemieszczania głowicy (1) przedstawiono na rys.1. Na podstawie zdjętych charakterystyk wytrzymałościowych określano maksymalną siłę ($F_{\max}$) (punkt A na rys.1) określoną mianem wytrzymałości lub siły łamiącej, oznaczającej obciążenie krytyczne, przy którym dochodzi do pęknięcia kości.



Rys. 1. Zależność ugięcia trzonu kości udowej od obciążenia [Olchowik 2002].

Oznaczano ugięcie trzonu kości udowej ($l_{\max}$) do punktu maksymalnego obciążenia odkształcenie kości $\delta_{\max}$ spowodowane tym obciążeniem:

$$\delta_{\max} = \frac{l_{\max}}{d_o}, \quad (1)$$

gdzie:

d_o – średnica trzonu kości udowej w miejscu złamania.

Ze stromego, prostoliniowego odcinka charakterystyki wytrzymałościowej obliczano sztywność kości, jako tangens kąta nachylenia prostoliniowego odcinka wytrzymałościowej charakterystyki [Martin 1990]:

$$H = \frac{\Delta F}{\Delta l} \quad (2)$$

Obliczono także naprężenie w punkcie maksymalnego obciążenia ($N_{\max}$) [Kaneps i wsp. 1997]:

$$N_{\max} = \frac{F_{\max} L r_{l_{\max}}}{4I} \quad (3)$$

gdzie:

L – odległość między punktami podparcia trzonu kości udowej,

$r_{l_{\max}}$ – maksymalny promień zewnętrzny trzonu kości udowej,

I – osiowy moduł bezwładności

$$I = \frac{\pi (r_{1\max}^4 - r_{1\min}^4 - r_{2\max}^4 + r_{2\min}^4)}{4} \quad (4)$$

gdzie:

$r_{1\min}$ – minimalny promień zewnętrzny trzonu kości udowej,

$r_{2\max}$ – maksymalny promień wewnętrzny trzonu kości udowej,

$r_{2\min}$ – minimalny promień wewnętrzny trzonu kości udowej.

Większość mechanicznych obciążeń, przenoszonych przez kości podczas codziennej aktywności fizycznej organizmu, wywołuje w tkance kostnej naprężenia, powodujące odkształcenia sprężyste. Odkształcenia kości w tym zakresie są odwracalne, tj. ustępują z chwilą usunięcia obciążenia mechanicznego. W tej pracy określano wartość siły na granicy sprężystości (F_p), ugięcie (L_p) i odkształcenie (δp) spowodowane jej działaniem oraz powstające pod jej wpływem naprężenie w kości (N_p).

Naprężenie obliczano z zależności (5):

$$N_p = \frac{F_p L_{r_{1\max}}}{4I} \quad (5)$$

a odkształcenie trzonu kości z zależności (6):

$$\delta p = \frac{L_p}{d_0} \quad (6)$$

Analizy istotności różnic mierzonych parametrów dokonano za pomocą test U (Manna-Whitneya). W analizie statystycznej wykorzystano program komputerowy SIGMASTAT 3.5 (Systat Soft Inc). Za istotne statystycznie uznano różnice, dla których współczynnik istotności (p) był mniejszy od 0,05.

Wyniki badań

W badanej populacji szczurów nie stwierdzono zgonów samic. Nie obserwowano także zmian w ich zachowaniu. Otrzymane średnie wartości gęstości badanych próbek kości w stanie wilgotnym i określanych parametrów biomechanicznych w poszczególnych grupach zwierząt przedstawiono w tabeli 1. W tabeli 1 podano wartości średnie mierzonych parametrów, odchylenie standardowe oraz poziomy istotności różnic pomiędzy grupami zwierząt.

Tabela 1. Wartości gęstości i parametrów biomechanicznych kości wraz odchyleniami standardowymi (SD) oraz poziomami istotności różnic pomiędzy grupami zwierząt (p): d -gęstość, $F_{\max}$ - siła w punkcie maksymalnego obciążenia, $l_{\max}$ - zgięcie do punktu maksymalnego obciążenia, $5_{\max}$ - maksymalne odkształcenie kości do momentu złamania, $N_{\max}$ - naprężenie w punkcie maksymalnego obciążenia, H - sztywność trzonu kości, F_p - siła na granicy sprężystości, l_p - ugięcie trzonu kości do granicy sprężystości, $8p$ - odkształcenie trzonu kości do granicy sprężystości, N_p - naprężenie na granicy sprężystości, s - pole przekroju warstwy korowej

	K		E		P
	wartość średnia	SD	wartość średnia	SD	
d [kg/m ³]	1663,27	22,05	1521,39	27,78	0,0001
$F_{\max}$ [N]	138,25	14,79	117,08	7,33	<0,0027
$l_{\max}$ [mm]	1,08	0,13	1,33	0,24	0,0214
$5_{\max}$	0,2	0,01	0,25	0,04	0,0041
$N_{\max}$ [MPa]	6,5	0,87	4,89	0,82	0,0019
H [N/mm]	334,04	27,68	246,96	29,27	<0,0001
F_p [N]	93,34	14,91	72,99	7,24	0,0037
l_p [mm]	0,34	0,09	0,43	0,13	0,1297
$5p$	0,09	0,02	0,12	0,04	0,0786
N_p [MPa]	4,44	1,0	3,68	0,69	0,0986
s [mm ²]	6,76	0,52	6,46	0,67	0,3341

Jak wynika z przeprowadzonych badań cięża w sposób znamieny statystycznie ($p < 0,05$) wpłynęła na gęstość kości udowych, powodując obniżenie jej wartości. W grupie samic ciężarnych była ona niższa o 8,53% w stosunku do grupy kontrolnej.

Cięża w istotny sposób wpłynęła również na wartości parametrów biomechanicznych określanych w punkcie maksymalnego obciążenia. Wartość siły łamiącej trzon kości udowej samic ciężarnych była mniejsza o 15,30%, ugięcie trzonu kości udowych do punktu maksymalnego obciążenia było większe o 23,14%, o odkształcenie o 25,00% w stosunku do grupy kontrolnej. Również w grupie samic ciężarnych stwierdzono istotnie mniejsze ($p < 0,01$) wartości naprężeń w punkcie maksymalnego obciążenia (zmiana 24,76%). Cięża w sposób znamieny statystycznie wpłynęła także na sztywność kości, powodując obniżenie jej wartości o 26,06%.

Otrzymane wartości parametrów biomechanicznych, określone w punkcie maksymalnego obciążenia, wskazują na negatywny wpływ ciąży na tkankę kostną, co może wynikać z nasilonej przebudowy tkanki kostnej pod koniec ciąży oraz obciążenia kośćca matki przez rozwijający się płód.

Istotne znaczenie dla oceny właściwości mechanicznych kości mają parametry określone w zakresie obciążeń powodujących odkształcenia sprężyste. Odkształcenia kości w tym zakresie są odwracalne, czyli ustępują z chwilą usunięcia obciążenia mechanicznego. Parametry określone na granicy sprężystości mają istotne znaczenie dla określenia jakości tkanki kostnej,

ponieważ podczas codziennej aktywności fizycznej organizmu w tkance kostnej powstają naprężenia nie przekraczające zakresu odkształceń sprężystych. Powyżej tego punktu kość ulega trwałemu odkształceniu, które może być wynikiem powstawania w niej mikropęknięć.

Przeprowadzone testy biomechaniczne wykazały istotne statystycznie różnice ($p < 0,05$) w wartościach siły powodującej odkształcenie trzonów kości udowych do granicy sprężystości pomiędzy badanymi grupami (tabela I). Wartość ta była niższa o 21,80% w grupie samic w porównaniu do grupy kontrolnej. Podobny charakter zmian obserwowano w wartościach naprężeń, odpowiadających zakresowi odkształceń sprężystych trzonów kości udowych. Wartości te były niższe o 17,01% w grupie samic ciężarnych w porównaniu do grupy kontrolnej. Jednakże zmiany te nie były znamienne statystycznie ($p = 0,0986$). Nie stwierdzono także istotnych różnic w wartościach ugięcia trzonów kości udowych do granicy sprężystości, natomiast różnice w odkształceniach były marginalnie istotne (0,0786). Należy jednak podkreślić, że kości samic ciężarnych odkształcały się bardziej. Zarówno ugięcie jak i odkształcenie trzonu kości udowej do granicy sprężystości w grupie samic ciężarnych było o ok. 25% większe niż w grupie kontrolnej.

Otrzymane wyniki badań wskazują na większe uplastycznienie trzonów kości udowych u ciężarnych szczurzy. Kości samic ciężarnych odkształcały się bardziej pod działaniem mniejszej siły. Większe odkształcenia trzonów kości udowych mogą być przyczyną zaburzeń w statyce kośćca w późniejszych latach. Jak wynika z przeprowadzonych badań biomechanicznych i pomiarów gęstości kości, cięża powoduje istotny ubytek masy kostnej i obniżenie parametrów decydujących o wytrzymałości kości na obciążenia mechaniczne.

Własności biomechaniczne kości (twardość, wytrzymałość i elastyczność) determinowane są między innymi przez ich mikroarchitekturę (położenie, odstęp, grubość i integralność beleczek) oraz jej geometrię (kształt, wielkość, a także grubość warstwy korowej) [Filip 2007]. W przypadku zadziaływania sił zniekształcających, ewentualne złamania powstają najczęściej na zewnętrznej powierzchni trzonu kości długich. Z tego wynika, że strukturą, określającą wytrzymałość kostną na złamania, jest warstwa korowa kości.

W przeprowadzonym eksperymencie nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian wartości pola przekroju warstwy korowej trzonu kości udowej w miejscu złamania pomiędzy grupami zwierząt (tabela I). Jednakże obserwowano tendencję do zmniejszania tego parametru w okresie ciąży. Stąd można wnioskować, że istotne zmiany parametrów mechanicznych nie wynikały z geometrii kości, ale ze zmian w mikroarchitekturze tkanki kostnej. Również autorzy pracy [Matsumoto i wsp. 2000] nie stwierdzili istotnych zmian szerokości i powierzchni przekroju warstwy korowej kości udowej mierzonych metodą fotodensytometrii w okresie ciąży.

Dyskusja

Otrzymane wyniki badań potwierdzają liczne doniesienia literaturowe. Autorzy pracy [Honda i wsp. 2000] obserwowali obniżenie BMD oraz parametrów histomorfometrycznych kręgów lędźwiowych i kości udowej okresie ciąży, zaś [Bowman i wsp. 2002] obniżenie BMD przynasady kości piszczelowej. Utrata tkanki kostnej była zależna od liczby młodych w miocie [Peng i wsp. 1988, Tojo i wsp. 1998].

Ze względu na ryzyko ekspozycji płodu na promieniowanie jonizujące istnieje niewiele badań oceniających masę tkanki kostnej w trakcie trwania ciąży u ludzi. Badania z użyciem densytometru SPA/DPA nie ujawniły istotnych zmian w gęstości kości korowej i gąbczastej w okresie ciąży. Może to wynikać ze zmian w wadze oraz składzie organizmu kobiety, co mogło prowadzić do zafałszowania zmian gęstości tkanki

kostnej [Kovacs 2005]. Badania gęstości kości z wykorzystaniem densytometru DEXA wykonano przed ciążą (w okresie od 1 do 8 tygodni wcześniej) i po porodzie (bezpośrednio po porodzie i 6 tygodni później). Badanie autorów [Ritchie i wsp. 1998] nie wykazało zmian w gęstości kręgów odcinka lędźwiowego kręgosłupa, podczas gdy [Karlson i wsp. 2001, Kovacs i Fuleihan 2006, Namgung i Tsuang 2003, Ollauson i wsp. 2008, Pearson i wsp. 2004] stwierdzili obniżenie o 4-7% gęstości tkanki kostnej odcinka lędźwiowego kręgosłupa oraz krętarza kości udowej, kości biodrowej, bez zmian w szyjce kości udowej.

W okresie ciąży zmniejsza się znacząco BMD w miejscach bogatych w kość beleczkową, czyli w odcinku lędźwiowym kręgosłupa i w krętarzu kości udowej [Holmberg- Marttila i wsp. 1999, Ulrich i wsp. 2003]. Autorzy pracy [Morę i wsp. 2003] stwierdzili, że w okresie ciąży następuje ubytek masy kości bogatej zarówno w kość beleczkową. W końcowym okresie ciąży, stwierdzili istotne obniżenie BMD mierzonego w dystalnej części kości promieniowej. Stąd wynika, że wapń potrzebny do prawidłowego wzrostu szkieletu płodu, w okresie ciąży jest pobierany zarówno z kości beleczkowej, jak i zbitej.

Badania z wykorzystaniem ultrasonograficznego pomiaru gęstości tkanki kostnej w trakcie ciąży wykazały postępujący spadek gęstości kości piętowej [Akesson i wsp. 2004, Olejniczak i wsp. 2001, To i Wong 2009, To i wsp. 2003] oraz proksymalnych paliczków 2-5 palca dłoni [Aguado i wsp. 1998, Hellmeyer i wsp. 2006, Martina i wsp. 2009, Tranquilli I wsp. 2004]. Największa utrata tkanki kostnej występowała u kobiet wcześniej nierodzących (pierworódek) oraz u tych, które nie osiągnęły jeszcze szczytowej masy kostnej. Z większą utratą masy kostnej korelowały dodatkowo niska aktywność fizyczna, bóle kręgosłupa w okresie ciąży, niskie początkowe BMD przed ciążą, nagromadzenie tkanki tłuszczowej ciała, obciążenia wynikające z grawitacji oraz nadciśnienie indukowane ciążą [Kaji i wsp. 2007, Promislow i wsp. 2004, Sowers I wsp. 2000, To i Wong 2009, To i wsp. 2003].

Autorzy pracy [OBrien i wsp. 2003] wykazali, że odpowiednia suplementacja wapnia w ciąży pozwala zredukować matczyną resorpcję kości. Zauważyli oni, że wartość BMD po porodzie korelowała z podażą wapnia w ciąży- większa podaż wapnia działała protekcyjnie na kość beleczkową. Autorzy pracy [Jankirman i wsp. 2003] wykazali, że suplementacja wapnia w dawce 1200 mg na dobę w diecie w trakcie trzeciego trymestru ciąży pozwoliła zredukować utratę matczynej tkanki kostnej o 14%. Podobne wyniki badań uzyskali badacze [Avendano-Badillo i wsp. 2009]. Zwiększone spożycie wapnia przez ciężarne kobiety korelowało z niższą resorpcją kostną. Natomiast autorzy [Ollauson i wsp. 2008] nie zaobserwowali wpływu suplementacji wapnia na redukcję resorpcji kostnej u dorosłych kobiet.

Otrzymane wyniki badań biomechanicznych są zgodne z wynikami pracy [Peng i wsp. 1987] w której największe zmiany w statyce kośćca stwierdzono u szczura po pierwszym cyklu reprodukcyjnym (ciąża + laktacja). Istotne zmiany parametrów biomechanicznych utrzymywały się do 5 miesięcy po zakończeniu karmienia. Również autorzy pracy [Glade 1993, Hawkins i Stover 1997] zaobserwowali obniżenie ugięcia maksymalnego i ugięcia na granicy sprężystości oraz naprężenia maksymalnego i na granicy sprężystości w okresie ciąży oraz obniżenie siły łamiącej kości śródstopia u kłaczki.

Wnioski

Otrzymane wyniki badań wskazują na negatywny wpływ ciąży na właściwości mechaniczne tkanki kostnej i wydaje się, że zmianom tym można zapobiegać przez odpowiednią suplementację wapnia. Ze względu na różnice międzygatunkowe, przedstawione w pracy wyniki nie mogą być bezpośrednio przenoszone na ludzi. Konieczne jest prowadzenie dalszych badań, także klinicznych, w celu potwierdzenia wpływu ciąży na tkankę kostną kobiet. Pozwoli to na dokładniejsze poznanie czynników ryzyka rozwoju osteoporozy, złamań kostnych czy też uszkodzenia ścięgien.

Literatura:

1. Aguado F., Revilla M., Hernandez E.R., Menendez M., Cortes- Piętro J., Villa L.F., Rico H. (1998). *Ultrasonographic bone velocity in pregnancy: a longitudinal study*. Am J Obstet Gynecoll78, 1016-1021.
2. Akesson A., Vahter M., Berglund M., Eklof T., Bremme K., Bjellerup P. 2004. Bone turnover from early pregnancy to postweaning. Acta Obstet Gynecol Scand. 83: 1049-1055.
3. Avendano-Badillo D., Hernandez-Avila M., Hernandez-Cadena L., Rueda-Hernandez G., Solano-Gonzalez M., Ibarra L.G., Hu H., Tellez-Rojas. 2009. High dietary calcium intake decreases bone mobilization during pregnancy in humans. Salud publica de Mexico. 51, 1, 5100-5107.
4. Bowman B.M., Siska CC, Miller S.C. 2002. Greatly increased cancellous bone formation with rapid improvements in bone structure in the rat maternal skeleton after lactation J of Bone and Miner Research. vol 17, 11: 1954-1960.

5. Cross N.C, Hillman L.S., Allen S.H., Krause G.F., Vieira N.E. 1995. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation and postweaning: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr* 61, 514-523.
6. Eisman J. 1998. Relevance of pregnancy and lactation to osteoporosis? *Lancet* 352, 504.
7. Filip R. 2007. Własności strukturalne i materiałowe tkanki kostnej a ryzyko złamań. *Reumatologia* 47, 154-157.
8. Glade M.J. 1993. Effects of gestation, lactation, and maternal calcium intake on mechanical strength of equine bone.
9. Górńska P. 2000. Principles in laboratory animal research for experimental purposes. *Med Sci Monit* 6, 171-180.
10. Hawkins D.L., Stover S.M. 1997. Pregnancy-associated changes in material properties of the third metacarpal cortical bone in mares *AJVR*. 58, 2, 182-187.
11. Hellmeyer L., Ossendorf A., Ziller V., Tekesin I., Schmidt S., Hadji P. 2006. Quantitative ultrasonometry of the phalanges during pregnancy: a longitudinal study. *Climacteric*. 9, 446-451.
12. Holmberg- Marttila D., Sievanen H., Tuimala R. 1999. Changes in bone mineral density during pregnancy and postpartum: Prospective data on five women. *Osteoporosis Int* 10, 41-46.
13. Honda A., Kurabayashi T., Yahata T., Tomita M., Matsushita H., Takakuwa K., Tanaka K. 2000. Effects of pregnancy and lactation on trabecular bone marrow adipocytes in rats. *Calcif Tissue Int* 67, 367-372.
14. Jankirman V., Ettinger A., Mercado- Garcia A., Hu H., Hernandez- Avila M. 2003. Calcium supplements and bone resorption in pregnancy. *Am J Prev Med* 24, 260-264.
15. Kaji T., Yasui T., Suto M., Mitani R., Morine M., Lemura H., Maeda K., Irahara M. 2007. Effect of bed rest during pregnancy on bone turnover markers in pregnant and postpartum women. *Bone* 40, 1088-1094.
16. Kalkwarf H.J., Specker B.L. 2002. Bone mineral changes during pregnancy and lactation. *Endocrine* 17, 49-53.
17. Kaneps A.J., Stover S.M., Lane N.E. 1997. Changes in canine cortical and cancellous bone mechanical properties following immobilization and remobilization with exercise. *Bone* 21, 419-423.
18. Karlson C, Obrant K.J., Karlson M. 2001. Pregnancy and lactation confer reversible bone loss in humans. *Osteoporosis Int* 12, 828- 834.
19. Kaur M. Pearson D., Godber I., Lawson N., Baker P., Hosking D. 2003. Longitudinal changes in bone mineral density during normal pregnancy. *Bone* 32, 449-454.
20. Kovacs C.S. 2005. Calcium and bone metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 10, 105-117.
21. Kovacs C.S., Fuleihan G.E-H. 2006 Calcium and bone disorders during pregnancy and lactation. *Endocrinol Metabol Clinics North America* 35, 21-27.
22. Kovacs C.S., Kronenberg H.M. 1997. Maternal- fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium and lactation. *Endocrine Rev* 18, 832-872.
23. Martin R.B. 1990. Effects of stimulated weightlessness on bone properties in rats. *J Biomech* 23, 1021- 1029.
24. Martina M.D., Biasioli A., Vascotto L., Rinuncini D., Menegato A.A., Liva S., Londero A.P., Driul L., Marchesoni D. 2009. Bone ultrasonometry measurements during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. [online] dostęp: <http://www.springerlink.com/content/hj00kv340kl4h658>.
25. Matsumoto J, Kobayashi S, Kikuchi S, Araki T. 2000. Femoral bone density and changes therein associated with differing histories of pregnancy and lactation in aged rats. *J Nippon MedSch*;67(1): 18-23.
26. Miglioli L., Costa-Paiva L., de Lourenco L.S., Morais S.S., Lopes de Lima M.C, Pinto-Neto A.M. 2007. The association of pregnancy history with areal and volumetric bone mineral density in adolescence. *Osteoporosis Int* 18, 101-108.
27. More C, Bhattoa H.P., Bettenibuk P., Balogh A. 2003. The effects of pregnancy and lactation on hormonal status and biochemical markers of bone turnover. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 106, 209-213.
28. Namgung R., Tsuang R.C. 2003. Bone in the pregnant mother and newborn at birth. *Clinica Chimica Acta* 333, 1-11.
29. O'Brien K.O., Schulman Nathanson M., Marcini J., Witter F.R. 2003. Calcium absorption is significantly higher in adolescents during pregnancy than in the early postpartum period. *Am J Clin Nutr* 78, 1188-1193.
30. Olchowik G. 2002. Analiza wpływu promieniowania mikrofalowego na proces osteogenezy i osteoporozy posteroideowej. Rozprawa habilitacyjna. Akademia Medyczna, Lublin.
31. Olejniczak T., Opala T., Wilczak M., Sajdak S., Woźniak J., Mróz M., Rabiega D. 2001. Ocena wpływu ciąży na gęstość mineralną tkanki kostnej. *Ginekologia Praktyczna*. 9, 7: 7-10.
32. Ołiveri B., Parisi M.S., Ženi S., Mautalen C. 2004. Mineral and bone mass changes during pregnancy and lactation. *Nutrition* 20, 235-240.
33. Ollauson, Laskey M.A., Goldberg G.R., Prentice A. 2008. Changes in bone mineral status and bone size during pregnancy and the influences of body weight and calcium intake. *Am J Clin Nutr*. 88: 1032-1039.

34. Paoletti A.M., Orru M., Floris L., Guerriero S., Ajossa S., Romagnino S., Melis G.B. 2003. Pattern of bone markers during pregnancy and their changes after delivery. *Horm Res* 59, 21-29.
35. Pearson D., Kaur M., San P., Lawson N., Baker P., Hosking D. 2004. Recovery of pregnancy mediated bone loss during lactation. *Bone* 34, 570-578.
36. Peng T.C., Garner S.C., Kusy R.P., Hirsch P.F. 1988. Effect of number of suckling pups and dietary calcium on bone mineral content and mechanical properties of femurs of lactating rats. *Bone Miner* 3: 293-304.
37. Peng T.C., Kusy R.P., Garner S.C., Hirsch P.F., De Blanco M.C. 1987. Influence of lactation and pregnancy + lactation on mechanical properties and mineral content of the rat femur *J-Bone-Miner-Res.* 2, 3, 249-57.
38. Philips A.J., Ostlere S.J., Smith R. 2000. Pregnancy- associated osteoporosis: does the skeleton recover? *Osteoporosis Int* 11, 449-454.
39. Promislow J.H.E., Hertz- Picciotto L., Schramm M., Watt- Morse M., Anderson J.J.B. 2004. Bed rest and other determinants of bone loss during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 191, 1077-83.
40. Ritchie L.D., Fung E.B., Halloran B.P., et al. 1998. A longitudinal study of calcium homeostasis during human pregnancy and lactation and after resumption of menses. *Am J Clin Nutr.* 67:693-701.
41. Rizzoli R., Bonjour J.P. 1996. Pregnancy- associated osteoporosis. *Lancet* 347, 1274-1275.
42. Sowers M.F., Scholl T., Harris L., Jannausch M. 2000. Bone loss in adolescent and adult pregnant women. *Obstet Gynecol* 96, 189-93.
43. To W.W.K., Wong M.W.N. 2009. Back pain symptoms and bone mineral density changes in pregnancy as measured by quantitative ultrasound. *Gynecol Obstet Invest.* 67, 36-41.
44. To W.W.K., Wong M.W.N., Leung T.W. 2003. Relationship between bone mineral density changes in pregnancy and maternal and pregnancy characteristics: a longitudinal study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 82, 820-826.
45. Tojo Y., Kurabayashi T., Honda A., Yamamoto Y., Yahata T., Takakuwa K., Tanaka K. 1998. Bone structural and metabolic changes at the end of pregnancy and lactation in rats. *Am J Obstet Gynecol* 178, 180-185.
46. Tranquilli A.L., Giannubilo S.R., Coradetti A. 2004. Ultrasound measurement of pregnancy-induced changes in maternal bone mass: a longitudinal cross-sectional and biochemical study. *Gynecol Anocrinol.* 18, 258-262.
47. Ulrich U., Miller P.B., Eyre D.R., Chesnut C.H., Schleubusch H., Soules M.R. 2003. Bone remodeling and bone mineral density during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 268, 309-316.
48. White W.J. 2001. *The use of laboratory animals in toxicologic research*. W: Hayes A.W. (Red): Principles and method of toxicology. Wyd. 3. Taylor and Francis, Philadelphia 774-818.

PREGNANCY AND BONE BIOMECHANICS

Human and Health No. 1 (V), p. 29-36

Grażyna Olchowik¹, Marek Tomaszewski², Mateusz Polberg³, Monika Tomaszewska⁴.

¹ Department of Biophysics, Medical University of Lublin

² Department of Human Anatomy, Medical University of Lublin

³ Department of Neurology, Stefan Kardynał Wyszyński Provincial Specialised Hospital in Lublin

⁴ 1st Department of Medical Radiology, Medical University of Lublin

Summary: Pregnancy as the unique period in the life of every woman stimulates changes in mother's calcium homeostasis. Consequently, one can observe disorders in bone structures, which lead to debility of their mechanical endurance for load. Excessive decalcification of bones during pregnancy may also contribute to the development of osteoporosis in later years. The aim of the study was not only to determine bone density but also to test mechanical bone endurance of female rats immediately after labour.

Key words: pregnancy, labour, bone tissue, bone density, biomechanical parameters of bones

Introduction

Pregnancy is the unique period in the life of every woman, which (among other things) causes many physiological changes in mother's calcium homeostasis. Consequently, one can observe disorders in bone structures, which lead to debility of their mechanical endurance for load. Excessive decalcification of bones during pregnancy may also contribute to the development of osteoporosis in later years.

A foetal skeleton at labour contains around 30g of calcium [Kalkwarf and Specker 2002, Kovacs and Kronenberg 1997]. The majority (25g) of this element is provided in the 3rd term of pregnancy [Oliveri et al 2004]. Foetus's demand for calcium in the 1st term is c.2-3 mg/d, in the 2nd c.50 mg/d and in the 3rd it reaches 250 mg/d [Kalkwarf and Specker 2002].

Mother's response for foetal demand for calcium includes: its increased absorption in intestines, decreased excretion through kidneys and higher metabolism of bone tissue. [Cross et al 1995, Kovacs 2005].

During pregnancy one can observe adaptive changes in the level of 1,25[OH]₂D. As early as the 1st term, 1,25[OH]₂D rapidly increases and reaches max. values towards the end of the 3rd term. The level of hormones influencing the metabolism of bone tissue (PRL, estrogens, human placental lactogen, placental growth hormone, insulin growth factor 1) also changes during pregnancy. The aforementioned hormones can induce changes in the synthesis of 1,25[OH]₂D, calcium resorption in intestines and bone transformations [Oliveri et al 2004].

Despite the increased calcium absorption in intestines, the amount is frequently unsatisfactory and an organism must adapt, absorbing calcium from bones. According to many authors (Aguado et al 1998, Sowers et al 2003) it leads to the debility of mechanical endurance of bones. In the study [Paoletti et al 2003] it can be seen that in the case of pregnant women who are between 8-38 week of pregnancy as well as during the first 6 months of lactation urine contains the increased level of osteoclastic markers such as Pyr and DPyr. The markers in the 32, 34, 36, 38th week of pregnancy correlated with the level of human placental hormone in serum and returned to their initial values within 12 months after labour. Prospective study [Mora et al 2003], however, showed that the level of bone turnover markers (both osteoclasts and osteoblasts) failed to return to the initial level within 12 months after labour. In the study, certain osteoblastic markers were marked, such as: alkaline phosphatase which is specific for bones, osteocalcin, prolonged peptide chains of Type-I collagen and osteoclastic marker in urine – DPyr.

The authors of the study [Ulrich et al 2003] measured BMD (Bone Mineral Density) in women before pregnancy and two weeks after labour. They also defined markers of bone resorption in urine: cross-link hydroxyproline bonds of Type-I collagen, cross-linked end fragments of peptides of Type-I collagen and osteoclastic markers in serum: alkaline phosphatase and osteocalcin. The level of calcium in serum before and after pregnancy was also measured. It has been observed that BMD decreased significantly during pregnancy in the lumbar and *trochanter* regions. Measured markers of bone resorption reached max. values in the 3rd term and after labour. The elevated resorption of bones was accompanied by the lower level of calcium in serum in the

3rd term. The level of alkaline phosphatase decreased in the 1st term and the level of osteocalcin decreased in the 2nd term. The level of these markers increased in the 3rd term and decreased after labour. The aforementioned results show that the increased bone turnover can be observed during pregnancy, with the predominant influence of osteoclastic processes. Bone resorption reaches its max. value in the 3rd term. BMD decreases significantly in the regions which are rich in *substantia spongiosa* (lumbar region and *trochanter*). Certain examples of osteoporosis during pregnancy and osteoporotic fractures have also been described in the work [Philips et al 2000, Rizzoli and Bonjour 1996].

Pregnancy changes posture, shifting the centre of gravity and causing lumbar hyperlordosis which, when imposed on a small chronic loss in bone structure, may lead to bone damage. The authors [Philips et al 2000] used the densitometric method to test bones of pregnant women who had the symptoms of osteoporosis, such as: back pains, compressive fractures of vertebrae or hip pain. Women were observed up to 8 years after labour. BMD remained low up to 6 months after labour. After that period, BMD gradually increased to the lower value of the norm which was achieved after 4 years. This reversible loss of bone tissue could be the result of pregnancy. The existence of lower BMD and osteoporosis before pregnancy cannot, however, be excluded.

The influence of pregnancy on the metabolism of bone tissue is complex and not entirely studied. The scientific material that deals with the influence of pregnancy on bone tissue is still ambiguous. Many authors [Eisman 1998, Kalkwarf and Specker 2002, Karlson et al 2001, Kaur et al 2003, More et al 2003] consider pregnancy as irrelevant as far as osteoporotic fractures in post-labour period are concerned.

The aim of this research was to test the mechanical bone endurance of female rats immediately after labour.

Conducted in a laboratory, endurance tests of isolated bone samples facilitate more detailed analysis of support and protective endurance of bones than density measurements [Filip 2007].

The material and the method

The research was conducted with the consent of The Ethics Committee of Medical University in Lublin. Experiments were carried out in the Central Animal House of Medical University in Lublin, which is under constant vet supervision.

The research was conducted on white lab rats of Wistar strain CRL: (WI)WUBR, coming from The Centre for Breeding Laboratory Animals (Rembertów, Warszawa, Polska). All animals were provided with stable surroundings, fresh water and feed [Górska 2000, White 2001]. They were fed with standardized briquetted feed LSM (Agropol – Motycz, Poland). The consumption of feed and water was monitored daily. Animals used for the experiments initially weighted c.200-250g.

After the two-week acclimatization, virgin females were divided into 2 groups: control (K) and experimental (E), consisting of 8 specimen. Experimental females were joined with males with the proportion of 5:2. Effective coitus was confirmed by the presence of spermatozoon or bungs containing the mixture of sperm and exfoliated vagina epithelium. The day of insemination was considered to be the beginning of pregnancy.

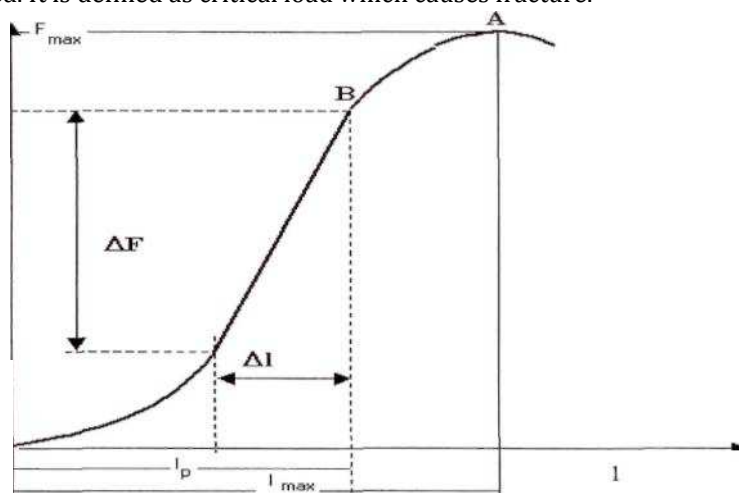
Methodology of experiments and measurements

During the experiment all animals were observed at least three times a day. The body mass of females was checked in 3-day intervals. Within 21 days of pregnancy females were killed by decapitation with the use of specially-prepared lab guillotine. Death was caused by breaking the continuity of spine. Females from K group were simultaneously killed with the same procedure. *Femurs* were removed for examination. Soft tissues were removed from the bones. Samples for biomechanical tests were stored in -15C. The qualitative evaluation of bone tissue in control and experimental group was conducted on the basis of bone density measurements and endurance tests.

The average density of bones was measured in the work, which was defined as quotient of bone mass (with bases and physiological liquids) to its density. Bone density was determined with hydrostatic method.

The study of biomechanical parameters of bones was carried out with the use of 3-point endurance bending test [Olchowik 2002]. Endurance tests of *femur* samples were conducted with the computerized set of device Lloyd, type LRX. *Femurs* were defrosted before tests for 12 hours in room temperature. Afterwards, they were laid on special tray and subjected to crosswise loads with the speed of 2mm/min, which caused fracture.

Typical relation between force (F) that was applied to the central part of a *femur* shaft and the movement of a head can be seen on pic.1. On the basis of the endurance characteristics, max. force ($F_{\max}$) (point A in pic.1) was measured. It is defined as critical load which causes fracture.



Pic. 1. Relation between flexion of *femur* shaft and load. [Olchowik 2002].

Flexion of *femur* shaft ($l_{\max}$) and the max. load that caused bone strain ($S_{\max}$) that was caused by the load:

$$\delta_{\max} = \frac{l_{\max}}{d_o}, \quad (1)$$

where:

d_o – diameter of *femur* shaft at fracture point

Stiffness of bones was determined from the steep line segment of endurance characteristics as a tangent of line segment gradient of the endurance characteristics [Martin 1990]:

$$H = \frac{\Delta F}{\Delta l} \quad (2)$$

Stress at the point of highest load was also measured ($N_{\max}$) [Kaneps 1997]:

$$N_{\max} = \frac{F_{\max} L r_{l_{\max}}}{4I} \quad (3)$$

where:

L – distance between points of *femur* shaft support

$r_{\max}$ – max. outer radius of *femur* shaft

I – axial module of inertia

$$I = \frac{\pi}{4} (r_{1\min}^4 r_{1\max}^2 - r_{2\min}^4 r_{2\max}^2) \quad (4)$$

where:

r_{min} – min. outer radius of femur shaft,

r_{2max} – max. inner radius of femur shaft,

r_{2min} – min. inner radius of femur shaft.

Most mechanical loads that bones must endure during everyday physical activity cause stress in bone tissue, which leads to elastic strains. Bone strains in that sphere are reversible, i.e. they subside with the removal of mechanical load. This work attempts to measure the force on the verge of resilience (F_p), flexion (L_p), strain (δp) and stress in bones (N_p)

Stress was measured from the relation:

$$N_p = \frac{F_p L_p l_{max}}{4I} \quad (5)$$

bending of *femur* shaft was measured from the relation:

$$\delta p = \frac{L_p}{d_o} \quad (6)$$

The analysis of important differences between the parameters was made with the use of U test (Mann-Whitney's) A computer programme SIGMASTAT 3.5 (Systat Soft Inc.) was used in statistical analysis. Noteworthy differences are those whose P-value is below 0,05.

The Results

Deaths of females were not observed within a given population of rats. Changes in behaviour were also absent. Obtained average values of the density of bone samples in humid state, measured biomechanical parameters within individual groups of animals are presented in Table 1. Table 1. consists of average parameter values, standard deviation and the levels of P-value among groups of animals.

Table 1. The value of density and biomechanical parameters of bones along with their standard deviations (SD) and P-values among groups of animals (p): d – density, Fmax – force at the point of max. load, lmax – flexion to the point of max. load, Smax – max. strain to the moment of fracture, Nmax – stress at the point of max. load, H – stiffness of shaft, Fp – force at the verge of resilience, lp – flexion to the verge of resilience, 8p – strain of shaft to the verge of resilience, Np – stress at the verge of resilience, s – area of substantia corticalis section

	K		E		P
	average	SD	average	SD	
d [kg/m ³]	1663,27	22,05	1521,39	27,78	0,0001
Fmax [N]	138,25	14,79	117,08	7,33	<0,0027
lmax [mm]	1,08	0,13	1,33	0,24	0,0214
Smax	0,2	0,01	0,25	0,04	0,0041
Nmax [MPa]	6,5	0,87	4,89	0,82	0,0019
H [N/mm]	334,04	27,68	246,96	29,27	<0,0001
Fp[N]	93,34	14,91	72,99	7,24	0,0037
lp [mm]	0,34	0,09	0,43	0,13	0,1297
8p	0,09	0,02	0,12	0,04	0,0786
Np [MPa]	4,44	1,0	3,68	0,69	0,0986
s [mm ²]	6,76	0,52	6,46	0,67	0,3341

On the basis of the test, one can observe that pregnancy influences *femur* density and lower its value. Within the group of pregnant females it was 8,53% higher than in K group.

Pregnancy also significantly ($p < 0,05$) influenced the values of biomechanical parameters, measured at the point of max. load. The value of force that fractured *femur* shaft of pregnant females were 15,30% lower, flexion of *femur* shaft to the point of max. load was 23,14% higher and strain 25% higher in comparison to the control group. Moreover, in the

group of pregnant females one could observe significantly lower ($p < 0,01$) values of stress at the point of max. load (change 24,76%). Pregnancy notably influenced the stiffness of bones, causing the 26,06% fall in value.

Received biomechanical values, measured at the point of max. load, indicate the detrimental effect of pregnancy on bone tissue, which could result from intense bone turnover towards the end of pregnancy in addition to foetal needs that strain a mother's skeleton.

Measured within the range of load that caused elastic strains, parameters are of vital importance for testing mechanical features of bones. Bone strains in this sphere are reversible, i.e. they subside with the removal of mechanical load. Parameters that are measured at the verge of resilience play a crucial role in establishing the quality of bone tissue. During everyday activities one can observe stresses which does not exceed the level of elastic strains. Above this point a bone is permanently damaged as a result of micro fractures.

Biomechanical tests have shown substantial statistical differences ($p < 0,05$) in the values of force causing strains of femur shafts to the level of resilience among the groups (table 1). The value was 21,80% lower in the group of females in comparison to the control group. Similar situation should be noted as far as stress values are concerned. The values were 17,01% lower in the group of pregnant females in comparison to the control group. However, the aforementioned changes were not statistically important ($p = 0,0986$). Significant changes were also absent in the values of flexion of femur shafts to the verge of resilience. Differences in strains were negligible (0,0786). It is worth emphasising, nonetheless, that bones of pregnant females deformed more easily. Both flexion and strain of femur shaft to the verge of resilience were 25% higher in the group of pregnant females than in the control group.

The results confirm that higher strain of femur shaft can be observed in pregnant rats. Bones of pregnant females deformed more easily with less force involved. Deformations of femur shafts can influence the skeleton statics in the future. On the basis of the biomechanical research and measurements of bone density it may be stated that pregnancy causes significant loss in bone mass and lowers parameters that influence bone endurance.

Biomechanical bone features (hardness, endurance, elasticity) are determined by their micro architecture (position, distance, thickness) and their geometry (shape, size, thickness of cortical bone) [Filip 2007]. In the case of deforming forces, fractures often happen on the outer layer of a femur shaft. As a result, the structure which is responsible for bone endurance is the cortical bone.

In the conducted experiment one cannot observe the presence of important statistical values of femur cross-section area in the place of a fracture among groups of animals (Table 1). However, certain tendency to limit this parameter can be observed during pregnancy. Thus, the vital changes of mechanical parameters were not the result of bone geometry but rather arose from the micro architecture of bone tissue. The authors [Matsumoto et al 2000] also did not notice any crucial changes in the breadth or area of femur cross-section that was measured by means of the photo densitometric method during pregnancy.

Discussion

The results confirm numerous scientific reports. The authors [Honda et al 2000] observed not only the reduction of BMD but also histomorphometric parameters of lumbar vertebrae and femur during pregnancy as well as reduction of BMD at the head of tibia. The loss of bone tissue depended on the litter [Peng et al 1988, Tojo et al 1998].

The risk of foetus exposure to ionizing radiation has limited the number of experiments that would study the bone tissue of pregnant women. Research with densitometer SPA/DPA did not revealed any significant changes in cortical bone and *substantia spongiosa* during pregnancy. It can result from changes in weight and composition of female organism, which could falsify changes of bone density [Kovacs 2005]. Tests of bone density, conducted with a densitometer DEXA, were carried out before pregnancy (1 to 8 weeks) after labour (immediately after and within 6 weeks). The authors' research [Richie et al 1998] did not revealed any changes in bone density of lumbar vertebrae, whereas [Karlson et al 2001, Kovacs and Fuleihan 2006, Namgung and Tsuang 2003, Ollausion et al 2008, Pearson et al 2004] observed the 4,7% decrease of bone density of lumbar region as well as trochanter and os ilium. No changes were observed in collum femoris.

BMD decreases significantly during pregnancy in the regions which are rich in *substantia spongiosa* (lumbar region and trochanter) [Holmberg-Marttila et al 1999, Urlich et al 2003]. The authors [More et al 2003] discovered that during pregnancy one can observe the loss of bone mass which is rich *substantia spongiosa*. Towards the end of pregnancy BMD decreased in the distal region of radius. Thus, calcium which is vital for foetal development comes from *substantia spongiosa* and *substantia compacta*.

Ultrasound tests of bone density during pregnancy revealed the progressive decrease in density of calcaneus [Akeson et al 2004, Olejniczak et al 2001, To and Wong 2009, To et al 2009] and proximal phalanges of

2-5 finger [Aguado et al 1998, Hellmeyer et al 2006, Martina et al 2009, Tranquilli et al 2004]. The highest loss of bone tissue was observed in the case of primiparas and women who had not achieved the top of bone mass. Higher loss was correlated with the lack of physical activity, back pains during pregnancy, low initial BMD, accumulation of fatty tissues, loads connected with gravity, hypertension induced by pregnancy [Kaji et al 2007, Promislow et al 2004, Sowers et al 2000, To and Wong 2009, To et al 2003].

The authors [O'Brien et al 2003] revealed that proper calcium supplementation during pregnancy limits mother's bone resorption. They observed that BMD value after labour correlated with calcium intake during pregnancy – higher intake of calcium protected *substantia spongiosa*. The authors [Jankirman et al 2003] proved that calcium supplementation in the dosage of 120mg per day during the 3rd term reduced the loss of mother's bone tissue by 14%. Similar conclusions were drawn by [Avandano-Badillo et al 2009]. Increased calcium intake correlated with lower bone resorption. The authors [Ollausion et al 2008] did not observe the influence of calcium supplementation on lowering bone resorption among adult women.

The results of biomechanical tests are in concordance with the results of the study [Peng et al 1987] in which changes within skeleton statics were observed in rats after first reproductive cycle (pregnancy and lactation). Vital changes of biomechanical parameters were constant up to 5 months post weaning. The authors of study [Glade 1993, Hawkins and Stover 1997] observed the decreased value of max. flexion, flexion to the verge of resilience as well as max. strain and strain on the verge of resilience in pregnant mares.

Conclusion

The results confirm the negative influence of pregnancy on mechanical features of bone tissue. One should be aware that proper calcium supplementation can stop the process. On account of interspecies differences, the results presented in this research should not be transmitted to people. Further tests, even clinical, ought to be conducted in order to confirm the influence of pregnancy on women's bone tissue. It would facilitate more detailed description of risk factors connected with osteoporosis, bone fractures or tendon injuries.

Works cited:

1. Aguado F., Revilla M., Hernandez E.R., Menendez M., Cortes- Pietro J., Villa L.F., Rico H. (1998). *Ultrasonographic bone velocity in pregnancy: a longitudinal study*. Am J Obstet Gynecoll78, 1016-1021.
2. Akesson A., Vahter M., Berglund M., Eklof T., Bremme K., Bjellerup P. 2004. Bone turnover from early pregnancy to postweaning. Acta Obstet Gynecol Scand. 83: 1049-1055.
3. Avandano-Badillo D., Hernandez-Avila M., Hernandez-Cadena L., Rueda-Hernandez G., Solano-Gonzalez M., Ibarra L.G., Hu H., Tellez-Rojo. 2009. High dietary calcium intake decreases bone mobilization during pregnancy in humans. Salud publica de mexico. 51, 1, 5100-5107.
4. Bowman B. M., Siska C.C., Miller S.C. 2002. Greatly increased cancellous bone formation with rapid improvements in bone structure in the rat maternal skeleton after lactation J of Bone and Miner Research. vol 17, 11: 1954-1960.
5. Cross N.C., Hillman L.S., Allen S.H., Krause G.F., Vieira N.E. 1995. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation and postweaning: a longitudinal study. Am J Clin Nutr 61, 514-523.
6. Eisman J. 1998. Relevance of pregnancy and lactation to osteoporosis? Lancet 352, 504.
7. Filip R. 2007. Własności strukturalne i materiałowe tkanki kostnej a ryzyko złamań. Reumatologia 47, 154-157.
8. Glade M.J. 1993. Effects of gestation, lactation, and maternal calcium intake on mechanical strength of equine bone.
9. Górski P. 2000. Principles in laboratory animal research for experimental purposes. Med Sci Monit 6, 171-180.
10. Hawkins D.L., Stover S.M. 1997. Pregnancy-associated changes in material properties of the third metacarpal cortical bone in mares AJVR. 58, 2, 182-187.
11. Hellmeyer L., Ossendorf A., Ziller V., Tekesin I., Schmidt S., Hadji P. 2006. Quantitative ultrasonometry of the phalanges during pregnancy: a longitudinal study. Climacteric. 9, 446-451.
12. Holmberg- Marttila D., Sievanen H., Tuimala R. 1999. Changes in bone mineral density during pregnancy and postpartum: Prospective data on five women. Osteoporosis Int 10, 41-46.
13. Honda A., Kurabayashi T., Yahata T., Tomita M., Matsushita H., Takakuwa K., Tanaka K. 2000. Effects of pregnancy and lactation on trabecular bone marrow adipocytes in rats. Calcif Tissue Int 67, 367-372.

14. Jankirman V., Ettinger A., Mercado- Garcia A., Hu H., Hernandez- Avila M. 2003. Calcium supplements and bone resorption in pregnancy. *Am J Prev Med* 24, 260-264.
15. Kaji T., Yasui T., Suto M., Mitani R., Morine M., Lemura H., Maeda K., Irahara M. 2007. Effect of bed rest during pregnancy on bone turnover markers in pregnant and postpartum women. *Bone* 40, 1088-1094.
16. Kalkwarf H.J., Specker B.L. 2002. Bone mineral changes during pregnancy and lactation. *Endocrine* 17, 49-53.
17. Kaneps A.J., Stover S.M., Lane N.E. 1997. Changes in canine cortical and cancellous bone mechanical properties following immobilization and remobilization with exercise. *Bone* 21, 419-423.
18. Karlson C., Obrant K.J., Karlson M. 2001. Pregnancy and lactation confer reversible bone loss in humans. *Osteoporosis Int* 12, 828- 834.
19. Kaur M., Pearson D., Godber I., Lawson N., Baker P., Hosking D. 2003. Longitudinal changes in bone mineral density during normal pregnancy. *Bone* 32, 449-454.
20. Kovacs C.S. 2005. Calcium and bone metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 10, 105-117.
21. Kovacs C.S., Fuleihan G.E-H. 2006 Calcium and bone disorders during pregnancy and lactation. *Endocrinol Metabol Clinics North America* 35, 21-27.
22. Kovacs C.S., Kronenberg H.M. 1997. Maternal- foetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium and lactation. *Endocrine Rev* 18, 832-872.
23. Martin R.B. 1990. Effects of stimulated weightlessness on bone properties in rats. *J Biomech* 23, 1021- 1029.
24. Martina M.D., Biasioli A., Vascotto L., Rinuncini D., Menegato A.A., Liva S., Londero A.P., Driul L., Marchesoni D. 2009. Bone ultrasonometry measurements during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. [online]: <http://www.springerlink.com/content/hj00kv340kl4h658>.
25. Matsumoto J, Kobayashi S, Kikuchi S, Araki T. 2000. Femoral bone density and changes therein associated with differing histories of pregnancy and lactation in aged rats. *J Nippon MedSch*;67(1): 18-23.
26. Miglioli L., Costa-Paiva L., de Lourenco L.S., Morais S.S., Lopes de Lima M.C, Pinto-Neto A.M. 2007. The association of pregnancy history with area and volumetric bone mineral density in adolescence. *Osteoporosis Int* 18, 101-108.
27. More C, Bhattoa H.P., Bettenibuk P., Balogh A. 2003. The effects of pregnancy and lactation on hormonal status and biochemical markers of bone turnover. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 106, 209-213.
28. Namgung R., Tsuang R.C. 2003. Bone in the pregnant mother and newborn at birth. *Clinica Chimica Acta* 333, 1-11.
29. OBrien K.O., Schulman Nathanson M., Marcini J., Witter F.R. 2003. Calcium absorption is significantly higher in adolescents during pregnancy than in the early postpartum period. *Am J Clin Nutr* 78, 1188-1193.
30. Olchowik G. 2002. Analiza wpływu promieniowania mikrofalowego na proces osteogenezy i osteo-porozy posteroïdowej. Rozprawa habilitacyjna. Akademia Medyczna, Lublin.
31. Olejniczak T., Opala T., Wilczak M., Sajdak S., Woźniak J., Mróz M., Rabciga D. 2001. Ocena wpływu ciąży na gęstość mineralną tkanki kostnej. *Ginekologia Praktyczna*. 9, 7: 7-10.
32. Oliveri B., Parisi M.S., Żeni S., Mautalen C. 2004. Mineral and bone mass changes during pregnancy and lactation. *Nutrition* 20, 235-240.
33. Ollausion, Laskey M.A., Goldberg G.R., Prentice A. 2008. Changes in bone mineral status and bone size during pregnancy and the influences of body weight and calcium intake. *Am J Clin Nutr*. 88: 1032-1039.
34. Paoletti A.M., Orru M., Floris L., Guerriero S., Ajossa S., Romagnino S., Melis G.B. 2003. Pattern of bone markers during pregnancy and their changes after delivery. *Horm Res* 59, 21-29.
35. Pearson D., Kaur M., San P., Lawson N., Baker P., Hosking D. 2004. Recovery of pregnancy mediated bone loss during lactation. *Bone*. 34. 570-578.
36. Peng T.C., Garner S.C., Kusy R.P., Hirsch P.F. 1988. Effect of number of suckling pups and dietary calcium on bone mineral content and mechanical properties of femurs of lactating rats. *Bone Miner* 3: 293-304.
37. Peng T.C., Kusy R.P., Garner S.C., Hirsch P.F., De Blanco M.C. 1987. Influence of lactation and pregnancy + lactation on mechanical properties and mineral content of the rat femur *J-Bone-Miner-Res*. 2, 3, 249-57.
38. Philips A.J., Ostlere S.J., Smith R. 2000. Pregnancy- associated osteoporosis: does the skeleton recover? *Osteoporosis Int* 11, 449-454.
39. Promislow J.H.E., Hertz- Picciotto L, Schramm M., Watt- Morse M., Anderson J.J.B. 2004. Bed rest and other determinants of bone loss during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 191, 1077-83.
40. Ritchie L.D., Fung E.B., Halloran B.P., et al. 1998. A longitudinal study of calcium homeostasis during human pregnancy and lactation and after resumption of menses. *Am J Clin Nutr*. 67:693-701.
41. Rizzoli R., Bonjour J.P. 1996. Pregnancy- associated osteoporosis. *Lancet* 347, 1274-1275.

42. Sowers M.F., Scholl T., Harris L., Jannausch M. 2000. Bone loss in adolescent and adult pregnant women. *Obstet Gynecol* 96, 189-93.
44. To W.W.K., Wong M.W.N. 2009. Back pain symptoms and bone mineral density changes in pregnancy as measured by quantitative ultrasound. *Gynecol Obstet Invest.* 67, 36-41.
49. To W.W.K., Wong M.W.N., Leung T.W. 2003. Relationship between bone mineral density changes in pregnancy and maternal and pregnancy characteristics: a longitudinal study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 82, 820-826.
50. Tojo Y., Kurabayashi T., Honda A., Yamamoto Y., Yahata T., Takakuwa K., Tanaka K. 1998. Bone structural and metabolic changes at the end of pregnancy and lactation in rats. *Am J Obstet Gynecol* 178, 180-185.
51. Tranquilli A.L., Giannubilo S.R., Coradetti A. 2004. Ultrasound measurement of pregnancy-induced changes in maternal bone mass: a longitudinal cross-sectional and biochemical study. *Gynecol Anocrinol.* 18, 258-262.
52. Urlich U., Miller P.B., Eyre D.R., Chesnut C.H., Schleubusch H., Soules M.R. 2003. Bone remodelling and bone mineral density during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 268, 309-316.
53. White W.J. 2001. *The use of laboratory animals in toxicological research*. W: Hayes A.W. (Red): Principles and method of toxicology. Ed. 3. Taylor and Francis, Philadelphia 774-818.