

去卵巢大鼠骨质疏松检测指标的实验分析

孔焕宇¹, 陈燕平¹, 杨淑芹¹, 陈训华¹, 周重光¹, 张万强¹, 梁亚香¹, 宁可勇¹, 闫兰²

(1. 中国中医研究院骨伤科研究所, 北京 100700; 2. 甘肃中医学院)

摘要 目的:分析大鼠去势后不同时间体重、骨载荷、骨密度的变化及其相关性,为骨质疏松治疗药物研究中动物模型和实验指标的选择提供参考。方法:5月龄雌性 Wistar 大鼠 50 只,随机分为模型组和正常组。两组分别于造模后 3、9、13 个月检测体重、骨密度和骨载荷。结果进行统计学分析。结果:模型组体重明显高于正常组;两组腰椎载荷和骨密度出现显著性差异的时间均早于股骨;股骨骨密度出现明显下降的时间早于载荷;模型组骨密度低于正常组并与体重的增长呈负相关,模型组载荷低于正常组但与体重的增长呈正相关。结论:去卵巢大鼠体重的变化可对载荷和骨密度产生不同影响,且不同部位的骨组织和不同年龄大鼠,骨量丢失存在差异。

关键词 卵巢切除术; 骨质疏松; 骨密度; 生物力学; 动物,实验

Experimental analysis of osteoporotic detection marker of ovariectomized rats KONG Huan-yu, CHEN Yan-ping, YANG Shu-qin, CHEN Xun-hua, ZHOU Chong-guang, ZHANG Wan-qiang, LIANG Ya-xiang, NING Ke-yong, YAN Lan. Institute of Orthopaedics and Traumatology, China Academy of TCM (Beijing, 100700, China)

Abstract Objective: To analyze the changes and the correlation of body weight, bone loading and bone mineral density in different time after ovariectomy of rats for providing reference of selection of animal model and experiment marker, in order to study the medicine of treatment osteoporosis. **Methods:** 50 female Wistar rats with 5 months age were divided randomly into normal and ovariectomized groups. The body weight, bone loading and bone mineral density were detected respectively after ovariectomy for 3, 9, 13 months. The results were analyzed statistically. **Results:** The body weight of ovariectomized group was higher than that of normal group; loading and bone mineral density of lumbar vertebrae of normal and ovariectomized groups showed highly significant than that of femur. obviously descent of bone mineral density of femur was more early than that of loading of femur. bony mineral density and bony loading of ovariectomized group were lower than that of normal group. To accompany with body weight gain, bony mineral density showed negative correlation but bony loading showed positive correlation. **Conclusion:** The changes of body weight of the ovariectomized female rats cause different effects. The amount of bony lose are different, according to the position of bone and the age of rat.

Key words Ovariectomy; Osteoporosis; Bone density; Biomechanics; Animals, laboratory

在骨质疏松的研究中,实验动物模型的建立是研究骨质疏松的发生、发展、转归及疗效评价的关键。为此我们对去卵巢大鼠不同时期的骨质疏松部分指标如体重、生物力学、骨密度及其相关性进行观察和分析。

1 材料和方法

1.1 动物和造模 5月龄 Wistar 雌性大鼠 50 只,体重(230 ± 20)g。由中国医学科学院实验动物研究所提供。完全随机法分为正常组和模型组,每组 25 只。

模型组以戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,摘除双侧卵巢。正常组不做任何处理。

1.2 观察指标与测定方法 5月龄大鼠于去势后 3、9、13 个月分别称重,同时各组动物经腹主动脉放血处死取下股骨、腰椎,去除软组织,测定如下指标。骨密度:使用美国 Lunor 公司 DPX 双能 X 线骨密度扫描仪分别测定股骨和腰椎骨密度;骨生物力学:仪器为 WD-1 型材料试验机(长春实验器材厂)。测定条件:右股骨,标定 10 kg,加载速度 2 mm/min,跨距 20 mm,纸速 6 cm/min;L₄ 腰椎,标定 25 kg,加载速度 2 mm/min,纸速 12 cm/min。根据曲线计算载荷。

通讯作者:孔焕宇 Tel:010-64014411-2572 E-mail: Konghy @263.net

1.3 统计学方法 用 SPSS 10.0 统计学软件进行组间差异两独立样本的 *t* 检验,各参数用 $\bar{x} \pm s$ 表示;进行相关分析,统计处理用 *t* 检验。

2 结果

2.1 正常组与模型组体重变化 模型组大鼠体重明显高于正常组,组间比较可见模型组 14 月龄和 18 月龄的体重明显高于正常组(增长 28%, *t* = 6.488, *P* < 0.001 和增长 24%, *t* = 3.903, *P* < 0.001)。同时组内不同的年龄段体重变化不同。模型组体重在 8~14 月龄之间呈现快速增长,此期间的变化有统计学意义,月平均增长 7.3% (*P* < 0.001);而 14~18 月龄的月增长幅度大大降低;正常组大鼠体重趋于平稳增长,与模型组不同的是体重的增长主要在 14 月龄以后。

2.2 正常组与模型组腰椎和股骨载荷变化 主要变化表现为: 正常组和模型组腰椎、股骨载荷均随

年龄的增长而增加,但模型组在去势早期月增长率(3.37%)大于正常组(2.02%),见图 1; 与正常组比较,模型组各年龄段腰椎、股骨载荷均低于正常组。但出现显著性差异的年龄段不同。腰椎在 14 月龄时两组出现显著性差异(降低 36.52%, *t* = 5.22, *P* < 0.001),股骨是在 14 月龄以后,本实验测得两组 18 月龄时的股骨载荷有统计学意义(降低 17.49%, *t* = 4.21, *P* < 0.001),见表 1。

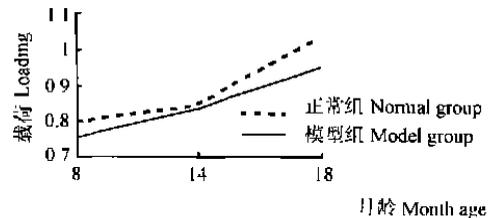


图 1 两组大鼠股骨载荷随时间变化速度的半对数图
Fig. 1 Semilogarithmic graph of changes of loading of the femur in two groups

表 1 两组大鼠骨载荷测定结果(kgf, $\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 Changes of bone loading in two groups(kgf, $\bar{x} \pm s$)

组别	腰椎				股骨			
	14月(n=10)	18月(n=10)	%-14/月	8月(n=5)	14月(n=10)	%-8/月	18月(n=10)	%-14/月
正常组	20.59 ±2.97	26.41 ±8.56	7.07	6.25 ±0.41	7.01 ±1.18	2.03	10.81 ±1.19	13.55
模型组	13.07 ±3.45 ***	16.59 ±3.68 **	6.73	5.70 ±0.97	6.84 ±0.89	3.37	8.92 ±0.78 ***	7.60

注:与 14 月龄比较的月平均值, *P* < 0.05, *P* < 0.001;与正常组比较, ** *P* < 0.01, *** *P* < 0.001。

2.3 正常组与模型组骨密度变化 与正常组比较,模型组表现为: 股骨与腰椎骨密度随时间的增加呈进行性降低; 腰椎骨密度出现明显降低的时间

为 8~14 月龄(-1.01%, *P* < 0.05),早于股骨 14~18 月龄(-1.18%, *P* < 0.05)。见表 2。

表 2 两组大鼠不同月龄股骨、腰椎密度测定结果(g/cm², $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Changes of bone mineral density of the femur and lumbar in two groups at different age(g/cm², $\bar{x} \pm s$)

组别	股骨					腰椎				
	8月(n=5)	14月(n=10)	%-8/月	18月(n=10)	%-14/月	8月(n=5)	14月(n=10)	%-8/月	18月(n=10)	%-14/月
正常组	0.2806 ±0.0147	0.2855 ±0.0121	+0.29	0.2885 ±0.0135	+0.26	0.2670 ±0.0130	0.2722 ±0.0113	+0.33	0.2774 ±0.0087	+0.48
模型组	0.2702 ±0.0083	0.2580 ±0.0124 **	-0.75	0.2458 ±0.0044 ***	-1.18	0.2572 ±0.0047	0.2415 ±0.0130	-1.01	0.2336 ±0.0080	-0.82

注:与 14 月龄比较的月平均值, *P* < 0.05;与正常组比较, ** *P* < 0.01, *** *P* < 0.001。与 8 月龄比较, *P* < 0.05;与正常组比较, *P* < 0.01, *P* < 0.001

2.4 两组体重与股骨载荷和骨密度相关性分析 通过两组体重-股骨载荷、体重-股骨骨密度、股骨载荷-股骨骨密度的散点图可见各变量间为直线关系。通过相关分析可见:两组的体重与载荷均为正相关(正常组 *r* = 0.74, *P* < 0.01、模型组 *r* = 0.78, *P* < 0.01),见图 2,3;而体重-股骨骨密度、股骨载荷-股骨骨密度,正常组为正相关,见图 4,5,模型组均为负相关,见图 6,7。

3 讨论

3.1 去卵巢大鼠体重的变化可对生物力学指标-

载荷和骨密度产生不同影响 在生命活动中,骨组织不断自我调整和不断自我更新以适应不断变化的力学环境和修复已缺损的内部结构,这就是骨塑建和骨重建。骨塑建改变了大体骨形状,决定了骨的生长、形状、尺寸和强度;骨重建的激活,使骨吸收量大于骨形成量。骨塑建和骨重建的激活可以受到生物力学因素和非生物力学因素的影响。

生物力学因素是控制骨组织形状、骨量及其内部结构变化的主要因素^[1]。当体重变化时,力学环境发生变化,可引起骨量的重新分布,以使骨组织适

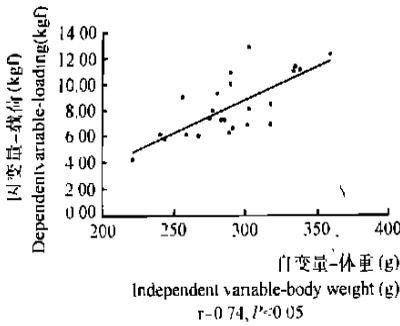


图 2 正常组体重-股骨载荷散点图
Fig.2 Scatter diagram of body weight-loading of the femur in normal group

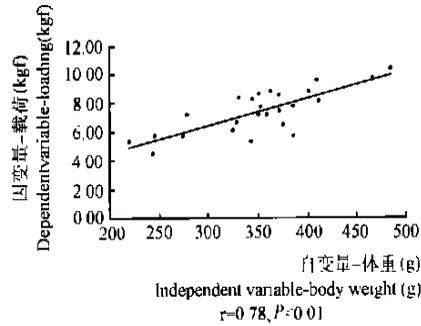


图 3 模型组体重-股骨载荷散点图
Fig.3 Scatter diagram of body weight-loading of the femur in ovariectomized group

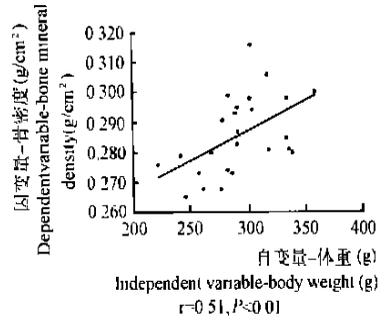


图 4 正常组体重-股骨骨密度散点图
Fig.4 Scatter diagram of body weight-bone mineral density of the femur in normal group

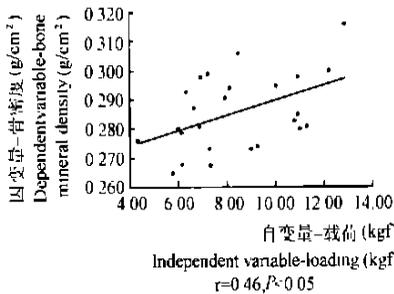


图 5 正常组载荷-股骨骨密度散点图
Fig.5 Scatter diagram of loading-bone mineral density of the femur in normal group

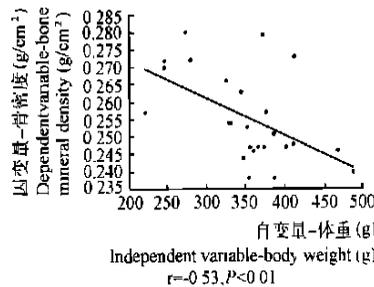


图 6 模型组体重-股骨骨密度散点图
Fig.6 Scatter diagram of body weight-bone mineral density of the femur in ovariectomized group

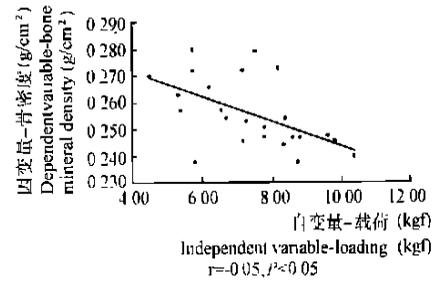


图 7 模型组载荷-股骨骨密度散点图
Fig.7 Scatter diagram of loading-bone mineral density of the femur in ovariectomized group

应新的力学环境。不同造模方法体重有不同的改变,使骨组织的力学环境有所不同,从而表现出相应生物力学指标的改变。去势大鼠的体重呈大幅度增长,增长的幅度和速度均明显大于正常组,体重的快速增长引起的力学环境改变使载荷表现为相应增加并与体重呈正相关。去势大鼠体重的改变与维甲酸和激素建立的大鼠骨质疏松模型引起食欲不振,体重减轻^[2]或增长受抑^[3]有明显不同。

非生物力学因素例如雌激素可维持骨重建阈值。雌激素的撤除,可使骨重建阈值提高,促使骨重建激活频率大幅度增加,骨吸收大于骨形成^[1],出现总骨量减少。去势大鼠股骨骨量的丢失先于载荷的降低出现并与体重呈负相关,即说明了此问题。另外本实验观察到的体重与骨密度表现出的负相关与文献报道的在卵巢切除的大鼠实验中,伴随体重的增加其骨密度也增加^[4]不尽相同。

3.2 去势大鼠腰椎和股骨的载荷及骨密度存在差异 由于大鼠体位与直立动物的区别,股骨和腰椎的力学环境应有所不同。腰椎力学环境的改变似乎

小于股骨,表现在去势大鼠体重增长高峰期内,腰椎骨密度、载荷与正常组比较出现显著性差异的时间均较股骨早。

因为力学环境的改变可引起骨量再分布,故体重的改变是我们在选择模型时需要考虑的因素。当观察生物力学指标和骨量变化时,应注意:模型大鼠体重的幅度变化可改变力学环境而干扰实验结果,观察受力学环境影响的指标时应注意体重变化的因素;对不同的指标,注意选择适宜观察部位和时间,以客观地反应药效,如去势大鼠股骨和腰椎变化上的区别;不同的造模方法对大鼠体重的影响不同,应注意选择与造模方法相适应的检测指标。

参考文献

- 1 郭世绛,罗先正,邱贵兴,等.骨质疏松-基础与临床.天津:科学技术出版社,2001.107-111.
- 2 谢华,吴铁,黄连芳,等.补骨 1 号对大鼠类固醇性骨质疏松的作用.中医药研究,1996,18(5):62-63.
- 3 莫新民,王峻松.5 味抗疏中药对维甲酸所致大鼠骨质疏松的影响.中国中医药信息杂志,1998,5(9):24-26.
- 4 刘忠厚.骨质疏松学.北京:科学出版社,1998.507.

(收稿日期:2003-09-26 本文编辑:王宏)