

骨质疏松动物模型的探讨

孙丽萍 孙承琳 张 丽 刘春梅 葛东宇 张 伟

摘要 分别用去势法和维甲酸法造成小鼠骨质疏松模型,通过测定小鼠体内的 LPO、GSH 和 GSHPx 以及股骨中的微量元素,从而对两种模型进行分析比较,探寻两种模型的共同点和不同点,进一步探讨骨质疏松时小鼠机体的变化。结果表明:1. 两种模型小鼠肾和心脏中的 LPO 含量降低,肝组织中的 LPO 含量则为上升;2. 股骨中微量元素的变化不完全相同;3. 肝和肾组织中的 GSH 含量变化不同;4. 血中 GSHPx 含量变化不同。

关键词 骨质疏松 去势模型 维甲酸模型 脂质过氧化反应 微量元素

骨质疏松动物模型有多种,其中最常用的为去势模型和维甲酸模型两种。这两种模型虽都能造成小鼠骨质疏松,但两种模型小鼠机体的变化差异及造成差异的机理都有待进一步探讨研究。本实验只是从小鼠体内的过氧化反应和股骨中微量元素的变化进行初步研究和讨论。

1 材料和方法

1.1 模型的制备

去势模型:选择雌性昆明小鼠,体重在 30~35g。随机分为模型组和对照组(假手术组)。假手术组在戊巴比妥麻醉下切开背部皮肤并在脊椎两侧腹膜各作一切口并缝合;模型组在戊巴比妥麻醉下于背部切开皮肤并在脊椎两侧腹膜各作一切口以取出双侧卵巢,然后缝合切口和皮肤。术后 4 个月处死动物。

维甲酸模型:选择雄性昆明小鼠,体重在 30~35g。随机分为模型组和对照组。模型组每日灌胃给予维甲酸 150mg/kg^[1],2 周后处死。

1.2 取材和测定

各动物均先称体重、摘眼球取血后再处死,然后分别取心、肝、肾组织,测定血中的谷胱甘肽过氧化物酶(GSHPx),组织中的谷胱甘肽(GSH)和脂质过氧化物(LPO)。取小鼠股骨进行骨钙、微量元素和骨计量学的测定。

(1) 谷胱甘肽过氧化物酶(GSHPx)测定:

DTNB 直接法^[2];

(2) 谷胱甘肽(GSH)测定:DTNB 直接法^[2];

(3) 脂质过氧化物(LPO)测定:TBA 显色法^[3];

(4) 骨钙和微量元素测定:采用电感耦合等离子发射光谱仪测定(北师大检测中心协助完成)

(5) 骨计量学测定:用游标卡尺对股骨长度和横径进行测量。

1.3 统计学处理

所有资料数据均计算均值和标准差,差异显著性用 t 检验。

2 结果

2.1 去势模型

1. 股骨计量学变化

表 1 去势小鼠的股骨计量学变化($\bar{x} \pm s$)

分 组	对 照 组	模 型 组
骨重指数(mg/g)	1.37±0.08(8)	1.22±0.10(8)***
Ca(mg/g 骨重)	226.88±4.29(6)	219.65±3.12(6)**
长度(mm)	16.29±0.47(8)	15.91±0.26(7)*
横长径(mm)	2.20±0.26(8)	1.94±0.09(8)*
横短径(mm)	1.44±0.12(8)	1.33±0.07(8)*

模型组与其相应的对照组比较: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

小鼠切除卵巢后 4 个月,其股骨重量、骨长度及骨钙含量均明显低于对照组(即假手术组),实验结果见表 2。

2. 血中 GSHPx 和肝、肾、心脏中的 GSH

作者单位:100029,北京中医药大学中西医结合研究所

和 LPO 变化

模型组小鼠全血中 GSHPx 增加明显,与对照组比较有显著性差异,结果见表 2。

表 2 去势小鼠全血中 GSHPx 的变化($\bar{x} \pm s$)

分组	GSHPx(酶活力单位/ml)
对照组	35.30 ± 4.27(8)
模型组	44.92 ± 6.76(8)
t 检验	0.001 < p < 0.01

术后 4 个月时,两种组织中的 GSH 含量都显著增加,肝组织中有显著差异,肾组织中有极

表 3 去势小鼠组织中 GSH 含量的变化($\bar{x} \pm s$)(mol/g 湿组织)

分组	肝组织	肾组织
对照组	10.08 ± 1.13(7)	3.70 ± 0.49(8)
模型组	11.75 ± 0.76(8)*	4.86 ± 0.58(8)**

模型组与其相应的对照组比较: * p < 0.01, ** p < 0.001

表 5 去势小鼠股骨中微量元素的变化($\bar{x} \pm s$)($\mu\text{g/g}$)

分组	Zn	Cu	Fe	Mn
对照组	140.69 ± 15.61(8)	7.03 ± 0.78(7)	437.64 ± 43.62(7)	2.37 ± 0.14(8)
模型组	124.72 ± 13.98(6)	6.12 ± 0.13(8)*	474.78 ± 42.39(8)*	2.12 ± 0.12(6)**

模型组与其相应的对照组比较: * p < 0.05, ** p < 0.01

2.2 维甲酸模型

1. 股骨计量学变化

结果见表 6。实验 2 周时,模型组骨重指数有变化,但无统计学意义,这是因为小鼠在其骨重减少的同时,体重也在减轻;模型组小鼠的股骨长度和 Ca 含量都较对照组有明显下降。

表 6 维甲酸模型小鼠的股骨计量学变化($\bar{x} \pm s$)

分 组	对 照 组	模 型 组
骨重指数(mg/g)	1.80 ± 0.39(8)	1.55 ± 0.22(8)
Ca(mg/g 骨重)	223.19 ± 6.83(8)	216.23 ± 3.82(8)**
长度(mm)	15.01 ± 0.60(8)	13.70 ± 0.85(8)**
横长径(mm)	2.45 ± 0.22(9)	1.93 ± 0.17(9)**
横短径(mm)	1.58 ± 0.16(9)	1.42 ± 0.09(9)*

模型组与其相应的对照组比较: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

2. 血中 GSHPx 和肝、肾、心脏中的 GSH, LPO 变化

模型组小鼠血中 GSHPx 含量与对照组比

显著差异。结果见表 3。

模型组小鼠 LPO 含量变化见表 4:在肝组织中比对照组显著上升;肾组织中较对照组极显著下降;心脏中含量模型组较对照组下降,但无统计学意义。

表 4 去势小鼠组织中 LPO 含量的变化($\bar{x} \pm s$)(nmol/g 湿组织)

分组	肝组织	肾组织	心 脏
对照组	2.37 ± 0.30(8)	1.70 ± 0.15(8)	2.24 ± 0.23(6)
模型组	2.69 ± 0.32(8)*	1.03 ± 0.19(8)**	2.13 ± 0.19(5)

模型组与其相应的对照组比较: * p < 0.05, ** p < 0.001

3. 股骨中微量元素的变化

去势小鼠股骨中 Zn、Cu 和 Mn 三种元素的含量都较对照组下降,但 Zn 的变化无统计学意义;Fe 的含量则较对照组上升,且有统计学意义。结果见表 5。

较无差异,见表 7。

表 7 维甲酸模型小鼠全血中 GSHPx 的变化($\bar{x} \pm s$)

分组	GSHPx(酶活力单位/ml)
对照组	35.35 ± 7.46(8)
模型组	35.03 ± 5.09(7)

实验 2 周时,模型组小鼠三种组织中的 GSH 含量都较对照组下降,且具有统计学意义。结果见表 8。

表 8 维甲酸模型小鼠组织中 GSH 含量的变化($\bar{x} \pm s$)(mol/g 湿组织)

分组	肝组织	肾组织	心 脏
对照组	12.70 ± 1.59(8)	12.25 ± 2.78(7)	7.09 ± 1.26(5)
模型组	9.31 ± 2.84(8)*	9.14 ± 1.21(7)*	5.28 ± 0.79(5)**

模型组与其相应的对照组比较: * p < 0.05

模型组小鼠 LPO 含量较对照组的 变化结果见表 9:肾和心脏中 LPO 含量均比对照组下降,且肾组织中的变化有极显著差异,心脏中变

表9 维甲酸模型小鼠组织中LPO含量的变化
($\bar{x} \pm s$) (nmol/g 湿组织)

分组	肝组织	肾组织	心脏
对照组	2.96 ± 0.55(8)	1.93 ± 0.23(8)	2.20 ± 0.21(8)
模型组	3.33 ± 1.43(8)	1.11 ± 0.22(7)**	2.00 ± 0.24(7)*

模型组与其相应的对照组比较: * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$

表10 维甲酸模型小鼠股骨中微量元素的变化($\bar{x} \pm s$) ($\mu\text{g/g}$)

分组	Zn	Cu	Fe	Mn
对照组	140.01 ± 22.09(8)	6.64 ± 1.23(7)	78.33 ± 29.63(7)	2.09 ± 0.14(8)
模型组	136.52 ± 14.18(8)	6.13 ± 0.79(8)	113.23 ± 26.54(8)*	2.29 ± 0.14(8)*

模型组与其相应的对照组比较: * $p < 0.05$

3 讨论

本实验观察了去势和维甲酸两种骨质疏松模型小鼠血中GSHPx和肝、肾、心三种组织中GSH、LPO含量变化,以及股骨中微量元素的变化。结果发现:去势小鼠体内的抗氧化物(血中GSHPx和组织中GSH)含量上升,维甲酸小鼠体内的抗氧化物含量下降,而两种模型小鼠三种组织中均只有肝组织为升高,心、肾两种组织LPO含量下降。我们认为去势小鼠心、肾两种组织LPO含量下降是由于体内抗氧化物作用的结果。维甲酸模型小鼠可能是因为维甲酸有清除自由基的作用所致。

机体内的微量元素以各种生化形态存在并发挥着重要的作用。本实验测定了小鼠股骨中的Zn、Cu、Fe、Mn四种微量元素的变化。锌对胶原组织的形成、骨骼的生长有直接影响^[1];铜元素缺乏时骨活动减退,骨质吸收增强,骨胶原稳定性减弱^[5];锰为骨的物质基础之一,是骨胶

化有统计学意义;肝脏只略有上升,并无统计学意义。

3. 股骨中微量元素的变化

模型组小鼠股骨中Zn、Cu含量变化不大;均有下降,但无统计学意义;Fe、Mn含量较对照组上升,且均有统计学意义。结果见表10。

原合成必不可少的物质^[5]。实验结果发现:两种模型小鼠股骨内的Zn、Cu含量下降,Fe的含量上升,Mn的含量变化在两种模型小鼠中变化不同——去势小鼠含量下降,维甲酸小鼠含量上升。这些微量元素的变化机理有待进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 杜丛之,苏秀玲,徐煜庭. N-(4-乙氧羰基苯基)维生素甲酰胺与维生素甲酸衍生物的毒性比较. 药学学报 1982;17(5):331.
- 2 夏奕明,朱莲珍. 血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法. 卫生研究 1987;16(4):29
- 3 陈文为,路雪雅,刘春梅等. 清宫寿桃粉剂对大鼠肝匀浆(体外)生成脂质过氧化物的影响. 中西医结合杂志. 1984;4(11):686.
- 4 颜世铭,吴敬炳,徐德扬主编. 微量元素导论. 同济大学出版社.
- 5 章凤兰. 骨质疏松与中药治疗. 中国骨质疏松杂志. 1996;2(2):88.