

去卵巢大鼠骨计量学参数和血脂的变化及意义

尹斯利 金勳杰 胡彬 黄连芳 李青南

摘要 目的 观察大鼠去卵巢 30 d 时骨量、骨结构及血脂的变化。方法 17 只 SD 雌性大鼠随机分为 2 组:假手术组、去卵巢组。实验 30 d, 处死大鼠取胫骨及血清, 用骨计量学方法观察骨量和骨结构变化, 并检测血清碱性磷酸酶(AKP)、钙(Ca)、磷(P)、总胆固醇(CH)、甘油三脂(TG)。结果 去卵巢组与假手术组比, 骨小梁面积和数量减少($P < 0.01$), 骨小梁间隙增加($P < 0.05$); 血液检验显示 AKP 增加($P < 0.01$), CH 增加($P < 0.05$), TG 降低($P < 0.01$)。结论 本文结果显示 30 d 去卵巢大鼠已出现典型的骨质疏松表现, 伴有血脂的紊乱。

关键词 骨质疏松 骨组织形态计量学 总胆固醇 甘油三脂

Changes of bone histomorphometry parameters and serum lipid in rats after ovariectomized 30 days

Yin Sili, JIN Xunjie, Hu Bin, Huang Lianfang, Li Qingnan

Abstract **Objective** To study the changes of rats bone volume and serum lipid on ovariectomized rats. **Methods** 17 female SD inbred rats were divided into 2 groups: sham-ovx group and ovx group, 30 days experiment period, the proximal tibial metaphysis (PTM) were processed and decalcified for quantitative bone histomorphometry and serum were collected to measure alkaline phosphatase (AKP), calcium (Ca), phosphorus (P), cholesterol (CH) and triglyceride (TG). **Results** Trabecular area percent (Tb. Ar%) and Trabecular number (Tb. N) of ovx rats decreased ($P < 0.01$), trabecular separation (Tb. Sp) increased ($P < 0.05$) compared with sham-ovx group. Compared with sham-ovx group, the AKP level of ovx group increased ($P < 0.01$), Ca P has no change, CH increased ($P < 0.05$), TG decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** The data suggests that 30 days after ovariectomy, rats' bone volume decreased, while serum CH level increased and TG level decreased.

Key words Osteoporosis Histomorphometry Cholesterol Triglyceride

目前对骨质疏松发病机理和防治已有很多报道^[1-3], 但对骨质疏松和血脂的关系研究较少, 本文设计用 4 月龄大鼠, 去卵巢 30 d 以观察骨量和血脂的变化, 以探讨骨量和血脂变化的关系。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂: 半自动图像数字化分析仪,

此系统包括光镜和荧光显微镜(Nikon, 日本)、数字化板、电脑和形态学程序“Stereology”体现学(美国)。LEICA 2155 硬组织切片机(德国)。日本岛京 CL-7200 型全自动生化分析仪, 用于检测碱性磷酸酶(AKP)、磷(P)、总胆固醇(CH)、甘油三脂(TG)。

1.2 方法: 4 月龄 SD 雌性大鼠(广东省实验动物中心) 17 只, 体重(233.4 ± 12.7)g。随机分为: 假手术组(年龄对照组), 9 只; 去卵巢组(模型组), 8 只, 行双侧卵巢切除术^[1], 每周称体重一次。所有动物在 $24^{\circ}\text{C} \sim 28^{\circ}\text{C}$, 通风良好, 湿度 $60\% \sim 80\%$ 的条件下饲养, 自由摄食、饮水。大

本课题为广东省卫生厅“五个一科教兴医工程”基金项目

作者单位: 524023 广东医学院附属医院检验科(尹斯利), 广东医学院骨生物学研究室(金勳杰、胡彬、黄连芳、李青南)

鼠实验 30 d,处死,心脏取血,取胫骨。胫骨用低速据(Buehler LTD, USA)将其分为三段,其上段行额状面去掉胫骨粗隆后置 70%酒精中固定 24 h,经酒精脱水后,用甲基丙烯酸甲酯行不脱钙骨包埋,并切成 10 μ m 厚片,使用图像分析系统测量以下参数:骨小梁面积百分数(Tb. Ar %),骨小梁宽度(Tb. Wi),骨小梁数量(Tb. N),骨小梁分离度(Tb. Sp)。血标本离心得血清后做以下检测:①AKP 测定:以对-硝基苯磷酸盐为底物,在 AKP 作用下生成对-硝基酚和磷酸,在分光光度计 405 nm 处测定吸光度增加速率,计算样品中碱性磷酸酶活性。②磷:直接紫外法检测。③CH、TG 上机用酶法测定。AKP、磷、CH、TG 检测所用试剂盒由上海

长征医学科学有限公司生产。④Ca²⁺检测用邻-甲酚酞络合酮法(比色法)。

1.3 统计学处理:用 SPSS v7.5 软件进行数据分析,参数值用均数和标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

去卵巢组与假手术组相比,骨计量学结果显示,骨小梁面积百分数(Tb. Ar%)和骨小梁数量(Tb. N)减少,骨小梁分离度(Tb. Sp)增加,即骨量减少、骨结构变差(表 1)。血液生化检测显示,AKP 增加($P<0.01$),CH 增加($P<0.05$),TG 降低($P<0.01$)。钙、磷在各组间差异无显著性(表 2)。

表 1 去卵巢后骨计量学参数的变化

组别	Tb. Ar % (%)	Tb. Wi (μ m)	Tb. N ($\pm$ /mm)	Tb. Sp (μ m)
假手术组	17.1 $\pm$ 3.5	57.2 $\pm$ 7.5	3.01 $\pm$ 0.59	286.4 $\pm$ 62.5
去卵巢组	8.2 $\pm$ 4.7**	58.4 $\pm$ 16.4	1.34 $\pm$ 0.48**	820.2 $\pm$ 447.4*

注:两组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表 2 去卵巢后血液生化指标的变化

组别	AKP (U/L)	Ca (mmol/L)	P (mg/dL)	Ch (mmol/L)	TG (mmol/L)
假手术组	133 $\pm$ 22	2.31 $\pm$ 0.14	2.6 $\pm$ 0.5	1.11 $\pm$ 0.26	1.6 $\pm$ 0.5
去卵巢组	180 $\pm$ 28**	2.27 $\pm$ 0.20	3.0 $\pm$ 0.9	1.37 $\pm$ 0.15*	0.9 $\pm$ 0.4**

注:两组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3 讨论

大鼠去卵巢是模拟妇女绝经后骨质疏松较好的模型,已有文献报道去卵巢最早 2 周即引起有统计学意义的骨丢失和骨结构的变化伴有骨高转化的改变^[4]。骨计量学通过一些参数(Tb. Ar%反映骨小梁量的多少,Tb. Wi、Tb. N、Tb. Sp 反映骨结构)的检测,使形态学的指标量化;AKP 是最常用的评价骨形成和骨转

换的生化指标。本文的实验结果可见去卵巢 30 d 出现典型的骨质疏松的表现伴有骨转换增加,如骨量丢失和 AKP 增加。从骨量的变化可知骨吸收超过骨形成,故骨量减少^[1]。

绝经后妇女随体内雌激素浓度降低血清 CH、TG 浓度会升高,与年龄、绝经年限呈正相关^[5-7],成为造成心血管疾病的危险因素。由本实验结果可见,大鼠去卵巢后随雌激素水平下降,CH 增加,此点与人相同;但与人不同的是,
(下转第 86 页)

- 10 Kuraki Y, Shiozawa S, Kano J, et al. Competition between c-fos and 1,25(OH)₂ vitamin D3 in the transcriptional control of type I collagen synthesis in MC 3T3-E1 osteoblastic cells. *J Cell Physiol*, 1995, 164(3): 459-464.
- 11 Tanaka S, Amling M, Neff L, et al. c-bcl is downstream of c-src in a signaling pathway necessary for bone resorption. *Nature*, 1996, 383(6600): 528-531.
- 12 Ure MR, Summers JA, Parsons SJ, et al. Matrix mineralization in hypertrophic chondrocyte cultures. Beta glycerophosphate increase type X collagen messenger RNA and the specific activity of pp60 c-src kinase. *Bone Miner*, 1992, 18(2): 91-106.
- 13 Lowell CA, Niwa M, Soriano P, et al. Deficiency of the Hck and Src tyrosine kinases results in extreme levels of extramedullary hematopoiesis. *Blood*, 1996, 87(5): 1780-1792.
- 14 Hall TJ, Schaeuble M, Missbach M. Evidence that c-src is involved in the process of osteoclastic bone resorption. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 199(3): 1237-1244.
- 15 Duong LT, Lakkakorpi PT, Nakamura I, et al. PYK2 in osteoclasts is an adhesion kinase localized in the sealing zone, activated by ligation of alpha(v) beta 3 integrin, and phosphorylated by src kinase. *J Clin Invest*, 1998, 102(5): 881-892.
- 16 Yoneda T, Niewolna M, Lowe C, et al. Hormonal regulation of pp60c-src expression during osteoclast formation *in vitro*. *Mol Endocrinol*, 1993, 7(10): 1313-1318.
- 17 Wang Y, Toury R, Hauchecorne M, et al. Expression of Bcl-2 protein in the epiphyseal plate cartilage and trabecular bone of growing rats. *Histochem Cell Biol*, 1997, 108(1): 45-55.
- 18 Hentunen TA, Roddy SV, Boyce BF, et al. Immortalization of osteoclast precursors by targeting Bcl-XL and Simian virus 40 large T antigen to the osteoclast lineage in transgenic mice. *J Clin Invest*, 1998, 102(1): 88-97.
- 19 Ghosh Choudhury N, Harris MA, Wozney J, et al. Clonal osteoblastic cell lines from p53 null mouse calvariae are immortalized and dependent on bone morphogenetic protein 2 for mature osteoblastic phenotype. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 231(1): 196-202.
- 20 Lynch MP, Capparelli C, Stein JL, et al. Apoptosis during bone-like tissue development *in vitro*. *J Cell Biochem*, 1998, 68(1): 31-49.
- 21 Thompson DL, Lum KD, Nygaard SC, et al. The derivation and characterization of stromal cell lines from the bone marrow of p53-mice: new insights into osteoblast and adipocyte differentiation. *J Bone Miner Res*, 1998, 13(2): 195-204.