

卵巢切除对大鼠皮质骨结构和力学性能的影响

闫景龙 戴克戎 赵雅君 陈赞

【摘要】 目的 研究卵巢切除大鼠皮质骨的几何学改变和力学性能改变,探讨雌激素缺乏时皮质骨改变的发生机理。方法 选雌性 SD 大鼠 56 只,分为 Sham 组和 OVX 组,动物分别在 4、12、20 和 28 周时处死 7 只,取其胫骨备用。左侧于近 3/5 和远 2/5 交界部切断,在电镜下摄片,计测截面总面积、皮质骨面积、骨外径周长、骨髓腔面积和骨内径周长。右侧以近 3/5 与远 2/5 交界点为加载点进行三点弯曲力学实验。结果 Sham 组术后 4 周至 28 周胫骨截面总面积和骨外径周长逐渐增加。 $(P < 0.005)$,而髓腔面积和内径周长变化不明显。OVX 组截面总面积和外径周长也有逐渐增加趋势,但差异无显著性。而内径周长和髓腔面积都明显增加,在相同时期显著大于 Sham 组 $(P < 0.005)$,而皮质骨面积却与 Sham 组差异无显著性。三点弯曲试验结果表明,从 4~28 周实验对照两组抗弯强度和刚度均逐渐增加,但两组间差异无显著性。在各时期骨组织材料力学性能也无显著性差异。结论 卵巢切除对皮质骨的影响主要表现在使骨髓腔扩大,对骨外膜的影响较小,在短期内对皮质骨的力学性能无明显影响。

【关键词】 卵巢切除术; 皮质骨; 几何学; 生物力学

Effect of ovariectomy on structure and mechanical properties of cortical bone in rat YAN Jinglong, DAI Kerong², ZHAO Yajun¹, CHEN Zan¹. ¹ Department of Orthopedics, Second Attached Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China. ² Department of Orthopedics, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200011, China. ³ Department of Pathophysiology, Harbin Medical University, Harbin 150086, China

【Abstract】 **Objective** With the aim of studying the changes in geometry, morphology and mechanical properties of cortical bone in ovariectomized rats, the authors tried to find out the mechanism of changes in cortical bone due to estrogenic hormone deficiency. **Methods** Fifty-six female SD rats, three months old, weighing 240 g, were randomly divided into sham-operated group (sham), and ovariectomized group (OVX). Seven rats each time were killed at the end of the 4 th, 12 th, 20 th and 28 th week, and tibias were taken out for experiment. The left tibia was excised at the junction of proximal 3/5 and distal 2/5, and was photographed under electron microscope. The total tissue area, cortical area, periosteal perimeter, area of marrow cavity and perimeter of endosteum were measured. For the right tibia, the continuous loading point was chosen at proximal 3/5 and distal 2/5 as place to make three-point bending tests. **Results** In the sham group, the total tissue area and periosteal perimeter gradually increased from 4 th to 28 th week while there was no distinct change in the area of marrow cavity and perimeter of endosteum. In OVX group the total tissue area and periosteal perimeter also showed a tendency to increase, but there was no significant difference between the two groups. The perimeter of endosteum and area of marrow cavity were significantly larger than those in the sham group, but no distinct difference was found in the cortical area of tibia between the two groups at the same stage of experiment. The three-point bending test showed that from 4 th to 28 th week, the structure strain and stiffness of tibia increased gradually in both groups, but there was no significant difference between the two groups. Neither was in the mechanical properties of tibial cortical bone between the two groups at every stage of experiment. **Conclusion** The effect of ovariectomy on cortical bone mainly consists of expanded area of marrow cavity while periosteum was little affected and no remarkable change in mechanical properties ensues.

【Key words】 Ovariectomy; Cortical bone; Geometry; Mechanics

作者单位: 150086 哈尔滨医科大学第二附属医院骨科(闫景龙、陈赞),病理生理教研室(赵雅君);上海第二医科大学附属第九人民医院(戴克戎)

绝经后骨质疏松主要表现为松质骨的明显丢失,而且其并发骨折主要发生在椎体和桡骨远端等松质骨丰富部位,因此,许多研究工作着重观察松质骨的

变化。但是从结构力学性能上讲,皮质骨的改变可以使骨的强度产生很大变化^[1]。因此,对骨质疏松性骨折的研究,除观察松质骨的变化外,尚需建立皮质骨骨质疏松动物模型,以观察皮质骨变化与骨质疏松骨折的相关性,并且用于评估某些药物的防治作用。

目前,有关卵巢切除对皮质骨影响的研究主要观察骨量与骨折危险性的关系。本实验拟从皮质骨的几何形态和力学性能改变方面进行系统观察,探讨卵巢切除对大鼠皮质骨的影响。

材料和方法

实验选取 3 个月龄体重约 240 g 的雌性 SD 大鼠 56 只,随机分为卵巢切除 (OVX) 及假手术对照组 (Sham),每组均为 28 只。OVX 组动物在 2.5% 戊巴比妥钠麻醉下行双侧卵巢切除,Sham 组只开腹不切除卵巢。动物分笼饲养,不控制饲料及饮水量。两组动物分别于手术后 4、12、20、28 周各处死 7 只,解剖胫骨并去除软组织,左侧用于形态计量学分析,右侧用于力学性能测试。

1. 形态计量学观察

取左侧胫骨干,在近 3/5 与远 2/5 交界部用精密切割机切断,再于距断面 0.5 cm 处切断,截下的骨段置于 4% 多聚甲醛 2.5% 戊二醛混合固定液中固定 24 h,然后蒸馏水冲洗,并用 10% 次氯酸钠处理 8 h,经乙醇逐级脱水空气干燥后,将骨段近端截面向上粘于样品台上,用离子溅射法真空镀金,在 JSM-840 扫描电镜下放大 25 倍摄片。最后再将底片输入图像分析系统进行形态测量。所测指标包括截面总面积、皮质骨面积、骨外径周长、骨髓腔面积和骨内径周长。对测量结果进行两组间 t 检验。

2. 力学性能测试

取右侧胫骨,去除表面软组织,在岛津材料试验机上进行三点弯曲实验,直到骨折。实验以胫骨近 3/5 和远 2/5 交接部为加压点,支点跨距为 2.0 cm,加载速度为 1 mm/min。描记载荷—变形曲线。并根据该曲线和皮质骨内外径,分析皮质骨的力学性能参数。大鼠胫骨近 3/5 和远 2/5 交界部截面近似圆形,为了便于计算,该截面的骨内外径按等效圆直径计算。将折断的胫骨试件断面轻柔磨平,然后按照前述方法进行形态计量学分析,测量皮质骨内外膜的等效圆直径。

最大抗弯强度,以屈服点的载荷计算。

结构刚度,在弹性范围内以载荷—变形曲线的斜率表示,即载荷与变形量之比。胫骨皮质骨的材料力学性能参数。强度极限,由最大应力表示。刚度,由弹性模量表示。

结 果

1. 皮质骨的形态计量结果

表 1 示对照组及 OVX 组大鼠皮质骨形态测量结果。对照组从术后 4 周至 28 周,截面总面积和骨外径周长均逐渐增加,20 周后与 4 周差异有显著性 ($P < 0.05$)。而骨髓腔面积,皮质骨面积和骨内径周长在各个阶段差异无显著性,但也有逐渐增加的趋势。OVX 组从术后 4 周至 28 周,截面总面积和骨外径周长无明显增加,但均略高于对照组。骨髓腔面积和骨内径周长则逐渐增加,28 周与 4 周差异有显著性。在 20 周和 28 周,OVX 组的骨髓腔面积和骨内径周长明显大于对照组 ($P < 0.05$),而 OVX 组与对照组的皮质骨面积在各个阶段均无统计学差异。

表 1 卵巢切除大鼠胫骨皮质骨的形态计量学分析 ($\bar{x} \pm s$)

时间 (周)	截面总面积 (mm ²)		皮质骨面积 (mm ²)		骨外径周长 (mm)		骨髓腔面积 (mm ²)		骨内径周长 (mm)	
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
4	4.648	5.181	3.474	3.772	7.640	8.050	1.175	1.262	3.829	3.957
	0.275	0.772	0.207	0.474	0.226	0.597	0.968	0.360	0.157	0.484
12	4.915	5.069	3.784	3.879	7.842	7.968	1.132	1.190	3.726	3.839
	0.687	0.623	0.395	0.506	0.550	0.493	0.376	0.305	0.610	0.505
20	5.128	5.449	3.892	4.033	8.090	8.269	1.185	1.416 [*]	3.855	4.210 [*]
	0.467	0.413	0.421	0.467	0.358	0.310	0.125	0.175	0.198	0.257
28	5.425	5.709	4.015	3.873	8.247	8.464	1.410	1.835 [*]	4.180	4.780 [*]
	0.580	0.458	0.288	0.321	0.436	0.340	0.248	0.318	0.424	0.426

注:实验组与对照组比, * $P < 0.05$

2. 力学测试结果

表 2 示 OVX 和对照组大鼠胫骨的力学性能测试结果。从术后 4 周至 28 周, 对照组和 OVX 组大鼠胫骨的抗弯强度均逐渐增加, 12 周后各阶段均明显高于 4 周。对照组和卵巢切除组之间在各个阶段差异均无显著性, 但后者在各个阶段均处于相对高

值。胫骨的结构刚度也表现为相似的结果。从术后 4 周至 28 周, 两组均逐渐增加, 12 周后各阶段均高于 4 周。虽然 OVX 组在各个阶段略高于对照组, 但无统计学差异。骨组织材料力学性能测试结果表明, 两组间在术后各阶段的材料强度和刚度均无统计学差异。

表 2 卵巢切除大鼠胫骨皮质骨力学性能分析 ($\bar{x} \pm s$)

时间 (周)	屈服点载荷 (N)		载荷/变形 (N/mm)		强度极限 (Mpa)		弹性模量 (Gpa)	
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
4	52.506	59.518	121.56	125.96	288.986	274.155	18.182	15.828
	8.488	5.437	14.77	14.59	69.922	35.673	1.463	3.651
12	68.204	67.610	145.55	148.84	238.304	226.823	13.687	13.108
	13.821	5.700	14.88	19.82	42.588	42.265	4.502	2.418
20	65.109	71.090	141.99	153.20	203.286	214.697	11.671	11.579
	9.317	8.798	17.10	4.06	33.725	26.164	1.984	1.622
28	76.371	79.020	156.31	158.85	231.988	234.607	12.392	12.116
	6.721	10.662	7.78	8.87	28.069	26.284	1.789	2.092

讨 论

关于增龄对大鼠皮质骨影响的报道较少, Li^[2]等人对大鼠皮质骨的变化进行了描述, 他们通过对大鼠皮质骨进行形态计量学和骨密度观察发现, 出生后 3 个月内皮质骨密度、骨矿物质含量、骨宽度、截面总面积和皮质骨面积均明显增加。Danielsen^[3]等对 Wistar 大鼠的观察表明, 在生后 6 个月以前, 大鼠股骨长度、股骨干截面积和皮质骨量快速增加, 6 个月后上述参数增加减慢。我们的研究表明, 4~10 个月龄 SD 大鼠截面总面积、皮质骨面积和骨外径周长逐渐增加, 在实验 28 周时显著高于 4 周。而骨内径周长和骨髓腔面积则无明显变化。这说明从近 4 个月龄至 10 个月龄大鼠, 骨外膜成骨活动逐渐增加而内膜变化不明显, 结果皮质骨面积增加。

然而, 卵巢切除大鼠皮质骨的变化却与对照组不同。我们发现从卵巢切除后 4 周至 28 周, 截面总面积, 皮质骨面积和骨外径周长逐渐增加, 但各阶段无统计学差异。在各个阶段与对照组之间无显著差异。但卵巢切除组均处于高值。

这一结果的产生可能与皮质骨的力学环境改变有关。我们知道, 松质骨有较皮质骨大得多的表面积, 因此, 原发性骨质疏松的丢失首先表现在松质骨。我们的研究也证实了这一点, 在卵巢切除 4 周时松质骨量就显著降低^[4]。在长管状骨, 骨干部皮质骨较厚, 随着逐渐接近骨端, 皮质骨变薄, 而且骨

小梁根据其受力方向排列增多, 干骺端增大, 这使该部位在受到纵向的外力时产生很大弹性, 从而缓冲关节和骨干的受力。当卵巢切除造成干骺端骨小梁减少时, 皮质骨的受力将明显增加, 因此, 皮质骨将发生适应性变化。根据生物力学原理, 骨的横截面积越大骨组织的分布越远离其中性轴, 则其强度和刚度也越大^[5]。也许正是遵循这一原理, 卵巢切除后皮质骨的外径进一步增加, 处于高值。另一方面, 很多学者均证实卵巢切除后雌激素缺乏, 皮质骨的反应主要是骨髓腔面骨吸收增加^[6-9]。本研究在 4 周时骨髓腔面积有增加的趋势, 20 周是明显高于对照组, 这一变化也将减弱骨干的强度, 也许在促进骨外膜成骨方面有作用。

力学性能测试结果表明, 与对照组相比较, 卵巢切除对大鼠胫骨的结构力学性能和材料力学性能均无明显影响。这一结果与 Danielsen 等人的短期研究相似。他们对卵巢切除大鼠股骨进行纵向压缩实验, 并对股骨的胶原进行拉伸实验, 结果股骨的压应力和胶原的力学性能没有改变。但他们在卵巢切除后 18 个月发现股骨的压缩强度开始下降。本研究的最长实验期为 28 周, 也许卵巢切除对皮质骨的影响还没有达到发生力学性能改变的程度。

骨的结构力学性能主要受其几何形态和材料力学性能的影响, 而骨的材料力学性能则受骨的构成成分和细微结构影响。我们的研究发现, 卵巢切除

(下转第 17 页)