

去卵巢对大鼠骨密度的影响

陆泽元 廖二元 伍贤平 伍汉文 周智广 邓小戈

【摘要】 目的 探讨去卵巢对大鼠骨密度(BMD)的影响。方法 20只3.5月龄SD雌性大鼠分别摘除双侧卵巢(OVX)或假性去卵巢(Sham),术后14周处死,应用QDR-4500A型扇形束双能X射线吸收法(DXA)测量大鼠全身、离体股骨、胫骨、腰椎及其兴趣区的BMD。结果 ①术后6周OVX组全身BMD显著低于Sham组($P=0.048$),术后14周两组间无显著差异;②术后14周OVX组离体股骨BMD显著低于Sham组($P<0.001$),股骨远侧干骺端平均降低11.6%($P<0.001$);③术后14周右侧离体胫骨BMD两组间差异无显著性,但OVX组胫骨近侧干骺端BMD显著低于Sham组($P<0.001$);④术后14周OVX组腰椎(L_4-L_6)的BMD显著低于Sham组($P=0.014$),第六腰椎降低明显,平均降低8.1%($P=0.005$)。结论 去卵巢所致骨丢失以松质骨含量丰富的兴趣区明显。

【关键词】 骨密度; 骨质疏松; 去卵巢大鼠; 双能X射线吸收法

Effect of ovariectomy on bone mineral density in rats LU Zeyuan, LIAO Eryuan, WU Xianping, et al. Institute of Metabolism and Endocrinology, The Second Affiliated Hospital, Hunan Medical University, Changsha 410011, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of estrogen deficiency on bone mineral density (BMD) in rats. **Methods** Twenty SD rats, 3.5-month-old, were surgically ovariectomized (OVX) or sham-operated (Sham). The rats were sacrificed at 14 weeks post-surgery. Whole body BMD, the BMD of femur, tibia and lumbar spine *in vitro* and the BMD of their regions of interest were all measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) using QDR-4500A equipment. **Results** ① Whole body BMD in OVX at 6 weeks post-surgery was significantly lower than that in sham controls ($P=0.048$), but there was no significant difference between OVX rats and sham controls at 14 weeks post-surgery. ② The femoral BMD *in vitro* was markedly decreased in OVX rats at 14 weeks post-surgery, compared to that in sham-operated rats ($P<0.001$), especially for the distal femoral metaphysis ($P<0.001$, -11.6%). ③ There was no significant difference at 14 weeks post-surgery for tibial BMD *in vitro* between OVX rats and sham controls, but the BMD of proximal tibial metaphysis in OVX rats was significantly decreased, compared to that in sham-operated rats ($P<0.001$). ④ The BMD of lumbar spine (L_4-L_6) in OVX rats was significantly lower at 14 weeks post-operation than that in sham controls ($P=0.014$), especially for the sixth lumbar vertebra ($P<0.005$, -8.1%). **Conclusion** The regions of interest which are rich in trabecular bone are the sites affected most markedly by ovariectomy.

【Key words】 Bone mineral density; Osteoporosis; Ovariectomized rats; Dual energy X-ray absorptiometry

去卵巢大鼠模型广泛应用于骨质疏松的发病机理和药物防治研究,国外学者应用QDR-1000型笔形束DXA测量大鼠BMD,其结果是精密和准确的。因此,BMD测量已成为评价骨丢失最重要和常用的指标之一。本研究应用先进的QDR-4500A型扇形束DXA测量该大鼠模型全身、离体股骨和胫骨及其兴趣区、离体腰椎的BMD。探讨BMD测量在该模型中的价值和雌激素缺乏所致骨丢失的敏感部位。

材料和方法

1. 大鼠分组和处置

(1)大鼠分组和饲养:3月龄雌性SD大鼠20只(购自中国科学院上海实验动物中心)在我院动物实验室适应2周后,体重在210~240g之间,随机分为两组,用3.0%的戊巴比妥钠(0.1 ml/100g体重)腹腔注射麻醉后,从腰背部纵向切开皮肤及两侧肌肉,摘除双侧卵巢者即去卵巢组(OVX组),以同样方式找到卵巢而未摘除者即假手术组(Sham组)。大鼠饲养在温度为(21±1)℃,每日12h光照(7 am~7 pm),12h黑暗(7 pm~7 am)的环境中,任意进食本院动物实验室自产的大鼠全价颗粒饲料(1.53%钙、

基金项目:国家九五攻关课题资助项目(96-906-05-05)

作者单位:410011 长沙,中南大学湘雅医学院第二附属医院代谢内分泌研究所;第一作者现在深圳市福田医院内分泌科

0.9%磷)和自来水。

(2)大鼠处置:分别于术前(0周)、术后6周及14周在麻醉状态下测量全身BMD,并于14周最后一次测量后处死大鼠,取出子宫用电子天平(湖南湘仪厂)称重,剥离右侧股骨、右侧胫骨和腰椎。

2. BMD的测量

(1)全身BMD的测量:应用QDR-4500A型扇形束DXA(Hologic公司,美国)及附的小动物软件测量大鼠全身BMD。测量前先用人体腰椎体模和小动物阶梯模型校正。麻醉后的大鼠取俯卧式行全身扫描,扫描宽度为18 cm,长度任意调整,扫描速度为4.8 s/cm。该仪器测定大鼠全身BMD的批内CV为0.71%。

(2)离体股骨、胫骨和腰椎BMD测量:将仔细剥离掉附着肌肉和结缔组织的离体骨置于盛有去离子水(模拟骨骼周围软组织)的薄壁有机玻璃盒内之水底,对股骨、胫骨和腰椎行高清晰度扫描,扫描宽度为5 cm,长度可任意调整,扫描速度为31.1 s/cm。参考Ke等^[1]方法确定股骨兴趣区(A法):远侧第2个0.5 cm为股骨远侧干骺端(R_1),近侧第1个0.5 cm为近侧股骨(R_2),上述两兴趣区中间0.5 cm为股骨体(R_3)。按文献^[2]以另一方法确定股骨兴趣区(B法):远侧1/4为股骨远侧干骺端(R_1),近侧1/3为近侧股骨干骺端(R_2),中间2/4为股骨干(R_3),批内CV在1.11%~2.27%之间。按文献^[2]框定胫骨兴趣区:胫腓骨连接点至远侧末端为远侧胫骨(R_1),胫骨近端至胫腓骨连接点的近侧1/4为胫骨近侧干骺端(R_2),其余2/3为胫骨干(R_3),批内CV在1.24%~2.96%之间。分别对第四至第六腰椎单个椎体及其总体($L_4 \sim L_6$)进行分析测定,批内CV在0.82%~1.98%之间。

(3)用SPSS 6.0统计软件进行统计分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数比较用独立样本t检验。

结 果

1. 术后14周子宫重量比较

术后14周OVX组子宫重量(123 ± 8)mg约是Sham组(662 ± 78)mg的0.19倍,两组比较差异有显著性($P < 0.001$)。

2. 术后两组大鼠全身骨BMD比较

术前(0周)OVX组全身BMD为(0.1464 ± 0.0064) g/cm², Sham组为(0.1450 ± 0.0054) g/cm²,

组间差异无显著性。术后6周OVX组全身BMD(0.1510 ± 0.0056) g/cm²低于Sham组(0.1557 ± 0.0043) g/cm²,组间比较差异有显著性($P = 0.048$)。术后14周OVX组全身BMD为(0.1547 ± 0.0062) g/cm², Sham组为(0.1565 ± 0.0046) g/cm²,组间差异无显著性。

3. 术后14周两组离体骨及其兴趣区BMD的比较(见表1)。

表1 术后14周两组大鼠离体骨各兴趣区BMD比较($\bar{x} \pm s$)(g/cm²)

兴趣区	OVX组 (n=10)	Sham组 (n=10)	去势后降低幅度 (%)
股骨整体	$0.1807 \pm 0.0052^{**}$	0.1924 ± 0.0028	6.1
A法: R_1	$0.1420 \pm 0.0054^{**}$	0.1607 ± 0.0063	11.6
R_2	$0.1823 \pm 0.0083^{**}$	0.1981 ± 0.0078	8.0
R_3	0.1725 ± 0.0088	0.1772 ± 0.0074	
B法: R_1	$0.2007 \pm 0.0080^{**}$	0.2146 ± 0.0065	6.5
R_2	$0.1828 \pm 0.0076^{**}$	0.1997 ± 0.0052	8.5
R_3	$0.1657 \pm 0.0047^{**}$	0.1722 ± 0.0043	3.8
胫骨整体	0.1537 ± 0.0042	0.1571 ± 0.0044	
R_1	0.1447 ± 0.0036	0.1444 ± 0.0047	
R_2	$0.1783 \pm 0.0083^{**}$	0.1945 ± 0.0056	8.3
R_3	0.1404 ± 0.0048	0.1365 ± 0.0055	
腰椎总体	$0.1773 \pm 0.0098^{*}$	0.1881 ± 0.0072	5.7
L_4	0.1681 ± 0.0108	0.1757 ± 0.0095	
L_5	$0.1762 \pm 0.0089^{*}$	0.1845 ± 0.0059	4.5
L_6	$0.1838 \pm 0.0109^{**}$	0.2000 ± 0.0111	8.1

注:与sham组比 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表1显示在OVX组BMD在股骨整体及其A法 R_1 、 R_2 和B法 R_1 、 R_2 、 R_3 、胫骨 R_2 、腰椎总体及其 L_5 、 L_6 部位均低于Sham组,差异有显著性。

讨 论

大鼠去卵巢后的早期,松质骨占优势的区域处于高转换状态,骨吸收大于骨形成导致骨丢失^[3],皮质骨代谢不同于松质骨,早期骨量不丢失或丢失很少。术后6周OVX组全身BMD低于Sham组($P = 0.048$),平均降低3.0%,而术后14周两组间无显著性差异,Mitlak等^[4]也观察到10月龄大鼠去卵巢15周全身BMD与Sham组比较差异无显著性。提示全身BMD不能非常敏感地反映去卵巢大鼠的骨丢失。

股骨中皮质骨和松质骨在不同的区域存在差

异,远侧和近侧干骺端的松质骨含量较股骨干(体)丰富,因此这些兴趣区在去卵巢后骨丢失较多。研究表明 A 法和 B 法分析去卵巢 14 周后股骨远侧干骺端 BMD 均显著降低,分别较 Sham 组平均降低 11.6% 和 6.5%;股骨近侧干骺端(或近侧股骨)BMD 也显著降低,分别平均降低 8.0% 和 8.5%;这些兴趣区在去卵巢后 BMD 较 Sham 组降低的幅度均高于股骨整体的 6.1%,且以 A 法股骨远侧干骺端降低幅度最大。而对股骨干(体)的分析中仅 B 法发现去卵巢 14 周后该兴趣区较 Sham 组平均降低 3.8% ($P=0.006$),与文献^[5,6]报道该兴趣区有骨丢失一致。提示 3.5 月龄大鼠去卵巢 14 周后测量松质骨丰富的兴趣区易于检出骨丢失。

去卵巢后离体胫骨 BMD 与 Sham 组无显著差异,说明检测离体胫骨难以反映大鼠去卵巢后的骨丢失。近侧胫骨因松质骨含量多、骨转换快被认为是骨组织形态学检测去卵巢后骨丢失的敏感部位^[4]。但 Griffin 等^[7]在活体大鼠中用 DXA 检测该区域的精密度差,因此认为不是 DXA 检测骨丢失的理想部位。离体骨测量影响因素小,其精密度有较大的提高,本研究显示去卵巢后 14 周该兴趣区 BMD 较 Sham 组平均降低 8.3% ($P<0.001$),提示该兴趣区也是 DXA 检测去卵巢后骨丢失敏感的兴趣区。腰椎也是松质骨丰富的兴趣区,但与人类的负重方式不同。本研究结果显示去卵巢后 14 周离体腰椎总体 BMD 较 Sham 组平均降低 5.7% ($P=0.014$),单个腰椎分析显示去卵巢后 L_5 和 L_6 的

BMD 较 Sham 组平均降低 4.5% 和 8.1% ($P=0.027$ 和 $P=0.005$),而两组间 L_4 的 BMD 差异无显著性,提示去卵巢后腰椎骨量变化主要表现在 L_5 和 L_6 ,其原因有待进一步研究。总之,以 DXA 检测去卵巢后骨丢失时,选择松质骨含量丰富的兴趣区有利于检出骨丢失。

参 考 文 献

- 1 Ke HZ, Simmons HA, Pirie CM, et al. Droloxifene, a new estrogen antagonist/agonist, prevents bone loss in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 1995, 136:2435-2441.
- 2 Omi N, Ezawa I. The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. *Bone*, 1995, 17:163s-168s.
- 3 Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, et al. FDA guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone*, 1995, 17:125s-133s.
- 4 Mitlak BH, Schoenfeld D, Neer RM. Accuracy, precision, and utility of spine and whole-skeleton mineral measurements by DXA in rats. *J Bone Miner Res*, 1994, 9:119-126.
- 5 Fuse H, Fukumoto S, Sone H, et al. A new synthetic steroid, onasterone acetate (TZP-4238) increases cortical bone mass and strength by enhancing bone formation in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res*, 1997, 12:590-597.
- 6 Shen V, Dempster DW, Birchman R, et al. Loss of cancellous bone mass and connectivity in ovariectomized rats can be restored by combined treatment with parathyroid hormone and estradiol. *J Clin Invest*, 1993, 91:2479-2487.
- 7 Griffin MG, Kimble R, Hopfer W, et al. Dual-energy x-ray absorptiometry of the rat: accuracy, precision, and measurement of bone loss. *J Bone Miner Res*, 1993, 8:759-800.