

高原低氧环境下骨质疏松大鼠模型的骨代谢生化指标观察

高文魁 白峰 王伟 闫自强 王德元 李智刚 马力夫

中图分类号: R 683 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)11-0941-04

摘要: 目的 观察高原低氧环境下骨质疏松大鼠模型的骨形成相关生化指标变化,探讨其在高原地区骨质疏松症诊断和监测中的应用。方法 选用纯种SD雌性大白鼠72只,随机分为A组(高原去势组)、B组(平原去势组)、C组(高原对照组)和D组(平原对照组)。术后分别在海拔高于3000米的高原和低于500米的平原饲养。并于术后4周、12周和24周测量大鼠的股骨骨密度和血清相关生化指标。结果 12周时,高原和平原饲养的去势大鼠骨密度下降较为显著($P < 0.05$),且高原去势组骨密度明显低于平原去势组($P < 0.05$),对照组均无显著变化($P > 0.05$)。24周,除平原对照组骨密度无显著变化,其它三组骨密度均有显著降低,且高原去势组骨密度明显低于其它组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。生化指标检测发现,高原饲养组与平原饲养组比较,血清钙浓度无显著性差异($P > 0.05$)。血清磷离子的含量由高到低为平原对照组、高原对照组、平原去势组和高原去势组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。碱性磷酸酶在各时间段及各组之间均无明显差异($P > 0.05$)。不论是去卵巢还是未去卵巢,与平原饲养的大鼠相比,高原饲养的大鼠的血清骨钙素含量始终维持在低水平($P < 0.01$)。去势组大鼠的血清激素雌二醇的含量显著低于对照组,而饲养于高原后,这种差异更加显著($P < 0.01$)。结论 高原缺氧环境可引起骨代谢异常,并加速骨质疏松发展的进程,联合应用骨密度及血清骨形成生化指标检测有助于高原骨质疏松症的诊断。

关键词: 高原; 低氧; 骨质疏松; 骨代谢

Observation of biochemical indexes of bone metabolism in ovariectomized rats with osteoporosis at high altitude GAO Wenkui BAI Feng WANG Wei YAN Ziqiang WANG Deyuan LI Zhigang MA Lifu.
Department of Orthopaedics of Fourth Military Hospital of XiNin 810000, China

Abstract: Objective To observe the biochemical indexes of bone metabolism in ovariectomized rats with osteoporosis at high altitude and explore the application of biochemical indexes of bone metabolism in the diagnosis and monitoring of osteoporosis at high altitude. **Methods** 72 female SD rats were chosen and divided into group A (ovariectomized group at high altitude), group B (ovariectomized group at low altitude), group C (normal group at high altitude) and group D (normal group at low altitude). After operation, the rats were bred at high altitude and low altitude respectively. The bone mineral density of the femoral bone and serum biochemical indexes were determined at 4, 12, 24 weeks. **Results** At 12 weeks after ovariectomy, the bone mineral density of ovariectomized rats was significantly decreased compared with the normal group ($P < 0.05$). The bone mineral density of ovariectomized group at high altitude was lower than that of ones at low altitude ($P < 0.05$). Twenty-four weeks after operation, the bone mineral density of ovariectomized group at high altitude was significantly lower than that in other groups ($P < 0.01$). Detection of the biochemical indexes of bone metabolism: There were no obvious differences in serum calcium and alkaline phosphatase among the groups at high altitude and the groups at low altitude at each time point ($P > 0.05$). The order of the serum phosphorus from high to low was group D, C, B and A. The serum osteocalcin and estradiol in groups at high altitude was significantly lower as compared with those at low altitude group ($P < 0.01$). **Conclusion** It suggested that the effect of oxygen deficit at high altitude might cause abnormal bone metabolism and accelerate the evolution of osteoporosis. The application of

作者单位: 810007 青海 西宁,解放军第四医院骨科

the biochemical indexes of bone metabolism together with the bone mineral density is helpful for the diagnosis of osteoporosis at high altitude.

Key words: High altitude; Hypoxia; Osteoporosis; Bone metabolism

高原环境尤其是缺氧环境对呼吸、循环和血液等方面的影响,对于人体骨代谢的影响,国内外目前的研究报道不多。近年来,随着高原医学的迅速发展,高原缺氧环境对人体骨组织的影响逐步受到重视。有研究发现,高原居民老年后受高原缺氧影响明显,与平原地区相比较,骨量丢失显著,导致骨质疏松的发病危险性增加^[1,2]。可见,缺氧环境是骨质疏松发生发展的一个重要因素,而缺氧促进骨质疏松形成的作用机制尚未阐明^[3]。骨质疏松的发生是骨代谢过程中,骨吸收和骨形成之间的平衡被打破导致的,在这一过程中一些与骨代谢相关的生化指标也发生改变,本研究通过观察高原缺氧环境下与骨质疏松症相关的激素雌二醇(estradiolum, E2)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, OC)含量及 Ca^{2+} 、 P^{3+} 等生化指标的变化规律,初步探讨高原低氧环境影响骨质疏松症的作用机制,并为高原地区骨质疏松症诊断和监测选择敏感性较强的标志物奠定基础。

1 材料与方法

1.1 动物模型与实验分组 选用健康 SD 雌性大白鼠 72 只(兰州军区总医院全军骨科研究所提供),随机分为 4 组:A. 去势大鼠高原饲养组, B. 去势大鼠平原饲养组, C. 高原对照组, D. 平原对照组。每组 24 只。实验大鼠用 3% 戊巴比妥钠溶液按 0.1ml/100 g 体重腹腔麻醉。以腹侧人路完整切除双侧卵巢,对照组大鼠行假手术,采用腹侧人路,仅切除少许皮下组织立即关闭。4 组动物分别在海拔高于 3000 米的高原和低于 500 米的平原饲养。动物术后不使用抗生素,任其自由活动,自由饮水、摄食。术后连续 3d 经阴道做细胞涂片,无角化者证实双侧卵巢切除完全,否则弃去不用。

1.2 股骨骨密度(BMD)检测 分别于术后 4 周、12 周、24 周用双能 X 线骨密度仪 QDR-4500A(美国 HOLOGIC 公司)对股骨进行骨密度测定,全部测量均由同一台仪器,同一人操作。

1.3 生化指标检测 每组取 6 只大鼠,并分别于 1 月、3 月、6 月采取尾静脉血 1.5ml, 4℃ 离心,血清置 -80℃ 冰箱待测。OC、E2 用放射免疫法测定,试剂盒购自法国 Dia Sorin 公司,仪器为中科院上海原子

核日环仪器厂生产,型号:SN-682 放射免疫计数器。ALP 用美国 METRA 公司生产的 ELISA 试剂盒检测,仪器为美国 CHIRN 公司生产的 ASCI80 全自动免疫分析仪。 Ca^{2+} 、 P^{3+} 生化检测项目在日本产的日立 7060 型全自动生化分析仪上检测。

1.4 统计学处理 各测定结果值均采用 SPSS11 版本软件处理分析,结果用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$),先行正态性和方差齐性检验,再对多组均数的比较采用单因素方差分析;组间两两比较采用 LSD 检验。

2 结果

2.1 骨密度检测

4 周时,各组大鼠股骨骨密度值差异不显著。12 周时,高原去势组、平原去势组、高原对照组股骨骨密度均有所下降,但高原和平原饲养的去势组大鼠骨密度下降较为显著($P < 0.05$),且高原去势组骨密度明显低于平原去势组($P < 0.05$),对照组均无显著变化($P > 0.05$)。24 周,除平原对照组骨密度无显著变化,其它三组骨密度均有显著降低,且高原去势组骨密度明显低于其它组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)(图 1)。

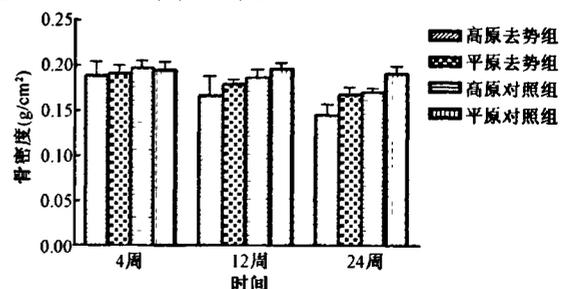


图 1 不同时间点各组骨密度值比较

2.2 骨代谢生化指标的测定结果

从表 1 中可以看出,高原对照组大鼠血清钙随着时间的延长有所增加($P < 0.05$),其余组大鼠则无明显变化($P > 0.05$)。总体上,去卵巢组大鼠血清钙高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$),而高原饲养组与平原饲养组比较,血清钙浓度无显著性差异($P > 0.05$)。血清磷离子的含量由高到低为平原对照组、高原对照组、平原去势组和高原去势组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。ALP 在各时间段及各组之间均无明显差异($P > 0.05$)。高原及

平原去卵巢组大鼠摘除卵巢 12 周后,血清 OC 含量明显增加($P < 0.05$),而对照组骨钙素含量不随着时间变化($P > 0.05$)。不论是去卵巢还是未去卵巢,与平原饲养的大鼠相比,高原饲养的大鼠的血清 OC 含量始终维持在低水平($P < 0.01$)。测定各组的血清 E2 含量,可以发现各组 E2 的含量均不随着时间的变化而变化,去势组大鼠的血清 E2 的含量显著低于对照组,而饲养于高原后,这种差异更加显著($P < 0.01$)。

3 讨论

骨质疏松症是由多种因素所致,它们的共同特点是骨代谢过程中,骨吸收和骨形成之间的平衡被打破,从而出现骨量的减少与骨组织结构的改变而导致骨折。在这些因素中,环境因素对于骨质疏松的发生发展的影响以往未受到重视。我国西部省区地处高原,约占全国陆地面积的一半,人口 4 亿多,占全国总人口近三分之一。高原地区由于海拔高,空气氧含量仅为平原的 50% ~ 60%,缺氧的环境对

骨代谢有影响,平原人群到高原后不久会引起骨量丢失,在高原发生骨折会引起延迟愈合甚至不愈合^[3]。与低海拔地区相比,高海拔地区骨吸收增加,骨量减少,其主要原因为缺氧。但缺氧对于骨代谢过程的影响机制目前还不十分清楚。对于骨质疏松症的高发人群,如绝经后妇女,高原缺氧环境是否能加速、加重骨质疏松的发展有待进一步研究。

本研究通过对比观察高原及平原饲养的去势大鼠和正常大鼠的骨密度和相应骨代谢生化指标变化,旨在探讨高原缺氧在骨质疏松形成过程中的作用及其机制,并为高原骨质疏松症的早期诊断筛选出较为敏感的指标。研究显示,去卵巢早期,各组的骨密度变化不显著,12 周后,去卵巢大鼠骨密度显著低于对照组,尤其是高原缺氧条件下的去卵巢大鼠骨密度下降更为明显,说明去卵巢所致的骨质疏松症动物模型骨吸收作用增强,骨量丢失明显,而高原缺氧环境将加速骨量丢失。但是骨密度测定的是骨形态的质量变化,其高低不能早期反映骨转化状况^[4]。因此不能用于高原骨质疏松的早期诊断。

表 1 各组大鼠不同时间点骨代谢生化指标的检测

| 组别 | 时间 | Ca ²⁺ (mmol/L) | P ³⁺ (mmol/L) | ALP (U/L) | OC (ng/L) | E2 (pg/mL) |
|-----------|------|---------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
| 高原 去势组 | 4 周 | 2.76 ± 0.18 | 1.34 ± 0.09 | 2.37 ± 0.27 | 3.18 ± 0.51 | 12.1 ± 2.62 |
| | 12 周 | 2.82 ± 0.25 | 1.27 ± 0.13 | 2.35 ± 0.22 | 3.38 ± 0.39 | 11.1 ± 1.49 |
| | 24 周 | 2.84 ± 0.15 | 1.31 ± 0.11 | 2.29 ± 0.17 | 4.18 ± 0.42 | 11.3 ± 3.02 |
| 平原 去势组 | 4 周 | 2.86 ± 0.37 | 1.38 ± 0.05 | 2.40 ± 0.28 | 4.39 ± 0.58 | 14.3 ± 3.13 |
| | 12 周 | 2.88 ± 0.16 | 1.39 ± 0.17 | 2.33 ± 0.19 | 4.69 ± 0.49 | 13.7 ± 2.33 |
| | 24 周 | 2.80 ± 0.22 | 1.33 ± 0.08 | 2.38 ± 0.23 | 5.79 ± 0.92 | 13.3 ± 1.98 |
| 高原 对照组 | 4 周 | 2.63 ± 0.19 | 1.47 ± 0.19 | 2.32 ± 0.21 | 3.51 ± 0.27 | 15.1 ± 2.42 |
| | 12 周 | 2.74 ± 0.16 | 1.43 ± 0.29 | 2.37 ± 0.18 | 3.11 ± 0.45 | 14.3 ± 1.36 |
| | 24 周 | 2.78 ± 0.21 | 1.50 ± 0.25 | 2.28 ± 0.29 | 3.02 ± 0.55 | 13.5 ± 2.18 |
| 平原 对照组 | 4 周 | 2.71 ± 0.29 | 1.69 ± 0.24 | 2.36 ± 0.15 | 4.23 ± 0.37 | 18.6 ± 3.88 |
| | 12 周 | 2.73 ± 0.14 | 1.73 ± 0.17 | 2.41 ± 0.11 | 4.31 ± 0.62 | 17.8 ± 2.65 |
| | 24 周 | 2.72 ± 0.23 | 1.71 ± 0.29 | 2.42 ± 0.31 | 4.29 ± 0.33 | 18.1 ± 3.08 |

骨代谢相关生化指标检测发现,去卵巢组大鼠血清钙显著高于对照组($P < 0.01$),但是高原饲养组与平原饲养组比较,血清钙浓度无显著性差异($P > 0.05$)。这说明体内雌激素水平影响着血清钙含量,雌激素可与甲状旁腺素相拮抗,从而降低破骨细胞的作用,减慢骨质再吸收作用,去卵巢组大鼠雌激素水平下降,溶骨过程加强,血中钙含量上升,而缺氧环境似乎不会直接影响血中的钙含量。碱性磷酸酶在各时间段及各组之间均无明显差异($P > 0.05$),这可能由于血清中碱性磷酸酶 50% 来源于骨组织,另外部分碱性磷酸酶来自于肝脏,因此它对骨组织而言缺乏特异性和敏感性^[5-6]。本实验中各组大鼠血清钙、碱性磷酸酶在各时间段均无明显改变,说明单纯应用血清钙、碱性磷酸酶等经典骨代谢

生化指标检测高原缺氧条件下的骨转化状况,存在特异性低和敏感性低的缺点。骨钙素是反映骨形成和骨转换的特异性的生化指标,由成骨细胞合成与分泌,甲状旁腺激素可刺激 OC 的合成和分泌的升高^[5-6]。本研究发现,与平原饲养的大鼠相比,高原饲养的大鼠的血清 OC 含量始终维持在低水平($P < 0.01$),这一结果说明,低氧环境抑制了骨形成,根本原因可能在于缺氧环境下成骨细胞的活性降低,成骨细胞的增殖与分化受到抑制,从而使 OC 的合成与分泌减少^[7-8]。另一项指标 E2 在骨代谢过程中起着十分重要的作用。E2 与成骨细胞及破骨细胞上的受体结合,直接抑制破骨细胞的溶酶体酶活性;降低骨组织对 PTH 的敏感性,E2 减少使破骨细胞的骨吸收活动增加,成骨细胞的骨形成活动相对

减弱,使骨代谢呈负平衡状态,导致骨质疏松^[8-9]。本研究中,去卵巢组大鼠的血清 E2 的含量显著低于对照组,而饲养于高原后,这种差异更加显著($P < 0.01$),这也间接说明了高原缺氧环境可以加速骨质疏松高危人群的骨量丢失,增加骨质疏松发生的风险,从而加快骨质疏松发生过程。从结果中也可以看出,相对于血清钙和 ALP,OC 和 E2 对于高原缺氧条件下骨质疏松诊断具有更高的敏感性。

总之,高原缺氧条件可以抑制骨形成过程,加快骨吸收过程,从而加速骨量丢失,加快骨质疏松的发生。研究机体骨密度和相应骨代谢生化指标变化,不仅能够为阐明缺氧在骨质疏松发生发展过程中的作用提供理论帮助,也能为筛选出诊断高原缺氧环境下骨质疏松症的较为可靠的指标提供依据。本研究结果证明,联合测定血清 E2 和 OC 可以全面反映高原缺氧环境下的骨转化状况,预测骨丢失,有助于高原骨质疏松症的诊断。

【参 考 文 献】

[1] 马定千,高书元,杨成,等. 高原地区骨质疏松的临床研究.

高原医学杂志,1994,4(1):28-32.

- [2] 傅晨,刘兴炎,葛宝丰,等. 西北高原地区居民骨密度研究[J]. 中国骨伤,2002,15(4):198-201.
- [3] 顾九君,刘兴炎. 高原缺氧对骨组织的影响. 高原医学杂志,2006,16(1):60-62.
- [4] Lee YH, Rho YH, Choi SJ, et al. Predictors of bone mineral density and osteoporosis in patients attending arheumatology outpatient clinic. *Rheumatol Int*, 2003, 23:67-69.
- [5] Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. *Clin Chim Acta* 2001;313(1-2):95-105.
- [6] 郑永宏,范红斌,王全平. 原发性骨质疏松患者骨代谢指标初步研究. 西安大学学报,2001,22:555-557.
- [7] Stephen M, Warren M D, Douglas S, et al. Hypoxia regulates osteoblast gene expression. *J Surg Res*, 2001, 99(1):147-155.
- [8] Uttinga JC, Robinsb SP, Brandao-Burcha A, et al. Hypoxia inhibits the growth, diferentiation and bone-forming capacity of rat osteoblasts. *Exp Cell Res*,2006,312(10):1693-1702.
- [9] Muzylal M, Price JS, Horton MA. Hypoxia induces giant osteoclast formation and extensive bone resorption in the cat. *Calcif Tissue Int*,2006. 79:301-309.

(收稿日期:2011-08-18)

高原低氧环境下骨质疏松大鼠模型的骨代谢生化指标观察

作者: [高文魁](#), [白峰](#), [王伟](#), [闫自强](#), [王德元](#), [李智刚](#), [马力夫](#), [GAO Wenkui](#), [BAI Feng](#), [WANG Wei](#), [YAN Ziqiang](#), [WANG Deyuan](#), [LI Zhigang](#), [MA Lifu](#)
作者单位: [解放军第四医院骨科, 青海西宁, 810007](#)
刊名: [中国骨质疏松杂志](#) 
英文刊名: [Chinese Journal of Osteoporosis](#)
年, 卷(期): 2011, 17(11)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201111001.aspx