

运动对去卵巢大鼠骨组织形态计量学的影响

李爽 刘海全 罗毅文 刘庆思 黄宏兴

[摘要] 目的 评价运动对去卵巢大鼠骨组织形态计量学的影响。方法 46 只 SD 大鼠随机分为正常对照组(A 组)、去卵巢手术组(B 组)、雌激素对照组(C 组)、运动组(D 组)。A 组行假手术,其余各组行双侧卵巢切除术,术后 3 个月开始为期 3 个月的治疗。C 组用尼尔雌醇治疗,D 组按要求进行运动。治疗结束后对胫骨作骨组织形态计量学分析。结果 D 组的骨小梁面积、骨小梁面积百分数、骨小梁周长、骨小梁数目明显高于 B 组,且在行卵巢切除术各组中骨小梁分离度、单位骨小梁面积破骨细胞数、每毫米破骨细胞数最低,荧光周长百分数、矿化沉积率、骨形成率最大。结论 运动能增加去卵巢大鼠骨的骨量,具有促进骨形成和抑制骨吸收的双重作用。

[关键词] 骨质疏松;骨组织形态计量学;运动训练;去卵巢大鼠

Effects of exercise training on bone histomorphometry of ovariectomized rats LI Shuang, LIU Hai-quan, LUO Yi-wen, et al. PLA Institute of Physical Education, Guangzhou 510502, Guangdong, China

[Abstract] Objective To evaluate the effects of exercise training on bone histomorphometry of ovariectomized rats. Methods 46 SD rats were randomly divided into the normal control group (group A), ovariectomized group (group B), estrogen supplement group (group C) and exercise training group (group D). The rats of group A had a sham operation, while that of other groups was ovariectomized. 3 months after operation, the rats had been treated for 3 months. The rats of group C were given estradiol, and the rats of group D were trained by exercise. The tibia sections were studied by histomorphometric analysis. Results The values of the trabecular area, trabecular area %, trabecular perimeter and trabecular number of group D were significantly higher than that of group B. The values of the trabecular separation, osteoclast number/mm² and osteoclast number/mm of group D were the least in all groups, which had been ovariectomized. The values of the labeled perimeter % mineral apposition rate, bone formation rate of group D were superior to that of all groups. Conclusion The exercise training can increase bone mass of ovariectomized rats, which had double effects of promoting bone formation and restraining bone absorption.

[Key words] osteoporosis; bone histomorphometry; exercise training; ovariectomized rats

中图分类号:R681 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2005)04-0245-02

[本文著录格式] 李爽,刘海全,罗毅文,等.运动对去卵巢大鼠骨组织形态计量学的影响[J].中国康复理论与实践,2005,11(4):245-246.

骨组织形态计量学(bone histomorphometry)能提供反应骨组织的质(骨结构)和量(骨量)等形态学静态和动态特性的各种参数^[1]。本研究旨在通过观察运动对去卵巢大鼠骨形态计量学各项指标的影响,探讨运动对绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMO)的作用及其机理,为有效防治 PMO 提供实验和理论依据。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂 雌激素尼尔雌醇片(上海华联制药有限公司,批号:961001);盐酸四环素(上海华舜生物工程有限公司,批号:MW.480.9);钙黄绿素(广州化学试剂厂,批号:20010401-2);Goldner's 染色剂(美国 Sigma 公司)。

1.2 主要仪器 硬组织切片机(德国 Leica RM2155);慢速锯(美国 Buehler Ltd.);自动图像数字化分析仪(德国 Leica);骨形态计量学测量软件(美国 Osteo-Metrics, Inc.)。

作者单位:1. 510502 广东广州市,解放军体育学院(李爽);2. 510224 广东广州市,广州中医药大学(刘海全、罗毅文、刘庆思、黄宏兴)。作者简介:李爽(1970-),女,四川成都市人,硕士,讲师,主要研究方向:运动医学。

1.3 动物及分组 选用 6 月龄健康雌性 SD 大鼠 46 只,体重 260~290 g,清洁级,由广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号:2003 A010。随机将动物分为 4 组:正常对照组(A 组,11 只)、去卵巢手术组(B 组,12 只)、雌激素对照组(C 组,12 只)和运动组(D 组,11 只)。所有大鼠于清洁级动物实验室分笼饲养,自由进食标准饲料和饮用水。10%水合氯醛溶液按 3.3 ml/kg 腹腔注射麻醉动物,采用后背部脊柱两侧腹后壁切口,B 组、C 组、D 组大鼠双侧卵巢完整切除;A 组大鼠只切除部分脂肪,不切除卵巢。手术后正常饲养 3 个月后开始治疗,治疗时间为 3 个月。C 组给予尼尔雌醇 1 mg/kg 灌胃,使用前配成混悬液(浓度为 0.167 mg/ml),1 次/周;D 组参照 Bedford 的动物负荷标准^[2],采用段氏 PT98 型鼠类跑台进行运动训练;开始速度 12 m/min,持续 20 min,坡度 0°;隔日速度增加 3 m/min,运动时间增加 10 min。2 周后达到设计负荷:速度 20~22 m/min,坡度 5°,每天 1 h,每周连续训练 5 d,休息 2 d。在动物处死前第 14、13 天,以及第 3、4 天分别于背部皮下注射盐酸四环素 25 mg/kg 和钙黄绿素 5 mg/kg 进行双荧光标记。

1.4 骨标本制备 治疗 3 个月后,处死动物。取左侧

胫骨,用慢速锯沿额状面锯开干骺端暴露骨髓腔,再于胫骨上端 1/3 处横行锯断胫骨,取胫骨上端骨进行包埋检测。骨标本放入 10 %福尔马林缓冲液固定,然后脱水,脱脂作塑料包埋。用硬组织切片机分别切下不脱钙 4 μm 和 8 μm 切片,薄片用 Goldner's Trichrome 染色封片,厚片不染色作荧光观察。

1.5 观察指标 测量胫骨近端骨组织形态计量学静态和动态参数^[3]。静态参数包括骨组织面积、骨小梁面积、骨小梁周长,及相应计算参数:骨小梁面积百分数、骨小梁宽度、骨小梁数目、骨小梁分离度;动态参数包括单荧光周长、双荧光周长、双荧光间距、破骨细胞

数,及相应计算参数:荧光周长百分数、矿化沉积率、骨形成率、破骨细胞数/ mm 、破骨细胞数/ mm^2 、骨小梁。

1.6 统计学处理 所有数据采用 SPSS 11.0 统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

各组动、静态参数见表 1。D 组的骨小梁面积、骨小梁面积 %数、骨小梁周长、骨小梁数目均高于 B 组 ($P < 0.05 \sim 0.01$),且在行卵巢切除术各组中骨小梁分离度、破骨细胞数/ mm^2 、骨小梁、破骨细胞数最低,荧光周长、矿化沉积率、骨形成率最大。

表 1 各组大鼠胫骨近端骨形态计量学参数比较

	A 组	B 组	C 组	D 组
骨小梁面积(mm^2)	2.977 \pm 0.663 ^a	0.711 \pm 0.472 ^b	1.331 \pm 0.828 ^{b,c}	1.309 \pm 0.441 ^{b,c}
骨小梁面积百分数(%)	28.932 \pm 5.177 ^a	7.533 \pm 4.600 ^b	14.452 \pm 7.962 ^{a,b}	14.666 \pm 4.857 ^{a,b}
骨小梁周长(mm)	70.651 \pm 9.723 ^a	16.636 \pm 9.831 ^b	30.017 \pm 15.470 ^{a,b}	26.957 \pm 6.484 ^{b,c}
骨小梁宽度(μm)	70.367 \pm 13.306	70.155 \pm 14.171	71.881 \pm 9.925	81.199 \pm 20.110
骨小梁数目/mm	4.140 \pm 0.435 ^a	1.062 \pm 0.565 ^{a,b}	1.971 \pm 0.901 ^{a,b}	1.804 \pm 0.393 ^{a,b}
骨小梁分离度(μm)	173.497 \pm 21.560 ^a	1138.257 \pm 591.523 ^b	577.156 \pm 451.891 ^{a,d}	506.011 \pm 172.040 ^{a,d}
荧光周长百分数(%)	14.763 \pm 5.643 ^e	18.986 \pm 9.321 ^f	7.814 \pm 4.294 ^{a,d}	26.125 \pm 6.700 ^{b,c,f}
矿化沉积率($\mu\text{m}/\text{d}$)	0.612 \pm 0.087 ^f	0.599 \pm 0.116 ^f	0.370 \pm 0.333 ^{a,b}	0.687 \pm 0.099 ^f
骨形成率/BS ^g ($\mu\text{m}/100\text{d}$)	9.299 \pm 4.475 ^{ef}	11.823 \pm 8.208 ^f	3.473 \pm 4.165 ^{a,d}	17.885 \pm 5.065 ^{b,c,f}
骨形成率/BV ^h (%/年)	87.027 \pm 50.760 ^f	107.973 \pm 80.926 ^f	26.992 \pm 32.105 ^{a,b}	136.489 \pm 33.282 ^{d,f}
骨形成率/TV ⁱ (%/年)	23.482 \pm 11.580 ^{a,f}	6.864 \pm 4.635 ^b	4.011 \pm 5.200 ^b	19.413 \pm 6.929 ^{a,f}
破骨细胞数/ mm^2 、骨小梁(n/ mm^2)	11.090 \pm 2.642 ^c	16.210 \pm 7.192 ^d	11.405 \pm 4.806 ^c	5.756 \pm 3.181 ^{a,d,f}
破骨细胞数/mm(n/mm)	0.457 \pm 0.097 ^c	0.670 \pm 0.290 ^d	0.473 \pm 0.158 ^c	0.264 \pm 0.130 ^{a,d,c}

注:与 B 组相比,a: $P < 0.01$,c: $P < 0.05$;与 A 组相比,b: $P < 0.01$,d: $P < 0.05$;与 C 组相比,e: $P < 0.05$,f: $P < 0.01$;g:矿化沉积率与荧光周长百分率的乘积,代表骨表面形成的活跃程度;h:每年新形成的骨小梁面积占骨小梁总面积的百分比,代表骨形成和骨转换的活跃程度;i:每年新形成的骨小梁面积占骨组织面积的百分比,代表每年骨小梁表面新形成骨的总量。

3 讨论

PMO 是常见的原发性骨质疏松症,为高转换型骨质疏松。由于绝经后雌激素减少,骨重建加快,骨吸收与骨形成均活跃(但以骨吸收为主),最终导致快速骨丢失,从而形成骨质疏松症^[4]。本实验结果显示,大鼠去卵巢后骨转换增加,骨吸收明显大于骨形成,骨量丢失,骨结构变差,与绝经后妇女的骨骼改变相似。

雌激素缺乏是 PMO 发病的重要原因,雌激素替代疗法曾经是预防、治疗 PMO 的首选疗法^[5],但由于长期应用激素引起的不良反应,特别是可能导致子宫内膜癌等生殖系统癌症,使该疗法的临床应用受到限制^[6]。本研究结果显示,雌激素对 PMO 的治疗作用是通过抑制骨转换,即同时减缓骨吸收和骨形成(以对抗骨吸收为主),从而纠正骨代谢负平衡,达到减少骨量丢失,改善骨结构的目的。

与人体内其他组织系统相比较,骨骼系统的首要功能是满足机体的生物力学需要,其次才是满足机体代谢需要。骨组织的形状、骨量和内部结构的变化取决于力学环境的改变,控制这些变化的主要因素只能是外力作用(生物力学因素),而其他的非生物力学因素则起辅助作用^[7]。有关研究显示,运动能有效干预 PMO 的形成^[8]。本实验结果显示,运动能起到增强成

骨活性和抑制骨吸收的双重作用,有效纠正去卵巢大鼠骨重建负平衡,疗效与雌激素的治疗效果相近。

[参考文献]

[1]郭世绂,罗先正,邱贵兴.骨质疏松——基础与临床[M].天津:天津科学技术出版社,2001.473—486.
[2]Bedford TC, Tipton CM, Wilson NC, et al. Maximal oxygen consumption of rat and its changes with various experimental procedures[J]. J Appl Physiol, 1979, 47: 1278.
[3]李青南.骨质疏松实验动物研究骨组织形态计量学[M].成都:四川大学出版社,2001.23—48.
[4]许昕,王莒生,戚团结.荣骨颗粒对卵巢切除后骨质疏松大鼠骨形态计量的影响[J].中国骨质疏松杂志,2004,10(3): 352—355.
[5]Keating NL, Cleary PD, Rossi AS, et al. Use of hormone replacement therapy by postmenopausal women in United States[J]. Ann Intern Med, 1999, 130: 545—553.
[6]Richard LN, Mary T, Jane K, et al. Bone mineral density and the subsequent risk of cancer in the NHANES I follow-up cohort[J]. BMC Cancer, 2002, 2: 22—31.
[7]黎小坚, Frost HM, 朱绍舜,等.基础骨生物学新观[J].中国骨质疏松杂志,2001,7(3): 253—261.
[8]章晓霜,高顺生,李青南,等.不同强度运动对去卵巢大鼠骨量的影响及机理[J].中国运动医学杂志,2001,20(2): 147—150.