

卵巢切除后大鼠骨小梁重建过程的电镜观察

鞠传广¹, 马庆军², 党耕町²

(1. 文登整骨医院, 山东 文登 264400; 2. 北京大学第三医院骨科)

摘要 目的:建立大鼠卵巢切除后骨质疏松模型,观察在卵巢切除诱发骨质疏松条件下骨小梁重建的电镜变化,分析骨小梁节点数减少而游离末端数增加的原因。方法:3月龄雌性 Wistar 大鼠 36 只,分 4、8、12 周组,每组分 OVX(卵巢切除组)和 SHAM(假手术组)两小组。用扫描电镜、透射电镜对胫骨近干骺端骨小梁的微结构进行观察。结果:骨小梁骨重建活动分布于骨小梁微构筑各个部位,但以 St、Nd+St 区最显著;OVX 后骨小梁穿孔、断裂多见于水平骨小梁,骨小梁网状结构 4 周时完整,第 8 周和第 12 周后逐渐被破坏,12 周最严重;OVX 后骨小梁表面的胶原纤维逐渐变得杂乱、稀薄。结论:OVX 后 St、Nd+St 区骨重建最活跃,这可能是骨质疏松时骨小梁节点数减少而游离末端数增加的原因。

关键词 卵巢切除术; 骨质疏松; 电子显微镜检查; 动物,实验

Electro-microscopic observation of trabecular bone remodeling in ovariectomized rats JU Chuan-guang, MA Qing-jun, DANG Geng-ding. Wendeng Orthopaedics Hospital (Shandong Wendeng, 264400, China)

Abstract Objective: Using ovariectomized rats as a osteoporosis models to observe the trabecular remodeling process under the electron microscope, to explore the cause that decreased in the number of trabecular nodes and increased in the number of free ends. **Methods:** Thirty-six (3-month-old) female Wistar rats were divided equally into ovariectomized (OVX) and sham-operated (SHAM) groups. Each groups were sacrificed at 4, 8 and 12 weeks respectively. Scanning and transmission electron microscope were used to observe the changes of proximal tibia trabecular microarchitecture. **Results:** Bone remodeling process was distributed in every region on the surface of trabecular microarchitecture where the St and Nd+St region were most significantly. In OVX groups, the trabecular net work were disrupted gradually from 8 to 12 weeks but almost intact in 4 weeks. The transverse trabecular was easier to be turned into thinner, perforated and broken; the collagen was turned into scrappy, disorder and thinner. **Conclusion:** The bone remodeling activity are increased significantly in the St and Nd+St region of trabecular microarchitecture than other region after OVX. This may be the cause that decreasing the number of trabecular nodes and increasing the number of free ends.

Key words Ovariectomy; Osteoporosis; Electron microscopy; Animals, laboratory

目前,骨重建过程中骨小梁微构筑的变化在骨质疏松中的作用已引起广泛关注。本实验用大鼠双侧卵巢切除的骨质疏松模型,通过电镜对骨小梁进行观察,分析骨小梁节点数减少而游离末端数增加的原因。

1 材料与方法

1.1 动物模型制作 36 只 3 月龄雌性 Wistar 大鼠,体重 240~280 g,随机分为卵巢切除组(OVX)和对照组(SHAM),再将各组分 4、8、12 周小组,每小组 6 只,共 6 组。标准饲料喂养,自由饮食,饲养 1 周后

双侧卵巢切除。对照组不切除卵巢。术后分笼,饲养条件同上,不用抗生素。分别于术后 4、8、12 周处死动物取材。

1.2 扫描电镜标本制作与观察 取左侧胫骨近干骺端沿冠状面剖开,生理盐水反复冲洗至骨小梁清晰可见为止,取出松质骨并切割成 1 mm × 2 mm × 3 mm 的标本。依次进行标本固定、脱水、置换、临界点干燥及真空镀膜。日立 S 450 扫描电镜下观察标本、拍照。

1.3 透射电镜标本制作与观察 取右侧胫骨近干骺端沿冠状面剖开,生理盐水冲洗,制成 1 mm ×

1 mm × 1 mm 的标本。依次进行标本固定、脱水、包埋、半薄切片制作、超薄切片制作及染色。SEM - JEOL5600 电镜下观察标本、拍照。

1.4 骨小梁微结构分区 1 区:节点 Node (Nd); 2 区:节点 - 柱 Node - Strut (Nd - St); 3 区:柱 Strut (St); 4 区:柱 - 末端 Strut - Terminus (St - Tm); 5 区:末端 Terminus (Tm) (图 1)。

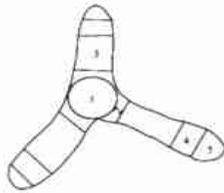


图 1 骨小梁微结构分区

Fig.1 Micro-texture area of bone trabecular

2 结果

2.1 扫描电镜

2.1.1 SHAM 组 胫骨近端松质骨由棒柱状或板条状骨小梁构成,骨小梁的走行分为与胫骨纵轴平行的垂直方向和与纵轴大致垂直的水平方向。骨小梁排列整齐而致密,垂直骨小梁厚实,水平骨小梁稍细,二者相互铰链形成立体网状结构。Nd区厚实,

表面光滑,有光泽;Nd-St 区骨小梁表面转折平缓,无中断,表面光滑;St 区浑圆而粗细均匀,表面光滑;Tm 间分界整齐,极少有间隙,无明显骨折。小梁表面覆盖未矿化的胶原纤维丝。同一板层的胶原纤维平行排列,相邻板层交叉排列,各层胶原纤维丝取向规整,排列紧密,束状纤维丝之间有细丝作斜性连接,状如胶原纤维丝。局部可见骨吸收与骨形成表面,范围较小,吸收陷窝较浅;重建表面内为成骨细胞,陷窝内各阶段的成骨细胞形态不一,结构有别,处于分泌旺盛期的成骨细胞形状饱满、表面被前胶原蛋白和矿化物晶体颗粒包裹,陷窝的周边分布着大量前胶原蛋白 (procollagen)、原胶原蛋白 (tropocollagen) 以及结晶体颗粒和少量而稀疏的胶原微纤维丝 (collagenic fibrils) (图 2),修复后的胶原纤维方向与同板层一致。破骨细胞很少。

2.1.2 OVX 组 骨小梁呈板条状或短棒状结构,但 4、8、12 周后,随着卵巢切除时间的推移,骨小梁逐渐变稀疏,小梁网状结构逐渐被破坏而消失。垂直骨小梁变细,水平骨小梁有些成为冰锥状或细竿状或短锥状甚至中断消失 (图 3 - 5)。4 周时骨小梁已出现广泛的骨重建表面,吸收陷窝分布于小梁表面。



图 2 SHAM 组功能旺盛的成骨细胞 (SEM × 4500) 图 3 OVX 组冰锥状骨小梁 (12 周) (SEM × 300) 图 4 OVX 组细杆状骨小梁 (12 周) (SEM × 300) 图 5 OVX 组短锥状骨小梁 (12 周) (SEM × 300)

Fig.2 Productive osteoblast of function in SHAM group (SEM × 4500) Fig.3 Ice-conoid bone trabecula in OVX group (12th week) (SEM × 300) Fig.4 Micro-rod bone trabecula in OVX group (12th week) (SEM × 300) Fig.5 Short conoid bone trabecula in OVX group (12th week) (SEM × 300)

吸收陷窝层次分明,表面为未矿化的致密胶原纤维层,下面依次为不同层面的板层骨基质的吸收层面的断端,各断端边缘参差不齐,边缘线形状不一,吸收陷窝的层面面积随吸收陷窝的逐渐加深而逐渐缩小,吸收陷窝的最底层见一骨陷窝,骨陷窝内未见骨细胞,骨陷窝表面可见杂乱、稀薄的纤维丝,吸收陷窝的不同层面的板层骨可见微骨折,骨折线一直延续至吸收陷窝的底层 (图 6)。Nd-St 区界面转折处已不再光滑平缓,而变得凹凸不平或明显下陷;St 区

骨小梁表面不光滑,失去光泽,变得凹凸不平或明显下陷;Tm 间的间隙距离增大,但网状结构较完整存在。骨小梁排列开始有些稀疏。8 周时骨小梁网状结构继续被破坏。12 周时骨小梁网状结构仍然存在,但已遭严重破坏而变得破碎,以节点为中心的骨小梁微构筑大片消失,垂直骨小梁明显变细;水平骨小梁变薄、变细、穿孔,甚至有的中断 (图 7)。一些骨小梁的形状各呈细竿及冰锥状、短锥状、短棒状不等。骨小梁表面未被矿化的胶原纤维依 4、8、12 周

渐次因骨吸收表面的范围扩展而逐渐稀疏直至消失。已变成细竿及冰锥状、短尖锥状、短棒状的骨小梁表面看不到未被矿化的胶原纤维(图 8)。12 周时出现大面积的裸露矿化基质表面,表面分布着大大

小小连成片的吸收陷窝,并见到 Nd-St 区、St 区相
对其它区吸收范围广而且吸收陷窝深的表面(图 9)。
破骨细胞吸收骨时,先将表面致密的骨基质分解疏松,然后分层吸收,吸收陷窝的底部与骨陷窝相通并

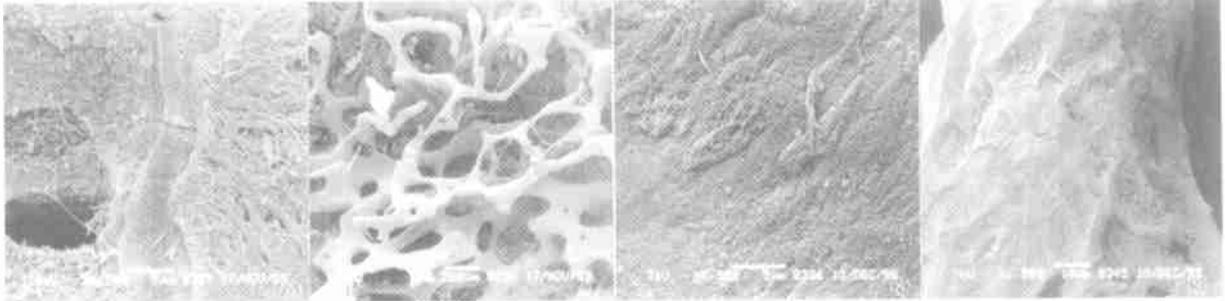


图 6 OVX 组骨小梁(12 周)(SEM×70) 图 7 OVX 组骨小梁骨质裸露情况(12 周)(SEM×4 500) 图 8 OVX 组骨小梁(12 周) NdSt 区骨重建表面(SEM×4 500) 图 9 OVX 组骨吸收陷窝(4 周)(SEM×4 500)
Fig.6 Bone trabecula of OVX group(12th week) (SEM×70) Fig.7 Naked condition of trabecular bone matrix in OVX group (12th week) (SEM×4 500) Fig.8 Bone remodeling of NdSt area of bone trabecula in OVX group(12th week) (SEM×4 500). Fig.9 Absorptive lacuna of bone in OVX group(4th week)(SEM×4 500)

见一骨折线。

2.2 透射电镜 对卵巢切除后 12 周的大鼠胫骨破骨细胞的形态结构进行观察发现,功能活跃的破骨细胞较多见。破骨细胞对骨质进行吸收时,紧紧贴附于骨质表面,将指状突起伸向骨质深处,指状突起形状、大小相差悬殊。指状突起周围可见透亮区。破骨细胞多核,胞浆丰富,胞浆内含有发达的高尔基复合体、滑面内质网和大量的线粒体(图 10)。细胞体内见大小不等、电子密度不均的溶酶体包含物。成骨细胞少见,胞体边缘不光滑,周围出现骨陷窝轮廓。

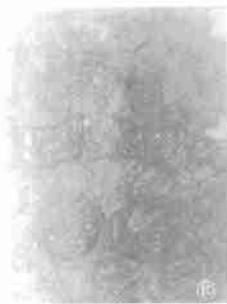


图 10 OVX 组破骨细胞体中丰富的线粒体(12 周)(EMO×30 000)
Fig.10 Rich mitochondria among osteoclast in OVX group (12th week)(EMO×30 000)

3 讨论

早期的研究认为,骨力学强度主要由骨的矿物质含量决定。但随着研究的深入,发现当骨量降低时并不一定引起骨折的发生,而某些骨密度高的疾病如石骨症等,却时有骨折的发生^[1],因而认为骨量并不能完全反映骨小梁的稳定性和强度的高低。骨

的强度和稳定性除由骨量决定外,还与骨内部结构有关。对于松质骨来说骨小梁的强度与稳定性与其微构筑的方式有关^[2,3]。目前认为,松质骨连接性参数即小梁骨的节点数和游离末端数是反映松质骨显微构筑的重要参数,而松质骨的构筑情况可直接影响其力学性能。有学者根据大鼠椎体骨小梁参数测量的结果提出,骨小梁节点数的下降和游离末端数的增加,是骨质疏松症的主要病理特征^[4-6]。

本实验所见 SHAM 组的胫骨骨小梁呈网状结构,力学上具各向性。根据与胫骨纵轴的关系将骨小梁分为与纵轴平行的垂直骨小梁和与纵轴垂直的水平骨小梁,因承受身体垂直方向的压应力故垂直骨小梁较粗,横向骨小梁较细。

本实验观察到 OVX 后的破骨细胞活性逐渐增强,表现为数量明显增多,细胞内含有大量功能旺盛的细胞器,胞体紧紧贴附于骨小梁表面和裸露的骨基质表面。成骨细胞的活性明显下降,表现为成骨细胞的数量明显减少,成骨细胞的分泌功能明显下降。由于破骨细胞的活性增强,吸收作用增加,成骨细胞功能下降,原来致密、排列整齐规律的表面胶原纤维逐渐变得零碎杂乱、稀薄甚至钙化的基质大片裸露。在骨小梁微构筑上,OVX 后由于破骨细胞活性增加的作用,骨吸收能力不断增强使得骨小梁变薄、变细、穿孔,骨小梁末端的距离拉大。从骨小梁的网状结构变化看,虽然其垂直骨小梁和水平骨小梁已开始变细、变薄,但卵巢切除第 4 周其网状结构比较完整;随着 OVX 后的时间推移,骨小梁逐渐变

薄、穿孔、消失,而且这些现象大多发生于水平骨小梁;骨小梁的微结构破坏范围加大,使 8、12 周骨小梁的网状结构的完整性被破坏,12 周时,骨小梁节点数明显减少,游离末端数明显增加。OVX 后 4、8、12 周随着时间的推移原来致密、排列整齐规律的小梁表面的胶原纤维,逐渐变得零碎、杂乱、稀薄。分析其原因可能与 OVX 后破骨细胞活性逐渐增强而成骨细胞功能明显不足有关。成骨细胞修复骨吸收陷窝时,分层修复的胶原纤维的排列取向与同板层一致,修复后覆盖于陷窝的组织略高出于被修复的表面;破骨细胞吸收骨组织时,先将骨小梁表面组织溶解,然后逐层吸收,吸收的板层面积依次缩小。本实验所观察到的吸收陷窝的最底层均有一骨陷窝与之相通,但这种现象有否共性?若有共性其在骨重建

中的意义如何?尚待进一步研究。

参考文献

- 1 Seeman E. The structure basis of bone fragility in men. *Bone*, 1999, 25:143-147.
- 2 Jensen KS, Mosekilde LI. A model of vertebra trabecular bone architecture and its mechanical properties. *Bone*, 1990, 11:417.
- 3 Odgaard A, Gunderson HJ G. Quantitation of connectivity in cancellous bone, with special emphasis on 3-D reconstructions. *Bone*, 1993, 14:173.
- 4 戴克戎,汤亭亭,薛文东,等.骨质疏松症松质骨连接性参数改变与计算机辅助测量. *中国骨质疏松杂志*, 2000, 6:19-22.
- 5 Compston J E. Connectivity of cancellous bone assessment and mechanical implications. *Bone*, 1994, 15(6):463-466.
- 6 Hahn M, Vogel M, Pompesius-Kempa M, et al. Trabecular bone pattern factor: a new parameter for simple quantification of bone microarchitecture. *Bone*, 1992, 13:327.

(收稿日期:2003-07-28 本文编辑:连智华)

病例报告

股外侧皮神经卡压综合征长期误诊及误治 1 例

Misdiagnosis and wrong treatment of 1 patient with lateral femoral cutaneous nerve entrapment syndrome

秦泗河,焦绍锋

QIN Si-he, JIAO Shaofeng

关键词 神经卡压综合征; 误诊 **Key words** Nerve compression syndromes; Diagnostic errors

患者男,40岁,甘肃省某医院院长,因右下肢麻木、疼痛 12 年,加重 3 年,行走功能障碍,于 2001 年 9 月来我院矫形外科就诊。患者 1990 年始出现右下肢股外侧麻木疼痛并放射到膝关节,长久站立行走则显著加重,曾于 1994 年、1995 年在上海、北京几个大医院做骨科检查,磁共振显示“L_{3,4}椎间盘突出”,经硬膜外腔封闭治疗 5 周无效,1996 年始出现腰痛,曾在兰州某大医院行椎管造影无明显异常,并按“皮神经炎”药物封闭治疗无效。近 3 年来症状显著加重,站立行走不足 10 min 即难以继续,仰卧睡觉有时亦会痛醒。既往病史:1982 年在右臀外侧部有剧烈钝器外伤,无骨折及皮肤撕裂伤,伤后 2 周逐渐恢复。常规检查:全身各系统未见明显异常,右下肢 X 线片未见异常,腰椎和髌、膝关节活动范围正常,右股外侧约手掌大范围感觉障碍。在髌前上棘下 0.5 cm 处用力揉压,有放射性疼痛、麻木, Tinel 征阳性。

该患者诊断为右股外侧皮神经卡压综合征,2001 年 9 月 10 日在局麻下行手术松解,术中见股外侧皮神经在髌前上棘下出口处有一硬性条索扣压,神经近端明显膨大,卡压处神经

有明显压迹,术后 1 年随访,右腿的疼痛麻木消失,行走功能恢复正常。

讨论

股外侧皮神经于髌前上棘内侧下 1.0~1.5 cm 处穿出腹股沟韧带的纤维管道长约 2.5~4.0 cm,此处神经干较为固定,周围组织结构致密,因此,当肢体活动或体位不当时,容易使其受到牵拉、摩擦、挤压等,造成局部组织水肿,瘢痕形成,引起神经卡压^[1]。此例患者由于臀部外侧钝器伤后,血肿机化形成瘢痕,压迫股外侧皮神经而引起症状。单纯股外侧皮神经卡压不难诊断,但此患者合并有腰椎间盘突出,影像学检查转移了医生的注意力,以致该病例长期误诊、误治,所以骨科疾病的诊断应重视病史、症状和查体,不能过分依赖影像学检查。

参考文献

- 1 董福慧. 皮神经卡压综合征. 北京:北京科技出版社, 2002. 151-154.

(收稿日期:2003-05-09 本文编辑:连智华)