维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2007)02-0150-04

辛伐他汀对去势大鼠骨质疏松防治作用的试验研究

马庆芬,姚珍薇

(重庆医科大学附属第一医院妇产科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察辛伐他汀对去势大鼠骨质疏松防治的作用。方法:40 只雌性 SD 大鼠,随机平均分为 4 组,即假手术组、去势对照组、雌激素组(苯甲酸雌二醇 0.1mg/kg,每三天皮下注射一次,连续用药至动物处死)、辛伐他汀组(辛伐他汀 5mg/(kg.d)灌胃连用 2 周,停用 5 周,再连用 2 周,停药处死动物)。术后一个月开始药物干预。试验开始及处死动物后分别测定大鼠股骨的骨密度,放射免疫法测定 IL-6、BGP 的值,光镜下观察大鼠股骨病理学变化。结果:试验结束时,去势对照组大鼠骨密度 BMD 低于假手术组,雌激素组、辛伐他汀组的 BMD 高于去势对照组,均 $P<0.05$。去势对照组的 IL-6 的值高于假手术组,治疗组 IL-6 的值低于去势对照组,而雌激素组 IL-6 的值低于辛伐他汀组,均 $P<0.05$。去势对照组的 BGP 高于假手术组,而治疗组的 BGP 高于去势对照组,辛伐他汀组的 BGP 高于雌激素组,均 $P<0.05$。治疗组与去势对照组相比骨组织病理学变化均有改善。结论:辛伐他汀能增加骨质疏松大鼠的骨密度,改善骨组织病理学变化,提高 BGP 的水平,降低 IL-6 的水平,有效的防治骨质疏松。

【关键词】辛伐他汀;骨质疏松

【中国图书分类法分类号】R681;R711.75 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-06-29

Study on prevention and therapeutic effects of simvastatin on osteoporosis in rats

MA Qingfen, et al

(*Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the prevention and therapeutic effects of simvastatin on the osteoporosis in rats. *Methods*: Forty SD female rats were randomly divided into four groups: sham operation group, OVX group, estrogen group and simvastatin group. One month after OVX operation, we began medicine intervention. Estrogen group was subcutaneously injected EB(0.1mg/kg)per triduum until being sacrificed. Simvastatin group was intragastrically administered simvastatin 5mg/(kg.d)for 2 weeks, then the administration was stopped for 5 weeks and then continued for 2 weeks until being sacrificed. After the intervention, we observed the change of rats' BMD, bone histopathology and expressions of IL-6 and BGP. *Results*: The level of BMD in OVX group was lower than that in the sham group ($P<0.05$). The level of BMD raised in treated groups compared to the OVX group ($P<0.05$). The expression of IL-6 in OVX group raised compared to the sham group ($P<0.05$). The expression of IL-6 in all treated groups degraded compared to the OVX group ($P<0.05$), especially in the estrogen group. The expression of BGP in OVX group raised compared to the sham group ($P<0.05$). The expression of BGP in all treated groups, especially the simvastatin group, significantly raised compared to the OVX group ($P<0.05$). The change of bone histopathology in treated groups was ameliorated compared to the OVX group. *Conclusion*: Simvastatin could effectively prevent and cure osteoporosis by elevating BMD, ameliorating the bone histopathology, raising the expression of BGP and degrading the expression of IL-6.

【Key words】Simvastatin; Osteoporosis

骨质疏松症是老年人常见病、多发病之一,其治疗是临床上尚未解决的难题之一。他汀类药物是目前临床应用于降低胆固醇、预防心血管疾病的常用药物[1]。1999 年 Mundy 等[2]首先报告了他汀类药物具有促进成骨细胞分化及新骨形成的作用,开启了他汀类药物临床使用的新领域。目前骨形成刺激剂如甲状旁腺激素 (PTH), 氟化物,1,25-$(OH)_2D_3$ 等,由于 PTH 价格昂贵,氟化物副作用较多,骨形成刺激剂的临床应用受到限制。本试验间断应用辛伐他汀,观察其对骨质疏松的防治作用,为骨质疏松的临床治疗提供一种新的方法。

1 材料和方法

1.1 动物实验模型

作者介绍:马庆芬(1979-),女,硕士生,
主要研究方向:妇科内分泌。

维普资讯 http://www.cqvip.com

选用 40 只雌性 SD 大鼠,3 月龄,体重 210~240g(重庆医科大学动物中心提供)。适应性喂养 1 周后随机平均分为 4 组:辛伐他汀组、雌激素组、去势对照组、假手术组。去势组手术在 3%水合氯醛(1ml/100g)腹腔麻醉下,行下腹正中切口,切除双侧卵巢,假手术组只进行下腹部皮肤单纯切开缝合术。术前各组大鼠的体重和骨密度没有明显差异($P>0.05$)(表 1)。

表 1 实验动物分组情况体重、骨密度均采用($\bar{x}\pm s$)

组别	体重(g)	骨密度(g/cm²)
序贯组	229±16	0.149±0.009
辛伐他汀组	235±17	0.150±0.01
雌激素组	239±20	0.149±0.01
去势对照组	240±22	0.152±0.006
正常对照组	237±11	0.152±0.01

实验前各组体重、BMD 无明显差别($P>0.05$)

1.2 动物分组与给药

术后 1 个月开始药物干预:辛伐他汀组:服用辛伐他汀(商品名舒降之,杭州默沙东制药有限公司生产)5mg/(kg.d)灌胃 2 周,停药 5 周,再继续服用辛伐他汀(5mg/(kg.d)灌胃)2 周,停药动物处死;雌激素组:去势后用苯甲酸雌二醇(0.1mg/kg,每 3 天注射 1 次),连续用药至动物处死;去势对照组;假手术组。术前各组间体重差别无明显统计学意义($P>0.05$)。所有的大鼠均给予标准全价颗粒饲料。期间根据大鼠体重调整药物的剂量。

用药 9 周后处死所有大鼠,取双侧完整股骨,小心除净周围软组织,固定以备进行骨密度和骨组织病理学观察。心脏采血,分离血清备用。

1.3 检测指标

1.3.1 骨密度测定 取大鼠右侧完整的股骨,在双能 X 线骨密度仪(Norland XR-46)上进行股骨 BMD(g/cm²)测定,结果自动打印。

1.3.2 骨代谢指标测定方法

用药 9 周后处死大鼠,心脏采血,离心后留取血清,进行下列指标的测定:

1.3.2.1 血清白介素 -6 的测定:采用放射免疫法(解放军总医院科技开发中心放免所试剂盒)。测定仪器为 DFM-96 型 10 管放射免疫 γ 计数器(众成机电技术公司)。

1.3.2.2 血清骨钙素的测定:采用放射免疫法(解放军总医院科技开发中心放免所试剂盒)。测定仪器为 DFM-96 型 10 管放射免疫 γ 计数器(众成机电技术公司)。

1.3.3 骨组织病理学观察 截取各组大鼠左侧股骨的上 1/3 段,固定后逐级脱水,硝酸溶液脱钙,取矢状面切片 HE 染色,光镜下观察骨小梁组织形态显微结构。

1.4 数据的统计学处理

所有数据均使用 SPSS11.5 统计分析软件处理,结果以$\bar{x}\pm s$表示。各组间差异比较采用单因素方差分析,设定 $\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 各组骨密度情况 BMD(g/cm²)

去势组与正常对照组相比,BMD 明显降低($P<0.05$)。与去势对照组相比,其余各组的 BMD 明显增加($P<0.05$),辛伐他汀组与雌激素组的 BMD 没有差异($P>0.05$)(表 2)。

2.2 血清 IL-6 的值

辛伐他汀组 IL-6 的值低于去势对照组($P<0.05$),与正常对照组相比没有明显变化($P>0.05$)。辛伐他汀组 IL-6 的值高于雌激素组($P<0.05$)(表3)。

表 2 实验后大鼠股骨骨密度($\bar{x}\pm s$)

组别	体重(g)	骨密度(g/cm²)
辛伐他汀组	304.2±18.40	0.172±0.0075*
雌激素组	316.4±17.91	0.171±0.0104*
去势对照组	343.8±21.25	0.154±0.0108
假手术组	286.5±15.99	0.171±0.0102*

注:与去势对照组相比,*$P<0.05$

表 3 各组的 IL-6($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	体重(g)	IL-6(pg/ml)
辛伐他汀组	10	304.2±18.40	73.3±19.9*
雌激素组	10	316.4±17.91	52.5±16.1*
去势对照组	10	343.8±21.25	91.8±26.6
假手术组	10	286.5±15.99	71.4±10.5*

注:与去势对照组相比,*$P<0.05$

2.3 血清 BGP 的值

辛伐他汀组 BGP 的值与其余各组相比增高($P<0.05$),去势对照组与假手术组相比 BGP 的值升高($P<0.05$)(表 4)。

表 4 各组的 BGP($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	体重(g)	BGP(μg/l)
辛伐他汀组	10	304.2±18.40	0.315±0.145*
雌激素组	10	316.4±17.91	0.218±0.185*
去势对照组	10	343.8±21.25	0.175±0.207
假手术组	10	286.5±15.99	0.126±0.086

注:与去势对照组相比,*$P<0.05$

2.4 骨组织病理学变化

各组大鼠股骨的 HE 染色后,观察骨组织学变化:假手术组的骨小梁排列整齐,互相连接成网格

维普资讯 http://www.cqvip.com

状结构,骨小梁粗大,连续性好。去势对照组大鼠骨髓腔相对扩大,在有些区域甚至出现大片无骨小梁的骨髓区,骨小梁明显变得稀疏,有些中断,同时出现骨小梁明显变细,间距加宽,骨小梁表面骨吸收陷窝增多,可见较多的破骨细胞等明显的骨质疏松病理改变。雌激素组和辛伐他汀组与去势对照组相比,骨小梁排列紧密,连续性好,网状结构恢复,骨小梁厚度增加,间隙变窄(图 1~4)。

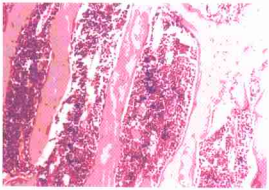


图 1 假手术组(100×)

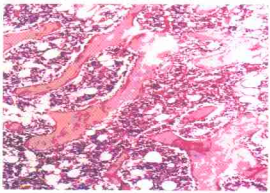


图 2 去势组(100×)

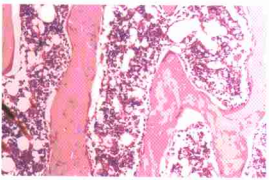


图 3 雌激素组(100×)

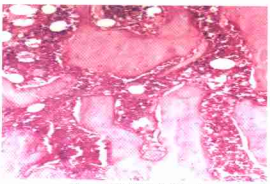


图 4 辛伐他汀组(100×)

3 讨 论

3.1 大鼠骨质疏松模型建立

本实验中去势对照组的骨密度(0.154±0.0108 g/cm²)明显低于假手术组的骨密度(0.171±0.0102 g/cm²)($P<0.05$);与假手术组相比,去势对照组的骨组织病理学出现明显的骨质疏松改变。表明大鼠骨质疏松模型建立成功。

3.2 他汀类药物

是目前临床应用于降低胆固醇、预防心血管疾病的常用药物。1999 年 Mundy 首次研究发现[3],他汀类药物具有促进新骨形成,增加骨密度,恢复微结构,增加其强度等作用,也即具有非降脂的促进骨形成作用。本实验中,我们发现辛伐他汀具有明显增加大鼠骨密度和改善骨组织病理学变化的作用,与单纯去势对照组相比差异有显著性($P<0.05$),表明辛伐他汀对骨质疏松有较好的防治作用。与文献报道辛伐他汀对骨质疏松的作用一致。有人认为[3],他汀类药物促进骨形成主要是通过增加 BMP-2 基因启动子的数量和活性发挥作用,BMP-2 增加的同时反映成骨作用的 ALP 及骨钙素的活性明显增强。

3.3 辛伐他汀抗骨质疏松的作用机制

目前认为,在骨质疏松的发病过程中 IL-6 是重要的破骨细胞调节因子之一,是破骨细胞活性的介导剂[4],能刺激破骨细胞前体的募集、增殖、分化以及新的破骨细胞的形成,另外尚能激活已成熟的破骨细胞,从而使转换增加[5]。Rezale-Majd A 等[6]研究证实,辛伐他汀可以降调节 IL-6 在内皮细胞和白细胞中的表达。而在骨细胞中的研究较少。

本实验中,我们发现辛伐他汀可以降低 IL-6 的表达,辛伐他汀组 IL-6 的值明显低于去势对照组,但高于雌激素组,差异均有显著性($P<0.05$)。表明辛伐他汀可以通过对破骨细胞的抑制抗骨吸收,但是对骨吸收的抑制作用要弱于雌激素对骨吸收的抑制。

骨钙素主要由骨形成性细胞如成骨细胞、骨细胞、骨肉瘤细胞等产生。BGP 在维持骨的正常矿化速率、抑制异常的羟磷灰石结晶、抑制软骨矿化速

维普资讯 http://www.cqvip.com

率中起重要作用。血中 BGP 浓度可特异的反映成骨细胞的活性，可用于判断成骨细胞活性受抑制的程度；在骨吸收过程中基质 BGP 又可释放于血液中。因此 BGP 水平可作为判断骨转换状况、反映骨更新的一项特异生化指标，对观测药物治疗前后的动态水平有一定参考价值。

本实验结果显示，去势对照组的 BGP 的值高于假手术组($P>0.05$)，表明去势后大鼠处于高转换状态。辛伐他汀组的 BGP 明显高于去势对照组和雌激素组($P<0.05$)，本实验结果与文献资料报道一致[7,8]，表明辛伐他汀可以通过增加 BGP 的值促进骨形成，较好的防治骨质疏松症。

他汀类药物的主要副作用是肝脏和肌肉组织的毒性，使肝脏转氨酶活性增加并引起肌炎。可否通过间断用药以减少药物用量，降低上述副作用，还需进一步研究。

参 考 文 献

[1] Rossouw JE,Lewis B,Rifkind BM.The value of lowering cholesterol after myocardial infarction[J].N Engl J Med,1990;323(16):1112-1119.

[2] Mundy G,Garrett R,Harris S,et al.Stimulation of Bone Formation in Vitro and in Rodents by Statins[J].Science,1999;286(5446):1946-1949.

[3] 宋纯理，党耕町，郭昭庆，等.辛伐他汀对成骨细胞骨形态发生蛋白表达及碱性磷酸酶活性的影响[J]. 中华外科杂志，2002;40(7):552- 552.

[4] Vargas SJ,Napreta A,Lee SK,et al.Lack of evidence for an increase in interleukin-6 expression in adult murine bone,bone marrow,and marrow strumal cell cultures after ovariectomy[J].J Bone Miner Res,1996;11(12):1926-1934.

[5] Roodman GD.Interleukin-6:an osteotropic factor[J].J Bone Miner Res,1992;7(5):475-478.

[6] Rezale-Majd A,Maca T,Bucek RA,et al.Simvastatin reduces expression of cytokines interleukin-6,interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 in circulating monocytes from hypercholesterolemic patients[J].Arterioscler ThrombVsc Biol,2002;22(7):1194-1199.

[7] Rejnmark L,Buus NH,Vestergaard P,et al.Statins decrease bone turnover in postmenopausal women:a cross-sectional study[J].European Journal of clinical investigation,2002;32(8):581-589.

[8] Whitney C,Warburton DE,Frohlich J,et al.Are cardiovascular disease and osteoporosis directly linked[J].Sports Med,2004;34(12):779-807.

(上接第 149 页)

Medicina(B Aires),2003;63(6):704-710.

[11] Kowalska I,Kinalski M,Straczkowski M,et al.Insulin,leptin,IGF-I and insulin-dependent protein concentrations after insulin-sensitizing therapy in obese women with polycystic ovary syndrome [J].Eur Endocrinol,2001,144(5):509-515.

[12] Bruning JC,Gautam D,Burks DJ,et al.Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction[J].Science,2000;289(5487):2122-2125.

[13] Sun F,Yu J.The effect of a special herbal tea on obesity and anovulation in androgen-sterilized rats [J].Proc Soc Exp Biol Med,2000;223(3):295-230.

[14] Kiddy D,Hamilton-Fairley D,Bush A,et al.Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome [J]. Clin Endocrinol(Oxf),1992;6:105-111.

[15] Yang Hui,Cao zuansun,chen xiaoyan,et al.Study on the relationship between leptin and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome [J].Journal of Practical Obstetrics and Gynecology of china(in Chinese),2002;18(7):403-405.

[16] Vicennati V,Gambineri A,Calzoni F,et al.Serum leptin in obese women with polycystic ovary syndrome is correlated with body weight and fat distribution but not with androgen and insulin levels [J]. Metabolism,1998;47(8):988-992.

[17] 杨 卉，曹缵孙.多囊卵巢综合征胰岛素抵抗与瘦素关系的探讨[J].中国实用妇科与产科杂志，2002;18(7):403-405.