

· 药物研究 ·

钙剂对实验性骨质疏松大鼠多指标的影响

刘和娣 李 恩 佟晓旭 刘 崑

摘要 本实验给大鼠肌肉注射地塞米松(0.1mg/100g 体重),分别喂食低钙饲料和高钙饲料,观察大鼠骨灰重,骨密度,骨组织学形态及体内雌二醇、 PGE_2 、 $1,25-(OH)_2-D_3$ 和 cAMP 的变化。结果表明,低钙组大鼠骨盐丢失明显,且血中雌二醇、 $1,25-(OH)_2-D_3$ 下降,而 PGE_2 和 cAMP 则升高。高钙组大鼠则无上述变化,接近正常大鼠水平,说明钙剂可对抗地塞米松对骨代谢的影响。

关键词 骨质疏松、 PGE_2 、雌二醇、 $1,25-(OH)_2-D_3$

*Influence of calcium on estrogen, PGE_2 , $1,25-(OH)_2-D_3$ and cAMP
in osteoporotic rat models*

Liu Hedie, Li En, Tong Xiaoxu et al

(Department of Biochemistry, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract In this experiment we gave rats dexamethasone by intramuscular injection and low calcium or high calcium food to observe, eight weeks later, the changes of estradiol, PGE_2 , $1,25-(OH)_2-D_3$ and cAMP in blood and bone metabolism. As a result, the rats fed with low calcium food developed osteoporosis. In these rats, the estradiol and $1,25-(OH)_2-D_3$ decreased, while PGE_2 and cAMP increased. The rats fed with high calcium food did not exhibit these changes, suggesting that calcium could resist the effect of dexamethasone on bone metabolism.

Key words Osteoporosis Prostaglandin E Estradiol Vitamin D₃

骨质疏松是一种全身性骨量减少及骨组织结构改变,伴有骨脆性增高及易导致骨折的疾病。其发病机理复杂,可能与雌激素的降低,甲状旁腺素的升高,肠钙吸收能力的下降,尿钙排出增加等多因素有关^[1]。本实验给大鼠肌肉注射地塞米松,并分别喂食低钙和高钙饲料,观察钙剂对地塞米松致骨质疏松的影响和体内雌激素、 $1,25-(OH)_2-D_3$ 、 PGE_2 、cAMP 的变化及相互关系。

1 材料和方法:

参照张履祥的方法^[2],建立大鼠骨质疏松动物模型。实验选用3月龄健康雌性大鼠30只,实验室常规喂养一周后,随机分成3组。正常对照组:食用正常饲料,饮用自来水,肌肉注

射等量生理盐水;低钙组:食用低钙饲料,饮用蒸馏水,肌肉注射地塞米松0.1mg/100g 体重,每周二次;高钙组:处理方法同低钙组大鼠,改用高钙饲料代替低钙饲料喂养。

连续喂养8周后,心脏取血,测血中雌二醇、 $1,25-(OH)_2-D_3$ 、 PGE_2 、cAMP 的变化,并处死大鼠取肾组织做匀浆,测肾组织中 PGE_2 、cAMP 的变化,取第一腰椎做骨切片观察骨组织形态结构的变化,并测大鼠腰椎的骨灰重和骨密度的变化。雌二醇的测定采用北方所提供的放免试剂盒; PGE_2 测定采用北京301医院基础所生化室提供的放免试剂盒;cAMP 测定药盒由原子能所提供,操作均按说明书进行; $1,25-(OH)_2-D_3$ 的测定由白求恩医科大学中心实验室同位素室协助完成,采用放射性受体蛋白结合法;骨密度测定是60℃干燥后用日本

Screen 公司的 DM-257 骨密度测量仪测定, 骨灰重是在 600 C 高温炉中灰化 8 小时后由分析天平测得。

实验动物由河北省实验动物中心提供的纯系 SD 大鼠, 饲料为本校动物室配制, 低钙饲料含钙量为 0.2%, 正常饲料和高钙饲料均是在低钙饲料的基础上加碳酸钙调整而成, 其钙含量分别为 0.6% 和 1.2%。地塞米松为市售针剂 (2mg/ml), 为准确用量, 用前生理盐水稀释四倍。

2 结果

2.1 低钙组大鼠的变化: 实验结果表明低钙组大鼠骨灰重、骨密度与正常大鼠比较明显下降 ($p < 0.01$)。骨组织学切片可见骨小梁数目明显减少, 排列不整, 骨髓量增加, 高倍视野见成骨细胞减少, 破骨细胞增多, 呈骨质疏松状态, 血生化检测见血雌二醇, $1,25-(OH)_2-D_3$ 与正常大鼠比较明显降低 ($p < 0.05$), 血及肾组织的 PGE_2 、cAMP 的水平明显高于正常大鼠 ($p < 0.01$), (见附表, 附图)。

附表 钙剂对地塞米松致骨质疏松大鼠多指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 测定指标 | 动物数 | 低钙组 | 正常组 | 高钙组 |
|-----------------------------|-----|-----------------|--------------------|------------------|
| 骨灰重 ($T_7 \sim L_3$ 总量 mg) | 10 | 627.07 ± 154.23 | 701.43 ± 87.65** | 681.02 ± 50.80* |
| 骨密度 (mg/cm^2) | 10 | 30.02 ± 1.14.25 | 368.09 ± 15.90** | 355.93 ± 25.54* |
| 血雌二醇 (pg/ml) | 10 | 51.46 ± 18.46 | 124.27 ± 13.21*** | 110.87 ± 34.76* |
| 血 $1,25-(OH)_2-D_3$ (pg/ml) | 10 | 53.35 ± 16.09 | 72.41 ± 9.95* | 49.59 ± 14.92* |
| 血 PGE_2 (pg/ml) | 10 | 168.47 ± 202.10 | 607.65 ± 170.02*** | 743.09 ± 215.78* |
| 肾组织 PGE_2 (pg/g 湿组织) | 10 | 110.33 ± 109.79 | 268.48 ± 83.61*** | 312.79 ± 99.71* |
| 血 cAMP (umol/mL) | 10 | 21.12 ± 3.59 | 13.67 ± 4.70** | 14.93 ± 5.19* |
| 肾组织 cAMP (p/g 湿组织) | 10 | 1.365 ± 0.677 | 0.594 ± 0.381** | 0.622 ± 0.297* |

注: 与病理组比较 *** 示 $p < 0.002$ ** 示 $p < 0.01$ * 示 $p < 0.05$



图 1 正常大鼠第一腰椎骨切片 (HE 染色, 60 倍)



图 2 高钙治疗组大鼠第一腰椎骨切片 (HE 染色, 60 倍)

2.2 高钙组大鼠的变化: 结果表明, 高钙组大鼠骨灰重, 骨密度变化不明显, 与正常大鼠比较无统计学差异, 与低钙组大鼠比较则有统计学差异 ($p < 0.05$), 高钙组大鼠血中雌二醇、 $1,25-$

$(OH)_2-D_3$ 的水平明显高于低钙组大鼠 ($p < 0.05$), 与正常大鼠比较无统计学差异。血及肾组织中的 PGE_2 和 cAMP 接近正常大鼠水平, 明显低于低钙组大鼠 ($p < 0.05$), 骨组织学切

片可见高钙组大鼠变化不明显,基本接近正常大鼠。同时发现低钙组、高钙组和正常组大鼠前中雌二醇与 $1,25-(OH)_2-D_3$ 呈明显正相关($r=0.4, p<0.01$), PGE_2 与 $1,25-(OH)_2-D_3$ 呈明显负相关($r=-0.53, p<0.01$)。

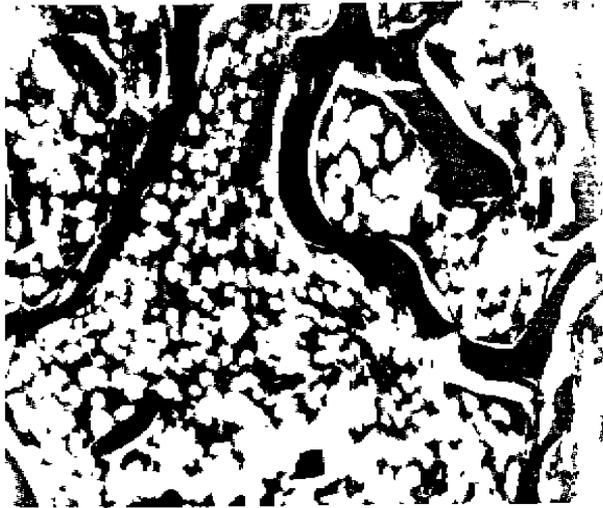


图3 低钙治疗组大鼠第一桡骨切片
(HE染色,×100)

3 讨论

随着人口老龄化,骨质疏松已经成为威胁人类健康的社会问题,且皮质激素和钙剂在其发病中均起着重要作用。文献报道^[1],地塞米松具有抗维生素D,减少肠钙吸收,增加尿钙排泄,抑制成骨,促进破骨等作用。加之喂食低钙饲料,诱发大鼠的骨质疏松,实验证明此模型可以用于骨质疏松的实验研究,且简便,经济,可靠。

许多学者认为,雌激素的降低是诱发绝经后女性骨质疏松的主要原因,也有学者发现, PGE_2 参与了骨代谢,被誉为“骨吸收因子”,且破骨细胞可产生大量的 PGE_2 。而 $1,25-(OH)_2-D_3$ 是参与骨代谢调节的因素之一,cAMP则作为第二信使参与激素的调节。这些因素在骨质疏松发病中的相互影响则很少有人探究。文献记载雌二醇可促进 1α -羟化酶的活性, PGE_2 则抑制 1α -羟化酶的活性,从而

降低和/或 PGE_2 的升高均可使 1α -羟化酶的活性下降,而使 $1,25-(OH)_2-D_3$ 水平下降, $1,25-(OH)_2-D_3$ 的下降必然导致肠钙结合蛋白合成障碍,肠钙吸收减少,尿钙排出增加,血钙降低,诱发甲状旁腺功能亢进,骨盐溶解,最终导致骨质疏松。而破骨细胞的活跃可进一步产生大量的 PGE_2 ,形成恶性循环。大量钙剂的补给,使钙的被动吸收增加,血钙水平增加,即可阻断继发性甲状旁腺功能亢进,也就阻断了恶性循环的发生。cAMP则可能作为 PGE_2 的第二信使发挥作用。本实验低钙组大鼠雌二醇的降低可能是地塞米松对性腺轴的影响,雌二醇的降低与 $1,25-(OH)_2-D_3$ 的降低呈明显正相关,与 PGE_2 的水平呈负相关,说明雌二醇、 PGE_2 可能通过影响 1α -羟化酶活性而影响了 $1,25-(OH)_2-D_3$ 的水平,进而影响骨代谢。当然,成骨细胞亦存在雌二醇受体,雌激素也可能直接作用于成骨细胞,雌二醇的减少则减慢成骨过程。而 PGE_2 也可以直接作用于破骨细胞,促进破骨,两者还可以通过影响PTH和降钙素而发挥作用。雌二醇的下降和 PGE_2 的升高必然导致骨盐的丢失和骨质疏松,使低钙组大鼠的骨灰重,骨密度下降,组织学切片呈现疏松状态。而高钙组,由于钙剂的被动吸收,使地塞米松致骨盐丢失的诸多环节被阻断,也就阻断了 PGE_2 产生的渠道,使 PGE_2 和雌二醇均接近正常,导致肾脏 1α -羟化酶的活性、 $1,25-(OH)_2-D_3$ 和cAMP的水平均接近正常,这说明柯兴氏综合征,大量糖皮质激素应用的患者和老年人均可适量补充钙剂,通过钙剂的大量被动吸收,恢复体内骨代谢的正常,预防骨质疏松的发生。钙剂的补充以碳酸钙为佳,因为碳酸钙含钙量高,而饭后服用和胃酸不缺乏者碳酸钙的吸收与有机钙无差异,且经济方便。

参 考 文 献

- 1 尤新 代谢性骨病学 天津科学技术出版社 1989
- 2 李振信 复方钙剂对皮质激素引起大鼠骨质疏松的实验治疗 天津医药 1985,11:670
- 3 李和娜 李恩 糖皮质激素诱发骨质疏松的机制 中华骨科杂志 1994,14(4):233. (下转第88页)

- 11 Kragstrup J, Richards A and Fejerskov O. Effects of fluoride on cortical bone remodeling in the growing domestic pig. *Bone*. 1989;10:421-424.
- 12 Chavassieux P. Bone effects of fluoride in animal models *in vivo*. A review and a recent study. *J. Bone Miner. Res.* 1990;5:(Suppl. 1):S95-100.
- 13 Jayo M. J, Jerome C. P, Lees C. J, et al. Bone mass in female cynomolgus macaques; a crosssectional and longitudinal study by age. *Calcif Tiss Int.* 1994;54:231-235.
- 14 Jerome C. P, Carlson C. S, Register T. C, et al. Bone functional changes in intact, ovariectomized, ovariectomized, hormone-supplemented adult cynomolgus monkeys (*macaca fascicularis*) evaluated by serum markers and dynamic histomorphometry *J Bone Miner. Res.* 1994, 9: 527-540.
- 15 Aufdemorte T. B, Fox W. C, Miller D, et al. A non human primate model for the study of osteoporosis and oral bone loss. *Bone*. 1993;14:581-586.
- 16 Jerome C. P, Lees C. J, Register T. C, et al. Bone loss in skeletally mature female monkey fed minimal requirement of calcium is accelerated by ovariectomy. *J. Bone Miner. Res.* 1994;9:(Suppl. 1):S259.
- 17 Shen V, Birchman R, Xu R, et al. Short-term changes in histomorphometric and biochemical turnover markers and bone mineral density in estrogen-and/or dietary calcium-deficient rats. *Bone*. 1995;16:146-156.
- 18 Weinreb M, Rodan G. A, and Thompson D. D. Osteopenia in the immobilized rat hind limb is associated with increased bone resorption and decreased bone formation. *Bone*. 1989;10:187-194.
- 19 Bagi C. M, Mecham M, Weiss J, et al. Comparative morphometric changes in rat cortical bone following ovariectomy and/or immobilization. *Bone*. 1993;14:877-883.
- 20 Weinreb M, Rodan G. A and Thompson D. D. Immobilization-related bone loss in the rat is increased by calcium deficiency. *Calcif. Tissue Int.* 1991; 48:93-100.

(上接第 63 页)

- 4 Nefussi JR. PGE2 stimulates bone resorption and formation of bone *in vitro*: Differential responses of the periosteum and the endosteum in fetal rat long bone cultures. *Anatomical Record*. 1985;22:9.
- 5 Brown TJ. Comparison of age and sex related change in cell nuclear estrogen-binding capacity and progesterin receptor induction in the rat brain. *Endocrinology* 1990, 126(6), 2856.