

顺铂对雌性大鼠骨密度影响的实验研究

孔繁斗 吕申 吴琳

摘要: **目的** 本文通过对去势雌性大鼠的动物实验研究, 观察顺铂对骨代谢、骨密度的影响, 并探讨其可能机制。**方法** 将三月龄雌性 SD 大鼠 30 只, 随机分为对照组和化疗组, 每组 15 只。各组大鼠均用 1% 戊巴比妥钠腹腔内麻醉, 行双侧卵巢切除术。术后 1W 开始用药, 每两周用药 1 次, 共 6 次。对照组腹腔内注射生理盐水 1 ml; 化疗组腹腔内注射顺铂 2mg/kg 溶于 1ml 生理盐水中。术后 13w 处死各组动物, 处死前用代谢笼收集 24h 空腹尿标本, 自动生化分析仪测定尿钙浓度并计算出 24h 排泌量。氨酶 T 氧化法测尿羟脯氨酸 (HOP) 浓度并计算出 24h 排泌量; 麻醉动物, 开腹后下腔静脉取血离心, 放免法测骨钙素 (BGP)、血尿素氮 (BUN); 取腰椎 L₄₋₆ 椎体, 双能 X 线骨密度测量仪测腰椎骨密度。**结果** 化疗组与对照组相比, 骨密度降低, 24h 尿 HOP 及 24h 尿 Ca 定量升高, 均有显著意义, 血 BGP 无差异。**结论** 本实验表明顺铂对大鼠的骨代谢存在直接的不良影响, 使骨吸收增加, 表现为松质骨骨密度降低。

关键词: 骨质疏松; 骨代谢; 骨密度; 顺铂

Effect of cisplatin on bone mineral density in female rats KONG Fandou, LV shen, WU Lin.
Dalian Medical University, Dalian 116011, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of cisplatin (DDP) on bone metabolism and bone mineral density and its mechanism. **Methods** Thirty female SD rats of three months weighted 230-250g were randomly divided into 2 groups, (15 rats of each), blank operated and operated and DDP treated groups. At the end of 13th week, the 24h urine was collected for measurement of urinary calcium (Ca), hydroxyproline (HOP) and osteocalcin (BGP). Immediately after the animals were sacrificed, L₄₋₆ vertebrae were dissected sacrificed. Dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) was used for measuring the bone mineral density (BMD) of L₄₋₆ vertebrae. **Results** In the study group, the values of 24h urinary Ca and 24h urinary HOP was remarkably increased, but the values of BGP showed no significant difference between these groups. **Conclusions** DDP has negative effect on BMD of lumbar vertebrae due to increased bone resorption.

Key words: Osteoporosis; Bone metabolism; Bone mineral density; Cisplatin

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种全身代谢性疾病, 特点是骨量减少和骨组织的微细结构受损, 骨的脆性增加, 易发生骨折。骨质疏松症分为原发性骨质疏松和继发性骨质疏松, 继发性骨质疏松的发病随着医学研究的进展, 多种治疗手段及药物的开发应用逐渐增多, 而化疗药物的广泛应用也是病因之一。顺铂作为一种常用的抗肿瘤药物在妇科肿瘤领域应用广泛, 是卵巢癌首选的化疗药物之一, 是否对骨骼系统有影响目前未见报道, 故本

文通过对去势雌性大鼠的动物实验研究, 观察顺铂对骨代谢、骨密度的直接影响, 并探讨其可能机理。

1 材料和方法

1.1 动物分组及处理

3 月龄雌性 SD 大鼠 (体重 230~250g) 30 只随机分为两组 (每组 15 只): 对照组和化疗组。

两组大鼠均用 1% 戊巴比妥钠腹腔内麻醉, 行双侧卵巢切除术, 术后 1w 开始用药, 每两周用药 1 次, 共 6 次。对照组腹腔内注射生理盐水 1ml, 化疗组腹腔内注射顺铂 2mg/kg (按人用量计算 50mg/m² 并按人和动物体表面积折算法求出大鼠的实验用量 2mg/kg) 溶于 1ml 生理盐水中。各组动

基金项目: 辽宁省教委科研基金资助项目 (506346)

作者单位: 116011 大连, 大连医科大学附属第一医院妇产科 (孔繁斗); 抚顺市中心医院妇产科 (吴琳); 大连医科大学附属第二医院实验中心 (吕申);

通讯作者: 吴琳 13942341148, 0413-7691615

物均饲以常规饲料, 自由饮食、饮水, 定期称重。

1.2 指标及方法

13w 后取材, 并进行下述测定:

尿: 各组动物处死前用代谢笼收集 24h 空腹尿标本, 生化分析法测尿钙 (Ca) 浓度并计算出 24h 排泌量, 氯胺 T 氧化法测尿羟脯氨酸 (HOP) 浓度并计算出 24h 排泌量。

血: 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉动物, 开腹后下腔静脉取血, 放免法测定血骨钙素 (BGP), 生化分析法测尿素氮 (BUN) 水平。

骨标本: 取 L₄₋₆ 椎体剔尽附着的软组织, 置装有去离子水 (深 2.6cm) 的薄壁玻璃盒内的水底 (水模拟体内软组织)^[7], 采用双能 X 线骨密度测量仪 (DXA) 测量腰椎骨矿密度。

1.3 统计学方法

各项参数以均值加减标准差表示, 各组间差异行 *t* 检验。

2 结果

2.1 顺铂化疗对腰椎骨密度和骨代谢生化指标的影响 (见表 1)

化疗组与对照组相比, 腰椎 BMD 值下降, 差异有统计学意义, $P < 0.05$; 骨形成参数血-BGP 值无明显差异; 骨吸收参数 24h 尿 HOP 及 24h 尿 Ca 定量均明显升高, 差异有统计学意义, $P < 0.01$ 。表明顺铂使大鼠骨吸收增加, 骨密度下降, 对骨形成无明显影响。

表 1 各组大鼠腰椎 BMD、血 BGP、
24h 尿 HOP、24hCa 定量

指 标	对照组	化疗组
BMD (g/cm ²)	2.071±0.020	1.614±0.017*
血 BGP (mg/ml)	8.8±2.4	9.4±1.6
尿 HOP (mg/24h)	0.61±0.12	0.94±0.15**
尿 Ca (mg/24h)	0.81±0.21	2.53±0.58**

注: 对照组与化疗组比较 ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$

2.2 体重与肾功 (见表 2)

化疗组大鼠体重略低于对照组体重, 但无显著差异, 化疗组血 BUN 较对照组略高但无统计学差异。

表 2 各组大鼠体重 (g) 与血 BUN 定量

指 标	对照组	化疗组
体重 (g)	308±10	287±14
BUN (mmol/L)	10.7±1.9	13.7±3.9

注: 对照组与化疗组比较, $P > 0.05$

3 讨论

随着人口的老龄化, 骨质疏松症发病率日益增高, 成为常见的老年性疾病, 严重危及老年人的健康及生命, 也给社会造成了沉重的人力、物力及财力等方面的负担。如何预防和早期发现、治疗骨质疏松症, 已成为一项日益紧迫的医学课题。骨质疏松症的发生与年龄、绝经、内分泌疾病、药物应用等因素有关。近几年来国外一些学者研究认为化疗可致癌症患者骨质疏松, 研究多集中于乳腺癌、何杰金病、卵巢肿瘤和淋巴细胞性白血病的患者中, 推测化疗致骨质疏松的原因在于化疗药物可致卵巢功能低下、雌激素水平降低, Bruning^[1]观察到乳腺癌化疗后闭经患者的腰椎骨密度值 (BMD) 下降, 低于同年龄正常妇女的 10%, 认为乳腺癌患者骨质疏松危险性增加, 是辅助化疗后的卵巢早衰引起的; 另有学者认为化疗药物本身可直接导致骨质疏松: Douchi^[2]对 15 例卵巢上皮性癌患者术后应用 CAP (顺铂、阿霉素、环磷酰胺) 方案化疗与 15 例因其它原因行卵巢切除的妇女进行比较发现, 化疗 6 个月后腰椎骨密度下降至基线的 $87.4\% \pm 2.1\%$, 而对照组为基线的 $97.65\% \pm 0.4\%$, 有显著性差异。故 Douchi 认为化疗对骨代谢有直接作用。顺铂在妇科肿瘤领域应用广泛, 是卵巢癌首选的化疗药物之一, 是否对骨骼系统有影响目前尚未见报道。

本实验对两组去势大鼠进行对比研究, 排除化疗对卵巢功能的影响, 观察顺铂对骨骼系统的直接作用。表明顺铂可引起骨骼系统损害: 使骨吸收增加、骨密度下降。

氨甲喋呤 (MTX) 及异环磷酰胺^[3,4]等对于骨骼系统的作用已有报道, 证实 MTX 可引起骨骼系统的病理性改变。大剂量 MTX 抑制骨形成并增加骨吸收从而使骨量减少^[5]。MTX 抑制成骨的机理为降低前成骨细胞向成骨细胞的增殖与分化, 影响骨基质矿化^[8]。MTX 增加骨吸收的机制目前还不明确, 但与性激素缺乏的机制不同, 在人骨髓及外周血单核细胞中, MTX 能抑制白介素-1 β 的合成及刺激白介素-1 受体拮抗剂的释放^[9]。在小鼠体外培养实验中观察到, 阿霉素抑制成骨细胞增殖和分化^[6]。表明阿霉素对骨形成有较明显的抑制作用, 但对人体骨量的相关作用还不清楚。根据 Douchi 的研究, 卵巢上皮性癌患者术后应用 CAP (顺铂、阿霉素、环磷酰胺) 方案化疗后有骨量减少、骨密度

下降的表现,结合本实验对顺铂的研究结果,表明顺铂对骨骼系统有直接的损害作用,增加骨吸收并导致骨密度下降。

有报道异环磷酰胺除可引起性腺机能减退外,还能对骨骼系统产生副作用,Smeitink^[3]研究表明异环磷酰胺可导致暂时或永久的肾小管损害,致代谢性酸中毒、尿中磷丢失和高尿钙症,导致生长期儿童的骨矿化缺陷。严重者可产生低磷酸盐性骨软化,表现为骨密度降低。本实验化疗组与对照组相比血 BUN 值略升高但无明显差异,表明本实验剂量的顺铂对大鼠未产生明显肾毒性。因肾脏有强大的代偿功能,即使 BUN 值正常也不能排除肾脏已有轻微损害,当肾小管发生损害时,1, 25 (OH)₂D₃ 生成会减少,一方面影响了钙结合蛋白的生物合成能力,从而降低了钙的转运作用,引起骨营养不良,出现骨密度降低^[10]。另一方面,影响了钙吸收,血钙降低,不能维持正钙平衡,导致 PTH 分泌增加与继发性甲旁亢^[11],出现骨密度减低。本文观察到该实验剂量的顺铂对大鼠的肾脏可能有轻微的损害作用,虽不能排除肾功改变对骨代谢的影响,但其不是导致化疗组骨吸收增加,骨密度降低的主要原因。

体重与骨密度的关系:实验中化疗组体重增长略慢与对照组,并无统计学差异,考虑实验过程中观察到化疗组动物在腹腔注射顺铂后,几日内有进食少于对照组的情况,表明顺铂化疗对大鼠的消化系统有副作用,表现为厌食并导致轻微的体重增长缓慢,由于体重与骨密度呈正相关,体重增长缓慢对骨密度可有部分影响。

综上所述,顺铂可引起骨骼系统损害:使骨吸收增加、骨密度下降,但对骨形成无明显影响。其机制为顺铂对骨代谢的直接作用,即使骨吸收增加,但不

排除其他因素的影响,具体机制有待进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] Bruning PF, Pit MJ, DE Long-Bakker M, et al. Bone mineral density after adjuvant chemotherapy for premenopausal breast cancer. *Br J Cancer*, 1990, 61: 308-310.
- [2] Douchi T, Kosha S, Kan Rnakamura S, et al. Predictors of bone mineral loss in patients with ovarian cancer treated with anticancer agents. *Obstet Gynecol*, 1993, 168 (1): 114-128.
- [3] Smeitink J, Verreussel M, Schroder C. Nephrotoxicity associated with ifosfamide. *Eur J Pediatr* 1998, 148: 164-166.
- [4] Skinner R, Pearson ADJ, Price L Stoffel-Wagner B, et al. Nephrotoxicity after ifosfamide. *Arch Dis Child*, 1990, 65: 732-738.
- [5] Wheeler DL, Vander Griend RA, Wronski TJ, et al. The short- and long-term effect of methotrexate on the rat skeleton. *Bone*, 1995, 16: 215-221.
- [6] Glackin CA, Murray EJ, Murray SS, et al. Doxorubicin inhibits differentiation and enhances expression of the helix-loop-helix genes Id and mTwi in mouse osteoblastic cells. *Biochem Int*, 1992, 28: 67-75.
- [7] 伍贤平, 廖二元, 陆泽元. 大鼠骨量与骨生物力学特性之间的相关性. *中国骨质疏松杂志*, 1999, 5 (3): 1-4.
- [8] Reichman BS, Green KB. Breast cancer in young women: Effect of chemotherapy on ovarian function, fertility and birth defects. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 1994, 16: 125-129.
- [9] Maines MD, Sluss PM, Iscan M. Cis-platinum-mediated decrease in serum testosterone is associated with depression of luteinizing hormone receptors and cytochrome P-450scc in rat testis. *Endocrinology*, 1990, 126: 2398-2406.
- [10] 李安, 杜学海, 张兆权. 慢性肾盂肾炎血清 1, 25 二氢骨化醇和骨密度改变的临床意义. *中华肾脏病杂志*, 1997, 7: 360-380.
- [11] 王维力, 主编. 骨矿疾病. 天津科技翻译出版公司, 1997, 335-336.

(收稿日期: 2004-09-28)