

# 老龄 2 型糖尿病大鼠肾 1- $\alpha$ 羟化酶与骨密度变化的研究

黄昶荃 陈建梅

**摘要:**目的 观察老龄 2 型糖尿病大鼠肾 1- $\alpha$  羟化酶改变及其对骨密度的影响。方法 用放免法测定老龄 2 型糖尿病大鼠(糖尿病组)维生素 D<sub>3</sub> 处理的老龄 2 型糖尿病大鼠(处理 1 组) 1- $\alpha$  (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 处理的老龄 2 型糖尿病大鼠(处理 2 组)和正常老龄大鼠(正常对照组)24 h 尿白蛋白、血 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 和 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 水平;用双能 X 线骨密度测量仪(DEXA)测定各组大鼠腰椎、股骨骨密度。结果 糖尿病组 24 h 尿白蛋白高于其他 3 组,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 和骨密度低于正常对照组和处理 2 组。处理 1 组与糖尿病组比较 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 有升高趋势,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 和骨密度无显著差异。处理 2 组 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 和骨密度低于正常对照组,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 与正常对照组差异不显著。处理 1 组 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 和骨密度较处理 2 组低,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 较处理 2 组高。结论 老年 2 型糖尿病大鼠肾 1- $\alpha$  羟化酶活性降低导致血中 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 减少和骨密度下降,1- $\alpha$  (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 显著改善这种变化。

**关键词:** 2 型糖尿病大鼠;肾 1- $\alpha$  羟化酶;1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>;骨密度

## Study on renal 1- $\alpha$ hydroxylase variation and bone mineral density in type 2 diabetic rats in elder age

HUANG Xuquan, CHEN Jianmei. Department of geriatric medicine, The First Affiliated Hospital, University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the change of renal 1- $\alpha$  hydroxylase and its effect on bone mineral density in type 2 diabetic in old rats. **Methods** Forty Wistar rats of 18 months old were divided into four groups: type 2 diabetic rats (A), type 2 diabetic rats treated with vitamin D<sub>3</sub> (B), type 2 diabetic rats treated with 1- $\alpha$  (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (C) and controls (10 each). Dual energy X-ray absorption (DEXA) was used to determine the bone mineral density (BMD) of lumbar spines and femoral. Serum 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 24-hour-urine protein were measured. **Results** The results of 24-hour-urine protein in group A was more than the other three groups, while the 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and BMD was significantly decreased than that of group C and the controls. The level of serum 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in group B was higher than that of group A, but no difference was found in the level of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and BMD. The level of serum 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and BMD in group C was lower than that of the control group, but no difference was shown in the level of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. When compared with group C, group B had lower level of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and BMD, but a higher level of 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. **Conclusions** The decreased activity of renal 1- $\alpha$  hydroxylase in old rats with type 2 diabetes mellitus would result in the decline of BMD through reducing the concentration of serum 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 1- $\alpha$  (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> would effectively reverse this process.

**Key words:** Type 2 diabetes; Renal 1- $\alpha$  hydroxylase; 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; Bone mineral density

骨质疏松是糖尿病的一种常见的慢性并发症,也是常见的老年性疾病。国内报道 2 型糖尿病骨量减少的发生率为 30%~74.1%,是非糖尿病人群发生率 2~4 倍以上。糖尿病可损伤肾脏,糖尿病肾损

伤与糖尿病骨质疏松关系密切<sup>[1]</sup>。肾 1- $\alpha$  羟化酶是体内合成 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的关键酶,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 减少是糖尿病骨量减少的原因之一<sup>[2]</sup>。因此,患糖尿病时可能肾 1- $\alpha$  羟化酶表达减少,并在骨质疏松发生中有重要作用。但至今未见有关糖尿病与肾 1- $\alpha$  羟化酶关系的报道。本研究通过测定老龄 2 型糖尿病大鼠、维生素 D<sub>3</sub> 处理的老龄 2 型糖尿病大鼠、1- $\alpha$

作者单位:400016 重庆医科大学附属第一医院老年科内分泌组(黄昶荃)精神科(陈建梅)

通讯作者:陈建梅,Email: huangshan6662004@yahoo.com.cn

(OH) $_2$ D $_3$  处理的老龄 2 型糖尿病大鼠以及正常老龄大鼠 24-h 尿白蛋白、血 25-(OH) $_2$ D $_3$  和 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  水平以及腰椎、股骨骨密度,阐明肾 1- $\alpha$  羟化酶在老年 2 型糖尿病骨质疏松中的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

18 月龄的雄性 wistar 大鼠 40 只,体重 250 g 左右(重庆医科大学动物实验中心提供)。基础饲料:总热量 13.35 KJ/g,糖类 28%、蛋白质 19%、碳水化合物 53%,高脂饲料:总热量 18.71 KJ/g,其中糖类 28%、脂肪 57%、蛋白质 15%(重庆医科大学动物实验中心配制和提供);链尿菌素(STZ 美国 Sigma 公司)以 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液(pH 4.4)在冰浴中配制成 10 mg/ml 的 STZ 液。维生素 D $_3$ (上海第二制药厂),1- $\alpha$ (OH) $_2$ D $_3$ (重庆药友集团产品)。

### 1.2 方法

大鼠随机分成 4 组,每组 10 只。1 组用基础饲料喂养 4 周,3 ml(0.1 mmol/L)柠檬酸缓冲液腹腔注射,再基础饲料喂养 8 周作为正常对照组;另 1 组用高脂饲料喂养 4 周,30 mg/kg 链尿菌素(STZ)腹腔注射,高脂饲料喂养 4 周后测血糖,血糖 16.7 mmol/L 判断为 2 型糖尿病,再高脂饲料喂养 4 周作为糖尿病组;其余 2 组用上法诱导成 2 型糖尿病,再在高脂饲料喂养同时,分别用维生素 D $_3$ 0.9 万 IU/100 g 每天肌注和 1- $\alpha$  维生素 D $_3$ 0.1  $\mu$ g/kg 每天灌胃喂养 4 周,作为维生素 D $_3$  处理组(处理 1 组)和 1- $\alpha$ (OH) $_2$ D $_3$  处理组(处理 2 组)。各组大鼠在实验 12 周时用放免法测定 24 h 尿白蛋白,12 周后处死各组大鼠,断颈处取动脉血,用放免法测定 25-(OH) $_2$ D $_3$  和 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  水平;取大鼠左侧股骨和腰椎,用双能 X 线骨密度测量仪测定骨密度。

### 1.3 统计学处理

所有数据用 SAS 8.2 统计软件分析包处理,两组间行方差齐性检验,组间行  $t$  检验。

## 2 结果

### 2.1 糖尿病肾脏损伤比较

糖尿病组、处理 1 组和处理 2 组比较,尿白蛋白无明显不同,都显著高于正常对照组。

### 2.2 肾 1- $\alpha$ 羟化酶相关指标的比较

糖尿病组较正常对照组 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  水平降低,25-(OH) $_2$ D $_3$  水平无明显变化。糖尿病组 1,25-

(OH) $_2$ D $_3$  与尿蛋白呈负相关( $r = -0.7705$ ,  $P = 0.0091$ ) (图 1)。处理 1 组 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  较老龄 2 型糖尿病组明显升高,与正常对照组相当,25-(OH) $_2$ D $_3$  无差异。处理 1 组较糖尿病组有升高趋势。处理 1 组与处理 2 组比较 25-(OH) $_2$ D $_3$  有升高趋势但无统计学意义,1,25-(OH) $_2$ D $_3$  差别显著。

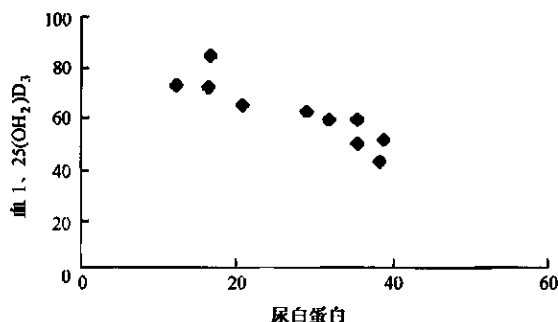


图 1 老龄 2 型糖尿病大鼠尿白蛋白和 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  水平及相关分析( $r = -0.7705$   $P = 0.0091$ )

### 2.3 骨密度比较

糖尿病组腰椎和股骨骨密度明显低于正常对照组,处理 2 组大鼠腰椎和股骨骨密度高于糖尿病组,低于正常对照组。处理 1 组大鼠腰椎和股骨骨密度与老龄 2 型糖尿病组无明显不同。

## 3 讨论

糖尿病可损伤肾脏,导致肾小球跨壁压增高、肾小球基底膜通透性增强和带电性改变,使白蛋白滤出增加;糖尿病肾损伤特异表现为尿白蛋白升高,早期出现微量白蛋白尿,随着病情进展尿白蛋白增加,因此检测 24 h 尿白蛋白可反映糖尿病肾损伤存在及严重程度<sup>[2]</sup>。直接测定活体 1- $\alpha$  羟化酶表达和活性困难,但肾 1- $\alpha$  羟化酶是体内 25-(OH) $_2$ D $_3$  转化为 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  的关键酶,且体内 25-(OH) $_2$ D $_3$  是 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  的 100 倍;测定体内 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  含量,结合 25-(OH) $_2$ D $_3$  水平,可反映体内肾 1- $\alpha$  羟化酶活性<sup>[3,4]</sup>。骨密度(或骨矿含量)是骨质疏松等代谢性骨病的诊断、药物疗效和实验研究的关键指标,尤其在动物研究中,骨密度快速准确检测对骨代谢的判断有重要的意义,本研究中用 DEXA 检测腰椎和股骨骨密度,可准确反应骨代谢情况<sup>[5,6]</sup>。

本实验中糖尿病组与正常对照组比较 25-(OH) $_2$ D $_3$  无明显差别,1,25-(OH) $_2$ D $_3$  显著降低;处理 2 组 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  明显高于糖尿病组,与正常对照组相当,处理 1 组与糖尿病组 1,25-(OH) $_2$ D $_3$  差别不大,

表 1 各组大鼠尿白蛋白、骨密度、25-(OH)D<sub>3</sub> 和 1、25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的比较( n = 10 )

| 组别     | 尿白蛋白<br>( g/L ) | 骨密度                     |                         | 维生素 D <sub>3</sub>                |   |
|--------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------------|---|
|        |                 | 股骨( g/cm <sup>2</sup> ) | 腰椎( g/cm <sup>2</sup> ) | 25-( OH )D <sub>3</sub> ( ng/ml ) | 1、25-( OH ) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> ( pg/ml ) |
| 正常对照组  | 13.84 ± 4.14    | 0.17 ± 0.04             | 0.15 ± 0.05             | 10.9 ± 4.1                        | 84.38 ± 7.75                                      |
| 糖尿病组   | 26.67 ± 9.53 *  | 0.12 ± 0.03 *           | 0.10 ± 0.05 #           | 10.4 ± 2.9                        | 62.4 ± 16.5 *                                     |
| 处理组    | 30.4 ± 13.23    | 0.12 ± 0.04▲            | 0.10 ± 0.04▲            | 12.1 ± 4.2☆                       | 64.4 ± 21.5▲                                      |
| 处理 2 组 | 27.0 ± 10.9     | 0.15 ± 0.05△            | 0.13 ± 0.03△            | 10.5 ± 2.2                        | 83.2 ± 17.2△                                      |

糖尿病组与正常对照组比较 : \* P < 0.01 , # P < 0.05 ;糖尿病组与处理 2 组比较△ P < 0.05 ;处理 1 组与处理 2 组比较☆ P < 0.05 ;处理 1 组与正常对照组比较▲ P < 0.05

均提示老龄 2 型糖尿病大鼠存在肾 1-α 羟化酶缺乏 ,1、25-( OH )<sub>2</sub> D<sub>3</sub> 降低是由肾 1-α 羟化酶缺乏所致。本实验中糖尿病组尿白蛋白高于正常对照组 ,且 1、25-( OH )<sub>2</sub> D<sub>3</sub> 水平与尿白蛋白呈负相关( r = - 0.7705 P = 0.0091 ) ,证实了糖尿病肾损伤存在 ,1、25-( OH )<sub>2</sub> D<sub>3</sub> 水平减少与糖尿病肾损伤有关。可见糖尿病时肾 1-α 羟化酶缺乏与糖尿病肾损伤关系密切。随着年龄增加肾功能下降 ,也可致肾 1-α 羟化酶表达减少 ,老年 2 型糖尿病 1-α 羟化酶缺乏与糖尿病肾损伤和老年性肾功能下降均有关系。

老年糖尿病骨质疏松是多种因素作用的结果 ,年龄是其中因素之一 ,有研究报道成年后大鼠的骨密度随月龄增加而降低<sup>[7]</sup>。本研究中糖尿病组与正常对照组比较 ,骨密度显著降低 ,提示老年糖尿病骨质疏松中糖尿病对骨代谢的影响也有重要作用<sup>[8]</sup>。糖尿病组与正常对照组比较 ,骨密度降低 ,尿白蛋白升高 ,提示糖尿病肾损伤与骨代谢紊乱关系密切 ,与目前国内外的报道一致<sup>[1,9]</sup>。糖尿病肾损伤对骨代谢影响是通过多种途径实现 ,1-α 羟化酶表达减少是其中原因之一<sup>[1]</sup>。本研究中 1-α 羟化维生素 D<sub>3</sub> 处理老龄 2 型糖尿病大鼠 ,血中 1、25-( OH )<sub>2</sub> D<sub>3</sub> 升高后骨密度降低可以改善 ,但不能达到正常 ;维生素 D<sub>3</sub>

处理老龄 2 型糖尿病大鼠 ,可使 25-( OH )D<sub>3</sub> 升高而 1、25-( OH )<sub>2</sub> D<sub>3</sub> 不能显著升高 ,骨密度无明显改善 ,提示肾 1-α 羟化酶缺乏是老年糖尿病骨质疏松发病主要原因之一。

【 参 考 文 献 】

[ 1 ] 冯正年 ,孟萍 .男性 2 型糖尿病肾损害与骨质疏松的关系研究 .中国骨质疏松杂志 ,2003 ,9 :338-340 .  
[ 2 ] 胡仁明 ,主编 .内分泌代谢病临床新技术 .北京 :人民军医出版社 ,2002 :464-471 .  
[ 3 ] 郭世钺 ,罗先正 ,邱贵兴 ,主编 .活性维生素 D 与骨质疏松症 .天津 :天津科技出版社 ,2001 :461-473 .  
[ 4 ] Carpenter TO .Variable Degrees of 1-[ alpha ]Hydroxylase Activity-Fine Tuning the Rachitic Rheostat .J Clin Endocrinol Metab ,2002 ,87 :2421-2423 .  
[ 5 ] 陆泽元 ,廖二元 ,伍贤平 ,等 .去卵巢对大鼠骨密度的影响 .中国骨质疏松杂志 ,2002 ,8 :13-15 .  
[ 6 ] 杨定焯 ,程静 ,安珍 ,等 .建立原发性骨质疏松症诊断标准的原则和方法 .中国骨质疏松杂志 ,1999 ,5 :36-40 .  
[ 7 ] 高建军 ,周轶 ,顾淑珠 ,等 .大鼠骨生物学指标的月龄特征 .中国骨质疏松杂志 ,2004 ,10 :143-146 .  
[ 8 ] 刘杰 ,苗懿德 .老年男性 2 型糖尿病患者骨质疏松与各种钙调激素关系的研究 .中国老年学杂志 ,2003 ,23 :428-429 .  
[ 9 ] Legg V .Complications of chronic kidney disease :a close look at renal osteodystrophy ,nutritional disturbances and inflammation .American J Nur ,2005 ,105 :40-49 .