

雌激素抗氧化作用与绝经后骨质疏松症的关系

林远方 卿茂盛 李昂 余闾

摘要：目的 探讨活性氧与雌激素的相关性，以进一步阐明活性氧与骨质疏松症的内在联系。方法

本研究选择符合纳入标准的绝经后妇女，测定其骨密度(BMD)，根据骨密度分为骨质疏松组、骨量减少组及正常组各 30 例。检测各组研究对象的血清丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)及雌二醇(E_2)，比较各组之间的 MDA、SOD 及 E_2 的不同并分析 MDA、SOD 与 E_2 的相关性。结果 MDA 与 E_2 呈显著负相关($r = -0.458, P < 0.01$)，SOD 与 E_2 呈显著正相关($r = 0.527, P < 0.01$)；骨质疏松组的 MDA 较骨量减少组及正常组升高而 SOD 含量降低($P < 0.01$)。骨质疏松组的 E_2 较骨量减少组及正常组降低($P < 0.01$)。结论 绝经后妇女体内活性氧水平与雌激素的变化密切相关，雌激素具有抗氧化作用，雌激素水平降低引起的绝经后骨质疏松症，可能包含了活性氧的参与和介导。

关键词：MDA、SOD/血清；绝经后妇女；雌激素；相关性；临床研究

Correlation between the antioxidation of estrogen and postmenopausal osteoporosis LIN Yuanfang, QING Maosheng, LI Ang, et al. Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518033, China

Abstract : Objective To investigate the correlation between reactive oxygen species and estrogen, so as to further clarify the relationship between reactive oxygen and osteoporosis(OP). **Methods** Postmenopausal women met the criteria were enrolled in this study and were divided into the OP group, bone mass reduction group and normal group based on the bone mineral density(BMD). The serum levels of malondialdehyde(MDA), superoxide dismutase(SOD) and estradiol(E_2) were determined and compared. **Results** The serum level of MDA was negatively correlated with that of E_2 ($r = -0.458, P < 0.01$), and the level of SOD was positively correlated with E_2 ($r = 0.527, P < 0.01$). The serum MDA level was much higher in osteoporosis group than that of the bone mass reduction group and normal group($P < 0.01$), but the serum level of SOD and E_2 was much lower($P < 0.01$).

Conclusions Reactive oxygen species is closely related to estrogen. And the OP induced by estrogen reduction might mediated by reactive oxygen species.

Key words : Reactive oxygen species ; Postmenopausal osteoporosis ; Estrogen ; Clinical trial

近年来，随着自由基医学和自由基生物学的发展，活性氧自由基在生物体内的产生及其对生物体的作用愈来愈为人们所认识。很多疾病的发生发展与活性氧自由基反应有关，特别是在对衰老的病因研究中发现活性氧是引起衰老的重要原因，而骨质疏松症是一种与人体衰老进程密切相关的疾病。为了探讨活性氧与骨质疏松症的发生是否有关，我们研究了活性氧与破骨细胞、成骨细胞等的相关性，本文报道活性氧与雌激素的相关性。

1 材料和方法

1.1 一般资料

制定临床观察对象调查表，以深圳市中医院骨科 2003 年 1~12 月的女性住院患者作为病例来源，依住院先后顺序并严格按照纳入标准选择了 100 例绝经后妇女作为观察对象，年龄 49~65 岁。患者均在入院时测量身高、体重。为了尽量减少身高、体重、年龄等因素对观察指标的影响，对骨质疏松组、骨量减少组、正常组的身高、体重及年龄等进行了配对、均衡，故该课题的实际研究对象最终定为 90 例。本研究中骨质疏松组、骨量减少组及正常组在身高、体重、年龄及绝经年限等方面经统计学分析，差异均无显著意义($P > 0.05$)，组间具有可比性(如表 1 所

示)。

表 1 各组身高、体重、年龄及绝经年限的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	身高 (cm)	体重 (kg)	年龄 (year)	绝经年限 (year)
骨质疏松组	30	157.30±2.84	50.68±3.69	58.03±4.92	6.95±4.37
骨量减少组	30	157.85±3.49	51.33±6.28	56.50±5.27	7.03±3.98
骨量正常组	30	157.83±2.94	52.08±4.07	56.23±2.99	6.76±4.21

注:各组的身高、体重、年龄及绝经年限比较,P 值均>0.05

1.2 病例选择

1.2.1 诊断标准:经双能 X 线骨密度测量仪检测,采用中国人骨质疏松症建议诊断标准(第 2 稿)^[1]推荐的诊断标准,骨量<M-2 SD 为骨质疏松症,骨量为 M-1 SD~2 SD 为骨量减少,骨量>M-1 SD 为正常。

1.2.2 排除标准:①患有引起继发性骨质疏松症的各种内分泌疾病者(如库兴氏病、甲亢、糖尿病等患者);②有其他严重疾病干扰骨代谢者(如慢性肝病、肾病等患者);③患者半年内使用过可能影响骨代谢的药物(如雌激素类药物、钙代谢调节激素等);④1 年内有骨折者;⑤患有其他可能与活性氧密切相关的疾病者(如严重心脑血管疾病等患者);⑥患者半年内使用过对活性氧有影响作用的药物如人重组 SOD(rh-SOD)、VitE、VitC、VitA 或β胡萝卜素、维尔康等。

1.2.3 纳入标准:符合上述标准,绝经 1 年以上,70 岁以下者。

2 研究方法

2.1 骨密度测量

全部研究对象均在入院当天用双能 X 线骨密度测量仪(QDR-4500 A 型、美国 HOLOGIC 公司生产)测量腰椎正位(L₁~L₄)及侧位(L₂~L₄)骨密度(结果分析时取腰椎侧位骨密度平均值)。采用中国人骨质疏松症建议诊断标准(第 2 稿)^[1]推荐的诊断标准,根据骨密度值分组,分为骨质疏松组、骨量减少组及正常组各 30 例。

由于目前尚无深圳地区成人骨密度调查统计表,因此本研究参考的骨峰值标准是上海成人腰椎骨密度值^[2],女性骨峰值为 1.004±0.107 g/cm²,位于 30~40 岁年龄段,因深圳与上海同属南方,地理环境与气候、生活习惯有相似之处,故将其作为参考。据此,本研究中,骨密度低于 0.790 g/cm² 者归于骨质疏松组,骨密度介于 0.790~0.897 g/cm² 之间者归于骨量减少组,骨密度不低于 0.897 g/cm² 者归于正常组。

2.2 血清 MDA、SOD 及 E₂ 检测

所有研究对象均空腹 12 h 以上,于入院次日晨 7~8 时抽取静脉血 10 ml 置-70℃低温保存,由深圳市中医院中心实验室同一技术人员用同一套仪器设备分批测定血清 MDA、SOD 及 E₂ 的含量(严格按试剂盒说明书操作)。MDA 用硫代巴比妥酸法测定,批内、批间变异系数(CV)均<10%;SOD 用邻苯双酚自氧化法测定,批内、批间变异系数(CV)为 1.5%和 1.7%。两者的试剂盒均由南京聚力生物医学工程研究所提供(批号:20010911、20010802),均采用上海精密科学仪器有限公司生产的 721 型分光光度计测量;E₂ 用化学发光法测定,批内、批间变异系数(CV)分别为 2.8%和 4.3%,采用美国 DPC 公司生产、由天津德普公司提供的 E₂ 检测标准试剂盒(批号:LKE 250234)并用美国 DPC 公司生产的 IMMULITE 化学发光仪测量,本院绝经期妇女 E₂ 检测参考范围为 20~88 pg/ml。另外同时抽取静脉血 10 ml 送深圳市中医院检验科检查肝功能、肾功能、甲状腺功能、血糖等生化指标,如有异常,则排除该研究对象。

2.3 统计学处理

收集数据,测量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多个样本均数间的比较用方差分析,用直线回归及相关分析法分析各指标间的相关性。以上数据分析均借助 SPSS 11.0 统计软件包完成。

3 结果

3.1 各组血清 MDA、SOD 及 E₂ 水平的变化

结果如表 2 所示。骨质疏松组、骨量减少组的血清 MDA 水平较正常组高而 SOD 含量降低,骨质疏松组的 MDA 和 SOD 亦较骨量减少组升高和降低(P<0.01);骨质疏松组、骨量减少组的 E₂ 值均较正常组降低(P<0.01),骨质疏松组的 E₂ 值亦较骨量减少组降低(P<0.05)。

表 2 各组 MDA、SOD 及 E₂ 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MDA (nm/L)	SOD (u/L)	E ₂ (pg/ml)
骨质疏松组	30	11.9817±2.1229*△	43.3447±6.3045*△	37.420±18.067*△
骨量减少组	30	9.2823±1.4426*	52.9300±6.1418*	50.737±14.499*
骨量正常组	30	7.6033±1.6990	63.7710±4.6001	66.920±14.542

注:与正常组比较,*P<0.01;与骨量减少组比较,△P<0.01

3.2 血清 MDA、SOD 与 E₂ 的相关性

结果如表 3 所示。MDA 与 E₂ 呈显著负相关(r=-0.458,P<0.01),而 SOD 与 E₂ 呈显著正相关(r

= 0.527 , $P < 0.01$)。MDA、SOD 与 E_2 的直线回归方程有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 3 MDA、SOD 与 E_2 的回归及相关分析

指标	例数	回归方程	相关系数 r	P
MDA(nm/ML)	90	$y = 86.206 - 3.587x$	- 0.458	< 0.01
SOD(u/ML)	90	$y = - 3.081 + 1.028x$	0.527	< 0.01

注 : y 为 E_2 值(pg/ml)

4 讨论

活性氧(reactive oxygen species , ROS)是指从氧衍生出来的自由基及其产物 ,其化学性强 ,不稳定 ,具有较强的氧化能力 ,包括超氧阴离子自由基(O_2^-)、羟自由基($\cdot OH$)及过氧化氢(H_2O_2)等。前二者为自由基 ,又称氧自由基。很多疾病的发生发展与活性氧自由基反应有关。MDA 可反映机体脂质过氧化的程度 ,间接反映出细胞损伤的程度 ; SOD 可间接反映机体清除氧自由基的能力 ,两者均为反映体内活性氧水平的重要指标。因此研究活性氧与疾病的关系时 ,常测定 MDA 及 SOD 的含量。

随着自由基医学和自由基生物学的发展 ,活性氧自由基在生物体内的产生及其对生物体的作用愈来愈为人们所认识。研究表明 ,很多疾病的发生发展与活性氧自由基反应有关 ,特别是在对衰老的病因研究中发现活性氧是引起衰老的主要原因。而骨质疏松症是一种与人体衰老进程密切相关的疾病 ,因此证明活性氧与骨质疏松症之间是否存在某些内在联系 ,具有重要的现实意义。

目前认为 ,绝经后骨质疏松症的发生 ,除与遗传、营养、生活方式等有关外 ,绝经后妇女的雌激素水平降低是发病的主要原因。雌激素对骨代谢的调节一方面可通过直接刺激成骨细胞增殖、抑制破骨细胞活性及细胞因子分泌 ,另一方面也可通过钙调节激素如降钙素、甲状旁腺素等间接地作用 ,但具体调节机制尚未完全阐明。

许多研究表明 ,雌激素可降低体内活性氧水平 ,具有明显的抗氧化作用。波兰学者观察了 40 名绝经后妇女激素替代疗法(HRT)前后体内活性氧的变化 ,发现雌激素能直接抑制活性氧的产生^[3]。也有学者通过动物实验发现 ,雌二醇(E_2)能预防心肌缺血再灌注过程中活性氧对冠状内皮造成的损害 ,证实了 E_2 的抗氧化作用^[4]。Sawada 等^[5]研究了 E_2 对氧化应激状态下的大鼠中脑神经元的影响 ,发现 E_2 对 O_2^- 及 H_2O_2 等引起的神经毒性具有保护作用 ,而其他类固醇如皮质酮等则对其没有明显的保护作用

用 ,证明了 E_2 具有较强的抗氧化力。体外实验中也观察到^[6] E_2 具有很强的抗氧化作用 , E_2 对神经元的保护作用是通过清除活性氧而不是通过激活雌激素受体来实现的。

本研究中表 3、表 2 结果说明活性氧与雌激素密切相关 ,雌激素具有抗氧化作用 ,绝经后骨质疏松患者体内雌激素水平降低 ,抗氧化作用减弱 ,活性氧水平升高。而相关实验研究表明活性氧能提高破骨细胞的活性^[7]、减少成骨细胞的数量^[8]、直接参与骨基质的降解^[9]并能调节细胞因子的分泌^[10]。由此我们推断雌激素水平降低引起的绝经后骨质疏松症 ,其作用机制可能还包含了活性氧的参与和介导。活性氧可能通过影响破骨细胞、成骨细胞等途径 ,参与和促进了绝经后骨质疏松症的病理过程。

本课题还同时观察了绝经后妇女活性氧与骨密度、破骨细胞、成骨细胞、骨基质及白细胞介素-6 的相关性(具体结果部分已另文报道) ,从而阐明活性氧与绝经后骨质疏松症的内在联系。通过这一研究 ,一方面可以证明活性氧参与和促进了绝经后骨质疏松症的病理过程 ,有利于进一步阐明骨质疏松症的病因病理 ;另一方面可以为绝经后骨质疏松症的防治提供新的思路和依据。

【 参 考 文 献 】

[1] 中国老年学学会骨质疏松委员会骨质疏松诊断标准学科组. 中国人骨质疏松症建议诊断标准(第二稿). 中国骨质疏松杂志 ,2000 ,1(1) :1.

[2] 刘忠厚. 骨质疏松学. 北京 : 科学出版社 ,1998 ,158.

[3] Pertynska MP , Tchorzewski H , Lewkowicz P , et al. Evaluation of the hormonal replace therapy(HRT) effect on generation of reactive oxygen intermediates(ROI) by neutrophil in peripheral blood of menopausal women. Ginekol-Pol ,2000 ,71(2) :55-62.

[4] Kim YD , Chen B , Beauregard J , et al. 17 beta-Estradiol prevents dysfunction of canine coronary endothelium and myocardium and reperfusion arrhythmias after brief ischemia/reperfusion. Circulation , 1996 ,94(11) :2901-2908.

[5] Sawada H , Ibi M , Kihara T , et al. Estradiol protects mesencephalic dopaminergic neurons from oxidative stress-induced neuronal death. J-Neurosci-Res ,1998 ,54(5) :707-719.

[6] Culmsee C , Vedder H , Ravati A , et al. Neuroprotection by estrogens in a mouse model of focal cerebral ischemia and in cultured neurons : evidence for a receptor-independent antioxidative mechanism. J-Cereb-Blood-Flow-Metab ,1999 ,19(11) :1263-1269.

[7] Yang S , Madyastha P , Bingel S , et al. A new superoxide-generating oxidase in murine osteoclasts. J Biol Chem ,2001 ,276(8) :5452-5458.

(上接第 567 页)

- [8] Kennedy JG , O'Grady P , McCarthy DR , et al. An investigation into the role of oxygen free radical scavengers in preventing polymethylmethacrylate-induced necrosis in an osteoblast cell culture. *Orthopedics* , 2000 , 23(5) : 481-485.
- [9] Tikku ML , Shah R , Allison GT , et al. Evidence linking chondrocyte lipid peroxidation to cartilage matrix protein degradation. Possible

role in cartilage aging and the pathogenesis of osteoarthritis. *J-Biol-Chem* , 2000 , 275(26) : 20069-20076.

- [10] Junn E , Lee KN , Ju HR , et al. Requirement of hydrogen peroxide generation in TGF-beta 1 signal transduction in human lung fibroblast cells : involvement of hydrogen peroxide and Ca^{2+} in TGF-beta 1-induced IL-6 expression. *J-Immunol* , 2000 , 165(4) : 2190-2197.

(收稿日期 : 2006-04-24)