

辛伐他汀对大鼠糖皮质激素致骨质疏松的实验研究

贾慧英 董进

摘要:目的 评价辛伐他汀对大鼠糖皮质激素性骨质疏松的预防效果,同时观察其对胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)的影响。方法 将30只3.5月龄SD雄性大鼠随机分为3组,每组10只(即模型组、对照组和干预组);皮下注射甲泼尼龙($3.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 9周)诱导骨质疏松模型,干预组在造模的同时辛伐他汀($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)灌胃10周。干预结束后,测定各组骨密度(BMD)、血清骨钙素(BGP)、血清IGF-1等指标。结果 模型组与对照组比较,BMD均显著降低、血清BGP、血清IGF-1水平显著降低($P < 0.01$),血清钙和尿钙/肌酐均显著增高($P < 0.01$),尿磷/肌酐也显著增高($P < 0.05$);干预组与模型组比较,干预组的BMD、血清BGP均明显增加($P < 0.01$),尿钙/肌酐显著降低($P < 0.01$),但对IGF-1无明显影响($P > 0.05$)。结论 ①糖皮质激素可引起大鼠骨质疏松的发生;②辛伐他汀可预防大鼠糖皮质激素性骨质疏松的发生。

关键词:糖皮质激素;骨质疏松;辛伐他汀;预防效果;胰岛素样生长因子-1

The experimental study of simvastatin on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats JIA Huiying, DONG Jin. No. 1 Clinical Hospital Affiliated to Shanxi Medical University, Taiyuan 030001 China

Abstract: **Objective** To evaluate the preventive effect of simvastatin on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats and to observe the effect of simvastatin on serum IGF-1 level. **Methods** Thirty 3.5-month-old male SD rats were divided into three groups randomly: the model group, the control group and the treatment with simvastatin group. In this study, osteoporosis was induced by subcutaneous injection with methylprednisolone 3.5 mg/kg per day for 9 weeks. The treatment with simvastatin group rats were treated with methylprednisolone for 9 weeks and in combination with simvastatin 4 mg/kg per day by stomach for 10 weeks. After the treatments, some indices such as bone mineral density (BMD), serum osteocalcin (BGP) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) were measured. **Results** Compared with the control group, BMD decreased significantly ($P < 0.01$) in the model group. The level of serum BGP and IGF-1 were lowered significantly ($P < 0.01$). The serum Ca^{2+} and urine Ca^{2+}/Cr were increased ($P < 0.01$). The urine P/Cr was increased, too ($P < 0.05$). Compared with the model group, simvastatin significantly increased BMD and serum BGP ($P < 0.01$), while decreasing the level of urine Ca^{2+}/Cr ($P < 0.01$), but didn't influence obviously the level of IGF-1 ($P > 0.05$). **Conclusions** ① Glucocorticoid can induce osteoporosis in rats ② Simvastatin has preventive effect on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats.

Key words: Glucocorticoid; Osteoporosis; Simvastatin; Prevention; IGF-1

骨质疏松症是一种全身代谢性骨病,以骨量减少、骨的微结构破坏为特征,导致骨的脆性增加,容易发生骨折。它具有发病率高、死亡率高、保健费用消耗大的特点。随着人口老龄化的到来,其预防与治疗日益受到人们的重视。

他汀类药物作为一类公认的调脂药,研究发现,

该类药物与骨密度增加及骨折风险降低^[1]密切相关,但尚存争议^[2,3]。本实验研究辛伐他汀对大鼠糖皮质激素性骨质疏松的预防效果及其对胰岛素样生长因子-1(IGF-1)的影响,探讨辛伐他汀抗骨质疏松的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 30只3.5月龄的SD雄性大鼠(山

作者单位:030001 太原,山西医科大学第一临床医学院内分泌科

西医科大学实验动物中心提供),体重为(270 ± 20) g,随机分为3组,即模型组、对照组和干预组,每组10只。

1.1.2 主要药品来源:甲泼尼龙,白色粉末(Pharmacia公司,批号为LL 0450),辛伐他汀,淡粉色药片,40 mg/片(默沙东中国公司,批号20041021)。

1.2 方法

1.2.1 给药方法:各组动物分笼,标准固体饲料和双蒸水自由摄食喂养,室温为(25 ± 2) °C,12 h间隔照明,定期消毒通风。模型组:甲泼尼龙 3.5 mg · kg⁻¹ · d⁻¹,皮下注射,每日1次,干预9周^[4]。对照组:等量生理盐水 1.64 ml · kg⁻¹ · d⁻¹,皮下注射,每日1次,干预9周。干预组:同时开始甲泼尼龙 3.5 mg · kg⁻¹ · d⁻¹,皮下注射,9周,辛伐他汀 4 mg · kg⁻¹ · d⁻¹,灌胃,10周^[5],两种干预。每周测1次体重,根据体重调节药物剂量。

1.2.2 测量骨密度及收集标本:9周后,分别测模型组和对照组大鼠的骨密度,统计学分析, $P < 0.05$,说明骨质疏松模型已制备成功。禁食1 d后,用代谢笼收集24 h尿,用5%水合氯醛(0.6 ml/100 g)麻醉模型组和对照组大鼠,腹主动脉取血,分离血清, -20 °C保存待测。10周后,测干预组大鼠的骨密度,各标本的收集同上。

1.2.3 测定指标:骨密度(BMD)用双能X线骨密度仪专用小动物软件测定(美国LUNAR公司生产,EXPERT型);血清骨钙素(BGP),用放射免疫法测定(试剂盒由解放军总医院科技开发中心放免所提供),批内变异系数为2.61%($n = 10$),批间变异系数为5.74%;血清IGF-1,用酶联免疫法测定(试剂盒由上海森雄科技实业有限公司提供);尿钙/肌酐、尿磷/肌酐及血清钙、磷水平由全自动分析仪测定。

1.3 统计学处理

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间比较用 t 检验。所有数据均用SPSS 12.0软件包进行处理。 $P < 0.05$ 有统计学差异。

2 结果

2.1 骨密度的变化

模型组与对照组比较,骨密度均显著降低($P < 0.01$),而干预组与模型组比较,骨密度均显著增加($P < 0.01$),见表1。

2.2 血清学指标的变化

反映骨形成的指标—BGP,模型组显著低于对照组,干预组显著高于模型组($P < 0.01$)。血清钙

水平在模型组显著高于对照组($P < 0.01$),而干预组与模型组之间无统计学差异($P > 0.05$)。血清磷水平在各组之间均无统计学差异($P > 0.05$)。血清IGF-1水平在模型组显著低于对照组($P < 0.01$),而干预组与模型组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。表2。

表1 小鼠骨密度的比较($\bar{x} \pm s$, g/cm², $n = 10$)

组别	全身 BMD	胸腰椎 BMD	髋关节 BMD	膝关节 BMD
模型组	0.2158 ± 0.0178*	0.2233 ± 0.0197*	0.2559 ± 0.0166*	0.2426 ± 0.0157*
对照组	0.2875 ± 0.0313	0.3258 ± 0.0362	0.3758 ± 0.0215	0.3321 ± 0.0202
干预组	0.2547 ± 0.0157	0.2780 ± 0.0122	0.3147 ± 0.0149	0.2895 ± 0.0173

注:分别与对照组、干预组比较* $P < 0.01$

表2 各组的血清指标($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	BGP(ng/ml)	钙(mmol/L)	磷(mmol/L)	IGF-1(ng/ml)
模型组	0.9086 ± 0.0685*	1.9000 ± 0.0770#	2.1460 ± 0.2152	4.4158 ± 0.3894#
对照组	1.8582 ± 0.1911	1.7240 ± 0.1652	1.8080 ± 0.7128	5.8623 ± 0.5140
干预组	1.6019 ± 0.4947	1.7740 ± 0.1480	1.7640 ± 0.2590	4.8526 ± 0.9828

注:与对照组和干预组比较* $P < 0.01$,与对照组比较# $P < 0.01$

2.3 尿液指标的变化

尿钙/肌酐、尿磷/肌酐是反映骨吸收的指标,其中前者,模型组较对照组显著升高,而干预组较模型组显著降低($P < 0.01$);后者,模型组较对照组显著升高($P < 0.05$),而干预组与模型组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。表3。

表3 各组的尿液指标($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	尿钙/肌酐($\times 10^{-4}$)	尿磷/肌酐($\times 10^{-3}$)
模型组	1.7730 ± 0.6651*	3.3460 ± 0.6246#
对照组	0.7220 ± 0.4644	2.3760 ± 0.8678
干预组	0.9900 ± 0.6359	2.7330 ± 0.5986

注:与对照组和干预组比较* $P < 0.01$,与对照组比较# $P < 0.05$

3 讨论

骨质疏松症是一种全身性骨量及骨组织结构改变伴有脆性增加的疾病,易导致骨折。目前的治疗药物雌激素、二膦酸盐及降钙素等多通过抑制破骨细胞的骨吸收作用以减少骨丢失,而促进骨形成的药物较少。他汀类作为一类可促进骨形成的药物,对骨质疏松症的影响日益受到人们的重视。

在诸多的骨质疏松动物模型中,因大鼠的骨代谢情况与人类十分接近,对各种致病因素和治疗药物的反应性与人类基本一致,在模型中使用最多,故本研究采用大鼠复制动物模型。糖皮质激素是临床常用药物之一,可抑制骨基质蛋白合成,尤其抑制胶原合成以及抑制成骨细胞前身向成骨细胞的转变,使骨形成减少,还可通过减少性激素的分泌,抑制肠道对钙的吸收,增加肾对钙与磷的排泄,继发甲状旁

腺功能亢进等因素,进一步增加骨的吸收,减少骨形成,导致骨质疏松^[6],大鼠骨质疏松模型已由许多学者采用糖皮质激素成功复制^[7]。本研究同时进行糖皮质激素与辛伐他汀两种干预,旨在探讨辛伐他汀的预防效果,尚未见有关两种药物相互作用及其中间体在体内相互作用的报道。

骨密度的测量是诊断骨质疏松、估计骨质疏松的程度、评价骨质疏松的疗效的必要手段,故本实验以骨密度作为评价模型制备成功的标准。采用甲泼尼龙 $3.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 皮下注射复制骨质疏松模型^[4],结果表明,甲泼尼龙皮下注射 9 周后,模型组与对照组大鼠比较:全身、胸腰椎、髌关节及膝关节骨密度均显著降低 ($P < 0.01$),表明糖皮质激素性骨质疏松模型已制备成功;血清骨钙素(BGP)、血清 IGF-1 水平显著降低,血清钙水平、尿钙/肌酐、尿磷/肌酐显著增高,均与骨质疏松模型制备成功相符合。实验结果显示,糖皮质激素可使骨密度及反映骨形成的指标(BGP)水平明显降低,而使反映骨吸收的指标(尿钙/肌酐、尿磷/肌酐)水平明显升高,表明糖皮质激素可抑制成骨、促进破骨,骨吸收大于骨形成,呈骨量丢失状态,导致骨质疏松的发生。

他汀类药物对骨代谢的影响尚存争议,国内外许多学者分别从临床及流行病学、细胞模型试验、动物实验等多方面进行了研究,大量研究表明他汀类药物可降低骨折风险,减轻骨质疏松的发生^[8]。本实验中,辛伐他汀干预 10 周后,与模型组比较:干预组大鼠的全身、胸腰椎、髌关节及膝关节骨密度均明显增加,BGP 显著升高,尿钙/肌酐显著降低;说明使用辛伐他汀后,成骨细胞增生活跃,骨吸收受到抑制,骨量丢失相对减少。本研究提示辛伐他汀对大鼠糖皮质激素性骨质疏松有预防作用。

目前,他汀类药物影响骨代谢的作用机制仍不清楚,许多研究者发现,辛伐他汀能通过抑制 HMG-CoA 还原酶及其下游产物,增加 BMP-2 表达和活性,进而促进骨形成及骨的矿化^[9,10]。IGF-1 在骨组织中主要由成骨细胞合成,能促进成骨细胞功能,

促进成骨细胞前体增殖,增加功能性成骨细胞数目;同时 IGF-1 可抑制间质中胶原酶转录,减少骨胶原降解,保持骨量,与骨质疏松关系密切;辛伐他汀促进成骨的作用是否与其有关,本研究对两者的关系进行了初步探讨。干预组该因子水平较模型组有增高趋势,但无统计学意义,故尚不能认为辛伐他汀对该因子有影响。

研究表明,糖皮质激素可引起大鼠骨质疏松的发生,且辛伐他汀对其有预防作用。

总之,他汀类药物可改善一些骨生化指标,对大鼠糖皮质激素性骨质疏松有预防效果,同时他汀类药物可能还有不为人知的抗骨质疏松的作用机制有待于我们进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] Lupattelli G, Scarponi AM, Vaudo G, et al. Simvastatin increase bone mineral density in hypercholesterolemic post menopausal women. *Metabolism*, 2004, 53(6):744.
- [2] Kasugai S. Local application of statin for bone augmentation. *Clin Calcium*, 2005, 15(7):1165-1170.
- [3] Solomon DH, Finkelstein JS, Wang PS, et al. Statin lipid-lowering drugs and bone mineral density. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2005, 14(4):219-226.
- [4] Hulley PA, Conradie MM, Langeveldt CR, et al. Glucocorticoid-induced osteoporosis in the rat is prevented by the tyrosine phosphatase inhibitor, sodium orthovanadate. *Bone*, 2002, 31(1):220-229.
- [5] 李伟民, 徐魁, 蔚苑. 辛伐他汀对骨质疏松大鼠骨形成作用研究. *中国老年学杂志*, 2004, 24:51-53.
- [6] Tamura Y, Okinaga H, Takami H. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2004, 58:500-504.
- [7] Xie H, Li QN, Huang LF, et al. Effect of total coumarins from dried fruits of *Cnidium monnieri* on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats. *Zhongguo YaoLiXue Bao*, 1994, 15(4):371-374.
- [8] Wang WD, Liao WS, Wang YS. Preventive effects of simvastatin on steroid-induced avascular necrosis of the femoral head. *Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences)*, 2004, 39(3):473-475.
- [9] Maeda T, Matsunuma A, Kurahashi I, et al. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *J Cell Biochem*, 2004, 92(3):458-471.
- [10] Taguchi M, Takeuchi Y. Anabolic effects of statin and beta-blocker on bone metabolism. *Clin Calcium*, 2004, 14(12):1895-1900.

(收稿日期: 2006-06-01)