

· 药物研究 ·

辅酶 Q₁₀ 对 10 月龄小鼠股骨的 Micro CT 观察及骨生物力学检测黄志荣¹ 朱丽斌³ 吴海游¹ 陈丽思¹ 吕思敏³ 许碧莲² 崔燎² 邹丽宜^{1*} 吴铁^{1,2,3*}

1. 广东医学院药学院, 东莞 5238082

2. 广东天然药物研究与开发重点实验室, 湛江 5240233

3. 广东医学院广东润和生物科技有限公司辅酶 Q₁₀ 联合研究中心, 东莞 523808

中图分类号: R965;R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 03-0366-06

摘要: 目的 应用骨生物力学和 Micro-CT 技术,探讨辅酶 Q₁₀对 10 月龄小鼠股骨的显微结构和生物力学的影响。方法 35 只 SPF 级 8 月龄雌性 KM 小鼠,随机分为正常对照组(CON)、维生素 E 组(VE)、辅酶 Q₁₀低剂量组(Co Q₁₀L)、辅酶 Q₁₀高剂量组(Co Q₁₀H)、辅酶 Q₁₀低剂量联合维生素 E(Co Q₁₀L + VE),连续灌胃给药 10 周。实验结束后,取右侧股骨进行 Micro-CT 扫描及三维重建,左侧股骨进行生物力学检测。结果 与 CON 组比较,Co Q₁₀L 组小鼠右侧股骨的微观参数:体积分数、连接密度和骨密度明显增加,左侧股骨的骨生物力学刚度增加。Co Q₁₀H 体积分数、连接密度和 SMI 明显增加,同时骨生物力学参数中弹性载荷和最大位移得到明显增加。Co Q₁₀L 联合 VE 组连接密度增加,生物力学方面参数没有统计学差异。与 VE 比较,辅酶 Q₁₀两个剂量和辅酶 Q₁₀低剂量联合维生素 E 参数并没有统计学差异。结论 Co Q₁₀(500 mg·kg⁻¹·d⁻¹)能够修复小鼠的股骨微观结构,提高骨生物力学的性能,修复骨量、降低股骨骨折风险的能力优于 VE,提示 Co Q₁₀的抗骨质疏松作用具有良好的研究前景。

关键词: 辅酶 Q₁₀;Micro-CT;10 月龄;骨生物力学;股骨**Preventive effects of CoQ₁₀ on trabecular microstructure and biomechanical properties of femur in ten-month-old mice with micro CT**HUANG Zhirong¹, ZHU Libin³, WU Haiyou¹, CHEN Lisi¹, LV Simin¹, XU Bilian², CUI Liao², ZOU Liyi^{1*}, WU Tie^{1*}

1. School of Pharmacy, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China

2. Key Laboratory of Nature Drug Research and Development, Zhanjiang 5240233, China

3. Research Center of Co Q₁₀, Guangdong Runhe Biochemical Technology Company, Dongguan 53808, China

Corresponding author: ZOU Liyi, Email:442516867@qq.com; WU Tie, Email: wutie2@163.com

Abstract: Aim Bone biomechanics and micro-CT were conducted to investigate the effect of Co-enzyme Q₁₀ on micro-structure and biological mechanics of femur in ten-month-old mice. **Methods** 35 eight-month-old female KM mice in SPF grade were randomly divided into normal control group (CON) group, vitamin E group (VE), co-enzyme Q₁₀ group (CoQ₁₀L), co-enzyme Q₁₀ group (CoQ₁₀H), Co Q₁₀L + VE. Drugs were continuously given for 10 weeks. After the experiment, the femur of right side in each mouse was taken and scanned with micro-CT and 3D-reconstructed. In addition, the left femurs were used to perform bio-mechanical testing. **Results** Compared with CON group, the microscopic parameters of right femur of mice in CoQ₁₀L group indicated that the bone volume, connection density and bone mineral density were notably increased. Whereas the bone bio-mechanical parameters of left femur showed that the stiffness were markedly increased. CoQ₁₀H group indicated that the bone volume, connection density and SMI were notably increased. Whereas the bone bio-mechanical parameters of left femur showed that maximum displacement and elastic load were markedly increased. Co Q₁₀L + VE group indicated that connection density was notably increased. There was no statistical difference in biomechanical parameters. Compared with VE group, the two doses of Co Q₁₀ and Co Q₁₀L + VE were not significantly different. **Conclusion** Co Q₁₀(500 mg·kg⁻¹·d⁻¹) might repair femoral Micro-structure of mice. The effect of Co

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81373499)

* 通讯作者: 邹丽宜, Email:442516867@qq.com; 吴铁, Email: wutie2@163.com

Q₁₀ on repairing the bone mass and lowering femoral fracture risk is better than that of VE, implying that the anti-osteoporosis effect of Co Q₁₀ is of promising prospect and should be further explored.

Key words: Co Q₁₀; Micro-CT; Ten-month-old; Bone biomechanical properties; Femur

辅酶 Q₁₀ (coenzyme Q₁₀, Co Q₁₀) 属于脂溶性醌类化合物, 广泛存在于所有的生物膜中, 参与到呼吸链电子传递、抗氧化、代谢调节、细胞分化调节等过程中, 同时辅酶 Q₁₀ 是一种具有强大的清除自由基作用的抗氧化剂^[1]。本课题组之前已经^[2]在 30 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 这一个剂量探究过 Co Q₁₀ 对环磷酸腺苷模型的大鼠股骨的显微结构的改变, 对骨量有一定的改善作用。维生素 E (vitamin E, VE) 是高效的抗氧化剂和自由基清除剂, 维生素 E 与 Co Q₁₀ 都是抗氧化剂, 本课题组^[3]已经证明 250mg/kg 这一个剂量能有效预防衰老小鼠的骨丢失, 因此以 VE 作为阳性对照药。这次我们采用不同大剂量的 Co Q₁₀, 同时以 8 月龄的小鼠作为研究对象, 探究不同大剂量 Co Q₁₀ 对小鼠股骨的显微结构的影响, 并与维生素 E (vitamin E, VE) 联合应用进行对比, 为 Co Q₁₀ 抗骨质疏松的进一步研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

35 只 SPF 级 8 月龄雌性 KM 小鼠, 由南方医科大学实验动物中心提供, 体重 (45.51 ± 4.67) g, 动物合格证: SCXK (粤) 2011-0015。

1.2 药品与试剂

辅酶 Q₁₀ (药用原料药): 由广东润和生物科技有限公司提供, 少量的大豆卵磷脂 (北京索莱宝科技有限公司, 批号: 714B023) 作为表面活性剂, 先让其溶解在黑芝麻油 (平舆康博汇鑫油脂有限公司) 中, 之后将 2 500 mg 和 5 000 mg 的辅酶 Q₁₀ 分别添加到 50 ml 卵磷脂黑芝麻油中搅拌溶解即可得; 维生素 E 软胶囊 (广州白云山星群 (药业) 股份有限公司, 批号: LE40017); 生理盐水 (东莞市普济药业有限公司, 批号: 14082501); Micro CT 仪 (viva CT40; SCANCO Medical AG); Mini Bionix 型材料测试系统 (MTS; USA)。

1.3 实验动物与分组

8 月龄 KM 小鼠 35 只, 适应性饲养 2 周后, 按体重对等原则随机分为 5 组, 每组 7 只。A 组为正常对照 (CON) 组, 该组小鼠每天灌胃给予生理盐水 10 ml/(kg·d); B 组为维生素 E (VE) 组, 该组小鼠每天灌胃给予 VE250 mg/(kg·d); C 组辅酶 Q₁₀ (Co Q₁₀)

L) 低剂量组, 该组小鼠每天灌胃给予 Co Q₁₀ 500 mg/(kg·d); D 组辅酶 Q₁₀ (Co Q₁₀H) 高剂量组, 该组小鼠每天灌胃给予 Co Q₁₀ 1 000 mg/(kg·d)。E 组辅酶 Q₁₀ (Co Q₁₀L) 低剂量联合维生素 E (VE) 组, 该组小鼠每天灌胃给予 Co Q₁₀ 500 mg/(kg·d) 和 VE250 mg/(kg·d)。5 组动物均自由饮水和进食。实验共给药 10 周, 每隔 1 周称取体重 1 次, 实验结束时, 取右侧股骨进行 Micro-CT 扫描和三维重建, 取左侧股骨进行生物力学检测。

1.4 骨生物力学检测

检测时, 将 -20℃ 保存的股骨常温解冻, 生理盐水复湿。用 858 Mini Bionix 型材料测试系统监测和分析小鼠左侧股骨的生物力学性能。将股骨置于流变仪上分别进行三点弯曲实验, 加载速度为 0.155 mm/s, 跨距 9 mm。由载荷、挠度换算并绘制应力-应变曲线, 从曲线上读取及根据公式计算相应的指标: 最大载荷 (Maximum load)、最大位移 (Maximum displacement)、弹性载荷 (Elastic load)、弹性位移 (Elastic displacement)、刚度 (Stiffness) 等。

1.5 Micro-CT 测量

将处理好的小鼠股骨放入 Micro-CT 仪, 对股骨的近干骺段进行 X 射线扫描。扫描条件为: 图像矩阵为 2048 × 2048, 整合时间为 200 ms, 能量/强度为 70 kVp、114 μA、8 W。以 0° 旋转, 进行扫描。扫描完成后, 选取生长板远端 1.0 mm、层厚 2.0 mm 的骨组织为松质骨感兴趣区域 (region of interest, ROI) 进行三维重组, 最低阈值为 160 提取图像信息。获取重组图像后, 使用 Micro-CT 自带的软件进行定量分析。物理参数分析如下: 骨密度 (bone mineral density, BMD)、连接密度 (connection density, Conn. D)、骨体积分数 (bone volume/total volume, BV/TV)、结构模型指数 (structure model index, SMI)、骨小梁数量 (trabecular number, Tb. N)、骨小梁分离度 (trabecular separation, Tb. Sp)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb. Th)。

1.6 数据处理

参数值用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS17.0 软件对数据进行方差分析及组间比较。

2 结果

2.1 各组小鼠实验前及实验后的体重变化

如表所示,与 CON 组相比,Co Q₁₀L、Co Q₁₀H、VE 组小鼠和 Co Q₁₀L 联合 VE 组的体重差异无显著意义($P>0.05$),提示 Co Q₁₀ 和 VE 对小鼠的体重影响不大。

表 1 各组小鼠实验前及实验后的体重变化($\bar{x}\pm s,n=7$)
Table 1 Changes of body weight in mice of different groups ($\bar{x}\pm s,n=7$)

Group	1 week (g)	3 week (g)	5 week (g)	7 week (g)	9 week (g)	11 week (g)	Body weight rate%
CON	46.07 ± 5.68	42.64 ± 5.45	42.62 ± 5.82	41.54 ± 4.79	43.37 ± 5.70	43.70 ± 4.80	-5.1%
VE	46.21 ± 4.89	46.07 ± 5.41	45.65 ± 4.78	44.68 ± 4.43	45.68 ± 4.50	45.77 ± 4.32	-0.95%
Co Q ₁₀ L	46.29 ± 6.42	45.42 ± 6.29	45.00 ± 5.86	45.46 ± 6.33	46.44 ± 6.25	46.90 ± 6.13	1.3%
Co Q ₁₀ H	45.20 ± 4.18	44.97 ± 3.89	45.12 ± 3.91	46.07 ± 4.92	44.77 ± 4.53	44.12 ± 4.00	-2%
Co Q ₁₀ L + VE	47.47 ± 5.62	44.20 ± 5.77	43.38 ± 6.44	43.82 ± 6.75	44.14 ± 6.81	44.36 ± 6.41	-6.6%

注:CON 为正常组、VE 为维生素 E 组、Co Q₁₀L 为辅酶 Q₁₀低剂量组、Co Q₁₀H 为辅酶 Q₁₀高剂量组、Co Q₁₀L + VE 为辅酶 Q₁₀低剂量联合维生素 E 组。

2.2 各组小鼠股骨远端松质骨 Micro-CT 定量参数的变化与 CON 组比较,Co Q₁₀L 组 BV/TV 明显上升 112.4% ($P<0.05$),连接密度明显上升 175.8% ($P<0.01$),骨密度 BMD 明显上升 112.45% ($P<0.01$),SMI 明显下降 34.21% ($P<0.01$),但是 Tb.N, Tb. Sp, Tb. Th 没有明显变化。与 CON 组比较,Co Q₁₀H 组 BV/TV 上升 75%,连接密度明显上升 200.3% ($P<0.01$),骨密度 BMD 上升 76.9% ($P>0.05$),SMI 明显下降 30.52% ($P<0.05$),同时 Tb.N, Tb. Sp, Tb. Th 没有明显变化。

与 CON 组比较,VE 组 BV/TV 没有明显的变化,连接密度明显上升 158.8% ($P<0.01$),骨密度

BMD 明显上升 82.8% ($P<0.01$),SMI 明显下降 36.84% ($P<0.01$)但是 Tb. N, Tb. Sp, Tb. Th 没有明显变化。Co Q₁₀L 组、Co Q₁₀H 组与分别与 VE 组比较,两组间的参数均没有统计学差异($P>0.05$)。

与 CON 组比较,Co Q₁₀L 联合 VE 组 BV/TV 上升了 54.9% ($P>0.05$),连接密度明显上升 162.7% ($P<0.01$),骨密度 BMD 上升 54.9% ($P>0.05$),但是 SMI, Tb. N, Tb. Sp, Tb. Th 没有明显变化。Co Q₁₀L + VE 组分别与 VE 组、Co Q₁₀L 组、Co Q₁₀H 比较,两组间的参数均没有统计学差异($P>0.05$)。见表 2。

表 2 Micro CT 测定的小鼠股骨骨密度,骨体积分数,连接密度,数量,分离度和厚度参数($\bar{x}\pm s,n=7$)
Table 2 Changes of microstructural parameters of distal femur in mice of different groups ($\bar{x}\pm s,n=7$)

Group	SMI	BMD/mg·cm ⁻³	BV/TV(1)	CONN. D/1·cm ⁻³	Tb. N/cm ⁻¹	Tb. Th/cm ⁻¹	Tb. Sp/cm ⁻¹
CON	1.90 ± 0.6	64.8 ± 29.7	0.08 ± 0.04	7.75 ± 5.81	1.64 ± 0.46	0.08 ± 0.01	0.66 ± 0.16
VE	1.20 ± 0.3**	140.1 ± 51.1*	0.16 ± 0.07*	22.22 ± 5.30**	1.98 ± 0.47	0.10 ± 0.02	0.54 ± 0.13
Co Q ₁₀ L	1.25 ± 0.1**	137.8 ± 49.9*	0.17 ± 0.07*	21.37 ± 8.31**	2.09 ± 0.49	0.10 ± 0.01	0.51 ± 0.13
Co Q ₁₀ H	1.32 ± 0.2*	114.64 ± 65.4	0.14 ± 0.09	23.47 ± 8.02**	1.91 ± 0.80	0.08 ± 0.02	0.61 ± 0.25
Co Q ₁₀ L + VE	1.55 ± 0.37	100.39 ± 44.6	0.11 ± 0.05	20.36 ± 10.40**	1.90 ± 0.79	0.09 ± 0.02	0.59 ± 0.19

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs CON

注:CON 为正常组、VE 为维生素 E 组、Co Q₁₀L 为辅酶 Q₁₀低剂量组、Co Q₁₀H 为辅酶 Q₁₀高剂量组、Co Q₁₀L + VE 为辅酶 Q₁₀低剂量联合维生素 E 组。

2.3 各组小鼠股骨远端松质骨 Micro-CT 二维图和三维图

与 CON 组(图 1-A)比较,Co Q₁₀L(图 1-C)骨小梁走向一致,结构紧密,区域出现更为明显的网状结构,保持完整的微观构筑。同时 Co Q₁₀低剂量与 VE 组(图 1-B)较 CON 组要完整,主要表现为骨小梁增多,间隙变小,排列有序出现较多完整的骨小梁连接结构。Co Q₁₀高剂量组(图 1-D)出现部分的网状结构,但是较 Co Q₁₀低剂量组(图 1-C)要稀疏。Co Q₁₀L + VE(图 1-E)组骨小梁数目稀疏,间隙变大。见图 1。

2.4 各组小鼠股骨生物力学参数变化

与 CON 组比较,Co Q₁₀L 组的刚度明显上升 21.86% ($P<0.05$),最大载荷上升 27.23% ($P>0.05$),说明 Co Q₁₀L 组股骨韧性增加,脆性减弱,抗变形能力有所增强。与 CON 组比较,Co Q₁₀H 组的最大位移明显上升 46.67% ($P<0.05$),但是弹性载荷明显下降 18.32% ($P<0.05$)。

与 CON 组比较,VE 组最大载荷、最大位移、弹性载荷、刚度有所上升,但变化没有显著性差别。Co Q₁₀L 组与 VE 组之间变化没有差别。与 CON 组比较,Co Q₁₀L 联合 VE 组没有统计学差异($P>$

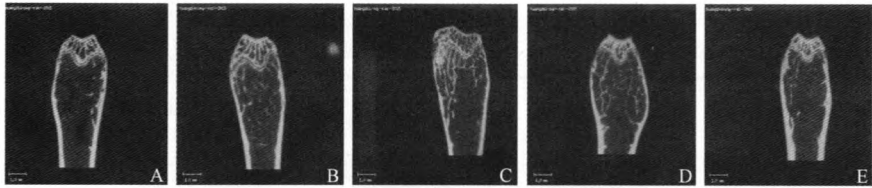


图 1 各组小鼠远端股骨的显微结构图

Fig. 1 Micrographs of the vertical section of distal femur in different groups of mice

Note: A:CON; B:VE; C:Co Q₁₀L; D:Co Q₁₀H; E: Co Q₁₀L + VE

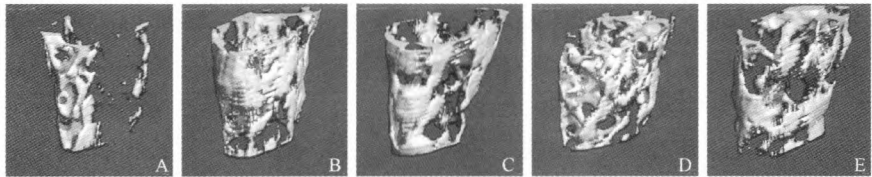


图 2 各组小鼠远端股骨的 SEG 三维重建图

注:图 2 为 SEG 图,反映骨小梁的数量

Fig. 2 Segmented (SEG) image of micro-CT of distal femur in mice in different groups

Note: A:CON; B:VE; C:Co Q₁₀L; D:Co Q₁₀H; E: Co Q₁₀L + VE

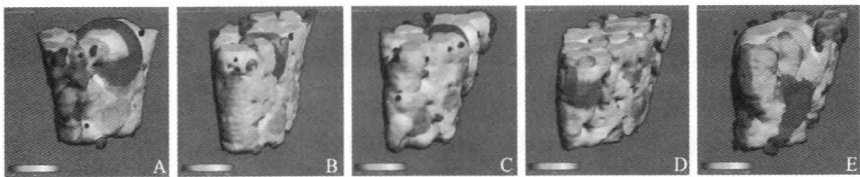


图 3 各组小鼠远端股骨的分离度的三维重建图

注:图 3 为 SP 图,反映骨小梁的分离度情况,从绿到红,反映了骨分离度从小到大

Fig. 3 Trabecular separation image of micro-CT of distal femur in mice in different groups

Note: A:CON; B:VE; C:Co Q₁₀L; D:Co Q₁₀H; E: Co Q₁₀L + VE

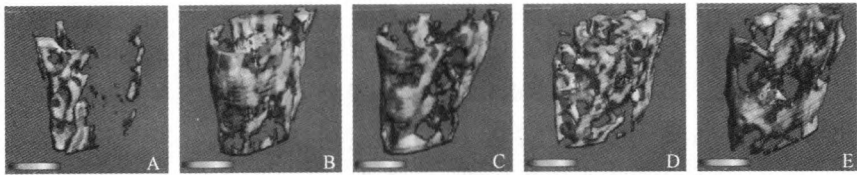


图 4 各组小鼠远端股骨的厚度的三维重建图

注:图 4 为 TH 图,反映骨小梁的厚度分布情况,从绿到红,反映了骨从薄到厚。

Fig. 4 Trabecular thickness image of micro-CT of distal femur in mice in different groups

Note: A:CON; B:VE; C:Co Q₁₀L; D:Co Q₁₀H; E: Co Q₁₀L + VE

0.05)。见表 3。

3 讨论

骨生物力学主要是研究骨组织在外界作用下的力学性能和骨在受力后的所产生的生物学效应,是评价药物对骨质量的指标,骨量的减少以及骨质内部结构的改变均能影响骨生物力学,可降低生物力学强度^[4]。另外, Micro-CT 通过 X 线扫描和三维重

建,极大地解决了骨组织形态计量学测量方面存在切片方向的不固定性和二维平面的局限性的问题,成为研究分析骨微观结构的新兴技术,是理想的研究骨形态学的工具^[5]。从小鼠股骨二维纵切面截图和三维结构重建后的分割图直接观察骨小梁的结构形态,纵切面截图能够直观表现骨小梁的结构形态,骨小梁分离度图可反映骨小梁的距离情况,从绿到红,反映了骨小梁之间的距离越来越大。骨小梁

表 3 各组小鼠股骨的最大载荷,最大位移,弹性载荷,弹性位移,刚度($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 3 Changes of biomechanical peoperties of femur in mice of different groups($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Group	Maximum load/N	Maximum displacement/mm	Elastic load/N	Elasticdisplacement /mm	Stiffness/N·mm ⁻¹
CON	40.98 ± 8.94	0.15 ± 0.05	33.12 ± 7.05	0.08 ± 0.01	275.55 ± 43.16
VE	44.75 ± 5.65	0.18 ± 0.05	28.47 ± 1.52	0.07 ± 0.02	283.99 ± 30.90
Co Q ₁₀ (L)	52.14 ± 6.908	0.14 ± 0.06	38.84 ± 6.63	0.05 ± 0.03	335.81 ± 57.89 *
Co Q ₁₀ (H)	41.40 ± 3.31	0.22 ± 0.07 *	27.05 ± 3.64 *	0.08 ± 0.02	233.28 ± 38.09
Co Q ₁₀ (L) + VE	39.58 ± 15.72	0.16 ± 0.08	32.46 ± 5.35	0.07 ± 0.03	270.06 ± 47.84

* $P < 0.05$ vs CON

注:CON 为正常组、VE 为维生素 E 组、Co Q₁₀L 为辅酶 Q₁₀低剂量组、Co Q₁₀H 为辅酶 Q₁₀高剂量组、Co Q₁₀L + VE 为辅酶 Q₁₀低剂量联合维生素 E 组。

厚度图除了可见骨小梁的结构和几何信息外,还可接反映骨小梁的厚度分布情况,从绿到红,反映了骨从薄到厚,给骨骼的结构参数及力学参数的定量数值,观察骨微结构变化^[6]。

3.1 辅酶 Q₁₀ 对 10 月龄小鼠股骨显微结构和生物力学的影响

由表 2 和表 3 结果可知,Co Q₁₀ 对 10 月龄小鼠股骨的显微结构有一定的改善作用。与 CON 组相比,Co Q₁₀L 组的刚度明显增加,刚度反映抗变形能力,说明 Co Q₁₀L 能增加小鼠股骨抗变形能力。另外,Co Q₁₀L 组 SMI 明显下降,BV/TV、BMD 和 Conn. D 明显升高。SMI 是用于评价骨小梁的形态结构,定义骨小梁板状和杆状的程度,理想板状结构为 0,理想杆状结构为 3,发生骨质疏松时,骨小梁从板状向杆状转变,SMI 数值增加,说明 Co Q₁₀L 组骨小梁结构有所改善。Co Q₁₀L 组能明显增加 BV/TV,BV/TV 是描述松质骨结构的一个参数,能够反映松质骨样本内骨组织体积的含量,提示 Co Q₁₀L 能提高小鼠股骨的骨体积分数。Co Q₁₀L 组 BMD 和 Conn. D 明显升高,BMD 和 Conn. D 分别描述骨密度和连接密度,说明 Co Q₁₀L 能明显增加小鼠股骨骨密度,并使其结构相对紧密。Tb. Th、Tb. N 和 Tb. Sp 分别描述厚度、骨小梁数目和分离度这三方面,虽然 Co Q₁₀L 组这三个参数没有明显的统计学差异,但是 Tb. Th、Tb. N 有所上升和 Tb. Sp 有所下降。Co Q₁₀L 组 BV/TV、BMD 和 Conn. D 明显升高说明辅酶 Q₁₀ 可能通过调节核因子- κ B(RANKL)诱导的破骨细胞分化过程,从而抑制破骨细胞的活性^[7],破骨细胞吸收能力小于成骨细胞骨形成功能,使得吸收范围减少,进而使其连接密度、骨小梁数目和骨体积增多,小鼠股骨松质骨网状结构的完整性得以保存,这与生物力学的参数结果相符合,表明松质骨微结构的改变影响了骨承载能力,对生物力学性能产生影

响。

与 CON 组相比,Co Q₁₀H 组弹性载荷和最大位移明显增加,提示 Co Q₁₀H 能够改善小鼠股骨的韧性。另外,Co Q₁₀H 组 BV/TV、SMI 和 Conn. D 明显上升,但是在 Tb. Th 和 Tb. N 并没有改变,说明骨体积、骨结构和连接密度虽然有明显的提高,但是骨小梁数目和骨的厚度并没有提高,从而只是使股骨结构的韧性得到提高,提示了使用过高剂量的辅酶 Q₁₀并不能改善小鼠股骨的显微结构和骨生物力学,因为 Co Q₁₀在破骨细胞的生成的过程中会抑制抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP)、NFATc1 的基因表达以及相关免疫球蛋白样受体而使破细胞活性减低,但是其作用有与 Co Q₁₀的剂量呈一定的剂量相关性,在一定的浓度范围内才会使破骨细胞活性减低^[7]。这提示了过大剂量的 Co Q₁₀并不能改善小鼠的骨微结构和生物力学性能,要在合适的剂量范围内才会产生作用,这也说明了之前我们课题组 30 mg·kg⁻¹·d⁻¹Co Q₁₀这一剂量太小,导致环磷酰胺模型的大鼠股骨的显微结构和骨量只有一定的改善作用,并没有很好的提高其骨密度和生物力学性能。

3.2 维生素 E 对 10 月龄小鼠股骨显微结构和生物力学的影响

维生素 E 是高效的抗氧化剂和自由基清除剂,它主要通过抗氧化清除自由基,减少成骨细胞的氧化倾向同时刺激成骨细胞的活性,从而促进骨健康^[8-9]。由表 2 中可得,与 CON 组比较,VE 组小鼠股骨的部分参数有所修复,BMD 和 Conn. D 明显增加,BV/TV 有上升的趋势,Tb. Th、Tb. N 和 Tb. Sp 没有明显的统计学差异,这提示维生素 E 可能在 Tb. Th、Tb. N 和 Tb. Sp 三个方面的共同作用下使 BMD 增加。

3.3 辅酶 Q₁₀低剂量联合维生素 E 对 10 月龄小鼠股骨显微结构和生物力学的影响

与 CON 组比较,由表 2 和表 3 结果可知,Co Q₁₀ L 联合 VE 组只有 Conn. D 明显升高,其他参数并没有太大的变化,生物力学方面参数没有统计学差异。说明 Co Q₁₀ L 联合 VE 组对小鼠股骨的显微结构和骨生物力学改善作用有限,这同时说明了单一应用 Co Q₁₀ 或者 VE 都能一定的改善小鼠股骨的显微结构和骨生物力学参数,但是联合应用在一起却没有很好的效果,其中的原因可能是药物的协同作用所致,有研究^[10]指出在抗氧化的过程中 Co Q₁₀ 和 VE 有协同作用,Co Q₁₀ 通过还原 VE 在清除自由基是产生的 α -生育酚酰基自由基,节约和再生 VE,但是其中 Co Q₁₀ 和 VE 剂量大小的配伍,却有待进一步的探讨,同时说明了 Co Q₁₀ L 联合 VE 组的剂量并不是合适的浓度。VE 主要的机制是通过抗氧化清除自由基,减少成骨细胞的氧化倾向同时刺激成骨细胞的活性,从而促进骨健康。同时有文献报道,辅酶 Q₁₀ 减少活性自由基表达的同时,抑制破骨细胞的形成,促进成骨细胞矿化^[11],这提示了辅酶 Q₁₀ 可参与调节骨代谢的过程,抑制骨质疏松的发生。近几年来有文献报道辅酶 Q₁₀ 有改善骨关节炎和骨退化的作用,其机制可能是通过调节一氧化氮和炎症细胞因子^[12],因此 Co Q₁₀ 主要通过抑制破骨细胞的表达,两者的作用机制不一样,对骨的影响也是在不同的方面。

3.4 小结

综上所述,本实验研究了 500 mg/(kg·d) Co Q₁₀ 在预防小鼠骨质疏松中的作用效果,已表现出了良好的效果,特别是其改善骨质量,增加骨生物力学性能的作用。这一现象提示 Co Q₁₀ 在抗骨疏松方面具有良好的应用前景,但是其具体的作用机制有待进一步的探究。

【参 考 文 献】

- [1] 李家洲. 辅酶 Q₁₀ 的功能与应用研究进展[J]. 食品与药品, 2013, 15(06): 433-435.
Li jia zhou. Progress on function and application of coenzyme Q₁₀ [J]. Food and drug, 2013, 15(06): 433-435.
- [2] 于琼, 吕思敏, 崔燎, 等. 辅酶 Q₁₀ 对环磷酰胺大鼠股骨的显微结构和生物力学的影响[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(03): 421-425.
Yu qiong, Lv si min, Cui liao, et al. Preventive effects of CoQ10 on trabecular microstructure and biomechanical properties of femur in a rat model of cyclophosphamide induced bone loss[J]. Chinese pharmacological bulletin, 2015, 31(03): 421-425.
- [3] 张益嘉, 吴铁, 崔燎, 等. 月见草油与维生素 E 对衰老模型小鼠骨丢失的影响[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(09): 1060-1062.
Zhang yi jia, Wu tie, Cui liao, et al. Protective effects of evening primrose oil and vitamin E on osseous changes in the aging mice induced by D-galactose [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2009, 29(09): 1060-1062.
- [4] Go Kochi, Shuichi Sato, Hajime Ebihara, et al. A comparative study of microfocus CT and histomorphometry in the evaluation of bone augmentation in rat calvarium[J]. Journal of Oral Science, 2010, 52(2): 203-211.
- [5] Satoru Matsunaga, Yoshitaka Shirakura, Takashi Ohashi, et al. Biomechanical role of peri-implant cancellous bone architecture [J]. The International journal of prosthodontics, 2010, 23(4): 333-338.
- [6] 吴青云, 熊雪婷, 许碧莲, 等. 泼尼松对 II 型胶原诱导性关节炎大鼠股骨微结构及生物力学的影响[J]. 中国药理学通报, 2014, 30(07): 1018-1022.
Wu qiong yun, Xiong xue ting, Xu bi lian, et al. Effects of prednisone on trabecular microstructure and biomechanical properties of femur in a rat model of type II collagen induced arthritis[J]. Chinese pharmacological bulletin, 2014, 30(07): 1018-1022.
- [7] Ho-Jin Moon, Wan-Kyu Ko, Min-Seo Jung, et al. Coenzyme Q10 regulates osteoclast and osteoblast differentiation[J]. Journal of Food Science, 2013, 78(5): H785-H791.
- [8] Yoko Yamamoto, Tatsuya Yoshizawa, Toru Fukuda, et al. Vitamin D receptor in osteoblasts is a negative regulator of bone mass control[J]. Endocrinology, 2013, 154(3): 1008-1020.
- [9] 贾岩波, 刘万林, 任逸众. 维生素 E 干预激素性股骨头坏死早期细胞凋亡的研究[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(2): 375-377.
Yanbo, Liu wanlin, Ren yizhong. Vitamin E intervention in early apoptosis in glucocorticoids induced femoral head necrosis [J]. Chin J exp surg, 2014, 31(2): 375-377.
- [10] 肖新才, 冯翔. 辅酶 Q₁₀ 抗氧化作用研究进展[J]. 国外医学(卫生学分册), 2003, 04: 216-221.
Xiao xin cai, Feng xian. Research progress of antioxidant effect of coenzyme Q₁₀ [J]. Foreign Medical Sciences (Section of Hygiene), 2003, 04: 216-221.
- [11] Ho-Jin Moon, Wan-Kyu Ko, Song Wook Han, et al. Antioxidants, like coenzyme Q10, selenite, and curcumin, inhibited osteoclast differentiation by suppressing reactive oxygen species generation [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2012, 418(2): 247-253.
- [12] Jennifer Lee, Yeon Sik Hong, Jeong Hee Jeong, et al. Coenzyme Q10 ameliorates pain and cartilage degradation in a rat model of osteoarthritis by regulating nitric oxide and inflammatory cytokines [J]. PLoS ONE, 2013, 8(7): e69362.

(收稿日期: 2015-12-02)