

· 论 著 ·

辛伐他汀延缓生酮饮食导致的骨量丢失的实验观察

杨舟 刘祺 许晓林 刘雅普 吴秀华 黄志平 黄祖成 孔刚刚 丁建羊 朱青安*

南方医科大学南方医院脊柱骨科, 广东 广州 510515

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 07-0899-07

摘要: **目的** 分析辛伐他汀(ST)治疗后小鼠股骨骨微结构、力学性能及骨形态的改变,评价 ST 对缓解生酮饮食引起的骨量丢失的治疗作用。**方法** 40 只 C57 小鼠随机分为假手术组、卵巢切除组(OVX)、卵巢切除加辛伐他汀组(OVX+ST)、生酮饮食组(KD)及生酮饮食加辛伐他汀组(KD+ST),每组 8 只。OVX 和 OVX+ST 组小鼠行双侧卵巢切除,予以常规标准饮食。KD 及 KD+ST 组予以碳水化合物与脂肪比为 1:3 的生酮饮食,OVX+ST 及 KD+ST 组予以 ST 灌胃,剂量为 20 mg/(kg·d)。12 周处死取材,测量各组小鼠血酮、血糖、血钙、血磷等的水平,分别采用显微 CT 扫描、三点弯曲试验、有限元分析及 HE 染色观察股骨骨量微结构、力学性能及骨形态。**结果** KD 组和 KD+ST 组小鼠血酮含量为 1.28 mmol/L 和 1.48 mmol/L,明显高于假手术组(0.60 mmol/L)。各组间血糖、血钙或血磷的差异没有统计学意义。辛伐他汀治疗提高了 KD+ST 组的松质骨骨量、股骨有限元压缩刚度及三点弯曲刚度,其中 KD+ST 组较 KD 组股骨远端松质骨骨体积分数从 4.1% 上升到 6.6%,有限元压缩刚度从 35 N/mm 提高到 161 N/mm,股骨三点弯曲刚度从 44 N/mm 提高到 60 N/mm,组织学观察也表明 KD+ST 组的股骨远端松质骨小梁较 KD 组明显增多。**结论** 辛伐他汀治疗提高了 KD 组小鼠股骨松质骨骨体积分数、三点弯曲刚度、有限元压缩刚度和骨小梁数目,缓解了生酮饮食导致的骨量丢失。

关键词: 辛伐他汀;骨质疏松症;生酮饮食;卵巢切除

Simvastatin alleviates the bone loss caused by ketogenic diet: an in vivo study

YANG Zhou, LIU Qi, XU Xiaolin, LIU Yapu, WU Xiuhua, HUANG Zhiping, HUANG Zucheng, KONG Ganggang, DING Jianyang, ZHU Qingan*

Department of Spine Surgery, Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

* Corresponding author: ZHU Qing'an, Email: qinganzhu@gmail.com

Abstract: **Objective** To observe the protective effect of simvastatin (ST) on osteoporosis caused by ketogenic diet by analyzing the alleviation of microstructure of the femur, mechanical properties, and bone morphology in mice treated with simvastatin. **Methods** A total of 40 C57 mice were randomly divided into Sham group, ovariectomized group (OVX), ovariectomized with simvastatin treatment group (OVX + ST), ketogenic diet group (KD), and the ketogenic diet with simvastatin treatment group (KD + ST) group, with 8 mice in each group. The mice in OVX and OVX+ST groups were undergone ovariectomy and fed with standard diet. The mice in KD and KD+ST groups were fed with ketogenic diet in which the ratio of carbohydrate and fat was 1:3. The mice in the OVX + ST and KD + ST groups were administered with a dosage of 20 mg/(kg·d) ST by gavage. Mice were sacrificed in 12 weeks. Serum ketone, glucose, calcium, and phosphorus were measured. The bone trabecular microstructure, biomechanical properties, and bone morphological changes were observed with micro CT scan, three-point bending tests, finite element analysis, and HE staining. **Results** The serum ketone level was significantly higher in the KD group (1.28 mmol/L) and the KD+ST group (1.48 mmol/L) than that in the Sham group (0.60 mmol/L). There were no significant differences in blood glucose, serum calcium, or phosphorus among these groups. Simvastatin treatment improved the cancellous bone number and the femoral compression stiffness in finite element analysis and the stiffness of three-point bending test in the KD+ST group. Compared with the KD group, the bone volume/tissue volume (BV/TV) in KD + ST group increased from 4.1% to 6.6%, the compression stiffness of finite element analysis increased from 35 N/mm to 161 N/mm, and the stiffness of three-point bending test increased from 44 N/mm to 60 N/mm. Histology analysis also showed that the distal femoral trabeculae in KD + ST group increased

基金项目: 广东省自然科学基金(2015A030313276);南方医院院长基金(2016Z021)

* 通信作者: 朱青安, Email: qinganzhu@gmail.com

significantly than that in KD group. **Conclusion** Simvastatin alleviates bone loss in terms of the volume fraction of femoral cancellous bone, stiffness in three-point bending test, compression stiffness in finite element analysis, and trabeculae number in mice treated with ketogenic diet.

Key words: simvastatin; osteoporosis; ketogenic diet; ovariectomy

生酮饮食(ketogenic diet, KD)是一种高脂肪、低碳水化合物的配方饮食,可将机体从糖代谢转变为脂肪氧化供能,增加酮体代谢,目前在临床上是治疗儿童耐药性癫痫的手段之一^[1],也对急性和退变性神经系统疾病和急性脊髓损伤等具有治疗作用^[2]。然而, Hahn 等^[3]于 1979 年首次报道生酮饮食相关性骨量丢失,也有研究发现儿童难治性癫痫的患者在长期使用生酮饮食干预后发生骨量丢失^[4]。本课题组前期研究证实了生酮饮食导致小鼠骨量丢失、力学性能下降^[5]。因此由于生酮饮食在临床上的应用而导致骨量丢失的不良反应不容忽视。

他汀类药物是 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A, HMG-CoA)的抑制剂,通过抑制胆固醇合成链中的限速酶 HMG-CoA 还原酶来减少胆固醇的合成。1999 年 Mundy 等^[6]首次发现,他汀类药物有激活成骨细胞、促进骨合成代谢的作用。随后研究进一步发现,辛伐他汀能在体内和体外环境下通过提升骨形态发生蛋白 2 和碱性磷酸酶的表达水平刺激骨形成,还可以刺激骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化^[7-8],可能成为新的有效的治疗骨质疏松症的药物。然而辛伐他汀对于生酮饮食引起的骨质疏松症的治疗未见报道。

本研究目的是通过分析股骨远端松质骨和中段皮质骨的骨微结构、生物力学性能以及骨形态的改善等评价辛伐他汀对生酮饮食引起的骨质疏松症的治疗作用。

1 材料和方法

1.1 动物模型与分组

40 只雌性 8 周龄 C57BL/6 J 小鼠,购自南方医科大学实验动物中心,平均体重为 16~18 g。适应性喂养 1 周后随机分为 5 组,分别为对照组(Sham)、卵巢切除组(OVX 组)、卵巢切除加辛伐汀干预组(OVX+ST 组)、生酮饮食组(KD 组)、生酮饮食加辛伐他汀干预组(KD+ST 组)。OVX 和 OVX+ST 组小鼠在异氟烷麻醉下行双侧卵巢切除术,方法参照以往研究^[9]。KD 及 KD+ST 组小鼠予以碳水化合物与脂肪比为 1:3 的生酮饮食(Zeneca,深圳,

广东,中国)喂养,而 Sham 组、OVX 组、OVX+ST 组喂以普通饮食(购自南方医科大学实验动物中心)(两种饮食基本营养素含量见表 1)。辛伐他汀治疗组小鼠予以辛伐他汀 20 mg/(kg·d)灌胃,方法参照以往研究^[10]。12 周取材,获取血清及双侧股骨,左侧股骨置于-80℃保存备用,右侧股骨置于 4%多聚甲醛中浸泡固定 24 h 备用。

表 1 普通饲料与生酮饮食成分

Table 1 Basic nutrient content in SD and KD

成分	普通饮食(100 g)	生酮饮食(100 g)
热量	1338kJ	2804kJ
蛋白质	14.5g	18.2g
脂肪	4 g	65.1g
碳水化合物	55.5g	2.7g
膳食纤维	4.5g	7.4g
钙	720mg	500mg
磷	600mg	300mg
维生素 D	2.5μg	2.5μg

1.2 体重、血酮、血糖和子宫重量的测量

干预 12 周后,用 CS 200 电子称(Ohaus Pine Brook NJ 美国)称量小鼠体重。采用剪尾法获取小鼠血液标本,并用血糖仪(JPS-5 怡成 北京 中国)、血酮仪(Meter T-1 Sentest Inc. 台湾 中国)测量血糖和血酮。过量麻醉处死小鼠,仔细分离子宫后,于 4℃冰箱生理盐水中浸泡备用,纱布吸干生理盐水后称重。

1.3 显微 CT 扫描

对所有小鼠的右侧股骨行显微 CT(μ80 Scanco 公司瑞士)扫描。预扫完毕后分别选择股骨远端 1/3 的部位和股骨中段 180 层作为扫描区域。扫描参数为电压 55 kV,电流 145μA,层厚为 12 μm。扫描结束后,以股骨髁消失作为第一层选取 100 层分析松质骨显微结构,测量总矿物质密度(TMD)、骨体积分数(BV/TV)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁连接密度(Conn.D)等。测量股骨中段的 100 层皮质骨的厚度(Ct.Th)、皮质骨总面积(Tarea)、皮质骨横截面积(Barea)。

1.4 股骨远端松质骨压缩试验

通过有限元模型分析软件(SCANCO Medical AG,版本 1.13),采用高分辨率骨微结构的三维图

像建立股骨远端松质骨压缩的有限元模型,在线弹性范围内进行轴向压缩仿真试验,按同质和各向同性的弹性材料来模拟。其中骨材料的参数分别为泊松比 $\nu=0.3$,杨氏模量 $E=10\ 000\ \text{MPa}$,方法参照以往研究^[11]。采用“Z 轴方向高摩擦压缩试验”模拟股骨压缩试验,计算股骨远端松质骨压缩刚度。

1.5 股骨中段三点弯曲试验

左侧股骨标本在室温下解冻 1 h 后,采用电磁伺服材料试验机(E1000 Instron 公司 美国)进行股骨三点弯曲试验。具体方法如下:采用游标卡尺确定股骨的中点,将股骨放置于自制的三点弯曲平台上,支架的跨距为 10 mm,两端支架到股骨中点的距离为 5 mm,以 2 mm/min 的速度在股骨中点向下横向施压至破坏(图 1)。连续记录载荷和位移,从载荷-位移曲线中得到最大载荷、最大位移、刚度、最大能量吸收。

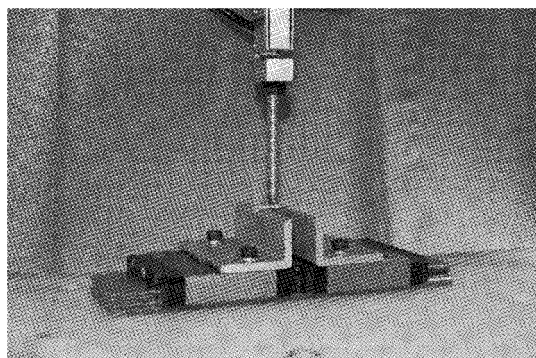


图 1 股骨三点弯曲试验

Fig.1 Three-point bending test for the femurs

1.6 股骨骨组织学分析

显微 CT 扫描后,右侧股骨置于 10%EDTA 脱钙 4 周后,自来水流水冲洗过夜,梯度乙醇脱水,石蜡包埋。每组标本行矢状面切片,厚度约 5 μm ,HE 染色,在光学显微镜选 40 倍镜下观察骨小梁结构。

1.7 统计学处理

所得数据用均数 $\pm$ 标准差表示。采用单因素方差分析评价体重、子宫重量、血糖、血酮、血钙、血磷、骨结构参数和力学参数。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 体重、子宫重量、血液指标

干预 12 周后各组间小鼠体重差异没有统计学意义。OVX 组和 OVX+ST 组小鼠子宫重量分别为 $(0.04\pm0.01)\text{g}$ 和 $(0.03\pm0.01)\text{g}$,明显低于 Sham 组

$(0.13\pm0.02)\text{g}$,差异具有统计学意义($P<0.05$)(表 2)。

表 2 小鼠体重及子宫重量($\bar{x}\pm s$)

Table 2 The body weight and uterus weight of the mice($\bar{x}\pm s$)

组别	体重/(g)	子宫重量/(g)
Sham	20.3 $\pm$ 0.76	0.13 $\pm$ 0.02
OVX	21.8 $\pm$ 1.16	0.04 $\pm$ 0.01*
OVX+ST	20.3 $\pm$ 1.28	0.03 $\pm$ 0.01*
KD	20.8 $\pm$ 1.67	0.13 $\pm$ 0.03
KD+ST	20.4 $\pm$ 1.34	0.13 $\pm$ 0.03

注:与 Sham 组相比,* $P<0.05$ 。

12 周时 KD 组和 KD+ST 组血酮分别为 $(1.28\pm0.36)\text{mmol/L}$ 和 $(1.48\pm0.53)\text{mmol/L}$,均显著高于 Sham 组 $(0.60\pm0.32)\text{mmol/L}$ 。而各组之间的血糖、血清钙或磷含量差异均没有统计学意义(表 3)。

表 3 正常饮食和生酮饮食对血液中酮体、葡萄糖、钙和磷的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 The effects of SD and KD on blood ketone, glucose, calcium and phosphorus($\bar{x}\pm s$)

组别	血酮/(mmol/L)	血糖/(mmol/L)	血钙/(mol/L)	血磷/(mol/L)
Sham	0.60 $\pm$ 0.32	7.25 $\pm$ 1.03	2.20 $\pm$ 0.10	2.36 $\pm$ 0.28
OVX	0.75 $\pm$ 0.17	7.33 $\pm$ 0.99	2.17 $\pm$ 0.13	2.29 $\pm$ 0.26
OVX+ST	0.63 $\pm$ 0.10	6.33 $\pm$ 0.31	2.21 $\pm$ 0.09	2.30 $\pm$ 0.48
KD	1.28 $\pm$ 0.36*	7.83 $\pm$ 0.81	2.14 $\pm$ 0.03	2.38 $\pm$ 0.52
KD+ST	1.48 $\pm$ 0.53*	6.25 $\pm$ 0.68	2.12 $\pm$ 0.13	2.10 $\pm$ 0.36

注:与 Sham 组相比,* $P<0.05$ 。

2.2 股骨骨微结构

OVX 组和 KD 组小鼠股骨远端松质骨的总矿物质密度(TMD)分别为 $(36.3\pm8.84)\text{mg/cm}^3$ 和 $(39.2\pm13.5)\text{mg/cm}^3$,明显低于 Sham 组 $(69.0\pm11.2)\text{mg/cm}^3$ ($P<0.05$)。辛伐他汀治疗后,OVX+ST 组 TMD 为 $(53.0\pm10.1)\text{mg/cm}^3$,较 OVX 组显著升高($P<0.05$)。KD+ST 组 TMD 为 $(51.8\pm6.20)\text{mg/cm}^3$,较 KD 组有所升高,但组间差异没有统计学意义($P>0.05$)。骨小梁连接密度(Conn.D)的组间变化与 TMD 组间变化趋势相似。OVX+ST 组股骨骨体积分数(BV/TV)显著高于对照组(4%与 6%),同样 KD+ST 组股骨骨体积分数也显著高于对照组(4%与 7%)。各组间骨小梁数目的变化趋势与各组间的骨体积分数变化趋势相同,而各组间骨小梁分离度的变化趋势则相反(图 2)。

各组之间股骨中段皮质骨面积(Barea)或骨皮质厚度(Ct.Th)的差异没有统计学意义($P>0.05$)。OVX+ST 组股骨中段皮质骨总面积(Tarea)为 $(1.77\pm0.10)\text{mm}^2$,明显高于 OVX 组 $(1.44\pm$

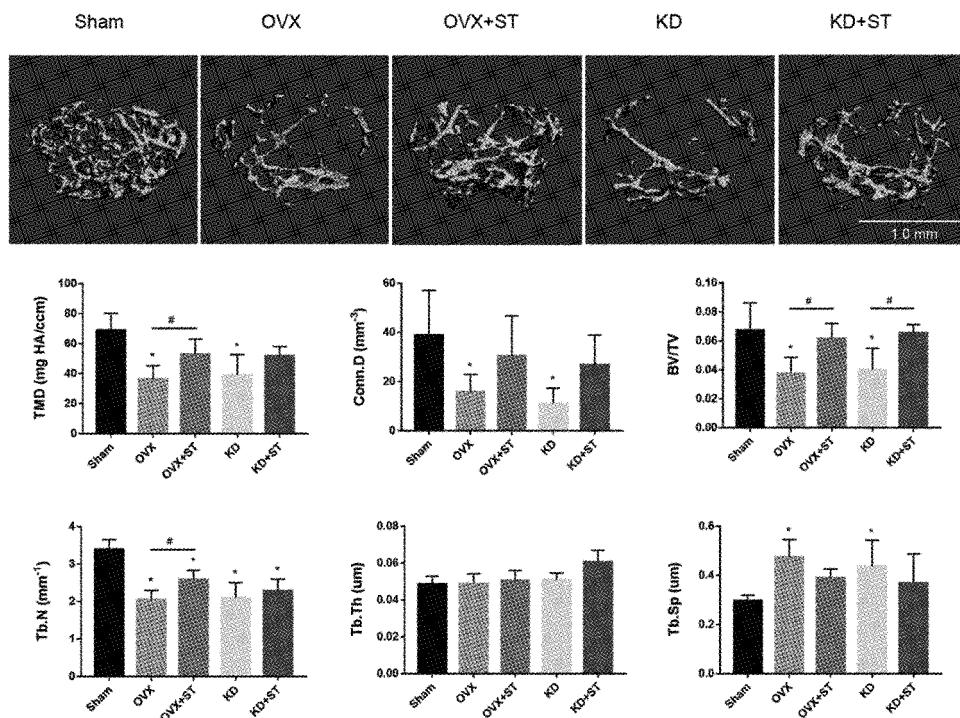


图2 远端股骨骨松质 Micro-CT 扫描

注:与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 两组间比较, # $P < 0.05$ 。

Fig.2 Micro-CT images and parameters of cancellous bone at the distal femurs

0.33) mm^2 ($P < 0.05$) (图3)。

2.3 股骨远端松质骨压缩试验

Sham 组、OVX 组、OVX+ST 组、KD 组和 KD+ST 组小鼠股骨远端松质骨刚度分别为 (320 ± 146) N/mm、(47 ± 41) N/mm、(233 ± 74) N/mm、(35 ± 15) N/mm 和 (161 ± 38) N/mm。OVX 组和 KD 组与 Sham 组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。OVX+ST 组

刚度大于 OVX 组,且组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。尽管 KD+ST 组刚度高于 KD 组,但组间刚度的差异没有统计学意义 (图4)。

2.4 股骨中段三点弯曲试验

Sham 组、OVX 组、OVX+ST 组、KD 组和 KD+ST 组小鼠股骨最大载荷分别为 (12.4 ± 1.4) N、(11.1 ± 0.7) N、(17.1 ± 0.8) N、(12.5 ± 1.1) N、(19.4 ± 3.0)

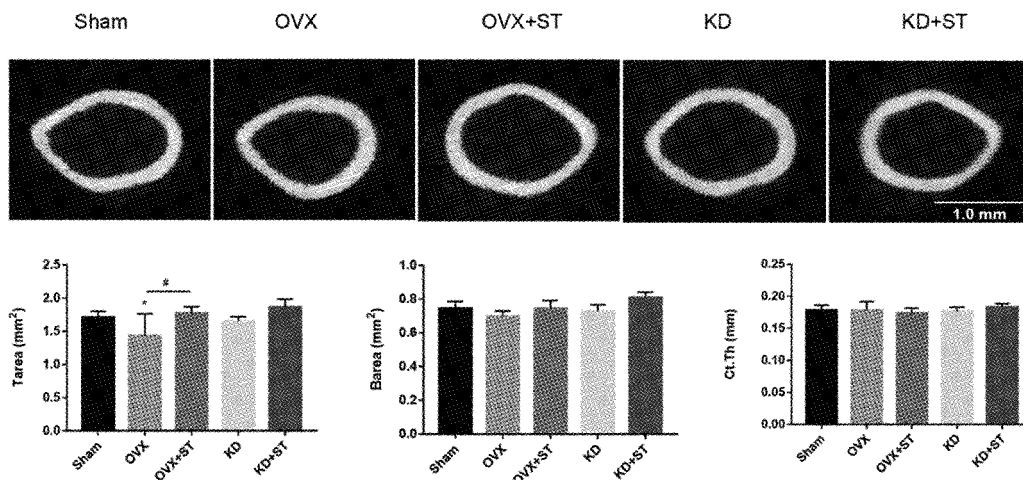


图3 中段股骨骨皮质 Micro-CT 扫描

注:与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 两组间比较, # $P < 0.05$ 。

Fig.3 Micro-CT images and parameters of cortical bone at the middle femurs

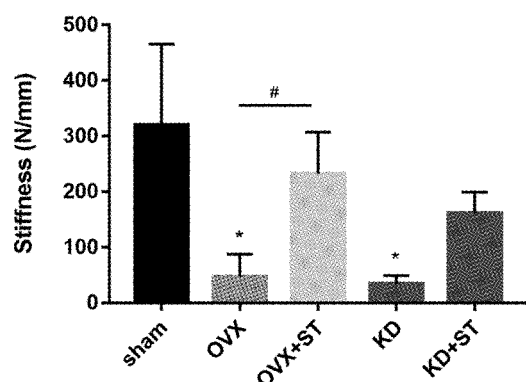


图4 有限元分析股骨远端松质骨压缩刚度

注:与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 两组间比较, # $P < 0.05$ 。

Fig. 4 The stiffness results of finite element analysis at the distal femurs

N。OVX+ST 组和 KD+ST 组与 Sham 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 辛伐他汀治疗组显著高于对照组 ($P < 0.05$)。股骨最大位移、能量吸收、刚度三个指标 OVX+ST 组比 OVX 组、KD+ST 组比 KD 组、OVX+ST 组和 KD+ST 组都比 Sham 组有所升高, 但是组间差异没有统计学意义 ($P > 0.05$), 而其中股

骨最大能量吸收 KD+ST 组 (2.46 ± 0.73) mJ 显著高于 Sham 组 (1.33 ± 0.37) mJ 和 KD 组 (1.00 ± 0.17) mJ ($P < 0.05$) (图 5)。

2.5 股骨骨组织学分析

Sham 组股骨远端骨骺板下见到的骨小梁结构排列紧密、有规则, 小梁间连接成网状, 骨小梁厚度较为一致。而 OVX 组和 KD 组骨小梁排列稀疏, 总量明显减少, 骨小梁间连接性差, 出现大量骨小梁盲端。辛伐他汀治疗后骨小梁结构、骨小梁壁厚度、形态均较 OVX 组和 KD 组明显改善, 结构比较成熟, 接近对照组 (图 6)。

3 讨论

本研究不仅观察辛伐他汀对 KD 骨量丢失的作用, 同时也观察辛伐他汀对 OVX 骨量丢失的影响, 较全面地评价辛伐他汀对 KD 骨量丢失的效应。本文还从显微 CT 和组织学两个方面观察了骨微结构的改变, 分别采用有限元模型和三点弯曲试验评价了股骨远端松质骨和中段皮质骨的力学性能, 从宏观和微观、结构和功能等多个层面来评价辛伐他汀

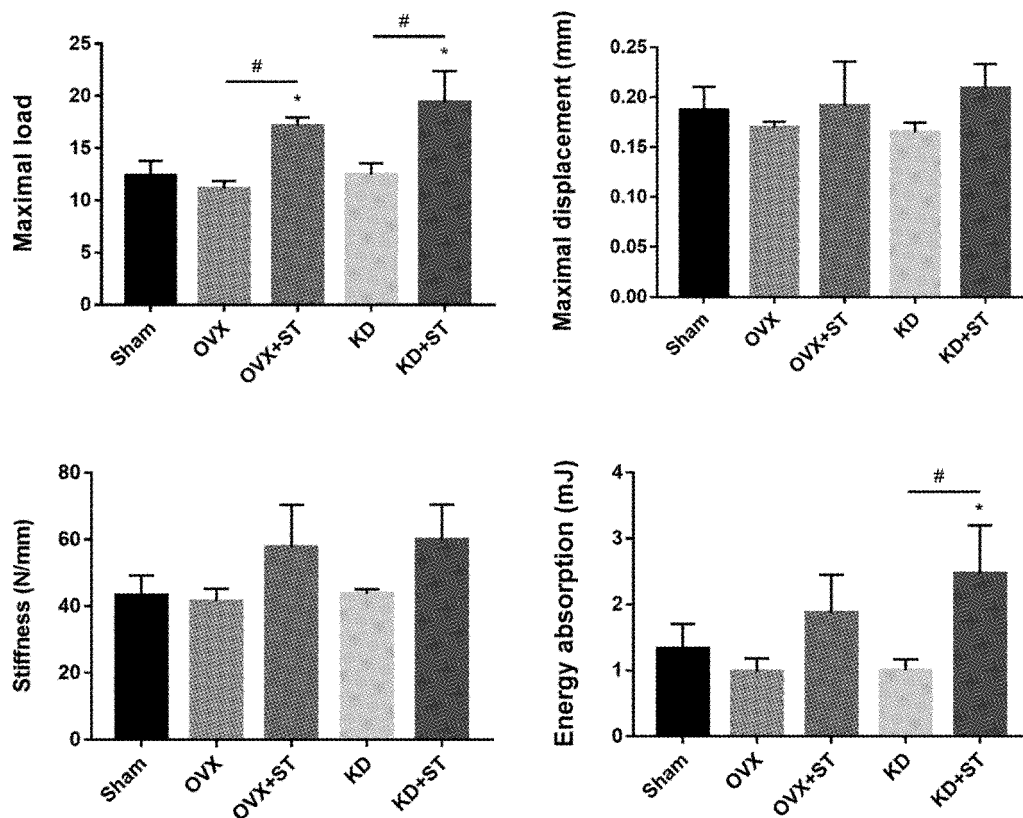


图5 股骨三点弯曲实验的力学参数

注:与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; 两组间比较, # $P < 0.05$ 。

Fig.5 Mechanical parameters of the three-point bending test for the femurs

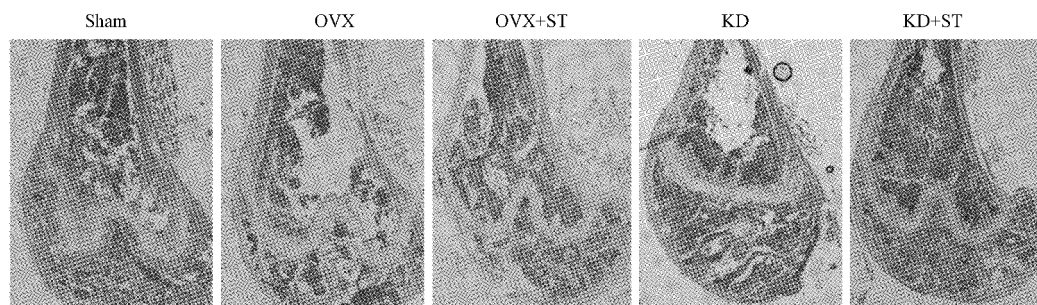


图 6 股骨远端 HE 染色结果

Fig.6 Histological images of the distal femurs with HE staining

缓解骨量丢失的作用。本文的结果表明在辛伐他汀干预后,由 OVX 和 KD 引起的股骨远端松质骨骨量减少得到了改善,股骨中段皮质骨也得到增加,股骨三点弯曲实验力学性能得到提升,说明辛伐他汀能够改善由卵巢切除和生酮饮食导致的骨质疏松症。

生酮饮食是一种以低碳水化合物而高脂为特点的饮食,用于治疗难治性癫痫已有近百年的历史,且它对心血管疾病的预防、神经损伤的保护甚至肿瘤的治疗也被越来越多的报道^[12]。尽管 KD 被认为是相对安全的治疗方式,但是引起的不良反应却不容忽视,尤其在治疗小儿难治性癫痫时对骨的生长发育和代谢的影响^[4]。我们前期研究发现了生酮饮食能诱导不同程度的骨量丢失、力学性能下降^[5],包括松质骨骨容量减少、间隔增宽、连接密度变低、骨小梁数下降、皮质骨厚度及刚度减弱等众多方面。本研究结果显示 KD 组较 Sham 组股骨远端松质骨的 TMD、Conn.D、BV/TV、Tb.N 降低而 Tb.Sp 增加,再一次验证了 KD 会引起小鼠骨量的丢失。

血钙、血磷与骨组织中的钙、磷保持动态平衡,血钙、血磷水平的测定能反映出骨组织的代谢情况。血钙和血磷在骨骼生长中具有重要的作用,血钙水平下降会导致破骨细胞活性的增加,引起骨骼中的钙被溶解,从肾脏流失,而血磷水平升高会引发骨吸收加速,最终导致骨质疏松症^[13]。本研究中各组之间的血清钙或磷含量差异均没有统计学意义,故 OVX 和 KD 引起的骨骼系统的变化不是由于钙元素缺乏或血磷过高所引起。本研究股骨中段皮质骨 KD 组变化不大,与前期研究皮质骨厚度降低不一致,而其可能原因是两次研究所用的生酮饮食的配方不同,旧配方中钙元素含量偏低,而本研究用的生酮饮食中营养素含量符合美国营养学会(AIN93)大小鼠纯化型标准饲料标准,保证了钙、磷、维生素 D

的充足供应。

临床上治疗骨质疏松症主要包括防止骨质吸收和促进骨形成两种机制的药物,前者有激素替代疗法、选择性雌激素受体调节剂、双膦酸盐类,包括选择性雄激素受体调节剂、甲状旁腺素类似物、催产素类似物等^[14]。然而对于已经出现骨量丢失或是骨质疏松的患者,促进骨形成的药物急需开发。辛伐他汀是 3-羟基 3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂家族成员之一,通过抑制胆固醇合成链中的限速酶 HMG-CoA 还原酶,减少胆固醇合成,临床上主要用于治疗高脂血症^[15]。Mundy 等^[6]首次发现,他汀类药物有激活成骨细胞、促进骨合成代谢的作用,大量研究已经报道辛伐他汀可能通过促进成骨细胞分化影响骨的形成^[16-17],可干扰破骨细胞、前体细胞向多核破骨细胞的融和过程^[18-19]等机制对骨质疏松有延缓改善的作用。本研究发现 KD+ST 组较 KD 组 TMD、Conn.D、BV/TV、Tb.N 有所增加而 Tb.Sp 下降,最大载荷、最大位移、能量吸收、刚度增高,辛伐他汀缓解了由生酮饮食导致的骨量丢失。除此之外,OVX+ST 组和 OVX 组相比在上述指标的变化趋势相似,辛伐他汀同样缓解由卵巢切除导致的骨量丢失,结论与其他学者实验结论一致。

本研究发现了辛伐他汀对生酮饮食导致的骨量丢失的缓解作用,但是并没有研究不同剂量及不同时间点对生酮饮食所引起的骨质疏松的影响。其次,本研究仅观察到了辛伐他汀改善骨质疏松的现象,并没有涉及其作用的机制。

总而言之,生酮饮食能够诱导松质骨骨量丢失、生物力学性能下降,而辛伐他汀对于生酮饮食导致的骨量丢失和生物力学性能下降具有一定的缓解作用。

(下转第 974 页)

- renal patients: a point estimate from rationale, through evidences to the real world setting[J]. *G Ital Nefrol*, 2016, 33(4): 33-41.
- [10] 范光磊, 薄静莉, 陈杰敏, 等. 慢性肾脏病患者肾性骨营养不良与骨转换生化标志物变化及相关因素分析[J]. *苏州大学学报(医学版)*, 2012, 32(1): 112-115.
- [11] 黄燕萍, 毛佩菊, 奚敏慧, 等. 558例非透析慢性肾脏病患者骨代谢指标的分析[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2013, 19(11): 1135-1138.
- [12] Isozaki Y, Komaba H. Treatment of CKD-MBD targeting the parathyroid gland[J]. *Clin Calcium*, 2016, 26(6): 895-903.
- [13] Salam SN, Khwaja A, Wilkie ME. Pharmacological management of secondary hyperparathyroidism in patients with chronic kidney disease[J]. *Drugs*, 2016, 76(8): 841-852.
- [14] Chiang C. The use of bone turnover markers in chronic kidney disease-mineral and bone disorders[J]. *Nephrology*, 2017, 22(Suppl 2): 11-13.
- [15] Sun YP, Yang WJ, Li SH, et al. Clinical epidemiology of mineral bone disorder markers in prevalent hemodialysis patients in the Xinjiang Uyghur Autonomous Region in China[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017(8): 251-256.
- [16] Mauer J, Denson JL, Bruning JC. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer[J]. *Trends Immunol*, 2015, 36(2): 92-101.
- [17] Topciu-Shufta V, Miftari R, Haxhibeqiri V, et al. Association of beta-2 microglobulin with inflammation and dyslipidemia in high-flux membrane hemodialysis patients[J]. *Med ARCH*, 2016, 70(5): 348-350.
- [18] Tan SJ, Cai MM. Is there a role for newer biomarkers in chronic kidney disease-mineral and bone disorder management? [J]. *Nephrology*, 2017, 22(Suppl 2): 14-18.
- [19] Li D, Zhang L, Zuo L, et al. Association of CKD-MBD markers with all-cause mortality in prevalent hemodialysis patients: a cohort study in Beijing[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0168537.
- [20] 阙全娥, 杨慧慧. 绝经后2型糖尿病患者骨密度与骨代谢标志物的相关分析[J]. *中华老年医学杂志*, 2013, 32(11): 1206-1208.
- [21] 刘锋, 周广宇, 王雪婷, 等. 利塞膦酸钠治疗老年慢性肾脏病伴骨质疏松的疗效与安全性评价[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(6): 735-740.

(收稿日期: 2018-08-29; 修回日期: 2018-09-09)

(上接第904页)

【参考文献】

- [1] 吴秀华, 王晓萌, 黄志平, 等. 生酮饮食导致小鼠骨质疏松的显微骨结构和生物力学研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(3): 322-327.
- [2] 郭超凡, 周剑, 吴晓亮, 等. 生酮饮食治疗急性脊髓损伤的安全性和可行性[J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(4): 571-575.
- [3] Hahn TJ, Halstead LR, Devivo DC. Disordered mineral metabolism produced by ketogenic diet therapy[J]. *Calcif Tissue Int*, 1979, 28(1): 17-22.
- [4] Bergqvist AG, Schall JI, Stallings VA, et al. Progressive bone mineral content loss in children with intractable epilepsy treated with the ketogenic diet[J]. *Am J Clin Nutr*, 2008, 88(6): 1678-1684.
- [5] Wu X, Huang Z, Wang X, et al. Ketogenic Diet Compromises Both Cancellous and Cortical Bone Mass in Mice[J]. *Calcified Tissue International*, 2017, 101(4): 412-421.
- [6] Mundy G, Garrett R, Harris S, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins[J]. *Science*, 1999, 286(5446): 1946-1949.
- [7] Montagnani A, Gonnelli S, Cepollaro C, et al. Effect of simvastatin treatment on bone mineral density and bone turnover in hypercholesterolemic postmenopausal women: a 1-year longitudinal study[J]. *Bone*, 2003, 32(4): 427-433.
- [8] Wang JW, Xu SW, Yang DS, et al. Locally applied simvastatin promotes fracture healing in ovariectomized rat[J]. *Osteoporos Int*, 2007, 18(12): 1641-1650.
- [9] 山发明. 辛伐他汀对大鼠骨质疏松性骨折及BMSCs成骨分化的影响[D]. 河北医科大学, 2011.
- [10] Monteiro LO, Macedo AP, Shimano RC, et al. Effect of treatment with simvastatin on bone microarchitecture of the femoral head in an osteoporosis animal model[J]. *Microsc Res Techniq*, 2016, 79(8): 684-690.
- [11] Muller R, Rueggsegger P. Three-dimensional finite element modelling of non-invasively assessed trabecular bone structures[J]. *Med Eng Phys*, 1995, 17(2): 126-133.
- [12] Paoli A, Rubini A, Volek JS, et al. Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2013, 67(8): 789-796.
- [13] 谢尔鹏. 唑来膦酸对骨质疏松模型大鼠骨密度及骨代谢的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(8): 1893-1895.
- [14] Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis[J]. *J Steroid Biochem Molec Biol*, 2014, 142: 155-170.
- [15] Sun F, Duan W, Zhang Y, et al. Simvastatin alleviates cardiac fibrosis induced by infarction via up-regulation of TGF- β receptor III expression[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(15): 3779-3792.
- [16] Maeda T, Matsunuma A, Kawane T, et al. Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 280(3): 874-877.
- [17] Maeda T, Matsunuma A, Kurahashi I, et al. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells[J]. *J Cell Biochem*, 2004, 92(3): 458-471.
- [18] Woo JT, Kasai S, Stern PH, et al. Compactin suppresses bone resorption by inhibiting the fusion of pre-fusion osteoclasts and disrupting the actin ring in osteoclasts[J]. *J Bone Miner Res*, 2000, 15(4): 650-662.
- [19] Takahashi N, Yamana H, Yoshiki S, et al. Osteoclast-like cell formation and its regulation by osteotropic hormones in mouse bone marrow cultures[J]. *Endocrinol*, 1988, 122(4): 1373-1382.

(收稿日期: 2018-06-22; 修回日期: 2018-09-11)