

雷奈酸锶对抗地塞米松诱导大鼠骨质疏松的作用

黄歆¹, 汪瑜¹, 罗梅懿², 宋永丹¹, 杨浩森¹

作者单位:¹成都市第七人民医院骨科, 四川 成都 610000; ²四川省人民医院骨科, 四川 成都 610000

通信作者: 杨浩森, 男, 副主任医师, 研究方向为骨科骨代谢, E-mail: 328298204@qq.com

摘要: **目的** 研究雷奈酸锶对地塞米松诱导骨质疏松大鼠的作用。 **方法** 30只雌性SD大鼠采用随机数字表法分为5组:空白组,骨质疏松模型组,雷奈酸锶高、中、低剂量组。5周后进行骨形态学及血清指标检测,同时考察不同浓度雷奈酸锶对成骨细胞的体外增殖影响。 **结果** 较模型组(38.00 ± 2.36) μm ,雷奈酸锶中、高剂量组的平均骨小梁厚度(48.50 ± 4.05) μm 、(52.00 ± 4.44) μm 明显升高($P < 0.05$),较模型组(189.90 ± 19.27) μm ,雷奈酸锶中、高剂量组的骨小梁间距(154.26 ± 13.86) μm 、(150.02 ± 20.86) μm 明显降低($P < 0.05$),表明雷奈酸锶的干预能明显改善骨显微结构指标。雷奈酸锶组高剂量较模型组大鼠血清白介素-6(IL-6)、骨特异性磷酸酶(BALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP-5b)、I型胶原C端肽(CTX-I)明显降低($P < 0.05$),骨钙素(OCN)、25羟基维生素D(25-HVD)明显升高($P < 0.05$)。体外实验表明雷奈酸锶可促进成骨细胞增殖。 **结论** 雷奈酸锶可促进成骨细胞增殖,改善骨形态及多项血清指标,对激素性骨质疏松有一定治疗作用。

关键词: 雷奈酸锶; 骨质疏松; 大鼠; 细胞增殖; 骨形态学

Effect of strontium ranelate on dexamethasone-induced osteoporosis in rats

HUANG Xin¹, WANG Yu¹, LUO Meiyi², SONG Yongdan¹, YANG Haosen¹

Author Affiliations: ¹Department of Orthopaedics, Chengdu Seventh People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610000, China; ²Department of Orthopaedics, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of strontium ranelate on dexamethasone-induced osteoporosis in rats. **Methods** Totally 30 female SD (Sprague-Dawley) rats were randomly divided into 5 groups: normal group, osteoporosis model group, high-dose group, medium-dose group and low-dose group. After 5 weeks, bone morphological and serum indices were detected, and the effects of different concentrations of strontium ranelate on the proliferation of osteoblasts in vitro were investigated. **Results** Compared with the model group (38.00 ± 2.36) μm , the average trabecular bone thickness [$(48.50 \pm 4.05) \mu\text{m}$, $(52.00 \pm 4.44) \mu\text{m}$] was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group (189.90 ± 19.27) μm , the trabecular space [$(154.26 \pm 13.86) \mu\text{m}$, $(150.02 \pm 20.86) \mu\text{m}$] was significantly decreased ($P < 0.05$) in the high/medium dose group which indicated that strontium ranelate could significantly improve the above indices to evaluate the bone microstructure. The levels of serum IL-6, BALP, 5b (TRACP 5b) and CTX-I in the high dose group were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$), and the osteocalcin and 25-hydroxyvitamin D were significantly increased ($P < 0.05$). In vitro experiment shows that strontium ranelate can promote osteoblast proliferation. **Conclusion** Strontium ranelate can promote the proliferation of osteoblasts and improve the bone morphology and a number of serum indices, which have definite treatment action on osteoporosis.

Key words: Strontium ranelate; Osteoporosis; Rat; Cell proliferation; Bone morphology

骨质疏松(osteoporosis, OP)是一种以骨量减少、骨组织微结构退化为特征,致使骨脆性增加和易于发生骨折的全身性骨代谢疾病^[1]。该病多见于绝经后妇女、老年男性和多种慢性病病人,日益引起人们的重视。当前,治疗骨质疏松的药物主要有三类:①抑制骨吸收,如雌激素、降钙素(CT)、双膦酸盐;②促骨形成,如甲状旁腺激素(PTH)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1);③促进骨矿化,如钙剂^[2]。

雷奈酸锶是可以促进骨形成和抑制骨吸收的双重作用新型药物,是近年来治疗和预防骨质疏松的药物研究热点^[3]。为考察雷奈酸锶抗骨质疏松的药物作用及机制,本研究自2017年10月至2018年2月采用肌肉注射地塞米松方式,建立大鼠骨质疏松模型,通过考察骨形态学以及血清相关骨代谢标志物,评估雷奈酸锶抗骨质疏松效果,为临床应用雷奈酸锶治疗提供客观的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及药物 雷奈酸锶干混悬剂,每袋2 g,法国施维雅药厂,生产批号H20120291;地塞米松注射液,每支2.5 mg, Sigma公司,生产批号H44024469;Rat IL-6 ELISA检测试剂盒,Rat BALP ELISA检测试剂盒,Rat TRACP 5b ELISA检测试剂盒,Rat CTX-I ELISA检测试剂盒,Rat OCN ELISA检测试剂盒,Rat HVD ELISA检测试剂盒;多聚甲醛、伊红液、苏木素(AR级);MEM培养基、南美胎牛血清,等。

1.2 主要仪器 Multiskan酶标仪(赛默飞世尔),DZKW-4电子恒温水浴锅(北京中兴伟业),UPH-II-10T优谱超纯水(成都超纯科技);转轮式切片机(徕卡-2016,德国),TSJ-II型全自动封闭式组织脱水机(中威电子),BMJ-III型包埋机(中威电子),PHY-III型病理组织漂烘仪(中威电子),BA400Digital数码三目摄像显微镜(麦克奥迪);倒置生物显微镜AE31(麦克奥迪),MCO-15AC二氧化碳培养箱(三洋电机);SYQ-DSX-280B压力蒸汽灭菌器(上海宜川),BN-200高精度电子天平(台湾巨林樱花)。

1.3 实验动物 6~8周龄SPF级雌性SD大鼠30只;体质量(226 ± 8) g;3月龄SPF级雌性SD大鼠24只,体质量(270 ± 12) g,购于成都达硕实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(川2013-24),使用许可证号:SYXK(川2014-189)。动物处置符合动物伦理学要求。

1.4 大鼠骨质疏松模型制备及实验分组 6~8周龄清洁级雌性SD大鼠30只,饲喂常规饲料,自由饮水,清洁级饲养。将大鼠随机分为5组:空白对照组(不做处理),模型组(每周2次地塞米松1 mg/kg肌肉注射),雷奈酸锶高剂量组(每周2次地塞米松1 mg/kg肌肉注射+每天1次灌胃雷奈酸锶800 mg/kg),雷奈酸锶中剂量组(每周2次地塞米松1 mg/kg肌肉注射+每天1次灌胃雷奈酸锶600 mg/kg),雷奈酸锶低剂量组(每周2次地塞米松1 mg/kg肌肉注射+每天1次灌胃雷奈酸锶400 mg/kg),同室常规饲养5周,第5周最后1次给药结束后2 h,采集样本,用于指标检测。

1.5 左胫骨组织形态学测定 处死大鼠,分离左胫骨,用4%多聚甲醛固定3 d,然后10% EDTA脱钙5周,用电锯从矢状面剖开,暴露骨髓腔并取左胫骨近端,制备常规脱钙骨组织蜡块,切4 μm 厚骨组织切片,HE染色,光镜下观察骨形态改变,每张切片选取5个视野,取其平均值,利用MOTIC Med 6.0型图象分析系统进行骨组织形态测量,计算骨形态指标:平均骨小梁间距(Tb.sp),平均骨小梁厚度(Tb.Th)。

1.6 血清指标检测

1.6.1 血清采集 处死大鼠前,在乙醚麻醉状态下从背部主动脉采集血液,血液收集后,4 $^{\circ}\text{C}$ 静置3 h,3 000 r/min离心10 min,分离血清,分装于小EP管中,-70 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存备用。

1.6.2 指标检测 按试剂盒说明,采用ELISA法,检测血清白介素-6(IL-6)、血清碱性磷酸酶(BALP)、抗酒石酸酸性磷酸酶5b(TRACP 5b)、I型胶原C端肽(CTX-I)、骨钙素(OCN)和25-羟维生素D(25-HVD)。

1.7 细胞指标检测

1.7.1 载药血清的制备 按参考文献[4]方法,制备雷奈酸锶载药血清。取3月龄雌性SD大鼠24只,采用随机数字表法分为4组($n=6$):雷奈酸锶低、中、高剂量给药组和空白对照组。雷奈酸锶剂量组,按人鼠体表面积法换算,以成人临床等效剂量的1、3、9倍剂量灌胃,对照组灌胃等体积的生理盐水。每天1次,连续给药7 d,末次给药后2 h,无菌操作,心脏取血,3 000 r/min离心30 min,分离血清,56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min灭活。采用0.22 μm 滤器除菌,-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。用时以无血清DMEM稀释为10%浓度的含药血清。

1.7.2 大鼠成骨细胞分离培养 按参考文献[4],无菌条件下,取24 h内新生大鼠颅盖骨,去除骨缝及骨膜组织,用预冷的PBS清洗3次,之后用0.25%胰酶消化清除脂肪和软组织,剪成1 mm^3 的小块,0.1%胶原酶消化45 min,再用无血清DMEM冲洗,置20%小牛血清DMEM培养基中贴壁培养。

1.7.3 雷奈酸锶对大鼠成骨细胞增殖的影响 消化收集成骨细胞,调节细胞密度为每毫升 4×10^4 个,按照每孔200 μL 接种于96孔板,贴壁后,弃去原培养液,在相应的培养孔内分别加入高、中、低剂量的雷奈酸锶的含药血清及空白血清,每组均设6个复孔,培养24 h后,每孔加入200 μL 0.5% MTT溶液,继续培养4 h,再加入150 μL 二甲基亚砜(DMSO),置摇床上低速振荡10 min后,用酶标仪检测OD570 nm处各孔的吸光值。

1.8 统计学方法 应用SPSS 20.0统计软件对所得数据进行统计处理,所有计量资料以 $\bar{x} + s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析,两两比较为HSD- q 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠骨组织形态学观察 HE染色结果提示,地塞米松模型组大鼠骨小梁变细、数量明显减少,排列疏松,甚至断裂,骨小梁结构出现较多大的空白区域;雷奈酸锶中、高剂量组(600,800 mg/kg)骨小

梁变粗且致密,骨连续性较好,排列较为规则(图1)。MOTIC Med 6.0型图像系统分析,较模型组,雷奈酸锶中、高剂量组的平均骨小梁厚度明显升高($P < 0.05$),骨小梁间距明显降低($P < 0.05$)。见表1。

表1 雷奈酸锶对骨质疏松大鼠骨微结构的影响/ $(\mu\text{m}, \bar{x} \pm s)$

组别	鼠数	Tb.Th	Tb.sp
空白对照组	6	53.92±3.39 ^a	142.06±11.15 ^a
模型组	6	38.00±2.36	189.90±19.27
高剂量组	6	52.00±4.44 ^a	150.02±20.86 ^a
中剂量组	6	48.50±4.05 ^a	154.26±13.86 ^a
低剂量组	6	40.84±3.12	174.60±11.71
F值		23.064	9.158
P值		0.000	0.000

注:与模型组相比^a $P < 0.05$, Tb.Th为平均骨小梁厚度, Tb.sp为平均骨小梁间距

2.2 血清指标检测 模型组与空白组相比,所有检测指标均差异有统计学意义($P < 0.01$),表明所选指标,具有良好的指示作用。雷奈酸锶高剂量组较模型组大鼠血清IL-6、BALP、TRACP 5b、CTX-I均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.05$), OCN、25-HVD明显升高($P < 0.05$)。见表2。

2.3 大鼠成骨细胞增殖影响 雷奈酸锶高、中、低含药血清组OD值和空白组比较,高、中剂量组有明显细胞增殖作用($P < 0.05$);低剂量组细胞增殖作用不明显($P > 0.05$)。结果表明,高、中剂量雷奈酸锶载药血清对大鼠成骨细胞增殖有明显促进作用(表3)。

表3 雷奈酸锶对大鼠成骨细胞增殖的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	OD值
空白对照组	6	0.38±0.01
高剂量组	6	0.45±0.02 ^a
中剂量组	6	0.40±0.02 ^a
低剂量组	6	0.39±0.01
F值		25.270
P值		0.000

注:剂量组与空白对照组相比,^a $P < 0.05$

3 讨论

骨质疏松是系统性骨骼性疾病,西医认为,其发病机制在于骨形成代谢过程中,骨吸收和骨形成发生失衡。临床表现为骨小梁变细变薄,断裂,数量减少,孔隙变大,生物力学性能降低,骨密度下降,往往伴随骨微观结构退化和骨量降低,骨脆性增加,病人易发生骨折^[5]。雷奈酸锶化学名为5-[二(羧甲基)氨基]-3-羧甲基-4-氰基-2-噻吩羧酸二锶盐,是由稳定态锶原子和有机雷奈酸组成^[6],新型的抗骨质疏松药物。本研究以地塞米松诱导大鼠骨质疏松为病理模型,首先考察了不同剂量的雷奈酸锶对模型鼠骨形态学影响。骨质疏松症的重要特征是骨组织显微结构退化。骨小梁的数量、骨连续性、排列构象以及平均骨小梁间距、平均骨小梁厚度等显微结构影响着骨的生物力学特性,因此骨显微结构指标的改变可以更直接地反映骨质疏松的情况。骨组织病理学检测是反映骨显微结构变化的最直接的依据,评价骨显微结构的金标准^[7]。本实验结果表明,雷奈酸锶高剂量组的骨小梁变粗且致密,骨连续性较好,排列较为规则,相比对照组,可以显著改善骨小梁间距、平均骨小梁厚度。提示雷奈酸锶对改善显微结构具有一定的疗效。

本研究还考察了雷奈酸锶对骨代谢血清标志物以及对成骨细胞增殖的影响。IL-6、BALP、5b (TRACP 5b)和CTX-I是骨质疏松的指示性血清指标。IL-6可由造血干细胞、破骨细胞、成骨细胞等多种细胞分泌,是调节骨代谢的重要蛋白质因子之一。IL-6不仅可直接刺激骨吸收,还能刺激骨髓的多核细胞呈现破骨细胞的表现型,加速骨吸收^[8]。临床研究也证实:骨质疏松病人血清IL-6水平明显高于同龄正常人^[9]。BALP由成骨细胞分泌,在成骨过程中BALP水解磷酸酯,促进基质矿化^[10],骨质疏松病人BALP活性增高^[11]。TRACP在血液循环中,有两种形式:TRACP5a和TRACP5b,其水平大体相

表2 清洁级雌性SD大鼠30只实验分组后各组相应指标变化情况/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	IL-6/(ng/L)	BALP/(ng/mL)	TRACP 5b/(U/L)	CTX-I/(ng/L)	OCN/(ng/mL)	25-HVD/(ng/mL)
空白对照组	6	20.18±3.41 ^a	1.35±0.15 ^a	2.85±0.71 ^a	187.87±29.95 ^a	6.08±0.73 ^a	27.78±2.43 ^a
模型组	6	24.36±1.54	3.48±0.51	5.70±0.94	357.16±36.90	4.37±0.95	20.94±2.97
高剂量	6	21.25±1.79 ^a	2.31±0.21 ^a	4.18±0.95 ^a	279.73±43.69 ^a	5.62±1.05 ^a	24.51±1.11 ^a
中剂量	6	22.85±2.57	2.94±0.42	4.51±0.78 ^a	305.98±50.58	5.00±0.40	23.34±2.49
低剂量	6	23.16±2.79	3.09±0.72	4.73±0.66	325.45±42.85	5.18±0.99	22.83±3.66
F值		2.582	20.433	9.569	14.499	3.407	5.414
P值		0.062	0.000	0.000	0.000	0.024	0.003

注:与模型组相比^a $P < 0.05$, IL-6为白介素-6、TRACP 5b为抗酒石酸酸性磷酸酶5b、CTX-I为I型胶原C端肽、OCN为骨钙素, 25-HVD为25-羟维生素D

等^[12]。血清 TRACP5a 来源于巨噬细胞,是细胞活跃状态的标志^[13];而血清 TRACP5b 虽然可来源于巨噬细胞和破骨细胞,但由激活的巨噬细胞分泌的 TRACP5b 无酶活性,只有破骨细胞来源的 TRACP5b 才具有酶活性,因此 TRACP5b 可作为破骨细胞数量和骨吸收的有效标志物^[14-15]。临床研究表明,骨质疏松病人,血清 TRACP5b 活性增高^[16-18]。骨纤维主要是由 I 型胶原蛋白形成,CTX-I 可反映破骨细胞活性及骨吸收的指标,临床上骨质疏松病人 CTX-I 升高,其是骨转换标志物中首选的风险评估指标^[19-21]。本实验模型组血清 IL-6、BALP、5b(TRACP 5b)和 CTX-I 均显著高于正常组,从指示性血清指标的角度印证了骨质疏松造模成功,雷奈酸锶高剂量组可显著降低上述血清指标,对抗骨质疏松导致的指示性血清指标的上升。OCN 是由成骨细胞合成分泌的一种特异性非胶原蛋白,当骨形成和骨吸收去耦合时是骨形成的特异性标志物^[22];25-HVD 虽然不能直接反映出成骨细胞和破骨细胞的活性,但是由于其能调节钙、磷的代谢,因此其对骨代谢也有重要影响^[23]。临床上骨质疏松病人的血清 OCN 和 25-HVD 均降低^[24-25]。本实验结果表明,高剂量的雷奈酸锶可显著的改善血清 OCN 和 25-HVD,对抗骨质疏松导致的其血清水平降低。体外培养的成骨细胞因具有与体内成骨细胞相同的生物特性,体外培养成为研究骨代谢和成骨机制的重要手段。本研究实验表明,雷奈酸锶可促进体外成骨细胞增殖。

雷奈酸锶可改善骨微细结构和骨组织形态结构,降低血清 IL-6、BALP、5b(TRACP 5b)、CTX-I,提升血清骨钙素、25-羟维生素 D,同时能够促进成骨细胞增殖,抑制骨吸收和促进骨形成,发挥对骨的保护作用,具有治疗骨质疏松的作用。

(本文图 1 见插图 9-2)

参考文献

- [1] 齐萌,莫伟钊,张思伟.骨质疏松症的影像学研究进展[J].医学影像学杂志,2017,27(4):762-764.
- [2] TANAKA S. Development of osteoporosis drugs—the past, the present and the future[J]. Clin Calcium, 2017, 27(1): 137-141.
- [3] 郭晓静,陆家瑜,陆萌萌,等.抗骨质疏松药物雷奈酸锶的研究进展[J].中国现代应用药学,2017,34(6):907-912.
- [4] 师晶丽,赵永华,吴伟康,等.补肾壮骨胶囊含药血清对大鼠成骨细胞增殖及骨保护素 mRNA 表达的影响[J].中华中医药杂志,2008,23(4):286-289.
- [5] QIU J, HUANG G, NA N, et al. MicroRNA-214-5p/TGF- β /Smad2 signaling alters adipogenic differentiation of bone marrow stem cells in postmenopausal osteoporosis[J]. Molecular Medicine Reports, 2018, 17(5): 6301-6310.
- [6] 徐松,陆家骝,路孝梅,等.雷奈酸锶的合成[J].精细化工,2014,31(3):354-357.
- [7] RITMAN EL. Micro-computed tomography—current status and developments [J]. Annu Rev Biomed Eng, 2004, 6: 185-208.
- [8] BLASCHKE M, KOEPP R, CORTIS J, et al. IL-6, IL-1 β , and TNF- α only in combination influence the osteoporotic phenotype in Crohn's patients via bone formation and bone resorption[J]. Advances in Clinical & Experimental Medicine, 2018, 27(1): 45-56.
- [9] DUGGAN S N, PURCELL C, KILBANE M, et al. An association between abnormal bone turnover, systemic inflammation, and osteoporosis in patients with chronic pancreatitis: a case-matched study [J]. American Journal of Gastroenterology, 2015, 110(2): 336-345.
- [10] 林涛,冯刚,吴俊学,等.阿仑膦酸钠联合鲑鱼降钙素对老年髋部骨质疏松骨折患者骨密度及血清 BGP、PTH、BALP 水平的影响[J].现代生物医学进展,2017,17(36):7112-7115.
- [11] LEWERIN C, JOHANSSON H, KARLSSON M K, et al. High plasma osteocalcin is associated with low blood haemoglobin in elderly men: the MrOS Sweden Study [J]. Journal of Internal Medicine, 2016, 280(4): 398-406.
- [12] JANCKILA A J. Development and clinical applications of tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b [J]. Journal of Medical Sciences, 2011, 31(5): 211-222.
- [13] WU Y Y, JANCKILA A J, SLOANE S P, et al. Tartrate-resistant acid phosphatase 5a in sarcoidosis: further evidence for a novel macrophage biomarker in chronic inflammation [J]. Journal of the Formosan Medical Association, 2014, 113(6): 364-370.
- [14] LV Y, WANG G, XU W, et al. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a marker of osteoclast number and volume in RAW 264.7 cells treated with receptor-activated nuclear κ B ligand [J]. Experimental & Therapeutic Medicine, 2015, 9(1): 143-146.
- [15] NOURAE M, CHENG K, NIU X, et al. Predictors of osteoclast activity in patients with sickle cell disease [J]. Haematologica, 2011, 96(8): 1092-1098.
- [16] HANNON RA, CLOWES JA, EAGLETON AC, et al. Clinical performance of immunoreactive tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b as a marker of bone resorption [J]. Bone, 2004, 34(1): 187-194.
- [17] INDRIDASON OS, FRANZSON L, SIGURDSSON G. Serum osteoprotegerin and its relationship with bone mineral density and markers of bone turnover [J]. Osteoporos Int, 2005, 16(4): 417-423.
- [18] 罗建,聂桂峰,黄小虎,等.固力康联合钙尔奇 D 在骨质疏松症合并股骨粗隆间骨折治疗中的疗效及其对骨代谢指标的影响[J].安徽医药,2017,21(6):1101-1105.
- [19] 林静,张洁,陈燕.补肾药膳方对绝经后骨质疏松症模型大鼠 CTX-I 指标及骨组织形态的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(4):389-392.
- [20] FORSLÄDD ELIA H, NURKALA M, ZETTERBERG K, et al. THU0271 Increase in bone mineral density and decrease in WNT3A, OPG, CTX-I and osteocalcin in patients with ankylosing spondylitis treated with alendronate [J]. Annals of the Rheumatic

- Diseases, 2013, 71: 246-246.
- [21] CLAUDON A, VERGNAUD P, VALVERDE C, et al. New automated multiplex assay for bone turnover markers in osteoporosis [J]. Clinical Chemistry, 2008, 54(9): 1554-1563.
- [22] 刘文静, 孙养鹏, 郑有华, 等. 1, 25-二羟维生素D3和地塞米松促进人颞下颌关节滑液间充质干细胞的体外成骨分化[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(9): 1443-1449.
- [23] BAEKE F, TAKIISHI T, KORF H, et al. Vitamin, et al D; modulator of the immune system [J]. Current Opinion in Pharmacology, 2010, 10(4): 482-496.
- [24] SCHMIDT T, EBERT K, ROLVIEN T, et al. A retrospective analysis of bone mineral status in patients requiring spinal surgery [J]. BMC Musculoskeletal Disorders, 2018, 19(1): 53.
- [25] 郭应龙. 老年男性骨质疏松患者血清胰岛素样生长因子、内皮素与骨钙素及骨转换生化指标的相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(2): 132-134.

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.09.008

◇ 药学研究 ◇

大鼠血清 25 羟维生素 D 水平与年龄相关性白内障的关系

刘兵

作者单位: 自贡市第四人民医院眼科, 四川 自贡 643000

摘要: **目的** 探讨血清 25 羟维生素 D 水平与年龄相关性白内障的关系。**方法** 将 Wistar 大鼠采用随机数字表法分为正常对照组、年龄相关性白内障模型组、维生素 D 低剂量组和维生素 D 高剂量组。采用 D-半乳糖(50% 浓度)诱导构建年龄相关性白内障大鼠模型,应用眼压计及裂隙灯显微镜检测大鼠眼压及晶状体浑浊情况;流式细胞仪检测晶状体上皮细胞凋亡情况;通过聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测大鼠晶状体上皮细胞中 DPP II、c-myc mRNA 表达;应用免疫印迹(Western Blot)检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-8(IL-8)蛋白表达量。**结果** 与空白对照组相比,白内障模型组 25 羟维生素 D 水平降低,眼压升高;维生素 D 给药后,维生素 D 水平较模型组升高,眼压降低(25 羟维生素 D 水平: $F = 9.215, P = 0.007$;眼压: $F = 12.502, P = 0.005$)。与空白对照组相比,白内障模型组 25 羟维生素 D 水平降低,眼压升高;维生素 D 给药后,维生素 D 水平较模型组升高,眼压降低(25 羟维生素 D 水平: $F = 9.215, P = 0.007$;眼压: $F = 12.502, P = 0.005$)。各组 LEC 细胞凋亡率均随时间延长而缓慢增加;白内障模型组晶状体上皮细胞凋亡率高于空白对照组($F = 8.212, P = 0.016$)。给药后,血清中维生素 D 水平有一定程度的恢复,晶状体浑浊程度降低($F = 11.635, P = 0.003$)。给药后,血清中维生素 D 水平有一定程度的回升,LED 凋亡程度降低(1 周: $F = 10.258, P = 0.0111$;2 周: $F = 13.390, P = 0.005$;4 周: $F = 14.157, P = 0.003$)。RT-PCR 结果显示,维生素 D 对照组大鼠晶状体上皮细胞组织中的 DPP II、c-myc 低于模型组(DPP II: $F = 11.217, P = 0.008$;c-myc: $F = 13.087, P = 0.005$);Western Blot 检测结果表明,血清中 25 羟维生素 D 可下调 TNF- α 、IL-8 蛋白表达水平(DPP II: $F = 12.023, P = 0.002$;c-myc: $F = 10.419, P = 0.005$)。**结论** 血清中 25 羟维生素 D 水平与年龄相关性白内障的发展负相关,这对于白内障的预防及治疗有十分重要的意义。

关键词: 白内障; 25 羟维生素 D; 晶状体上皮细胞; 年龄因素

Study on the inhibition of isoflurane induced brain neuron injury by betulinic acid by blocking the Fas-fasI signaling pathway

LIU Bing

Author Affiliation: Department of Ophthalmology, the Fourth People's Hospital of Zigong, Zigong, Sichuan 643000, China

Abstract: Objective The relationship between serum 25-hydroxyvitamin D level and age-related cataract was studied. **Methods** Wistar rats were randomly divided into blank control group, model group and vitamin D administration group. D-galactose (50% concentration) was used to induce the construction of age-associated cataract rat model. The apoptosis of lens epithelial cells was detected by flow cytometry. The rat lens epithelial cells in the DPP II, c-myc mRNA expression were detected by RT-PCR. TNF- α and il-8 protein expression were detected by Western Blot. **Results** Compared with the blank control group, the level of 25-hydroxyvitamin D in cataract model group decreased and the intraocular pressure increased. After vitamin D administration, the level of vitamin D increased and the intraocular pressure decreased (25-hydroxyvitamin D level: $F = 9.215, P = 0.007$; intraocular pressure: $F = 12.502$,