

# 替勃龙治疗去势大鼠骨质疏松症的研究

周淑青, 戚爱群, 虞和永\* (浙江大学医学院附属妇产科医院药剂科, 浙江 杭州 310006)

**摘要:**目的 探讨替勃龙对去势大鼠骨质疏松症的治疗效果。方法 选用3月龄雌性Wistar大鼠按体重随机分为假手术组、模型组、替勃龙组、雌激素组4组,假手术组和模型组每天等量赋型剂灌胃,替勃龙组和雌激素组分别给予替勃龙和雌激素灌胃,于用药后50d处死全部动物,分别测定大鼠股骨的骨密度和骨组织形态计量参数。结果 (1)骨密度(BMD)检测结果:模型组BMD低于假手术组( $P < 0.05$ ),替勃龙组和雌激素组BMD高于模型组( $P < 0.05$ ),替勃龙组BMD高于雌激素组( $P < 0.05$ )。(2)骨组织形态计量学分析结果:模型组骨小梁体积(TBV)、骨小梁表面(TBS)、纵向骨生长率(LBGR)、骨皮质矿化率(mAR)低于假手术组( $P < 0.05$ ),骨小梁形成表面(TFS)、活性生成面(AFS)、骨小梁骨生成率(BFR)、骨小梁吸收表面(TRS)四项指标则高于假手术组( $P < 0.05$ );模型组TBV、TBS、LBGR、mAR低于替勃龙组和雌激素组( $P < 0.05$ );TFS、AFS、BFR、TRS则高于替勃龙组和雌激素组( $P < 0.05$ );替勃龙组TBV、TBS高于雌激素组( $P < 0.05$ );AFS、BFR、TRS低于雌激素组( $P < 0.05$ )。结论 替勃龙治疗骨质疏松症疗效优于雌激素,明显改善去势大鼠骨小梁厚度,使骨小梁体积百分比增加,皮质骨平均厚度变厚,骨量增加。

**关键词:**替勃龙;骨质疏松;雌激素

中图分类号:R977.12

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2006)07-0705-03

## Study on Osteoporosis of Castration Rats Treated with Tibolone

ZHOU Shu-qing, QI Ai-qun, YU He-yong (Women's Hospital, Zhejiang University, School of Medicine, Hangzhou 310006, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the curative effect of Tibolone on osteoporosis of castration rats. **METHODS** Forty female wistar rats about 3 months old were divided into 4 groups by body weight randomly. The 4 groups were false operation group, model group, Tibolone group and estrin group respectively. The animals of false operation group and model group were given placebo through enema. While the animals of Tibolone group and estrin group were given Tibolone and estrin respectively through enema. All animals were executed after being given drug for 50 days. Bone mineral density (BMD) and bone histomorphometry were determined. **RESULTS** (1) Results of BMD: BMD of false operation group was higher than that of the other groups. BMD of model group was less than that of Tibolone group or estrin group. BMD of Tibolone group was higher than that of estrin group. (2) Results of bone histomorphometry: TBV, TBS, LBGR, mAR of model group were less than those of false operation group, while TFS, AFS, BFR, TRS were less than theirs. TBV, TBS, LBGR and mAR of model group were less than those of Tibolone group or estrin group, while TFS, AFS, BFR, TRS were higher than theirs. TBV, TBS of Tibolone group were higher than those of estrin group, while AFS, BFR, TRS were less than theirs. **CONCLUSION** Tibolone was better than estrin when treated osteoporosis. The thickness of the bone trabeculas of castration rats was observed to be increased obviously, meanwhile the volume percentage of bone trabeculas was enlarged, the mean thickness of cortical bones was added and the bone weight was also increased.

**KEY WORDS:** tibolone; osteoporosis; estrin

绝经后骨质疏松(postmenopausal osteoporosis, PMO)以及由此引起的骨折率增加是影响老年妇女健康的严重问题<sup>[1]</sup>。该病的防治是亟待解决的重要课题。目前认为,绝经后妇女发生骨质疏松症与内源性雌激素有关,雌激素的减少,对破骨细胞的抑制作用减弱,破骨细胞相对加强,破骨与成骨明显失衡,出现骨吸收大于骨形成,导致骨质逐渐丢失。替勃龙(Tibolone)为具有弱雌激素作用的药物,临床上常用于改善绝经期症状。本实验利用去势大鼠骨质疏松模

型对替勃龙治疗 PMO 的疗效进行评价,并与雌激素的疗效进行了对比。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物及分组

40只健康雌性Wistar大鼠,3月龄,自由饮水、进食。按体重随机分为4组:假手术组(行下腹切开,寻找双侧卵巢,但不切除任何组织)、模型组、替勃龙组和雌激素组(各行双侧卵巢切除术),于用药50d后全部按股动脉放血法处死。

作者简介:周淑青,女,大学本科,主管药师,E-mail: qingcao\_98@sina.com

\* 通讯作者:虞和永,男,主任药师,Tel: (0571)87061501-6520

1.2 给药剂量及方法

药物组在双侧卵巢切除后第 15d 开始每天灌胃给药,假手术组和模型组每天等量赋型剂(生理盐水 1.5mL)灌胃。替勃龙组的给药剂量为  $0.23\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 雌激素组的给药剂量为  $0.86\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

1.3 研究指标及测定方法

1.3.1 骨密度(Bone Mineral Density, BMD)的测定 大鼠处死后取右侧股骨,剔除肌肉及筋膜,于日本双能量 X 线(DCS-EX)骨密度诊断仪上测定。

1.3.2 骨组织形态计量学分析<sup>[2]</sup> 所有大鼠均于处死前 12d 和 5d 时两次腹腔注射盐酸四环素水溶液( $20\text{mg/kg}$ )行骨荧光标记。大鼠处死后取左侧胫骨近端的 1/3,去除肌肉及筋膜后固定于 70% 乙醇,逐级脱水脱脂后以甲基丙烯酸羟乙基酯包埋,用 Reichart-jung1140 型切片机制备  $5\mu\text{m}$  和  $9\mu\text{m}$  的纵向不脱钙骨切片,切片于 MPIAS-1000 型病理图文分析仪上进行参数测量。

骨组织形态计量分析各参数及其意义:(1)骨小梁体积百分比(TBV%);骨小梁体积占被测骨髓腔总体积的百分比,是骨量水平的主要标志;(2)骨小梁表面百分比(TBS%);骨小梁表面测量总表面的百分比;(3)骨小梁形成表面百分比(TFS%);有成骨细胞被覆盖的类骨质表面占骨小梁表面的百分比;(4)骨小梁吸收表面百分比(TRS%);不规则、凹凸不平的骨小梁表面占骨小梁表面的百分比;(5)骨小梁平均宽度(MTPT):骨小梁两侧面之间的平均距离;(6)纵向骨生长率(LBGR):平行于骺板的荧光标记带至骺板上缘的平均距离除以最后一次标记至处死天数;(7)活性生成面百分比(AFS%);有荧光标记带的骨小梁表面占骨小梁表面面积百分比;(8)骨小梁矿化率(MAR):反映骨矿化的快慢和成骨细胞的活性;(9)骨小梁骨生成率(BFR):反映骨形

表 2 各组大鼠胫骨骨小梁形态计量结果

Tab 2 Results of bone histomorphometry

| 组 别  | TBV(%)                                  | TBS(%)                                  | TFS(%)                   | MTPT( $\mu\text{m}$ ) | LBGR( $\mu\text{m/d}$ ) | AFS(%)                                  | MAR( $\mu\text{m/d}$ ) | BFR( $\mu\text{m/d}$ )                 | TRS(%)                                 |
|------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------------------------|------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| 假手术组 | $24.52 \pm 1.23$                        | $19.14 \pm 1.36$                        | $5.28 \pm 1.03$          | $23.56 \pm 1.36$      | $58.23 \pm 3.65$        | $24.68 \pm 2.78$                        | $1.37 \pm 0.15$        | $0.28 \pm 0.05$                        | $2.21 \pm 0.23$                        |
| 模型组  | $13.36 \pm 2.01^*$                      | $9.60 \pm 0.38^*$                       | $11.58 \pm 0.02^*$       | $22.55 \pm 2.01$      | $28.56 \pm 2.38^*$      | $42.55 \pm 4.00^*$                      | $1.25 \pm 0.35$        | $0.78 \pm 0.02^*$                      | $8.01 \pm 0.32^*$                      |
| 替勃龙组 | $23.32 \pm 1.02^{\Delta}$               | $18.96 \pm 0.98^{\Delta}$               | $8.36 \pm 0.03^{\Delta}$ | $24.21 \pm 3.21$      | $40.23 \pm 2.68$        | $30.66 \pm 0.98^{\Delta}$               | $1.36 \pm 0.36$        | $0.25 \pm 0.03^{\Delta}$               | $2.68 \pm 0.04^{\Delta}$               |
| 雌激素组 | $18.02 \pm 0.03^{\Delta\blacktriangle}$ | $13.68 \pm 1.32^{\Delta\blacktriangle}$ | $8.58 \pm 1.01^{\Delta}$ | $22.68 \pm 1.02$      | $37.85 \pm 3.69$        | $35.25 \pm 3.97^{\Delta\blacktriangle}$ | $1.28 \pm 0.24$        | $0.45 \pm 0.01^{\Delta\blacktriangle}$ | $5.98 \pm 0.05^{\Delta\blacktriangle}$ |

注:与假手术组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与替勃龙组比较, $\blacktriangle P < 0.01$

Note: Compared with false operation group, \* $P < 0.05$ ; Compared with model group,  $\Delta P < 0.05$ ; Compared with Tibolone group,  $\blacktriangle P < 0.01$

2.2.2 胫骨内皮质表面形态计量结果 各组类骨质平均宽度(OSW)、骨矿化延迟率(MLT)比较,差异没有显著性( $P > 0.05$ );模型组骨皮质矿化率(mAR)低于假手术组( $P < 0.05$ ),替勃龙组与雌激素组 mAR 高于模型组( $P < 0.05$ )。具体见表 3。

3 讨论

替勃龙即 7-甲基异炔诺酮,是人工合成的仿性腺甾体激素类药物,在体内可代谢成 3 种产物: $\Delta^*$  异构体、 $3\alpha$ -羟基和  $3\beta$ -羟基衍生物,它们各自作用一起构成了替勃龙总的药效

成的活跃程度;(10)类骨质平均宽度(OSW):皮质内表面类骨质的平均宽度;(11)骨皮质矿化率(mAR):皮质内表面双标记带的平均距离除以两次标记相隔的天数;(12)骨矿化延迟率(MLT):皮质内表面类骨质平均宽度除以矿化率。

以上(1)~(9)是反映骨小梁组织形态计量的指标,(1)~(12)是反映皮质内表面形态计量的指标。

1.4 资料的统计分析

所有数据输入计算机,用 spss12.0 统计软件包分析处理,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。结果均用  $\bar{x} \pm s$  表示,统计方法为方差分析。

2 结果

2.1 骨密度检测结果

假手术组 BMD 高于其余各组( $P < 0.05$ )。模型组 BMD 低于替勃龙组和雌激素组( $P < 0.05$ )。替勃龙组 BMD 高于雌激素组( $P < 0.05$ )。具体见表 1。

表 1 各组骨密度比较

Tab 1 Comparison of Bone Mineral Density

| 组 别                    | 假手术组              | 模型组               | 替勃龙组              | 雌激素组              |
|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| BMD( $\text{g/cm}^2$ ) | $0.398 \pm 0.003$ | $0.098 \pm 0.002$ | $0.268 \pm 0.001$ | $0.202 \pm 0.002$ |

2.2 骨组织形态计量学分析结果

2.2.1 胫骨骨小梁形态计量结果 模型组 TBV、TBS、LBGR 三项指标低于假手术组( $P < 0.05$ ),TFS、AFS、BFR、TRS 四项指标则高于假手术组( $P < 0.05$ );模型组 TBV、TBS、LBGR 三项指标低于替勃龙组和雌激素组( $P < 0.05$ ),TFS、AFS、BFR、TRS 则高于替勃龙组和雌激素组( $P < 0.05$ );替勃龙组 TBV、TBS 高于雌激素组( $P < 0.05$ ),AFS、BFR、TRS 低于雌激素组( $P < 0.05$ )。具体见表 2。

表 3 各组大鼠胫骨皮质内表面形态计量结果

Tab 3 Results of OSW, mAR and MLT

| 组 别  | OSW( $\mu\text{m}$ ) | mAR( $\mu\text{m/d}$ )   | MLT( $\mu\text{m}^2/\text{d}$ ) |
|------|----------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 假手术组 | $10.89 \pm 2.89$     | $6.89 \pm 0.32$          | $1.56 \pm 0.26$                 |
| 模型组  | $8.69 \pm 2.35$      | $2.36 \pm 0.35^*$        | $1.74 \pm 0.21$                 |
| 替勃龙组 | $9.66 \pm 0.56$      | $4.56 \pm 0.23^{\Delta}$ | $1.68 \pm 0.32$                 |
| 雌激素组 | $9.23 \pm 1.35$      | $4.44 \pm 0.10^{\Delta}$ | $1.65 \pm 0.23$                 |

注:与假手术组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

Note: Compare with false operation, \* $P < 0.05$ ; Compare with model group,  $\Delta P < 0.05$

学特点,其母体化合物及 $\Delta^4$ 异构体主要呈孕激素和雄激素受体结合特征,而羟基代谢物则主要呈现雌激素受体结合特性<sup>[3]</sup>。因此,临床上常将替勃龙作为激素替代疗法的药物治疗妇女更年期综合症。

本实验以 wistar 大鼠为实验对象,通过双侧卵巢切除复制骨质疏松症模型。结果表明,与假手术组比较,去势大鼠 BMD 降低,骨组织形态计量学分析结果也显示去势大鼠骨小梁厚度减少,骨小梁相对体积减少,皮质骨平均厚度变薄,表明骨量丢失,骨质疏松动物模型复制成功。

本实验 BMD 和骨组织形态计量学分析结果表明,替勃龙明显改善去势大鼠骨小梁厚度,使骨小梁体积百分比增加,皮质骨平均厚度变厚,具有增加骨量,改善骨质疏松的作用,并且其对大鼠骨质疏松症的改善作用优于雌激素。有学者认为,替勃龙对骨的组织特异性作用通过雌激素通道调节,并刺激骨皮质及骨小梁表面生成大量成骨细胞,从而诱导骨形成,增加骨量<sup>[4]</sup>。

## 参考文献

- [1] Cortet, Bernard, Marchandise, *et al.* Bone microarchitecture and mechanical resistance[J]. Joint Bone Spine, 2001, 68(4): 297-305.
- [2] 康毅,金勋杰,刘双意,等. 4、5、7 月龄雌性大鼠骨计量学参数的变化及意义[J]. 广东医学院学报, 2003, 21(2): 102-104.
- [3] Meeuwssen IB, Samson MM, Duursma SA, *et al.* The influence of tibolone on quality of life in postmenopausal women[J]. Maturitas, 2002, 41(1): 35-43.
- [4] Centinkaya MB, Alper T, Kokcu A, *et al.* Tibolone versus four estrogen replacement therapy protocols and plasma lipid levels in postmenopausal women. Int J Gynaecol Obstet, 2002, 79(1): 17-23.

收稿日期:2005-01-25