

瑞舒伐他汀联合罗格列酮对糖尿病兔骨折愈合中 FPG、BMP-2等指标的影响

余伟彪 朱建龙 占日新 管中宁 张金喜 来乐祥 李锦锦 吴珍芳 王国丰

[摘要] **目的** 探索瑞舒伐他汀联合罗格列酮对糖尿病兔骨折愈合的作用,为临床合理用药提供依据。**方法** 将24只兔随机分为对照组、糖尿病组、罗格列酮组、联合组,每组6只。造模成功后,罗格列酮组灌服罗格列酮0.5 mg/kg,联合组灌服罗格列酮0.5 mg/kg+瑞舒伐他汀1.0 mg/kg,其他两组灌服等量0.9%氯化钠,每天一次。3周后和5周后检测空腹血糖(FPG)、三酰甘油(TG)、骨形态发生蛋白2(BMP-2)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、血小板衍生因子(PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)水平及体重并进行比较。**结果** 给药后的第5个周末,与对照组相比,糖尿病组FPG、TG水平升高和体重下降(t 分别=28.15、6.77、9.25, P 均 <0.05)。给药后的第3个周末,与对照组比较,糖尿病组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF水平均降低(t 分别=2.44、2.37、2.26, P 均 <0.05);与糖尿病组比较,罗格列酮组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平明显降低(t 分别=2.25、2.76、5.17、3.40, P 均 <0.05);与罗格列酮组比较,联合组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平明显升高(t 分别=4.50、4.17、3.34、3.76, P 均 <0.05)。**结论** 糖尿病对兔骨折愈合有不利影响,联合罗格列酮会加重对骨折愈合影响,而联合瑞舒伐他汀可以逆转此情况,且不影响罗格列酮降低FPG、TG水平和增加体重的疗效。

[关键词] 瑞舒伐他汀; 罗格列酮; 糖尿病; 骨折

Effects of rosuvastatin combined with rosiglitazone on FPG, BMP-2 etc. in diabetic rabbit fracture healing YU Weibiao, ZHU Jianlong, ZHAN Rixin, et al. Department of Psychiatry, the People's Hospital of Dajiangdong District in Hangzhou, Hangzhou 311225, China.

[Abstract] **Objective** To explore the effect of rosuvastatin combined with rosiglitazone on fracture healing in diabetic rabbits, and to provide evidence for rational drug use in clinic. **Methods** Twenty-four rabbits were randomly divided into control group, diabetes group, rosiglitazone group and combined group with 6 rabbits in each group. After successfully modeling, rosiglitazone group was given rosiglitazone 0.5mg/kg, the combined group was given rosiglitazone 0.5mg/kg combined with rosuvastatin 1.0mg/kg, and the other two groups were given 0.9% sodium chloride once a day. FPG, TG, BMP-2, TGF- β_1 , PDGF and bFGF levels and body weight were measured and compared after 3 and 5 weeks. **Results** Compared with the control group, the levels of FPG and TG increased and body weight decreased in the diabetic group at the 5th weekend after administration ($t=28.15, 6.77, 9.25, P<0.05$). At the third weekend after administration, BMP-2, TGF- β_1 and PDGF levels in the diabetic group were significantly lower than the control group ($t=2.44, 2.37, 2.26, P<0.05$). BMP-2, TGF- β_1 , PDGF and bFGF levels in rosiglitazone group were significantly lower than the diabetic group ($t=2.25, 2.76, 5.17, 3.40, P<0.05$). While the BMP-2, TGF- β_1 , PDGF and bFGF levels in the combined group were significantly higher than those of the rosiglitazone group ($t=4.50, 4.17, 3.34, 3.76, P<0.05$).

Conclusion Diabetes mellitus has adverse effects on fracture healing in rabbits. rosiglitazone can aggravate the effect on

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.02.003

基金项目:杭州市卫生科技计划项目(2016B22)

作者单位:311225 浙江杭州,杭州市大江东医院医教科(余伟彪、占日新、王国丰),院办公室(朱建龙、来乐祥、吴珍芳),骨科(管中宁、张金喜、李锦锦)

通讯作者:占日新,Email:zhanrixin8647@163.com

fracture healing. Rosuvastatin can reverse this situation without affecting the efficacy of rosiglitazone in reducing FPG, TG levels and increasing body weight.

[Key words] rosuvastatin; rosiglitazone; diabetes; fracture

近年来相关研究指出糖尿病会影响骨折愈合^[1]。罗格列酮是常见的过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)激动剂用于降血糖,但其对骨折愈合有不利影响^[2],因此在治疗糖尿病合并骨折患者中慎用。他汀类药物不仅具有调血脂功效,还能促进骨髓基质细胞向成骨细胞分化。其主要机制是通过增加骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)基因启动子的数量和活性,增加骨量,改善骨密度^[3]。但他汀类药物有可能导致2型糖尿病发病率增加46%^[4]。因此,PPAR γ 激动剂与他汀类两种药物是否可以联用于治疗糖尿病合并骨折的患者?相关研究目前国内外尚未报道。本次研究将瑞舒伐他汀联合罗格列酮应用于骨折的糖尿病兔,观察愈合情况及相关指标,旨在为临床用药提供指导。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 选取购于新昌县大市聚镇欣健兔场的普通级雄性兔24只,体重2.0~2.5 kg,兔龄6个月。所有动物于浙江中医药大学动物实验室屏障环境中饲养。本次动物实验获得浙江中医药大学动物实验研究中心伦理会批准。实验时间为2017年6月。

1.2 药品与试剂 罗格列酮钠片(由太极集团涪陵制药厂生产);瑞舒伐他汀钙片(由浙江京新药业股份有限公司生产);BMP-2、转化生长因子 β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1)、外周血的血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)。兔ELISA试剂盒(由杭州诚维生物科技有限公司生产),四氧嘧啶(由美国sigma公司生产),恒温生化培养箱(由上海博迅公司生产),冷冻高速离

心机(由美国Thermo公司生产),多功能酶标仪(由美国Thermo公司生产),洗板机(由美国Bio-Rad公司生产),移液器(由德国eppendorf公司生产)。

1.3 方 法

1.3.1 建模与分组 将24只兔采用随机入组方法分为4组:对照组、糖尿病组、罗格列酮组和联合组,每组6只。糖尿病组、罗格列酮组和联合组兔子以静注四氧嘧啶(70 mg/kg)复制糖尿病模型,以静脉血浆空腹血糖 ≥ 11.1 mmol/L为糖尿病模型造模成功标志^[5],造模成功2 d后,四组均复制兔骨折模型。术前予戊巴比妥钠注射液(30 mg/kg)耳缘静脉注射麻醉,在无菌操作下以胫骨外侧中上段为切口,适当剥离骨膜,使用钢锯锯成2 mm深切口,造成缺损性骨折^[6]。冲洗后缝合切口。

1.3.2 给药 建模成功后,罗格列酮组给予灌服罗格列酮(0.5 mg/kg)^[5],联合组给予灌服罗格列酮(0.5 mg/kg)+瑞舒伐他汀(1.0 mg/kg)^[7];其他两组灌服等量0.9%氯化钠注射液,每天一次。一共给药35 d(5周)。

1.4 检测指标 给药期间,密切观察记录各组兔的活动、饮食、体质量等情况。给药前、第3个周末、第5个周末次给药后测定血清生化指标,测定静脉血浆空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、三酰甘油(triglycerides, TG)水平及试剂盒BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平。

1.5 统计学方法 采用SPSS17.0软件处理。计量指标采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验;计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 四组兔骨折5周后FPG、TG水平及体重比较见表1

表1 四组兔骨折5周后FPG、TG水平及体重比较

组别		FPG/mmol/L	TG/mmol/L	体重/kg
联合组	给药前	25.82 \pm 2.10*	1.61 \pm 0.38*	2.20 \pm 0.09
	第5个周末	20.45 \pm 1.10 [#]	1.26 \pm 0.26 [#]	2.22 \pm 0.09 [#]
罗格列酮组	给药前	26.07 \pm 1.70*	1.63 \pm 0.44*	2.21 \pm 0.16
	第5个周末	20.02 \pm 0.80 [#]	1.19 \pm 0.28 [#]	2.28 \pm 0.19 [#]
糖尿病组	给药前	25.86 \pm 1.35	1.60 \pm 0.43*	2.21 \pm 0.06
	第5个周末	26.14 \pm 1.60*	1.66 \pm 0.34*	2.01 \pm 0.13*
对照组	给药前	7.32 \pm 0.27	0.89 \pm 0.22	2.20 \pm 0.13
	第5个周末	7.62 \pm 0.19	0.57 \pm 0.20	2.86 \pm 0.15

注: *:与对照组比较, $P<0.05$; #:与糖尿病组比较, $P<0.05$ 。

由表1可见,四组给药前体重比较,差异无统计学意义($F=0.02, P>0.05$),四组给药前FPG、TG比较,差异有统计学意义(F 分别=5.34、225.30, P 均 <0.05)。进一步两两比较,与对照组比较,糖尿病组、罗格列酮组、联合组给药前FPG、TG水平均升高(t 分别=32.98、26.68、21.40; 3.60、3.68、4.02, P 均 <0.05)。

给药后的第5个周末,四组兔的体重、FPG、TG比较,差异有统计学意义(F 分别=37.94、15.95、328.29, P 均 <0.05)。进一步两两比较,与对照组比

较,糖尿病组FPG、TG水平均升高,体重降低(t 分别=28.15、6.77、9.25, P 均 <0.05)。与糖尿病组比较,罗格列酮组和联合组FPG、TG水平降低和体重增加(t 分别=8.38、2.61、2.87; 5.27、2.28、3.25, P 均 <0.05)。但联合组FPG、TG水平及体重与罗格列酮组比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.77、0.44、0.69, P 均 >0.05)。

2.2 四组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平比较见表2

表2 四组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平比较

组别	BMP-2/ng/ml		TGF- β_1 /ng/ml		PDGF/ng/ml		bFGF/pg/ml	
	第3个周末	第5个周末	第3个周末	第5个周末	第3个周末	第5个周末	第3个周末	第5个周末
联合组	0.87 ± 0.03 [△]	0.85 ± 0.03 [△]	1.96 ± 0.15 [△]	2.14 ± 0.42	1.67 ± 0.19 [△]	1.70 ± 0.75	103.79 ± 9.03 [△]	93.52 ± 5.67
罗格列酮组	0.73 ± 0.07 [#]	0.80 ± 0.03	1.52 ± 0.21 [#]	1.99 ± 0.12	1.37 ± 0.11 [#]	1.64 ± 0.08	84.28 ± 8.94 [#]	77.95 ± 10.09
糖尿病组	0.80 ± 0.03 [*]	0.79 ± 0.02	1.84 ± 0.19 [*]	2.14 ± 0.26	1.67 ± 0.09	1.56 ± 0.11	97.97 ± 4.14 [*]	79.54 ± 14.01
对照组	0.85 ± 0.04	0.76 ± 0.05	2.16 ± 0.27	2.01 ± 0.16	1.59 ± 0.17	1.55 ± 0.12	107.95 ± 9.98	84.76 ± 10.66

注: *:与对照组比较, $P<0.05$; #:与糖尿病组比较, $P<0.05$; Δ :与罗格列酮组比较, $P<0.05$ 。

由表2可见,给药第3个周末,四组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF比较,差异均有统计学意义(F 分别=10.87、9.63、5.60、9.18, P 均 <0.05)。与对照组比较,糖尿病组BMP-2、TGF- β_1 、bFGF水平均降低(t 分别=2.44、2.37、2.26, P 均 <0.05),而PDGF水平无统计学差异($t=1.01, P>0.05$)。与糖尿病组比较,罗格列酮组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平明显降低(t 分别=2.25、2.76、5.17、3.40, P 均 <0.05)。与罗格列酮组比较,联合组BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平明显升高(t 分别=4.50、4.17、3.34、3.76, P 均 <0.05)。

给药第5个周末,四组BMP-2比较,差异有统计学意义($F=8.93, P<0.05$),TGF- β_1 、PDGF、bFGF比较,差异均无统计学意义(F 分别=0.54、2.75、2.66, P 均 >0.05)。进一步两两比较,与罗格列酮组比较,联合组BMP-2水平明显升高($t=2.88, P<0.05$)。

3 讨论

TGF- β_1 是属于一组调节细胞生长和分化的TGF- β 超家族, Sarahrudi等^[8]研究发现,骨折后血清TGF- β_1 水平迅速升高,到2周后达到最高水平,其后持续下降,提示TGF- β_1 水平在骨折愈合中发挥重要作用。BMP-2是TGF- β 的超家族成员,能诱导新骨形成。PDGF能并促进软骨细胞和成骨细胞增生。bFGF和BMP-2一样均能加速骨折愈合。本次研究发现糖尿病兔骨折愈合3周末BMP-2、TGF- β_1 、bF-

GF水平均低于对照组,提示糖尿病会影响骨折愈合。另外,本研究发现5周末糖尿病兔体重低于对照组,表明糖尿病引起糖尿病兔体重减轻。

PPAR γ 激动剂罗格列酮临床上用于治疗2型糖尿病。有研究表明PPAR γ 影响间充质干细胞的分化,增加向脂肪生成细胞的分化,诱导破骨细胞分化,从而促使骨质流失^[9]。另有研究发现罗格列酮对骨折愈合也有不利影响^[2],本研究发现罗格列酮治疗糖尿病兔3周末BMP-2、TGF- β_1 、PDGF、bFGF水平均较低,提示罗格列酮不利于糖尿病骨骨折愈合,与相关文献报道相一致。此外,本次研究发现给药第5个周末对照组、糖尿病组、罗格列酮组PDGF、bFGF、TGF- β_1 水平均无统计学差异(P 均 >0.05),可能与反馈调节有关,即对照组后期骨折逐渐愈合,使得BMP-2、PDGF、bFGF、TGF- β_1 水平表达下降,而糖尿病组、罗格列酮组因骨折愈合较差通过反馈调节促使其继续高表达。总之,罗格列酮可能对糖尿病兔骨折愈合有不利影响。另外,本研究发现罗格列酮体重水平高于糖尿病组。表明罗格列酮能抑制糖尿病兔体重减轻。可能与罗格列酮促进脂肪合成有关。

他汀类药物除了可调节血脂外,还具有抑制PPAR γ 的作用,减少骨髓基质细胞向脂肪细胞分化,而向成骨细胞分化。但高剂量使用他汀类药物有升高血糖和增加2型糖尿病发病率的风险^[5]。本研究发现3周末联合组BMP-2、PDGF、bFGF、TGF- β_1 水

平高于罗格列酮组,且5周末联合组BMP-2水平高于罗格列酮组。结果表明,3周末瑞舒伐他汀能够逆转罗格列酮对糖尿病兔骨折愈合时BMP-2、PDGF、bFGF、TGF- β_1 水平降低的情况,而且不影响罗格列酮降低FPG、TG水平及增加体重。这为临床治疗糖尿病合并骨折患者提供新的理论依据。

致谢:本实验在浙江中医药大学动物实验研究中心完成,特此表示感谢!

参考文献

- 1 La Fontaine J, Chen C, Hunt N, et al. Type 2 Diabetes and metformin influence on fracture healing in an experimental rat model[J]. J Foot Ankle Surg, 2016, 55(5):955-960.
- 2 Liu L, Aronson J, Lecka-Czernik B. Rosiglitazone disrupts endosteal bone formation during distraction osteogenesis by local adipocytic infiltration[J]. Bone, 2013, 52(1):247-258.
- 3 Ruan F, Zheng GQ, Wang J. Mechanisms of bone anabolism regulated by statins [J]. Bioscience Reports, 2012, 32(6):511-519.
- 4 Henna C, Alena S, Nagendra Y, et al. Increased risk of diabetes with statin treatment is associated with impaired insulin sensitivity and insulin secretion: a 6 year follow-up study of the METSIM cohort [J]. Diabetologia, 2015, 58(5):1109-1117.
- 5 占日新,董芳,来乐祥,等. 罗格列酮对糖尿病模型兔体质量、FPG及FFA等指标的影响[J]. 中国药房, 2015, 26(28):3928-3931.
- 6 李洪敬,姜长明,张卫国,等. 远红外陶瓷对家兔实验性骨折愈合的影响[J]. 中华理疗杂志, 2001, 24(5):274-276.
- 7 杜易平. 瑞舒伐他汀对兔动脉粥样硬化斑块及炎症因子水平的影响[J]. 中国医药导报, 2013, 10(36):37-39.
- 8 Sarahrudi K, Thomas A, Mousavi M, et al. Elevated transforming growth factor-beta 1 (TGF- β_1) levels in human fracture healing[J]. Injury, 2011, 42(8):833-837.
- 9 Esposito K, Capuano A, Sportiello L, et al. Should we abandon statins in the prevention of bone fractures? [J]. Endocrine, 2013, 44(2):326-333.

(收稿日期 2018-05-02)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第103页)

6.3 非药物治疗 对于DPNP病人,非药物治疗常与药物治疗相结合,或作为药物治疗的补充。由于DPNP治疗的个体差异较大,一些病人尽管接受大剂量药物治疗,但疼痛控制仍然不佳,或因为药物带来的不良反应,让病人服药的依从性下降;而此时非药物治疗便成为不错的选择。

6.3.1 电刺激治疗:包括经皮神经电刺激治疗、脊髓电刺激治疗、调频电磁神经刺激等。一些随机试验表明,经皮神经电刺激治疗对于DPNP的病人有效,可以推荐使用。不少案例报道提示,脊髓电刺激对周围神经病变有较好的疗效。一项交叉试验表明,对那些常规治疗效果不佳的DPNP病人,脊髓电刺激能有效缓解疼痛。Thakral等分析了8项

运用电刺激治疗DPNP的研究,其中6项研究的结果显示电刺激能有效缓解病人的疼痛。

6.3.2 针灸治疗:结合祖国医学的理论,针灸镇痛在临床上已被广泛的接受。Garrow等在一项单盲随机对照试验中显示,针灸治疗能缓解DPNP病人的疼痛。一些非对照试验也证实针灸对于DPNP有一定的治疗效果。

6.3.3 近红外线治疗:红外线又分为近红外线、短波红外线、中波长红外线;一项双盲随机对照试验表明,近红外线治疗能恢复DPNP病人的感觉,缓解疼痛。

6.3.4 低强度激光治疗:使用低强度激光照射相关区域,可缓解DPNP病人的疼痛。