

仙珠胶囊对去卵巢大鼠骨密度和血生化指标的影响

倪天庆

天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

摘要: 目的 观察仙珠胶囊对去卵巢大鼠骨密度 (BMD)、骨代谢标志物的影响。方法 将去卵巢大鼠随机分为模型组, 仙珠胶囊低、中、高剂量 (2.715、5.430、10.860 g 生药/kg) 组及阳性药倍美力片 (0.104 mg/kg) 组。另设假手术组。连续 ig 给药 3 个月, 测定血清中骨源性碱性磷酸酶 (BALP)、I 型胶原交联羧基末端肽 (CTX)、雌二醇 (E_2)、甲状旁腺素 (PTH)、钙 (Ca)、磷 (P) 的量, 并剖取大鼠股骨测 BMD。结果 模型组大鼠 BMD, E_2 、Ca、P 的量低于假手术组 ($P < 0.01$); 各给药组的这些指标高于模型组 ($P < 0.05$), 高剂量仙珠胶囊组大鼠 BMD 高于阳性对照药 ($P < 0.05$)。模型组大鼠 BALP、CTX、PTH 高于假手术组 ($P < 0.01$), 仙珠胶囊及倍美力组这 3 项指标均降低 ($P < 0.01$)。结论 仙珠胶囊可有效增加去卵巢大鼠 BMD, 有效抑制骨丢失, 增加成骨细胞活性, 降低血清 PTH 水平, 提高性激素水平。

关键词: 仙珠胶囊; 骨质疏松; 骨密度; 骨代谢标志物; 雌二醇

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)01-0054-04

Effect of Xianzhu Capsula on bone mineral density and blood biochemical indicators of ovariectomized rats

NI Tian-qing

The First Affiliated Hospital, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To observe the effect of Xianzhu Capsula on bone mineral density (BMD), bone metabolic indicators of ovariectomized rats. **Methods** Ovariectomized rats were divided into model group, Xianzhu Capsula lower, middle, and high dose (2.715, 5.430, and 10.860 g raw materials/kg) groups, Premarin Tablets (0.104 mg/kg) group, and Sham group. The rats were ig administrated medicine continuously for three months. The bone alkaline phosphatase (BALP), collagen cross-linked carboxy-terminal peptide (CTX), estradiol (E_2), PTH, Ca, and P in serum were detected; Meanwhile, thigh bones were dissected to measure BMD. **Results** BMD, E_2 , Ca, and P content of the model rats were all significantly lower than those in Sham group ($P < 0.01$), while those indicators of Premarin Tablets group and Xianzhu Capsula group were higher than those of model rats ($P < 0.05$), and BMD in high dose group of Xianzhu Capsula was higher than that in Premarin Tablets group ($P < 0.05$). BALP, CTX, and PTH of model rats were all significantly higher than those in Sham group ($P < 0.01$). BALP, CTX, and PTH in Premarin Tablets group and Xianzhu Capsula group decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** Xianzhu Capsula could obviously elevate BMD of ovariectomized rats and effectively improve hyper-transform statement. Meanwhile, it could decrease PTH and inhibit bone loss, and stimulate osteoblast activity and elevate gonadal hormone level.

Key words: Xianzhu Capsula; osteoporosis; bone mineral density; bone metabolic indicators; estradiol

随着世界步入老龄化社会的态势, 骨质疏松的发病率逐年上升, 已成为常见病、多发病, 其中绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 患病率的增加尤为突出。PMOP 的发病与雌激素水平下降有关^[1-2]。激素替代疗法虽对 PMOP 有治疗和预防作用, 但常引起绝经后阴道流血、乳腺增生等症, 还可增加患子宫内膜癌与乳腺癌、中风和心脏病的风险^[3-4]。仙珠胶囊是根据临床应用 20 余年的治疗骨质疏松的有效经验方, 经现代工艺

提取、加工制成的复方制剂, 由仙灵脾、葛根、珍珠粉等多味中药组成。本实验对仙珠胶囊抗骨质疏松的作用进行了研究, 考察了其去卵巢大鼠骨密度、骨代谢标志物等的影响。

1 材料

1.1 药品与试剂

仙珠胶囊内容物为褐色流浸膏, 由天津药物研究院中药现代研究部提供, 批号 050722, 每克流浸膏含生药 4.372 8 g。倍美力片[®], 批号 0412105, 美

收稿日期: 2009-12-15

作者简介: 倪天庆, 男, 主要从事中药新药的研究与评价。E-mail: n tq009@163.com

国惠氏公司, 每片含结合雌激素 0.625 mg。骨源性碱性磷酸酶 (BALP), 批号 55587, 英国 IDS 公司; I 型胶原交联羧基末端肽 (CTX), 批号 58003, 丹麦 NORDIC 公司; 雌二醇 (E_2), 批号 03126, 美国 DSL 公司; 甲状旁腺素 (PTH), 批号 03266, 美国 DSL 公司; Ca、P, 批号分别为 ER681 和 K2061, 日本禾光株式会社。

1.2 仪器

Hologic QDR—4500W 型双能骨密度仪 (美国), 230S 酶标仪 (荷兰欧伽依公司), BH6020 组合式 γ 计数仪 (北京核仪器厂), 7600 型生化分析仪 (日本日立公司)。

1.3 动物

3 月龄雌性 SD 大鼠, 体质量 (220 ± 10) g, SPF 级, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK(京)2002-0003。

2 方法

2.1 模型的建立与给药

70 只 SD 大鼠经适应性喂养 3 d 后, 按体质量随机分为 6 组, 一组为假手术组, 10 只, 其余 5 组均设为去卵巢大鼠组, 每组 12 只。除假手术组外, 其余各组动物 ip 2% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉, 施行无菌卵巢摘除手术。术后连续 5 d 监测去卵巢大鼠阴道涂片, 观察阴道上皮细胞有无周期性变化, 淘汰镜下观察阴道上皮细胞呈角状的大鼠。将经筛选的 50 只去卵巢大鼠按体质量随机分为 5 组 (每组 10 只), 分别为模型组, 阳性药倍美力片组 (0.104 mg/kg), 仙珠胶囊低、中、高剂量 (2.715、5.430、10.860 g 生药/kg) 组, ig 相应药物容积为 10 mL/kg, 每日定时给药 1 次。每周称量大鼠体质量 1 次, 并按其体质量调整给药剂量, 连续给药 12 周。

2.2 观察指标

给药结束后, 动物禁食不禁水 14 h。然后 ip 2% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉, 腹主动脉抽取血液 5 mL, 待血块收缩后, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清, 检测骨代谢生化指标。以酶联免疫法测定 BALP、CTX; 以放射免疫法测定 E_2 、PTH; 以分光光度法测定 Ca、P。剖取大鼠右侧股骨并剔除附着的肌肉组织, 用双能骨密度仪扫描测定股骨骨密度 (BMD), 并利用该系统的人体兴趣区软件进行定标分析, 自动进行统计分析。

2.3 统计学处理

数据处理采用 SPSS 10.0 统计软件包。数据用

$\bar{x} \pm s$ 表示, 组间计量资料比较用单因素方差分析, 并以 SNK 法进行两两比较。

3 结果

3.1 对去卵巢大鼠右侧股骨 BMD 的影响

模型组大鼠 BMD 明显低于假手术组, 两组比较有非常显著差异 ($P < 0.01$), 表明造模成功。阳性药及仙珠胶囊各剂量组大鼠 BMD 均高于模型组, 差异显著; 其中阳性药组与仙珠胶囊低、中、高剂量组大鼠 BMD 均高于模型组 ($P < 0.05$ 、0.01), 且仙珠胶囊高剂量组的 BMD 高于阳性药组, 差异显著 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 仙珠胶囊对去卵巢大鼠骨密度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 1 Effect of Xianzhu Capsula on bone mineral density of ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	骨密度/(g · cm ⁻²)
假手术	—	0.155 6 ± 0.009 5
模型	—	0.134 5 ± 0.009 2 ^{▲▲}
仙珠胶囊	2.715	0.141 8 ± 0.005 5 [*]
	5.430	0.151 9 ± 0.008 6 ^{**}
	10.860	0.153 1 ± 0.005 5 ^{**#}
倍美力片	0.104	0.145 9 ± 0.008 6 [*]

与假手术组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$;
与倍美力片组比较: [#] $P < 0.05$

^{▲▲} $P < 0.01$ vs Sham group, ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

[#] $P < 0.05$ vs Premarin Table group

3.2 对去卵巢大鼠血清骨代谢生化指标的影响

模型组大鼠血清 BALP、CTX、PTH 水平均高于假手术组, 差异非常显著 ($P < 0.01$); 阳性药、仙珠胶囊各剂量组上述指标明显低于模型组。模型组大鼠 E_2 、Ca、P 均明显低于假手术组, 差异非常显著 ($P < 0.01$), 阳性药、仙珠胶囊各剂量组上述指标均明显高于模型组, 差异非常显著 ($P < 0.01$), 且仙珠胶囊高剂量的作用强于阳性药。见表 2。

4 讨论

4.1 仙珠胶囊治疗 PMOP 的理论基础

骨质疏松是一个世界性骨骼健康问题, 其发病率已跃居各种常见病的第 7 位, 尤以 PMOP 多见。雌激素替代疗法被认为是骨质疏松的首选治疗方案, 但对其不良反应的担忧阻碍了该疗法的应用^[5]。随着中药对骨代谢影响的研究日趋深入, 以及中药在有效、低毒方面的独特优势, 使其逐渐成为防治骨质疏松症的重要手段, 引起了国内外研究者的广泛关注^[6-8]。

表 2 仙珠胶囊对去卵巢大鼠血生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 2 Effect of Xianzhu Capsula on blood biochemical indicators of ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	BALP/(U·L ⁻¹)	CTX/(μg·L ⁻¹)	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)	PTH/(pmol·L ⁻¹)	Ca/(mmol·L ⁻¹)	P/(mmol·L ⁻¹)
假手术	—	0.372±0.019	0.260±0.019	7.411±0.337	17.011±1.895	2.794±0.103	2.794±0.103
模型	—	0.663±0.022 ^{▲▲}	0.456±0.023 ^{▲▲}	1.269±0.431 ^{▲▲}	36.981±2.313 ^{▲▲}	2.473±0.091 ^{▲▲}	2.473±0.091 ^{▲▲}
仙珠胶囊	2.715	0.426±0.027 ^{**}	0.299±0.020 ^{**}	5.273±0.511 ^{**}	25.228±2.855 ^{**}	2.729±0.054 ^{**}	2.729±0.054 ^{**}
	5.430	0.409±0.024 ^{**###}	0.280±0.021 ^{**###}	6.148±0.585 ^{**###}	21.035±2.815 ^{**###}	2.742±0.066 ^{**}	2.742±0.066 ^{**}
	10.860	0.381±0.022 ^{**###}	0.270±0.022 ^{**###}	6.528±0.487 ^{**###}	18.316±2.536 ^{**###}	2.792±0.061 ^{**#}	2.792±0.061 ^{**#}
倍美力片	0.104	0.445±0.024 ^{**}	0.312±0.025 ^{**}	5.164±0.404 ^{**}	26.523±2.530 ^{**}	2.726±0.072 ^{**}	2.726±0.072 ^{**}

与假手术组比较: ^{▲▲} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P<0.01$; 与倍美力片组比较: [#] $P<0.05$ ^{###} $P<0.01$

^{▲▲} $P<0.01$ vs Sham group, ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group; [#] $P<0.05$ ^{###} $P<0.01$ vs Premarin Tablets group

中医理论强调肾与骨骼关系最为密切, 认为 PMOP 的病机主要是肾精不足。《医精经义》记载: “肾藏精, 精生髓, 髓生骨, 故骨者肾之所主也; 髓者, 肾精所生, 精足则髓足, 髓足则骨强”。肾主藏精, 主骨而生髓, 为“先天之本”, 骨的生长、发育、强度、衰弱与肾精盛衰密切相关。《素问·上古天真论》记载: “女子七七任脉虚, 太冲脉衰少, 人癸竭, 地道不通, 故形坏而无子”。妇女在绝经前后, 肾气渐衰, 人癸渐竭。肾中精气充盈, 则骨髓生化有源, 骨才能得到骨髓的滋养, 才能强健有力, 反之肾精虚少, 骨髓化源不足, 不能营养骨骼导致骨髓空虚即发生骨质疏松。

仙珠胶囊是基于“肾主骨”理论, 筛选淫羊藿、葛根、珍珠粉等中药组成的制剂, 具有补益肝肾、强筋壮骨之功效。淫羊藿为补肾壮阳要药, 辛、甘、温, 归肝肾经, 主要有效成分为黄酮类化合物。吕明波等^[9]证实淫羊藿具有抑制破骨细胞生成及骨吸收功能的作用。葛根甘、辛, 归脾胃经, 具有升阳健脾、退热生津之功, 生物活性成分葛根异黄酮具有雌激素样作用, 通过促进成骨细胞的形成, 维持骨密度值处于相对稳定的水平, 增加骨量和骨钙的量, 从而达到防治骨质疏松的目的^[10]。珍珠粉甘、咸, 归肝、心经, 具有养肝育阴, 宁心安神之功能, 其含钙量高, 并含有 20 余种氨基酸和多种微量元素, 这些微量元素大部分是机体酶系统和蛋白质的关键组成部分, 有利于骨骼形成和骨钙化, 吴至洪等^[11]证实珍珠钙胶囊对泼尼松所致大鼠骨质疏松有明显的改善作用。

4.2 仙珠胶囊治疗 PMOP 的作用机制

BMD 下降是骨质疏松的主要病理表现, 因而世界卫生组织 (WHO) 以 BMD 值作为诊断骨质疏松症的“金标准”^[12]。该实验结果显示, 仙珠胶囊各剂量均能提高去卵巢大鼠 BMD, 其中高、中剂量组 BMD 值高于阳性药组, 且高剂量仙珠胶囊的作用与阳性药差异显著。BALP 是碱性磷酸酶 (ALP) 同工酶之一, 是由成骨细胞合成、分泌的特异性产物, 可反映成骨细胞的活动, 系成骨细胞活性的重要标志^[13]。I 型胶原羧基末端肽是目前公认的骨吸收的指标^[14], 为总的 I 型胶原 C 端交联物, 由于有特异的氨基酸序列围绕 I 型 C 端肽交联区而显示特异性, 高转换型骨质疏松症患者 CTX 水平明显升高。雌激素在骨代谢中起重要作用, 能维持成骨细胞的正常功能及减弱破骨细胞的活性。妇女绝经后雌激素水平明显下降, 骨的再重建失衡, 骨吸收大于骨形成, 骨丢失速率加快^[15]。PTH 是甲状旁腺细胞分泌的单链多肽激素, 是刺激骨质吸收的主要激素, 绝经后由于甲状旁腺功能亢进或由于雌激素不足, 使骨骼对 PTH 的敏感性增强, 导致骨质吸收增加^[16]。该实验结果表明, 去卵巢后大鼠 E₂ 水平明显降低, 刺激了 PTH 分泌的增加, 骨再建单位中骨形成与骨吸收的平衡破坏或解偶联, 导致骨形成与骨吸收均较活跃, 呈高转换型, 最终骨吸收大于骨形成; 对此, 仙珠胶囊均表现出对抗作用, 且高剂量的作用明显强于阳性对照药。由此可见仙珠胶囊可改善去卵巢大鼠骨组织高转换状态, 降低血清 PTH 水平, 促进钙、磷吸收, 有效抑制骨丢失, 增加成骨细胞代谢, 提高机体性激素水平, 对骨质疏松产生明显的治疗作用。

参考文献

- [1] Sorensen M G, Henriksen K, Schaller S, *et al.* Biochemical markers in preclinical models of osteoporosis [J]. *Biomarkers*, 2007, 12(2): 266-286.
- [2] 马亚兵, 高海清, 刘新春, 等. 骨质疏松症预防与治疗的循证医学研究 [J]. *药物评价研究*, 2009, 32(2): 135-139.
- [3] Rossouw J E, Anderson G L, Prentice R L, *et al.* The Writing group for the women's health initiative investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal woman: principle results from the Woman's Health Initiative randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2002, 288(3): 321-333.
- [4] 赵丽嘉, 王利华, 胡亚萍, 等. 米诺膦酸水合物 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(6): 479-484.
- [5] 赵丽嘉, 孙歆慧, 贺星, 等. Ospemifene [J]. *现代药物与临床*, 2010, 25(5): 390-393.
- [6] 朱孟勇, 赫长胜, 王彩娇. 巴戟天多糖对骨质疏松大鼠骨密度及血清微量元素的影响 [J]. *中草药*, 2010, 41(9): 1513-1515.
- [7] 李贵海, 宋卫国, 孙付军, 等. 葛藤提取物对去卵巢大鼠骨质疏松的影响 [J]. *中草药*, 2009, 40(9): 1450-1452.
- [8] Murano T, Izumi S, Kika G, *et al.* Impact of menopause on lipid and bone metabolism and effect of hormone replacement therapy [J]. *Tokai J Exp Clin Med*, 2003, 28(3): 109-119.
- [9] 吕明波, 刘兴英, 葛宝丰, 等. 淫羊藿苷对小鼠骨髓源性破骨细胞诱导生成及骨吸收功能影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13(5): 315-319.
- [10] 周艳, 李梓民, 扶晓明, 等. 葛根异黄酮对去卵巢大鼠骨密度及骨钙含量的影响 [J]. *南华大学学报*, 2008, 36(3): 293-295.
- [11] 吴至洪, 周斌, 谭毓治, 等. 珍珠钙胶囊抗骨质疏松的实验研究 [J]. *中成药*, 2001, 23(10): 766-768.
- [12] 杨伟民, 邵斌. 骨代谢生化指标与骨质疏松症 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2004, 10(1): 118-120.
- [13] 罗利飞, 王伟军. 骨源性碱性磷酸酶对老年性骨质疏松的诊断意义 [J]. *中国现代临床医学杂志*, 2006, 5(3): 78-79.
- [14] 魏雅楠, 苗懿德, 刘忠厚, 等. 骨代谢生化标志物的临床进展—不同国家和地区绝经前后女性骨代谢标志物参考值回顾分析 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13(7): 455-468.
- [15] Garin S R, Ynan H A, Reilcy M A, *et al.* Kyphoplasty and vertebroplasty for the treatment of painful osteoporotic compression fractures [J]. *Spine*, 2001, 26(14): 1511-1515.
- [16] Curnero P, Sornay-Rendu E, Duboeuf F, *et al.* Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the OFELY study [J]. *J Bone Miner Res*, 1999, 14(9): 1614-1621.

《药物评价研究》征稿与征订启事

《药物评价研究》(原《中文科技资料目录·中草药》)杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级药科学技术学术性期刊, 双月刊, 国内外公开发刊。桑国卫院士为名誉主编, 刘昌孝院士任编委会主任委员, 汤立达研究员为主编。

内容与栏目: 针对药物及其制剂的评价规范以及药学评价、安全性评价、药效学评价、药物代谢动力学评价、临床评价、上市药物评价等评价研究的内容, 设置论坛、综述、方法学研究、试验研究(论著)、审评规范、国外信息、专题等栏目。

本刊的创办填补了药物评价领域期刊的空白, 将为我国广大药物研究人员提供一个交流的平台, 通过交流药物评价工作的实践经验, 发展和完善评价的方法学, 探讨评价相关的国际标准或指南, 提高我国的总体评价研究水平。

欢迎广大作者积极投稿, 广大读者踊跃订阅! 本刊自办发行, 订阅请直接与编辑部联系! 本刊热忱与中外制药企业合作, 宣传推广、刊登广告(包括处方药品广告)。

地址: 天津市南开区鞍山西道308号(300193)

电话/传真: 022-23006822

E-mail: der@tiprpress.com

网址: www.中草药杂志社.中国 www.tiprpress.com