

珍珠活性蛋白抗骨质疏松的实验研究

陈连剑 李成 李婷

(深圳市福田人民医院药剂科, 深圳 518033)

摘要 本文研究了珍珠活性蛋白抗骨质疏松的药理作用。结果表明:珍珠活性蛋白能明显降低去卵巢大鼠尿肌酐、尿钙、尿羟脯氨酸水平,显著提高股骨骨密度。本研究为其进一步开发利用提供了依据。

关键词 珍珠 活性蛋白 骨质疏松

珍珠活性蛋白是从珍珠中提取的可溶性蛋白,笔者研究了珍珠活性蛋白对去卵巢大鼠骨代谢和骨组织显微结构的影响,探讨了其抗骨质疏松的作用,现报道如下。

1 实验材料

1.1 动物 3月龄雌性SD大鼠,体重 210 ± 20 g,购自第一军医大学实验动物中心。

1.2 药物与试剂 珍珠活性蛋白,由中山大学/广州现代中药质量研究开发中心提供,临用前用蒸馏水将其配成 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液。尼尔雌醇片,北京四环制药二厂生产,批号20010401,用蒸馏水配成 $0.1 \text{ mg}/\text{ml}$ 的溶液,备用。注射用青霉素钠:80万U/

瓶,华北制药集团生产。试剂:钙、磷、碱性磷酸酶及肌酐试剂盒均为北京中生生化工程高技术公司产品,批号分别为010601、010501、010501、010602;尿羟脯氨酸试剂盒为南京建成生物工程研究所产品,批号为20010827;血清雌二醇、骨钙素试剂盒均由北京北免东雅生物技术研究所提供,批号均为20010901。

1.3 仪器 XD811生化分析仪,上海迅达医疗仪器公司生产;FT-613型自动计算 ^{125}I 放免测量仪,国营二六一厂生产;JOVAN低温离心机,美国产;721-分光光度计,上海第三分析仪器厂出品;DPX-IQ型双能X线骨密度仪,Lunar公司生产。

2 方法^[1]

将60只SD大鼠随机分为4组:A组(空白对照组)、B组(模型对照组)、C组(珍珠活性蛋白组)、D组(尼尔雌醇对照组),每组15只。除A组外,其余3组均以2%戊巴比妥钠2.5 ml/kg腹腔麻醉大鼠,摘除卵巢。术后给予青霉素20万U/次,肌注,bid,连续3d,分笼隔离饲养7d后拆线。各组均在相同环境下自由饮水、摄食。术后1周,C组灌胃珍珠活性蛋白50 μg/kg,每日1次,D组灌胃尼尔雌醇溶液1 mg/kg,每周1次,给药体积均为1 ml/100 g,A、B组灌胃等体积蒸馏水。连续给药10周,称重后停药取样,处死前收集大鼠24 h空腹尿液,翌日,以摘除眼球法取血5 ml,3000 r/min离心15 min分离血清,置抗凝管内,存于-20℃冰箱集中待测试。取大鼠双侧股骨,钝性分离附着的软组织以备用。观测指标及方法:(1)一般状况观察:观察大鼠摄食、活动、毛色情况,每日一次;称取大鼠体重,每周1次。(2)生化标准:血清钙(S-Ca)、血清磷(S-P)均采用终点法;血清碱性磷酸酶(S-ALP)用动态法;血清骨钙素(S-BGP)、雌二醇(S-E₂)用放射免疫法。(3)尿生化指标:尿钙(U-Ca)用终点法,尿肌酐(U-Cr)用两点法;尿羟脯氨酸(U-Hop)测定用比色法。(4)骨矿密度(BMD):用双能X线骨密度仪测定双侧股骨密度。并进行统计学处理。

3 结果

3.1 10周后大鼠一般状况 A组大鼠摄食、活动正常,毛色光泽。B组大鼠摄食、活动均减少,毛色无泽,但体重较A组明显增加,较符合绝经后期脾肾阳虚的表现。C组大鼠摄食、活动均增加,毛色光泽,体重较A组也有增加,表明珍珠活性蛋白对大鼠脾肾阳虚症状有明显改善。D组大鼠摄食、活动减少,毛色无泽,体重增加不明显,表明雌激素对脾肾阳虚状无改善。其体重增加迟缓可能与尼尔雌醇

刺激大鼠胃肠道的副作用有关。

3.2 各组大鼠股骨骨密度(BMD)和雌二醇(E₂)测定结果 与空白组比较,模型组股骨BMD及血清E₂均明显降低(P<0.05或P<0.01)。与模型组比较,珍珠活性蛋白组双侧BMD均明显升高(P<0.05),尼尔雌醇组左侧BMD亦明显升高(P<0.05),而右侧BMD值虽有升高,但无显著性差异(P>0.05)。尼尔雌醇组E₂水平较模型组显著升高(P<0.05),而珍珠活性蛋白组E₂水平虽有升高,但无显著性差异(见表1)。

表1 各组大鼠股骨骨密度(BMD)和雌二醇(E₂)测定结果($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	BMD(g/cm ²)		E ₂ (pg/ml)
	左侧	右侧	
A组	0.268 ± 0.053	0.270 ± 0.086	9.39 ± 1.35
B组	0.181 ± 0.085*	0.187 ± 0.100*	5.53 ± 1.51**
C组	0.262 ± 0.073 [△]	0.264 ± 0.058 [△]	5.39 ± 1.72
D组	0.253 ± 0.047 [△]	0.240 ± 0.050	8.02 ± 2.32 [△]

与A组比较,*P<0.05,**P<0.01;与B组比较,[△]P<0.05,^{△△}P<0.01,下同

3.3 各组大鼠血清钙(Ca)、磷(P)、骨钙素(BGP)、碱性磷酸酶(ALP)测定结果见表2。血清Ca、P各组之间比较未见明显差异(P>0.05);模型组S-BGP水平明显高于空白组(P<0.05),珍珠活性蛋白组与模型组无显著差异(P>0.05);尼尔雌醇组S-ALP水平较模型组明显降低(P<0.05),珍珠活性蛋白组与模型组比较无显著差异。

3.4 各组大鼠24 h空腹尿肌酐(Cr)、钙(Ca)及羟脯氨酸(Hop)含量测定结果见表3。与空白组比较,模型组大鼠24 h空腹尿Cr、Ca、Hop均明显上升(P<0.05或P<0.01),珍珠活性蛋白组空腹尿Cr、Ca、Hop均较模型组明显降低(P<0.05或P<0.01),尼尔雌醇组尿Hop较模型组明显下降(P<

表2 各组大鼠血清Ca、P、BGP、ALP测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	S-Ca(mmol/L)	S-P(mmol/L)	S-BGP(μg/ml)	S-ALP(U/L)
A组	15	2.32 ± 0.37	3.17 ± 0.48	1.94 ± 0.10	82.33 ± 9.82
B组	15	2.92 ± 0.37	3.29 ± 0.55	2.74 ± 0.83*	166.56 ± 44.87*
C组	15	2.64 ± 0.35	3.18 ± 0.65	2.94 ± 0.27	167.33 ± 47.75
D组	15	2.69 ± 0.35	3.48 ± 0.90	2.50 ± 0.40	99.11 ± 45.12 [△]

表3 各组大鼠24 h空腹尿Cr、Ca、Hop、Ca/Cr、Hop/Cr含量测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	U-Cr(mmol/L)	U-Ca(mmol/L)	U-Hop(μg/ml)	U-Ca/U-Cr	U-Hop/U-Cr
A组	15	6.33 ± 3.19	0.76 ± 0.42	0.012 ± 0.008	0.127 ± 0.064	0.002 ± 0.002
B组	15	12.54 ± 4.78*	1.34 ± 0.28*	0.028 ± 0.01**	0.131 ± 0.073	0.003 ± 0.001
C组	15	10.96 ± 6.36 [△]	0.81 ± 0.19 [△]	0.018 ± 0.001 [△]	0.117 ± 0.79	0.003 ± 0.001
D组	15	9.49 ± 4.90	1.01 ± 0.51	0.013 ± 0.005 ^{△△}	0.137 ± 0.12	0.002 ± 0.001

0.01)。

4 小结

结果表明,珍珠活性蛋白能明显降低去卵巢大鼠尿肌酐、尿钙、尿羟脯氨酸水平,显著提高股骨骨密度。提示珍珠活性蛋白具抗骨质疏松作用。

参 考 文 献

1 施新猷. 医用实验动物学. 西安:陕西科技出版社,1989
:417

(2003-08-18 收稿)

2004-01-22 修回)