

盐制杜仲对去势大鼠骨密度及血清 IGF-I 的影响

童妍¹, 李娜^{1*}, 李锐², 吴晓青¹

(1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031; 2. 攀钢集团成都医院, 成都 610066)

[摘要] **目的:** 观察盐制杜仲的乙醇浸膏对去势大鼠骨密度及血清激素的影响。**方法:** 采用雌性大鼠切除双侧卵巢建立骨质疏松症模型, 随机分成假手术组、模型组、尼尔雌醇组、盐制杜仲提取物高、中、低剂量组(6, 3, 1.5 g·kg⁻¹, ig)。手术后 7 d 开始给药, 持续 12 周。检测各组腰椎和股骨的骨矿物质含量(BMC)和骨矿物质密度(BMD), 血清雌二醇(E₂)和胰岛素样生长因子 1(IGF-I)的含量。**结果:** 与假手术组比较, 模型组大鼠的 BMC 和 BMD 明显下降, 血清 E₂ 和 IGF-I 水平明显下降; 盐制杜仲能增加去卵巢大鼠 BMC 和 BMD, 提高血清 E₂ 和 IGF-I 水平, 与模型组相比有差异性(P < 0.05)。**结论:** 炮制能加强杜仲的抗骨质疏松作用, 盐制杜仲通过上调血清 E₂ 水平, 提高血清 IGF-I 含量而对去卵巢大鼠的骨质疏松症有预防或延缓发生的作用。

[关键词] 骨质疏松; 去势模型; 盐制杜仲; 骨密度; 胰岛素样生长因子 1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0255-03

[doi] 10.11653/syjf2013170255

Effects of Salt-processing Eucommiae Cortex on BMD and Serum IGF-I in Rats after Ovariectomy

TONG Yan¹, LI Na^{1*}, LI Rui², WU Xiao-qing¹

(1. College of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China;

2. Pangang Group Chengdu Hospital, Chengdu 610066, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of salt-processing Eucommiae Cortex on BMD and serum hormone in rats after ovariectomy. **Method:** The model of postmenopausal osteoporosis was developed by ovariectomy, the rats were randomly divided into six groups, including sham operation group, model group, Nilestriol group, and salt-processing Eucommiae Cortex high, moderate, low-dose group (6, 3, 1.5 g·kg⁻¹, ig) 7 days later, successive administration was carried out, lasted for 12 weeks. The lumbar spine and femoral bone BMC and BMD, serum E₂ and IGF-I content were assayed. **Result:** Compared with control group, BMC and BMD in model group rats decreased obviously, serum E₂, IGF-I level decreased. Compared with model group, salt-processing Eucommiae Cortex could increase BMC and BMD, and serum E₂, IGF-I level in rats after ovariectomy (P < 0.05). **Conclusion:** Processing can enhance the anti-osteoporosis effect of Duzhong, salt-processing Eucommiae Cortex can prevent and delay osteoporosis in rats after ovariectomy by increasing serum E₂, IGF-I level.

[Key words] osteoporosis; ovariectomy model; salt-processing Eucommiae Cortex; bone mineral density; IGF-I.

[收稿日期] 20121221(005)

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项资金资助, SWJTU11BR068

[通讯作者] * 李娜, 讲师, 从事中药化学与中药药理研究, E-mail: 378719951@qq.com

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种常见的骨代谢性疾病, 随着全球人口的老龄化, OP在全世界常见病、多发病中的地位逐渐上升至第 7 位, 患病人数超过 2 亿, 我国已达 9 000 万^[1]。妇女绝经后, 卵巢功能衰竭, 雌激素水平急剧下降, 骨矿物质的丢失

明显加快,骨质疏松症发生率较男性明显增加,严重危害了中老年妇女的健康^[2-3]。绝经后骨质疏松症属中医“骨痹”、“骨痿”等范畴,治疗以补肾为主,盐制杜仲具有补肝肾、强筋骨的功效,本实验采用雌性大鼠切除双侧卵巢建立妇女绝经后骨质疏松症模型,观察盐制杜仲乙醇提取物对去卵巢大鼠骨密度及血清激素的影响。

1 材料

1.1 动物 SD 雌性大鼠,体重(220 ± 10) g,购于四川省实验医学动物中心,合格证号 SCXK(川)2008-24。实验前置动物于室内适应环境 1 周,室温 20 ~ 28 ℃。

1.2 药物及试剂 盐制杜仲醇提物,由西南交通大学生命科学与工程学院提供;尼尔雌醇片:(北京四环制药有限公司),胰岛素样生长因子(IGF-I)酶免试剂盒(美国 DSL 公司生产,由天津市天硕生物制品有限公司代理),雌二醇(E₂)放免试剂盒(天津九鼎医学生物工程技术有限公司)。

1.3 仪器 NorlandXR-36 型动态过滤双能 X 射线骨密度诊断仪(美国 Norland 公司),GC-1200y 放射免疫计数器(中佳光电仪器分公司),DG3023 型酶联免疫检测仪(华东电子管厂),J180-2B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 方法

2.1 动物分组 术前将 90 只 SD 大鼠随机分为 6 组,分别为假手术组、模型组、尼尔雌醇组、盐制杜仲高、中、低剂量组,每组 15 只。

2.2 动物造模 将 6 组大鼠采用 20% 氨基甲酸乙酯(乌拉坦)ip 麻醉,5 mL·kg⁻¹,除假手术组外,其余各组大鼠从腰背部脊柱两侧入路切除双侧卵巢。假手术组的大鼠重复摘除卵巢步骤,但不摘除卵巢,仅在卵巢与输卵管连接处夹一下,术后 im 给予庆大霉素 0.2 mL/只,连续 3 d 抗感染。术后第 2 天开始行大鼠阴道涂片观察,1 次/d,连续 5 d,以确定卵巢是否完全切除。除假手术组外,实验动物从术后的 5 d 起全部进入动情间期,证明去势彻底。而假手术组出现动情期,证明未去势。

2.3 给药方法和剂量 术后 7 d 开始给药,连续 12 周。假手术组和模型组(等容积生理盐水 ig);尼尔雌醇组(1.5 mg·kg⁻¹, ig),1 次/周;盐制杜仲高、中、低剂量组(按生药量计为 6,3,1.5 g·kg⁻¹, ig),1 次/d,6 d 为 1 疗程,疗程间休息 1 d。

2.4 观察指标 骨矿物质含量(BMC)和骨矿物质密度(BMD),血清 E₂ 的测定采用双抗体 + PEG 法

检测,血清 IGF-I 的测定采用酶联免疫法检测。

2.5 统计学方法 实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 统计软件进行处理,用 One-Way ANOVA 进行分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对各组大鼠 BMC 的影响 模型组的腰椎和股骨的 BMC 与假手术组相比明显下降,有显著性差异,尤以股骨改变明显($P < 0.01$)。雌激素和盐制杜仲治疗后,大鼠腰椎和股骨的 BMC 均有所提高,与模型组比有差异性($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 盐制杜仲对去势大鼠骨矿物质含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) g

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	腰椎 BMC	股骨 BMC
假手术	-	0.536 0 ± 0.112 3	0.414 8 ± 0.127 5
模型	-	0.423 9 ± 0.163 4 ³⁾	0.249 0 ± 0.061 9 ⁴⁾
尼尔雌醇	1.5 × 10 ⁻³	0.506 2 ± 0.213 2 ¹⁾	0.361 7 ± 0.011 5 ¹⁾
盐制杜仲	6.0	0.494 5 ± 0.092 3 ¹⁾	0.382 7 ± 0.157 9 ¹⁾
	3.0	0.473 7 ± 0.081 3 ¹⁾	0.367 4 ± 0.095 2 ¹⁾
	1.5	0.443 2 ± 0.113 1	0.345 7 ± 0.119 2

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与假手术组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.2 盐制杜仲对各组大鼠 BMD 的影响 模型组的腰椎和股骨的 BMD 与假手术组相比明显下降,有显著性差异($P < 0.01$),雌激素和盐制杜仲治疗后,大鼠腰椎和股骨的 BMD 均有所提高,与模型组有差异性($P < 0.05$)(表 2)。

表 2 盐制杜仲对去势大鼠骨矿物质密度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) g·cm⁻²

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	腰椎 BMD	股骨 BMD
假手术	-	0.145 4 ± 0.004 3	0.154 6 ± 0.007 5
模型	-	0.126 6 ± 0.002 4 ⁴⁾	0.136 1 ± 0.002 9 ⁴⁾
尼尔雌醇	1.5 × 10 ⁻³	0.135 8 ± 0.001 2 ¹⁾	0.141 8 ± 0.002 5 ¹⁾
盐制杜仲	6.0	0.136 6 ± 0.008 2 ¹⁾	0.144 4 ± 0.002 7 ¹⁾
	3.0	0.134 3 ± 0.002 3	0.143 8 ± 0.005 2 ¹⁾
	1.5	0.128 9 ± 0.008 1	0.138 8 ± 0.009 2

3.3 对各组大鼠血清 E₂ 和 IGF-I 的影响 模型组的 E₂ 和 IGF-I 与假手术组相比明显下降,有显著性差异($P < 0.01$),雌激素和盐制杜仲治疗后,大鼠 E₂ 和 IGF-I 均有所提高,与模型组有显著性差异($P < 0.05$)。血清 IGF-I 含量和 E₂ 水平存在着正相关的关系,IGF-I 随 E₂ 水平的变化而变化(表 3)。

表3 盐制杜仲对去势大鼠血清 E₂ 和 IGF-I 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	E ₂ /ng·L ⁻¹	IGF-I/ μ g·L ⁻¹
假手术	-	91.60 ± 35.26	3 945.48 ± 252.75
模型	-	48.89 ± 15.34 ⁴⁾	2 633.60 ± 134.19 ⁴⁾
尼尔雌醇	1.5 × 10 ⁻³	78.62 ± 12.32 ¹⁾	4 066.47 ± 363.16 ²⁾
盐制杜仲	6.0	68.54 ± 20.82 ¹⁾	4 079.44 ± 423.29 ²⁾
	3.0	65.32 ± 11.13	3 877.68 ± 411.52 ¹⁾
	1.5	58.34 ± 15.91	3 690.50 ± 524.92

4 讨论

中医理论认为,肾藏精,主骨生髓。肾气的盛衰决定着骨的强健和衰弱,这与现代医学关于绝经后骨质疏松症发病与性腺功能衰退有关的认识是一致的,肾中精气是女性卵巢功能盛衰的主要物质基础,骨质疏松症以肾虚为主^[4],兼有肝脾、气血不足,瘀血阻滞,治疗上以补肾药物为主。现代研究表明,补肾中药具有雌激素样作用^[5],而补肾方药通过多环节、多途径,调节骨质疏松大鼠的骨形成与骨吸收,使其达到骨形成与骨吸收相偶联,而防治骨质疏松^[6]。补肾中药可以有效降低骨质疏松大鼠的骨代谢异常旺盛水平,明显提高其骨密度。炮制是药物在应用前或制成各种剂型以前必要的加工处理过程,炮制是否得当直接关系到药效。盐咸寒入肾,杜仲经过盐水制后,引药入肾,增强其补肝肾作用^[7]。

实验结果表明盐制杜仲组可以明显提高去势大鼠腰椎和股骨的 BMC 和 BMD,增高血清中的 E₂ 和 IGF-I。雌激素缺乏是骨质疏松发病的主要原因^[9-10],其通过多种途径参与骨代谢,雌激素可以上调 IGF-I,IGF-I 对参与骨转换的所有细胞均具有刺激有丝分裂和启动分化的活性,能增加成骨细胞的增殖和分化,具有促进骨形成的作用^[11]。雌激素可以促进 IGF 运载蛋白的合成,在细胞外与 IGF 结合,并可增强细胞内 IGF-1 的表达,促进 IGF-1 的分泌。盐制杜仲通过上调血清 E₂ 水平,提高 IGF-I 含量,

直接或间接作用于成骨细胞,增强骨重建,改善骨质疏松,对去卵巢大鼠骨质疏松有预防或延缓发生的作用。关于盐制杜仲对抗去卵巢后的骨质疏松症的机制还需做进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 胡春明,王成学,莫丽娟,等. 骨质疏松药物治疗进展[J]. 中国老年学杂志,2008,28(21):2178.
- [2] 孙玉明,毛国庆,蒋东明. 独活寄生汤治疗骨质疏松疲腰背疼痛32例疗效观察[J]. 中医药信息,2009,26(6):90.
- [3] 杨利侠. 绝经后骨质疏松症的中医辨治思路与方法[J]. 山西中医,2011,27(6):5.
- [4] 郑云霞,杨仁旭,陈红. 滋肾丸对去卵巢骨质疏松雌鼠的骨组织形态学的改善作用及机制的实验研究[J]. 四川中医,2006,24(2):16.
- [5] 李恩,孔德娟,杨学辉,等. 补肾方药对骨质疏松防治的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2002,8(2):166.
- [6] 闵文,黄桂成,华永庆,等. 补肾通络方治疗去势大鼠骨质疏松的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(17):189.
- [7] 狄留庆,倪美华,刘圣金. 杜仲炮制的历史沿革与现代研究进展[J]. 南京中医药大学学报,2005,21(6):406.
- [8] 朱宇红,郝武常,李兴华. 杜仲不同炮制品增强免疫作用比较[J]. 中国中药杂志,1997,22(10):598.
- [9] 万全增,汪煌,段斌斌,等. 雌激素及其受体与绝经后骨质疏松症的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2011,29(7):1591.
- [10] 张建梅,李瓦里. 植物雌激素防治绝经后骨质疏松的研究进展[J]. 现代药物与临床,2012,27(1):65.
- [11] 黄洪新,徐道华. 细胞因子与骨质疏松症[J]. 国际骨科学杂志,2011,32(5):307.

[责任编辑 聂淑琴]