

芪参健骨颗粒对股骨头坏死大鼠脂代谢的影响

尹华¹, 章建华^{2*}, 李昌煜¹, 林婷¹, 王知青¹

(1. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学附属第一医院, 杭州 310006)

[摘要] **目的:** 考察芪参健骨颗粒对激素性股骨头坏死大鼠脂代谢的影响。**方法:** 雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分为 6 组, 分别为正常组、模型组、芪参健骨颗粒低、中、高剂量给药组 (15, 30, 60 g·kg⁻¹)、阳性对照丹骨康丸组 (3 g·kg⁻¹), 每组 10 只, 除正常组外其余各组均用尾静脉注射脂多糖 (20 μg·kg⁻¹) 连续 2 d 后, 肌肉注射甲基强的松龙 20 mg·kg⁻¹ 连续 3 d 复制股骨头坏死模型, 每隔 10 d 称体重 1 次, 预防性灌胃给药 8 周后取血清测定各组大鼠的胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C) 和低密度脂蛋白 (LDL-C)。取股骨标本, HE 染色, 光镜下观察骨组织病理改变。**结果:** 与正常组比较, 模型组大鼠体重增长缓慢, 芪参健骨颗粒高、中、低剂量给药组能不同程度的抑制体重增长缓慢现象 ($P < 0.01$); 与正常组比较, 模型组大鼠 TG, TC, LDL-C 胆固醇含量增高 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$), HDL-C 胆固醇含量降低 ($P < 0.05$), 给药组能明显抑制股骨头坏死出现脂代谢紊乱。**结论:** 芪参健骨颗粒能明显改善激素性股骨头坏死模型的脂肪代谢紊乱, 从而防治激素性股骨头坏死。

[关键词] 芪参健骨颗粒; HE 染色; 血脂

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0248-04

Effect of Qishen Jiangu Granula on Lipid Metabolism in Rats with Steroid-induced Avascular Necrosis of Femoral Head

YIN Hua¹, ZHANG Jian-hua^{2*}, LI Chang-yu¹, LIN Ting¹, WANG Zhi-qing¹

(1. College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China;
2. Zhejiang Chinese Medical University First Affiliated Hospital, Hangzhou 310006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Qishen Jiangu granula (QSJGG) on lipid metabolism of avascular necrosis of the femoral head induced by hormone combining endotoxin. **Method:** Sixty SD rats were divided into 6 groups, respectively the control group, the model group, the low, medium, high-dose group (15, 30, 60 g·kg⁻¹) of QSJGG, and the positive control group (3 g·kg⁻¹), and each group was replicated. Avascular necrosis of femoral head (ANFH) experimental animal model was made by muscle injection of methylprednisolone (20 mg·kg⁻¹) for 3 days after injection of IOC lipopolysaccharide (20 μg·kg⁻¹) for 2 days in addition of the control group, after 8 week intragastric pre-administration of the medication, rats were sacrificed to collect blood from abdominal vein to determination of serum cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein (HDL-C) and low density lipoprotein (LDL-C), and femurs were obtained from both sides, of which the right side was used for pathological sections of HE staining to make observation of bone tissue. **Result:** Compared with the model normal rats, fat cells of medullary cavity in the QSJGG group was more and relatively big ($P < 0.01$), TC, TG and LDL-C levels were increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), HDL-C was reduced ($P < 0.05$). Compared with group, fat cells of medullary cavity in the model group was less and relatively small, TC, TG and LDL-C were reduced, HDL-C was increased. **Conclusion:** QSJGG can significantly improve fat metabolism of model of femoral head necrosis, which control femoral head necrosis.

[Key words] Qishen Jiangu granula; HE staining; lipid

[收稿日期] 20111121(008)

[基金项目] 浙江省科技厅科技计划项目(2006C33003); 浙江省中药现代化专项资金浙江省中医药重点开发项目(2004Z004); 浙江省分析测试科技计划项目(2007F70052); 浙江省公益性技术应用研究计划——分析测试与实验动物(2011C37094)

[第一作者] 尹华, 教授, Tel: 0571-86613604, E-mail: maryinhua@163.com

[通讯作者] * 章建华, 教授, Tel: 13588193391, E-mail: zhangjh311@163.com

芪参健骨颗粒为课题组在浙江省中医院医院制剂骨健口服液的基础上研发的中药新药,由黄芪、丹参、杜仲、当归、菟丝子、延胡索等中药组成,主要用于治疗早、中期股骨头坏死。研究发现芪参健骨颗粒具有调节血液流变值、调节血管内皮生长因子、促进微循环、改善骨密度、改善血钙血磷、抗炎镇痛等作用(另文发表),本文从组织病理切片、血脂4项的测定来探讨芪参健骨颗粒对激素性股骨头坏死大鼠的防治作用。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,体重180~200g,雄性,SPF级[上海西普尔-必凯实验动物有限公司,合格证号SCXK(沪)2008-0016]。饲养于屏障中,温度(22±1)℃,相对湿度50%~70%,换风次数15~20次/h,光照150~200Lx,12h明暗交替,噪音<50dB,设有温度、湿度、光照、压力梯度等自动控制 and 显示系统;饲喂⁶⁰Co辐照全价营养饲料。

1.2 药物及试剂 芪参健骨颗粒流浸膏(黄芪、丹参、杜仲、当归、菟丝子、延胡索按6:6:3:6:6:2比例混合,加12倍量水浸泡1h,提取3次,每次0.5h;过滤,合并滤液,减压浓缩至药液相对密度为1.05~1.10,加95%乙醇使含醇量为50%,醇沉24h,减压浓缩至每1mL药液含原生药3g,质控指标为黄芪甲苷、丹酚酸B。由浙江中医药大学中药标准化研究实验室制备,批号100613),脂多糖(美国Sigma公司进口分装,批号L2880-10mg),注射用甲泼尼龙琥珀酸钠(Pfizer Manufacturing Belgium NV公司生产,批号R04276),丹郁骨康丸(河南明善堂药业有限公司生产,批号090712),甘油三酯(TG)试剂盒(上海长征公司生产,批号P090611),胆固醇(TC)试剂盒(上海长征公司生产,批号P090911),高密度脂蛋白(HDL-C)检测试剂盒(南京威特曼公司生产,批号ZGM0-9335),低密度脂蛋白(LDL-C)检测试剂盒(南京威特曼公司生产,批号ZDM10106),HE染色液(浙江中医药大学动物实验中心配置),水合氯醛(中国医药集团上海化学试剂公司,批号20100315)。

1.3 仪器 7020型日立全自动生化分析仪(日本日立株式会社),AVANTI型J-26XP低温高速离心机(美国制造)。

2 方法

2.1 动物分组及模型建立 SD大鼠,随机分成6组,分别为正常组、模型组、芪参健骨颗粒低、中、高剂量给药组、阳性对照丹郁骨康丸组,每组10只。

在前期工作基础上通过查阅文献,确定造模方法为:各组大鼠尾静脉注射脂多糖20μg·kg⁻¹连续2d,第2次注射脂多糖后,当天肌肉注射甲基强的松龙20mg·kg⁻¹连续3d,空白组注射同等剂量的生理盐水^[1-3]。

2.2 给药方法 由于股骨头坏死病程不可逆转,因此选择预防性给药。低、中、高剂量给药组ig芪参健骨颗粒流浸膏稀释液,剂量分别为15,30,60g·kg⁻¹;阳性对照组ig丹郁骨康丸混悬液,剂量为3g·kg⁻¹;正常组ig等量生理盐水,均按20mL·kg⁻¹量ig,空白组灌胃生理盐水,均按20mL·kg⁻¹药量ig,1次/d,给药2个月。

2.3 体重 每隔3d,每只大鼠在给药前用电子天平称1次体重,并记录结果。

2.4 组织病理学观测 给药2个月后,采用颈椎脱臼法处死大鼠,取左侧新鲜股骨头和股骨颈、股骨干标本,沿其头、颈、干正中冠状面切开,标本置于10%的中性福尔马林溶液一周后,5%硝酸脱钙,常规包埋、冠状面切片、HE染色,光镜观察骨髓、骨小梁及软骨细胞等组织病理学改变。

2.5 血脂测定 血清样本制备:各组实验动物采血前禁食12h,用10%水合氯醛溶液腹腔注射,麻醉大鼠,腹腔静脉取血置离心管中,3000r·min⁻¹离心10min(4℃),分离血清,用dorff管分装,置-20℃冻存,备用。血脂测定:取血清200μL,使用全自动生化分析仪,用酶化学法检测TG,TC含量,用中点法测定HDL-C,LDL-C含量。

3 结果

3.1 对大鼠体重的影响 与正常对照组比较,股骨头坏死模型组大鼠体重增长缓慢;与模型组比较,芪参健骨颗粒低、中、高剂量给药组及阳性对照组均能明显抑制体重增长缓慢现象。见表1。

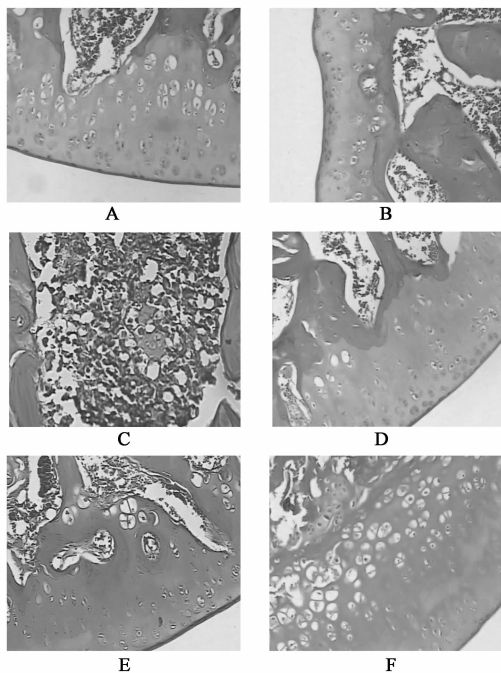
3.2 组织病理学观测 正常组大鼠股骨头软骨下骨、骨小梁完整,排列规则。骨小梁中的骨细胞清晰可见,细胞核位于中央,且较大。骨髓造血细胞丰富,脂肪细胞相对较少,细胞核在细胞中央,无坏死现象,形态正常。模型组大鼠软骨有塌陷现象,股骨头骨髓腔内脂肪细胞体积增大,有的融合成泡状,造血细胞数量减少。给药组均较接近正常组,但低剂量给药组和阳性对照组脂肪含量稍高。结果显示,长期服用芪参健骨颗粒具有一定的抑制激素合并内毒素引起的大鼠股骨头变化,并接近正常水平。

3.3 对大鼠TG,TC,HDL-C,LDL-C的影响 芪参健骨颗粒对各组大鼠血脂四项的影响如表2所示:

表 1 芪参健骨颗粒对各组大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 14$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	1 d	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d
正常组	-	212 ± 4.98	234 ± 6.44 ³⁾	290 ± 9.57 ³⁾	311 ± 21.01 ³⁾	359 ± 23.60 ³⁾	372 ± 26.06 ³⁾	400 ± 27.73 ³⁾
模型组	-	210 ± 7.20	217 ± 10.95 ²⁾	270 ± 22.76 ²⁾	287 ± 22.15 ²⁾	329 ± 26.6 ²⁾	319 ± 29.30 ²⁾	353 ± 23.42 ²⁾
芪参健骨颗粒	15	219 ± 7.73	223 ± 10.52 ²⁾	282 ± 31.01	326 ± 30.47 ³⁾	362 ± 27.96 ³⁾	374 ± 30.26 ³⁾	399 ± 30.90 ³⁾
	30	216 ± 5.20	218 ± 7.15 ²⁾	271 ± 14.55	326 ± 20.88 ³⁾	364 ± 29.88 ³⁾	391 ± 65.60 ³⁾	404 ± 37.09 ³⁾
	60	220 ± 8.73	234 ± 16.88 ³⁾	264 ± 20.13	326 ± 20.76 ³⁾	351 ± 12.93 ³⁾	366 ± 26.19 ³⁾	376 ± 23.67 ^{1,3)}
丹郁骨康丸	3	216 ± 7.28	234 ± 10.16 ³⁾	279 ± 13.89	347 ± 25.45 ³⁾	372 ± 30.90 ³⁾	385 ± 33.56 ³⁾	410 ± 31.67 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.01$ 。



A. 正常组;B. 模型组;C. 芪参健骨颗粒 15 g·kg⁻¹ 低剂量组;D. 芪参健骨颗粒 30 g·kg⁻¹ 组;
E. 芪参健骨颗粒 60 g·kg⁻¹ 组;F. 丹郁骨康丸 3 g·kg⁻¹ 组
图 1 芪参健骨颗粒对激素性股骨头坏死大鼠股骨头组织病理学的影响 (A, C. HE × 40; B, D-F. HE, × 100)

股骨头坏死模型组大鼠与正常组相比较 TG, TC, 含量升高。中、高剂量给药组大鼠 HDL-C 含量升高,

低剂量给药组有升高的趋势,但没有显著性差异;低、中剂量给药组大鼠 LDL-C 含量降低,高剂量给药组有降低的趋势,但是没有显著性差异。结果提示,长期服用芪参健骨能有效的调节血脂水平,从而预防股骨头坏死。

4 讨论

股骨头坏死发病机制较复杂,主要有脂质代谢学说,血管内凝血学说,骨内高压学说、骨质疏松学说等。目前脂代谢紊乱学说的发病机制主要有:激素引起高脂血症后,骨髓腔内脂肪细胞大量增殖,压迫微循环,使静脉回流受阻,股骨头血压降低,血流量减少,流速缓慢,脂肪栓子容易沉积,骨内压升高,最终导致股骨头缺血性坏死^[4-6]。另一方面,激素使股骨头、颈部微血管内皮细胞浆中出现较大的低电子密度脂滴,血管内皮细胞胞浆中的脂滴使毛细血管再生受抑制,导致毛细血管数量减少,血流下降而缺血,物质交换的效能低下,最终组织细胞因严重缺氧而发生变形坏死^[7-8]。

从体重增长看,模型组大鼠体重增长缓慢,但 TC, TG, LDL-C 水平的升高, HDL-C 的降低,说明激素加内毒素可导致大鼠呈脂代谢紊乱状态;给药组大鼠体重均较模型组增长快,但 TC, TG, LDL-C, HDL-C 水平接近正常组,说明芪参健骨颗粒具有

表 2 芪参健骨颗粒对各组大鼠血脂 4 项的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TG	TC	HDL-C	LDL-C
正常组	-	0.43 ± 0.08 ³⁾	1.52 ± 0.20 ³⁾	0.82 ± 0.04 ³⁾	0.46 ± 0.08 ³⁾
模型组	-	0.52 ± 0.10 ¹⁾	1.72 ± 0.18 ¹⁾	0.77 ± 0.50 ¹⁾	0.62 ± 0.18 ¹⁾
芪参健骨颗粒	15	0.40 ± 0.09 ³⁾	1.41 ± 0.26 ⁴⁾	0.79 ± 0.25	0.49 ± 0.10 ³⁾
	30	0.41 ± 0.07 ⁴⁾	1.56 ± 0.21 ^{1,3)}	0.87 ± 0.01 ³⁾	0.46 ± 0.05 ³⁾
	60	0.39 ± 0.06 ⁴⁾	1.50 ± 0.16 ³⁾	0.83 ± 0.03 ³⁾	0.57 ± 0.13 ¹⁾
丹郁骨康丸	3	0.42 ± 0.06 ³⁾	1.52 ± 0.17 ³⁾	0.85 ± 0.01 ³⁾	0.45 ± 0.16 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

藏药八味沉香散对 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 所致乳鼠心肌细胞 缺氧/复氧损伤的保护作用

朱艳媚^{1*}, 陈志²

(1. 青海大学医学院, 西宁 810001; 2. 青海师范大学生命地理学院, 西宁 810008)

[摘要] 目的: 研究八味沉香散(TBP)对连二亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)所致乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用。方法: 采用 SD 乳鼠心肌细胞原代培养, 采用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 诱导心肌细胞建立缺氧/复氧损伤模型, 用 TBP 10, 30, 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 种不同剂量预处理 24 h 后, 检测培养液中半胱天冬氨酸蛋白酶(Caspase-3)和细胞凋亡; 测定培养液中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、天冬氨酸转氨酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD), 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性和丙二醛(MDA)含量。结果: 与模型组比较, TBP 3 个剂量组明显减轻心肌细胞缺氧/复氧损伤后 Caspase-3 和细胞凋亡($P < 0.05$); 降低 LDH, CK 的活性和 MDA 含量($P < 0.05$), 同时能够升高 SOD, GSH-Px 活性($P < 0.05$)。结论: 八味沉香散对 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 所致乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤具有明显的保护作用。

[关键词] 藏药八味沉香散; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$; 心肌细胞缺氧/复氧损伤; 氧化应激

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0251-03

藏药八味沉香散(Tibetan Bawei Chenxiang powder, TBP)由沉香、肉豆蔻、广枣、白芸香、木棉花、乳香、木香和诃子等 8 味药材组成。该药具有活血止痛、清心热、养心安神之功效, 用于热病攻心、神昏谵语, 是藏医临床治疗各种急慢性心脑血管疾病最常用的药物之一。已有研究表明该药具有明显的抗心肌缺血^[1]和保护心功能^[2]的作用。本实验以

培养乳鼠心肌细胞为基础, 从细胞水平探讨不同剂量八味沉香散对连二亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)所致 SD 乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用。

1 材料

1.1 动物 新生 SD 乳鼠, 鼠龄 2~3 d, 由青海省实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(青)2009。

1.2 试剂 藏药八味沉香散(青海藏药厂, 批号

[收稿日期] 20110901(002)

[通讯作者] * 朱艳媚, 硕士, 教授, 从事心脑血管生理研究, E-mail: zhuy7989@126.com

一定的调节脂代谢的作用。因此, 从脂质代谢紊乱学说的角度研究, 芪参健骨颗粒对股骨头坏死有一定的防治作用。

[参考文献]

- [1] 田琨, 童培建. 激素性股骨头缺血性坏死动物模型研究进展[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(1): 95.
- [2] 苏强, 孙大胜, 于秋良, 等. 不同剂量内毒素合并激素建立兔股骨头缺血性坏死模型的影像学评估[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(11): 2108.
- [3] 李鸿, 贾丙申. 激素合并内毒素诱导大鼠股骨头坏死扫描电镜观察[J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(5): 256.
- [4] Wang G J, Sweet D E, Regers L, et al. Fat-cell changes as a mechanism of avascular necrosis on the femoralhead

in cortisone treated rabbits[J]. J Bone Joint Surg, 1997, 59(6): 729.

- [5] Jones J P Jr. Fat embolism and osteonecrosis[J]. Orthop Clin North Am, 1985, 16(4): 595.
- [6] 李月白, 殷力, 王义生, 等. 激素诱导骨髓基质细胞成脂分化的实验研究[J]. 中华骨科杂志, 1999, 19(11): 687.
- [7] 王坤正, 毛履真, 胡长根, 等. 激素性股骨头缺血坏死发病机制的实验研究[J]. 中华外科杂志, 1994, 32(9): 515.
- [8] 王坤正, 扬万石, 黄溶, 等. 兔激素性股骨头缺血坏死早期细胞学电镜观察[J]. 中华医学杂志, 1996, 76(1): 49.

[责任编辑 聂淑琴]