

大豆总黄酮对大鼠肾虚型骨质疏松病的药效学研究

金睿¹, 王诗涵², 睢博文³, 金华³, 李海燕^{3*}

(1. 吉林市中心医院, 吉林 吉林 132001; 2. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600;
3. 吉林大学药学院, 长春 130021)

[摘要] **目的:**观察大豆总黄酮对大鼠骨质疏松的治疗作用。**方法:**采用 12 月龄雌性大鼠, 切除卵巢 60 d 以后, 以大豆总黄酮 250, 125, 62.5 mg·kg⁻¹ 3 个剂量连续灌胃 (ig) 90 d。测血清碱性磷酸酶 (ALP)、钙离子 (Ca²⁺)、磷离子 (P³⁻)、钠离子 (Na⁺)、雌二醇 (E₂) 含量; 原子吸收法测定骨 Ca²⁺, P³⁻, Na⁺, Mg²⁺ 含量; 骨扫描法测定胫骨骨密度。**结果:**以大豆总黄酮 250, 125 mg·kg⁻¹ 可以增加骨质疏松大鼠血 Ca²⁺, E₂, 对血中 P³⁻, Na⁺ 离子, ALP 含量无明显影响; 提高骨 Ca²⁺ 含量, 对骨 P³⁻ 含量具有一定的升高趋势, 对骨 Na⁺, Mg²⁺ 无明显影响; 增加骨密度和骨小梁面积; 减少骨吸收, 促进骨形成。**结论:**大豆总黄酮具有治疗肾虚大鼠骨质疏松作用。

[关键词] 大豆总黄酮; 骨质疏松; 骨密度

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0159-05

Effects of Soybean Flavone on Osteoporosis in Rats with Deficiency of the Kidney

JIN Rui¹, WANG Shi-han², SUI Bo-wen³, JIN Jian³, LI Hai-yan^{3*}

(1. Jilin Central Hospital, Jilin 132001, China; 2. Pharmacy College of Liaoning Chinese Medicine University, Dalian 116600, China; 3. Pharmacy College of Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effects of soybean flavone on osteoporosis in rats with deficiency of the kidney. **Method:** Female rats born 12 months were executed orariectomy to establish osteoporosis model. After 60 days, total flavonoids of soybean, with dose of 250, 125, 62.5 mg·kg⁻¹, was ig given for 90 days. The content of ALP, Ca²⁺, P³⁻, Na⁺ estradiol (E₂) in serum, the content of Ca²⁺, P³⁻, Na⁺, Mg²⁺ in bones was measured, respectively. The bone density of tibia was measured. **Result:** The level of Ca²⁺, E₂ of in serum was increased in total flavonoids 250, 125 mg·kg⁻¹ groups, but had no obvious effect on the content of P³⁻, Na⁺, ALP in blood; The content of Ca²⁺ in bones was increased, but had no obvious influence on Na⁺, Mg²⁺ in bones, meanwhile the bone density wa increasedd. **Conclusion:** Soybean flavone has effects on osteoporosis in rats with deficiency of the kidney

[Key words] soybean flavonoids; osteoporosis; bone density

骨质疏松是一种随年龄增长而出现的常见性中、老年疾病, 尤以中年妇女为多见, 其临床表现为腰酸背痛、四肢乏力, 骨骼疼痛, 重者导致骨关节疾患及并发症^[1-5]。鉴于此, 作者对大豆总黄酮抗骨

质疏松的药理作用进行了研究, 为以后临床应用提供试验依据^[6-9]。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大白鼠, 封闭群, 体重 350 ~ 420 g, 雌性; 体重 180 ~ 220 g, 雌性; 动物合格证号 10-5113, 由长春高新医学动物实验研究中心提供。

1.2 药物及试剂 大豆总黄酮, 含总黄酮以大豆苷元 (C₁₅H₁₀O₄) 计, 为 56.0%, 吉林大学药学院提供,

[收稿日期] 20110720(005)

[基金项目] 吉林科委重点计划项目(20070912)

[通讯作者] * 李海燕, 博士研究生, 助教, 从事新药研发的研究, Tel: 0431-85619662, E-mail: haoyi1981@ yahoo.com.cn

临用时以蒸馏水配成所需浓度。根据文献报道大豆总黄酮大鼠有效剂量为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[10], 故选择 4 个剂量进行药效剂量的筛选, 即 62.5, 125, 250, $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。阳性对照药: 骨松宝颗粒, 与大豆总黄酮治疗作用基本相同, 给药途径一致。本品为颗粒剂, 每袋 5 g, 成人 1 日 3 次, 1 次 1 袋, 按人体与动物体表面积等效剂量比值计算, 选择大鼠剂量为 $6.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 相当于 5 倍等效剂量, 临用时以蒸馏水配成所需浓度, 贵州富华药业有限责任公司生产。苯甲酸雌二醇(E_2)注射液, 天津金耀氨基酸有限公司, 批号 0607091。氢化可的松注射液, 每 1 mL 含氢化可的松 5 mg, 每只 2 mL, 含氢化可的松 10 mg, 郑州市新郑制药股份有限公司出品。阴性对照组为同体积的蒸馏水。盐酸四环素, BIB 分装, 购于华美生物工程公司北京分公司, BF1087; 磷液体试剂、碱性磷酸酶、钠试剂, 均由北京中生生物工程高技术公司提供。¹²⁵I 雌二醇放射免疫分析药盒, 批号 20101101, 天津新湾生物科技有限公司。

1.3 仪器 P-E503 型原子吸收分光光度计(日本 Olympus), 2700-型全自动生化分析仪(日本 Olympus), 722 型分光光度计(上海分析仪器厂), JN-A 型精密扭力天平(上海第二天平仪器厂), L-301 型生物显微镜(广州光学仪器厂), ZEM-1200EX WEC(日本制造)透射电子显微镜, LKB2088 型超薄切片机(瑞典制造), Leitj1512 石蜡切片机(西德制造), SW-CJ-113 标准型净化工作台(苏州净化设备厂), WX-753 型微循环显微镜(徐州医用光学仪器厂); CSS-44010 电子万能试验机(长春试验机研究所), NM300 型骨矿物质测量仪(北京试验机厂), BH-2 型荧光显微镜(日本 Olympus), CIMA-400 真彩色图像分析仪(四川大学)。

2 方法

2.1 对去卵巢雌性大鼠骨质疏松模型的影响^[1-2]

取雌性大鼠(体重 350 ~ 420 g), 在乙醚麻醉下, 实施双侧卵巢摘除术: 将大鼠腹位固定, 在大鼠最末肋骨下腋中线和距脊柱外侧约 2 cm 交叉处剪除长毛,

消毒后, 用经 75% 乙醇浸泡的剪子剪开皮肤和脊肌, 至腹腔, 用小镊子轻轻夹出脂肪团, 分离脂肪, 露出粉红色的卵巢, 用细手术线将卵巢下输卵管及脂肪一起结扎, 剪下卵巢, 将子宫送回腹腔, 喷撒青霉素, 缝合肌肉、皮肤, 再用乙醇棉球消毒, 同样方法摘除另一侧卵巢。另取 10 只成年大鼠(体重 180 ~ 220 g), 剪口后即缝合, 不摘除卵巢, 作为假手术组。手术后, 每只大鼠腹腔注射青霉素 80 万单位/kg, 连续 3 d。1 个月后, 连续 5 d 大鼠进行阴道涂片检查, 选取无动情周期性变化的大鼠进行试验。第 61 天进行分组, 每组动物 8 只, 共分为 5 组, 第 1 ~ 3 组为大豆总黄酮高、中、低剂量组, 剂量分别为 250, 125, $62.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 第 4 组为阳性药骨松宝组, 剂量为 $6750 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 第 5 组为模型对照组, 按高剂量体积给赋形剂, 第 6 组为假手术组, 按高剂量体积给赋形剂, 动物喂以纯玉米面加 0.5% 氯化钠低钙饲料(促进造模)自由饮水, 动物均灌胃给药(ig), 在动物处死前第 14, 13 天和第 4, 3 天分别皮下注射盐酸四环素 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和钙黄绿素 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。于给药第 90 天, 动物禁食 12 h, 由眼眶静脉丛取血, 测血清碱性磷酸酶(ALP)、钙离子(Ca^{2+})、磷离子(P^{3-})、钠离子(Na^+)含量, 放免法测定 E_2 , 处死动物后, 取大鼠前肢, 剔除肌肉作骨的钙离子(Ca^{2+})、镁离子(Mg^{2+})、磷离子(P^{3-})、钠离子(Na^+)含量测定, 再取一侧胫骨作生物力学试验, 另侧胫骨, 留用骨形态学、骨形态计量学及骨密度等相关指标测定。取一侧股骨胫端进行骨细胞超微结构观察。具体方法及测试结果参见下述各分项内容。

2.2 数据统计方法 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异的显著性采用 *t* 检验和 SAS 软件包完成。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对血清中 ALP, P^{3-} , Ca^{2+} , Na^+ , E_2 的影响 大豆总黄酮 3 个剂量组均对去势大鼠血清 Ca^{2+} 含量有明显的升高作用, 而对 ALP, P^{3-} , Na^+ 无明显作用, 高剂量组对血清 E_2 含量亦有明显的增高作用。见表 1。

表 1 大豆总黄酮对去势大鼠血清各项指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	ALP/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	P^{3-} / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	Ca^{2+} / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	Na^+ / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	E_2 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
大豆总黄酮	250	8	154.7 ± 54.62	1.48 ± 0.20	2.4 ± 0.72 ¹⁾	83.3 ± 35.99	16.7 ± 4.66 ²⁾
	125	8	133.0 ± 65.46	1.41 ± 0.19	2.5 ± 0.43 ¹⁾	77.0 ± 45.88	14.4 ± 1.45
	62.5	8	129.9 ± 20.34	1.20 ± 0.18	1.8 ± 0.40	68.9 ± 46.60	13.6 ± 2.26
骨松宝	6750	8	137.1 ± 59.17	1.47 ± 0.31	2.3 ± 0.79	112.3 ± 50.5 ¹⁾	12.9 ± 2.43
模型对照	-	8	106.2 ± 50.22	1.09 ± 0.36	1.7 ± 0.55	68.3 ± 30.30	11.6 ± 1.80
假手术	-	10	166.1 ± 95.85	1.54 ± 0.36	2.5 ± 0.41 ²⁾	108.2 ± 47.0 ²⁾	16.7 ± 6.68

注: 与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 8 同)。

3.2 对骨 Ca^{2+} , P^{3-} , Na^+ , Mg^{2+} 的影响 将去除肌肉的大鼠骨用去离子蒸馏水冲洗后,放在 100 °C 烤箱内,烘烤 3 d,干燥恒重后用电子天平准确称重,放于三角烧杯中,加入 2 mL 硝酸,0.5 mL 高氯酸,再将三角烧杯放于电热板加热,使骨样完全消解,将样品蒸干,用去离子蒸馏水定溶 10mL,待测。将上述样品稀释到适宜浓度进行测定。测 Ca^{2+} , Mg^{2+} 时加入 5 $g \cdot L^{-1}$ La,测 Na^+ 时加入 400 $mg \cdot L^{-1}$ Cs,以消除测定干扰。最后用火焰原子吸收分光光度计测定。测 P 时,取一定体积经过稀释的上述样品,加入 0.5 mL 5% 钼酸氯,加一滴 SnU_2 (5% 甘油液),加水定容 5 mL,在 722 型分光光度计 690 nm 处测定吸光度(标准曲线法),见表 2。

与模型组比较大豆总黄酮 3 个剂量组均能明显提高 Ca^{2+} 含量,对骨 P^{3-} 含量有升高趋势,对 Na^+ , Mg^{2+} 无明显影响。

3.3 对骨代谢的影响-骨动、静态形态计量学、骨形态组织学、骨密度、骨小梁测定及分析^[3] 试验方

法及材料处理具体步骤取左侧胫骨用 NM300 型骨矿物质测量仪(北京试验机厂)检测,其扫描部位为关节面下 1cm 处,扫描 2 次取均值。

取右侧胫骨近端 1/3,一半经甲醛固定 1 周,用联合酸脱钙,石蜡包埋,HE 染色,脱水,透明,封片。取另一半胫骨用骨锯刷成厚度为 300 μm 的骨片,再经人工磨至 20 ~ 25 μm , Olympus BH-2 型荧光显微镜(日本)下观察。使用真彩色图象分析仪 CIMA-400(四川大学),对胫骨近端骨片(从骺板软骨处至远端约 3.3 mm 处)进行骨计量学测定及计算。统计分析:(1)对假手术组与其他各组、模型组与其他各组各项指标采用 *t*-检验进行两组比较;(2)对大豆总黄酮高、中、低各剂量组的各指标进行单因素方差分析(One Way ANOVA)及 Tukey 两两比较;(3)骨松宝阳性药组与大豆总黄酮高、中、低各剂量组分别比较(两两 *t*-检验)。全部计算由 SAS 软件包完成。结果见表 3 ~ 5。

表 2 大豆总黄酮对去势大鼠骨 Ca^{2+} , P^{3-} , Na^+ , Mg^{2+} 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $mg \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	Ca^{2+} / $mg \cdot g^{-1}$	P^{3-} / $mg \cdot g^{-1}$	Na^+ / $mg \cdot g^{-1}$	Mg^{2+} / $mg \cdot g^{-1}$
大豆总黄酮	250	8	225.4 ± 43.4 ²⁾	99.2 ± 16.6	4.7 ± 0.13	3.4 ± 0.76
	125	8	212.9 ± 16.44 ¹⁾	114.0 ± 17.85	4.7 ± 0.32	3.2 ± 0.24
	62.5	8	208.1 ± 9.29 ¹⁾	114.0 ± 23.59	4.5 ± 0.20	3.2 ± 0.19
骨松宝	6 750	8	203.6 ± 15.1 ²⁾	96.2 ± 19.45	4.5 ± 0.21	3.1 ± 0.47
模型对照	-	8	179.1 ± 13.92	103.9 ± 12.88	4.6 ± 0.12	3.2 ± 0.18
假手术	-	10	228.0 ± 24.9 ²⁾	113.6 ± 8.23	4.7 ± 0.31	3.3 ± 0.24

表 3 大鼠胫骨皮质骨计量学($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $mg \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	骨组织总面积/ mm^2	皮质骨组织总面积/ mm^2	皮质骨组织总面积/%	骨髓腔面积/ mm^2	骨髓腔面积/%
大豆总黄酮	250	8	11.73 ± 1.02	4.39 ± 0.57 ²⁾	37.55 ± 4.71 ²⁾	7.34 ± 0.96 ¹⁾	62.45 ± 4.71
	125	8	11.77 ± 1.13	4.05 ± 0.64 ²⁾	34.38 ± 3.96 ²⁾	7.72 ± 0.84 ¹⁾	65.62 ± 3.96
	62.5	8	11.65 ± 1.11	3.75 ± 0.65	32.12 ± 3.82 ¹⁾	7.89 ± 0.77	67.88 ± 3.82
骨松宝	6 750	8	11.60 ± 1.34	3.82 ± 0.67	32.86 ± 3.57 ¹⁾	7.78 ± 0.91	67.14 ± 3.57
模型对照	-	8	11.52 ± 1.20	3.21 ± 0.46	27.86 ± 2.51	8.31 ± 0.88	72.14 ± 2.51
假手术	-	10	12.51 ± 1.09	4.39 ± 0.57 ²⁾	35.04 ± 3.02 ²⁾	8.12 ± 0.79	64.96 ± 3.02

表 4 大鼠胫骨皮质骨外骨膜面计量学($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $mg \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>	荧光标记周长/%	双荧光标记间距/ μm	骨矿化沉积率/ $\mu m \cdot d^{-1}$	骨形成率/ $\mu m \cdot d^{-1}$
大豆总黄酮	250	8	149.62 ± 0.12	4.43 ± 0.36 ²⁾	0.44 ± 0.04	66.26 ± 5.41
2	125	8	149.57 ± 0.14	4.32 ± 0.37 ²⁾	0.43 ± 0.04	65.60 ± 5.59
3	62.5	8	149.81 ± 0.11	3.83 ± 0.36 ¹⁾	0.38 ± 0.04	57.37 ± 5.39
骨松宝	6 750	8	149.70 ± 0.14	3.86 ± 0.59 ¹⁾	0.39 ± 0.06	57.75 ± 8.76
模型对照	-	8	149.67 ± 0.20	2.59 ± 0.33	0.26 ± 0.03	38.78 ± 4.95
假手术	-	10	149.62 ± 0.19	3.53 ± 0.34 ²⁾	0.35 ± 0.03	52.86 ± 5.04

表 5 大鼠胫骨皮质骨内骨膜面计量学($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	n	荧光标记周长 /%	双荧光标记间距 /μm	骨矿化沉积率 /μm·d ⁻¹	骨形成率 /μm·d ⁻¹
大豆总黄酮	250	8	149.52 ± 0.13	6.22 ± 0.64 ²⁾	0.62 ± 0.06	92.99 ± 9.53 ²⁾
	125	8	149.46 ± 0.14	5.99 ± 0.60 ²⁾	0.60 ± 0.06	89.55 ± 9.01 ²⁾
	62.5	8	149.65 ± 0.13	5.37 ± 0.59 ²⁾	0.54 ± 0.06	80.38 ± 8.82 ²⁾
骨松宝	6 750	8	149.59 ± 0.13	5.21 ± 0.85 ²⁾	0.52 ± 0.08	77.93 ± 12.66 ²⁾
模型对照	-	8	149.56 ± 0.21	3.65 ± 0.55	0.37 ± 0.06	54.62 ± 8.32
假手术	-	10	149.51 ± 0.18	3.98 ± 0.57 ²⁾	0.40 ± 0.06	59.54 ± 8.56 ²⁾

由表 3 可知,大豆总黄酮低、中、高 3 个剂量组可以增加骨质疏松大鼠胫骨皮质骨组织总面积和双荧光标记间距,提高骨矿化沉积率和骨形成率。

3.4 胫骨骨密度和胫骨近端骨小梁骨计量学研

究 经骨密度仪检测,模型组的骨密度较假手术组明显下降;大豆总黄酮各剂量组及骨松宝的骨密度较模型组明显升高,与假手术组相似,但未达到假手术组的水平。见表 6。

表 6 大豆总黄酮对去势大鼠胫骨近端骨密度、骨小梁面积及面积百分比的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	骨密度/g·cm ⁻²	干骺端骨小梁面积/mm ²	骨小梁面积/%
大豆总黄酮	250	8	0.235 5 ± 0.011 4 ¹⁾	0.162 1 ± 0.011 6 ²⁾	16.90 ± 1.21 ²⁾
	125	8	0.232 8 ± 0.013 7 ¹⁾	0.157 0 ± 0.014 2 ²⁾	16.38 ± 1.48 ²⁾
	62.5	8	0.231 5 ± 0.013 7 ¹⁾	0.144 3 ± 0.014 4 ¹⁾	15.06 ± 1.50 ¹⁾
骨松宝	6 750	8	0.206 1 ± 0.021 8 ¹⁾	0.144 8 ± 0.013 9 ¹⁾	15.10 ± 1.45 ¹⁾
模型对照	-	8	0.146 9 ± 0.012 1	0.131 6 ± 0.020 0	13.73 ± 2.08
假手术	-	10	0.244 7 ± 0.011 6 ²⁾	0.164 7 ± 0.014 1 ²⁾	17.18 ± 1.47 ²⁾

由表 6 可见,大豆总黄酮 3 个剂量组均能明显增加大鼠胫骨骨密度、胫骨干骺端骨小梁面积和骨小梁面积百分比,高剂量组疗效最佳。

3.5 股骨胫端骨小梁细胞超微结构观察^[4] 取各组 2 只大鼠股骨胫端松质骨经 2.5% 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)脱钙约 2 日,经 4.0% 戊二醛前固定,1% 锇酸后固定,乙醇系列脱水,Epon812 环氧树脂包埋,经薄切片机定位于骨小梁,用 1200EX 型透射电镜观察摄片,并将观察到的骨细胞分为四型,并记录所观察细胞各型细胞所占百分比。

结果表明,假手术组大多为成骨细胞(I, II 型),位于骨小梁表面,骨细胞充满骨陷窝内,细胞呈圆形,染色质靠核膜排列,胞质量少,其内可见线粒体、溶酶体等细胞器;模型组大多为退变相骨细胞(III, IV 型),骨细胞呈多突起形,细胞界限不清,与骨陷窝之间间隙增大;骨小管数量减少,小管内突起变细,与小管间间隙增大,周围的胶原原纤维分布不均;细胞核内染色质增多,细胞核呈固缩状呈凝聚趋边状,胞质内线粒体肿胀,呈空化状;大豆总黄酮高、中剂量组、骨松宝组骨小梁数明显增多,骨细

胞结构基本正常,核内染色质略多,骨细胞大多为早期吸收相(II, III 型)低剂量骨细胞内细胞器少,有少量空泡状,胶原含量多。见表 7。

表 7 各组样本各型骨细胞百分比

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	n	各型骨细胞比率/%			
			I	II	III	IV
大豆总黄酮	250	8	46.0	27.5	22.5	4.0
	125	8	18.5	37.0	33.5	11.0
	62.5	8	25.0	45.0	20.0	10.0
骨松宝	6 750	8	20.0	30.0	26.6	23.4
模型对照	-	10	10.0	23.3	36.7	30.0
假手术	-	8	40.0	30.0	15.0	15.0

3.6 胫骨生物力学测定 方法:左侧胫骨剔除肌肉及周围组织,放入液体石蜡中 3 d 测定其生物力学特征,用电子万能试验机做三点折断试验,参数标定为 1/50,速度 2 mm·min⁻¹,采用 100 kg 压力传感器,使用函数记录仪记录载荷与挠度的函数关系。Fm 为最大弯曲力(折断点),Y 为最大弯曲应力下挠度,Eb 为弯曲弹性模量,Wb 为弯曲断裂能量,K 为斜率。见表 8。

表8 大豆总黄酮对大鼠骨质疏松模型骨生物力学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	Eb/MPa	Fm/KN	Y/mm	K
大豆总黄酮	250	8	4 194.2 ± 873.6 ²⁾	0.080 ± 0.011 ²⁾	0.85 ± 0.162	95.46 ± 12.36
	125	8	3 606.9 ± 487.8 ¹⁾	0.066 ± 0.011	0.90 ± 0.190	77.13 ± 74.55
	62.5	8	3 441.4 ± 1 042.0	0.063 ± 0.010	0.90 ± 0.140	73.27 ± 21.43
骨松宝	6 750	8	3 412.1 ± 1 089.1	0.068 ± 0.011	0.85 ± 0.101	79.98 ± 13.21
模型对照		10	2 929.7 ± 599.5	0.052 ± 0.021	0.69 ± 0.249	79.26 ± 29.13
假手术		8	6 317.3 ± 3 209.4 ¹⁾	0.080 ± 0.012 ²⁾	0.87 ± 0.129	93.25 ± 18.51 ¹⁾

结果表明,大豆总黄酮高剂量组对大鼠骨质疏松模型骨最大弯曲力及弯曲弹性模量有明显的提高作用,阳性药骨松宝作用不如大豆总黄酮高剂量组,但好于中、低剂量。

4 讨论

结果表明,大豆总黄酮高、中、低剂量对去卵巢大鼠致骨质疏松模型的血清中 Ca²⁺ 及血清雌二醇含量均有明显的增高作用,与模型对照组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$,高剂量组对骨组织 Ca²⁺ 含量亦有一定的增高作用,病理组织学、形态计量学、骨密度及骨小梁等骨代谢指标测定表明,模型组大鼠与假手术对照组相比较,骨密度明显下降,胫骨干骺端骨小梁面积、骨小梁面积百分数明显减少,皮质骨内、外骨膜面的双荧光标记间距明显减小,骨矿化沉积率及骨形成率明显下降,致使皮质骨组织总面积、皮质骨组织百分数均有不同程度差异的减少、骨髓腔面积百分数明显增加。电子显微镜骨细胞超微结构结果亦显示,模型组骨细胞大多为退变相骨细胞(Ⅲ,Ⅳ型),假手术组大多为成骨细胞(Ⅰ,Ⅱ型),因此,本实验的骨质疏松动物模型的复制是成功的。

大豆总黄酮的各剂量组对骨质疏松的治疗效果略有差异。低剂量组干骺端骨小梁面积、骨小梁面积百分数较假手术对照组明显降低,与模型组相似,而中、高剂量组的骨小梁面积百分比则较模型组明显增高,接近假手术对照组。皮质骨内、外骨膜面的双荧光标记线间距明显增宽,骨矿化沉积率、骨形成率均较假手术对照组和模型组有增加或显著增加,以骨内膜面更为显著,故表现出的两个剂量组的皮质骨组织总面积、皮质骨组织百分数均较模型组有不同程度的增加,骨髓腔面积、骨髓腔面积百分数则

有不同程度的减少。大豆总黄酮中、高剂量组的多数指标与骨松宝相比,也显著优于骨松宝。而且3个剂量组的胫骨骨密度明显高于模型组,与假手术相近,进一步证明了大豆总黄酮3个剂量组对骨质疏松的治疗有显著疗效且优于骨松宝;在3个剂量组中以中、高剂量组的疗效尤佳。

骨松宝阳性药组大鼠胫骨的骨密度较模型组升高,与假手术组相近;而干骺端骨小梁面积、骨小梁面积百分比仍处于模型组的水平;从胫骨皮质骨形态计量学参数看,皮质骨面积百分数较模型组显著增加、骨髓腔面积和骨髓腔面积百分数显著下降、内、外骨膜面的双荧光标记线间距等多项指标均较模型组有不同程度的增加,但尚未达到假手术组水平,说明此药对骨质疏松也有一定的疗效,但不如大豆总黄酮各剂量组的疗效好。

[参考文献]

- [1] 韦大文,尚立芝,李沛,等. 补肾方法治疗去势雌鼠骨质疏松及其机制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10):125.
- [2] 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.
- [3] 许碧莲,徐道华,陈文双,等. 小檗碱对糖皮质激素性骨质疏松大鼠松质骨和皮质骨的影响[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(7):965.
- [4] 毕红征,陈锡强,马莉. 益肾胶囊对糖尿病大鼠胰岛素、骨密度及骨生物力学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(2):49.

[责任编辑 聂淑琴]