

骨疏灵改善维甲酸诱导的骨质疏松症大鼠 骨质代谢作用的研究*

方朝晖¹, 刘 健¹, 章小平¹, 韩明向¹, 张有志², 夏东胜²

(1 安徽中医学院第一附属医院, 合肥 230031; 2 北京中医药大学, 北京 100029)

摘要: 目的: 观察以益气养阴活血为法组方的骨疏灵对维甲酸所致大鼠骨质疏松症的影响。方法: 采用维甲酸灌胃造成实验大鼠骨质疏松症的动物模型, 以骨疏灵进行治疗。结果: 骨疏灵低剂量组和高剂量组均能阻止骨质疏松症模型大鼠体重的降低, 升高血钙含量, 降低尿胶原吡啶交联 N 末端肽水平, 并能明显提高模型大鼠的骨密度。结论: 骨疏灵能明显防治维甲酸造成的骨质疏松症, 其机理可能与骨疏灵胶囊整体调节机体功能, 促进骨形成, 抑制骨吸收有关。

关键词: 骨质疏松症; 维甲酸; 骨质代谢; 骨疏灵

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)05-0040-03

以益气温阳活血为法组方的骨疏灵胶囊对老年性骨质疏松症具有一定的治疗作用^[1,2], 为进一步阐明其对骨质疏松症的作用机理, 我们选用目前公认的维甲酸诱导的实验性骨质疏松症大鼠动物模型进行分别反映骨形成和骨吸收的骨钙素(BGP)、尿胶原吡啶交联 N 末端肽(NTX)等相关指标的实验研究。

1 材料和方法

1.1 模型的制备 选用 18 月龄的雄性 Wistar 大白鼠 40 只, 体重在 180~220g 之间, 随机分为 4 组。即空白对照组, 骨质疏松症模型组, 骨疏灵治疗组和骨松宝治疗组, 各组动物均在 20℃ 环境中饲养十个月, 自由饮水, 摄食, 食料中的钙磷总量分别为 0.83% 和 0.80%。

1.2 给药剂量 空白对照组大鼠以 1% 羧甲基纤维素钠加蒸馏水 2ml 灌胃, 每天 1 次; 骨质疏松症模型组用维甲酸加入 1% 羧甲基

纤维素钠中配成 7% 的维甲酸混悬液 2ml 灌胃, 含生药约 1.58/kg/d, 相当于临床成人用量的 10 倍; 骨松宝治疗组用骨松宝颗粒(贵州富华药业有限责任公司生产, 批号黔卫药准字 1996 第 100079 号)水溶液混悬液 2ml 灌胃, 含生药约 15g/kg/d, 相当于临床成人用量的 10 倍。骨疏灵高剂量治疗组, 骨疏灵低剂量治疗组用骨疏灵胶囊(由黄芪、仙灵脾、独活、益母草等十余味中药组成, 本院制剂室生产)水溶液混悬液 2ml 灌胃, 分别含生药约 4.5g/kg/d 和 18g/kg/d, 相当于临床成人用量的 6 倍和 20 倍, 连用三个月。

2 观测指标

2.1 一般情况观察 在整个实验期间重点观察实验大鼠的饮食、活动度、毛色等情况, 于实验的第 0、7、14、21、28d 分别称取实验大鼠体重, 详细记录体重的变化。

2.2 骨密度观察 于给药 14d 后, 将各组大鼠麻醉, 用 Lunar 公司制造的双能 X 射线骨密度仪 DPX 型测定各组大鼠全身骨密度。

2.3 血清钙、磷含量测定 于实验中第 29d, 用乌拉坦麻醉大鼠, 采用颈动脉导管引流取血清备用, 分离出血清待测, 其中血钙测定采用甲基百里酚蓝(MTB)法, 血磷测定采

收稿日期: 2000-02-12

* 基金项目: 安徽省高等院校自然科学基金资助项目, No: 96JL0104

用钼酸法,试剂盒由北京中生生物工程技术有限公司提供,具体操作步骤按药盒说明书进行,用UV-120紫外/可见分光光度计比色测定。

2.4 血清骨钙素含量测定 血清骨钙素(BGP)测定采用酶联免疫学方法^[3]

2.5 尿中胶原吡啶交联N末端肽(NTX)

采用美国OXTEX公司ELISA试剂盒。批内与批间CV分别为2.2%和11.0%,线性范围为380pmol/ml, BCE为人骨胶原的相当物^[4]。肌酐测定也采用饱和苦味酸法。

3 结果

3.1 一般情况 于实验中观察到在给实验大鼠灌胃维甲酸4d后,即可出现饮食量的减

少,7d后饮食量更进一步减少,至14d时降至最低点,以后饮食量逐渐恢复,骨松宝、骨疏灵组大鼠饮食量也可见明显减少。模型组大鼠活动度明显减少,并出现拱背、竖毛、毛色枯槁等表现,并见2只大鼠分别于第14d、第20d出现跛行。体重结果见表1。可观察到维甲酸对大鼠体重的增加有明显的抑制作用,第28d时模型组体重明显低于正常组($P < 0.01$),而骨松宝、骨疏灵低剂量组和高剂量组能增加模型动物的体重($P < 0.01$),且骨疏灵组作用要明显优于骨松宝组($P < 0.05$)。

表1 对实验大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	0(天)	7(天)	14(天)	21(天)	28(天)
正常组	226±7	243±10	267±10	293±14	317±17**
模型组	233±8	241±12	243±12	258±12	262±17
骨松宝组	230±7	247±9	251±12	267±14	273±19
骨疏灵低剂量组	232±7	251±12	267±9	273±13	283±17**△
骨疏灵高剂量组	235±7	257±12	269±10	276±14	285±18**△

注:与模型组比较:* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$;与骨松宝组比较:△ $P < 0.05$ (下同)

3.2 对实验性骨质疏松症大鼠骨密度的影响 模型组骨密度较正常组明显降低($P < 0.05$),而骨疏灵低剂量组和高剂量组大鼠骨密度较模型组明显增高($P < 0.05 \sim 0.01$),骨疏灵组与骨松宝组相比无明显差异($P > 0.05$)。

表2 对实验性骨质疏松症大鼠骨密度的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	骨密度(g/cm^2)(10^{-4})
正常组	2551±632*
模型组	2420±683
骨松宝组	2553±667
骨疏灵低剂量组	2625±526**△
骨疏灵高剂量组	2687±600**△

3.3 对实验性骨质疏松症大鼠血清钙、磷、骨钙素、NTX含量的影响 模型组大鼠血清钙、磷含量与正常组比较无明显差异($P > 0.05$),骨松宝组对实验大鼠血清钙、磷浓度无

明显影响($P > 0.05$),而骨疏灵低剂量组和高剂量组血钙浓度均明显升高($P < 0.05$),但与正常组大鼠相比无明显差异,对血磷含量也无明显影响($P > 0.05$)。经治疗后,血骨钙素含量明显升高($P < 0.05$)。模型组NTX较正常组明显增高($P < 0.01$),而骨松宝组、骨疏灵组与模型组相比则明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)且骨疏灵组较骨松宝组也有明显降低($P < 0.05$)。

4 讨论

维甲酸是维生素A的一种衍生物,其副反应之一是对机体骨代谢具有较强的影响^[5],常引起骨质疏松症,将其应用于实验性骨质疏松症的研究,具有造模周期短,骨质疏松明确肯定,易于重复的特点^[6]。从本实验的结果来看,造模结束时,模型组骨密度较正常对照组明显下降($P < 0.01$),在实验过程中模型组有2只大鼠出现跛行,实验结束后取

材证实是自发性骨折所致,表明应用维甲酸后骨骼脆性增加,骨折危险度增高,提示用维

甲酸塑造骨质疏松症模型是可行的。

表 3 对骨质疏松症大鼠血清钙、磷、骨钙素、NTX 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组 别	血钙 (md/dl)	血磷 (mg/dl)	BGP ($\mu\text{g/L}$)	NTX (pmol/mlBCE)
正常组	10.03 \pm 0.24	8.34 \pm 1.17	4.43 \pm 1.38	27 \pm 4.2
模型组	10.47 \pm 0.25	8.54 \pm 1.20	3.50 \pm 1.42	45 \pm 4.7
骨松宝组	10.38 \pm 0.24	8.38 \pm 1.14	4.21 \pm 1.41*	39 \pm 3.1*
骨疏灵低剂量组	12.13 \pm 0.23*	8.43 \pm 1.24	4.16 \pm 1.43*	31 \pm 3.2** Δ
骨疏灵高剂量组	12.19 \pm 0.27*	8.51 \pm 1.23	4.31 \pm 1.43*	31 \pm 3.5** Δ

实验中观察到在灌服维甲酸后体重明显降低,骨疏灵低剂量组和高剂量组体重明显增加,且高于骨松宝组($P < 0.05$),虽然低于正常组,但差异不显著($P > 0.05$),表明骨疏灵可能具有抗维甲酸毒性的作用,并且以骨疏灵最佳,其对抗维甲酸的毒性作用可能与内含黄芪、仙灵脾、牛膝等药物可增强机体免疫力,提高抵抗力有关。

骨密度是目前用于骨质疏松症诊断、骨折危险度评价最重要、最客观的检测指标,它与骨强度密切相关,而骨强度是骨折敏感性的决定因素,可用于预测骨质疏松和骨折的危险性。实验结果表明:骨疏灵低剂量组和高剂量组均可提高骨密度,提示对维甲酸引起的实验性骨质疏松症均有明显的防治作用,其作用机理可能与骨疏灵整体调节机体功能,提高机体抵抗力,抑制骨吸收,促进骨形成有关。

骨质疏松症可导致血钙、血磷的波动。骨疏灵组能显著升高实验动物的血清钙浓度($P < 0.05$),提示骨疏灵能升高血钙,在机体补充钙源方面,具有吸收速度快,效果明显的特点。维甲酸、骨松宝、骨疏灵对机体血清磷的变化均无明显影响,这可能与机体细胞或骨组织对磷的需要比维持血磷更重要有关。

血 BGP 水平可反映骨组织转化率和全身骨骼的活性,不受肝脏等因素影响,是反映骨形成变化的可靠生化指标^[7]。尿中吡啶交联是反映骨吸收的特异指标,可采随意尿,不

受饮食影响,采用 I 型胶原交联 N 末端肽的水平比测定尿羟脯氨酸更特异、敏感,故常应用 NTX 早期监测骨丢失^[4]。

骨疏灵低剂量和高剂量对骨质疏松症动物骨质代谢间无明显差异,说明骨疏灵高剂量不会影响骨质疏松症动物骨质代谢,且骨疏灵低剂量已能明显地抑制维甲酸引起的过度骨吸收,从而防止实验性骨质疏松症的发生,有助于骨质疏松的早期预防和治疗。

参考文献:

- [1] 方朝晖,刘健,章小平,等. 骨疏灵对治疗老年性骨质疏松症 60 例临床观察[J]. 中国医药学报, 1999, 14(6): 30~ 32.
- [2] 方朝晖,吴劲松,陈晓文,等. 骨疏灵对 D-半乳糖所致亚急性衰老模型影响的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1999, 5(4): 27~ 29.
- [3] 褚为靖,张海文,薛延等. 人血清骨钙素 ELISA 测定法及临床应用[J]. 天津医药, 1996, 24(5): 270~ 272.
- [4] 薛延,贾维维,张海文,等. 反映骨吸收的特异指标——尿胶原吡啶交联 N 末端肽[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1996, 97~ 99.
- [5] 邵金莺,许哲,邵延斌,等. 龙牡壮骨药对大鼠实验性骨质疏松影响[J]. 中药药理与临床, 1989, 5(4): 25~ 27.
- [6] 吴波. 维 A 酸致大鼠骨质疏松模型与机理研究[J]. 药物学报, 1996, 31(4): 316~ 319.
- [7] 刘忠厚. 骨质疏松症[M]. 北京:北京化学工业出版社, 1992. 214~ 217.