

# 更年期平调冲剂治疗骨质疏松症的药理实验 和临床初步研究

程化奇 夏振信 殷新猷

**摘要 目的** 探索更年期平调冲剂治疗骨质疏松症的机理。**方法** 选用10~15月龄雌性SD大鼠去势,随机分为模型组、更年期平调冲剂大、中、小剂量组,更年期安组,己烯雌酚组,青年对照组。检测性激素、尿钙、血钙、血磷、骨钙素含量,骨密度、骨小梁计数等。**结果** 更年期平调冲剂可明显提高 $E_2$ 水平,降低FSH、LH水平,提高血钙,大剂量组可使骨钙素提高,改善骨密度,髓质密度,改善骨组织形态使骨小梁个数增多,提示有良好的治疗骨质疏松症的作用,其作用与己烯雌酚相似。对30例骨质疏松患者进行了治疗前后血清钙、骨矿含量、骨密度测定,30例均为绝经患者,结果在治疗后,血中 $E_2$ 明显升高( $P < 0.01$ );对桡、尺骨宽、骨矿含量、骨密度值有明显提高( $P < 0.01$ )。**结论** 本研究初步证明更年期平调冲剂具有性激素样作用,可调节垂体-下丘脑-性腺轴功能,长期服用对子宫内膜无增生作用。

**关键词** 更年期平调冲剂 性激素 骨质疏松 骨密度

## Pharmacodynamic experiment and preliminary clinical study of Geng nian Pingtiao Granules on osteoporosis

Cheng Huaqi, Xia Zhenxin, Yin Xinyou

Second Hospital of Hubei Medical University, Wuhan 430071, China

**Abstract Objective** To study the mechanism of Gengnian Pingtiao Granules on osteoporosis. **Method** Selected female rats aged 10—15 months were divided into model group, large middle, small dose Gengnian Pingtiao groups, tibestrol group, Gengnian-an group and young control group. The effect of Gengnian Pingtiao Granules was observed by testing female sex hormone, blood calcium, blood phosphorus, BGP, bone density and bone trabeculae count. **Result** Gengnian Pingtiao Granules could raise markedly levels of serum  $E_2$ , lower levels of FSH, LH, improve blood calcium; large dose could increase BGP, improve bone density and bone tissue morphology and increase number of bone trabeculae. It suggested that Gengnian Pingtiao Granules had satisfactory effect of prevention and cure of osteoporosis. Its effect was similar to tibestrol. In 30 patients with osteoporosis before and after their treatment serum calcium, bone mineral content and bone density were measured. All the 30 patients with osteoporosis were post menopausal. After their treatment level of serum  $E_2$  was increased significantly ( $P < 0.01$ ). Width of radius, ulna, bone mineral content and bone density ( $P < 0.01$ ) were improved significantly. **Conclusion** The study preliminarily demonstrated that Gengnian Pingtiao Granules had effect of sex hormone, could regulate functions of pituitary, hypothalamus and axis of sex gland. Long-term oral administration of Gengnian Pingtiao Granules did not result in endometrial hyperplasia.

**Key words** Gengnian Pingtiao Granules Sex hormone Osteoporosis Bone density

本课题受湖北省科委重点攻关项目基金资助

作者单位:430071 武汉,湖北医科大学附属二院中医科

骨质疏松症患者随人寿命延长日益增多,发达国家已称为流行病,据我国部分城市调查绝经女性约有40%~50%左右存在骨量减少,老年骨质疏松症发病率日益增高,特别是绝经后妇女其患病率高达25%以上,其中骨折发生率约为33%,骨质疏松造成骨折不仅是医学问题,而且也给家庭和社会带来巨大负担,雌激素替代已证明可有效的防治绝经后骨质疏松症的发生,但因可引起子宫内膜增殖存在致癌的作用,我们本着“肾主骨”的理论,组成更年期平调冲剂,观察其对骨质疏松症的治疗作用,并进行了药用机理的探讨,现将结果报道如下。

## 1 药理机理的实验研究

**1.1 试剂与材料:**己烯雌酚片系广州侨光制药厂产品,批号920103,更年期安片系天津药仁堂生产,批号930550,更年期平调冲剂由我院药剂科按要求配制;磷试剂由上海长征生物科技公司提供,批号50589;钙试剂由波音特生物科技有限公司提供,批号5166;骨钙素由中国人民解放军总医院长城生物有限公司提供,批号960105,其余试剂均为国产优级纯或分析纯。

**1.2 动物来源及模型制作:**取11~15月龄雌性SD大鼠60只,体重280~350g,由湖北医科大学实验动物中心提供,按去势取双侧卵巢,结扎、缝合,术后两周后进行试验,卵巢均经病理检查证实。另取11~15月龄SD大鼠37只,体重260~350g,以自然更年期模型<sup>[1]</sup>,观察子宫动情周期、卵巢、子宫形态改变。

### 1.3 动物分组处理

模型组(A):给予生理盐水灌胃,20ml/kg

体重,每日一次,连续8周。青年对照组(B):处理同模型组。更年期平调冲剂大剂量组(C):给予225%(W/V),更年期平调冲剂灌胃20ml/kg体重,每日一次,连续8周。更年期平调冲剂中剂量组(D):以150%(W/V),更年期平调冲剂灌胃,20ml/kg体重,处理同大剂量组。更年期平调冲剂小剂量组(E):以75%(W/V),更年期平调冲剂20ml/kg灌胃,方法同上。更年期安组(F):以更年期安溶于水,制成3%浓度,用法同模型组。己烯雌酚组(G):以己烯雌酚溶于水,制成12.5μg/ml,用法同模型组。

### 1.4 观察指标及方法

尿钙测定以磷甲酚肽络合酮比色法。血钙、磷测定以磷甲酚肽络合酮法测血钙含量,亚铁磷钼酸法测血磷含量。骨钙素测定为放射免疫法。骨密度、皮质密度、髓质密度测定为摄取大白鼠右侧股骨X光片,图象分析仪对所摄图片进行分析,分别测定骨、皮质和髓质密度。骨钙含量测定,取右侧股骨,以氯仿-甲醇混合脱脂,置120℃烘箱中干燥6小时测干重,然后置高温炉(800℃)灰化6小时后称灰重,将灰粉溶于6mol/L盐酸中,以间接滴定法测骨钙含量。病理组织学检查,将股骨置于10%甲醛固定48小时,切片,HE染色,对股骨端股骨颈周围视野(共计5个视野)骨小梁个数计数(即每两个接合点之间为一个骨小梁)。子宫卵巢病理组织学检查,HE染色。性激素测定,放射免疫法。

### 1.5 结果

更年期平调冲剂对大鼠尿钙、血钙、磷及骨钙素等的影响见表1。

表1 更年期平调冲剂对尿钙、血钙、磷及骨钙素测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	尿钙(mmol/L)	血钙(mmol/L)	血磷(mmol/L)	骨钙素
模型组	8	23.7±10.0	1.87±0.41	1.36±0.17	2.14±0.71
青年组	7	—	2.16±0.16*	1.35±0.31	2.26±0.68
大剂量	8	19.7±6.9	2.29±0.16**	1.65±0.32	3.24±0.71**
中剂量	5	22.9±6.8	2.45±0.09*	1.53±0.24	2.66±1.20
小剂量	8	21.5±7.6	2.05±0.01*	1.53±0.24	2.26±0.54
更年期安	7	21.1±4.8	2.08±0.13*	1.69±0.49	2.46±1.10
己烯雌酚	6	22.6±4.9	2.27±0.27**	1.68±0.19	2.36±0.40

注:与模型组比 \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

更年平调冲剂对大鼠骨密度参数的影响见表2。

更年平调冲剂对大鼠骨钙含量、骨小梁测定的结果见表3。

更年平调冲剂对性激素的作用见表4。

更年平调冲剂对动情周期的作用见表5。

更年平调冲剂对子宫、卵巢病理组织学的改变如下。

表2 更年平调冲剂对骨密度、皮质密度、髓质密度测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	骨密度	皮质密度	髓质密度
模型组	8	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.33 ± 0.03
青年组	7	0.41 ± 0.02**	0.42 ± 0.04**	0.40 ± 0.03**
大剂量	8	0.37 ± 0.03*	0.38 ± 0.02	0.37 ± 0.03**
中剂量	7	0.36 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.36 ± 0.03*
小剂量	8	0.36 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.35 ± 0.03
更年安	7	0.36 ± 0.03	0.37 ± 0.04	0.35 ± 0.03
己烯雌酚	6	0.37 ± 0.04*	0.38 ± 0.04	0.36 ± 0.03*

注:与模型组比 \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

表3 更年平调冲剂对大鼠骨钙含量、骨小梁测定的结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	骨钙含量	骨小梁个数
模型组	8	0.29 ± 0.04	9.3 ± 0.28
青年组	7	0.35 ± 0.07**	19.97 ± 0.67**
大剂量组	8	0.33 ± 0.03*	11.7 ± 0.10*
中剂量组	7	0.35 ± 0.03**	10.8 ± 1.02*
小剂量组	8	0.33 ± 0.01*	9.5 ± 1.03
更年安组	7	0.34 ± 0.05*	9.6 ± 0.78
己烯雌酚	6	0.35 ± 0.02**	11.1 ± 1.14*

注:与模型组比 \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

光镜下见青年组卵巢有各级卵泡(原始、初级、次级、成熟及闭锁卵泡),并有较多黄体细胞,自然更年期模型组闭锁卵泡及间质腺体增多,黄体细胞团减少;更年平调冲剂各剂量组见有各级卵泡,闭锁卵泡呈不同程度减少,黄体细胞聚集成团,与己烯雌酚相似。

表4 更年平调冲剂对性激素的作用

组别	$E_2$ (pg/ml)	LH(mIU/ml)	FSH(mIU/ml)
去势模型组	40.2 ± 21.7	1.59 ± 0.82	3.50 ± 1.39
更年组 小	60.8 ± 43.9	2.58 ± 0.86*	1.50 ± 0.78**
中	383.8 ± 270.9**	1.24 ± 0.75	1.06 ± 0.55**
大	126.4 ± 80.1**	0.71 ± 0.59*	2.02 ± 1.04*
己烯雌酚	520.3 ± 346.6**	1.60 ± 0.95	0.56 ± 0.60**
更年安	29.8 ± 26.5	2.88 ± 0.89**	2.10 ± 1.56

注:与去势模型组比 \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

光镜下见自然更年期模型组子宫内膜上皮细胞呈柱状或高柱状,单层无明显增生,未见乳头状生长,腺体稀少、间质纤维化明显,更年平调冲剂(大、中、小)剂量组、子宫内膜上皮细胞呈柱状或高柱状、单层、未见增生及乳头生长,腺体数目较多,间质纤维化减轻,均未见子宫内膜增生。

表5 更年平调冲剂对动情周期的影响

组别	动物数	动情周期数		有效率(10%)
		有	无	
自然更年期对照组	0	2	6	25
更年安组	6	5	1	83
更年平调冲剂组 小	7	5	2	71
中	9	7	2	78
大	7	5	2	71

## 2 临床观察

2.1 一般资料:从我科门诊和住院病人中选择了原发性骨质疏松症患者30例,年龄49~70岁,平均为52.6岁。

2.2 诊断标准:根据1991年第一届全国研讨会提供的资料<sup>[2]</sup>,所有患者均已经绝经,其中绝经

2年有5例,2~4年12例,4年以上13例,所有患者有不同程度四肢关节痛,腰背痛,或弥漫性骨压痛;受试者均有  $E_2$  水平低于正常;所有患者均进行骨密度测定,骨矿含量(BMC)和骨密度值(BMD)均低于正常。全部病例均经临床筛选排除其他主要脏器病变。

**2.3 药物及治疗方法:** 更年平调液由枸杞、淡大云、尤齿等12味中药组成,每日一剂,连服6周,所有患者均于治疗前后检测性激素,血清钙、骨矿含量、骨密度测定。

**2.4 检测方法分为激素测定:** 采用放射免疫法,药盒由北方试剂研究所提供;骨密度测定:用国产单光子骨密度仪检测前臂1/3处的桡、尺骨宽(BW)、骨矿含量(BMC)、骨密度(BMD)。

### 2.5 结果

疗效评定标准分为显效:临床症状完全消失,骨密度比值升高50%;有效:临床症状基本消失,骨密度比原值略升高;无效:临床症状无改善,骨密度测定无改变。

症状疗效:30例患者治疗前后自身对照,显效17例(56.7%),有效11例(36.6%),无效2例(7%),总有效率93.3%。

治疗前后血性激素测定见表6。

表6 治疗前后血  $E_2$ 、FSH、LH 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

时间	$E_2$ (pg/ml)	LH(mIU/ml)	FSH(mIU/ml)
治疗前	54.76±22.01	47.44±21.36	54.63±25.04
治疗后	72.35±1.52	30.75±12.39	31.32±18.36

注:治疗前后对比  $P < 0.01$

治疗前后血清钙、磷的变化见表7。

表7 治疗前后血清 Ca、P 值比较( $\bar{x} \pm s$ )

时间	Ca(mmol/L)	P(mmol/L)
治疗前	2.24±0.02900	1.09±0.0949
治疗后	2.29±0.01091	1.10±0.0871

注:与治疗前相比  $P$  均  $> 0.05$ ; 各组例数均为30

治疗前后骨宽、骨矿含量、骨密度测定见表8。

表8 治疗前后桡、尺骨密度比较( $\bar{x} \pm s$ )

时间	桡骨(g/cm <sup>2</sup> )	尺骨(g/cm <sup>2</sup> )
治疗前	0.579±0.028	0.577±0.022
治疗后	0.627±0.032	0.694±0.018

注:与治疗前相比,各组  $P$  均  $< 0.01$

### 3 讨论

骨质疏松症属中医“肾虚骨萎”、“肾虚腰痛”等。中医认为“肾主骨、生髓”,运用补肾中药组方治疗骨质疏松症为国内研究的热点。我科研制的更年平调冲剂,具有补肝肾填精补髓的作用,历经10多年临床及实验研究具有良好的防治更年期综合症及骨质疏松症的作用,现将结果分析如下。

本实验可见,更年鼠未见各级卵泡细胞,而更年平调冲剂(大、中、小剂量组)及己烯雌酚组,均可见黄体细胞团及各级卵泡。临床及实验可见本制剂能使  $E_2$  水平提高,其作用优于更年安与己烯雌酚相似。故本研究证实更年平调冲剂能提高性激素水平,改善卵巢功能。关于性激素与骨代谢的关系已引起人们的重视,Eriken<sup>[3]</sup>发现成骨细胞上存在雌激素受体。有人认为雌激素、降钙素,活性维生素D的代谢,导致破骨细胞活性增强,骨吸收增多,骨形成减少。本研究可见绝经后骨质疏松症患者由于血雌激素水平降低,桡骨骨矿含量显著降低;并可见更年鼠骨钙含量明显地降低,此结果与多数学者报告一致,但运用更年平调冲剂治疗后均能明显提高骨钙含量。

骨钙素测定是判断骨质疏松患者骨形成的首选非损伤性方法<sup>[4]</sup>,骨钙素水平主要反映骨细胞活性,直接反映骨钙和骨转换率,本实验可见,大剂量组与模型组比能使骨钙素明显增高,说明本制剂能促进骨组织形成。

股骨 X 光图像分析能反映骨丢失情况,本实验可见与模型组比大中剂量组髓质密度均有统计学差异,表明本制剂延缓更年期妇女骨丢失,促进钙盐沉着。

骨小梁组织学显示,更年鼠与青年鼠比骨皮质变薄,骨小梁变细、萎缩,甚至较大区域骨小梁消失,周围覆盖的类骨质减少,髓腔明显扩大而大中剂量组骨皮质较厚,骨小梁变粗,骨皮质周围覆盖的类骨质活跃,股骨颈周围骨小梁计数显示与模型组比,大中剂量、己烯雌酚组有显著性差异。本制剂能明显改善骨组织形态学。

本研究已证实更年平调冲剂具有性激素样作用,可多层次调节垂体-下丘脑-性腺轴,调节神经内分泌系统,改善卵巢的形态功能,提高雌激素水平,能有效地增加前臂桡骨远端骨量,能提高骨钙素,促进骨组织形成,改善骨组织形态学,增加骨钙含量,增加骨密度。本方能恢复失

骨,维持骨量,故能防治骨质疏松的发生,实验证明更年平调冲剂对子宫内膜无增生作用。

### 参 考 文 献

- 1 程化奇,熊舜华,殷新猷.大鼠更年期实验模型研究.上海实验动物科学,1993,13(4):192-196.
- 2 刘忠厚.骨质疏松症的诊断、预防及治疗.中国中西医结合杂志,1996,16(5):263.
- 3 Eriken EF. Osteoporosis; pathophysiology, prevention, diagnosis, and treatment. J Bone Miner Res, 1987, 107; 923.
- 4 Brown JP, Serum bone Gla protein; a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. Lancet, 1984,19,1091.

(上接第76页)

密钙息注射液系人工合成的鲑鱼降钙素制剂,通过抑制破骨细胞活性、抑制溶骨和刺激成骨细胞形成、增加活性等机制,对骨质疏松性骨折有明显的止痛、固钙作用。我们采用小剂量间歇注射疗法治疗骨质疏松性骨折,平均用药8.8次,临床观察证明确有显著缓解骨痛和增加骨

密度的作用。表明密钙息是治疗骨质疏松性骨折的安全有效药物。

### 参 考 文 献

- 1 刘忠厚.骨质疏松学.北京:科学出版社,1998. 160.
- 2 徐济民.临床实用新药手册.上海:上海科技出版社,1996. 511.

(上接第12页)

- 5 Sato M, Grosser W. Effects of bisphosphonates on isolated rat osteoclasts as examined by reflected light microscopy. J Bone Miner Res, 1990, 5; 31.
- 6 Sahni M, Guenther HL, Fleisch H, et al. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the medication of osteoblasts. J Clin Invest, 1993, 91; 2004.
- 7 Evans. C E, Bradman IP. Effects of two novel bisphosphonates on bone cells *in vitro*. Bone Miner, 1994, 38; 822-825.
- 8 Hughes DE, MacDonald BR, Russell RGG, et al. Inhibition

- of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. J Clin Invest, 1989, 83; 1930.
- 9 Nishikawa M, Akatsu T, Katayama Y, et al. Bisphosphonates act on osteoblastic cells and inhibit osteoclast formation in mouse marrow cultures. Bone, 1996, 18; 9.
- 10 Hughes DE, Wright K, Sasaki A, et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts *in vitro* and *in vivo*. J Bone Miner Res, 1995, 10(10), 1478.