

补肾中药对骨质疏松大鼠性激素影响的实验研究

邵敏 刘庆思 庄洪 赵静



摘要 目的 探讨补肾中药骨康对去势所造成骨质疏松大鼠性激素及骨密度的影响及性激素水平在骨质疏松发病中的作用。**方法** 通过切除大鼠睾丸和卵巢造成骨质疏松模型,观察中药骨康不同剂量对骨质疏松大鼠血睾酮(T)、血清雌二醇(E₂)、BMD和BMC的影响,并与特乐定、尼尔雌醇作阳性对照。**结果** 中药骨康高、中剂量防治的去势大鼠T含量高于模型组(P<0.05和0.01),高、中、低剂量组的E₂、全身及左、右股骨BMD、BMC高于模型组(P<0.05)。**结论** 骨康能提高去势大鼠血性激素含量、骨的骨矿含量及骨密度,其提高骨矿含量及骨密度的作用可能与其提高性激素水平有关。

关键词 骨质疏松症 去势大鼠 中医药疗法 性激素 骨密度

An experimental study of Gukang for osteoporosis in ovariectomized rats

Shao Min, Liu Qingsi, Zhuang Hong, et al.

Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

Abstract Objective To evaluate anti-osteoporotic effect of Gukang oral liquid (GOL) on ovariectomized rats. **Methods** One hundred twenty rats were allocated to two groups according to its sex and then each group was randomly divided into six groups; normal control group, model group, three Gukang groups (with high, moderate and low dosages, respectively) and positive group. **Results** Serum testosterone (T) levels were higher in GOL groups with moderate and high dosages than that in model group (P<0.01). Serum estradiol (E₂), bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) were higher in all GOL groups than that in model group (P<0.05-0.01). **Conclusion** GOL can promote the BMD and BMC in rats with osteoporosis. The improvement of BMD and BMC might be related to the level of sex hormones.

Key words Osteoporosis Ovariectomized rats Traditional Chinese medical therapy Sex hormones Bone mineral density

本课题为中国和澳大利亚政府间科技合作项目(C组第12项)

作者单位:510405 广州,广州中医药大学

作者简介:邵敏,男,1972年10月出生,1995年毕业于北京针灸骨伤学院。现在广州中医药大学攻读骨伤科专业博士学位,导师为刘庆思教授,目前主要从事中药防治骨质疏松症的机理研究及骨质疏松症生存质量的研究。已发表与骨质疏松有关论文6篇。

性激素水平的下降是骨质疏松症的重要发病原因之一,韩瑞平等^[1]研究发现,正常中老年人骨矿物质丢失程度与血清性激素含量呈负相关。有研究报道补肾类中药能提高大鼠性激素水平^[2]。为探讨性激素在骨质疏松发病中的作用及中药对其影响,本试验采用切除大鼠卵巢

和睾丸造成骨质疏松模型,旨在观察去势大鼠血清性激素水平的变化,并探讨中药骨康防治骨质疏松症的作用机理与性激素间关系。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药物:骨康口服液由广州中医药大学附属骨伤科医院制剂室提供。尼尔雌醇由上海华联制药有限公司提供,批号:961001,尼尔雌醇为国产长效口服雌三醇衍生物,有文献证明每周每 100 g 体重 0.15 mg 可防止卵巢切除大鼠的骨丢失^[3]。特乐定(Tridin)由意大利 Rotta 药厂提供,批号:970224,该药用于治疗骨质疏松症已载入欧洲各国药典。戊巴比妥钠由佛山市化工厂提供,批号:860001。

1.1.2 动物:选用 10 月龄 SD 大鼠 120 只,体重 270~300 g,雌雄各半,由广州中医药大学实验动物中心提供。

1.2 实验方法

1.2.1 造模方法:将 120 只实验动物分为两组,所有雄性大鼠分在第一组,雌性大鼠分在第二组,第一组又随机分为 A1、B1、C1、D1、E1、F1 6 组,第二组亦随机分为 A2、B2、C2、D2、E2、F2 6 组,每组 10 只,A1、A2 为正常对照组、B1、B2 为模型组,C1、C2 组为阳性对照组,D1 和 D2、E1 和 E2、F1 和 F2 分别为骨康高、中、低剂量组。各组大鼠均以 3% 戊巴比妥钠按 1 ml/kg 腹腔注射麻醉后,A1 及 A2 组行假手术,其余各组雌性大鼠均从背侧入路行完整双侧卵巢摘除术,雄性大鼠从腹侧入路行完整双侧睾丸摘除术。

1.2.2 饲养及给药途径:术后第 3 天开始给药,正常对照组、模型组每天以蒸馏水 6 ml/kg 灌胃,骨康高、中、低剂量组每天分别给予高、中、低剂量骨康口服液 6 ml/kg 灌胃,浓度分别为每 ml 含生药 6.6 g、3.3 g、1.65 g,C1 组每天给予特乐定 60 mg/kg 灌胃,使用前配成混悬液,C2 组给予尼尔雌醇 6 mg/kg 灌胃,浓度为 0.2 ml/kg,1 次/周,其余时间给予蒸馏水 6

ml/kg 灌胃。所有大鼠均在同等条件下喂养,自由摄水,控制食量。所有大鼠均灌药 3 个月。

1.2.3 观察指标:各组大鼠在实验前及灌胃 3 个月后,分别眼球抽血,分离血清,同批放射免疫分析法测定血睾酮和血雌二醇含量,测量仪器为 BECKMAN DP5500 型 γ 计数器,T、E₂ 放免疫试盒由天津 DPC 公司提供。

各组大鼠于处死前 2 天用美国 HOLOGIC 公司 QDR-2000 型双能 X 线吸收仪[变异系数(CV)<1.0%]扫描全身骨矿含量及骨密度,并分别取右、左股骨下端两个敏感点的数值。

1.3 统计学处理

所有数据均输入计算机,采用 PEMS 软件进行分析,组间比较用方差分析,显著性差异用 *t* 检验。

2 结果

2.1 对去睾丸大鼠血睾酮含量的影响:各组雄性大鼠去睾丸前血睾酮含量无显著性差异($P > 0.05$),去睾丸后 3 个月,中药骨康高、中剂量防治组大鼠血睾酮含量明显高于模型组,差异有显著性($P < 0.01$),见表 1。

表 1 骨康对去睾丸大鼠血睾酮(T)含量的影响
($\bar{x} \pm s$)(ng/ml)

组别	手术前	给药 3 个月
A1(10)	3.20 ± 1.12	3.49 ± 1.13**
B1(10)	3.26 ± 0.83	0.19 ± 0.11**
C1(10)	3.25 ± 0.65	0.30 ± 0.19**
D1(10)	3.03 ± 1.11	0.67 ± 0.49***
E1(10)	3.33 ± 0.67	0.44 ± 0.24***
F1(10)	3.01 ± 0.85	0.28 ± 0.19**
方差分析	$P > 0.05$	$P < 0.01$

2.2 对去卵巢大鼠血雌二醇含量的影响:各组雌性大鼠去卵巢前血雌二醇含量无显著性差异($P > 0.05$),去卵巢后 3 个月,中药骨康高、中、低剂量防治组及尼尔雌醇防治组大鼠血雌二醇含量明显高于模型组,差异有显著性($P < 0.05$),见表 2。

2.3 对去卵巢大鼠骨密度及骨矿含量的影响:

服用各剂量骨康口服液防治组及尼尔雌醇防治组的去势大鼠全身及左右股骨下端骨密度均高于模型组,差异有显著性($P < 0.05 \sim 0.01$),见表3;服用各剂量骨康口服液防治组及尼尔雌醇防治组的去势大鼠全身及左右股骨下端骨矿含量均高于模型组,差异有显著性($P < 0.05 \sim 0.01$),见表4。

2.4 对去势大鼠骨密度及骨矿含量的影响:服用各剂量骨康口服液防治组及特乐定防治组的去势大鼠全身及左右股骨下端骨密度均高于模型组,差异有显著性($P < 0.05 \sim 0.01$),见表5;服用各剂量骨康口服液防治组及特乐定

防治组的去势大鼠全身及左右股骨下端骨矿含量均高于模型组,差异有显著性($P < 0.05 \sim 0.01$),见表6。

表2 骨康对去卵巢大鼠血清雌二醇含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)(pg/ml)

组别	手术前	给药3个月
A2(10)	14.57±3.99	28.86±7.85**
B2(10)	14.23±3.46	7.78±2.28**
C2(10)	15.63±2.04	16.12±2.39*
D2(10)	15.17±1.91	20.31±2.96*
E2(10)	14.07±4.12	18.68±2.59*
F2(10)	14.74±3.23	15.77±3.57*
方差分析	$P > 0.05$	$P < 0.01$

表3 骨康对去卵巢大鼠 BMD 变化的影响(灌胃3个月时)($\bar{x} \pm s$)

组别	global	右股骨下端	左股骨下端
A2(10)	0.1316±0.0053**	0.1828±0.0276**	0.1956±0.0142**
B2(10)	0.1200±0.0045**	0.1329±0.0079**	0.1438±0.0096**
C2(10)	0.1251±0.0051**	0.1702±0.0175**	0.1764±0.0179**
D2(10)	0.1314±0.0022**	0.1629±0.0191**	0.1770±0.0165**
E2(10)	0.1294±0.0049**	0.1572±0.0169*	0.1763±0.0113**
F2(10)	0.1289±0.0054**	0.1570±0.0150*	0.1697±0.0163**
方差分析	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

表4 骨康对去卵巢大鼠 BMC 变化的影响(灌胃3个月时)($\bar{x} \pm s$)

组别	global	右股骨下端	左股骨下端
A2(10)	9.0156±0.4147**	0.0682±0.0078**	0.0723±0.0067**
B2(10)	7.3655±0.6638**	0.0514±0.0043**	0.0563±0.0039**
C2(10)	8.3943±0.8107**	0.0654±0.0063**	0.0646±0.0065**
D2(10)	9.0773±0.9950**	0.0646±0.0092**	0.0687±0.0079**
E2(10)	8.6034±0.5385**	0.0641±0.0082**	0.0686±0.0055**
F2(10)	8.3523±0.9195**	0.0615±0.0057**	0.0629±0.0082**
方差分析	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

表5 骨康对去势大鼠 BMD 变化的影响(灌胃3个月时)($\bar{x} \pm s$)

组别	global	右股骨下端	左股骨下端
A1(10)	0.1417±0.0046**	0.1932±0.0076**	0.1956±0.0101**
B1(10)	0.1301±0.0055**	0.1437±0.0078**	0.1537±0.0086**
C1(10)	0.1354±0.0049**	0.1801±0.0100**	0.1869±0.0079**
D1(10)	0.1415±0.0042**	0.1749±0.0091**	0.1873±0.0065**
E1(10)	0.1395±0.0046**	0.1674±0.0109*	0.1864±0.0102**
F1(10)	0.1388±0.0055**	0.1671±0.0070*	0.1799±0.0089**
方差分析	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

表6 骨康对去势大鼠BMC变化的影响(灌胃3个月时)($\bar{x} \pm s$)

组别	global	右股骨下端	左股骨下端
A1(10)	10.1156±0.4248**	0.0793±0.0068**	0.0834±0.0077**
B1(10)	8.4659±0.5638##	0.0613±0.0056##	0.0642±0.0044##
C1(10)	9.4956±0.8107**	0.0765±0.0059**	0.0755±0.0056**
D1(10)	10.1766±0.9950**	0.0757±0.0082**	0.0798±0.0065**
E1(10)	9.7035±0.5386**	0.0749±0.0091**	0.0791±0.0054**
F1(10)	9.4532±0.9195**	0.0726±0.0067**	0.0732±0.0074**
方差分析	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

注:以上各组与模型组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

与正常组比较# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3 讨论

早在1941年Albright就提出绝经后性激素水平下降与骨质疏松发病有关。国内文献报道绝经后妇女BMD与雌激素水平呈正相关^[4],即雌激素水平能够反映骨密度的高低。雌激素是蛋白同化激素,老年男性因雄激素不足,蛋白质减少,骨胶原排列有序性明显降低,致使骨矿物质不能有机地沉积于胶原间^[5],亦是产生骨质疏松的重要原因。我们根据这一现象,选用10月龄雌、雄性大鼠,此时大鼠处于中年后期,再采用手术摘除双侧卵巢和睾丸,这样所造成的大鼠骨质疏松模型较符合中医肾虚的发病过程与现代医学对原发性骨质疏松症的认识。本实验模型组在去势后3个月,全身及左、右侧股骨骨密度、骨矿含量与正常组比较明显降低($P < 0.01 \sim 0.05$),表明大鼠骨质疏松模型已经成功,而模型组雌性大鼠血雌二醇和雄性大鼠血睾酮含量较正常组明显降低($P < 0.01$),进一步说明大鼠已出现肾虚骨衰征象,与临床所见绝经后骨质疏松和老年男性骨质疏松有相似之处。

祖国医学无骨质疏松这一名词,但从其症状来看与“骨痿”极为相似,中医认为“肾主骨,生髓”,以“肾主骨”理论为指导来治疗本病,中医关于“女七男八”的论述中所及“天癸”与现代医学对激素的描述及作用很是相似。中药骨康即以肾主骨理论为依据,并根据老年病多虚多瘀的特点而组方。全方以淫羊藿、补骨脂补肾壮

骨为君,黄芪等健脾益气为臣,丹参等活血通络为使而组成。研究证明,本方中淫羊藿等补肾类药物亦有提高性激素的作用。从本实验结果显示,使用骨康防治的各组大鼠,全身及左、右侧股骨骨密度和骨矿含量等项指标明显高于模型组,差异显著,表明中药骨康可明显抑制去势大鼠造成的骨质丢失,提高去势大鼠的骨密度和骨矿含量。Stepan等^[6]对12例行双侧睾丸切除的患者作长期随访,发现术后腰椎骨密度随时间的延长而呈进行性减低。动物研究的结果证实^[7],雄激素能够刺激骨形成增加,而雌激素替代疗法防治骨质疏松症已得到全世界的公认。中药骨康防治组血雌二醇和血睾酮含量明显高于模型组($P < 0.01$),说明中药骨康防治骨质疏松的机理很可能与其提高血性激素含量有关。

骨量的降低及其内部结构的变化,影响着骨的抗折能力,这是骨骼发生骨折的内在原因。骨质疏松时,骨密度明显降低,其最初表现在松质骨骨量减少,随后皮质骨骨量减少,皮质骨变薄,骨髓腔增大,骨总量的减少使骨的强度和刚度减弱,导致骨抵抗外力作用的能力下降。骨密度能够反映骨的强度和韧性,本实验显示模型组大鼠性激素水平低于正常组($P < 0.05 \sim 0.01$),说明性激素水平的降低是骨质疏松症发病的重要原因之一,同时使用中药骨康防治的去势大鼠,血雌二醇和血睾酮含量、骨密度和骨矿含量明显优于模型组,提示中药骨康能够提

(下转第75页)

经八脉,因滋腻胶粘,恐有腻膈碍胃之弊,故应审时度势,适度加以芳香悦脾,开胃消食之品,冀利除弊。

绝经后骨质疏松症关键在于预防:一要调养精神,做到“恬淡虚无,真气从之,精神内守,病安从来”。二要饮食合理,除做到饮食有节外,应食用易消化,清淡而富有营养食品外,特别注意荤素搭配,科学烹制食品,营养须靠源源不断的摄入,宜多补含钙类食品,如黄豆、牛奶、鱼虾等。三要增加光照,多晒太阳以增强自身的维生

素D,有利于钙的吸收,共助骨质的生成。四要保持良好的生活习惯,注意劳逸结合,生活要规律化,避免过度劳累,避免寒湿劳损,保持适度的性生活,切勿房事过度,以免耗伤肾精。一定要戒除烟酒、咖啡与茶亦不可过量。五要慎用、少用或不用导致骨质疏松症的药物,必须应用时,一定要在医师指导下,进行正确合理用药。六要适度参加体育锻炼,如散步、慢跑、体操、太极拳,但要避免剧烈运动,防止发生跌倒,或发生骨折。

(上接第26页)

高骨质疏松大鼠的骨矿含量及骨密度,而且中药提高骨密度和骨矿含量的作用很可能与其提高性激素水平有关。至于中药通过何种途径提高去势大鼠的性激素水平,还有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 韩瑞平,高玉成.中老年人性激素与骨密度关系初步探讨.中国骨质疏松杂志,1995,1(2):126.
- 2 廖柏松,胡燕,魏躬,二仙汤对18月龄雌性大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴功能的调节.山东中医学院学报,1996,20:396-398.

- 3 刘宏伟,杨式之,徐克慧.尼尔雌醇预防大鼠卵巢切除后骨质疏松.华西医科大学报,1993,24,40-44.
- 4 陈莉,杨池.105例绝经后妇女骨代谢改变及其与性激素的关系.中国骨质疏松杂志,1995,1(2):151.
- 5 Jackson JA. Osteoporosis in men: diagnosis, pathophysiology and prevention. Medicine 1990,69:137.
- 6 Stepan JJ, Lachman M, Zverina J. Castrated men exhibit bone loss, effect of calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodeling. Clin Endocrinol Metab, 1989, 69:523.
- 7 Turner RT, Wakley GK, Hannon KS. Differential effects of androgens on cortical bone histomorphometry in gonadectomized male and female rats. J Orthop Res, 1990,8:612.

全国第三期骨质疏松讲习班、全国第二期骨质疏松 诊断标准研究班胜利结业

由中国老年学学会骨质疏松委员会、中国骨质疏松杂志社、云南省老年学学会骨质疏松委员会合办的“全国第三期骨质疏松讲习班、全国第二期骨质疏松诊断标准研究班和云南老年学学会骨质疏松委员会成立暨学术研讨会”(于1999年10月19日至24日在昆明)已圆满结束。参会代表近180人,部分公司和厂家参展。卫生部殷大奎副部长向大会发来了贺信。会议期间,大会请来的13位著名专家做了精彩的报告,报告均为国内国际骨质疏松领域的最新研究成果:刘忠厚教授、杨定焯教授、戴克戎教授、李青南教授、王志清教授、陈璐璐教授、刘成林教授、安珍教授、王洪复教授、胡侦明教授、劳汉昌教授、周学瀛教授及朱汉民教授派其助手甘洁英做了有关骨质疏松的诊断及鉴别诊断、骨矿测量、流行病学、临床治疗药物及方法、预防、临床生化检测、病因、病理、诊断治疗设备和药品的开发等新成果的专题报告。报告内容新颖、丰富。与会代表和专家就骨质疏松领域做了积极的讨论,会议气氛热烈,代表们反映收益很大。此次会议,对开展骨质疏松领域基础研究、临床诊断治疗和预防将起到指导作用。为推动我国骨质疏松事业的发展、为我国人民的身体健康做出了贡献!

(庞连萍)