

## · 药物研究 ·

# 龟地散与钙剂对去卵巢大鼠骨重、骨密度、骨强度的影响

王学娅 戴力明 韩健 崔连东 肖平 郭季安

**摘要** 使用补肾健骨中药龟地散对切除卵巢的雌性大鼠进行不同剂量的药物治疗,并与模型对照组和钙剂组进行比较。实验结果表明,龟地散显著提高模型对照组大鼠骨密度值( $P < 0.05$ )和骨矿含量( $P < 0.05$ ),从而抑制骨矿溶解和丢失。与模型对照组相比,龟地散明显增加骨质疏松大鼠的骨重( $P < 0.01$ ),并且对大鼠的骨长、骨直径、骨面积和体重也有一定的影响。龟地散还具有显著提高大鼠骨强度( $P < 0.01$ )等方面的作用。单纯补钙除骨强度明显改变外,其他如骨矿质、骨密度等多种指标均有明显改变。

**关键词** 龟板 熟地 钙剂 骨质疏松 卵巢切除术

## Effects of Gui-Di Powder and calcium on bone weight, bone mineral density, and bone strength in ovariectomized rats

Wang Xueya<sup>a</sup>, Dai Liming<sup>a</sup>, Han Jian<sup>a</sup>, Cui Liandong<sup>b</sup>, Xiao Ping<sup>b</sup>, Guo Jian<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Basic Medical Science of Liaoning Province, Shenyang 110005, China

<sup>b</sup> Liaoning Provincial Hospital, Shenyang 110015, China

**Abstract** Ovariectomized female adult rats were treated with kidney tonifying herbs (Gui-Di Powder, GDP) in different dosages, and compared with ovariectomized group (OVX) and calcium-treated group. The results showed that GDP could remarkably increase bone density ( $P < 0.05$ ) and bone minerals ( $P < 0.05$ ) in OVX rats. And it could significantly inhibit the dissolution and loss of bone minerals in comparison with the OVX. Moreover, it had definite effects on bone length, bone diameter, bone area and body weight in rats. Experiments also showed that GDP could greatly enhance bone strength in rats. Supplementation of calcium did not greatly change the parameters except bone strength.

**Key words** Tortoise plastron *Rehmannia glutinosa* Calcium Ovariectomy Osteoporosis

我们根据中医肾主骨理论,挖掘祖国传统医药宝库,筛选出以龟板、熟地为主药的龟地散

中药复方制剂。它突破单纯补钙治疗骨质疏松症的方法,发挥中药补肾健骨,益精生髓,协调全身机体功能的综合治疗作用。

作者单位:110005 沈阳,辽宁省基础医学研究所(王学娅、戴力明、韩健、郭季安);辽宁省人民医院(崔连东、肖平)

作者简介:王学娅,1980年毕业于沈阳药科大学,1993年赴日本富山医科药科大学研修,现任辽宁省基础医学研究所药理学副教授。曾两次获得国家科技成果完成者证书,并获辽宁省优秀科技青年工作者称号和辽宁省优秀论文二等奖

骨质疏松症是老年妇女的常见病多发病,且随着我国人口进入老龄化社会,其有逐年上升的趋势<sup>[1]</sup>。骨质疏松症患者,特别是绝经后女性患者,由于体内雌激素水平下降,对破骨细胞抑制作用减弱,使其活性增强,骨溶解加速,当

这一作用大于骨形成作用,骨代谢处于负平衡状态,则易发生骨量减少,骨组织微结构退化,导致骨脆性增加,极易造成骨折,甚至造成永久性功能丧失<sup>[2]</sup>。

龟地散主要由:龟板、熟地、淫羊藿、枸杞子等几种中药组成,主要功能为:补肾健骨,益精生髓,滋阴潜阳,养血补心,全方重用补肾之品。骨质疏松症其本在“肾”,以补肾法治之,符合中医“肾主骨生髓”的理论。肾生骨髓,肾精充足,则骨髓生化有源,骨得髓充分滋养而坚固有力。

## 1 材料和方法

**1.1 实验动物:**选用4月龄SD雌性大鼠60只,购自沈阳药科大学实验动物中心。随机分为6组,每组10只。实验设:空白对照组(Sham);模型对照组(OVX);龟地散小剂量组(GDP-1);龟地散中剂量组(GDP-2);龟地散大剂量组(GDP-3)和钙剂组(CA)。在1%戊巴比妥钠麻醉下,无菌操作,除Sham未切除卵巢行假手术外,其他各组均切除大鼠双侧卵巢,造成由雌激素缺乏而引起的实验性大鼠骨质疏松症。

**1.2 用药方法:**术后7天实验各组分别口服灌胃给药。GDP-1:0.25g/300g·d;GDP-2:

0.5g/300g·d;GDP-3:1.0g/300g·d;CA [CaCO<sub>3</sub>]:15mg/300g·d;Sham和OVX:给予相同剂量的自来水,术后12周断头处死动物。

**1.3 检测指标及方法:**动物处死后,将其股骨和胫骨剥离,剔净附着肌肉等软组织并测定其长度和固定部位的直径,用XR-36双能X射线骨密度测定仪测定骨密度(BMD)、矿物质(BMC)和骨表面积(AREA),用Mettler H54AR十万分之一分析天平称量骨重量。将另一侧股骨或胫骨置于测力计的支架上,用三点弯曲法测定股骨或胫骨中段弯曲极限强度。

## 2 结果

**2.1 体重:**从实验结果表1可见:中药GDP各剂量组与OVX大鼠体重比较没有显著差异,与Sham比较从实验第4周开始均有非常显著增加( $P < 0.01$ )。其中GDP各组体重增加值比OVX更高, [从(359±26)g增至最高(375±33)g],表明卵巢切除术对体重有影响,而龟地散能进一步促进体重的增加。但同样去除卵巢再给予CA没有像其他卵巢切除组那样体重明显增加,与Sham比较二者相似,无明显差异。

表1 龟地散对大鼠体重的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 动物数 | 体重(g)  |          |           |           |
|-------|-----|--------|----------|-----------|-----------|
|       |     | 0周     | 4周       | 8周        | 12周       |
| Sham  | 10  | 263±17 | 300±15   | 312±17    | 321±23    |
| OVX   | 10  | 263±20 | 330±21** | 348±24**△ | 359±26**△ |
| GDP-1 | 10  | 263±19 | 333±31** | 359±33**△ | 375±33**△ |
| GDP-2 | 10  | 260±18 | 334±29** | 360±30**△ | 370±39**△ |
| GDP-3 | 10  | 262±12 | 328±19** | 353±21**△ | 366±17**△ |
| CA    | 10  | 261±25 | 303±36   | 311±40    | 326±46    |

注:与Sham比较:\*\* $P < 0.01$ ;与CA比较:△ $P < 0.05$

**2.2 骨重:**GDP各组股骨和胫骨骨重比OVX有明显的增加( $P < 0.01$ ) (结果见表2)。GDP-1、GDP-2与OVX比较差异非常显著( $P < 0.01$ ):与GDP-3相比较差异显著( $P <$

$0.05$ )。可见中药龟地散对骨重的增加有明显刺激作用,但剂量过大作用反而减弱。CA骨重没有明显改变,表明单纯补钙不能增加股骨和胫骨的重量。

表2 龟地散对大鼠股骨和胫骨骨重的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 动物数 | 股骨重(g)                        | 胫骨重(g)                       |
|-------|-----|-------------------------------|------------------------------|
| Sham  | 10  | 0.6283±0.049                  | 0.4632±0.030                 |
| OVX   | 10  | 0.6137±0.050                  | 0.4340±0.031                 |
| GDP-1 | 10  | 0.7012±0.051 <sup>△△</sup> ** | 0.5107±0.039 <sup>△</sup> ** |
| GDP-2 | 10  | 0.7119±0.058 <sup>△△</sup> ** | 0.5085±0.039 <sup>△</sup> ** |
| GDP-3 | 10  | 0.6764±0.044 <sup>△△</sup> *  | 0.4777±0.038*                |
| CA    | 10  | 0.5854±0.070                  | 0.4410±0.054                 |

注:与OVX比较:\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 与CA比较:△ $P < 0.05$ ,△△ $P < 0.01$ 

2.3 骨强度:GDP各剂量组对大鼠股骨和胫骨强度有非常显著的提高( $P < 0.01$ ),结果见表3。其增加幅度高于Sham和CA,说明龟地散能使由于雌激素缺乏所致骨质疏松大鼠的骨强度显著提高,从而减少骨折的发生率。

表3 龟地散对大鼠股骨和胫骨强度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 动物数 | 股骨强度(kg·f)   | 胫骨强度(kg·f)  |
|-------|-----|--------------|-------------|
| Sham  | 10  | 9.65±0.45**  | 5.75±0.56*  |
| OVX   | 10  | 8.55±0.35    | 5.15±0.55   |
| GDP-1 | 10  | 10.85±0.89** | 6.55±0.57** |
| GDP-2 | 10  | 11.00±1.09** | 6.60±0.94** |
| GDP-3 | 10  | 11.30±0.84** | 6.50±0.59** |
| CA    | 10  | 10.05±1.04** | 5.85±0.55*  |

注:与OVX比较:\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 

2.4 骨长:龟地散对大鼠股骨和胫骨的骨长,与OVX比较没有明显差异,与Sham比较差异非常显著。说明卵巢切除术能引起股骨和胫骨延长,而中药龟地散对这一作用没有明显影响。

CA对股骨的延长有非常明显的抑制作用( $P < 0.01$ ),但对胫骨的这一作用却不明显。

表4 龟地散对大鼠股骨和胫骨长度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 动物数 | 股骨(mm)                        | 胫骨(mm)                        |
|-------|-----|-------------------------------|-------------------------------|
| Sham  | 10  | 3.3429±0.0798                 | 3.5994±0.1670                 |
| OVX   | 10  | 3.4846±0.1036 <sup>△△</sup> * | 3.8306±0.1074**               |
| GDP-1 | 10  | 3.4851±0.0758 <sup>△△</sup> * | 3.8774±0.1403 <sup>△</sup> ** |
| GDP-2 | 10  | 3.4580±0.1341 <sup>△</sup> *  | 3.8782±0.1104**               |
| GDP-3 | 10  | 3.4780±0.1163 <sup>△</sup> *  | 3.8274±0.1011**               |
| CA    | 10  | 3.3137±0.1172                 | 3.7108±0.1699                 |

注:与Sham比较:\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 与CA比较:△ $P < 0.05$ ,△△ $P < 0.01$ 

2.5 骨直径:龟地散对股骨直径没有明显影响。对胫骨直径,GDP-2与OVX比较有显著增加( $P < 0.05$ ),GDP-1和GDP-3胫骨直径虽然有所增加,但差异不显著。而CA与GDP各组及OVX相比胫骨直径均有明显的减少( $P < 0.01$ )。

表5 龟地散对大鼠股骨和胫骨直径的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 动物数 | 股骨( $\varphi$ ,mm) | 胫骨( $\varphi$ ,mm)            |
|-------|-----|--------------------|-------------------------------|
| Sham  | 10  | 0.3056±0.0293      | 0.2342±0.0292*                |
| OVX   | 10  | 0.3082±0.0199      | 0.2478±0.0081 <sup>△</sup>    |
| GDP-1 | 10  | 0.3136±0.0157      | 0.2557±0.0142 <sup>△△</sup>   |
| GDP-2 | 10  | 0.3238±0.0108      | 0.2608±0.0125 <sup>△△</sup> * |
| GDP-3 | 10  | 0.3146±0.0161      | 0.2552±0.0125 <sup>△△</sup>   |
| CA    | 10  | 0.2932±0.0194      | 0.2330±0.0139*                |

注:与OVX比较:\* $P < 0.05$ ,与CA比较:△ $P < 0.05$ ,△△ $P < 0.01$ 表6 龟地散对大鼠骨密度,骨矿物质和骨表面积的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 动物数 | 骨密度(g/cm <sup>2</sup> ) | 骨矿物质(g)        | 骨表面积(cm <sup>2</sup> )     |
|-------|-----|-------------------------|----------------|----------------------------|
| Sham  | 10  | 0.1411±0.0058           | 0.2751±0.0227  | 1.946±0.0900               |
| OVX   | 10  | 0.1366±0.0086           | 0.2559±0.0303  | 2.051±0.1154 <sup>△△</sup> |
| GDP-1 | 10  | 0.1417±0.0052           | 0.2968±0.0285* | 2.099±0.1539 <sup>△△</sup> |
| GDP-2 | 10  | 0.1470±0.0056*          | 0.2926±0.0055* | 2.082±0.1328 <sup>△△</sup> |
| GDP-3 | 10  | 0.1413±0.0044           | 0.2891±0.0208* | 2.047±0.1111 <sup>△△</sup> |
| CA    | 10  | 0.1388±0.0061           | 0.2806±0.0291  | 1.838±0.1434               |

注:与OVX比较:\* $P < 0.05$ ,与CA比较:△ $P < 0.05$ ,△△ $P < 0.01$

2.6 骨密度:由骨密度测定可见:GDP-2可使骨密度值有显著的增高( $P < 0.05$ ) (结果见表6)。其他剂量组虽也有增加趋势,但还不显著。而单纯补钙组骨密度却未见升高。

2.7 骨矿质:骨矿质含量,在GDP各组主要表现为明显的增加( $P < 0.05$ ) (结果见表6),主要包括Ca、P等矿物质。而CA与之相比,差异并不显著,没有统计学意义。

2.8 骨表面积:龟地散对股骨表面积没有明显的影响,而CA使骨表面积非常显著的缩小( $P < 0.01$ ),这可能是钙吸收增加而胶原不能相应增加的缘故。

### 3 讨论

现代医学研究中医肾主骨生髓的理论认为,中医“肾”的涵义包括了现代医学的生殖内分泌功能。妇女绝经或卵巢切除后,由于体内雌激素水平降低,而使骨代谢呈负平衡,骨吸收相对增强,骨量逐步丧失,即破骨细胞骨吸收增加,成骨细胞骨形成相对减弱,这样机体每完成一个骨重建周期将会损失一部分骨量,在若干周期后就形成了骨质疏松<sup>[3,4]</sup>。本实验应用卵巢切除法骨质疏松动物模型为研究对象来进行药物研究。

实验中OVX骨矿质降低,动物出现骨矿丢失,而中药龟地散根据中医“肾主骨藏精”的理论,治疗实验性骨质疏松症,与OVX比较骨矿含量和骨密度值明显增高。表明龟地散能明显抑制骨矿的溶解和丢失。这一结果符合用现代医学解释肾主骨的观点:即补肾中药具有促进和加强肾羟化酶系统,使 $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 的合成增加,从而促进肠道钙磷的吸收,在PTH的协同下,促进类骨质矿化的作用<sup>[5]</sup>。骨强度的大小与骨折发生的危险性呈相关性,中药龟地散能非常显著地提高大鼠的骨抗弯力强度。骨强度的增加可以大大降低骨折的发生率,减少由骨质疏松引起的严重并发症。

实验可见:GDP和OVX均可明显增加大鼠体重,这一现象可能是切除卵巢后雌激素水

平降低,影响机体激素调节平衡,进而改变物质代谢的结果。对于OVX所致的骨长度延长,龟地散没有明显的抑制作用反而稍有增加。GDP-2与OVX比较,胫骨直径亦有显著的增加。GDP与OVX相似,骨长度、直径、面积等这些反映骨体积的测试指标与Sham比较均有明显的增加,但却没有出现OVX那样的由于体积增加密度下降,而导致骨强度亦下降的情况。这可能是由于在另一方面龟地散在骨体积增加的同时,骨重、骨矿质、骨密度也相应增加,这与实验测得结果龟地散组骨强度非常显著的高于OVX相一致。同时也见文献报道<sup>[6]</sup>OVX与Sham比较骨长没有明显改变,有可能与实验条件,如饲料、鼠龄等不同有关。

而单纯补钙表现为对大鼠骨重、骨长、直径、表面积、骨矿质等多种指标均未表现明显改变,有的甚至表现出抑制或降低作用。这与文献报道单纯补钙不能防止骨丢失是一致的<sup>[7,8]</sup>。中药龟地散能发挥补肾健骨,益精生髓,协调全身机体功能的综合作用,是单纯补钙以及其他药物所不能替代的。此中药来源广副作用小,经济有效,有着广阔的临床应用前景,它将填补我国中药龟板、熟地等治疗骨质疏松症的空白。

### 参 考 文 献

- 1 顾增发、沈玻、林凤如. 用摘除卵巢大鼠建立骨质疏松症模型的研究. 中华老年医学杂志, 1989, 8(2): 118.
- 2 陶天遵、陶树清、吕嵩等. 维生素K<sub>2</sub>对去卵巢大鼠骨质疏松预防作用的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 1996, 2(2): 27-29.
- 3 Brown JP. Serum bone gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. Lancet, 1984, 1: 1090.
- 4 李文群、吴增常. 雌激素替代治疗对绝经后妇女骨代谢方面的影响. 中华内分泌代谢杂志, 1992, 8(1): 45.
- 5 刘忠厚主编. 骨质疏松的研究与防治. 北京: 化学工业出版社, 1994, 80-81.
- 6 向明珠、杨柳、李海平. 去势大鼠骨质疏松症的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 1998, 4(4): 6-8.
- 7 Stevenson JC, Whitehead M, Padwick M, et al. Dietary intake of calcium and postmenopausal bone loss. Br Med J, 1988, 297: 15.
- 8 Nilas L, Christiansen C. Calcium supplement and postmenopausal bone loss. Br Med J, 1984, 289: 1103.