

骨康对骨质疏松性大鼠骨中微量元素的影响

黄宏兴 王炳南 刘庆思 黄红 秦渭志

【摘要】 目的 探讨中药骨康对骨质疏松性大鼠骨中微量元素的影响。方法 切除卵巢后引起大鼠骨质疏松的雌性大鼠进行了雌激素尼尔雌醇和中药骨康口服液的治疗。观察了4组(空白对照组、模型组、中药骨康组、尼尔雌醇组)大鼠股骨中 Cu、Mn、Zn、Sr、B、V、F 等微量元素的变化。结果 统计学结果显示与骨质疏松模型组比较,尼尔雌醇和中药骨康能提高去势大鼠骨质中 Zn、Sr、F、Ca、P 等元素的含量,尼尔雌醇组中 Cu、Mn、B、V 的含量提高,中药骨康组中的含量反而下降;尼尔雌醇组与中药骨康组比较,B、Cu、Mn、V、Zn、Ca、P 含量提高明显,而 F、Sr 含量无明显差异。结论 骨康的治疗作用并不是单一的,可以认为中药骨康是通过发挥对人体整体的调节作用来调节骨骼中微量元素的变化,改变骨质的代谢情况,促进骨密度的提高。

【关键词】 骨质疏松症; 微量元素; 去势大鼠

Effect of traditional Chinese drug Gukang on changes in trace elements in bone of osteoporotic rats

HUANG Hongxing, WANG Bingnan, LIU Qingsi, et al. Hospital of Orthopedics and Traumatology, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510240, China

【Abstract】 Objective To study the effect of traditional Chinese drug Gukang on the changes of trace element content in bone of osteoporotic rats. **Methods** Ovariectomized rats were used as the model of postmenopausal osteoporosis treated with estrogen or Gukang. Contents of elements Cu, Mn, V, F, Zn, B, Sr, Ca, P in femur of 4 groups of rat sham control, model control, Gukang, treatment and estrogen treatment groups, were determined. **Results** Compared with model group, the values of Zn, Sr, F, Ca and P increased in the estrogen group or Gukang group, and those of Cu, Mn, B and V increased in estrogen group but decreased in Gukang group; the contents of B, Cu, Mn, V, Zn, Ca, P in the estrogen group increased significantly, compared with the Gukang, but there was no statistically significant difference in contents of F and Sr in bone. **Conclusion** The traditional Chinese drug Gukang has mutiple effects. It regulates the general function of the body as a whole, thus changing the metabolism of bone, regulating the trace elements in bone, and improving the bone density.

【Key words】 Osteoporosis; Trace elements; Ovariectomized rat

目前研究表明,骨质疏松症与微量元素的变化有着较密切的关系。笔者探讨了中药骨康对骨质疏松性大鼠骨中微量元素的影响。

材料和方法

选用清洁级 11 月龄雌性 SD 大鼠 50 只,体重 (350 ± 20) g, (上海必凯公司提供),随机抽样分成 4 组。A 组为空白对照组(12 只),假手术处理;其余大鼠均予 3% 戊巴比妥 $0.1 \text{ ml}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 腹腔注射麻醉下经背摘除卵巢术,术后 3 d 标记,3 个月后随机分为 3 组, B 组为模型组(12 只), C 组为中药骨康组(13 只

骨康口服液灌胃 $6 \text{ ml}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, D 组为尼尔雌醇组(13 只尼尔雌醇使用前用生理盐水配制成 $0.2 \text{ mg}/\text{ml}$ 混悬液,灌胃 $0.1 \text{ g}/100 \text{ g}$, 1 次/w)。A、B 组分别用生理盐水 $6 \text{ ml}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃。尼尔雌醇片由上海华联制药有限公司生产,批号:961001;骨康^[1-3]口服液主要由补骨脂、淫羊藿、肉苁蓉、当归、黄芪、丹参等组成,由广州中医药大学附属骨伤科医院制剂室提供,批号:010512,每 ml 口服液相当于 1.43 g 生药。

3 月后断颈法处死大鼠,用 DEXA[美国 HOLOG-IC 公司产品, QDR-4000 型,变异系数 $CV < 0.1\%$],测定双侧胫骨干骺端骨密度后,取右腿胫骨并将软组织剥离干净。将骨置于 90°C 烘箱中烘 5 h 后,剪碎称重量约 0.6 g,置于 10 ml 有刻度的离心管中,加入 3 ml 硝酸,放置过夜,在 95°C 水浴锅中加热至溶

基金项目:广东省中医药局科研课题(98360)

作者单位:510240 广州,中医药大学附属骨伤科医院

液清澈透明,定容至 7 ml。用原子吸收分光光度计(日本日立 Z-8000 型)测定 Cu、Mn、Cr、F 等元素;用电感藕合高频等离子体发射光谱仪(日本岛津 ICP-1012 型)测定 Zn、B、V、Sr 等元素。依上法测定每组大鼠骨骼中微量元素的含量。

统计学处理:所有数据均采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 统计软件进行分析,组间比较用方差分析,显著性差异用 q 检验。

结 果

1. 骨康灌胃 3 个月时各组大鼠在左、右侧胫骨干骺端处的骨密度和骨矿含量均差异有显著性,其中模型组最低;中药骨康组明显高于模型组;与尼尔雌醇组差异无显著性。说明骨康和尼尔雌醇均可明显提高胫骨干骺端处的 BMD 和 BMC 及骨量见表 1、表 2。

2. 与骨质疏松模型组比较,尼尔雌醇和中药骨康能提高去势大鼠的骨质中 Zn、Sr、Cr、F、Ca、P 等微

量元素的含量;尼尔雌醇组中 Cu、Mn、B、V 的含量提高,中药骨康组中的含量反而下降;尼尔雌醇组与中药骨康组比较,B、Cu、Mn、V、Zn、Ca、P 含量提高明显,而 F、Sr 含量无差异,见表 3、4。

表 1 骨康对去卵巢大鼠 BMD 变化的影响 ($\bar{x} \pm s, g/cm^2$)

组别	例数	右胫骨干骺端	左胫骨干骺端
空白对照组	12	0.218 ± 0.018 ^{**}	0.221 ± 0.020 ^{**}
模型组	12	0.17 ± 0.015 ^{**}	0.17 ± 0.013 ^{**}
中药骨康组	13	0.207 ± 0.015 ^{**}	0.209 ± 0.015 ^{**}
尼尔雌醇组	13	0.22 ± 0.018 ^{**}	0.214 ± 0.023 ^{**}

注:与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与空白对照组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;尼尔雌醇组与中药骨康组比较,[¥] $P < 0.05$,^{¥¥} $P < 0.01$ (下同)

表 2 骨康对去卵巢大鼠 BMC 变化的影响 ($\bar{x} \pm s, g$)

组别	例数	右胫骨干骺端	左胫骨干骺端
空白对照组	12	0.09 ± 0.01 ^{**}	0.09 ± 0.01 ^{**}
模型组	12	0.07 ± 0.02 ^{**}	0.07 ± 0.02 ^{**}
中药骨康组	13	0.08 ± 0.01 ^{**}	0.08 ± 0.01 ^{**}
尼尔雌醇组	13	0.09 ± 0.02 ^{**}	0.08 ± 0.01 ^{**}

表 3 中药骨康对骨质疏松性大鼠骨微量元素影响 ($\bar{x} \pm s, \mu g/g$)

组别	例数	Cu	Mn	B	V	F
空白对照组	12	1.848 ± 0.362	0.782 ± 0.120	6.544 ± 1.698	0.653 ± 0.042	933.01 ± 43.99
模型组	12	1.070 ± 0.123 ^{**}	0.561 ± 0.068 ^{**}	5.879 ± 1.644 [#]	0.599 ± 0.073 ^{**}	826.12 ± 43.70 [#]
中药骨康组	13	1.045 ± 0.184 ^{**¥¥}	0.525 ± 0.073 ^{**¥¥}	5.117 ± 2.20 [¥]	0.557 ± 0.071 ^{**¥}	1183.80 ± 19.22 [¥]
尼尔雌醇组	13	1.765 ± 0.354 ^{**}	0.733 ± 0.101 ^{**}	6.798 ± 1.974 [*]	0.651 ± 0.042 ^{**}	1200.20 ± 23.57 ^{**}

表 4 中药骨康对骨质疏松性大鼠骨微量元素影响 ($\bar{x} \pm s, \mu g/g$)

组别	例数	Sr	Zn	Ca	P
空白对照组	12	58.019 ± 3.870	207.91 ± 6.024	191423 ± 10102	95843 ± 2454
模型组	12	49.32 ± 5.718 ^{**}	177.14 ± 6.594 [#]	172428 ± 8217 ^{**}	82612 ± 6359 [#]
中药骨康组	13	57.429 ± 6.668 [*]	195.25 ± 15.827 [*]	188435 ± 16209 ^{**¥}	93807 ± 1003 [¥]
尼尔雌醇组	13	56.795 ± 2.700 [*]	206.7 ± 10.059 [¥]	189967 ± 13359 ^{**}	92172 ± 5495 ^{**}

讨 论

1. 微量元素与骨质疏松的关系

微量元素一般指少于人体重量 0.01% 的元素,人体内微量元素缺乏、过剩、或平衡失调,均可影响人体内的物质代谢,进而产生病理变化。随着研究的深入,对微量元素与骨代谢之间的关系有更进一步的理解。最早发现氟同骨质硬化有关^[4],随后的研究证实氟影响骨骼的代谢,氟是生物的钙化作用所必需的物质。适量氟有利于钙和磷的利用及在骨骼中沉积,加速骨骼的形成,增加骨骼的硬度,并降低硫化物的溶解度,对骨骼被吸收起抑制作用。氟过量也能影响钙和磷代谢,引起骨密度增加,对骨骼

有脱钙作用。氟吸收过量会引起动物骨质疏松,使人群发生氟骨症^[5]。动物实验表明,饲料中缺钒,动物骨骼发育不正常,生长缓慢,生殖功能受损,补充足够钒时生长发育正常;钒离子在牙釉质和牙质内可增加羟基磷灰石的硬度,同时也可增加有机物质和无机物质间的黏合性,钒还能刺激 DNA 和胶原合成,提高碱性磷酸酶活性,增加骨的形成^[7]。锰是硫酸软骨素合成酶的必需辅助因子,与结缔组织韧性和硬度及黏多糖合成、硫酸软骨素代谢、钙磷代谢密切相关。缺锰动物软骨生长障碍,干骺骨小梁稀少,长骨短而弯曲甚至畸形。有资料表明:骨质疏松症患者血浆锰浓度比健康者低,头发中锰含量比对照组明显降低^[6]。硼对钙代谢的作用可能是在肾水平

上,硼缺乏组的血尿素氮和血清肌酸酐水平显著高于硼补充组^[6,7]。最近的研究还发现,使维生素 D₂ 和 D₃ 转变成相应的 1,25-二羟基衍生物和胆固醇转变成雌二醇所需的羟化酶严格地依赖于硼酸盐离子,所以硼可能是绝经后妇女骨质疏松的潜在保护因子^[8]。缺铜可引起胶原和弹性蛋白合成障碍,造成结缔组织缺陷及动脉与骨骼病变,在骨质疏松症患者中^[6],可见血清钙浓度明显降低和尿铜排泄显著增加缺铜儿童骨密度降低、骨折增加。由于绝经后妇女雌激素水平降低影响血浆铜蓝蛋白水平,长期使用糖皮质激素治疗导致体铜水平降低,因而认为应该更加注意微量元素,特别是铜在绝经后妇女骨质疏松病因学中的作用^[8]。骨质疏松时体内锌代谢发生很大变化,许多人发现^[7]骨质疏松症患者尿锌排泄量增加有研究发现^[8]男性老年骨质疏松近端股骨骨折患者血清和骨组织中锌含量明显低于末骨折者。

2. 微量元素与骨质疏松的相互关系

微量元素在骨骼的代谢中起着重要作用,他们是一种平衡关系。适量的微量元素构成了骨骼的正常架构,他们与骨骼中的主要矿化元素如钙磷等一起影响着骨密度的变化。如氟与钙和磷有协同作用,氟是生物的钙化作用所必需的物质,适量氟、钙和磷有利于骨骼生长发育,氟与钙结合形成氟化钙,沉积于骨组织中使之硬化,并引起血钙降低。血钙降低使甲状旁腺激素分泌增加,动员骨钙入血,骨基质溶解,最终引起骨质疏松和软化^[8]。

在我们研究的骨质疏松的大鼠模型中,伴随着骨骼骨密度的下降,不公钙磷的含量下降,Cu、Mn、Zn、Sr、B、Cr、V、F 等元素的含量也下降。而在随后的治疗组中均有不同程度的提升,表明这些微量元素在骨质疏松的发生中起着一定的作用;已有研究表明这些元素在人体血液中可以相互影响^[9],但在骨骼中如何影响尚不清楚。一般认为微量元素在骨骼中的代谢是很困难的,它们在骨骼中的含量变化可能是随着钙磷一起发生的。如锌对骨代谢的影响可能是^[6]:①参与骨盐形式,与氟组成锌-氟复合体,促进了磷灰石的结晶化;②影响 1,25-二羟维生素 D 和降钙素水平;③影响骨代谢两类酶,即碱性磷酸酶、胶原酶及硫酸酐酶。

3. 治疗骨质疏松症中使用的中药骨康与微量元素的关系

我们的动物实验和临床已经证实中药骨康有防治骨质疏松症的作用^[10-14],本实验中骨康治疗组大

鼠胫骨骨密度较模型组提高明显,与之相适应骨骼中钙的含量亦有明显提高。骨康治疗组与雌激素治疗组的大鼠骨骼中的微量元素的含量并不完全一致,表明骨康与雌激素治疗骨质疏松的机理是不同的。有研究结果表明:①骨康治疗后绝经后骨质疏松症患者骨密度增加,血清 IL-6 含量降低,血清雌二醇含量较治疗前升高。去势大鼠模型用骨康防治后性激素水平明显高于模型组,表明中药骨康有类性激素样作用,可能与兴奋垂体-肾上腺轴或性腺轴有关^[12,13];②骨康的含药血清可促进成骨细胞增殖及分化,抑制破骨细胞活性,表明骨康在体内可以直接调节成骨细胞和破骨细胞的平衡^[14];③骨康可以改善脾虚大鼠的脾胃功能^[11,14],表明骨康可以促进肠道对 Ca²⁺ 的吸收,纠正体内负钙平衡。综上所述,骨康的治疗作用并不是单一的可以通过对人体整体的调节作用来改变骨质的代谢情况,促进骨密度的提高。因此认为中药骨康可以通过发挥对人体整体的调节作用来调节骨骼中微量元素的变化。

参 考 文 献

- 1 黄意甜,陈锐潮,曾惠芳,等.淫羊藿不同炮制法对配方中补骨脂有效成分煎出的影响.广州中医药大学学报,1999,16:230-231.
- 2 曾惠芳,苏子仁,刘庆思.骨康口服液中补骨脂素、异补骨脂素的含量测定.中药新药与临床药理,1999,10:237-239.
- 3 邵敏,黄宏兴,庄洪,等.骨康防治骨质疏松拆方的初步研究.中国中医骨伤科杂志,2000,8:7-8.
- 4 朱宪彝,主编.代谢性骨病学.天津科学技术出版社出版,1989.
- 5 王夔,主编.生命科学中的微量元素.第2版;北京:中国计量出版社,1996.
- 6 秦俊法.微量元素与骨质疏松症.广东微量元素与科学,1998,5:1-12.
- 7 Nielsen FH.Evidence for the nutritional essentiality of boron.J Trace Elem Exp Med, 1995,8:263-265.
- 8 孙承琳,刘春梅,唐一鹏,等.骨质疏松症与骨中微量元素的关系.微量元素与健康研究,1995,12:6-7.
- 9 陈同钧,陈湘君.慢性肾衰肾虚证患者血清微量元素的变化及其临床意义探讨.广东微量元素科学,2000,7:26-29.
- 10 刘庆思,陈仲泽,李小依.骨康胶囊治疗绝经后骨质疏松症 65 例疗效观察.新中医,1995,10:31-32.
- 11 冯新送,邵敏,黄宏兴.中药骨康对去势大鼠骨生物力学的影响.广州中医药大学学报,1998,15:211-212.
- 12 黄宏兴,魏合伟,刘庆思,等.中药骨康对去势大鼠血清激素水平变化的影响.广州中医药大学学报,1999,16:138-140.
- 13 陈芝喜,刘庆思,魏合伟,等.补肾活血药对去势雌鼠血清 IL-6 和激素水平的影响.放射免疫学杂志,2001,14:13-16.
- 14 邵敏,庄洪,赵静,等.中药骨康对去势大鼠骨质疏松的防治作用.广州中医药大学学报,1999,16:209-212.

(收稿日期:2003-01-07)