

人参茎叶皂苷对 D-半乳糖大鼠不同部位骨骼的影响

张新乐 吴铁 崔燎 刘钰瑜 姚卫民 许碧莲 邹丽宜 陈文双

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2013)03-0251-07

摘要: 目的 建立 D-半乳糖大鼠骨质疏松模型,通过骨形态计量学观察人参茎叶皂苷对大鼠不同部位的影响。方法 选取 3 月龄雄性 SD 大鼠 50 只,随机分为正常对照组(NS)、D-半乳糖模型组(DG)、复方司坦唑醇阳性对照组(CP)、人参茎叶皂苷低剂量组(GSLL)、人参茎叶皂苷高剂量组(GSLH),每组 10 只。给药 14 周后处死大鼠,取胫骨上段、胫骨中段,进行骨组织形态计量学参数检测;取左侧股骨检测骨钙、磷以及骨胶原的含量。结果 高剂量的人参茎叶皂苷可使 D-半乳糖大鼠胫骨上段松质骨的骨小梁面积百分数(% Tb. Ar)增加、骨小梁数目(Tb. N)明显增加,而骨小梁分离度(Tb. Sp)明显减少,动态参数无明显变化,骨吸收参数明显减少;使 D-半乳糖大鼠胫骨中段的皮质骨面积百分数(% Ct. Ar)增加,骨髓腔面积百分数(% Ma. Ar)减少,骨内外膜的形成和矿化均无明显变化;高低剂量组的股骨干湿重体重比无明显变化,低剂量的人参茎叶皂苷的骨羟脯氨酸增加。结论 人参茎叶皂苷能有效对抗 D-半乳糖大鼠胫骨上段和中段骨的丢失,高剂量效果好;低剂量的人参茎叶皂苷可以提高 D-半乳糖大鼠骨有机质的相对含量。

关键词: 人参茎叶皂苷;D-半乳糖;骨质疏松;骨组织形态计量学

Effect of ginsenoside from the stem and leaf on different skeletal sites of osteoporotic rats induced by D-galactose ZHANG Xinle, WU Tie, CUI Liao, et al. Department of Pharmacology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China

Corresponding author: WU Tie, Email: wutie2@163.com

Abstract: Objective To establish the model of osteoporotic rats induced by D-galactose, and to investigate the effect of ginsenoside from the stem and leaf on different skeletal sites of osteoporotic rats using bone histomorphometry. **Methods** Fifty 3-month-old male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into normal control group, D-galactose group, CP group, and ginsenoside from the stem and leaf at low dose (GSLL) or high dose group (GSLH). Rats were sacrificed in 14 weeks after drug administration. The longitudinal proximal tibial metaphyseal (PTM) and tibial shaft (Tx) sections were used for bone histomorphometric analysis. The left femur was used for testing bone calcium (Ca), phosphate (P), and bone hydroxyproline. **Results** Comparing to those in D-galactose group, % Tb. Ar and Tb. N in PTM of rats in GSLH group were increased, while Tb. Sp was decreased. No changes of dynamic indexes were observed. Bone resorption decreased significantly. % Ct. Ar in Tx was increased, while % Ma. Ar was decreased. No changes occurred in the formation of internal and external bone membrane and mineralization. There was no change of wet and dry weight of Tx between GSLL and GSLH group. Hydroxyproline content in GSLL group was significantly increased. **Conclusion** GSL can effectively resist bone loss in PTM and Tx in osteoporotic rats induced by D-galactose. High dose of GSL has better efficacy. Low dose of GSL can increase the relevant amount of organic materials in osteoporotic rats induced by D-galactose.

Key words: Ginsenoside from the stem and leaf; D - galactose; Osteoporosis; Bone histomorphometry

基金项目: 广东省教育厅育苗工程项目(08-NYM-061)

作者单位: 524023 湛江,广东医学院药理教研室

通讯作者: 吴铁, Email: wutie2@163.com

人参(Ginseng)是我国传统的名贵中药,人参茎叶皂苷(Ginsenosides Of Ginseng leaves and Stems)是从五加科植物人参茎叶提取精制而成^[1],具有与人

参根皂甙相似的作用,其抗衰老作用已得到初步证明^[2],且也有实验证明其能提高D-半乳糖衰老小鼠脑组织的抗氧化能力^[3]。我们课题组发现D-半乳糖导致衰老的同时也能使大鼠骨丢失,骨的丢失是属于低转换型的^[4],所以本实验用D-半乳糖大鼠模拟老年性骨质疏松模型。我们曾发现人参茎叶皂苷能有效预防去卵巢大鼠的骨量丢失,具有促进骨形成的作用^[5],期望人参茎叶皂苷抗衰老的同时也能预防D-半乳糖大鼠的骨质疏松,本文对胫骨和股骨进行了检测。

1 材料和方法

1.1 药品和试剂

1.1.1 药品:康力龙(司坦唑醇,广西南宁白会药业集团有限公司,批号070101);脑复康(吡拉西坦,广州康奇力药业有限公司,批号061002)。人参茎叶皂苷提取后浓缩为生药0.1g/ml(高剂量)、0.05g/ml(低剂量)(由广东医学院医药科技开发中心提取)。

1.1.2 试剂:D-半乳糖(购自国药集团化学试剂有限公司);甲基丙烯酸甲酯(北京化工厂);邻苯二甲酸二丁酯(天津市化学试剂一厂);过氧化苯甲酰(广州化学试剂厂);盐酸四环素荧光标记物(上海新亚制药厂);

1.2 实验仪器

碳化钨钢刀(德国LEICA公司);LEICA2155硬组织切片机(德国LEICA公司);低速锯(Buehler LTD. USA);数字化板(SummaSketchRIplus);LEICA MP30荧光显微镜及显微照相机(德国LEICA公司);LEICA QWN半自动图象分析仪(德国LEICA公司);AE240电子天平(梅特勒-托利多仪器公司上海分公司);游标卡尺(湛江市量具刃具厂);电热恒温电烤箱(上海跃进医疗器械厂);IRIS/AP电感耦合等离子体发射光谱仪(TJA, USA)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物与分组:SD大鼠50只,雄性,体重(201±20)g,3月龄,由广东省医学实验动物中心提供(动物合格证书编号:2006A015)。造模和分组:SD大鼠50只以数字表法随机分为正常对照组、D-半乳糖模型组、复方司坦唑醇阳性对照组、人参茎叶皂苷低剂量组、人参茎叶皂苷高剂量组,每组10只。除正常对照组颈背部皮下注射生理盐水5 mL/(kg·d)外,其余组颈背部皮下注射D-半乳糖100 mg/(kg·d)。正常对照组和D-半乳糖模型组给予

溶剂对照,复方司坦唑醇阳性对照组给予司坦唑醇0.54 mg/(kg·d)+吡拉西坦432 mg/(kg·d),人参茎叶皂苷低剂量组500 mg/(kg·d),人参茎叶皂苷高剂量组1000 mg/(kg·d),灌胃给药,造模同时开始给药14周。

1.3.2 骨标本的制作及测量指标:所有雄性大鼠处死前三四天皮下注射25 mg/kg盐酸四环素各1次,于处死前三四天皮下注射钙黄绿素5 mg/kg各1次,两荧光标记间隔10 d。每周称量一次体质量,自由饮水给食。实验结束后,用3%戊巴比妥钠(1.5 mL/kg)行腹腔注射麻醉后右心室彻底抽血处死(以减少骨髓中红细胞,排除干扰,使骨片更易于观察分析)。取大鼠左侧股骨,剔干净软组织。左侧胫骨用低速锯沿额状面锯开于骺端,暴露骨髓腔,于胫骨上端1/3处横行锯断胫骨,此为胫骨上端。将余下的胫骨于胫骨和腓骨结合处横向锯开,作中段骨检测。

1.3.3 指标测定:左侧胫骨上段制成不脱钙骨切片、中段骨制成不脱钙骨磨片,进行骨组织形态计量学参数检测。

松质骨形态计量学参数有静态、动态和骨吸收参数。静态参数包括骨小梁面积百分数、骨小梁宽度、骨小梁数目和骨小梁分离度。动态参数包括荧光周长百分数、骨矿化沉积率、骨形成率。骨吸收参数包括每毫米破骨细胞数、破骨细胞周长百分率。

皮质骨形态计量学参数有静态和动态参数。静态参数包括皮质骨面积、皮质骨面积百分数、骨髓腔面积百分数。动态参数包括骨外膜荧光周长百分数、骨外膜骨矿化沉积率、骨外膜骨形成率,骨内膜荧光周长百分数、骨内膜骨矿化沉积率、骨内膜骨形成率^[6]。

左侧股骨测定其干湿重体重比,按照羟脯氨酸测定试剂盒方法用UV-752紫外分光光度计测定骨羟脯氨酸,用ICP仪(电感耦合等离子体发射光谱仪)测定骨Ca、骨P的浓度,根据标准品浓度及样品稀释倍数计算出骨Ca、骨P的含量。

主要观察指标:测量胫骨上段松质骨和胫骨中段皮质骨骨组织形态计量学参数,左侧股骨钙、磷以及骨胶原的含量。

1.3.4 统计学处理:所有测定指标均采用 $\bar{x} \pm s$ 形式,数据统计使用SPSS 11.0软件中的方差分析(ANOVA)进行检验。

2 结果

2.1 人参茎叶皂苷对D-半乳糖雄性大鼠体重的影

响(表1)

表1 人参茎叶皂苷对D-半乳糖雌性大鼠体重变化的影响($\bar{x} \pm s, g$)

Table 1 Effects of GSL on body weight in D-galactose (DG)-treated rats($\bar{x} \pm s, g$)

Group	0w	2w	4w	6w	8w	10w	12w	14w
NS	197 ± 19	215 ± 22	246 ± 28	270 ± 30	269 ± 28	319 ± 39	364 ± 24	374 ± 30
DG	198 ± 20	210 ± 22	239 ± 28	289 ± 33	307 ± 36 **	369 ± 20 **	396 ± 48 *	421 ± 50 **
CP	203 ± 12	227 ± 8 [△]	254 ± 11	286 ± 15	298 ± 19	350 ± 23	351 ± 20 ^{△△}	385 ± 23 [△]
GSL(L)	209 ± 27	242 ± 26 ^{*△}	237 ± 27	280 ± 34	309 ± 33 **	349 ± 35	368 ± 29	406 ± 33 *
GSL(H)	206 ± 9	247 ± 18 ^{**△△}	257 ± 27	296 ± 32	306 ± 32 *	357 ± 42 *	423 ± 37 **	443 ± 46 **

与正常对照组(NS)比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与D-半乳糖模型组(DG)[△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

由表1的结果可见,与正常对照组比较,D-半乳糖模型组大鼠皮注D-半乳糖6周后体重开始增加,当实验进行到第8、10、12、14周时,体重增加更加明显($P < 0.05$),说明此剂量的D-半乳糖对大鼠无明显毒作用。使用人参茎叶皂苷治疗后,D-半乳糖大鼠体重未见明显减轻,且在第2周体重明显高于D-半乳糖大鼠($P < 0.05$),提示人参茎叶皂苷未能抑制D-半乳糖大鼠体重的增加。而且低剂量人参茎

叶皂苷组在第2周、8周、14周和高剂量人参茎叶皂苷组在第2周、8周、10周、12周、14周的体重明显高于正常对照组($P < 0.05$),但对其余时间点无明显影响($P > 0.05$),亦说明两剂量的人参茎叶皂苷对大鼠均无明显毒作用。

2.2 人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠胫骨上段松质骨形态计量学参数的影响(表2、3)

表2 人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠胫骨上段静态参数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of GSL on static histomorphometric parameters of PTM in DG rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Group	n	% Tb. Ar (%)	Tb. Th (μm)	Tb. N (#/mm)	Tb. Sp (μm)	Oc. N/mm (#/mm)	% Oc. S. Pm (%)
NS	10	14.6 ± 1.9	55.7 ± 4.0	2.6 ± 0.3	331 ± 38	0.68 ± 0.25	1.5 ± 0.5
DG	10	10.2 ± 2.2 **	50.0 ± 5.2 *	2.0 ± 0.4	459 ± 121 **	1.38 ± 0.16 **	3.2 ± 0.6 **
CP	10	16.1 ± 3.0 ^{△△}	55.1 ± 6.1	2.9 ± 0.4 ^{△△}	293 ± 48 ^{△△}	0.47 ± 0.12 ^{△△}	1.0 ± 0.3 ^{△△}
GSL(L)	10	12.3 ± 3.0	56.1 ± 4.1 [△]	2.2 ± 0.5	421 ± 105	0.28 ± 0.18 ^{△△}	0.42 ± 0.38 ^{△△}
GSL(H)	10	16.2 ± 4.5 ^{△△}	55.2 ± 6.0	2.9 ± 0.6 ^{△△}	300 ± 73 [△]	0.28 ± 0.1 ^{△△}	0.5 ± 0.2 ^{△△}

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NS; [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ vs DG

表3 人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠胫骨上段动态参数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of GSL on dynamic histomorphometric parameters of PTM in DG rats($\bar{x} \pm s$)

Group	n	% L. Pm (%)	MAR ($\mu m/d$)	BFR/BS (%/year)	BFR/BV (%/year)	BFR/TV (%/year)
NS	10	11.4 ± 4.3	1.2 ± 0.4	5.2 ± 2.3	154 ± 70	23.0 ± 11.8
DG	10	8.8 ± 7.1	0.8 ± 0.5	3.5 ± 4.0	115 ± 127	12.0 ± 13.7
CP	10	9.5 ± 3.3	1.6 ± 0.4 [△]	5.8 ± 3.2	175 ± 96	28.1 ± 17.0
GSL(L)	10	2.6 ± 2.3	1.2 ± 0.8	1.7 ± 1.8	48.7 ± 51.5	6.1 ± 6.5
GSL(H)	10	2.1 ± 2.2	1.1 ± 0.9	1.3 ± 1.3	39.9 ± 42.5	5.6 ± 5.6

[△] $P < 0.05$ vs DG

由表2、图1可知:与正常对照组相比,D-半乳糖模型组的骨小梁数量明显减少,结构稀疏、断裂;% Tb. Ar、Tb. Th 分别降低了30.1% ($P < 0.01$)、10.2% ($P < 0.05$), Tb. Sp 增加了38.7% ($P < 0.01$),而 Oc. N/mm 与% Oc. S. Pm 分别增加了102.9% ($P < 0.01$)和113.3% ($P < 0.01$);说明D-半乳糖已使大鼠松质骨的骨小梁显著减少,微观结构疏松退化,且对破骨细胞的数量及活性有促进作用。

与D-半乳糖模型组相比,复方司坦唑醇阳性对照组、低剂量人参茎叶皂苷和高剂量人参茎叶皂苷组的骨小梁明显增多、增粗,连续性良好;复方司坦唑醇使D-半乳糖大鼠胫骨上段的% Tb. Ar、Tb. N 分别升高了57.8% ($P < 0.01$)、45.0% ($P < 0.01$), Tb. Sp 减少了36.1% ($P < 0.01$);Oc. N/mm 和% Oc. S. Pm 分别减少了65.9% ($P < 0.01$)和68.8% ($P < 0.01$)。低剂量的人参茎叶皂苷使D-半乳糖大

鼠胫骨上段的 Tb. Th 增加 12.2% ($P < 0.05$), Oc. N/mm 和 % Oc. S. Pm 分别减少了 79.7% ($P < 0.01$) 和 86.9% ($P < 0.01$); 高剂量的人参茎叶皂苷使 D-半乳糖大鼠胫骨上段的 % Tb. Ar、Tb. N 分别增加 58.8% ($P < 0.01$)、45% ($P < 0.01$), Tb. Sp 减少了 34.6% ($P < 0.05$), Oc. N/mm 和 % Oc. S. Pm 分别减少了 79.9% ($P < 0.01$) 和 84.4% ($P < 0.01$)。说明复方司坦唑醇和高、低剂量的人参茎叶皂苷均可有效预防 D-半乳糖对大鼠松质骨显微结构的破坏且高剂量的人参茎叶皂苷效果略优,对破骨细胞的数量及活性均有明显的抑制作用。

由表 3 可知,与正常对照组相比,D-半乳糖模型组大鼠胫骨上段的荧光稀疏、暗哑;五个主要的动态参数指标均下降,但无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 D-半乳糖模型组比较,复方司坦唑醇阳性对照组的 MAR 明显增加 ($P < 0.05$),低剂量人参茎叶皂苷和高剂量人参茎叶皂苷的动态参数变化不明显,说明低剂量人参茎叶皂苷和高剂量人参茎叶皂苷组对 D-半乳糖大鼠胫骨上段的反映骨形成及骨矿化的指标变化不明显。

2.3 人参茎叶皂苷对 D-半乳糖大鼠胫骨中段皮质骨形态计量学参数的影响(表 4、5)

由表 4、图 2 可知,与正常对照组比较,D-半乳糖模型组大鼠的骨髓腔扩大,皮质骨面积比例下降;

静态指标 % Ct. Ar 下降 4.0% ($P < 0.01$), % Ma. Ar 增加 16.4% ($P < 0.01$),提示 D-半乳糖使大鼠胫骨中段皮质骨面积比例下降,骨髓腔变大,且均有统计学意义,说明 D-半乳糖可引起大鼠皮质骨骨量丢失。与 D-半乳糖模型组比较,复方司坦唑醇阳性对照组的 % Ct. Ar、% Ma. Ar 无显著变化,提示复方司坦唑醇对 D-半乳糖大鼠胫骨中段的皮质骨骨量丢失的作用不大。高剂量人参茎叶皂苷的 % Ct. Ar 增加 3.6% ($P < 0.05$)、% Ma. Ar 减少 12.8% ($P < 0.05$),而低剂量人参茎叶皂苷的胫骨中段皮质骨静态参数无明显变化。说明高剂量的人参茎叶皂苷可有效预防 D-半乳糖引起的大鼠胫骨中段的皮质骨骨量丢失,而低剂量效果不明显。

表 4 人参茎叶皂苷对 D-半乳糖大鼠胫骨中段皮质骨静态参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of GSL on static histomorphometric parameters of Tx in DG rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Group	n	Ct. Ar (mm ²)	% Ct. Ar (%)	% Ma. Ar (%)
NS	10	4.9 ± 0.4	80.5 ± 2.5	19.5 ± 2.5
DG	10	4.9 ± 0.5	77.3 ± 2.4**	22.7 ± 2.4**
CP	10	4.8 ± 0.4	77.2 ± 2.9	22.8 ± 2.9
GSL(L)	10	4.9 ± 0.4	79.2 ± 2.5	20.8 ± 2.5
GSL(H)	10	5.2 ± 0.5	80.1 ± 1.4 ^Δ	19.8 ± 1.4 ^Δ

** $P < 0.01$ vs NS; ^Δ $P < 0.05$ vs DG

表 5 人参茎叶皂苷对 D-半乳糖大鼠胫骨中段皮质骨动态参数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of GSL on dynamic histomorphometric parameters of Tx in DG rats ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	% P-L. Pm (%)	P-MAR (μm/d)	P-BFR/BS (%/year)	% E-L. Pm (%)	E-MAR (μm/d)	E-BFR/BS (%/year)
NS	10	77 ± 29	1.6 ± 0.6	126 ± 71	11.5 ± 11.1	0.44 ± 0.54	5.6 ± 7.9
DG	10	76 ± 20	1.8 ± 0.4	137 ± 51	12.2 ± 18.4	0.46 ± 0.67	5.9 ± 8.0
CP	10	48 ± 15 ^Δ	1.3 ± 0.4 ^Δ	60 ± 11 ^Δ	2.7 ± 2.4	0.00 ± 0.00	0.0 ± 0.0
GSL(L)	10	67 ± 15	1.3 ± 0.5 ^Δ	86 ± 36 ^Δ	6.6 ± 3.8	0.00 ± 0.00	0.0 ± 0.0
GSL(H)	10	94 ± 13	2.2 ± 0.4	210 ± 50	9.0 ± 9.1	0.00 ± 0.00	0.0 ± 0.0

^Δ $P < 0.05$ vs DG

由表 5 可知,与正常对照组相比,D-半乳糖模型组大鼠皮质骨内外膜的动态参数无明显变化 ($P > 0.05$),提示 D-半乳糖对大鼠皮质骨内外膜的骨形成和矿化作用均无明显作用。与 D-半乳糖模型组比较,复方司坦唑醇阳性对照组的 % P-L. Pm、P-MAR、P-BFR/BS 分别下降了 36.9% ($P < 0.05$)、27.8% ($P < 0.05$)、56.1% ($P < 0.05$),低剂量人参茎叶皂苷组的 P-MAR、P-BFR/BS 分别下降了

27.8% ($P < 0.05$)、37.2% ($P < 0.05$),提示复方司坦唑醇、低剂量的人参茎叶皂苷可抑制 D-半乳糖大鼠皮质骨骨外膜的骨矿化和骨形成作用;而高剂量人参茎叶皂苷组的皮质骨外膜的 % P-L. Pm、P-MAR、P-BFR/BS 有增加趋势,但均无统计学意义 ($P > 0.05$),说明高剂量的人参茎叶皂苷对 D-半乳糖大鼠皮质骨外膜骨形成和矿化作用无影响。

2.4 人参茎叶皂苷对 D-半乳糖大鼠股骨物理指标

的影响(表6)

表6 人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠股骨物理指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effects of GSL on femur configuration in DG rats($\bar{x} \pm s$)

Group	n	BWW (g)	BWW/BW (g/g) * 1000	BDW (g)	BDW/BW (g/g) * 1000	BD (cm)	BL (cm)
NS	10	0.94 ± 0.12	2.52 ± 0.26	0.71 ± 0.07	1.90 ± 0.18	0.62 ± 0.04	3.60 ± 0.11
DG	10	0.96 ± 0.11	2.30 ± 0.12*	0.71 ± 0.06	1.69 ± 0.11**	0.62 ± 0.05	3.63 ± 0.11
GSL(L)	10	0.95 ± 0.16	2.33 ± 0.31	0.68 ± 0.08	1.66 ± 0.06	0.59 ± 0.04	3.53 ± 0.15
GSL(H)	10	1.09 ± 0.09 ^Δ	2.46 ± 0.20	0.73 ± 0.08	1.65 ± 0.12	0.64 ± 0.04	3.57 ± 0.12

与正常对照组(NS)比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与D-半乳糖模型组(DG)比较,^Δ $P < 0.05$

表6中,BWW为大鼠股骨湿重,BDW为大鼠股骨干重,BW为大鼠体重,BD为股骨宽度,BL为股骨长度。与正常对照组比较,D-半乳糖模型组大鼠股骨BWW/BW、BDW/BW明显降低($P < 0.05$),但BL和BD无明显变化($P > 0.05$),提示D-半乳糖对大鼠股骨的形状改变不大,但使股骨的重量降低。与D-半乳糖模型组比较,低剂量人参茎叶皂苷、高剂量人参茎叶皂苷组大鼠股骨BDW/BW、BWW/BW无明显变化($P > 0.05$),提示人参茎叶皂苷未能有效预防D-半乳糖所致大鼠股骨重量的降低。

2.5 人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠股骨生化指标的影响(表7)

由表7的结果可见,与正常对照组比较,D-半乳糖模型组大鼠股骨骨钙含量下降显著($P < 0.05$),

表7 人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠股骨生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Effects of GSL on biochemical indices of femur in DG rats($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Hyp (mg/g)	Ca (mg/g)	P (mg/g)	Ca/Hyp (mg/mg)
NS	10	14.7 ± 2.6	137 ± 37	2.3 ± 0.6	9.3 ± 2.4
DG	10	12.1 ± 1.6	74 ± 44*	1.8 ± 1.1	6.0 ± 3.7
GSL(L)	10	21.6 ± 4.3 ^{ΔΔ}	102 ± 43	2.2 ± 0.8	5.1 ± 2.8
GSL(H)	10	12.1 ± 4.1	137 ± 79	2.6 ± 0.6	15.3 ± 15.6

与正常对照组(NS)比较,* $P < 0.05$;与D-半乳糖模型组(DG)比较,^Δ $P < 0.05$

其他参数无明显变化,提示D-半乳糖可使大鼠无机质骨钙显著丢失。与D-半乳糖模型组比较,低剂量人参茎叶皂苷、高剂量人参茎叶皂苷组的Ca值有

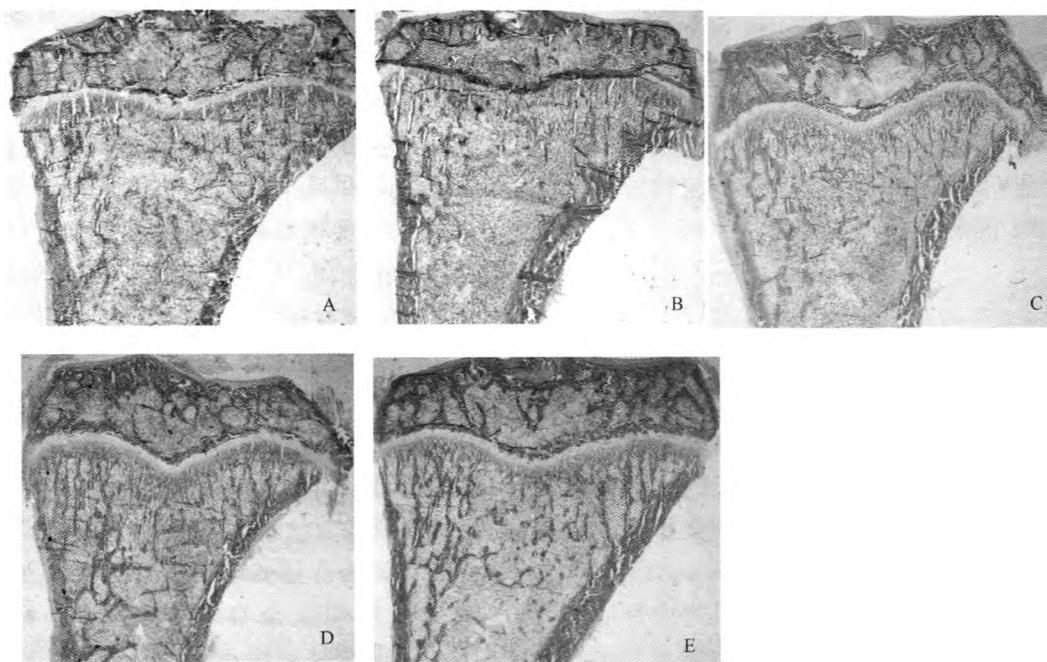


图1 人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠胫骨上段骨组织形态学影响

Fig.1 Effects of GSL on bone histomorphometry of PTM in DG rats

(Masson-Goldner Trichrome 染色,5 μ m,放大倍数为10 \times 1)

A NS组;B DG组;C GSL(L)组;D GSL(H)组;E CP组

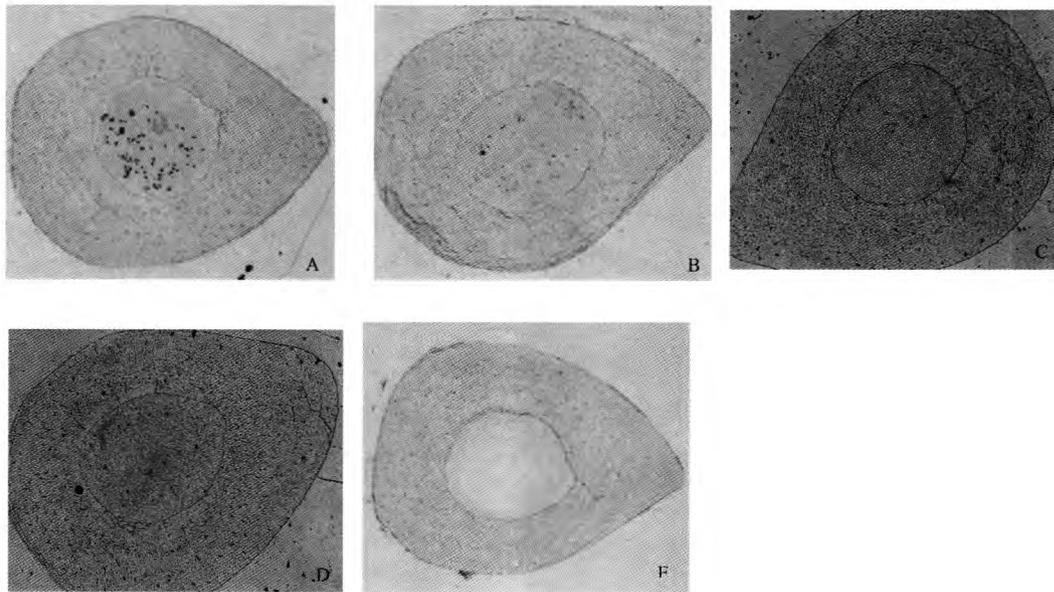


图 2 人参茎叶皂苷对 D-半乳糖大鼠胫骨中段骨组织形态学影响

Fig. 2 Effects of GSL on bone histomorphometry of Tx in DG rats

(不脱钙骨未染色磨片, 40 μm , 放大倍数为 10×1)

A NS 组; B DG 组; C GSL(L) 组; D GSL(H) 组; E CP 组

增多的趋势但无统计学意义, 低剂量人参茎叶皂苷组的 Hyp 值显著增加 ($P < 0.01$), 提示人参茎叶皂苷未能有效预防 D-半乳糖所致的无机质丢失; 但低剂量的人参茎叶皂苷可以提高 D-半乳糖大鼠骨有机质的相对含量。

2.6 骨切片形态学

图中可见 DG 组大鼠 PTM 松质骨骨量明显减少, CP 组和 GSL 高低剂量组均有一定的预防作用。

图中可见 DG 组大鼠 Tx 皮质骨髓腔扩大, 皮质骨面积比例下降。GSL 高剂量组有一定的预防作用, CP 组、GSL 低剂量组作用不大。

3 讨论

D-半乳糖大鼠胫骨上段松质骨的骨小梁面积百分比和骨小梁宽度明显减少, 微观结构疏松退化, 骨小梁分离度和破骨细胞数目显著增加, 骨表面吸收增多; 胫骨中段皮质骨皮质骨面积比例下降, 骨髓腔扩大, 皮质骨内外膜的骨形成作用无明显作用。结果提示 SD 大鼠皮下注射 D-半乳糖 $100 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 14 周后, 大鼠的胫骨上段松质骨和中段皮质骨呈现骨质疏松的表现。骨量的丢失可能与大鼠皮下注射 D-半乳糖后缺乏睾酮有关^[7]。体内雄激素的缺乏会引起破骨细胞寿命延长、数目增多, 骨吸收增多; 而成骨细胞寿命缩短, 骨形成减少, 使破骨细胞的骨吸收活动和成骨细胞的骨形成活动相互偶联被打

破, 平衡失调, 导致破骨细胞的骨吸收活动增强, 导致骨丢失^[8]。睾酮主要作用表现在间接合成蛋白, 促使骨内胶原形成, 只有骨胶原形成得到充分的保障, 钙、磷等矿物质才能更好地在骨内沉积。另一方面睾酮可在骨内转化为二氢睾酮, 二氢睾酮对离体鼠成骨细胞的增殖起直接增强作用, 并呈剂量依赖性。此外, 二氢睾酮对成骨细胞的刺激可被雄性激素拮抗剂所抑制, 并发现人成骨细胞上有雄激素受体 mRNA 表达。因此, 睾酮在骨代谢的过程中不仅参加了骨形成, 而且参与了骨吸收过程, 睾酮的缺乏是导致 D-半乳糖雄性大鼠骨形成降低和骨量丢失的一个直接原因。OP 的发生是一个渐进的过程, 骨代谢的物理和生化检查能较早发现骨代谢异常, 因此在 OP 的早期诊断中具有重要价值。实验结果显示, D-半乳糖对大鼠股骨的形状改变不大, 但使股骨重量降低, 股骨的钙显著丢失, 磷呈下降的趋势, Hyp 的含量无明显变化, 提示大鼠皮下注射 D-半乳糖后使骨质成分结构和比例发生改变, 无机质含量减少而有机质含量变化不大。可能由于 D-半乳糖的氧化应激引起全身各器官受损、系统功能衰退^[9-10], 促进机体对钙、磷的吸收利用, 导致钙、磷沉积落后于骨基质的形成, 造成骨矿物质的下降, 骨质量的恶化。

司坦唑醇是一种人工合成的同化类激素, 能提高骨质疏松病人的骨密度, 具有促进骨形成和抑制

骨吸收作用,对治疗骨质疏松有一定的疗效。吡拉西坦是一种抗脑衰老的药,能修复中枢受损的神经细胞,对抗D-半乳糖引起的中枢神经原老化。复方司坦唑醇可抑制D-半乳糖大鼠胫骨上段松质骨的骨吸收,有效预防骨量丢失。但对D-半乳糖大鼠胫骨中段的皮质骨骨量作用不大。可能是由于皮质骨对药物复方司坦唑醇的反应程度不如松质骨敏感,如治疗骨质疏松药物氟化物、双膦酸盐类以及PTH对皮质骨的效果不明显^[11-13]。

应用人参茎叶皂苷后,骨矿含量有增加的趋势,骨羟脯氨酸(Hyp)明显增加。羟脯氨酸(Hyp)是骨胶原中的特殊成分,在骨胶原中含量比较稳定,约占12.5%,因此根据骨Hyp的含量可推算出骨有机质的相对含量,故Hyp含量增加是骨中有机质增加的标志,而有机成分包括大量胶原纤维和少量基质,其中胶原纤维占90%,主要由成骨细胞分泌产生^[14]。低剂量的人参茎叶皂苷可使骨羟脯氨酸(Hyp)明显增加可能与其促进成骨细胞活性有关,我们课题组也曾发现人参茎叶皂苷能有效预防去卵巢大鼠的骨量丢失,具有促进骨形成的作用^[5],这估计与其能促进蛋白质合成^[1]、且在一定浓度范围内对能促进骨髓间充质干细胞和粒-巨噬系祖细胞的生长^[15]有关。低剂量的人参茎叶皂苷可使D-半乳糖大鼠胫骨上段松质骨的骨小梁宽度增加,高剂量的人参茎叶皂苷可使D-半乳糖大鼠胫骨上段松质骨的骨小梁面积百分比和骨小梁数量增加,高低剂量的破骨细胞数目显著减少,可见人参茎叶皂苷的骨药理作用是抑制破骨细胞的活性,减少了破骨细胞的周长和破骨细胞的数目,增加骨量。本课题组也曾通过将人参茎叶皂苷用于去卵巢大鼠造成的骨丢失,证明人参茎叶皂苷对骨代谢的特点是抑制骨吸收,但不明显抑制骨形成^[15],与本实验基本吻合。高剂量的人参茎叶皂苷可使D-半乳糖大鼠胫骨中段皮质骨面积比例增加,骨髓腔缩小,但对皮质骨内外膜的骨形成作用无明显作用。提示高、低剂量的人参茎叶皂苷均可有效预防D-半乳糖对大鼠松质骨显微结构的破坏且高剂量的人参茎叶皂苷效果略优。高剂量的人参茎叶皂苷可有效预防D-半乳糖引起的大鼠胫骨中段的皮质骨骨量丢失,而低剂量效果不明显。

【参 考 文 献】

- [1] 要瑞丽. 对人参茎叶皂苷的初步性研究. 兽药开发, 2010, 02: 13-14.
- [2] Wang BX, Zhou QL, Yang bt, et al. Advance in Chinese btedieihal Materials Research. Singapore: World Scientific Publ Co, Singapore, 1985. 519-567.
- [3] 史艳秋, 陈畅, 顾黎. 人参茎叶皂甙对衰老模型小鼠脑组织相关酶活性的影响. 上海中医药杂志, 2005, 39(11): 50-52.
- [4] 罗红梅, 崔燎, 吴铁. D-半乳糖对雄性大鼠腰椎骨密度和血清睾酮含量的影响. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(6): 670-673.
- [5] Cui Liao, Wu Tie, Liu Xiao-qing et al. Prevention effects of gensenosides on osteopenia of rat induced by ovariectomy. Acta Pharmacologica Sinica, 2001, 22(5): 428-434.
- [6] 张新乐, 吴铁, 崔燎, 等. 复方司坦唑醇对D-半乳糖大鼠不同部位骨骼的影响. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(28): 5141-5145.
- [7] 罗红梅, 崔燎, 吴铁. D-半乳糖对不同性别大鼠骨形态计量学的影响. 中国药理学通报, 2004, 20(10): 1182-1185.
- [8] 甘卫东, 戴玉田, 孙则禹, 等. 男性雄激素与骨代谢. 中华男科学, 2003, 9(1): 64-66.
- [9] 许扬, 吴涛, 顾佳黎, 等. D-半乳糖诱导衰老动物模型研究进展. 中国老年学杂志, 2009, 29(7): 1710-1713.
- [10] 邱柏程, 刘庆丰. D-半乳糖大鼠衰老模型的评价. 广西医学, 2009, 31(7): 918-920.
- [11] Riggs BL, Hodgson SF, Fallon M, et al. Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med, 1990, 22: 802-809.
- [12] Chappard D, Petitjean M, Alexandre C, et al. Cortical osteoclasts are less sensitive to etidronate than trabecular osteoclasts. J Bone Miner Res, 1991, 6: 673-680.
- [13] Reeve J, Davies UM, Hesp R, et al. Treatment of osteoporosis with human parathyroid peptide and observation on effect of sodium fluoride. Br J Med, 1990, 301, 314-318.
- [14] 邹仲之主编. 组织学与胚胎学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 47-49.
- [15] 郭少三, 黄畅, 韩大良, 等. 人参茎叶皂苷对体外条件下小鼠骨髓间充质干细胞和粒-巨噬系祖细胞增殖的影响. 中医药导报, 2007, 13(6): 6-7, 14.
- [16] 崔燎, 吴铁, 刘晓青, 等. 人参茎叶皂甙与小剂量雌激素联合用药防治去卵巢大鼠骨丢失. 药学报, 2002, 37(7): 501-505.

(收稿日期: 2012-07-21)

人参茎叶皂苷对D-半乳糖大鼠不同部位骨骼的影响

作者: 张新乐, 吴铁, 崔燎, 刘钰瑜, 姚卫民, 许碧莲, 邹丽宜, 陈文双
作者单位: 广东医学院药理教研室, 湛江, 524023
刊名: 中国骨质疏松杂志 **ISTIC**
英文刊名: Chinese Journal of Osteoporosis
年, 卷(期): 2013, 19(3)

参考文献(16条)

1. 要瑞丽 对人参茎叶皂苷的初步性研究 2010
2. Wang BX;Zhou QL;Yang bt Advance in Chinese btedieihal Materials Research 1985
3. 史艳秋;陈畅;顾黎 人参茎叶皂甙对衰老模型小鼠脑组织相关酶活性的影响 2005(11)
4. 罗红梅;崔燎;吴铁 D-半乳糖对雄性大鼠腰椎骨密度和血清睾酮含量的影响 2005(06)
5. Cui Liao;Wu Tie;Liu Xiao-qing Prevention effects of gensenosides on o steopenia of rat induced by ovariectomy 2001(05)
6. 张新乐;吴铁;崔燎 复方司坦唑醇对D-半乳糖大鼠不同部位骨骼的影响 2010(28)
7. 罗红梅;崔燎;吴铁 D-半乳糖对不同性别大鼠骨形态计量学的影响 2004(10)
8. 甘卫东;戴玉田;孙则禹 男性雄激素与骨代谢 2003(01)
9. 许扬;吴涛;顾佳黎 D-半乳糖诱导衰老动物模型研究进展 2009(07)
10. 邱柏程;刘庆丰 D-半乳糖大鼠衰老模型的评价 2009(07)
11. Riggs BL;Hodgson SF;Fallon M Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis 1990
12. Chappard D;Petitjean M;Alexandre C Cortical osteoclasts are less sensitive to etidronate than trabecular osteoclasts 1991
13. Reeve J;Davies UM;Hesp R Treatment of osteoporosis with human parathyroid peptide and observation on effect of sodium fluoride 1990
14. 邹仲之 组织学与胚胎学 2001
15. 郭少三;黄畅;韩大良 人参茎叶皂苷对体外条件下小鼠骨髓间充质干细胞和粒-巨噬系祖细胞增殖的影响 2007(06)
16. 崔燎;吴铁;刘晓青 人参茎叶皂甙与小剂量雌激素联合用药防治去卵巢大鼠骨丢失 2002(07)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201303013.aspx