

· 药物研究 ·

复方贞术调脂胶囊对糖皮质激素诱导骨质疏松大鼠血脂和骨转换指标的研究

孙平¹ 虎松艳^{2*} 巫培康¹ 董群伟¹ 王晓东¹

1. 广东药学院附属第一医院骨质疏松基地

2. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510080

中图分类号: R363 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 10-1308-04

摘要: 目的 观察复方贞术调脂胶囊(FTZ)对糖皮质激素诱导骨质疏松大鼠血脂水平和血清骨转换指标的影响。方法 3 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 32 只,随机等分为 4 组:Nrm 组为正常对照组, Met 组为皮下注射甲强龙(Met) 5 mg/(kg·d),每周 5 次, FTZL 组和 FTZH 组在 Met 组基础上每日分别给予低剂量 FTZ(1.5 g/kg)和高剂量 FTZ(6 g/kg)灌胃,实验期为 12w。ELISA 法测量血脂四项(TC、TG、HDL-C、LDL-C),血清中 I 型前胶原氨基末端前肽(N-terminal propeptide of type I procollagen, PINP)、I 型胶原羧基端肽(C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen, β -CTX)和 OC(osteocalcin)含量。结果 Met 组大鼠体质量、血清 HDL 和 OC、PINP 均显著低于 Nrm 组相应指标($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$),血清 TC、TG、LDL 和 β -CTX 显著高于 Nrm 组($P < 0.01$);FTZL 组大鼠的体质量和 PINP 较 Met 组有升高趋势, β -CTX 有降低趋势,但两组间各指标均无显著性差异($P > 0.05$);FTZL 组大鼠血清 HDL 和 OC 显著高于 Met 组($P < 0.05$),血清 TC、TG 和 LDL 显著低于 Met 组($P < 0.05$);FTZH 组大鼠体质量、血清 HDL、OC 和 PINP 显著高于 Met 组相应指标($P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$),血清 TC、TG、LDL 和 β -CTX 显著低于 Met 组($P < 0.05$);FTZH 组大鼠血清 TC、HDL、LDL 和 OC 显著高于 FTZL 组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 FTZ 对糖皮质激素诱导骨质疏松大鼠的血脂和骨转换有一定的改善作用。

关键词: 糖皮质激素;复方贞术调脂胶囊;血脂;骨转换;骨质疏松

Effects of FTZ on blood lipids and bone turnover markers in glucocorticoid-treated rats

SUN Ping¹, HU Songyan², WU Peikang¹, DONG Qunwei¹, WANG Xiaodong¹

1. Department of Osteoporosis, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University

2. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: HU Songyan, Email: sing_ping@163.com

Abstract: Objective To study the effects of FTZ on blood lipids and bone turnover markers in glucocorticoid-treated rats.

Method Thirty two male SD rats at the age of 3 months were randomized into four groups: age-matched normal control (Nrm), methylprednisolone (Met) (5.0 mg/kg, sc, per day for 5 days/week), Met plus FTZL gavage administration (1.5 g/(kg·d)) and Met plus FTZH gavage administration (6 g/(kg·d)). The study period was 12 weeks. The serum levels of TC, TG, HDL-C, LDL-C, N-terminal propeptide of type 1 procollagen (PINP), C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen (β -CTX) and Osteocalcin (OC) were assessed using ELISA. **Result** Met had significantly lower body weight, HDL, OC, PINP ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$) than Nrm, and Met had significantly higher TC, TG, LDL and β -CTX ($P < 0.01$). There were no significant differences between Met and FTZL in body weight, PINP and β -CTX ($P > 0.05$), but FTZL had significantly higher HDL and OC ($P < 0.05$), and significantly lower TC, TG and LDL ($P < 0.05$) than Met. FTZH had significantly higher body weight, HDL, OC and PINP ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), and significantly lower TC, TG, LDL and β -CTX ($P < 0.05$) than Met. FTZH had significantly higher TC, HDL, LDL and OC ($P < 0.05$, $P < 0.01$) than FTZL. **Conclusion** FTZ had active effect in the blood lipid and bone turnover markers in glucocorticoid-treated rats.

Key words: Glucocorticoid; FTZ; Blood lipid; Bone turnover markers; Osteoporosis

基金项目: 广东省科技计划项目(2016A030303061)

* 通讯作者: 虎松艳, Email: sing_ping@163.com

糖皮质激素性骨质疏松症(glucocorticoid-induced osteoporosis, GIOP),已成为普遍存在的临

床问题。GIOP 是继发性骨质疏松的首要原因,也是骨质疏松症的第 3 位原因^[1]。糖皮质激素首先是引起脂质代谢紊乱,其次引起骨量减少,近年来研究发现他汀类药物在治疗骨质疏松中起到明显的作用^[2,3],但对肝脏副作用较明显。基于此,本研究选用我校自主创新研发的具有护肝调脂作用的复方贞术调脂胶囊(FTZ),以期对糖皮质激素所致血脂代谢异常和 GIOP 的防治起到一定的改善作用。

1 材料和方法

1.1 动物模型和实验分组

3 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 32 只,体质量(205 ± 15)g,购于南方医科大学实验动物中心。适应喂养 7d 后,随机平均分为 4 组:Nrm 组为正常对照组, Met 组为皮下注射甲强龙(Met)5 mg/(kg·d),每周 5 次^[4],低剂量组(FTZL)和高剂量组(FTZH)分别在 Met 组基础上每天给予 FTZ 1.5g/kg 和 FTZ 6g/kg 灌胃,4 组大鼠均单笼喂养,自由进食和饮用纯净水,实验期 12w。实验期满后测量大鼠体质量后,用 3.3 % 浓度的水合氯醛溶液(10mL/kg)麻醉,左心室放血处死大鼠。收集血标本做血脂和血清骨转换指标检测。

1.2 统计学处理

所有数据采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析,采用组间两独

立样本 *t* 检验及方差分析(one-way ANOVA)进行统计分析,LSD 多重检验,*P* < 0.05 为有显著性差异。

2 结果

2.1 FTZ 对糖皮质激素大鼠体质量的影响

Met 组大鼠体质量增加缓慢,实验期满后 Met 组大鼠体质量明显低于 Nrm 组(*P* < 0.05),FTZL 组和 FTZH 组大鼠体质量较 Met 组显著增加(*P* < 0.05, *P* < 0.01),结果见表 1。

表 1 各组大鼠体质量的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of body weight in the study groups($\bar{x} \pm s$)			
分组	标本数	实验前体质量(g)	实验后体质量(g)
Nrm 组	8	205 ± 15	351 ± 23
Met 组	8	206 ± 16	309 ± 17 **
FTZL 组	8	204 ± 18	329 ± 24 *
FTZH 组	8	207 ± 15	348 ± 22 **

注:与 Nrm 组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01,****P* < 0.001;与 Met 组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01,****P* < 0.001;与 FTZL 组比较,▲*P* < 0.05,▲▲*P* < 0.05,▲▲▲*P* < 0.05

2.2 FTZ 对糖皮质激素大鼠血脂的影响

实验期满后,Met 组大鼠血清中 TC、TG 和 LDL 显著升高(*P* < 0.05),HDL 显著降低(*P* < 0.01)。FTZL 组和 FTZH 组大鼠血清中 TC、TG、LDL 和 LDL 较 Met 组均显著降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01, *P* < 0.001),且血清 TC、HDL 和 LDL 水平 FTZH 组显著高于 FTZL 组(*P* < 0.05, *P* < 0.01),结果见表 2。

表 2 各组大鼠血脂的变化(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of blood lipids in study groups(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

分组	标本数	TC	TG	HDL	LDL
Nrm 组	8	1.55 ± 0.09	0.46 ± 0.06	1.17 ± 0.08	0.89 ± 0.08
Met 组	8	1.88 ± 0.10 ***	0.61 ± 0.10 **	1.03 ± 0.05 ***	1.04 ± 0.05 **
FTZL 组	8	1.71 ± 0.08 **▲	0.53 ± 0.06 *	1.10 ± 0.07 **	0.96 ± 0.08 *
FTZH 组	8	1.54 ± 0.11 ***▲▲	0.46 ± 0.07 ***	1.16 ± 0.06 ***	0.87 ± 0.08 ***▲▲

注:与 Nrm 组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01,****P* < 0.001;与 Met 组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01,****P* < 0.001;与 FTZL 组比较,▲*P* < 0.05,▲▲*P* < 0.05,▲▲▲*P* < 0.05

2.3 药物对糖皮质激素大鼠血清骨转换指标的影响

4 组大鼠血清 OC、P1NP 和 β-CTX 均有差异(*P* < 0.01, *P* < 0.05),Met 组 OC 和 P1NP 显著低于 Nrm 组(*P* < 0.001),β-CTX 显著高于 Nrm 组(*P* < 0.01);FTZL 组 OC 较 Met 组显著升高(*P* < 0.05),P1NP 有增加趋势,但无显著性差异(*P* > 0.05);β-CTX 有降低趋势,但无显著性差异(*P* > 0.05);FTZH 组 OC 和 P1NP 较 Met 组显著性升高(*P* < 0.001, *P* < 0.05),β-CTX 显著性降低(*P* < 0.05);

FTZH 组 OC 较和 FTZL 组显著性增加(*P* < 0.05);余各指标间均无显著性差异(*P* > 0.05),结果见表 3。

3 讨论

上世纪五十年代开始将糖皮质激素性作为抗炎和免疫抑制药物广泛应用于慢性阻塞性肺病、哮喘、风湿免疫性疾病、炎性肠病等多种疾患及器官移植后的治疗中。长期使用糖皮质激素会导致脂质代谢紊乱、骨质疏松及骨折危险性增加等副作用,成为其

表 3 各组大鼠血清骨转换指标的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Biochemical markers of bone turnover in study groups($\bar{x} \pm s$)

分组	标本数	OC($\mu\text{g/L}$)	P1NP(ng/mL)	β -CTX(pg/mL)
Nrm 组	8	2.76 $\pm$ 0.18	308.03 $\pm$ 71.95	21.21 $\pm$ 15.17
Met 组	8	1.56 $\pm$ 0.10 ***	180.91 $\pm$ 54.27 ***	43.17 $\pm$ 13.90 **
FTZL 组	8	1.72 $\pm$ 0.11 *** [#]	242.35 $\pm$ 51.36 *	36.05 $\pm$ 13.50 *
FTZH 组	8	1.90 $\pm$ 0.13 *** ^{###}	260.11 $\pm$ 62.25 [#]	29.37 $\pm$ 10.08 [#]

注:与 Nrm 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;与 Met 组比较,[#] $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$;与 FTZL 组比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.05$,^{ΔΔΔ} $P < 0.05$

临床应用的主要障碍。据统计,在美国超过 50% 的糖皮质激素使用者并发骨量丢失及骨质疏松性骨折^[5]。研究发现,绝经后妇女以及大剂量使用糖皮质激素的患者往往都伴有脂质代谢紊乱和骨质疏松^[6,7],有学者调查发现绝经后妇女的血浆 LDL 与股骨颈及全髌 BMD 呈显著负相关^[8],TC 和 LDL 与股骨颈和腰椎 BMD 呈显著负相关^[9]。高脂血症与骨质疏松两者在发病机制及临床治疗方面的关系已引起人们越来越多的关注。本实验发现,给予糖皮质激素 12w 后,大鼠 TC、TG 和 LDL 显著升高,而 HDL 降低,这可能是糖皮质激素抑制肝细胞摄入低密度脂蛋白(LDL),减少血浆中 LDL 向肝内转移代谢有关,从而导致总 TC 升高^[10]。此外,长期应用糖皮质激素可引起胰岛素抵抗,胰岛素抵抗时载脂蛋白合成减慢,导致 HDL 下降,TG 升高。

在防治脂质代谢紊乱及骨质疏松方面,中医药有着较大的开发和应用价值。本研究团队在郭皎教授的带领下自主研发的 FTZ 主要以佛手、黄连、杜仲、白术、丹参等为主要成分,具有调脂、降糖等一系列作用。郭皎^[11-14]等发现,FTZ 能有效调节实验性动脉粥样硬化家兔的脂质代谢异常,显著降低非酒精性脂肪肝大鼠空腹血糖、胰岛素、胰岛素抵抗指数,下调大鼠肝组织中 LXR- α 和 SREBP-1c mRNA 的表达,对高脂血症相关的 HMG-CoA 还原酶(HMGR),肝脏 X 受体(LXR),过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)等均有潜在作用。我们实验发现,给予 FTZ 能够降低糖皮质激素大鼠血清 TC、TG 和 LDL,升高 HDL,对糖皮质激素导致的脂质代谢紊乱有明显改善作用。

骨转换的过程是成骨细胞形成新骨和破骨细胞吸收旧骨的过程,骨量的多少取决于同一骨重建单位中骨形成与骨吸收的平衡。OC、P1NP 和 β -CTX 是目前临床常用的骨形成及骨吸收的生化标志物^[15]。本研究提示,糖皮质激素干预后 12w 后,Met 组大鼠血清 OC、P1NP 较对照组显著降低, β -CTX 较对照组显著升高,提示糖皮质激素干预大鼠的成

骨细胞活性降低、破骨细胞活性增强。这与以往研究一致^[16,17],使用糖皮质激素后患者血清 P1NP 浓度较对照组明显降低, β -CTX 浓度则明显升高,提示骨代谢以骨形成降低,骨吸收增加为主;但亦有研究提示^[18]给予糖皮质激素干预大鼠的成骨细胞活性和破骨细胞活性均增强,与本研究结果不符,可能与研究对象、药物剂量及观察时间不同有关。本研究给予 FTZH 能够显著增加大鼠血清 OC 和 P1NP 水平,显著降低 β -CTX 水平,且 FTZH 组血清 OC 水平显著高于 FTZL 组,提示 FTZ 能够增加糖皮质激素诱导大鼠的骨形成,抑制骨吸收,改善骨转换,增加骨重建。

本研究结果初步表明,FTZ 能够改善糖皮质激素诱导骨质疏松大鼠的脂质代谢异常,改善骨转换,增加骨重建。这提示 FTZ 对糖皮质激素所致血脂代谢异常和 GIOP 的防治均具有积极作用。中药尤其是中药复方具有多成分,多靶点发挥多重功效的特点,常表现为作用持久,标本兼治,给我们提供了新的思路和方法,并取得了一定的成果,后续 FTZ 对骨代谢的影响及其机制方面的探讨正在进行中。

【参 考 文 献】

[1] Hansen LB, Vondracek SF. Prevention and treatment of nonpostmenopausal osteoporosis. Am J Health Syst Pharm, 2004, 61(24):2637-2654.

[2] Brittain SB, Gohil SV, Nair LS, et al. Statins as bioactive molecules to support bone regeneration. Curr Med Chem, 2014, 21(25):2980-2988.

[3] Adah F, Benghuzzi HA, Tucci MA. Cholesterol production inhibitor (statin) increased angiogenesis in surgically created femoral defect in an animal model. Biomed Sci Instrum, 2014, 50:54-61.

[4] Hulley PA, Conradie MM, Langeveldt CR, et al. Glucocorticoid induced osteoporosis in the rat is prevented by thetyrosine phosphatase inhibitor, sodium orthovanadate. Bone, 2002, 31(1):220-229.

(下转第 1314 页)

【参 考 文 献】

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015, 292.
Chinese Pharmacopoeia Commission. The People's Republic of China pharmacopoeia (Vol. 1) [S]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2015, 292.
- [2] Wacharaporn Tiyasatkulvit, Narattaphol Charoenphandhu, et al. Upregulation of osteoblastic differentiation marker mRNA expression in osteoblast-like UMR106 cells by puerarin and phytoestrogens from *Pueraria mirifica* [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19: 1147-1155.
- [3] 吴乃中, 李红丽, 崔淑云. 葛根对成骨细胞 OPG、RANKL mRNA 表达的影响[J]. *中华医学研究杂志*, 2006, 6(1): 6-9.
Wu NZ, Li HL, Cui SY. Effects of pueraria on the expression of OPG/RANKL mRNA of osteoblasts [J]. *Chinese Journal of Medical Research*, 2006, 6(1): 6-9.
- [4] 王翰华, 陆元勋, 胡梦月, 等. 分光光度法测定葛根叶中总黄酮的含量[J]. *科技创新与应用*, 2015, 12: 21.
Wang HH, Lu YX, Hu MY, et al. Spectrophotometric method for determining the content of Kudzu leaf flavonoids [J]. *Technology Innovation and Application*, 2015, 4 (12): 21.
- [5] 王海敏, 汤旭磊, 田德增. 叶酸对去卵巢大鼠骨质疏松的保护作用[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2011, 27(7): 594-598.
Wang HM, Tang HM, Tang XL. Protective effect of folic acid on osteoporosis in ovariectomized rats [J]. *Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2011, 27(7): 594-598.
- [6] 李世昌, 李浏, 刘体伟, 等. 不同方式运动对去卵巢大鼠骨密度、骨生物力学及代谢指标的影响[J]. *体育学刊*, 2012, 19(2): 132-137.
Li SC, Ji L, Liu TW, et al. Effects of different ways of exercising on the bone mineral density and bone biomechanical and metabolic indexes of ovariectomized rats [J]. *Journal of Physical Education*, 2012, 19(2): 132-137.
- [7] 陈立强, 赵文杰, 王振, 等. 杜仲叶醇提物对去卵巢大鼠所致骨质疏松的防治作用[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(8): 2190-2191.
Chen LQ, Zhao WJ, Wang Z, et al. The therapeutic effect of ethanol extracts of *Eucommia ulmoides* leaves on osteoporosis in ovariectomized rats [J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2015, 35(8): 2190-2191.
- [8] 王艳, 周广举, 严宗逊, 等. 川牛膝在去卵巢大鼠体内的骨保护作用[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(8): 918-921.
Wang Y, Zhou GJ, Yan ZX, et al. The protective effect of *cyathula officinalis kuan* on bone in ovariectomized rats [J]. *Chin J Osteoporos*, 2015, 21(8): 918-921.
- (收稿日期: 2016-03-25)
-
- (上接第 1310 页)
- [5] Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Fracture risk associated with systemic and topical corticosteroids. *J Intern Med*, 2005, 257(4): 374-384.
- [6] Tian LI, Yu X. Lipid metabolism disorders and bone dysfunction-interrelated and mutually regulated. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 783-794.
- [7] Hernandez JL, Olmos JM, Romana G, et al. Bone mineral density in statin users: a population-based analysis from a Spanish cohort. *J Bone Miner Metab*, 2014, 32(2): 184-191.
- [8] Li SI, Guo H, Liu Y, Wu F, et al. Relationships of serum lipid profiles and bone mineral density in postmenopausal Chinese women. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2015, 82(1): 53-58.
- [9] Garg MK, Marwaha RK, Tandon N, et al. Relationship of lipid parameters with bone mineral density in Indian population. *Indian J Endocrinol Metab*, 2014, 18(3): 325-332.
- [10] XU Chong, XU Guo. Glucocorticoids, Adipose Metabolism and Insulin Resistance [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2009, 40(1): 19-23.
- [11] Tang CP, Jang T, Guo J, et al. The Effect of Fufang Zhenzhu Tiaozhi Capsule on Lipid Metabolism in Atherosclerotic Rabbits. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2010, 33(8): 1285-1289 (in Chinese).
- [12] Yao HX, Guo J, Tang CP, et al. Liver hypolipidemic protection of Compound Zhenzhu Tiaozhi Capsula on nonalcoholic fatty liver disease in rats and its mechanism. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2011, 42(10): 2074-2077 (in Chinese).
- [13] Chen YF, Guo J, Yao HX, et al. Effect of compound Zhenzhu Tiaozhi capsule on LXR- α and SREBP-1c expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Guangdong Pharmaceutical University*, 2014, 30(4): 467-471 (in Chinese).
- [14] Wang L, Tao W, Luo D, et al. Potential synergistic effects of Chinese herbal prescription FTZ components detected in blood towards hepatic lipid-modulating targets. *Complement Ther Med*, 2014, 22(5): 887-893.
- [15] Li M, Li Y, Deng W, et al. Chinese bone turnover marker study: reference ranges for C-terminal telopeptide of type I collagen and procollagen I N-terminal Peptide by age and gender. *PLoS One*, 2014, 9(8): e103841.
- [16] Farahmand P, Marin F, Hawkins F, et al. Early changes in biochemical markers of bone formation during teriparatide therapy correlate with improvements in vertebral strength in men with glucocorticoid-induced osteoporosis. *Osteoporos Int*, 2013, 24(12): 2971-2981.
- [17] Liu XH, Lu W, Qian H, et al. The effect of glucocorticoid on bone mineral density and bone turnover makers in patients with glomerular diseases. *Journal of Practical Medicine*, 2014, 30(22): 3583-3586.
- [18] Ren H, Shen GY, Jiang XB, et al. Phasic changes of bone mass, bone turnover markers, and estrogen levels at different time points after glucocorticoid intervention and their correlation in rats. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2015, 29(30): 307-314.
- (收稿日期: 2015-12-07)