

温肾固疏方对绝经后骨质疏松大鼠骨代谢以及脂代谢的影响

舒高^{1*} 宋晓飞² 张轲³ 陈晓东⁴ 梁鹏展⁵

1. 广州中医药大学第三临床医学院, 广东 广州 510006
2. 南阳市中心医院骨科, 河南 南阳 473000
3. 宜宾市第二人民医院小儿外科, 四川 宜宾 644000
4. 深圳市罗湖区中医院, 广东 深圳 518000
5. 深圳平乐骨伤科医院, 广东 深圳 518000

中图分类号: R589 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018)11-1498-04

摘要: **目的** 探讨温肾固疏方改善骨质疏松和脂代谢异常的作用机制。**方法** 将60只大鼠的卵巢全部切除以建立绝经后骨质疏松模型,随机分为对照组($n=20$)、雌激素组($n=20$)和实验组($n=20$)。假去势组($n=20$)大鼠仅从卵巢周围切除少量脂肪。干预治疗8周后,采用酶联免疫法测定各组大鼠血清 PING、TRACP5b、OPG、BGP 的水平;并检测各组大鼠血脂指标。**结果** 与假去势组大鼠比较,对照组大鼠的股骨和股骨近端的 BMD 明显降低($P<0.05$);骨代谢指标和脂代谢指标水平均明显恶化(均 $P<0.05$)。灌胃治疗后,与对照组比较,雌激素组和实验组大鼠的股骨和股骨近端的骨密度水平明显升高($P<0.05$),并且两组大鼠的 PING、TRACP5b、BGP 水平均较显著提高(均 $P<0.05$),而 OPG 水平显著降低($P<0.05$)。此外,雌激素组和实验组大鼠的脂代谢指标水平均较对照组明显改善(均 $P<0.05$)。**结论** 温肾固疏方通过有效提高绝经后骨质疏松大鼠的骨密度,调节骨代谢和脂代谢指标水平,达到改善骨质疏松和调节血脂代谢的效果。

关键词: 绝经后骨质疏松;骨代谢;脂代谢;温肾固疏方

The effect of warming kidney and retention formula on bone and lipid metabolism in rats with postmenopausal osteoporosis

SHU Gao^{1*}, SONG Xiaofei², ZHANG Ke³, CHEN Xiaodong⁴, LIANG Pengzhan⁵

1. The Third Clinical Medicine School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China
2. Department of Orthopedics, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, China
3. Department of Pediatric Surgery, Yibin Second People's Hospital, Yibin 644000, China
4. Shenzhen Luohu District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518000, China
5. Shenzhen Pingle Orthopedic Hospital, Shenzhen 518000, China

* Corresponding author; SHU Gao, Email: ursqkm@163.com

Abstract: Objective To explore the mechanism of warming kidney and retention formula in relieving osteoporosis and lipid metabolic abnormality. **Methods** The ovaries of 60 rats were completely removed to establish postmenopausal osteoporosis model. The rats were then randomly divided into control group ($n=20$), estrogen group ($n=20$), and the experimental group ($n=20$). A small amount of fat was removed from around the ovary only in rats of the false castration group ($n=20$). After 8 weeks of intervention, the serum levels of type I collagen amino end lengthening peptide (PING), osteoprotegerin (OPG), tartrate acid phosphatase-5b (TRACP5b), and osteocalcin (BGP) were measured using ELISA method. The blood lipid index was measured with an automatic analyzer. **Results** Compared with the rats in the false castration group, the BMD value of the femur and the proximal femur in the control group decreased significantly ($P<0.05$), and all the levels of bone metabolism index and lipid metabolism index deteriorated significantly ($P<0.05$). After gavage treatment, compared with the control group, the BMD value of the femur and the proximal femur in the estragen group and the experimental group increased significantly ($P<0.05$), and the levels of PING, TRACP5b, and BGP in both groups increased significantly ($P<0.05$), while the level of OPG reduced

* 通信作者: 舒高, Email: ursqkm@163.com

significantly ($P < 0.05$). In addition, the levels of lipid metabolism in the estrogen group and the experimental group significantly improved than those in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Warming kidney and retention formula effectively improves bone mineral density, regulate bone metabolism and lipid metabolism, and achieve the effect of relieving osteoporosis and regulating blood lipid metabolism by effectively improving bone mineral density of postmenopausal osteoporotic rats.

Key words: postmenopausal osteoporosis; bone metabolism; lipid metabolism; warming kidney and retention formula

绝经后骨质疏松症是绝经后女性较为常见的一种全身性骨疾病。绝经后女性由于雌激素分泌不足,导致骨吸收抑制能力衰退,使得骨量流失加快;此外,有关研究发现女性雌激素水平下降还会导致血脂代谢异常的发生发展^[1],成为影响绝经后女性身体健康和生活质量的社会卫生问题。西医中常用的补充雌激素疗法在治疗过程中会增加患者发生心血管疾病的风险^[2]。中医学认为肾对骨骼的生长具有重要的作用。近年来有研究报道指出,采用中医补肾疗法可以改善绝经后女性的骨质疏松症状^[3]。本研究在建立绝经后骨质疏松大鼠模型的基础上,研究温肾固疏方对大鼠模型骨代谢及脂代谢指标的影响,探讨其改善骨质疏松和脂代谢异常的作用机制,以期进一步发掘中医药治疗绝经后骨质疏松症及脂代谢异常的临床价值。

1 材料和方法

1.1 实验动物

80只雌性未孕SPF大鼠(200 ± 20)g由郑州大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(豫)K2016-0002。大鼠在12h:12h的循环照明时间环境中饲养,温度为 $22.0 \sim 24.0^\circ\text{C}$,湿度为50%~60%。所有实验均按照动物保护与利用准则(批准文号SCXK 2012-0012)进行。

1.2 试剂

温肾固疏方由本院药房提供。I型胶原氨基端延长肽(PING)、抗酒石酸酸性磷酸酶-5b(TRACP5b)、骨保护素(OPG)、骨钙素(BGP)试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司。

1.3 模型建立与分组干预

80只雌性未孕SPF大鼠在喂养7d后,随机分为假去势组20只和去势组60只。去势组大鼠麻醉后,取俯卧位于手术面板上,在左右两侧腹后壁肌肉层较薄弱处打开腹腔,找到卵巢后将其连带输卵管末端轻轻提出体外,结扎后用眼科剪将卵巢全部切除;假去势组保留卵巢,只切除周围少量脂肪,其余操作同去势组。术后30d,将去势大鼠随机分为对照组($n = 20$)、雌激素组($n = 20$)和实验组($n =$

20)。雌激素组按照 $0.05 \text{ mg}/(\text{mL} \cdot 100 \text{ g})$ 戊酸雌二醇,实验组按照 $20 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 温肾固疏方药剂,对照组和假去势组大鼠按照 $0.5 \text{ mL}/100 \text{ g}$ 生理盐水,每天灌胃给药1次,连续治疗8周。

1.4 指标检测

最后一次治疗后,大鼠心室抽血处死,搜集血液不抗凝,放置2h后,分离血清,使用英诺华D280自动分析仪,测定血清血脂水平。取右侧股骨,使用法国medilink超声骨密度仪测量其骨密度(BMD)值。按照试剂盒说明书步骤要求,采用酶联免疫法测定PING、TRACP5b、OPG、BGP四项骨代谢指标。

1.5 统计学处理

应用SPSS19.0软件,骨代谢与脂代谢指标数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用LSD检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠骨密度值比较

与假去势组相比,对照组大鼠的股骨和股骨近端的BMD显著降低($P < 0.05$);雌激素组和实验组大鼠同样部位的BMD均较对照组显著增加($P < 0.05$)。详见表1。

表1 各组大鼠右侧股骨BMD($\bar{x} \pm s, \text{mg}/\text{cm}^2$)

Table 1 BMD value of the femur in rats in each group ($\text{mg}/\text{cm}^2, \bar{x} \pm s$)

组别	例数(只)	股骨	股骨近端
假去势组	20	242.39 ± 18.47	245.47 ± 24.87
对照组	20	$205.64 \pm 16.43^\Delta$	$203.36 \pm 22.14^\Delta$
雌激素组	20	$245.41 \pm 14.57^*$	$243.62 \pm 22.17^*$
实验组	20	$241.52 \pm 20.83^*$	$242.74 \pm 30.76^*$

注:与假去势组比较, $^\Delta P < 0.05$;与对照组比较, $^* P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠血清骨代谢指标比较

与假去势组相比,对照组大鼠的PING、TRACP5b、BGP水平显著提高(均 $P < 0.05$),OPG水平明显下降($P < 0.05$);灌胃治疗后,雌激素组和实验组大鼠的PING、TRACP5b、BGP水平均较对照组显著提高(均 $P < 0.05$),而OPG水平显著降低($P < 0.05$)。详见表2。

表2 各组血清 PING、TRACP5b、BGP、OPG 含量($\bar{x} \pm s$)Table 2 The contents of serum PING, TRACP5b, BGP, and OPG in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(只)	PING($\mu\text{g/L}$)	OPG($\mu\text{g/L}$)	TRACP5b(ng/L)	BGP($\mu\text{g/L}$)
假去势组	20	11.62 \pm 2.31	1.51 \pm 0.29	2.11 \pm 0.52	0.79 \pm 0.12
对照组	20	17.57 \pm 4.29 [△]	1.32 \pm 0.21 [△]	2.83 \pm 0.57 [△]	1.08 \pm 0.15 [△]
雌激素组	20	14.18 \pm 3.45*	1.46 \pm 0.24	2.24 \pm 0.53*	0.82 \pm 0.13*
实验组	20	12.42 \pm 3.08*	1.49 \pm 0.27*	2.27 \pm 0.41*	0.85 \pm 0.14*

注:与假去势组比较,[△] $P < 0.05$;与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠血脂指标比较

与假去势组大鼠比较,对照组大鼠四项血脂指标水平均明显恶化(均 $P < 0.05$);灌胃治疗后,雌激

素组和实验组大鼠的4项血脂指标水平较对照组均发生显著改善(均 $P < 0.05$)。详见表3。

表3 各组大鼠血脂指标水平($\bar{x} \pm s$, mmol/L)Table 3 The levels of serum lipids in each group (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TC	TG	LDL-C	HDL-C
假去势组	20	2.61 \pm 0.47	0.63 \pm 0.07	0.53 \pm 0.21	1.98 \pm 0.48
对照组	20	2.92 \pm 0.51 [△]	0.87 \pm 0.05 [△]	0.89 \pm 0.23 [△]	1.51 \pm 0.36 [△]
雌激素组	20	2.78 \pm 0.48*	0.75 \pm 0.06*	0.59 \pm 0.16*	1.87 \pm 0.31*
实验组	20	2.67 \pm 0.53*	0.72 \pm 0.09*	0.55 \pm 0.18*	1.89 \pm 0.34*

注:与假去势组比较,[△] $P < 0.05$;与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨论

骨代谢是破骨细胞和成骨细胞共同作用的过程。正常水平的雌激素不仅可直接通过成骨细胞及破骨细胞表面的受体刺激成骨细胞形成、抑制破骨细胞;还能通过降低甲状旁腺素的骨骼刺激来抑制破骨细胞^[4-5]。研究发现,绝经后女性的雌激素水平下降,导致骨单位的激活频率增加,骨转换和重建加快,促进了骨单位流失,使骨量下降^[6]。骨钙素(BGP)是一种由49个氨基酸组成的蛋白质,在调节骨钙代谢中起重要作用,其水平变化能反应骨代谢程度。有关研究发现,绝经后雌激素下降,会导致机体血液含钙量降低,诱发甲亢发生,进而使得高代谢型骨质疏松骨钙素升高^[7]。I型胶原氨基端延长肽(PINP)是骨形成的特异性指标,骨更新率越快,该值越高,反之越低,相关研究发现,绝经后骨质疏松女性血清PING值较正常女性明显下降^[8]。抗酒石酸酸性磷酸酶-5b(TRACP5b)是反映破骨细胞活动状态的重要标志物,破骨细胞在骨吸收过程中会产生大量的TRACP5b,有关研究提出绝经后骨质疏松症患者的TRACP5b水平明显高于骨密度正常的女性^[9]。骨保护素(OPG)是雌激素影响骨代谢的重要路径,是骨质疏松发生的重要因素之一^[10]。相关研究发现绝经女性的骨密度与OPG水平之间存在正相关关系^[11]。本研究结果发现,与假去势组大鼠

相比,去势组大鼠的股骨及其近端的骨密度值明显下降($P < 0.05$),并且骨代谢指标水平明显恶化(均 $P < 0.05$),与上述研究结果基本相符。

国内相关研究证实,绝经后女性雌激素分泌下降与血脂异常的发生发展密切相关^[12]。本研究结果显示,去势组大鼠的血脂指标水平较假去势组明显恶化(均 $P < 0.05$),与王景等^[13]研究结果基本一致,表明绝经后血脂代谢异常与雌激素分泌下降有关,主要原因是雌激素分泌下降导致肝脏酶对胆固醇、甘油三酯合成的抑制作用降低。

温肾固疏方主要由骨碎补、淫羊藿、党参、补骨脂等药材组成,以益肾滋阴为主,辅以温阳补气。温肾固疏方一方面可以通过强肾温阳来加强对骨的营养,刺激骨形成,具有抗骨质疏松的功效。例如其中的重要成分骨碎补总黄酮能够抑制骨保护素的减少,进而减少骨量的吸收。另一方面,骨碎补、淫羊藿、补骨脂等中药成分中含有类似植物雌激素活性的异黄酮物质,可降低雌激素水平减少对骨代谢和脂代谢产生的不良作用。本研究结果发现,采用温肾固疏方治疗的实验组大鼠的股骨及其近端的骨密度值,骨代谢指标和血脂指标均较对照组明显改善(均 $P < 0.05$),表明温肾固疏方通过发挥补肾壮骨及类雌激素的作用,有效提高绝经后骨质疏松大鼠的骨密度,调节骨代谢和脂代谢指标水平,达到改善骨质疏松和调节血脂代谢的效果。

【参 考 文 献】

- [1] 欧丽娜,张建军,王林元,等. 具有雌激素样作用的补肾阳药对脂代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):371-374.
- [2] 李欣,孙金豹,纪江海,等. 更年期激素替代治疗中不同剂型雌激素选择的临床分析[J]. 中国妇幼保健,2013,28(21):3409-3411.
- [3] 展磊,魏秋实. 补肾活血药对绝经后骨质疏松妇女血清骨代谢因子的调控作用[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,22(9):1128-1132.
- [4] 毛未贤,张萌萌,高远,等. 2043例35~79岁女性骨密度与绝经年限、体重指数的相关性[J]. 中国妇幼保健,2016,31(10):2123-2125.
- [5] 王俊玲,黄思敏,梁启瑶,等. 雌激素的来源及其在骨代谢中的作用[J]. 中国骨质疏松杂志,2015,21(6):729-732.
- [6] 赵玺,赵文,孙璟,等. 骨代谢指标与骨关节炎及绝经后骨质疏松症的关系[J]. 中国组织工程研究,2014,18(2):245-250.
- [7] 洪敏. 老年女性骨质疏松患者雌二醇与骨钙素的相关性[J]. 中国老年学杂志,2013,33(15):3782-3783.
- [8] Kucukalic-Selimovic E, Valjevac A, Hadzovic-Dzuvio A. The utility of procollagen type I N-terminal propeptide for the bone status assessment in postmenopausal women. *Bosn J Basic Med Sci*,2013,13(4):259-265.
- [9] 潘奇,陈黔,钱黎. 绝经后骨质疏松症患者血清 TRACP-56、Hey、BAP水平变化及诊断效能[J]. 山东医药,2017,57(35):58-60.
- [10] 李欣艺,邓晓莉,刘湘源. 骨质疏松治疗新靶点[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,22(9):1201-1210.
- [11] 高敏,蔺莉. 绝经前后妇女 OPG 基因多态性与骨密度相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1044-1047.
- [12] 秦家云,刘晓燕,王丽平,等. 血清性激素、血脂水平与围绝经期症状的相关性[J]. 中国妇幼保健,2013,28(9):1483-1486.
- [13] 王景,李小梅,洪苑. 脂代谢及血清脂联素水平与绝经后骨质疏松症的相关性研究[J]. 实用妇产科杂志,2014,30(11):828-830.

(收稿日期:2017-10-11;修回日期:2018-06-12)

(上接第1475页)

【参 考 文 献】

- [1] 欧阳穗,妊娠前、妊娠期及哺乳期妇女 1173 例骨密度检测分析[J]. 实用医学杂志,2012,28(14):2363-2364.
- [2] 杨明芳,马瑞,贾红梅,等. 早孕期骨密度正常妇女产褥期骨密度分析[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,23(1):66-68.
- [3] 中国健康促进基金会骨质疏松防治中国白皮书编委会. 骨质疏松症中国白皮书[J]. 中华健康管理学杂志,2009,6(3):148-153.
- [4] Ferrari S, Bianchi ML, Eisman JA, et al. Osteoporosis in young adults: pathophysiology, diagnosis, and management [J]. *Osteoporos Int*,2012,23(12):2735-2748.
- [5] 张翠玲,徐建,程淑敏. 20-40岁女性骨密度异常检出率分析[J]. 现代预防医学,2011,38(14):2720-2723.
- [6] 陈磊,宋英凯,刘海艳,等. 112名40岁以上高龄孕妇的早孕期骨密度调查[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,23(3):368-370.
- [7] 张照潼,李玉,侯梦雅. 青州地区怀孕妇女骨密度调查及分析[J]. 中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1095-1097.
- [8] Stagi S, Cavalli L, Iurato C, et al. Bone metabolism in children and adolescents; main characteristics of the determinants of peak bone mass [J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*,2013,10(3):172-179.
- [9] 张惜阴主编,实用妇产科学[M],第二版,人民卫生出版社,88.
- [10] Dimov M, Khoury J, Tsang R. Bone mineral loss during pregnancy: is tennis protective[J]? *Journal of Physical Activity & Health*,2010,7(2):239-245.
- [11] Zhao JG, Zeng XT, Wang J, et al. Association between calcium or vitamin D supplementation and fracture incidence in Community-Dwelling older adults a systematic review and Meta-analysis[J]. *JAMA*,2017,24(12):2466-2482.
- [12] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J]. 中国全科医学,2017,10:1-26.

(收稿日期:2018-01-15;修回日期:2018-04-02)