

· 论著 ·

生髓健骨胶囊对酒精性骨质疏松大鼠骨密度、骨矿含量影响的研究

任树军¹ 梁彦林² 姜磊² 任明辉² 王塘琦³ 耿慧春¹ 于雪峰⁴ 谭福柱^{1*}

1.黑龙江中医药大学附属第一医院,黑龙江 哈尔滨 150040

2.黑龙江中医药大学研究生院,黑龙江 哈尔滨 150040

3.西安市中医医院,陕西 西安 710001

4.南昌大学第四附属医院,江西 南昌 330003

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 05-0638-04

摘要: 目的 从基因分子水平探讨酒精性骨质疏松(alcoholic osteoporosis, AOP)大鼠的发病机制,观察生髓健骨胶囊对 AOP 大鼠骨密度(bone mineral density, BMD)、骨矿含量(bone mineral content, BMC)表达的影响,探讨生髓健骨胶囊对 AOP 大鼠模型的中药防治作用机理。方法 选取成年雄性(清洁级)SD 大鼠 120 只,称体重,随机分为 4 组,每组各 30 只,用白酒灌胃法造模,同时分别给予生理盐水、碳酸钙阿法 D3、生髓健骨胶囊灌胃给药。于造模 8、12、16 周末取材,检测股骨上端 BMD、BMC 指标。结果 检测造模干预 8、12、16 周后 BMD、BMC 指标变化,模型组 BMD、BMC 与正常组比较明显降低,且差异有统计学意义($P < 0.01$),结果表明饮酒大鼠确实存在骨量减少, BMD、BMC 降低;中药干预组 BMD、BMC 与模型组相比显著升高($P < 0.01$);中药干预组 BMD、BMC 与西药对照组相比,明显升高($P < 0.05$)。结论 通过观察生髓健骨胶囊对 AOP 大鼠的实验指标,证明了生髓健骨胶囊能够提高 AOP 大鼠骨密度,增加骨矿含量,抑制矿物质丢失,改善大鼠的骨代谢。

关键词: 中医中药;酒精性骨质疏松;生髓健骨胶囊;骨密度;骨矿含量

Effect of the generating marrow and strong-bone capsule on bone mineral density and bone mineral content in rats with alcoholic osteoporosisREN Shujun¹, LIANG Yanlin², JIANG Lei², REN Minghui², WANG Yongqi³, GENG Huichun¹, YU Xuefeng⁴, TAN Fuzhu^{1*}

1.The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040

2.Graduate School of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040

3.Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710001

4.The Fourth Attached Hospital of Nanchang University Medical College, Nanchang 330003, China

* Corresponding author: TAN Fuzhu, Email: 15244603358@163.com

Abstract: Objective To explore the pathogenesis of alcohol-induced osteoporosis (AOP) in rats from the molecular gene level, to observe the effect of the generating marrow and strong-bone capsule on bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) in AOP rats, and to discuss the preventive and therapeutic mechanism of generating marrow and strong-bone capsule in AOP rats. **Methods** One hundred and twenty adult male SD rats (clean grade) were weighted and randomly divided into 4 groups, with 30 rats in each group. The rats were modelled with Red Star Erguotou liquor gavage method. At the same time, normal saline, calcium carbonate alfa-D3 and generating marrow and strong-bone capsule were gavaged, respectively. On 8, 12, and 16 weeks, BMD and BMC of the upper femur were detected. **Results** Software SPSS 22.0 was used for statistical analysis ($P < 0.05$) and t test was performed. The changes of BMD and BMC at 8, 12 and 16 weeks after modeling intervention were detected. BMD and BMC in model group and normal group decreased significantly, and there was significant difference ($P < 0.01$). The result showed that there was a decrease in bone mass and BMD and BMC in rats taking alcohol. Compared with model group, BMD and

基金项目: 黑龙江省自然科学基金面上项目(2017055);黑龙江省中医药管理局项目(ZHY10-W22)

* 通信作者: 谭福柱, Email: 15244603358@163.com

BMC in Chinese medicine intervention group increased significantly ($P<0.01$). Compared with western medicine control group, BMD and BMC increased significantly ($P<0.05$). **Conclusion** By observing the experimental index of the generating marrow and strong-bone capsule on AOP rats, it is proved that the generating marrow and strong-bone capsule increases BMD and BMC, inhibits mineral loss, and improves bone metabolism in AOP rats.

Key words: Chinese medicine and drugs; alcoholic osteoporosis; generating marrow and strong-bone capsule; bone mineral density; bone mineral content

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 一词由 Pommer^[1]于 1885 年首先提出,1950 年以来,许多学者都对其进行了比较精确的阐述。美国学者 W.A. Peck 认为骨量丢失,骨组织显微结构及骨脆性改变引起骨折风险增加的疾病称为 OP;日本的井上哲郎认为 OP 的一个典型特征为骨组织内单位体积的骨量减少。对于 OP 明确的定义是 1993 年在香港举办的骨质疏松国际研讨会上提出的,并得到医学界大多数专家的认可^[2]。在流行病学研究^[3-4]中发现,过度饮酒能使骨密度降低,对年轻女性的危害较绝经后老年女性的危害更加显著,属于继发性骨质疏松范畴。酒精滥用和酒精依赖导致的骨坏死、骨质疏松、骨折发生率正逐渐增加,通过研究骨密度 (bone mineral density, BMD)、骨矿含量 (bone mineral content, BMC) 的变化,探讨酒精对骨代谢的作用机制,无疑对治疗酒精性骨质疏松 (alcoholic osteoporosis, AOP)^[5] 具有更重要的意义。

本研究通过建立酒精性骨质疏松症大鼠模型,观察不同时期各组实验大鼠 BMD、BMC 的变化,进一步探讨生髓健骨胶囊在防治 AOP 大鼠方面的作用机制,为临床应用提供实验理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用成年雄性 (清洁级) SD 大鼠 120 只,体重 (220 ± 20) g,平均约 6 个月月龄,购自黑龙江中医药大学动物实验中心 [SCXK (黑) 20170130]。根据随机法将实验大鼠分为正常对照组、模型组、碳酸钙+阿法 D3 组 (西药对照组) 及生髓健骨胶囊组 (中药干预组),每组各 30 只,在适宜的环境中分笼适应性喂养 1 周后,称大鼠体重。

1.2 实验方法

正常对照组每天用等量生理盐水 (500 mL/袋,出厂批号: B1708018,四川太平洋药业有限公司) 进行灌胃,上午、下午各 1 次;模型组每天上午用等量白酒 (500 mL/瓶,红星牌二锅头,55°,标准号: GB/

T20822,北京红星股份有限公司生产) 灌胃,下午用与正常对照组相同量的生理盐水灌胃,各 1 次;西药对照组每天上午用等量白酒 (同模型组) 灌胃,下午给予碳酸钙 (500 mg/片,国药准字: H10980201,吉林万通药业集团)+阿法 D3 [0.25 μ g/粒,国药准字: J20080612,以色列梯瓦制药工业 (TEVA) 有限公司 (昆明贝克诺顿公司分装)] 用生理盐水 (同正常对照组) 配成混悬液灌胃给药,各 1 次;中药干预组每天上午用等量白酒 (同模型组) 灌胃,下午给予生髓健骨胶囊 (0.35 g/粒,批准文号: 黑卫药制字 Z20110036,黑龙江中医药大学附属第一医院) 用生理盐水 (同正常对照组) 配成混悬液灌胃给药,各 1 次。

各组实验大鼠均按 10 mL/kg 容积灌胃给药,白酒按约含纯乙醇 4.4 g/(kg·d) 计量,共持续给药 16 周。实验期间各组大鼠均给予规定 (全价标准) 营养饲料,自由进食水。各组实验大鼠每周末通过称量体重变化来调整给药剂量。严格遵循动物实验伦理道德,于造模 8、12、16 周末,将各组实验大鼠分别采取颈椎脱臼法处死 10 只,在无菌操作环境下取出左侧股骨,将残余组织剔除后,用生理盐水冲洗,再用无菌湿纱布包敷,最后用双能 X 线骨密度仪 (DEXA) 检测。将股骨上端放置于双能 X 线骨密度仪 (DEXA) 探头下,用小动物学软件进行扫描处理,对大鼠左侧股骨的 BMD、BMC 进行检测,最后打印出测定结果。

1.3 主要仪器

采用美国通用 (Lunar) 公司生产的双能 X 线骨密度测量仪 (PLOGIGY-型) 附带的小动物软件测定实验大鼠的骨密度;游标卡尺由桂林广陆数测股份有限公司生产 (精确度 0.02 mm、长 150 mm),标准号: GB/T21389-2008。

1.4 统计学方法

实验数据应用统计软件 SPASS 22.0 进行 (组间单因素 ANOVA) 检验,行 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 8 周末检测股骨 BMD、BMC 的结果比较(表 1)

表 1 各组大鼠 8 周末检测股骨 BMD、BMC 的结果比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of BMD and BMC in the femur of rats between each group at the end of 8 weeks($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	BMD/(g/cm ²)	BMC/(g/cm ²)
正常对照组	10	0.272±0.022	0.149±0.017
模型组	10	0.228±0.027**	0.116±0.008**
西药对照组	10	0.239±0.025▲	0.123±0.018▲
中药干预组	10	0.244±0.021▲▲●	0.130±0.019▲▲●
F 值	—	12.733	27.746
P 值	—	<0.001	<0.001

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与西药对照组相比,● $P < 0.05$,●● $P < 0.01$ 。

2.2 各组大鼠 12 周末检测股骨 BMD、BMC 结果的比较(表 2)

表 2 各组大鼠 12 周末检测股骨 BMD、BMC 结果的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of BMD and BMC in the femur of rats between each group at the end of 12 weeks($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	BMD/(g/cm ²)	BMC/(g/cm ²)
正常对照组	10	0.271±0.018	0.148±0.037
模型组	10	0.222±0.023**	0.109±0.015**
西药对照组	10	0.235±0.021▲	0.119±0.025▲
中药干预组	10	0.253±0.017▲▲●	0.135±0.026▲▲●
F 值	—	29.940	17.164
P 值	—	<0.001	<0.001

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与西药对照组相比,● $P < 0.05$,●● $P < 0.01$ 。

2.3 各组大鼠 16 周末检测股骨 BMD、BMC 结果的比较(表 3)

表 3 各组大鼠 16 周末检测股骨 BMD、BMC 结果的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of BMD and BMC in the femur of rats between each group at the end of 16 weeks($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	BMD/(g/cm ²)	BMC/(g/cm ²)
正常对照组	10	0.270±0.021	0.147±0.033
模型组	10	0.206±0.026**	0.098±0.012**
西药对照组	10	0.230±0.024▲	0.120±0.021▲
中药干预组	10	0.259±0.020▲▲●	0.144±0.022▲▲●
F 值	—	15.990	9.754
P 值	—	<0.001	<0.001

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与西药对照组相比,● $P < 0.05$,●● $P < 0.01$ 。

2.4 造模干预 8、12、16 周末骨密度指标检测结果

模型组 BMD、BMC 与对照组相比均有不同程度的下降,且差异有统计学意义($P < 0.01$),结果表明乙醇能够引起实验大鼠骨量减少,BMD、BMC 下降;中药干预组、西药对照组的 BMD、BMC 分别与模型组相比明显升高($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$),且中药干预组优于西药对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

BMD 能直接反应骨矿物质的变化,与 BMC 息息相关。BMD 降低,骨强度减低,骨脆性增加,骨折风险升高。因此,BMD 是评估临床疗效的主要依据,也是骨质疏松危险性的重要标志。当骨量丢失超过 5%,即可被骨密度仪(双能 X 线)检测出。

3 讨论

3.1 酒精性骨质疏松(AOP)概述

AOP 目前是一种发病机制尚不清楚的骨代谢疾病。现代研究表明长期过量的酒精摄入将通过多途径影响骨代谢平衡,使成骨减少、破骨增加,导致骨量减少。过量饮酒会带来以下影响^[5]:①对钙调节激素[1,25(OH)₂D₃、降钙素及甲状旁腺激素]的影响;②对肾上腺皮质类固醇激素的影响;③对性腺功能产生的影响;④对骨细胞的影响:抑制成骨细胞,促进破骨细胞;⑤对肝功能的影响:使其合成蛋白能力下降、合成 IGF-1 不足、增加其多种激素代谢酶的活性;⑥对营养的影响。出现不同部位、不同程度的骨骼肌肉或关节疼痛、大多数伴有乏力、躯体各方向活动受限或双下肢抽筋等是 AOP 主要的临床表现,但多无关节的红肿、变形^[6-7]。AOP 在祖国医学中并无此病名,应属于中医学中“骨痿”“骨枯”“骨极”等病的范畴^[8-10]。此病多为患者素体肾气亏虚,偏嗜饮酒发为本病。酒乃熟谷之液、水谷之精。偏嗜饮酒,酒邪乃湿热之邪,易损伤中焦脾胃。中焦失于运化,湿热内生,蕴久化火,火曰炎上,可导致上焦心肝火旺。久则伤肾,使肾气阴亏虚,气机不畅,血行失运,血受热煎则为瘀^[10]。血瘀而四肢百骸失于濡养,瘀久化热熏灼骨髓,则骨枯髓减,发为骨痿^[11-12]。酒精在体内影响气血精液、脏腑经络的生理功能,使肝脾肾俱损,筋肉骨骼失于濡养。故 AOP 病位在骨,与肝肾脾等脏生理功能失调密切相关。其病因包括内因和外因,内因为素体肾气亏虚,外因为过量饮酒。其主要病机为肾虚血瘀、气阴亏虚^[13]。

3.2 生髓健骨胶囊对 BMD、BMC 的影响

生髓健骨胶囊为临床治疗 AOP 的经验

方^[14,18],具有补肾壮骨、健脾益气、活血通络的作用,正适合 AOP 的病因病机。现代研究表明方中鹿角胶、龟板、龙骨、牡蛎富含多种微量元素、氨基酸等,是骨组织合成所必需的物质;用中药葛根解酒已有千年历史,而且葛根素能够抑制骨髓基质干细胞向脂肪细胞分化,保持其成骨分化的能力^[15];黄芪、丹参、当归具有抑制血小板聚集并改善微循环的作用;白术、熟地能提高机体清除自由基的能力;郁金能减轻高血脂,对肝有保护作用;牛膝用于活血通经以镇痛,可增大骨小梁密度,减小骨髓腔面积。前期研究证实^[16]其能下调骨组织中 PPAR γ 2mRNA 基因的表达,抑制 MSCs 的成脂分化,促进成骨细胞分化,防治骨量丢失。上调 AOP 大鼠小肠粘膜 VDRmRNA 的表达^[17],促进肠钙、磷的吸收,维持钙、磷的平衡;补肾健脾益气法可以提高 AOP 大鼠 BMD 和 BMC 含量,能够抑制骨矿物质丢失^[18],明显改善 AOP 大鼠的症状,但其确切作用机制仍需进一步深入研究。

实验结果表明,模型组 BMD、BMC 显著降低,通过中药或西药干预后 BMD、BMC 均有不同程度的升高,且中药干预组的疗效优于西药对照组。本研究表明生髓健骨胶囊可以提高 AOP 大鼠 BMD,增加 BMC,抑制骨矿物质的丢失,增强骨的强度,从而预防骨折的发生,值得临床借鉴应用。

【参 考 文 献】

- [1] 宋一同,王和鸣.骨病临床研究[M].北京:北京科学技术出版社,2006:323.
- [2] 贺丽英,孙蕴,要文娟,等.2010~2016年中国老年人骨质疏松症患病率 Meta 分析[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(12):1590-1596.
- [3] 王冰梅,赵娜,于洪宇,等.骨质疏松的中西医研究进展[J].中

医药信息,2016,33(6):128-131.

- [4] 杨颜茹,郭强,段惠春.IL-6、TNT- α 、1,25 二羟维生素 D₃ 以及骨密度测定在酒精性肝硬化骨质疏松中的临床应用价值[J].甘肃医药,2013,32(3):163-166.
- [5] 任树军,于雪峰,孙贵才,等.酒精性骨质疏松症发病机制的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2008,14(8):601-604.
- [6] 胡细连.酒精性骨质疏松的研究现状分析[J].中外医学研究,2017,15(17):162-164.
- [7] 杨志鹏,魏成建,龚双全.骨质疏松症的中医治疗研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(11):1381-1384.
- [8] 赵志强,阚晓霞.中药补肾法改善原发性骨质疏松症临床症状的研究[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(3):371-375,410.
- [9] 柳承希,任艳玲.古代文献对骨质疏松症的认识[J].中华中医药杂志,2014,29(7):2089-2092.
- [10] 肖达民,李丹青,吴艳华.酒精性肝病的中医临床研究进展[J].中药新药与临床药理,2018,29(1):118-122.
- [11] 任树军,邢国利,于雪峰,等.酒精性骨质疏松症的研究概况[J].中医药信息,2008,25(4):12-15.
- [12] 王伟,万雷,柴爽,等.骨质疏松症的中医病因病机和分期治疗[J].中医正骨,2018,30(2):29-30.
- [13] 赖满香,廖利平,谭玮璐,等.“肾精-骨质疏松-骨髓间充质干细胞”理论探讨[J].中医杂志,2018,59(2):100-103.
- [14] 李祥雨,姜劲挺,李建国,等.骨质疏松症中药防治研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(2):270-275.
- [15] 曹毅.中药葛根的相关药理药效研究综述[J].中国处方药,2018,16(2):27-28.
- [16] Ren SJ, Xing GL, Hu NW, et al. BuShenJianPiYiQi Therapy Prevent Alcohol-Induced Osteoporosis in Rats [J]. American Journal of Therapeutics, 2016, 23(5):1135-1142.
- [17] 任树军,邢国利,葛明富,等.补肾健脾益气法对酒精性骨质疏松大鼠小肠中 VDR-mRNA 表达影响的研究[J].中医药信息,2013,30(2):46-49.
- [18] 任树军,邢国利,姜益常,等.补肾健脾益气法对酒精性骨质疏松大鼠骨密度(BMD)、骨矿含量(BMC)影响的研究[J].中医药学报,2013,41(1):24-26.

(收稿日期:2018-04-23;修回日期:2018-08-02)