

参鹿强骨胶囊对皮质激素致大鼠骨质疏松症的保护作用

张信岳,叶小弟,孟倩超,龚维桂,郑高利(浙江省医学科学院药物研究所,浙江 杭州 310013)

摘要:目的 研究参鹿强骨胶囊(SLQG)对皮质激素引起的继发性骨质疏松症的防治作用。方法 3月龄SD雌性大鼠,每周2次肌肉注射地塞米松1.0mg/100g体重,并口服SLQG 3,1.5,0.75g(折算成生药量)/kg,同时设活性维生素D₃(α VD₃)阳性对照组;连续2个月后测定大鼠全身骨矿总量(BMC)、骨矿密度(BMD)、股骨的生物力学性能、相对密度、灰重、钙含量、血清的钙、磷含量以及碱性磷酸酶(AKP)活性等。结果 (1)SLQG 3g/kg组使BMC和BMD分别提高了10.6%和8.9%,1.5g/kg组分别提高了3.9%和5.8%。(2)SLQG 3g/kg组使股骨的最大负荷和结构强度分别增加了13.3%和31.4%,1.5g/kg组分别增加了6.9%和23.7%。(3)SLQG 3g/kg组使股骨的湿密度、干密度、灰密度和钙密度分别增加了4.5%、3.6%、6.1%和7.8%,1.5g/kg组分别增加了2.5%、2.7%、4.4%和3.8%。(4)SLQG对血清钙、磷含量以及AKP活性无明显影响。结论 SLQG对皮质激素致大鼠骨质疏松症具有明显的防治作用。

关键词:参鹿强骨胶囊;皮质激素;骨质疏松症;骨矿密度;生物力学

中图分类号:R283.65;R681.4 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2003)04-0265-04

Protective effect of Shenlu Qianggu capsule on secondary osteoporosis induced by dexamethasone in rats

ZHANG Xin-yue, YE Xiao-di, MENG Qian-chao, GONG Wei-gui, ZHENG Gao-li (*Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Science, Hangzhou 310013, China*)

ABSTRACT:OBJECTIVE To study the protective effect of Shenlu Qianggu capsule (SLQG) on secondary osteoporosis induced by dexamethasone (DXM) in rats. **METHOD** Female SD rats, 3 month aged, were given intramuscularly with 1.0 mg/kg DXM twice a week. The treated groups were orally given SLQG 3.0, 1.5 or 0.75g/kg/d for 2 months. The whole body BMC and BMD were

作者简介:张信岳,男,助理研究员,1968年8月生,浙江中医学院硕士毕业,现工作于浙江省医学科学院药物研究所药理室。

detected by DEXA. The biodynamics potency, density, ash weight and calcium content of femur were determined by reported methods. **RESULTS** (1) The BMC and BMD in SLQG 3g/kg group were increased by 10.6% and 8.9% than that in model group, while in SLQG 1.5g/kg group by 3.9% and 5.8%. (2) The peak load and hardness of femur in SLQG 3g/kg group were enhanced by 13.3% and 31.4%, when in SLQG 1.5g/kg group by 6.9% and 23.7%. (3) The wet density, dry density, ash density and calcium density of femur in SLQG 3g/kg group were increased by 4.5%, 3.6%, 6.1% and 7.8%, while in SLQG 1.5g/kg group by 2.5%, 2.7%, 4.4% and 3.8%. (4) The serum content of calcium, phosphorus and AKP activity in treated groups were no significantly different to that in model group. **CONCLUSION** SLQG can prevent secondary osteoporosis induced by DXM in rats.

KEY WORDS: ShenLuQiang Gu capsule; Dexa methasone; Osteoporosis; Bone mineral density; Biomechanics

SLQG 原处方由人参、茯苓、白术、鹿角、葛根、牛膝等 6 味中药组成,是著名中医内科专家连建伟教授针对原发性骨质疏松患者所表现的“脾肾两虚,骨乏无力,腰脊疼痛,全身骨痛,甚至骨折”等现象,从四君子汤化裁而来;方中人参大补元气,健脾养胃,鹿角补肾益精,葛根善通经脉,流畅气血,茯苓、白术健脾祛湿,怀牛膝补肾壮骨,又善引药下行入肾,诸药合用,共奏补脾肾,益精气,填骨髓,通经脉之效;临床上用于防治原发性骨质疏松症疗效显著,本实验观察 SLQG 对皮质激素引起的大鼠继发性骨质疏松症的保护作用。

1 材料

1.1 药物

参鹿强骨胶囊(浸膏),由浙江济民制药股份有限公司生产提供,批号:20001128,每 1g 浸膏含生药 2.76g,使用时以 1%阿拉伯树胶配成所需浓度的悬液。地塞米松注射液,仙居制药厂生产,批号 20000918,每支(mL)含地塞米松 2mg。活性 α VD₃ 胶丸,以色列梯瓦制药有限公司生产,昆明贝克诺顿制药有限公司分装,每颗含 α VD₃ 25 μ g,批号 002370。临用时取内容物以 1%阿拉伯树胶配成所需浓度混悬液。钙、磷、碱性磷酸酶测定试剂盒,宁波市慈城生化试剂厂生产。

1.2 动物

SD 大鼠,雌性,3 月龄,体重 180~200g,由浙江省实验动物中心提供。动物合格证:浙医动字第 2001001 号。饲料:标准大鼠颗粒饲料,含蛋白质 20%,含钙 0.6%,由浙江省实验动物中心提供。

1.3 仪器

双能骨密度仪(DEXA):美国 LUNAR 公司生产,型号:EXPERT-XL。电子万能试验机:型号 CSS-44100,精度 1N,长春试验机厂生产。LIBOR 公司生产;BTA 半自动生化自动分析仪,上海三科仪器有限公司生产。

1 方法

2.1 动物分组及给药

SD 大鼠 72 只,随机分成 6 组,除正常对照组外,其余各组每周 2 次肌肉注射地塞米松 1mg/100g 体重。正常对照组注射等容积生理盐水。正常组和模型组每天灌胃给予 1%阿拉伯树胶溶液;阳性对照组于每天灌胃给予活性 α VD₃ 0.2 μ g/kg;SLQG 高、中和低剂量组每天分别灌胃给予 SLQG3、1.5、0.75g/kg,连续 2 个月。

2.2 主要指标测定:

2.2.1 全身骨矿密度(BMD)和骨矿含量(BMC)测定 大鼠 30mg/kg 的戊巴比妥钠麻醉后,置于扫描台上,扫描 12cm \times 24cm。仪器参数 134KV,1.0mA。

子宫、肾上腺系数测定 大鼠称体重后处死,取子宫、肾上腺称重,将子宫、肾上腺重量(mg)除以体重(g),得子宫、肾上腺系数(mg/g)。

2.2.2 股骨湿重、湿密度测定 取出右侧股骨,剔尽附着的结缔组织,在分析天平上称重后,在自制的微量体积测定装置上测定体积,并计算湿密度(湿重/体积)。

2.2.3 股骨生物力学性能测定 在测定体积后将股骨在万能材料试验机上进行 3 点弯曲试验,跨距 2cm,加载速度 6mm/min,灵敏度 1 牛顿(N)。

2.2.4 股骨干重、干密度测定 在测定力学强度后,将股骨置烘箱中烘烤,100 $^{\circ}$ C 8h,110 $^{\circ}$ C 2h,冷却后称干重,并计算干密度(干重/体积)。

2.2.5 股骨灰重、灰密度测定 测定干重后,将股骨置于马弗炉中,500 $^{\circ}$ C 3h,650 $^{\circ}$ C 0.5h,冷却后称灰重,并计算灰密度(灰重/体积)。

2.2.6 股骨钙含量测定 将股骨和胫骨灰溶于 40mL 6N 盐酸中,以钙红作指示剂,EDTA 滴定法测定钙含量,并计算单位体积钙含量(钙密度)。

2.2.7 血清总 Ca、无机 P 含量及碱性磷酸酶活性 大鼠股动脉放血,分离血清,试剂盒方法测定。由宁波市慈城生化试剂厂生产。

2.3 统计方法

所有数据表示为 $\bar{x} \pm s$,进行组间 *t* 检验。

3 结果

3.1 对大鼠体重以及子宫、肾上腺的影响

在最初 2 周,注射地塞米松引起大鼠体重显著减轻,但在随后的 6 周中基本保持在 160g 左右,至实验结束时体重比正常组低 1/3 左右。参鹿强骨胶囊组大鼠体重也明显减轻,但在 8 周的实验期内均比模型组明显增重,但幅度一般不超过 10%(表 1)。大剂量地塞米松引起大鼠肾上腺反馈性抑制,和正常组比较脏器系数降低 20%左右。 α VD₃ 能缓解这种抑制作用,使肾上腺重量基本恢复正常。参鹿强骨胶囊中剂量组肾上腺重量也得到明显恢复,而且子宫重量也明显高于模型对照组。

表 1 参鹿强骨胶囊对大鼠体重以及子宫、肾上腺的影响

Tab 1 The effect of SLQG on body weight, uterus and adrenal gland

组别	动物数 (只)	给药前 (g)	给药后 (g)	子宫重量系数 (mg/g)	肾上腺重量系数 (mg/g)
正常	10	178 ± 8	257 ± 18	1.62 ± 0.37	0.306 ± 0.043
模型(10 mg/kg × 2/w)	14	180 ± 8	160 ± 11 ³⁾	1.77 ± 0.41	0.247 ± 0.039 ³⁾
模型 + αVD ₃ (0.2 μg/kg)	10	178 ± 9	179 ± 10 ²⁾	1.92 ± 0.60	0.303 ± 0.056 ²⁾
模型 + SLQG(0.75g/kg)	12	180 ± 8	172 ± 15 ¹⁾	1.85 ± 0.53	0.238 ± 0.065
模型 + SLQG(1.5g/kg)	12	182 ± 8	175 ± 16	2.44 ± 0.83 ¹⁾	0.292 ± 0.046 ¹⁾
模型 + SLQG(3g/kg)	12	181 ± 10	176 ± 15 ¹⁾	2.04 ± 0.55	0.221 ± 0.037

注:和模型组比较:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;和正常组比较:³⁾ P < 0.01

Note:compared with DXM group:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;compared with control group:³⁾ P < 0.01

3.2 对大鼠全身 BMC 和 BMD 的影响

皮质激素使大鼠全身 BMC 降低 28.3%,BMD 降低 14.2%。参鹿强骨胶囊显著提高 BMC 和 BMD,其中大剂量组 BMC 和 BMD 分别提高 10.6%和 8.9%,中剂量组分别提高 3.9%和 5.8%,小剂量组有增加趋势,剂量关系明确(表 2)。

3.3 对大鼠股骨湿重、干重、灰重和钙含量的影响

和正常组相比,皮质激素组大鼠股骨湿重、干重、灰重和钙含量约降低 20%左右,而各种形式的密度也显著下降。参鹿强骨胶囊大、中剂量这些参数和模型组相比显著增加,但仍比正常组低的多,小剂量组则无明显改善(表 3,表 4)。

表 2 参鹿强骨胶囊对大鼠全身骨矿总量(BMC)和骨矿密度(BMD)的影响

表 3 参鹿强骨胶囊对大鼠股骨湿重、干重、灰重和钙含量的影响(mg)

Tab 3 The effect of SLQG on wet weight,dry weight,ash weight and calcium content of ferums(mg)

组别	动物数(只)	重量	干重	灰重	钙含量
正常	10	692 ± 57	451 ± 36	324 ± 25	115.7 ± 7.8
模型(10 mg/kg × 2/w)	14	553 ± 39	350 ± 23 ³⁾	261 ± 25 ³⁾	86.1 ± 6.9 ³⁾
模型 + αVD ₃ (0.2 μg/kg)	10	587 ± 30 ¹⁾	376 ± 16 ²⁾	286 ± 10 ²⁾	96.5 ± 5.1 ²⁾
模型 + SLQG(0.75g/kg)	12	560 ± 38	357 ± 18	267 ± 18	87.8 ± 6.8
模型 + SLQG(1.5g/kg)	12	587 ± 43 ¹⁾	371 ± 22	282 ± 13 ¹⁾	92.3 ± 5.5 ¹⁾
模型 + SLQG(3g/kg)	12	610 ± 40 ²⁾	382 ± 20 ¹⁾	293 ± 23 ¹⁾	98.0 ± 7.3 ²⁾

注:和模型组比较:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;和正常组比较:³⁾ P < 0.01

Note:compared with DXM group:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;compared with control group:³⁾ P < 0.01

表 4 参鹿强骨胶囊对大鼠股骨表观密度、灰密度和钙密度的影响(mg/cm³)

Tab 4 The effect of SLQG on wet density, dry density, ash density and calcium density of fe mur(mg/cm³)

组别	动物数(只)	湿密度	干密度	灰密度	钙密度
正常	10	1517 ± 45	710 ± 10	252.3 ± 6.3	98.8 ± 2.4
模型(10 mg/kg × 2/w)	14	1381 ± 48 ³⁾	653 ± 29 ³⁾	215.0 ± 9.4 ³⁾	87.3 ± 2.4 ³⁾
模型 + αVD ₃ (0.2 μg/kg)	10	1413 ± 47	690 ± 31 ²⁾	232.3 ± 10.2 ²⁾	90.5 ± 2.5 ²⁾
模型 + SLQG(0.75g/kg)	12	1380 ± 41	660 ± 27	216.6 ± 12.7	88.1 ± 3.1
模型 + SLQG(1.5g/kg)	12	1416 ± 44	682 ± 28 ¹⁾	223.1 ± 9.8 ¹⁾	89.7 ± 2.6 ¹⁾
模型 + SLQG(3g/kg)	12	1443 ± 51 ¹⁾	693 ± 35 ¹⁾	231.7 ± 10.2 ²⁾	90.4 ± 2.8 ¹⁾

注:和模型组比较:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;和正常组比较:³⁾ P < 0.01

Note:compared with DXM group:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;compared with control group:³⁾ P < 0.01

Tab 2 The effect of SLQG on the whole body BMC and BMD

组别	动物数 (只)	BMC(g)	BMD(g/cm ²)
正常	10	5.80 ± 0.53	0.261 ± 0.013
模型(10 mg/kg × 2/w)	14	4.14 ± 0.26 ³⁾	0.224 ± 0.010 ⁴⁾
模型 + αVD ₃ (0.2 μg/kg)	10	4.50 ± 0.33 ²⁾	0.241 ± 0.010 ²⁾
模型 + SLQG(0.75g/kg)	12	4.24 ± 0.40	0.233 ± 0.014
模型 + SLQG(1.5g/kg)	12	4.30 ± 0.38	0.237 ± 0.013 ¹⁾
模型 + SLQG(3.0g/kg)	12	4.58 ± 0.33 ²⁾	0.244 ± 0.013 ²⁾

注:和模型组比较:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;和正常组比较:³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01

Note:compared with DXM group:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;compared with control group:³⁾ P < 0.01

3.4 对大鼠股骨生物力学性能的影响

皮质激素引起大鼠股骨的生物力学性能显著下降,股骨的最大负荷和结构强度分别下降了 34.1%和 34.7%。参鹿强骨胶囊显著改善骨生物力学指标,大剂量组股骨最大负荷与结构强度分别提高 13.3%和 23.1%,小剂量组分别提高 6.9%和 23.7%。VD₃ 组的各项力学指标也有明显改善(表 5)。表 5 参鹿强骨胶囊对皮质激素致骨质疏松大鼠股骨生物力学性能的影响

Tab 5 The effect of SLQG on biomechanics of femurs

组别	动物数 (只)	股骨最大负荷 (N)	股骨结构强度 (N/mm)
正常	10	107.5 ± 14.0	239 ± 39
模型(10 mg/kg × 2/w)	14	70.8 ± 7.6 ³⁾	156 ± 24 ³⁾
模型 + αVD ₃ (0.2 μg/kg)	10	82.7 ± 6.0 ²⁾	216 ± 17 ²⁾
模型 + SLQG(0.75 g/kg)	12	75.7 ± 9.0	193 ± 26 ²⁾
模型 + SLQG(1.5 g/kg)	12	79.0 ± 7.8 ¹⁾	185 ± 36 ¹⁾
模型 + SLQG(3 g/kg)	12	80.2 ± 10.0 ¹⁾	205 ± 35 ²⁾

注:和模型组比较:¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01,和正常组比较:³⁾ P < 0.01

Note: compared with DXM group: ¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; compared with control group: ³⁾ P < 0.01

3.5 对大鼠血清生化指标的影响

AKP 活性和钙、磷水平在各组之间均无显著差异(表 6)。表 6 参鹿强骨胶囊对大鼠血清生化指标的影响

Tab 6 The effect of SLQG on the serum content of calcium, phosphorus and AKP activity in the medium

组别	动物数 (只)	AKP	Ca (mmol/L)	P (mmol/L)
正常	10	195 ± 48	2.64 ± 0.18	2.56 ± 0.31
模型(10 mg/kg × 2/w)	14	205 ± 53	2.72 ± 0.10	2.53 ± 0.19
模型 + αVD ₃ (0.2 μg/kg)	10	190 ± 45	2.73 ± 0.10	2.76 ± 0.34
模型 + SLQG(0.75 g/kg)	12	224 ± 78	2.75 ± 0.06	2.60 ± 0.30
模型 + SLQG(1.5 g/kg)	12	249 ± 80	2.72 ± 0.11	2.72 ± 0.38
模型 + SLQG(3 g/kg)	12	195 ± 74	2.70 ± 0.12	2.58 ± 0.24

4 讨论

随着人口老龄化程度的加剧,骨质疏松症(OP)的发病率日益增加;目前治疗原发性骨质疏松症的西药有雌激素、钙剂、维生素 D₃、双膦酸盐、氟化物、降钙素等,但均存在较大的不良反应,如雌激素有引发子宫和乳腺肿瘤的危险,降钙素在使用一年后出现药物耐受,双膦酸盐有较大的消化道反应等,这些均不利于原发性骨质疏松症患者的长期用药。中医中药在防治骨质疏松症方面具有一定的优势。我们的实验结果也

显示由传统中药组成的 SLQG 3, 1.5 g/kg 剂量明显提高地塞米松所致继发性骨质疏松大鼠的 BMC 和 BMD,并使股骨的最大负荷和结构强度以及股骨的湿密度、干密度、灰密度和钙密度等各种形式的密度有显著的增加,且剂量关系明确,表明 SLQG 对皮质激素致大鼠骨质疏松症有明显的防治作用。

皮质激素对骨代谢的作用具有双重性,低剂量时促进骨形成,提高骨密度,增加骨强度,较高剂量时抑制骨形成,促进骨吸收^[1]。高剂量皮质激素除直接作用骨组织外,还可能抑制肾上腺皮质功能,使经转化产生的雌酮等同化激素降低^[2],并且抑制垂体促性腺激素的分泌,使性激素水平降低。补肾中药能够纠正肾虚患者或动物的垂体-性腺轴和垂体-肾上腺轴的功能紊乱,改善内分泌功能,这可能是补肾中药防治骨质疏松症的机制之一^[3,4]。研究中发现 SLQG 对肾上腺和子宫有一定的刺激作用,能够改善因使用大剂量皮质激素引起的大鼠内分泌功能紊乱,这可能与 SLQG 方中存在人参、鹿角等补肾中药有关;另外,方中葛根所含的异黄酮类物质具有弱雌激素样作用,能够防止骨丢失,提高去卵巢老年大鼠的骨矿密度,增加骨强度^[5],也能明显改善皮质激素所致骨质疏松大鼠的各项骨密度以及生物力学指标^[6],对大鼠成骨细胞的增殖和分化有明显的促进作用(另文发表),由此可见,SLQG 具有的抗骨质疏松作用很可能也与处方中的葛根有关。SLQG 对去卵巢诱导的大鼠原发性骨质疏松症的防治作用将另文报道。

参考文献

- [1] 刘晓青,崔燎,吴铁,等. 小鼠骨组织形态学特征及泼尼松对骨量及骨钙的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2001,7(3):210.
- [2] 费震宇,张新民,王文健,等. 补肾中药骨密片防治继发性骨质疏松症的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2000,6(3):62.
- [3] Montecco C. Sex hormones and bone metabolism in postmenopausal rheumatoid arthritis treated with two different glucocorticoids[J]. J. Rheumatol,1992,19(12):1895.
- [4] 张云如,廖文君,华瑞成,等. 补肾中药对老年肾虚证下丘脑-垂体-性腺轴作用的研究[J]. 实用老年医学杂志,1997,11(S):94.
- [5] 郑高利,张信岳,周彦刚,等. 葛根异黄酮对去卵巢大鼠骨矿密度和骨强度的影响[J]. 中草药,2001,32(5):422.
- [6] 郑高利,张信岳,孟倩超,等. 葛根异黄酮对地塞米松致大鼠骨质疏松症的保护作用[J]. 中药材,2002,25(9):643.

收稿日期:2002-12-16