

黄芪水提液对大鼠的类固醇性骨质疏松的防治作用

解剖学教研室(湛江 524023) 谢 华*

广东医学院 医药科技开发中心 吴 铁

骨生物研究室 黄连芳 李朝阳

摘 要 用氢化可的松 3.6 mg/kg,给大鼠灌胃,每周 6 次,1 个月后改为每周 2 次,制成类固醇性骨质疏松动物模型,研究黄芪抗骨质疏松的作用。黄芪水提液 5 g/kg 灌胃,每周 6 次,持续 60 d。不脱钙骨制片,用图象定量法,对大鼠胫骨近端骨小梁骨代谢的静、动态指标进行测算。结果:a)激素组骨吸收增加 261%,骨形成减少 63%,骨小梁面积减少 23%。b)黄芪加激素组与 a)比,骨吸收减少 69%,骨形成率增加 100%,骨小梁面积增加 27%,提示黄芪能防治类固醇性骨质疏松。

关键词 黄芪 氢化可的松 骨质疏松症

长期使用糖皮质激素(GC)药物治疗的病人可发生骨质疏松,本病与其它原因所致骨质疏松的临床表现基本相同,另外,还可引起股骨头无菌性坏死^[1~3]。为了对抗 GC 类药物的这一副作用,使它在临床上发挥更大的疗效,我们用氢化可的松,制成大鼠类固醇性骨质疏松模型,再加黄芪治疗,探讨黄芪对大鼠类固醇性骨质疏松症的防治作用,为临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

- 1.1 动物:3 月龄雄性 SD 大鼠(广东省实验动物中心),平均体重为 269 g。
- 1.2 药物:黄芪水提液由广东医学院医药科技开发中心从膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* 中提得,制备成相当 1 g/mL 生药材。氢化可的松注射液(江苏扬州制药厂)。
- 1.3 荧光标记物:四环素(上海新亚制药厂)。Calein(美国)。
- 1.4 方法:24 只大鼠随机分 3 组,每组 8 只。1 组:正常对照组(用生理盐水灌胃)。2 组:氢化可的松组(氢化可的松注射液 3.6 mg/kg,每周灌胃 6 次,30 d 后改为每周给药

2 次)。3 组:氢化可的松加黄芪组(黄芪水提液 5 g/kg,每周灌胃 6 次,氢化可的松用量及次数同 2 组)。三组动物在同一环境下饲养 60 d,每周称动物体重 1 次。在处死动物的前 10 d 和 2 d 分别给大鼠皮下注射盐酸四环素 25 mg/kg 和 Calein 溶液 30 mg/kg,它们在骨表面形成荧光双标记,反映两次注射期间内骨形成的动态情况。

2 个月后,处死大鼠取其胫骨。用合金骨锯(美国产)把胫骨横断为三段,胫骨近端 1/3 再矢状锯开,置 70%乙醇中固定一周,Villanneva 染色,乙醇和丙酮脱水,甲基丙烯酸甲酯包埋不脱钙骨,包埋块在骨锯下锯成厚度为 300 μm 的骨片,再经人工磨至 20~25 μm,脱水,透明,封片^[4]。

使用美国尤他大学赠送,由 Nikon 荧光显微镜、Mactablet 测量板,Macintoshse 电子计算机组成的数字图象分析仪(日本产),及体视学电脑程序(KSS Computer Engineers, Magna, UT U. S. A),对胫骨近端骨片(从距骺线 1 mm 处至远端 3 mm 范围内)进行骨计量学测量及计算^[5]。实验的数值采

* Address: Xie Hua, Dpartment of Dissect Anatomy, Guangdong Medical College, Zhanjiang

用 poms 软件,经 IBM 微机作统计学处理,各组的参数以 $\bar{x} \pm s$ 表示,差异的显著性用 t 检验, $P < 0.05$ 。百分率(%)用 $\bar{x}_2 \div \bar{x}_1 \times 100 - 100$ 公式计算。

2 结果

2.1 大鼠体重:大鼠在处死时,对照组为 350.6 ± 49.7 g,氢化可的松组为 $285.0 \pm$

18.9 g,黄芪治疗组为 306.4 ± 26.1 g。与对照组比较,氢化可的松组大鼠体重减轻较明显($P < 0.05$),而黄芪治疗组大鼠体重下降无显著性差异($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠胫骨近端骨小梁计量学的具体参数见表 1。

表 1 黄芪水提液对氢化可的松组大鼠胫骨近端骨小梁的作用

组别	骨小梁面积 (%)	骨小梁周长 (mm)	骨小梁间隙 (μ)	荧光周长 (%)	骨吸收周长 (%)	矿化沉积率 (μ/d)	骨形成率 (μ/d)
对照组 $\bar{x}$	14.29	68.70	363.76	6.43	0.74	1.91	12.21
s	3.12	16.40	76.81	1.34	0.13	0.17	2.67
氢化可 $\bar{x}$	11.07	48.23	524.71	3.28	2.67	1.37	4.49
的松组 s	1.99	11.99	135.74	0.95	0.30	0.12	1.54
%-1	-23*	-30*	+44*	-49**	+261**	-28**	-63**
氢化可 $\bar{x}$	14.09	66.72	373.37	5.29	0.83	1.75	8.98
的松+ s	3.02	18.99	71.40	1.47	0.12	0.20	2.19
黄芪组 % -1	-1	-3	+3	-18	+12	-8	-26*
%	+27*	+38*	-29*	+61**	-69**	+28**	+100**

注: %-1,与对照组比较的百分率; %:与氢化可的松组比较的百分率; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3 讨论

实验结果表明:氢化可的松使大鼠体重减轻,同时造成大鼠胫骨近端骨小梁骨形成减少(荧光周长 -49%,矿化沉积速率 -28%,骨形成率 -63%),骨吸收增加(吸收陷窝周长 -261%),骨质丢失(骨小梁面积 -23%,骨小梁间隙 +44%),与文献结果^[6,7]相符。这是由于糖皮质激素可抑制蛋白质合成,尤其抑制胶原合成以及抑制成骨细胞前身向成骨细胞的转变,使骨形成减少。此外,还通过减少性激素的分泌,直接刺激破骨细胞,抑制肠道对钙的吸收,增加肾对钙、磷的排泄,继发甲状旁腺功能亢进等因素,进一步增加骨的吸收,减少骨形成,最终导致骨质丢失^[8]。而黄芪水提液治疗组与氢化可的松组比较,前者的骨吸收减少 -69%,骨形成增加(矿化沉积率 +28%,骨形成率 +100%),骨量增加(骨小梁面积 +27%,间隙 -29%)。与正常对照组比较,除了骨形成率尚低于正常水平外(可能与实验的时间不够长有关),其他指标均无显著性差异。提示黄芪有防治氢化可的松所引起的骨质疏松症的作用。

黄芪为补气中药,现代研究证明:黄芪对氢化可的松抑制后的网状内皮系统吞噬功能有明显提高^[9]。增强机体细胞的生理代谢,对在试管内培养中的鸡胚股骨生长有明显的促进作用^[10]。通过骨组织形态计量学的方法,所观测的骨代谢中的静、动态指标能比较全面地反映黄芪对使用氢化可的松大鼠骨骼的影响,实验证明黄芪有抑制破骨细胞的功能,使骨吸收率降低,同时也促进骨形成的补骨功效,以抵抗氢化可的松对骨骼的不良影响,有效地防治类固醇性的骨质疏松症。

参考文献

1 王兆礼,等. 山东医科大学学报,1990,28:87
2 Adinoff A D,et al. N Engl J Med,1983,309:265
3 Mckenna M J,et al. Am J Med,1987,82:61
4 Jee WSS,et al. Anat Rec,1991,230:332
5 Akamine T,et al. Bone,1992,13:11
6 Dempster D W. et al. Calcif Tissue Int,1983,35:410
7 谢 华,等. 中国药理学报,1994,15(4):371
8 Lukert B P,et al. Ann Intern Med,1990,112:352
9 康 永,等. 中草药,1989,20(11):21
10 高子范,等. 中草药,1988,19(5):19

(1995-09-15 收稿)

Preventive Effect of Membranous Milkvetch (*Astragalus membranaceus*) on Glucocorticoid-induced Osteoporosis in Rats

Xie Hua, Wu Tie, Huang Lianfang, et al

3-month-old male SD rats were given hydrocortison (ig 3.6 mg/kg 6 times per week for 30 d, and there after 2 times per week for another 30 d) so as to give an animal model of glucocorticoid-induced osteoporosis. The rats were treated with an aqueous extract of *Astragalus membranaceus*, ig 5 g/kg 6 times per week. After 60 days, all rats were sacrificed, and their proximal tibiae were processed without decalcification for histomorphometric analysis. In comparison with control rats, the bone resorption was enhanced (+261%), bone formation decreased (-63%), and trabecular bone area was significantly reduced (-23%) in rats received hydrocortison. Trabecular bone formation of rats treated with *A. membranaceus* was significantly increased (+100%), bone resorption was reduced (-69%), and trabecular bone area was increased (+27%) as compared with rats received hydrocortison. The experimental results showed that *A. membranaceus* can prevent glucocorticoid-induced osteoporosis.

柴胡与黄芩伍用清热与抗病毒作用

第四军医大学西京医院药剂科(西安 710032) 王胜春* 党峻英 贾旭东

摘 要 探讨了柴胡与黄芩伍用的清热与抗病毒作用。结果表明,两者伍用不能显著降低伤寒-副伤寒所致家兔体温升高,能显著地抑制鸡胚内流感病毒,降低小鼠肺炎病毒所致小鼠肺指数增高和死亡率。

关键词 柴胡 黄芩 清热 病毒 肺指数

柴胡功能疏散解热、舒肝、升阳。文献^[1]记载柴胡配黄芩“和解少阳。行手足少阳,以黄芩为佐”^[2]。小柴胡汤以此二味为主药,治症伤寒半表半里,邪在肝胆经,往来寒热,胸胁苦满。现以伤寒-副伤寒三联菌苗致热家兔为温病模型,以探讨柴胡-黄芩相佐的解热与抗病毒作用。

1 材料

柴胡:购自西安市药材公司,经鉴定为北柴胡,黄芩经鉴定符合药典规定。取柴胡、黄芩粗粉各 150 g, 60%乙醇 1500 mL 浸渍 48 h, 滤过,减压回收乙醇得 1:1 的供试液,浸渣用 3000 mL 水煎煮 1 h 滤过,残渣弃去,滤液减压浓缩,浓缩液与醇浸液合并,水浴挥去

部分水分,使之药物浓度为 1.4 g/mL (以生药计)作为供试液。另取柴胡、黄芩粗粉各 50 g 置回流瓶内,加 60%乙醇 1000 mL 回流提取 1h, 共 2 次,合并滤液,减压回收乙醇,挥去部分水分,使之药物浓度为 1.4 g/mL (以生药计),流通蒸气灭菌得抗病毒供试液。

动物:购自四军大动物中心。

伤寒-副伤寒甲乙三联菌苗:兰州生物制品研究所生产。鼠肺炎病毒:购自北京病毒研究所。Wmy-01 数字温度计,上海医用仪表厂。

2 方法与结果

2.1 对伤寒-副伤寒甲乙三联菌苗所致家兔发热的影响:大耳白家兔 24 只,雄性,随机分

* Address: Wang Shengchun, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi-an