

# 巴戟天提取物对去卵巢大鼠骨质疏松症的防治作用

胡英勇<sup>1</sup>, 尹耀庭<sup>2</sup>, 刘月平<sup>3</sup>

(1. 湖南省慈利县中医医院, 湖南 慈利, 427200;

2. 湖南省胸科医院, 湖南 长沙, 410013; 3. 湖南省儿童医院, 湖南 长沙, 410007)

**[摘要]** 目的: 探讨巴戟天提取物对实验性骨质疏松症大鼠的影响。方法: 健康雄性SD大鼠60只, 随机分为假手术组、模型对照组、阳性对照组及巴戟天提取物高、中、低剂量组, 每组各10只。对除假手术组外的其余组大鼠通过手术摘除大鼠双侧卵巢建立骨质疏松症模型, 造模后分别给予阳性药物碳酸钙D3颗粒0.5mg/kg, 巴戟天提取物高、中、低剂量(0.36g/kg、0.18g/kg、0.09g/kg)干预, 假手术组与模型对照组给予等体积蒸馏水, 每天1次, 共90d, 剥离右侧股骨测量股骨中心骨密度与远心端骨密度; 称量股骨重量, 采用原子吸收分光光度法测定骨钙含量。结果: 与假手术组比较, 模型对照组大鼠骨密度、骨钙含量、血清雌二醇含量均显著降低, 血清碱性磷酸酶含量显著升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ); 与模型对照组比较, 巴戟天高剂量组大鼠骨密度及高、中剂量组大鼠骨钙含量、血清雌二醇含量均显著升高, 碱性磷酸酶含量显著降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论: 巴戟天提取物能够有效阻止骨丢失, 促进钙沉积, 从而改善骨质疏松症, 其作用机制可能与调节雌性激素水平有关。

**[关键词]** 骨质疏松症; 巴戟天; 骨密度; 骨钙含量

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.11.062

## Role of Morinda officinalis extract in the prevention and treatment of osteoporosis in ovariectomized rats

HU Yingyong<sup>1</sup>, YIN Yaoting<sup>2</sup>, LIU Yueping<sup>3</sup>

(1. Cili Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiajie 427200, Hunan, China;

2. Hunan Chest Hospital, Changsha 410013, Hunan, China;

3. Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, Hunan, China)

**[Abstract]** Objective: To investigate the effect of Morinda officinalis extract on rats with osteoporosis. Methods: A total of 60 healthy female Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham-operation group, model control group, positive control group, and high-, middle-, and low-dose Morinda officinalis extract groups, with 10 rats in each group. All rats except those in the sham-operation group were given surgical resection of both ovaries to establish a model of osteoporosis, and after modeling, the rats in the positive control group were given calcium carbonate D3 granules 0.5mg/kg, those in the high-, middle-, and low-dose Morinda officinalis extract groups were given high-, middle-, and low-dose Morinda officinalis extract (0.36, 0.18, and 0.09g/kg), and those in the sham-operation group and the model control group were given an equal volume of distilled water, once a day for 90 days. The right femur was isolated to measure the bone mineral density of the center and the distal end of the femur; the weight of the femur was measured, and atomic absorption spectrophotometry was used to measure bone calcium content. Results: Compared with the sham-operation group, the model control group had significant reductions in bone mineral density, bone calcium content, and serum estradiol and a significant increase in serum alkaline phosphatase ( $P < 0.01$ ). Compared with the model control group, the high-dose Morinda officinalis extract group had significant increases in bone mineral density, bone calcium content, and serum estradiol and a significant reduction in serum alkaline phosphatase, and the middle-dose Morinda officinalis extract group had significant increases in bone calcium content and serum estradiol and a significant reduction in serum alkaline phosphatase ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Conclusion: Morinda officinalis extract can effectively inhibit bone loss, promote calcium deposition, and thus improve osteoporosis, possibly by regulating the level of estrogen.

**[Key words]** osteoporosis; Morinda officinalis; bone mineral density; bone calcium content

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是以骨量减少、骨组织结构退化为特征,以致骨的韧性降低而骨折危险性增加的一种骨代谢障碍,由于成骨细胞的形成与破骨细胞的吸收不平衡,导致骨质脆弱、易发生骨折<sup>[1]</sup>。绝经后女性卵巢性激素缺乏是引起 OP 的主要危险因素。中医学认为,“肾主骨生髓”,骨的生长、发育、强弱与肾气强度密切相关,骨质疏松症与肾虚诸症密切相关<sup>[2]</sup>。巴戟天具有补肾阳、强筋骨的功效,现代医学研究表明巴戟天含有多种化学成分,能够促进成骨细胞的增殖能力和 ALP 活性而参与骨代谢的进程<sup>[3-4]</sup>。本研究旨在观察巴戟天提取物对雌性去卵巢大鼠 OP 的影响,探讨巴戟天提取物对 OP 的保护作用。现将实验结果报告如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 健康雌性 SD 大鼠 60 只,SPF 级,体质量 180~220g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2014-0011。饲养场地为屏障环境,温度 22℃~26℃,相对湿度 52%~60%。实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2015-0012,动物合格证号:No.43006700012476。

1.2 药物与试剂 巴戟天提取物由巴戟天饮片加水提取,浓缩干燥而成,每克提取物相当于饮片 5g,由长沙世唯生物科技有限公司提供,批号:20170801。苯甲酸雌二醇注射液(宁波第二激素厂,批准文号:兽药字(2011)110252511,批号:20181110)。

2 实验方法

2.1 动物分组、造模 60 只实验大鼠随机分为假手术组、模型对照组、阳性(苯甲酸雌二醇 0.5mg/kg)对照组、巴戟天高剂量组(0.40g/kg)、巴戟天中剂量组(0.20g/kg)、巴戟天低剂量组(0.10g/kg),对除假手术组外的其余组大鼠参照文献[5]中的方法制备去卵巢大鼠骨质疏松症模型。方法:腹腔注射戊巴比妥钠(30mg/kg)麻醉动物后打开腹腔,摘除双侧卵巢后逐层缝合,术后肌内注射青霉素 2 万 U,连续 3d。大鼠卵巢摘除后 5d 进行阴道涂片检查,剔除卵巢切除不完全大鼠。假手术组大鼠仅打开腹腔后缝合。各组分别给予相应药物干预,其中假手术组与模型对照组给予等体积蒸馏水,每天 1 次,连续 90d。

2.2 观察指标 每周于固定时间称体质量。动物干预结束后,将大鼠禁食不禁水 24h,采用戊巴比妥钠(30mg/kg)腹腔注射麻醉动物,腹主动脉取血,3000r/min 离心 15min 后取上清液,采用酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测雌二醇含量及碱性磷酸酶活性。剥离右侧股骨,测量股骨中心处和远心端骨密度。采用原子吸收分光光度法测定骨钙含量。

2.3 统计学方法 数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学处理,计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较方差分析采用单因素分析。组间比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠股骨长度及骨密度比较 与假手术组比较,模型对照组大鼠股骨长度无显著性改变,差异无统计学意义;股骨中心骨密度和远心端骨密度均显著降低,差异有统计学意义。与模型对照组比较,阳性对照组、巴戟天高剂量组大鼠股骨中心骨密度和远心端骨密度均显著升高,差异有统计学意义。(见表 1)

表 1 各组大鼠股骨长度及骨密度比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 只数 | 剂量       | 股骨长度(mm)                | 股骨中心骨密度                  | 股骨远心端骨密度                 |
|---------|----|----------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 假手术组    | 10 | -        | 37.05±0.77              | 0.232±0.016              | 0.290±0.019              |
| 模型对照组   | 10 | -        | 36.33±0.96 <sup>a</sup> | 0.178±0.009 <sup>b</sup> | 0.235±0.008 <sup>b</sup> |
| 阳性对照组   | 10 | 0.5mg/kg | 36.91±0.81              | 0.225±0.012 <sup>c</sup> | 0.277±0.011 <sup>d</sup> |
| 巴戟天高剂量组 | 10 | 0.36g/kg | 36.67±0.98              | 0.237±0.014 <sup>c</sup> | 0.288±0.018 <sup>c</sup> |
| 巴戟天中剂量组 | 10 | 0.18g/kg | 36.45±0.86              | 0.205±0.012              | 0.254±0.012              |
| 巴戟天低剂量组 | 10 | 0.09g/kg | 36.95±0.90              | 0.194±0.013              | 0.243±0.016              |

注:与假手术组比较,<sup>a</sup>*P* > 0.05,<sup>b</sup>*P* < 0.01;与模型对照组比较,<sup>c</sup>*P* < 0.01,<sup>d</sup>*P* < 0.05。

3.2 各组大鼠股骨重量及骨钙含量比较 与假手术组比较,模型对照组大鼠股骨重量无显著性改变,差异无统计学意义;股骨钙含量显著降低,差异有统计学意义。与模型对照组比较,阳性对照组及巴戟天高、中剂量组大鼠股骨钙含量均显著升高,差异有统计学意义。(见表 2)

表 2 各组大鼠股骨重量及骨钙含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 只数 | 剂量       | 股骨重量(g)                  | 骨钙含量(mg/g)              |
|---------|----|----------|--------------------------|-------------------------|
| 假手术组    | 10 | -        | 0.650±0.047              | 207.4±37.8              |
| 模型对照组   | 10 | -        | 0.638±0.046 <sup>a</sup> | 162.6±20.2 <sup>b</sup> |
| 阳性对照组   | 10 | 0.5mg/kg | 0.653±0.051              | 192.2±21.4 <sup>c</sup> |
| 巴戟天高剂量组 | 10 | 0.36g/kg | 0.639±0.035              | 206.9±26.9 <sup>c</sup> |
| 巴戟天中剂量组 | 10 | 0.18g/kg | 0.646±0.053              | 190.2±33.7 <sup>d</sup> |
| 巴戟天低剂量组 | 10 | 0.09g/kg | 0.659±0.037              | 170.4±29.2              |

注:与假手术组比较,<sup>a</sup>*P* > 0.05,<sup>b</sup>*P* < 0.01;与模型对照组比较,<sup>c</sup>*P* < 0.01,<sup>d</sup>*P* < 0.05。

3.3 各组大鼠血清雌二醇及碱性磷酸酶比较 与假手术组比较,模型对照组大鼠血清雌二醇含量显著降低,碱性磷酸酶含量显著升高,差异有差异有统计学意义。与模型对照组比较,阳性对照组大鼠及巴戟天高、中剂量组大鼠血清雌二醇含量均显著升高,碱性磷酸酶含量显著降低,差异有统计学意义。(见表 3)

表 3 各组大鼠血清雌二醇及碱性磷酸酶比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 只数 | 剂量       | 雌二醇(ng/L)               | 碱性磷酸酶(U/L)              |
|---------|----|----------|-------------------------|-------------------------|
| 假手术组    | 10 | -        | 45.64±6.25              | 55.89±3.88              |
| 模型对照组   | 10 | -        | 30.87±4.32 <sup>a</sup> | 62.61±2.17 <sup>a</sup> |
| 阳性对照组   | 10 | 0.5mg/kg | 43.56±6.59 <sup>b</sup> | 62.27±2.35 <sup>c</sup> |
| 巴戟天高剂量组 | 10 | 0.36g/kg | 40.21±6.33 <sup>c</sup> | 50.72±2.94 <sup>b</sup> |
| 巴戟天中剂量组 | 10 | 0.18g/kg | 36.55±5.98 <sup>c</sup> | 59.27±3.18 <sup>c</sup> |
| 巴戟天低剂量组 | 10 | 0.09g/kg | 35.87±6.06              | 61.30±2.98              |

注:与假手术组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.01;与模型对照组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.01,<sup>c</sup>*P* < 0.05。

## 4 讨 论

OP 是一种以骨骼密度降低、微结构断裂和骨量减少为主要特征的导致骨脆性增加而易合并骨折的一种全身代谢性疾病。本病常见于绝经期后女性,主要诱因是绝经后妇女的卵巢分泌功能减退、雌激素水平分泌显著下降,导致骨代谢失衡<sup>[6-8]</sup>。临床多采用激素替代疗法,但是雌激素的应用具有较多且严重的毒副作用,有研究显示过高的雌性激素水平易导致子宫内膜异位症<sup>[9]</sup>,另有研究显示体内雌性激素水平与乳腺癌的发展密切相关<sup>[10]</sup>。其于上述,激素替代疗法在 OP 的治疗中受到了严重的制约,因此寻求新的安全有效的治疗骨质疏松症的方法具有重要意义。

OP 属于中医学中“腰痛”“骨痹”“骨痿”等范畴,与肾虚髓亏、肝脾失调而精气空虚、骨骼失养有关,因此补肾养精是本病主要的治法。巴戟天为茜草科植物巴戟天的干燥根,具有补肾阳、强筋骨的功效,临床上常用于阳痿遗精、宫冷不孕、月经不调等病症,现代医学研究显示巴戟天具有多方面的药理作用,如提高机体免疫力、抗肿瘤、强壮骨骼、补血及促进造血干细胞增殖与分化等<sup>[11]</sup>。

雌性激素参与女性骨骼的形成,能够促进钙纳入骨中,使骨骼的坚硬度上升,当雌性激素水平下降,则逆向变化,促使骨骼中钙流失,最终导致骨质疏松;碱性磷酸酶是成骨细胞的一种外酶,它的表达活性是成骨细胞分化的一个明显特征。本研究观察巴戟天提取物对去卵巢骨质疏松症大鼠的影响,结果显示,巴戟天提取物能够显著增加骨质疏松大鼠骨密度、骨钙含量,表明巴戟天具有促进钙吸收及骨钙沉淀的功效;巴戟天能够提高去卵巢大鼠血清中雌二醇的含量,并且在我们的前期研究中发现巴戟天对正常雌鼠的血清雌二醇没有显著改变,而对于激素水平高的雌鼠具有降低雌性激素水平的功效,说明巴戟天具有雌激素样作用及双向调节雌激素水平的功效。

综上所述,巴戟天提取物能够有效阻止骨丢失,促进钙

沉积从而改善骨质疏松症状,其作用机制可能与调节雌性激素水平有关。

## 参考文献

- [1] Hennemann A. Osteoporosis: prevention, diagnosis and therapy [J]. Medizinische Monatsschrift für Pharmazeuten, 2002, 25 (5): 164-167.
- [2] 张云飞,安军伟,龚幼波,等. 原发性骨质疏松症的中医药防治研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(4):554-558.
- [3] 李楠,王和鸣,林旭,等. 巴戟天对成骨细胞生物学特性影响的实验研究[J]. 中华中医药杂志,2004,19(12):726-728.
- [4] 吴国志,欧积壮,吴昌新,等. 巴戟天及其糖提取物对于体外培养成骨细胞 OPG/RANKL 基因系统表达的影响[J]. 现代生物医学进展,2016,16(20):3849-3852,3868.
- [5] 刘飞祥,林子璇,徐道明,等. 左归丸防治骨质疏松症的动物模型和评价方法[J/OL]. 中国实验方剂学杂志:1-8[2019-05-16].
- [6] Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, et al. Incidence and Economic Burden of Osteoporosis-Related Fractures in the United States, 2005-2025[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2007, 22(3):465-475.
- [7] Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis[J]. N Engl J Med, 1995, 49(10):305-311.
- [8] Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: Now and the future[J]. The Lancet, 2011, 377(9773):1276-1287.
- [9] Parente BC, Am BDS, Bianco B, et al. The effect of hormones on endometriosis development [J]. Minerva Ginecologica, 2011, 63(4):375-386.
- [10] Wysowski DK, Comstock GW, Helsing KJ, et al. Sex hormone levels in serum in relation to the development of breast cancer [J]. American Journal of Epidemiology, 1987, 9(3):283-283.
- [11] 饶鸿宇,陈滔彬,何彦,等. 中药巴戟天化学成分与药理研究进展[J]. 中南药学,2018,16(11):1567-1574.

(收稿日期:2019-05-28)

## 用脑勿过度 操劳有节制(二)

**注意体育锻炼** 脑力劳动者的工作多数是坐着进行,除了用脑、用手之外,身体其他部分很少活动。随着人们生活水平的提高,饮食肥甘厚味,长此以往很容易演变成“血压高、血脂高、血糖高”的“三高”人群,对健康的危害也就不言而喻了。因此,脑力劳动除了要适度以外,体育锻炼也是很重要的。尤其是现在坐在办公室里、电脑前的白领们,不妨每周安排2~3次的体育锻炼,例如跑步、打拳、瑜伽、健身、跳舞等等。这样并不是浪费时间,而是对工作非常有益的。如果整日不论工作娱乐都不离电脑,足不出户,或者为了赶工作进度废寝忘食,最后只能是损害了自己的身体健康。

**调畅情志** 脑力劳动者思维较为敏捷,往往想的较多,遇到困难或是不顺心的事情就会耿耿于怀。这样反而增加了精神负担,更容易损伤心神,加速衰老。在中医学理论中,情志不调是多种疾病的致病因素,可导致各种疾病发生。其实解决的方法并不难,就是要平易近人,广交朋友,胸怀开阔,并能控制自己的情绪和感情,不要太过执着,提高修养。培养适合自己的、有益于身心的业余爱好是个好办法。在自己的爱好中完全放松,使精神有所寄托,乐在其中。(http://www.cntcm.com.cn/2019-10/31/content\_67347.htm)