

生髓健骨胶囊对酒精性骨质疏松大鼠血清学指标的影响

任树军¹ 于长江² 梁彦林³ 杜海月² 李远峰¹ 徐西林^{4△}

[摘要] **目的:**研究生髓健骨胶囊对酒精性骨质疏松大鼠血清钙(Ca)、磷(P)、碱性磷酸酶(ALP)及骨钙素(BGP)生化指标的影响。**方法:**120 只 SD 大鼠,随机分成四组:模型组、空白对照组、西药对照组、中药干预组,每组各 30 只,用白酒灌胃造模,同时给予生髓健骨胶囊和 0.9%NaCl 注射液、碳酸钙片与阿法 D3 和 0.9%NaCl 注射液分别配制成混悬液灌胃。干预 8、12、16 周后取材,用全自动生化分析仪测定血清钙、磷、碱性磷酸酶的含量,并用 RIA 法测定骨钙素含量。**结果:**模型组与空白对照组相比,血清 Ca、P、ALP 及 BGP 明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。西药对照组、中药干预组血清 Ca、P、ALP 及 BGP 高于模型组,差异有统计学意义($P<0.01$)。中药干预组效果优于西药对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**生髓健骨胶囊具有提高血清钙、磷、碱性磷酸酶及骨钙素含量,起到防治酒精性骨质疏松的作用。

[关键词] 生髓健骨胶囊;酒精性骨质疏松;血清生化指标

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2021)07-0021-04

Efficacy of Shengsui Jiangu Capsule on Serum Ca, P, ALP and BGP in Rats with Alcoholic Osteoporosis

REN Shujun¹ YU Changjiang² LIANG Yanlin³ DU Haiyue² LI Yuanfeng¹ XU Xilin^{4△}

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

²Graduate School of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

³Ningxia Hospital and Research Institute of Chinese Medicine, Yinchuan 750021, China;

⁴The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese medicine, Harbin 150001, China.

Abstract Objective: To study the efficacy of Shengsui Jiangu capsule on serum calcium (Ca), phosphorus (P), alkaline phosphatase (ALP) and Osteocalcin (BGP) biochemical indexes in rats with alcoholic osteoporosis. **Methods:** 120 SD rats were randomly divided into four groups: model group, blank control group, western medicine control group and traditional Chinese medicine intervention group, with 30 rats in each group. The model was established by intragastric administration of liquor. The blank control group was established by intragastric administration of 0.9% NaCl liquor. The western medicine control group was established by intragastric administration of alciun carbonate tablets and Alfa D3 and 0.9% NaCl injection liquor. The traditional Chinese medicine intervention group was established by intragastric administration of Shengsui Jiangu capsule and 0.9% NaCl injection liquor. After 8, 12 and 16 weeks of intervention, serum calcium, phosphorus and alkaline phosphatase were measured by automatic biochemical analyzer, and osteocalcin was measured by RIA. **Results:** Compared with the blank control group, serum Ca, P, ALP and BGP in the model group were significantly decreased ($P<0.01$). Serum Ca, P, ALP and BGP in western medicine control group and Chinese medicine intervention

group were higher than those in model group ($P<0.01$). The efficacy of traditional Chinese medicine intervention group was better than that of western medicine control group ($P<0.05$), with statistical significance. **Conclusion:** Shengsui Jiangu capsule can improve the content of serum calcium, phosphorus, alkaline phosphatase and osteocalcin, and prevent and treat alcoholic osteoporosis.

Keywords: Shengsui Jiangu capsule; alcoholic osteoporosis; serum biochemical indexes

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(LH2020H086)

黑龙江省中医药管理局项目(ZHY10-W22)

¹ 黑龙江中医药大学附属第一医院(哈尔滨,150040)

² 黑龙江中医药大学研究生院

³ 宁夏中医医院暨中医研究院

⁴ 黑龙江中医药大学附属第二医院

△通信作者 E-mail:15244603358@163.com

酒精性骨质疏松症是指由于长期酗酒影响骨的形成与代谢,导致骨量、骨密度及骨矿含量减少,骨的微观结构破坏及骨力学性能下降,骨折风险增加的一种继发性骨质疏松症^[1]。由于长期大量饮酒后引起骨质疏松症早期阶段骨密度没有明显改变,而影响骨代谢的生化指标如血清钙(Ca)、磷(P)、碱性磷酸酶(ALP)及骨钙素(BGP)的变化通常在全身骨质疏松之前发生^[2],因此明确骨代谢指标的变化对于延缓骨量丢失、防止酒精性骨质疏松有重要意义。

本实验通过建立酒精性骨质疏松症大鼠模型,研究生髓健骨胶囊对酒精性骨质疏松大鼠血清钙、磷、碱性磷酸酶及骨钙素等生化代谢变化的影响,为临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 雄性大鼠 120 只,体质量(220 ± 20)g,健康成年清洁级,来自黑龙江中医药大学实验动物中心,动物合格证号为 SCXK(黑) 20170103。

1.2 实验药物

生髓健骨胶囊(规格为 0.35 g/粒,黑龙江中医药大学附属第一医院,批准文号为黑卫药制字 Z20110036);阿法 D3(规格 0.25 μ g/粒,以色列 TEVA 制药工业有限公司制造,昆明贝克诺顿制药(KBN)有限公司分装,批准文号为国药准字 J20130162);碳酸钙片(规格为 500 mg/片,吉林万通药业有限公司,批准文号为国药准字 H10980201);白酒(牛栏山白酒 56 度,规格 500 mL/瓶,北京顺鑫公司,产品标准号为 GB/T10781.2,生产许可证号 SC11511130712623);0.9%NaCl 注射液(规格 500 mL/袋,华润双鹤药业,国药准字 H11021490)。

1.3 实验仪器

全自动生化分析仪(山东博科仪器有限公司,型号规格为 BK-200)测定血清钙、磷、碱性磷酸酶的含量,RIA 法测定骨钙素含量。

1.4 实验方法

1.4.1 造模方法 参照文献[3-4]将实验大鼠适应性

喂养 1 周后,称大鼠体质量,分为四组(模型组、空白对照组、西药对照组、中药干预组),每组各 30 只,分笼喂养。实验大鼠由黑龙江中医药大学实验动物中心提供。

造模采用白酒灌胃法。用白酒按 SD 大鼠体质量 10 mL/(kg·d)的剂量灌胃,1 次/d,干预 8、12、16 周后取材。观察大鼠进食、饮水、毛色光泽度、精神状态以及二便的性状色泽等,以调整酒精的用量。每周对大鼠体质量测量 1 次,最后 1 次灌胃后开始禁食水,12 h 后采集标本,检测指标为血清钙、磷、碱性磷酸酶及骨钙素。

1.4.2 实验动物干预方法 模型组:每日早上按大鼠体质量,4.4 g/kg 10 mL 的白酒剂量灌胃。下午用等量的 0.9%NaCl 注射液灌胃,1 次/d。

空白对照组:每日早上和下午用等量 0.9%NaCl 注射液灌胃,2 次/d。

中药干预组:每日早上用白酒灌胃,剂量跟模型组保持一致。下午用生髓健骨胶囊配成混悬液灌胃给药,剂量按大鼠体质量确定,4.7 g/kg 10 mL 剂量,1 次/d。

西药对照组:每日早上与模型组保持一致,用同等剂量白酒灌胃。下午用碳酸钙和阿法 D3 混悬液灌胃(其中阿法 D3 按大鼠体质量确定,0.05 μ g/kg 10 mL,碳酸钙片按大鼠体质量确定,85 mg/kg 10 mL 剂量,分别与 0.9%NaCl 注射液配成混悬液,每日剂量是成人等效剂量的 10 倍),1 次/d。各组大鼠均用标准营养颗粒饲料喂养,灌胃用药持续 16 周,期间自由进食水。每周称 1 次体质量,根据大鼠体质量变化再调整药量。

1.5 统计学方法

所有数据用 SPSS22.0 软件进行组间单因素 ANOVA 方差分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

各组大鼠 8 周末血清生化结果的比较见表 1。各组大鼠 12 周末血清生化结果的比较见表 2。各组大

表 1 各组大鼠 8 周末血清生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数/例	Ca/(mmol·L ⁻¹)	P/(mmol·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BGP/(μ g·L ⁻¹)
空白对照组	30	2.81 \pm 0.08	2.83 \pm 0.06	99.35 \pm 6.82	2.22 \pm 0.19
模型组	30	2.59 \pm 0.17 ¹⁾	2.70 \pm 0.05 ¹⁾	81.50 \pm 7.94 ¹⁾	1.96 \pm 0.11 ¹⁾
西药对照组	30	2.68 \pm 0.06 ²⁾	2.77 \pm 0.06 ²⁾	93.20 \pm 7.48 ²⁾	2.01 \pm 0.09 ²⁾
中药干预组	30	2.78 \pm 0.09 ^{3) 4)}	2.81 \pm 0.05 ^{3) 4)}	97.10 \pm 5.62 ^{3) 4)}	2.11 \pm 0.12 ^{3) 4)}
F		7.942	8.650	12.788	7.147
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:1)与空白对照组相比, $P < 0.01$;与模型组相比,2) $P < 0.05$,3) $P < 0.01$;4)与西药对照组相比, $P < 0.05$ 。

鼠 16 周末血清生化结果的比较见表 3。

模型组的血清 Ca、P、ALP 及 BGP 与空白对照组相比均有不同程度的下降,且差异有统计学意义($P <$

造模干预 8、12、16 周末血清生化检测指标结果:

表 2 各组大鼠 12 周末血清生化指标比较(±s)

组别	例数/例	Ca/(mmol·L ⁻¹)	P/(mmol·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BGP/(μg·L ⁻¹)
空白对照组	30	2.78±0.14	2.81±0.21	99.23±5.48	2.15±0.09
模型组	30	2.47±0.15 ¹⁾	2.42±0.19 ¹⁾	78.11±9.31 ¹⁾	1.67±0.11 ¹⁾
西药对照组	30	2.63±0.18 ²⁾	2.61±0.18 ²⁾	88.13±7.34 ²⁾	1.96±0.11 ²⁾
中药干预组	30	2.73±0.20 ^{3) 4)}	2.72±0.20 ^{3) 4)}	90.20±6.09 ^{3) 4)}	2.10±0.32 ^{3) 4)}
F		5.973	7.107	14.452	13.285
P		0.002	0.001	<0.001	<0.001

注:1)与空白对照组相比,P<0.01;与模型组相比,2)P<0.05,3)P<0.01;4)与西药对照组相比,P<0.05。

表 3 各组大鼠 16 周末血清生化指标比较(±s)

组别	例数/例	Ca/(mmol·L ⁻¹)	P/(mmol·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	BGP/(μg·L ⁻¹)
空白对照组	30	2.74±0.17	2.80±0.22	99.20±5.61	2.13±0.09
模型组	30	2.29±0.16 ¹⁾	2.21±0.31 ¹⁾	61.10±10.34 ¹⁾	1.40±0.18 ¹⁾
西药对照组	30	2.49±0.15 ²⁾	2.42±0.29 ²⁾	79.10±6.53 ²⁾	1.83±0.12 ²⁾
中药干预组	30	2.58±0.21 ^{3) 4)}	2.61±0.29 ^{3) 4)}	86.10±6.57 ^{3) 4)}	2.09±0.10 ^{3) 4)}
F		11.158	7.901	44.904	65.748
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:1)与空白对照组相比,P<0.01;与模型组相比,2)P<0.05,3)P<0.01;4)与西药对照组相比,P<0.05。

0.01)。中药干预组和西药对照组的 Ca、P、ALP 及 BGP 分别与模型组相比明显升高(P<0.01,P<0.05),且中药干预组效果优于西药对照组(P<0.05),差异有统计学意义。

3 讨论

酒精性骨质疏松症是由于长期大量饮酒导致骨代谢异常,成骨减少而破骨增加,从而使骨量丢失,骨强度减低,骨折风险增加的继发性骨质疏松症。酒精性骨质疏松症属于中医的“骨痹、骨痿、骨枯”范畴,其病机为气血阴阳俱虚,以肾虚为主,兼有脾气亏虚,肝阴不足。生髓健骨胶囊化裁自鹿角胶丸,其原方载于《医学正传》^[5]。该方由熟地黄、鹿角胶、龟板、龙骨、当归、白术、葛根等中药材研制而成。方中鹿角胶长于温补肝肾,益精养血;龟板善于益肾强骨,滋阴潜阳,两者合用“为血肉有情之品,补阴阳而化生精血之佳品”^[6],以补肾壮骨、填精生髓,共为君药。生黄芪、熟地黄、当归、白术健脾益气、滋阴养血,培补后天生化之源故为臣。葛根、丹参、郁金、地龙、牛膝解除酒毒,化瘀止痛、凉血活血、行气通络共为佐药;其中葛根含有的葛根素能有效抑制肠道对酒精的吸收,黄体酮类物质可刺激存在于肝内的 P450 酶活性,加快酒精及其代谢产物的清除^[7];牛膝中的脱皮甾酮能够明显促进原代培养去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞的增殖,起到很好的抗骨质疏松作用^[8]。龙骨、牡蛎固精壮骨,平肝潜阳合为使药。此方不但具有补肾健脾、强健筋骨的作用,而且还能够在补肾健脾的同时养肝血、滋肾阴、通经络、止痹痛,达到了标本兼治的效果^[9-10],适用于酒精性骨质疏松症的病机。

本课题前期研究表明生髓健骨胶囊可明显改善酒

精性骨质疏松大鼠股骨生物力学的性能,提高骨硬度和骨弹性^[11];提高大鼠骨密度,增加骨矿含量,抑制矿物质丢失,改善大鼠的骨代谢,从而达到防治酒精性骨质疏松症的目的^[12]。最近的研究提示生髓健骨胶囊可通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路来干预 β-catenin 及 LRP5 含量的上调,下调 PPARγ2 含量来抑制其过氧化作用的损伤,促进成骨分化,抑制破骨细胞的吸收作用,防治酒精性骨质疏松症的发展^[13]。现旨在研究生髓健骨胶囊对酒精性骨质疏松大鼠骨形成及骨代谢相关生化指标的影响,能否减少骨量丢失,抑制破骨从而达到治疗目的。血清中钙和磷可以反映全身骨质代谢的状况,是衡量骨矿化的重要指标。充足的钙、磷是保证骨强度的物质基础,成骨和破骨作用需要骨骼中的钙、磷与血清中的钙、磷不断进行交换才能维持动态平衡^[14-15]。骨钙素是有成骨细胞和成纤维细胞分泌合成的一种特殊非胶原蛋白,骨钙素可与钙和羟磷灰石结合,是骨矿化的必需成分。所以血清中骨钙素浓度能特异地反映成骨细胞的活性,可以用来判断成骨细胞活性受抑制的程度,是骨形成功能良好的标志^[16-17]。在成骨活跃时,成骨细胞会分泌大量的碱性磷酸酶,它是一种成骨化的特异性蛋白,可调节骨形态发生。因此同样可以直接反映成骨细胞的活性或功能状态,亦与钙、磷的代谢密切相关^[18-19]。酒精性骨质疏松的主要诊断指标是骨密度,但是骨密度测量结果往往滞后于骨质代谢的实际情况。生髓健骨胶囊对血清中钙、磷、骨钙素和碱性磷酸酶的调节可改善机体骨代谢的状态,增加骨吸收,提高骨密度,为临床治疗酒精性骨质疏松提供合适的方法,即尽早治疗效果会更好,这也与前期的研究具有高度的一致性。

本研究表明:生髓健骨胶囊可以提高酒精性骨质疏松大鼠血清中钙、磷、碱性磷酸酶及骨钙素含量,改善大鼠的骨代谢,减少破骨作用和缓解骨量丢失,从而达到防治酒精性骨质疏松症的目的。存在的不足之处是本实验主要研究生化指标且观察期较短,今后可增加药理学指标及分子层面的验证和延伸研究,进一步明确生髓健骨胶囊防治酒精性骨质疏松症的机制。

参考文献

- [1] 李雪,申意伟,徐西林,等.补肾活血方治疗酒精性骨质疏松症临床疗效观察[J]. 辽宁中医药大学学报,2019,21(9):196-198.
- [2] 蔡晓燕,董光富.脂代谢及血清骨钙素水平与骨质疏松症的相关性分析[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,22(6):711-712.
- [3] 齐振熙,王明千.酒精性骨质疏松症的动物模型研究[J]. 中国骨伤,2005,18(12):735-736.
- [4] 郭鱼波,马如风,王丽丽,等.骨质疏松动物模型及其评价方法的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1149-1154.
- [5] 王志超,李志毅.鹿角胶丸对骨质疏松模型大鼠影响的实验研究[J]. 中医正骨,2003,15(11):16-17.
- [6] 马少华,马勇.中药治疗原发性骨质疏松症效应机制研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2014,20(12):1490-1494.
- [7] 赵金龙,曾令烽,梁桂洪,等.基于信号通路的中药有效成分治疗骨质疏松机制研究进展[J]. 中草药,2020,51(23):6087-6088.
- [8] 董群伟,陈志峰,孙奋勇.牛膝脱皮甾酮促进去卵巢大鼠间充质干细胞的增殖[J]. 广东医学,2010,31(1):61-63.
- [9] 翁绳健,吴立忠,李炜明,等.肾虚与骨质疏松症关联性研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志,2018,26(12):85-87.

- [10] 胡志俊,王世伟,刘文波,等.骨质疏松的中医辨证分型研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2012,20(1):24-25.
- [11] 任树军,梁彦林,任明辉,等.生髓健骨胶囊对酒精性骨质疏松大鼠股骨生物力学影响的研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2018,24(10):1289-1293.
- [12] 任树军,梁彦林,姜磊,等.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[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(5):638-641.
- [13] 任树军,梁彦林,王塘琦,等.生髓健骨胶囊对酒精性骨质疏松大鼠 Wnt 信号通路的影响[J]. 时珍国医国药,2020,31(3):579-581.
- [14] 沈英,梁世凯.维持性血液透析患者发生骨质疏松的危险因素及其与血清钙、磷、甲状旁腺素的关系[J]. 中华全科医学,2017,15(11):1902-1903.
- [15] 丁霏,陈彦丽,廖静,等.甲状旁腺素、25-羟维生素 D 及血清钙磷与原发性骨质疏松症的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(6):649-651.
- [16] 郭应龙.老年男性骨质疏松患者血清胰岛素样生长因子、内皮素与骨钙素及骨转换生化指标的相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2015,21(2):132-134.
- [17] 张延英,尤华琴.老年糖尿病骨质疏松性骨折患者血清生化指标的变化[J]. 中国老年学杂志,2020,40(4):723-724.
- [18] 杨锋,孙玉华,刘佃滨,等.骨质疏松患者骨碱性磷酸酶、钙、磷代谢变化及与牙槽骨密度的相关性[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,23(9):1164-1165.
- [19] 马远征,王以朋,刘强,等.中国老年骨质疏松诊疗指南(2018)[J]. 中国老年学杂志,2019,39(11):2565-2566.

(收稿日期:2021-02-01)

(上接第 20 页)

- [15] 林思文,王丽丽,施剑明,等.骨髓间充质干细胞成骨分化中信号转导途径与雌激素受体的关系[J]. 中国老年学杂志,2016,36(5):1267-1270.
- [16] 严正杰,戴有金,侯道荣.白介素-10 对去卵巢小鼠骨质疏松的作用[J]. 中国医药导报,2017,14(10):39-42.
- [17] ISLANDER U, JOCHEMS C, LAGERQUIST M K, et al. Estrogens in rheumatoid arthritis: the immune system and bone[J]. Mol Cell Endocrinol,2011,335(1):14-29.
- [18] YU H, HERBERT B A, VALERIO M, et al. FTY720 inhibited proinflammatory cytokine release and osteoclastogenesis induced by aggregatibacter actinomycetemcomitans [J]. Lipids Health Dis,2015,14:66-73.
- [19] 陈柏龄,黎艺强,谢登辉. TNF- α 在骨质疏松性疼痛中的作用[J]. 中国病理生理杂志,2010,26(10):1931-1935.
- [20] 陈鹏,李杨,胡伟文,等.绝经后骨质疏松症 TNF- α 通过激活 NF- κ B 促进 RANKL 诱导的破骨细胞形成[J]. 基因组学与应用生物学,2019,38(2):960-965.

- [21] 代婵,王洁莹,邓慧敏,等.瑞香素在 TNF- α 诱导的 CIA 大鼠成纤维样滑膜细胞 NF- κ B 信号通路中的抑炎作用[J]. 时珍国医国药,2018,29(1):20-24.
- [22] 何荣安,莫文飞,连冬丽,等.瑞香素对 TNF- α 刺激的 HaCaT 角质形成细胞炎症因子表达的影响[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(37):211-213.
- [23] 张萌萌,张秀珍,邓伟民,等.骨代谢生化指标临床应用专家共识(2020)[J]. 中国骨质疏松杂志,2020,26(6):781-796.
- [24] 杨锋,孙玉华,刘佃滨,等.骨质疏松患者骨碱性磷酸酶、钙、磷代谢变化及与牙槽骨密度的相关性[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,23(9):1160-1166.
- [25] 湛红珊,胡藩,刘冬梅,等.中老年人群骨密度与血钙、血磷、骨转换指标的关系[J]. 中国老年学杂志,2017,37(2):380-382.

(收稿日期:2020-12-22)