

◇ 药学研究 ◇

葛根总黄酮对去势大鼠骨质疏松的保护作用

陈冠儒, 陈飞虎, 葛金芳, 王晓宇, 詹侠, 朱娇, 武超

摘要 目的 研究葛根总黄酮对去势大鼠骨质疏松的保护作用。方法 10 周龄 SPF 级 SD 雌性大鼠随机分为正常组、假手术组、去势模型组、替勃龙组(1.25 mg/kg)和葛根总黄酮(50、100、200 mg/kg)给药组。各给药组按上述剂量灌胃给药,每天 1 次,持续 12 周。12 周后,双能 X 射线骨密度仪测定各组大鼠右股骨骨密度(BMD)和骨矿物含量(BMC),三点弯曲实验测左股骨生物力学的性能,左胫骨 HE 染色做组织形态学分析。ELISA 法测尿液的羟脯氨酸(HOP)、血清骨特异性碱性磷酸酶(BALP)、卵泡生成素(FSH)、黄体生成素(LH)和雌激素(E2)水平,RT-PCR 法检测下丘脑促性腺激素释放激素(GnRH) mRNA 的水平。结果 葛根总黄酮(100、200 mg/kg)可显著增加去势大鼠右股骨 BMD、左股骨生物力学性能,上调下丘脑 GnRH mRNA 表达,并可降低尿液 HOP、血清 BALP、FSH 和 LH 的水平,减少骨吸收。结论

葛根总黄酮对去势大鼠的骨质疏松有保护和预防性治疗的作用。

关键词 葛根总黄酮; 去势; 骨质疏松; 骨密度

中图分类号 R 965.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)06-0759-06

骨质疏松是一种伴随着骨量降低和骨微观结构退化从而导致骨易碎性,骨折发生增加的系统性骨骼疾病^[1]。研究^[2]表明,骨质疏松的发生与雌激素水平降低密切相关,绝经后的骨质疏松是一种常见的严重原发性骨质疏松,从绝经前 2 年开始到绝经后 3 年达到骨丢失的峰值,然后每年以骨量的 3%~5% 慢慢丢失。雌激素替代疗法是目前市面上最有效最常用的治疗绝经后骨质疏松的药物。然而,长期服用雌激素会造成严重的副作用,如增加子宫内膜癌、乳腺癌和卵巢癌的发病率。因此寻找高效低毒的抗骨质疏松药物成为现代药理学研究的重点内容之一。葛根是野葛或干葛藤的根,属于爬行类豆科植物,始载于《神龙本草经》。因含有大量的异

黄酮被广泛应用于研究骨质疏松的保护作用。异黄酮是黄酮类化合物中的一种,主要存在于豆科植物中^[3]。该研究通过探讨葛根总黄酮与替勃龙对去势雌鼠原发性骨质疏松的保护作用对比,从而为临床应用提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 10 周龄雌性 SPF 级 SD 大鼠 42 只,体重(200±20)g,由安徽医科大学实验动物中心提供。

1.2 药物与主要仪器 葛根总黄酮由安徽九方制药有限公司提供,总黄酮含量>60%,产品批号:120902;醋酸泼尼松购自浙江仙琚制药股份有限公司,产品批号:1211155;替勃龙片购自荷兰奥斯欧加农公司,产品批号:270163;Lunar iDXA 双能 X 射线骨密度仪购自美国 GE 公司;E3000 万能材料试验机购自英国英斯特朗公司;IX71 光学显微镜购自日本奥林巴斯公司。

1.3 方法

1.3.1 去势手术诱导骨质疏松模型制备及分组 大鼠用 10% 水合氯醛腹腔麻醉(0.33 ml/100 g),在无菌条件下背部双侧切开皮肤,钝性分离,切除双侧卵巢,切口逐层缝合。假手术组暴露但不切除卵巢,正常组大鼠不予手术。术后恢复 5 d 后,将去势大鼠随机分为 5 组,即去势模型组,阳性药替勃龙组(1.25 mg/kg),葛根总黄酮高剂量(200 mg/kg)、中剂量组(100 mg/kg)、低剂量组(50 mg/kg)。各组按上述剂量灌胃给药,每天 1 次,持续 12 周。正常组、假手术组及模型组灌胃给予等体积溶媒。实验室温度控制在 20~25℃,湿度在 50%~60%,各组大鼠自由饮水和摄食。

1.3.2 测定指标

1.3.2.1 子宫湿重和子宫指数的测定 给药 12 周后处死大鼠,分离子宫,称重,并计算子宫指数。子宫指数=子宫重量(mg)/体重(g)。

1.3.2.2 右股骨骨密度(bone mineral density, BMD)和骨矿物含量(bone mineral content, BMC)含量的测定 实验第 12 周,大鼠被 10% 水合氯醛

2013-12-20 接收

基金项目:安徽省科技攻关计划(编号:12010402090)

作者单位:安徽医科大学药学院基础与临床药理教研室,合肥 230032

作者简介:陈冠儒,男,硕士研究生;

陈飞虎,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: cfhchina@sohu.com

(0.33 ml/100 g) 麻醉后,用双能 X 射线骨密度仪测其右股骨 BMD 和 BMC。

1.3.2.3 左股骨生物力学及右肱骨干重和灰重的测定 左股骨与肉组织分离干净,用万能实验材料机进行三点弯曲实验。跨距 15 mm,加载速度 10 mm/min^[4]。右肱骨分离放入坩埚中放到马弗炉 120 °C 烤 8 h 后称其干重,然后继续放到马弗炉 800 °C 充分灰化 6 h 后称其灰重。

1.3.2.4 左胫骨组织形态学测定 左胫骨分离用 4% 多聚甲醛固定 5 d,然后 10% EDTA 脱钙 6 周后用牙科电锯从矢状面剖开,暴露骨髓腔并取左胫骨近端,制备常规脱钙骨组织蜡块,用日本滑动式切片机切 3 μm 厚骨组织切,HE 染色,光镜下观察骨形态改变,并用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算骨形态指标:平均骨小梁间距(Tb. Sp),平均骨小梁厚度(Tb. Th)和平均骨体积分数(BV/TV)。

1.3.2.5 尿液羟脯氨酸(hydroxyproline, HOP)、血清骨特异性碱性磷酸酶(bone-specific alkaline phosphatase, BALP)、卵泡生成素(follicle stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和雌激素(estrogen, E2)含量测定 结束治疗前 1 d,用代谢笼收集大鼠尿液;第 2 天股动脉取血,4 °C 3 000 r/min 离心 10 min,收集血清。血清和尿液放入 -80 °C 待用,ELISA 法检测生化指标。

1.3.2.6 下丘脑促性腺激素释放激素(GnRH) mRNA 表达 大鼠处死后,分离下丘脑,称重,用 TRIzol 试剂裂解后分别提取各组总 RNA,采用 Fermentas 逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA,RT-PCR 方法测定各组大鼠下丘脑 GnRH mRNA 表达。引物序列:GnRH 上游引物:5'-ATGGCAGAACCCAGAACTT-3',下游引物:5'-AAATGCGGAAGCCACAC-3',片段大小为 214 bp;β-actin 上游引物:5'-GTCCCTCACCCCTCCAAAAG-3',下游引物:5'-GCTGCCTCAACACCTCAACCC-3',片段大小为 266 bp。GnRH PCR 扩增条件为:95 °C 40 s;59 °C 30 s;72 °C,60 s;72 °C,10 min 35 个循环。β-actin PCR 扩增条件为:95 °C 40 s;62.9 °C 30 s;72 °C 60 s;72 °C,10 min 35 个循环。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 12.0 统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 方法。

2 结果

2.1 葛根总黄酮对去势大鼠子宫湿重和子宫指数的影响

对子宫湿重和子宫指数进行方差分析,结果显示各指标在各组间差异有统计学意义($F = 3.659, P = 0.006; F = 4.799, P = 0.001$)。与正常组及假手术组比较,去势模型组大鼠子宫湿重和子宫指数均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组大鼠比较,葛根总黄酮(50、100、200 mg/kg)给药组大鼠子宫湿重和子宫指数无显著改变,差异无统计学意义。而替勃龙组子宫湿重和子宫指数显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

表 1 葛根总黄酮对去势大鼠子宫湿重和子宫指数的影响($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	子宫湿重 (g)	子宫指数 (mg/g)
正常	-	0.669 ± 0.193	2.580 ± 0.731
假手术	-	0.695 ± 0.178	2.729 ± 0.650
模型	-	0.402 ± 0.144 ^{△△**}	1.448 ± 0.494 ^{△△**}
葛根总黄酮	50	0.422 ± 0.142	1.437 ± 0.535
	100	0.436 ± 0.153	1.576 ± 0.590
	200	0.463 ± 0.150	1.634 ± 0.507
替勃龙	1.25	0.635 ± 0.182 ^{##}	2.277 ± 0.793 [#]

与正常组比较:△△ $P < 0.01$;与假手术组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

2.2 葛根总黄酮对去势大鼠右股骨 BMD 和 BMC 含量的影响 对右股骨 BMD 和 BMC 进行方差分析,结果显示各指标在各组间差异有统计学意义($F = 3.965, P = 0.004; F = 2.593, P = 0.035$)。与正常组及假手术组比较,去势模型组大鼠右股骨 BMD 和 BMC 均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药组显著增加去势大鼠右股骨 BMD 和 BMC,差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示葛根总黄酮可改善去势手术引起的 BMD 和 BMC 含量降低。见表 2。

表 2 葛根总黄酮对去势大鼠右股骨 BMD 和 BMC 含量的影响($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	BMD (g/cm ²)	BMC(g)
正常	-	0.142 ± 0.009	0.950 ± 0.138
假手术	-	0.146 ± 0.006	1.000 ± 0.126
模型	-	0.125 ± 0.008 ^{△△**}	0.767 ± 0.103 ^{△△**}
葛根总黄酮	50	0.135 ± 0.007	0.850 ± 0.105
	100	0.138 ± 0.011 [#]	0.933 ± 0.186 [#]
	200	0.140 ± 0.012 ^{##}	0.950 ± 0.105 [#]
替勃龙	1.25	0.142 ± 0.006 ^{##}	0.967 ± 0.137 ^{##}

与正常组比较:△△ $P < 0.01$;与假手术组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

2.3 葛根总黄酮对去势大鼠左股骨生物力学、右肱

骨干重、灰重及灰重/干重的影响 对左股骨最大荷载、右肱骨干重、灰重及灰重/干重进行方差分析 结果显示各指标在各组间差异有统计学意义 ($F = 2.911, P = 0.021$; $F = 2.552, P = 0.037$; $F = 3.292, P = 0.011$; $F = 2.94, P = 0.02$)。与正常组及假手术组比较,去势模型组大鼠左股骨最大荷载、右肱骨干重、灰重及灰重/干重均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药组最大荷载显著上升,而葛根总黄酮(50、100、200 mg/kg)给药组均能显著提高骨干重、骨灰重、骨灰重/骨干重,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 葛根总黄酮对去势大鼠左胫骨组织形态的影响

HE染色结果提示,去势模型大鼠左胫骨骨小梁变细、断裂,数量减少,排列疏松紊乱。葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药组使骨小梁变粗变密,骨的连续性好,排列尚规则,成网状结构。见图1。对Tb. Sp、Tb. Th、BV/TV进行方差分析,结果显示各指标在各组间差异有统计学意义($F = 30.387, P < 0.001$; $F = 4.037, P = 0.004$; $F = 25.317, P < 0.001$)。与正常组及假手术组比较,去势模型组大鼠左胫骨Tb. Th、BV/TV均显著降低,Tb. Sp显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药后可显著升高去势大鼠左胫骨Tb. Th和BV/TV,并降低Tb. Sp,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

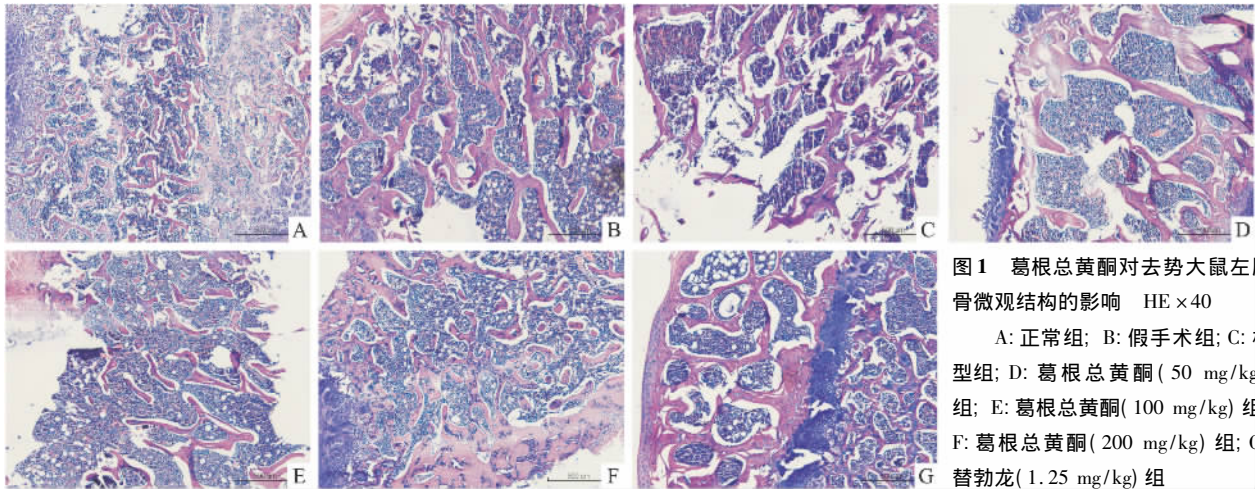


图1 葛根总黄酮对去势大鼠左胫骨微观结构的影响 HE ×40
A: 正常组; B: 假手术组; C: 模型组; D: 葛根总黄酮(50 mg/kg)组; E: 葛根总黄酮(100 mg/kg)组; F: 葛根总黄酮(200 mg/kg)组; G: 替勃龙(1.25 mg/kg)组

表3 葛根总黄酮对去势大鼠左股骨生物力学和右肱骨干重、灰重的影响($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	最大负荷(N)	干重(g)	灰重(g)	灰重/干重
正常	-	161.21 ± 12.75	0.316 ± 0.016	0.195 ± 0.012	0.619 ± 0.020
假手术	-	165.66 ± 10.51	0.319 ± 0.016	0.201 ± 0.018	0.629 ± 0.030
模型	-	139.06 ± 15.73 ^{△△**}	0.290 ± 0.009 ^{△△**}	0.165 ± 0.011 ^{△△**}	0.570 ± 0.025 ^{△△**}
葛根总黄酮	50	146.33 ± 15.95	0.308 ± 0.011 [#]	0.185 ± 0.011 [#]	0.602 ± 0.016 [#]
	100	156.28 ± 14.53 [#]	0.308 ± 0.010 [#]	0.186 ± 0.013 [#]	0.605 ± 0.031 [#]
	200	160.22 ± 10.22 ^{##}	0.310 ± 0.012 [#]	0.189 ± 0.020 [#]	0.607 ± 0.035 [#]
替勃龙	1.25	159.36 ± 13.37 [#]	0.317 ± 0.020 ^{##}	0.194 ± 0.021 ^{##}	0.610 ± 0.022 [#]

与正常组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与假手术组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

表4 葛根总黄酮对去势大鼠左胫骨组织形态的影响($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	Tb. Th(mm)	Tb. Sp(mm)	BV/TV
正常	-	0.074 ± 0.009	0.140 ± 0.015	0.501 ± 0.026
假手术	-	0.076 ± 0.006	0.144 ± 0.021	0.492 ± 0.028
模型	-	0.031 ± 0.005 ^{△△**}	0.176 ± 0.014 ^{△△**}	0.298 ± 0.029 ^{△△**}
葛根总黄酮	50	0.035 ± 0.007	0.172 ± 0.018	0.321 ± 0.038
	100	0.056 ± 0.005 ^{##}	0.156 ± 0.016 [#]	0.407 ± 0.022 ^{##}
	200	0.067 ± 0.012 ^{##}	0.150 ± 0.021 [#]	0.434 ± 0.025 ^{##}
替勃龙	1.25	0.068 ± 0.010 ^{##}	0.147 ± 0.012 ^{##}	0.451 ± 0.016 ^{##}

与正常组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与假手术组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

表5 葛根总黄酮对去势大鼠尿 HOP、血清 BALP、FSH、LH 和 E2 的影响($n=6 \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	HOP(μg/ml)	BALP(ng/ml)	FSH(IU/L)	LH(mIU/ml)	E2(pg/ml)
正常	-	13.85 ± 2.88	3.08 ± 0.31	2.61 ± 0.26	13.36 ± 0.84	36.60 ± 4.21
假手术	-	14.79 ± 2.18	3.19 ± 0.35	2.79 ± 0.28	13.46 ± 0.52	35.56 ± 5.84
模型	-	25.59 ± 3.77 ^{△△**}	3.84 ± 0.20 ^{△△**}	3.91 ± 0.39 ^{△△**}	15.82 ± 1.00 ^{△△**}	22.90 ± 2.92 ^{△△**}
葛根总黄酮	50	24.53 ± 3.60	3.69 ± 0.35	3.56 ± 0.36	15.15 ± 0.99	24.11 ± 3.157
	100	19.84 ± 3.68 ^{##}	3.44 ± 0.25 [#]	3.26 ± 0.42 ^{##}	14.54 ± 0.73 [#]	24.41 ± 2.96
	200	17.14 ± 2.77 ^{##}	3.25 ± 0.29 ^{##}	3.03 ± 0.25 ^{##}	13.65 ± 1.12 ^{##}	24.76 ± 3.30
替勃龙	1.25	16.43 ± 2.73 ^{##}	3.35 ± 0.34 ^{##}	2.98 ± 0.32 ^{##}	13.48 ± 0.80 ^{##}	34.73 ± 3.21 ^{##}

与正常组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与假手术组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

2.5 葛根总黄酮对去势大鼠尿 HOP、血清 BALP、FSH、LH 和 E2 的影响 尿 HOP、血清 BALP、FSH、LH 和 E2 水平进行方差分析,结果显示各指标在各组间差异有统计学意义($F = 13.089, P < 0.001$; $F = 4.863, P = 0.010$; $F = 11.230, P < 0.001$; $F = 7.433, P < 0.001$; $F = 20.983, P < 0.001$)。与正常组及假手术组比较,去势模型组大鼠尿液 HOP,血清 BALP、FSH、LH 水平均显著升高,血清 E2 水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。葛根总黄酮(100、200 mg/kg)治疗后尿 HOP 和血清 BALP、FSH 和 LH 水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

2.6 葛根总黄酮对去势大鼠下丘脑 GnRH mRNA 的影响 下丘脑 GnRH mRNA 相对表达量进行方差分析,结果显示其在各组间差异有统计学意义($F = 28.759, P < 0.001$)。与正常组及假手术组比较,模型组下丘脑 GnRH mRNA 水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药组显著提高下丘脑 GnRH mRNA 水平的表达,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 2。

3 讨论

绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMO)是困扰围绝经期妇女的重要健康问题之一。其主要原因是由于卵巢功能低下导致雌激素明显减少,引发骨偶联过程失衡,导致破骨细胞性骨吸收作用超过了成骨细胞性骨形成作用^[5],继而导致净骨量减少、骨强度降低、骨脆性增加。雌激素替代疗法可有效缓解 PMO 临床症状,提高患者生活质量,但可引发子宫出血及与雌激素水平升高相关的肿瘤发生风险增高^[6-7]。鉴于异黄酮类植物雌激素在防治糖皮质激素性骨质疏松、绝经后骨质疏松症

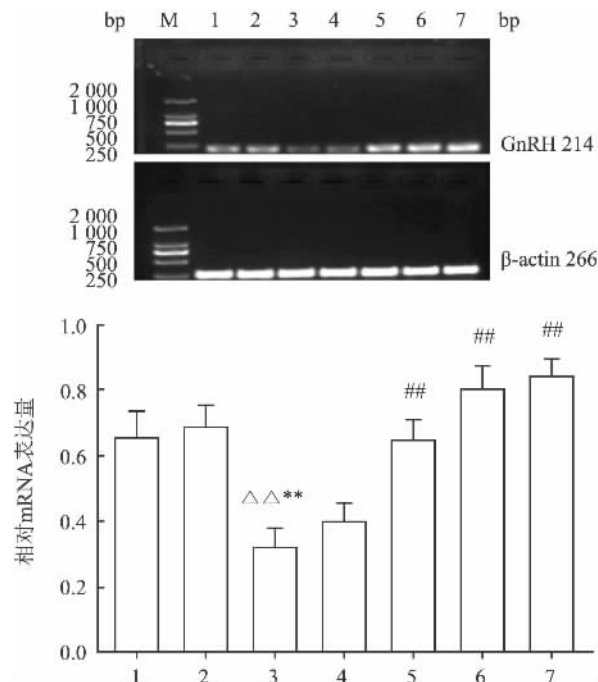


图2 葛根总黄酮对去势大鼠下丘脑 GnRH mRNA 的影响($n=3 \bar{x} \pm s$)
M: Marker; 1: 正常组; 2: 假手术组; 3: 模型组; 4: 葛根总黄酮(50 mg/kg)组; 5: 葛根总黄酮(100 mg/kg)组; 6: 葛根总黄酮(200 mg/kg)组; 7: 替勃龙(1.25 mg/kg)组; 与正常组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与假手术组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{##} $P < 0.01$

等方面的作用,并且无雌激素样不良反应^[8-11],本研究系统观察了葛根总黄酮对去势诱发的大鼠骨质疏松的治疗作用。

骨密度和骨量下降以及骨微结构是骨质疏松的主要病理改变,动物实验中采用去势手术可模拟这一临床改变,因而已成为研究 PMO 的“金标准”模型。本研究结果表明,去势大鼠血清 E2 水平、子宫湿重及子宫指数显著降低,右股骨 BMD 和 BMC 以及右肱骨干重、灰重及灰重/干重均显著降低,提示去势手术可诱发雌鼠 PMO 样改变。葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药 12 周可显著改善上述改变,HE 染色结果进一步证实葛根总黄酮可改善去势诱

导的大鼠平均骨小梁变细、断裂,数量减少,排列疏松紊乱等病理改变,提示葛根总黄酮可对去势手术诱导的雌鼠 BMD 和骨量下降、骨微结构改变有一定的治疗作用。

骨脆性是骨强度降低和骨微观结构退化共同作用的结果。本研究结果表明,葛根总黄酮(100、200 mg/kg)不仅增加去势大鼠骨生物力学特性,还增加了 Tb.Th 和 BV/TV,抑制了骨小梁的降解,从而达到了骨保护作用。

骨质疏松是由于骨吸收大于骨形成造成的一种高转换负平衡状态。本研究结果表明,去势雌鼠骨吸收指标尿 HOP 和骨代谢指标血清 BALP 水平均显著升高,葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药可明显降低 HOP 和 BALP 水平,进一步证实葛根总黄酮可降低骨代谢,有效缓解去势手术诱导的骨质疏松。

下丘脑-垂体-性腺轴的调节失衡是导致 PMO 的主要原因之一。研究^[12-13]表明,在骨组织骨盐沉淀的过程中 ER- β 起到正调节的作用,从而增加成骨细胞的增殖,增加骨形成,抑制破骨细胞的功能,降低骨吸收。FSH 在调节骨代谢方面也发挥至关重要的作用,E2 水平的降低和 FSH 水平的升高将加速骨吸收和骨量的丢失^[14]。FSH 直接增加破骨细胞生成和骨吸收,低含量的 FSH 在骨质疏松中直接调节骨量达到保护的作用^[15]。本研究结果表明,去势雌鼠血清 E2 水平及下丘脑 GnRH mRNA 表达显著降低,血清 FSH 和 LH 水平升高,葛根总黄酮(100、200 mg/kg)给药虽然对血清 E2 水平无显著影响,但可显著提高下丘脑 GnRH mRNA 表达,并使血清 FSH 和 LH 水平降低。提示葛根总黄酮对去势手术诱导的雌鼠骨质疏松的治疗作用可能与其对下丘脑-垂体-性腺轴的调节有关。

综上所述,本研究结果表明葛根总黄酮可有效改善去势手术诱导的雌鼠骨质疏松,其作用机制可能与调节下丘脑-垂体-性腺轴有关。由于葛根总黄酮来源于药食同源植物葛藤,不良反应小,其临床开发和作用机制研究将为骨质疏松的治疗药物开发提供新思路。

参考文献

[1] 黄大祥,王长江,王佑民,等. 利塞膦酸钠对原发性骨质疏松

症患者骨密度和骨转换指标的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2006, 41(6): 679-81.

- [2] 范金柱,杨柳,罗卓荆,等. 雌激素对绝经后骨质疏松患者骨髓间充质干细胞 Notch 信号通路的影响[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2013, 6(3): 232-9.
- [3] Tanaka T, Tang H J, Yu F N, et al. Kudzu (Pueraria lobata) vine ethanol extracts improve ovariectomy-induced bone loss in female mice [J]. J Agr Food Chem, 2011, 59(24): 13230-7.
- [4] Ma B, Zhang Q, Wu D, et al. Strontium fructose 1,6-diphosphate prevents bone loss in a rat model of postmenopausal osteoporosis via the OPG/RANKL/RANK pathway [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(4): 479-89.
- [5] 杨希重,季翠杰,王德春,等. 去卵巢大鼠骨质疏松大鼠的番茄红素的干预[J]. 中国组织工程研究, 2012, 12(15): 2750-6.
- [6] Foidart J M, Desreux J, Pintiaux A, et al. Hormone therapy and breast cancer risk [J]. Climacteric, 2007, 10(Suppl 2): 54-61.
- [7] Mørch L S, Løkkegaard E, Andreassen A H, et al. Hormone therapy and ovarian cancer [J]. J Am Med Assoc, 2009, 302(3): 298-305.
- [8] Bitto A, Burnett B P, Polito F, et al. Genistein aglycone reverses glucocorticoid-induced osteoporosis and increases bone breaking strength in rats: a comparative study with alendronate [J]. Brit J Pharmacol, 2009, 156(8): 1287-95.
- [9] Virojchaiwong P, Suvithayasiri V, Itharat A. Comparison of pueraria mirifica 25 and 50 mg for menopausal symptoms [J]. Arch Gynecol Obstet, 2011, 284(2): 411-9.
- [10] 何志鹏. 葛根对去卵巢大鼠骨质疏松作用的研究[J]. 牡丹江医学院学报, 2008, 29(5): 9-11.
- [11] 黄海岭,李海,王金花,等. 雌激素与葛根素组合治疗去卵巢大鼠骨症的最佳剂量[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(33): 6111-4.
- [12] Kuiper G G, Lemmen J G, Carlsson B, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β [J]. Endocrinology, 1998, 139(10): 4252-63.
- [13] Arts J, Kuiper G G, Janssen J M, et al. Differential expression of estrogen receptors alpha and beta mRNA during differentiation of human osteoblast SV-HFO cells [J]. Endocrinology, 1997, 138(11): 5067-70.
- [14] Faienza M F, Ventura A, Marzano F, et al. Postmenopausal osteoporosis: the role of immune system cells [J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013: 575936.
- [15] Sun L, Peng Y, Sharrow A C, et al. FSH directly regulates bone mass [J]. Cell, 2006, 125(2): 247-60.

儿茶素对实验性大鼠心力衰竭模型的保护作用

章琦, 胡立群, 尹长森, 陈萍, 李红旗, 孙新, 严光

摘要 目的 考察儿茶素对实验性大鼠心力衰竭(简称心衰)模型的保护作用。方法 采用腹主动脉结扎制备大鼠心衰模型;通过心衰大鼠血流动力学、心脏重量指数、血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、醛固酮(ALD)和心钠肽(ANP)含量水平评价儿茶素疗效。结果 心衰大鼠血流动力学明显紊乱,心脏重量指数显著增加,同时AngⅡ、ALD和ANP浓度水平明显上升;儿茶素50、100 mg/(kg·d)连续2周治疗给药后能明显改善心衰大鼠血流动力学、降低心脏重量指数、下调AngⅡ、ALD和ANP的含量水平。结论 儿茶素对大鼠心衰具有明显保护作用。

关键词 儿茶素;心力衰竭;血管紧张素Ⅱ;醛固酮;心钠肽
中图分类号 R 364.1; R 453.9; R 541.6; R 965.1
文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)06-0764-04

慢性充血性心力衰竭是一种常见的心血管疾病^[1],我国成年人心力衰竭(简称心衰)患病率约为0.9%^[2]。目前临床抗心衰一线药物主要有血管紧张素转化酶抑制剂和血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)受体拮抗剂,该类物质能明显改善心衰症状,提高心室收缩与舒张功能^[3],但长期给药过程中会不同程度造成一定副作用,如咳嗽、皮疹、心悸和头晕等不良反应^[4]。茶饮文化在我国有数千年历史,目前茶叶已是日常生活中重要保健产品之一。儿茶素是茶叶活性成分之一,对高血压、血管动脉粥样硬化和高血脂等心血管疾病均具有良好的预防和治疗作用^[5],但对慢性心衰是否具有疗效未见报

2014-02-24 接收

基金项目:安徽省高校省级自然科学基金项目(编号:KJ2013Z125)

作者单位:安徽医科大学附属省立医院老年科,安徽省心血管病研究所,合肥 230001

作者简介:章琦,男,硕士研究生;

严光,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: yanguang399@sina.com

Protective effect of total flavones of *Pueraria lobata* on osteoporosis in ovariectomized rats

Chen Guanru, Chen Feihu, Ge Jinfang, et al

(School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the protective activity of total flavones of *Pueraria lobata* on osteoporosis in ovariectomized rats. **Methods** 10-week-old SPF female SD rats were randomly assigned to groups including: normal control group, sham ovariectomy group, ovariectomy group, Tibolone Tablets 1.25 mg/kg group and total flavones of *Pueraria lobata* 50, 100, 200 mg/kg groups. All experiment substances were administered for 12 weeks orally according to the designed dosages. At the end of 12 weeks treatment, bone mineral density (BMD), bone mineral content (BMC) of the right femur and bone breaking strength of the left femur were evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry and three-point bending test, respectively. Histomorphology of the left tibia was analyzed after haematoxylin and eosin staining. Urine hydroxyproline (HOP), serum bone specific alkaline phosphatase (BALP), follicle-stimulating hormone (FSH), luteotropic hormone (LH) and estrogen (E2) were measured by ELISA kits. The mRNA level of hypothalamus gonadotropin-releasing hormone (GnRH) was evaluated by RT-PCR. **Results** Total flavones of *Pueraria lobata* (100, 200 mg/kg) distinctly improved BMD of the right femur, bone biomechanical properties of the right femur, up-regulated mRNA expression of the hypothalamus GnRH and decreased urine HOP, serum BALP, FSH, LH levels and decreased bone absorption. **Conclusion** Results of current study demonstrate that treatment of total flavones of *Pueraria lobata* may protect and preventively treat osteoporosis in ovariectomized rats.

Key words *Pueraria lobata* total flavones; ovariectomized; osteoporosis; BMD