

#基础研究#

淫羊藿总黄酮与己烯雌酚合用对去卵巢大鼠子宫和骨的影响

金勋杰, 许碧莲, 吴铁, 李青南

(广东医学院附属医院骨外科, 广东 湛江 524000)

摘要 目的: 观察淫羊藿总黄酮(epimedium pubescens flavonoids, EF)能否抑制己烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)刺激子宫不良反应,及对DES抗骨质疏松作用的影响。**方法:** 50只4个月龄SD雌性大鼠随机分为5组:假手术组(Sham组);去卵巢组(OVX组);己烯雌酚组(DES组);淫羊藿总黄酮组(EF组);联合用药组(EF+DES组)。实验12周,通过测量子宫内膜厚度及子宫湿重分析用药对子宫的刺激作用,测量骨小梁面积百分率(%Tb.Ar)、荧光周长百分数(%L.Pm)及破骨细胞数量(Oc.N)反映骨量、骨形成及骨吸收的变化。**结果:** DES组与OVX组比,子宫湿重及内膜厚度都显著增加,%Tb.Ar增加,%L.Pm、Oc.N减少;EF组与OVX组比,子宫湿重及内膜厚度、%Tb.Ar、Oc.N均无显著性差异;EF+DES与DES组比,内膜厚度显著降低,%Tb.Ar增加;与假手术组比各参数无显著性差异。**结论:** 淫羊藿总黄酮可有效抑制己烯雌酚对子宫内膜刺激作用并增强其防治骨质疏松作用。

关键词 淫羊藿总黄酮; 己烯雌酚; 子宫; 骨质疏松; 卵巢切除术

Effects of combined medication of epimedium pubescens flavonoids and diethylstilbestrol on uterus and bones in ovariectomized rats JIN Xun²jie, XU B²lian, WU Tie, LI Qing²nan. Department of Pharmacology, Bone Biology Lab, Guangdong Medical College, Zhanjiang Guangdong, 524023, China

Abstract Objective: To observe the effects of combined medication of epimedium pubescens flavonoids (EF) and diethylstilbestrol (DES) on uterus and bones in ovariectomized (OVX) rats. **Methods:** Fifty female SD rats were divided into 5 groups: Sham²OVX group, OVX group, DES group, EF group and combined medication of EF and DES group (EF+DES group). After an experiment period of 12 weeks, the side²effects on uterus was analyzed by measuring the wet weight of uterus and the endometrium epithelial thickness (EET) and the changes of bone mass with quantitative bone histomorphometry were observed. **Results:** The percent of bone trabecula area (%Tb.Ar), uterine wet weight and EET in DES group were significantly increased as compared with OVX group. EF+DES group showed increase in %Tb.Ar and decrease in uterine weight and EET, as compared with DES group. There was no significant difference between EF+DES group and sham²OVX group. **Conclusion:** EF could inhibit the DES's stimulative side effect on uterus and increase its ant²osteoporosis effects.

Key words Epimedium pubescens flavonoids; Diethylstilbestrol; Uterus; Osteoporosis; Ovariectomy

我们曾研究证明补骨胶囊可有效抑制雌激素刺激子宫不良反应,且二者合用可有效预防大鼠骨质疏松^[1]。补骨胶囊是一种抗骨质疏松中药,由淫羊藿、黄芪、白术等组成,其中淫羊藿是传统补肾壮骨中药,是补骨胶囊主要有效成分,而淫羊藿总黄酮又是淫羊藿的主要有效成分。故本次实验拟进一步研究淫羊藿总黄酮能否同样抑制雌激素刺激子宫不良

反应,并同时观察二者联合用药的抗骨质疏松效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 淫羊藿总黄酮的提取 淫羊藿生药材以数倍水浸泡后煎煮,重复3次,合并滤液浓缩,加3倍乙醇沉淀,回收乙醇后,用乙酸乙酯萃取,回收乙酸乙酯得到淫羊藿总黄酮。以淫羊藿苷做标准品,测得提取物中淫羊藿总黄酮含量是32%。

1.1.2 药品及试剂 己烯雌酚购自广东彼迪药业

基金项目: 广东医学院 2001 年青基基金(编号: 200205/K01063)

通讯作者: 金勋杰

有限公司,批号 10010601;钙黄绿素(Calcein)、盐酸四环素、Goldners 染料试剂均购自美国 Sigma 公司。甲基丙烯酸甲酯购自北京化工厂,邻苯二甲酸二丁酯购自天津市化学试剂一厂,过氧化苯甲酰购自广州化学试剂厂。

11113 仪器 慢速锯(Buehler LTD. USA);碳化钨钢刀;LEICA2155 硬组织切片机(德国);自动图像数字化分析仪,包括光镜和荧光显微镜(Nikon,日本)、骨组织形态计量学测量软件(KSS, Scientific Consultants, UT USA)。

112 方法

11211 实验动物及分组 4 个月龄未交配的 SD 雌性大鼠(由中国科学院上海实验动物中心提供,合格证号为中科动管第 003 号)50 只,清洁级,体质量(227? 12) g。大鼠适应性饲养 15 d,开始实验时体质量(241? 12) g。按随机排列表分为 5 组,每组 10 只,除假手术组外,其余各组均行双侧卵巢切除术^[2]。分组情况: 1 假手术组(Sham); 0 去卵巢组(OVX);以上两组给以体积分数为 01056 的乙醇(溶剂对照)2 ml 灌胃; » 己烯雌酚组(EF),给予己烯雌酚 2215 Lg. kg⁻¹#d⁻¹, 2 ml 灌胃; ¼ 淫羊藿总黄酮组(DES),予淫羊藿总黄酮 300 mg. kg⁻¹#d⁻¹, 2 ml 灌胃; ½ 淫羊藿总黄酮制剂与己烯雌酚联合用药组(EF+ DES),给以己烯雌酚 2215 Lg. kg⁻¹#d⁻¹加淫羊藿总黄酮 300 mg. kg⁻¹#d⁻¹, 2 ml 灌胃(» ¼ ½ 均以 01056 的乙醇作为溶剂)。所有大鼠喂药均采用胃饲法。每周称重 1 次,按体质量调整药量,所有大

鼠单笼饲养,室温 23~ 25 e、相对湿度 50%~ 70% 的清洁环境中自由摄食、饮水。使用标准饲料,其中钙含量 1133%、磷含量 0195%。在手术、饲养及制作标本过程中,3 只死亡,3 只标本损坏。

11212 骨组织形态计量学分析 实验 120 d,大鼠 2%戊巴比妥钠麻醉,心脏抽血处死,取 L₅ 椎体用慢速锯将其沿矢状面分为两份,暴露骨髓腔后,取左侧做不脱钙骨包埋、切片,用自动图像数字化仪测量,计算以下参数^[2]:骨小梁面积百分数(% Tb. Ar,反映骨量的多少)、荧光标记周长百分数(% L. Pm,反映骨形成活跃程度)、破骨细胞数量(Oc. N,反映骨吸收活跃程度)。

11213 子宫的观察 雌激素刺激大鼠子宫不良反应的强弱可以通过子宫质量、子宫内膜厚度来评价^[1]。取出子宫后,首先称重观察子宫大小。经石蜡包埋、切片、HE 染色后,于 10 @20 倍镜下测量其平均子宫内膜厚度,观察药物对子宫内膜的影响。

11214 统计学处理 用 SPSS V715 软件进行数据分析,参数值用均数和标准差(x ? s)表示,各组间比较采用单因素方差分析(LSD),对于方差不齐参数的组间比较,采用 Dunnett's T3 方法。

2 结果

211 去卵巢对大鼠的影响 由表 1 可见,去卵巢组与假手术组比较,% Tb. Ar 降低,% L. Pm、Oc. N 增加,说明骨量增加,骨形成和吸收均增加。由表 2 可见,去卵巢组与假手术组比,子宫质量及内膜厚度降低。

表 1 复方淫羊藿总黄酮制剂与己烯雌酚联合用药对去卵巢大鼠骨计量学参数的影响(x ? s)
Tab. 1 The effects of combined medication of epimedium pubescens flavonoids(EF)and diethylstilbestrol (DES) on bones of ovariectomized(OVX)rats(x ? s)

Groups	Rats	% Tb. Ar (%)	% L. Pm (%)	Oc. N (number/mm ²)
Sham	7	39.5? 5.4	24.8? 4.2	0.86? 0.11
OVX	9	25.7? 4.6 [@]	33.9? 5.2 [@]	1.77? 0.57 [@]
DES	8	31.6? 4.5 ^{@w}	18.0? 5.0 ^w	0.94? 0.22 ^w
EF	10	28.8? 8.3 [@]	27.7? 8.4	1.40? 0.36 ^{@w}
EF+ DES	10	38.7? 5.2 ^{w#}	14.9? 4.4 ^{@w}	0.69? 0.18 ^w
F	-	9.4	16.0	15.5
P	-	< 0.000 1	< 0.000 1	< 0.000 1

注:与假手术组比较,@P < 01 05;与去卵巢组比较,wP < 01 05;与己烯雌酚组比较,# P < 01 05

Note: Compared with Sham group, @P < 01 05; Compared with OVX group, wP < 01 05; Compared with DES group, # P < 01 05

212 单独使用雌激素对去卵巢大鼠的影响 己烯雌酚组与去卵巢组比,% Tb. Ar 增加,% L. Pm、Oc. N 降低,说明骨量增加,骨形成和吸收均降低,且子宫质量及内膜厚度均明显增加。与假手术组比,子宫

内膜厚度增加。

213 单独使用淫羊藿总黄酮对去卵巢大鼠的影响 淫羊藿总黄酮组与去卵巢组比,所有指标差异均无显著性。

表 2 复方淫羊藿总黄酮制剂与己烯雌酚联合用药对去卵巢大鼠子宫质量和内膜厚度的影响(x ? s)
Tab. 2 The effects of combined medication of epimedium pubescens flavonotds(EF)and diethylstilbestrol (DES) on uterus of (OVX) rats(x ? s)

Groups	Rats	Wet weight of uterus (mg)	Endometrium epithelial thickness (EET) (Lm)
Sham	7	586? 171	23. 7? 4. 5
OVX	9	136? 47@	9. 5? 1. 1@
DES	8	532? 100 ^w	42. 6? 8. 47@ ^w
EF	10	174? 70@ [#]	12. 3? 2. 7@ [#]
EF+ DES	10	471? 64@ ^w	20. 3? 2. 1 ^{w#}
F	-	42. 8	76. 5
P	-	< 1/2 0. 000 1	< 0. 000 1

注:与假手术组比较, @P < 0105; 与去卵巢组比较, ^wP < 0105; 与己烯雌酚组比较, [#]P < 0105

Note Compared with Sham group, @P < 0105; Compared with OVX group, ^wP < 0105; Compared with DES group, [#]P < 0105

214 联合用药对去卵巢大鼠的影响 联合用药组与去卵巢组比, %Tb. Ar 增加, %L. Pm、Oc. N 降低, 子宫质量及内膜厚度增加。与假手术组比, %Tb. Ar、子宫内膜厚度差异无显著性。联合用药组与己烯雌酚组比较, %Tb. Ar 增加, 内膜厚度明显减少。

3 讨论

本次实验未观察到淫羊藿总黄酮有预防去卵巢大鼠骨丢失的作用, 其原因可能与用药量及本次实验大鼠在去卵巢后骨丢失太剧烈有关。另外, 淫羊藿总黄酮对去卵巢大鼠子宫无刺激作用。

淫羊藿总黄酮制剂与己烯雌酚联合用药显著增加去卵巢大鼠骨量, 与单用己烯雌酚组比较, 骨量增加, 提示联合用药疗效优于单独用药。另外, 联合用药与单用己烯雌酚比较, 子宫内膜厚度显著降低, 且减少到与假手术组相近的水平, 说明淫羊藿总黄酮可以抑制己烯雌酚对子宫内膜的刺激作用, 这与补骨胶囊的作用相同^[1], 提示补骨胶囊可能通过淫羊藿总黄酮来抑制己烯雌酚对子宫的刺激作用。

我们只观察到淫羊藿总黄酮抑制雌激素不良反应的现象, 但其机制尚未明确, 亦未见相关报道。推测可能与其雄激素样作用或对内分泌的影响有关, 亦有可能与雌激素竞争雌激素受体有关。

综上所述, 淫羊藿总黄酮与己烯雌酚合用后, 一方面可以减弱己烯雌酚刺激子宫的不良反应; 另一方面可显著增加去卵巢大鼠骨量, 取得较满意的预防骨质疏松效果, 提示这是一种疗效确切、不良反应小的抗骨质疏松用药方案。但淫羊藿总黄酮中何种成分降低了雌激素刺激子宫不良反应及作用机制, 是需要继续探讨的课题。

参考文献

- 1 金勋杰, 吴铁, 李青南, 等. 补骨胶囊与 172A 炔雌醇联合用药对大鼠骨质疏松的预防及对子宫刺激作用的研究. 中国骨伤, 2003, 16 (5): 272-274.
 - 2 李朝阳, 李青南, 林柏云, 等. 蛇床子素对去卵巢大鼠近侧胫骨代谢影像的定量研究. 药理学报, 1996, 3(5): 327-332.
- (收稿日期: 2005- 01- 12 本文编辑: 王宏)

首届亚洲创伤骨科高峰论坛通知

为推动我国创伤骨科的发展, 增进相互了解, 扩大与亚洲地区各国的学术交流与技术合作, 5 中华创伤骨科杂志 6 社、亚洲创伤骨科学会(AADO)与中华骨科交流学会(台湾)于 2005 年 11 月 11- 14 日在广州联合举办/首届亚洲创伤骨科高峰论坛。会议将就创伤骨科领域国际最新技术与进展、主要以 Video Symposium(多媒体动画)形式进行广泛的学术交流。5 中华创伤骨科杂志 6 即将进入中华医学会系列杂志, 届时将同时举行 5 中华创伤骨科杂志 6 第二届编委改选及编委会会议。论坛主题为**创伤骨科新技术**: 1 创伤骨科基础研究; ° 计算机辅助骨科技术(CAOS); » 微创骨科技术(MIOS); ¼ 骨盆髋臼损伤现代治疗; ½ 关节外科新技术; ¾ 运动创伤新技术; ¿ 手外科新技术。

文稿要求: 需提交 800 字以内中、英文摘要。摘要按结构式要求书写, 包括文题、目的、方法、结果、结论。5 中华创伤骨科杂志 6 2005 年第 12 期将出版/首届亚洲创伤骨科高峰论坛 0 专刊, 有意者请同时提交 3 000~ 4 000 字全文(含图片), 经审修合格将刊登录用。稿件一律采用 A4 纸 5 号字体电脑打印, 并提供软盘或光盘。有意参加会议的代表请及时与论坛筹备委员会联系, 以便于及时向您寄发后续的会议详细安排通知。

投稿与报名截止日期: 2005 年 9 月 30 日。联系地址及方法: 广州市广州大道北 1838 号南方医科大学附属南方医院 5 中华创伤骨科杂志 6 编辑部 聂兰英、李广宇编辑; 邮政编码: 510515; 电话: 020261641748; 传真: 020261360066; E2mail: cjot@fimmu.com 详情可登录: www.gzafot.org 查询。