

· 基础研究 ·

红景天对高原去势大鼠骨质疏松症的血清 L-6、TNF- 和尿 DPD 影响

白孟海¹,葛宝丰¹,刘剑梅¹,王琦¹,高文魁²,郑荣¹

(1. 兰州军区兰州总医院骨科研究所,甘肃 兰州 730050; 2. 西宁市解放军第四医院)

【摘要】目的:探讨高原高寒地区低氧环境去势大鼠骨质疏松症与血清白细胞介素-6(L-6)、肿瘤坏死因子-(TNF-)和尿脱氧吡啶酚(DPD)的关系及红景天预防骨质疏松的作用。方法:选用 Wistar 雌性大白鼠 75只,分别摘除卵巢或假性去卵巢。分为 A组(假手术组),B组(切除卵巢组),C组(切除卵巢+尼尔雌醇组),D组(切除卵巢+红景天混合饲料组),E组(切除卵巢+红景天浸液组)。每组 15只,术后在海拔 3 100 m 青海海北州地区饲养,术后 3个月处死,应用放免方法测定血清 L-6、TNF- 和化学发光法测定尿中 DPD 含量。结果:B组血清 L-6、TNF- 和尿 DPD 含量显著高于 A、C、D、E组。C、D、E组血清 L-6、TNF- 和尿 DPD 含量与 A组比较差异无显著性统计学意义。结论:红景天的抗高原骨质疏松症的作用可能与降低血清 L-6、TNF- 含量和尿中 DPD 浓度有关。

【关键词】骨质疏松;绝经后;动物,实验;白细胞介素-6;肿瘤坏死因子-;尿脱氧吡啶酚

Effect of CO-RAD DD (RACC) on the contents of L-6 and TNF- in the serum and DPD in the urine of ovariectomized rats with osteoporosis at high altitude BAI Meng-hai¹, GE Bao-feng, LIU Jian-mei, WANG Qi, GAO wen-kui, ZHENG Rong² Institute of Orthopaedics and Traumatology, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, Gansu, China

ABSTRACT Objective: To discuss the relationship between ovariectomized rats with osteoporosis and L-6, TNF- in the serum and DPD in the urine at high altitude and the preventive effects of RACC on osteoporosis. **Methods:** Seventy-five ovariectomized Wistar female rats were divided into group A (sham operation group), group B (ovariectomized group), group C (ovariectomized + nilestriol), group D (ovariectomized + mixed feed of RACC), group E (ovariectomized + RACC immersion). The contents of L-6, TNF- in the serum and DPD in the urine were measured after 3 months of feed in Haibei district of Qinghai (3 100 m above sea level).

Results: The contents of L-6, TNF- in the serum and DPD in the urine in group B were significantly higher than those of the group A, C, D and E; the contents of L-6, TNF- in the serum and DPD in the urine in the group C, D and E had no significant difference compared with group A. **Conclusion:** The preventive effect of RACC on osteoporosis may relate to the decrease of contents of L-6, TNF- in the serum and DPD in the urine.

Key words Osteoporosis, postmenopausal; Animals, laboratory; Interleukin-6; Tumor necrosis factor-; Deoxypyridinoline

高原缺氧除可引起妇女卵巢功能的改变外^[1],同时又可引起血清白细胞介素-6(L-6)和肿瘤坏死因子-(TNF-)含量增加^[2]。这两种因素均可引起骨吸收增强致骨质疏松症发生。本实验采用放射免疫分析法和化学发光法测定高原去势大鼠血清 L-6、TNF- 和尿脱氧吡啶酚(DPD)含量。观察红景天对其影响作用。

1 材料与方法

1.1 动物分组 健康雌性 Wistar 大白鼠 75只,体重 220 ~

240 g,由本院动物实验科提供。随机分为 5组,每组 15只。A组(假手术组),B组(切除双卵巢组),C组(切除双卵巢+尼尔雌醇组),D组(切除双卵巢+红景天混合饲料组),E组(切除双卵巢+红景天浸液组)。假手术组行假手术,采用腹侧入路,仅切除皮下组织即关闭,其余各组均行双侧卵巢切除术。术时均予 3%戊巴比妥钠溶液按 0.1 ml/100 g 体重腹腔麻醉。手术腹侧入路完整切除双侧卵巢,止血缝合。

1.2 药品 尼尔雌醇,使用前用生理盐水配成浓度为 0.2 mg/ml 的悬液(北京四环制药有限公司生产,规格:每片 1 mg,批号:0031002)。3%戊巴比妥钠(上海化学试剂采购供应站分装厂)。

基金项目:全军科研基金课题(编号:01Z008)

通讯作者:白孟海 Tel: 0931-8975291

1.3 饲养及给药途径 所有实验动物术后均在青海海北州地区海拔 3 100 m同等条件下饲养。C组术后 3 d给予尼尔雌醇 0.6 ml/100 g体重,每周 1次灌胃。D组术后 3 d喂红景天干粉混合饲料,红景天混合饲料参照黄增艳等^[3]方法加工,(按每日红景天 3 g/220 g体重)不足补给普通饲料,自由饮水。E组术后 3 d始自由饮红景天浸液,红景天浸液参考黄增艳等^[3]方法加工。A、B、C组术后喂普通饲料,自由饮水。所有实验动物 3个月后置制式代谢笼内采集 24 h尿液 5 ml,置 -30 冰箱待测。采集尾静脉血 1.5 ml,4 离心分离血清,置 -30 冰箱待测。

1.4 血清 L-6、TNF- 和尿 DPD测定 血清 L-6和 TNF-含量测定采用放射免疫分析法,试剂盒购于解放军总医院科技开发中心放免所。仪器为中科院上海原子核日环仪器厂生产的 SN-682型放射免疫 计数仪。尿 DPD含量测定采用化学发光法,用美国 METRA 公司生产的 ELISA 试剂盒检测。仪器为美国 CHIRON公司生产的 ASC180全自动免疫分析仪。

1.5 统计学处理 实验数据以均数 ±标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示。多组间均数比较用 SPSS 10.0 软件单因素方差分析 (ANOVA),组间比较用 LSD法, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

B组血清 L-6、TNF- 和尿 DPD含量均显著高于 A、C、D、E组 (A组 L-6 $P = 0.008$, TNF- $P = 0.000$, DPD $P = 0.000$; C组 L-6 $P = 0.025$, TNF- $P = 0.018$, DPD $P = 0.000$; D组 L-6 $P = 0.025$, TNF- $P = 0.021$, DPD $P = 0.000$; E组 L-6 $P = 0.030$, TNF- $P = 0.017$, DPD $P = 0.000$); C、D、E组 L-6、TNF- 和 DPD含量与 A组比较差异无显著性。见表 1。

表 1 红景天对高原去势大鼠血清 L-6、TNF- 和尿 DPD含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of CO-RAD DD (RACC) on the contents of L-6 and TNF- in the serum and DPD in the urine in the ovariectomized rats at high altitude ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	L-6 (pg/ml)	TNF- (ng/ml)	DPD (mmol/L)
A	15	65.65 ± 6.68	4.91 ± 0.86	168.21 ± 2.40
B	15	82.63 ± 8.40*	7.52 ± 2.32*	273.10 ± 1.80*
C	15	67.75 ± 5.32	5.06 ± 1.09	174.94 ± 1.76
D	15	68.52 ± 6.41**	5.62 ± 0.11**	175.75 ± 1.60**
E	15	68.98 ± 9.30**	5.68 ± 0.25**	177.42 ± 7.56*

注: B组与 A、C、D、E组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: Group B compared with group A, C, D, E, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$.

3 讨论

高原高寒地区是一个特殊性地理环境,大气物理、地球化学、生态结构与平原相差十分显著。寒冷、缺氧、低气压、干燥的恶劣气候对机体各器官必然产生不同生理变化。高原环境对机体内分泌的影响,尤其是对卵巢功能的影响,已有报道^[1]。雌激素水平降低和高原缺氧均可导致血清 L-6和

TNF- 含量增加^[2]。L-6和 TNF- 是由激活的单核巨噬细胞产生的细胞因子, L-6可促进破骨细胞生成,并与其他骨吸收因子共同作用,促进骨吸收。L-6作为分化诱导因子,使骨髓细胞分化诱导单核、巨噬细胞,并促进巨噬细胞产生白细胞介素-1 (L-1),从而加速破骨细胞形成,促进骨吸收。TNF- 除具有使肿瘤组织坏死的作用外,还是一种有力的骨吸收诱导剂,可使破骨细胞活性增强。TNF- 可刺激类破骨细胞的前体增生并分化为破骨细胞。PCR 技术研究表明^[4]。绝经后骨质疏松骨折妇女、正常绝经后妇女及绝经后采用雌性激素替代疗法妇女 TNF- mRNA 表达分别为 63%、60%和 10%。有报道^[1],高原高寒地区由于缺氧,血清中 L-6和 TNF- 较平原显著增高。有关高原地区 L-6和 TNF- 血清含量增高的原因,目前尚不清楚。吕永达报道^[1],高原高寒地区由于缺氧,机体免疫调节功能紊乱,而产生过多的 L-6和 TNF-。又因高原缺氧,卵巢功能改变,雌激素水平低下,也可导致 L-6含量增加。有报道^[5],当机体雌激素水平降低时,可导致 L-6水平增加。增强骨吸收。

DPD是破骨细胞降低的胶原分解产物,释放入血后,经尿排出。由于尿中的 DPD是未经代谢的,且不受饮食影响,因此能较好的反映骨吸收状况。DPD在血液和尿中以游离和肽结合形式存在。尿中游离形式占 40%,结合形式占 60%。实验观察到,B组 (切除卵巢组) DPD排泄浓度显著高于 A、C、D和 E组,C、D和 E组与 A组比较无明显差异。

红景天具有激活能量代谢中的某些酶或辅酶,提高组织细胞能量的利用率,延长了供氧时限,同时红景天能降低血液黏度和血小板附聚性,有活血化瘀作用,能改善组织缺氧状态^[6]。本实验观察到,红景天能显著降低高原去势大鼠血清 L-6、TNF- 含量和尿中 DPD排泄浓度。具有较理想的抗高原组织缺氧作用和抑制骨吸收作用。从而可以预防骨质疏松症的发生。

参考文献

- 吕永达. 高原医学与生理学. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1995. 212-217.
- 崔建华, 张西洲, 王伟, 等. 急性重复缺氧 TNF- 和 L-6的变化. 高原医学杂志, 2000, 10(4): 8-9.
- 黄增艳, 范书铎, 张番, 等. 库叶红景天对鼠抗疲劳作用机理的实验研究. 中国医科大学学报, 1998, 27(22): 123-124.
- 蒋玲. 细胞因子在调节骨吸收中的作用. 国外医学: 老年医学分册, 1995, 16: 198-201.
- 周丕琪, 沈霖, 杜靖远, 等. 绝经后骨质疏松症与血清 L-6、TNF- 浓度关系的临床研究. 中国骨质疏松杂志, 2001, 7(1): 1-3.
- Demers LM. New biochemical makers for bone disease: is a break through Clin Chem, 1992, 38: 2169.
- 徐宝军, 郑毅男, 李向高, 等. 红景天属植物研究发展. 中草药, 2000, 23(9): 582-583.

(收稿日期: 2005 - 10 - 11 本文编辑: 王宏)