

· 基础研究 ·

淫羊藿防治激素性股骨头坏死的作用机制研究

李新建¹, 于兰英², 邓伟¹, 王沛², 田小林², 冯柯²

(1. 长春中医药大学附属医院, 吉林 长春 130021; 2. 长春中医药大学, 吉林 长春 130117)

摘要 **目的:**探讨淫羊藿防治激素性股骨头坏死的作用机制。**方法:**将 50 只家兔随机分为 5 组, 每组 10 只。B、C、D、E 组家兔采用臀肌注射醋酸泼尼松龙的方法进行激素性股骨头坏死造模, A 组家兔臀肌注射生理盐水。造模结束后, C、D、E 组根据体重质量分别按 $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以淫羊藿提取液灌胃, 每天 1 次, 连续灌胃 10 周; A 组和 B 组以 10 mL 生理盐水灌胃。分别于药物干预开始前(0 周)及药物干预 4 周、6 周、8 周、10 周后测定各组家兔血液中胆固醇和甘油三酯含量, 同时在药物干预开始前(0 周)及药物干预 6 周、10 周后测定家兔股骨近端骨密度, 并于药物干预 10 周后处死家兔, 取双侧股骨头切片进行 HE 染色, 观察骨小梁和骨陷窝的变化。**结果:**①血脂。药物干预开始后不同时间, 家兔血胆固醇含量的差异总体上无统计学意义, 即不存在时间效应 ($F = 1.136, P = 0.314$); 各组家兔血胆固醇含量的组间差异总体上有统计学意义, 即存在分组效应 ($F = 12.874, P = 0.000$), 除 0 周和 4 周外, 其余各时点 B 组均高于 A、C、D、E 组; 时间因素和分组因素之间存在交互效应 ($F = 4.910, P = 0.001$)。药物干预开始后不同时间, 家兔血甘油三酯含量的差异有统计学意义, 即存在时间效应 ($F = 144.191, P = 0.000$); 各组家兔血甘油三酯含量的组间差异总体上有统计学意义, 即存在分组效应 ($F = 12.358, P = 0.000$), B 组和 E 组各时点血甘油三酯含量比较, 差异均无统计学意义; 除 0 周外, 其余各时点 B 组血甘油三酯含量均高于 A、C、D 组; 时间因素和分组因素之间存在交互效应 ($F = 8.798, P = 0.000$)。②骨密度。药物干预开始后不同时间, 家兔股骨近端骨密度的差异有统计学意义, 即存在时间效应 ($F = 289.909, P = 0.000$); 除 A 组外, 其余 4 组骨密度均呈下降趋势, B 组下降趋势最明显; 各组家兔骨密度的组间差异总体上有统计学意义, 即存在分组效应 ($F = 72.539, P = 0.000$), 除 0 周外, 其余各时点 B 组骨密度均低于 A、C、D、E 组; 时间因素和分组因素之间存在交互效应 ($F = 40.182, P = 0.000$)。③病理学检查结果。药物干预 10 周后, 与其余 4 组相比, B 组骨小梁广泛变细、断裂; 5 组家兔骨小梁面积分数和空骨陷窝率比较, 组间差异均有统计学意义 ($F = 62.032, P = 0.000; F = 20.515, P = 0.000$); B 组骨小梁面积分数小于 A、C、D、E 组 ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$), 空骨陷窝率大于 A、C、D、E 组 ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$)。**结论:**淫羊藿能够降低股骨头坏死家兔血液中胆固醇和甘油三酯的含量、延缓骨密度降低、降低空骨陷窝率、提高骨小梁面积分数, 从而具有防治激素性股骨头坏死的作用。

关键词 股骨头坏死 骨密度 胆固醇 淫羊藿 动物实验

Mechanism of action of epimedium brevicornum in the prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head Li Xinjian*, Yu Lanying, Deng Wei, Wang Pei, Tian Xiaolin, Feng Ke. * The Affiliated Hospital to Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, Jilin, China

ABSTRACT **Objective:** To explore the mechanism of action of epimedium in the prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head (SNFH). **Methods:** Fifty rabbits were randomly divided into 5 groups, 10 cases in each group. The rabbit SNFH models were created in group B, C, D and E by intragluteus injection of prednisolone acetate, while rabbits in group A were administrated with intragluteus injection of normal saline. After that, rabbits in group C, D and E were intragastric administrated with aqueous extract of epimedium ($1.2, 0.6$ and 0.3 g/kg , respectively), while the others in group A and group B were intragastric administrated with normal saline (10 ml), once per day for 10 consecutive weeks. Serum levels of cholesterol and triglyceride in rabbits were determined before drug intervention (0 week) and 4, 6, 8 and 10 weeks after the beginning of the drug intervention. The proximal femoral bone mineral density (BMD) were measured before drug intervention (0 week) and 6 and 10 weeks after the beginning of the drug intervention. At the end of the drug intervention, the rabbits were sacrificed and the bilateral femoral heads were sectioned and the change in bone trabecula and bone lacuna were observed though HE staining. **Results:** In general, there was no statistical difference in serum level of cholesterol (CHOL) among time points ($F = 1.136, P = 0.314$), in other words, there was no time effect. There was statistical difference in serum CHOL level among groups in general ($F = 12.874, P = 0.000$), in other words, there was group effect. The serum CHOL level of group B was higher than that of group A, C, D and E

except 0 and 4 weeks after drug intervention. There was interaction between time factor and grouping factor ($F=4.910, P=0.001$). There was statistical difference in serum level of triglyceride (TG) among time points ($F=144.191, P=0.000$), in other words, there was time effect. In general, there was statistical difference in serum TG level among groups ($F=12.358, P=0.000$), in other words, there was group effect. There was no statistical difference in serum TG level taken at different time points between group B and group E; the group B surpassed group A, C and D in serum TG level at each time point except 0 week. There was interaction between time factor and grouping factor ($F=8.798, P=0.000$). There was statistical difference in proximal femoral BMD among time points ($F=289.909, P=0.000$). There was a trend for decreased BMD in group B, C, D and E after drug intervention, and there was more significant decreased BMD in group B compared to other groups. There was statistical difference in BMD among different groups in general ($F=72.539, P=0.000$), in other words, there was group effect. The BMD of Group B was lower than that of group A, C, D and E at each time point except 0 week. There was interaction between time factor and grouping factor ($F=40.182, P=0.000$). The bone trabecula became slim and broken extensively in group B compared with other groups 10 weeks after the beginning of drug intervention. There were statistical differences in empty bone lacuna rate and trabecular bone area fraction among different groups ($F=62.032, P=0.000; F=20.515, P=0.000$), and the trabecular bone area fraction of group B was less than that of group A, C, D and E ($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$), while the empty bone lacuna rate of group B was larger than that of group A, C, D and E ($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$). **Conclusion:** The epimedium brevicornum can decrease serum CHOL and TG contents, delay the decrease in BMD, decrease the empty bone lacuna rate and increase the trabecular bone area fraction in the rabbits with SNFH, so it can be used in the prevention and treatment of SNFH.

Key words Epimedium brevicornum; Femur head necrosis; Bone density; Cholesterol; Animal experimentation

近年来,由于激素类药物在临床上的不规范使用,造成激素性股骨头坏死的发病率不断上升^[1]。由于其病理机制尚不完全清楚,目前尚无针对该病的特效药。据《本草纲目》记载,淫羊藿具有益精气、坚筋骨、补腰膝、强心力的功效^[2]。

它主要含有淫羊藿总黄酮、淫羊藿多糖、淫羊藿苷等成分^[3],其中淫羊藿总黄酮主要参与骨代谢,具有促进体外成骨细胞增殖及分化成熟、抑制破骨细胞活性、防治骨质疏松的作用^[4];淫羊藿苷可降低外周血管阻力,增加血流速度,改善微循环^[5]。为探讨淫羊藿防治激素性股骨头坏死的作用机制,我们采用激素性股骨头坏死家兔模型进行了研究,现报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 普通级健康实验家兔 50 只,雌雄各半,由吉林大学动物实验中心提供,实验动物合格证号:吉 2008-0004。

1.2 实验药物和试剂 淫羊藿提取液(课题组自制,以 70% 乙醇提取后,经浓缩干燥后粉碎溶解),醋酸泼尼松龙注射液(浙江仙琚制药股份有限公司,批号:110404),注射用青霉素钠(哈药集团制药总厂,批号:C05098709),甘油三酯检测试剂盒,总胆固醇检测试剂盒(浙江奥的特生物技术有限公司)。

1.3 实验仪器 FAITH-1000 全自动生化分析仪(南京劳拉电子有限公司),RM2245 螺旋切片机(Leica

公司),SZ51/SZ61 光学显微镜(奥林巴斯公司),3K30 低温高速离心机(SIGMA 公司),RE5220 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),DS-671 电子计重秤(上海寺冈电子有限公司)。

2 方 法

2.1 动物分组 将 50 只家兔随机分为 5 组(A 组、B 组、C 组、D 组、E 组),每组 10 只,各组家兔分笼同等条件喂养。

2.2 动物造模 采用贺西京等^[6]的方法通过臀肌注射醋酸泼尼松龙对 B、C、D、E 组家兔进行造模,剂量 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每周 2 次,连续 4 周;A 组家兔臀肌注射生理盐水,每只 2 mL,连续 4 周。

2.3 药物干预 自造模结束后第 1 天开始,C、D、E 组根据体质量分别按 $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以淫羊藿提取液灌胃,每天 1 次,连续灌胃 10 周;A 组和 B 组以 10 mL 生理盐水灌胃。给药期间所有家兔每周注射 1 次青霉素钠,每次 5 万单位。

2.4 实验指标测定

2.4.1 血脂 分别于药物干预开始前(0 周)及药物干预 4 周、6 周、8 周、10 周后于家兔耳中央静脉采血 3 mL,测定胆固醇和甘油三酯含量。

2.4.2 骨密度 分别于药物干预开始前(0 周)及药物干预 6 周、10 周后测定家兔股骨近端骨密度。

2.4.3 病理学指标 药物干预 10 周并完成血脂和骨密度测定后将家兔处死,取双侧股骨头,经固定、脱

钙、脱水、石蜡包埋、切片后进行 HE 染色,光镜下观察骨小梁和骨陷窝的变化。

2.5 数据统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件对所得数据进行统计分析,5 组家兔血胆固醇含量、甘油三酯含量及骨密度的组间比较采用重复测量数据的方差分析,骨小梁面积分数和空骨陷窝率的组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 血脂测定结果 ①胆固醇含量:药物干预开始后不同时间,家兔血胆固醇含量的差异总体上无统计

学意义,即不存在时间效应;各组家兔血胆固醇含量的组间差异总体上有统计学意义,即存在分组效应,除 0 周和 4 周外,其余各时点 B 组均高于 A、C、D、E 组;时间因素和分组因素之间存在交互效应(表 1、图 1)。

②甘油三酯:药物干预开始后不同时间,家兔血甘油三酯含量的差异有统计学意义,即存在时间效应;各组家兔血甘油三酯含量的组间差异总体上有统计学意义,即存在分组效应,B 组和 E 组各时点血甘油三酯含量比较,差异均无统计学意义;除 0 周外,其余各时点 B 组血甘油三酯含量均高于 A、C、D 组;时间因素和分组因素之间存在交互效应(表 2、图 2)。

表 1 药物干预不同时间 5 组家兔血胆固醇含量比较表 mmol · L⁻¹

组别	0 周	4 周	6 周	8 周	10 周	合计	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
A 组	1.301 ± 0.010	1.338 ± 0.019	1.300 ± 0.058	1.338 ± 0.055	1.255 ± 0.201	1.320 ± 0.034	0.359	0.597
B 组	1.290 ± 0.021	1.338 ± 0.167	1.407 ± 0.181	1.460 ± 0.191	1.500 ± 0.266	1.409 ± 0.040	2.366	0.145
C 组	1.315 ± 0.031	1.228 ± 0.069	1.087 ± 0.078	1.244 ± 0.112	1.255 ± 0.185	1.130 ± 0.040	14.778	0.008
D 组	1.249 ± 0.039	1.337 ± 0.054	1.096 ± 0.084	1.034 ± 0.098	1.044 ± 0.314	1.125 ± 0.034	4.122	0.075
E 组	1.278 ± 0.010	1.337 ± 0.036	1.380 ± 0.093	1.400 ± 0.124	1.465 ± 0.315	1.372 ± 0.040	2.688	0.149
<i>F</i> 值	1.073	10.722	19.707	19.855	5.681	12.784 ¹⁾	<i>F</i> = 4.910 ²⁾ , <i>P</i> = 0.001 ²⁾	
<i>P</i> 值	0.382	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000 ¹⁾		

注 1)主效应的 *F* 值和 *P* 值;2)交互效应的 *F* 值和 *P* 值

表 2 药物干预不同时间 5 组家兔血甘油三酯含量比较表 mmol · L⁻¹

组别	0 周	4 周	6 周	8 周	10 周	合计	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
A 组	0.868 ± 0.013	0.883 ± 0.052	0.960 ± 0.183	1.060 ± 0.174	0.960 ± 0.143	0.946 ± 0.035	5.597	0.022
B 组	0.932 ± 0.070	1.143 ± 0.089	1.245 ± 0.063	1.378 ± 0.205	1.720 ± 0.126	1.284 ± 0.041	72.834	0.000
C 组	0.871 ± 0.012	0.923 ± 0.044	1.060 ± 0.109	1.148 ± 0.156	1.302 ± 0.221	1.061 ± 0.041	17.429	0.002
D 组	0.864 ± 0.067	0.975 ± 0.093	1.230 ± 0.201	1.250 ± 0.169	1.360 ± 0.186	1.136 ± 0.041	26.606	0.000
E 组	0.877 ± 0.019	0.978 ± 0.081	1.303 ± 0.109	1.420 ± 0.163	1.560 ± 0.123	1.228 ± 0.041	73.099	0.000
<i>F</i> 值	0.109	6.693	6.554	5.120	21.413	12.358 ¹⁾	<i>F</i> = 8.798 ²⁾ , <i>P</i> = 0.000 ²⁾	
<i>P</i> 值	0.979	0.000	0.001	0.003	0.000	0.000 ¹⁾		

注 1)主效应的 *F* 值和 *P* 值;2)交互效应的 *F* 值和 *P* 值

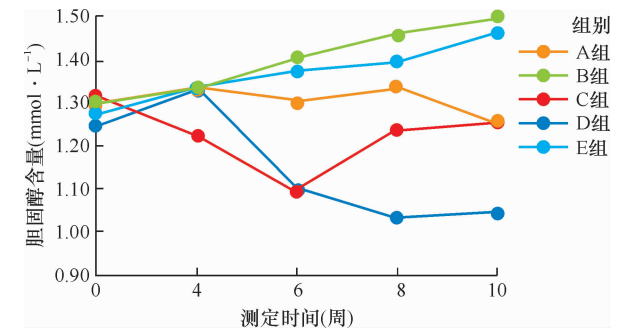


图 1 药物干预不同时间 5 组家兔血胆固醇含量变化

3.2 骨密度检测结果 药物干预开始后不同时间,家兔股骨近端骨密度的差异有统计学意义,即存在时间效应;除 A 组外,其余 4 组股骨近端骨密度均呈

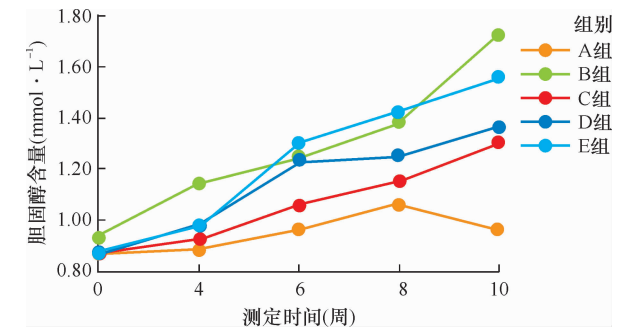


图 2 药物干预不同时间 5 组家兔血甘油三酯含量变化

下降趋势,B 组下降趋势最明显;各组家兔股骨近端骨密度的组间差异总体上有统计学意义,即存在分组效应,除 0 周外,其余各时点 B 组均低于 A、C、D、

E 组;时间因素和分组因素之间存在交互效应 (表 3、图 3)。

表 3 药物干预不同时间 5 组家兔股骨近端骨密度值比较表 $g \cdot cm^{-2}$

组别	0 周	6 周	10 周	合计	F 值	P 值
A 组	0.372 ± 0.005	0.366 ± 0.005	0.365 ± 0.013	0.368 ± 0.003	2.132	0.168
B 组	0.366 ± 0.006	0.298 ± 0.018	0.246 ± 0.027	0.303 ± 0.003	142.472	0.000
C 组	0.378 ± 0.007	0.364 ± 0.005	0.341 ± 0.013	0.361 ± 0.003	46.800	0.000
D 组	0.382 ± 0.003	0.371 ± 0.004	0.338 ± 0.014	0.364 ± 0.003	58.135	0.000
E 组	0.380 ± 0.006	0.362 ± 0.012	0.332 ± 0.013	0.358 ± 0.003	73.044	0.000
F 值	1.206	67.014	59.901	72.539 ¹⁾	(F = 40.182 ²⁾ , P = 0.000 ²⁾)	
P 值	0.330	0.000	0.000	0.000 ¹⁾		

注 1)主效应的 F 值和 P 值;2)交互效应的 F 值和 P 值

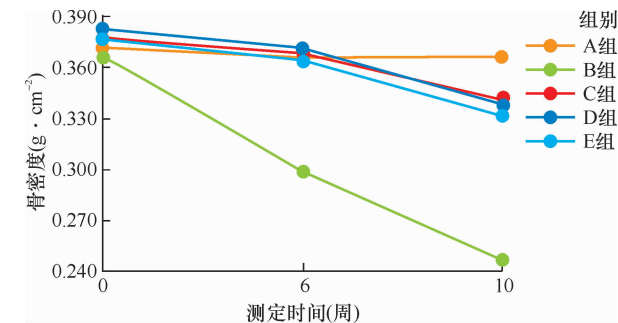


图 3 药物干预不同时间 5 组家兔股骨近端骨密度变化

3.3 病理学检查结果 药物干预 10 周后,与其余 4 组相比,B 组骨小梁广泛变细、断裂(图 4);5 组家兔骨小梁面积分数和空骨陷窝率比较,组间差异均有统计学意义;B 组骨小梁面积分数小于 A、C、D、E 组

($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$),空骨陷窝率大于 A、C、D、E 组($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$),见表 4。

表 4 药物干预 10 周后 5 组家兔骨小梁面积分数和空骨陷窝率 %

组别	骨小梁面积分数	空骨陷窝率
A 组	36.913 ± 1.683	9.775 ± 1.940
B 组	19.500 ± 2.089	29.338 ± 4.167
C 组	28.388 ± 1.926	17.100 ± 4.196
D 组	27.163 ± 2.557	18.700 ± 4.763
E 组	26.288 ± 2.739	19.525 ± 5.834
F 值	62.032	20.515
P 值	0.000	0.000

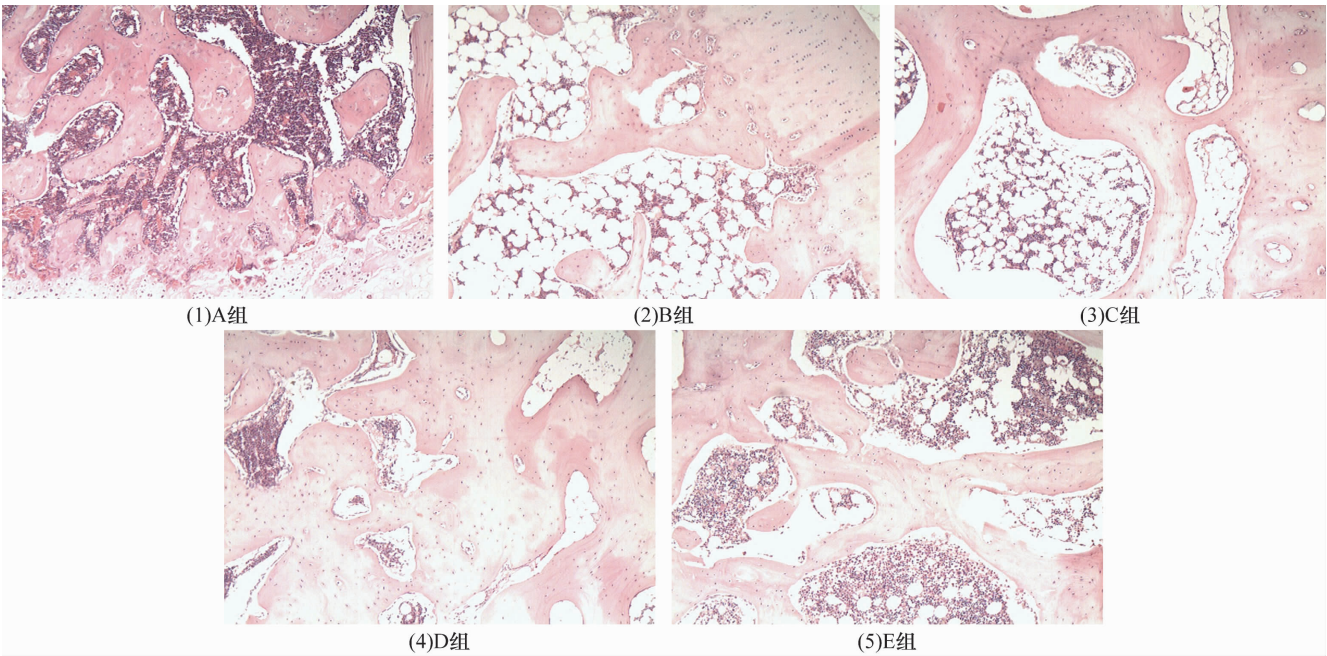


图 4 药物干预 10 周后 5 组家兔股骨头组织光学镜片 HE 染色

4 讨论

目前,有关股骨头坏死发生机制的学说主要有脂质代谢紊乱学说、血液高黏滞状态学说、骨内高压学

说、骨质疏松学说等,其中脂质代谢紊乱学说得到许多专家学者的认可^[7]。其主要内容包括:①激素引起高血脂后,骨髓内脂肪细胞大量增殖,压迫微血管使

静脉回流受阻,骨内压升高,导致股骨头缺血性坏死;

②激素直接诱导骨髓基质细胞大量分化成脂肪细胞,

同时成骨分化减少,修复困难;③过量使用激素导致血液黏滞性增加、流速缓慢、血栓形成,导致股骨头缺血坏死;④股骨头、颈部微血管内皮细胞胞浆的脂滴影响毛细血管再生,使毛细血管数量减少,最终使组织细胞因严重缺血缺氧而发生变性坏死。另外,降脂药物防治股骨头坏死的研究结果也证明了脂质代谢紊乱是股骨头坏死的重要因素^[8]。

本研究的结果显示,经淫羊藿提取液干预后家兔血液中胆固醇和甘油三酯含量明显降低,这说明淫羊藿具有降低股骨头坏死动物血液中胆固醇和甘油三酯的作用,淫羊藿降低外周血管阻力、增加血流速度、改善微循环的作用与此有关。B 组和 E 组各时点血甘油三酯含量比较,差异均无统计学意义,可能与 E 组淫羊藿提取液用量较少有关。造模后 B 组家兔骨密度下降趋势较 C、D、E 组更为明显,说明淫羊藿能够延缓股骨头坏死动物骨密度降低。另外,经 10 周药物干预后,B 组家兔骨小梁面积分数低于 C、D、E 组,而空骨陷窝率高于 C、D、E 组,说明淫羊藿具有降低股骨头坏死空骨陷窝率、保护骨小梁的作用。这可能与淫羊藿总黄酮参与骨代谢,促进体内成骨细胞增殖及分化成熟、抑制破骨细胞活性的作用有关。

综上所述,本研究的结果提示,淫羊藿能够降低股骨头坏死家兔血液中胆固醇和甘油三酯的含量、延缓骨密度降低、降低空骨陷窝率、提高骨小梁面积分数,从而具有防治激素性股骨头坏死的作用。

5 参考文献

- [1] 罗月中,李芸,李勇,等. 补肾健骨法预防肾病综合征患者激素性股骨头坏死临床研究[J]. 中医正骨,2011,23(1):3-6.
- [2] 王爱华. 淫羊藿的研究新进展[J]. 中国医疗前沿,2008,3(6):13-14.
- [3] 郭峰,赵纳. 淫羊藿药理作用的研究现状及展望[J]. 中国药业,2007,16(24):70-72.
- [4] 马慧萍,贾正平,白孟海,等. 淫羊藿总黄酮对大鼠实验性骨质疏松生化指标的影响[J]. 中国药理学通报,2003,19(2):187-190.
- [5] 黄晓瑾. 淫羊藿总黄酮对家兔血液流变性及血小板聚集的影响[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(12):1701-1703.
- [6] 贺西京,毛履真,王坤正,等. 激素性股骨头坏死与骨细胞脂肪变性的实验研究[J]. 中华骨科杂志,1996,16(1):44-46.
- [7] 王坤正,毛履真,胡长根,等. 激素性股骨头缺血坏死发病机制的实验研究[J]. 中华外科杂志,1994,32(9):515-517.
- [8] 郭先礼,李峰,方忠. 辛伐他汀对早期激素性股骨头坏死的预防作用[J]. 华中科技大学学报:医学版,2006,35(3):346-349.

(2012-11-01 收稿 2013-03-04 修回)

CHINA NEWS OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE

中国中医药报

国家中医药管理局主管  中国中医药报社主办



- 转型时期, 中医药改革发展向何处去
- 为您指引趋势和方向
- 中医机构, 面对纷繁现象、困难挑战
- 为您提供思路和经验
- 学术临床, 如何突出特色、融合中西
- 为您提供最新动向
- 养生热了, 但往往众说纷纭莫衷一是
- 给您权威养生保健知识

**欢迎
订阅**

2014

中国中医药报 周一、三、四、五出版 请速到当地邮局订阅
 邮发代号: 1-140 定价: 1.00元/份 半年: 97.5元 全年: 195元
 地址: 北京市朝阳区甲4号 邮编: 100192 征订咨询热线: 010-64854538