

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.05.016

## 实验研究

# 左归丸、右归丸及其拆方对去卵巢骨质疏松症模型大鼠肾脏碱性磷酸酶、骨钙素表达的影响

孟玥, 任艳玲\*, 孙月娇, 李书娟

(辽宁中医药大学, 辽宁省沈阳市崇山东路 79 号, 110032)

**摘要** 目的 探讨左归丸、右归丸治疗绝经后骨质疏松症的可能作用机制。方法 将 90 只 SD 雌性大鼠随机分为空白组、假手术组、模型组、补佳乐组、左归丸组、右归丸组、共同药组、滋阴组、补阳组各 10 只。除假手术组、空白组外, 其余各组均进行双侧卵巢切除制备绝经后骨质疏松症大鼠模型。造模 1 周后, 补佳乐组、左归丸组、右归丸组、共同药组、滋阴组、补阳组每只大鼠每天灌胃相应药物, 剂量分别为 0.36 mg/(kg·d)、18.9 g/(kg·d)、20.52 g/(kg·d)、15.12 g/(kg·d)、12.96 g/(kg·d)、8.1 g/(kg·d), 空白组、假手术组、模型组灌胃等量蒸馏水, 各组均灌胃 12 周。检测各组大鼠肾组织中碱性磷酸酶 (ALP)、骨钙素 (BGP) mRNA 和蛋白表达, 取大鼠全股骨进行骨密度检测。结果 与空白组及假手术组比较, 模型组大鼠肾组织 ALP、BGP mRNA 及蛋白表达和全股骨密度均有所下降 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 除共同药组外其余各用药组大鼠肾组织 ALP、BGP mRNA 及蛋白和全股骨密度表达均有不同程度提高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 其中以补佳乐组、左归丸组效果最好。结论 左归丸、右归丸及其拆方可能通过提高去卵巢骨质疏松症模型大鼠肾组织 ALP、BGP 的表达从而有效治疗绝经后骨质疏松症, 并且以左归丸疗效更佳。

**关键词** 左归丸; 右归丸; 绝经后骨质疏松症; 碱性磷酸酶; 骨钙素

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是一种高转换型骨质疏松, 妇女绝经后骨代谢活跃, 骨转换增强, 骨吸收大于骨形成使骨重建呈失衡状态, 骨量丢失, 骨微结构发生破坏<sup>[1-2]</sup>。中医学认为, 肾精之盛衰影响着骨的生长、发育, 妇女绝经后肾精亏损则易发“骨痿”。中医治疗 PMOP 主要以补肾方药为主, 并取得了良好的疗效<sup>[3-4]</sup>。本研究运用左归丸、右归丸及其拆方干预去卵巢骨质疏松症模型大鼠, 通过检测肾脏中碱性磷酸酶 (ALP)、骨钙素 (BGP) 基因及蛋白表达情况, 探究肾与骨的联系。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 2 月龄雌性未生育 SD 大鼠 90 只, 体重 (210 ± 10) g, 购自辽宁长生生物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (辽) 2010-0001。

基金项目: 国家自然科学基金 (81373527)

\* 通讯作者: camphorwood00@163.com, (024) 31207267

### 1.2 药品制备

左归丸: 熟地黄 24 g、炒山药 12 g、枸杞子 12 g、山萸肉 12 g、鹿角胶 12 g、菟丝子 12 g、牛膝 9 g、龟甲胶 12 g; 右归丸: 熟地黄 24 g、炒山药 12 g、枸杞子 12 g、山萸肉 12 g、鹿角胶 12 g、菟丝子 12 g、当归 9 g、肉桂 6 g、杜仲 9 g、炮附片 6 g。两方拆方为相同药: 熟地黄 24 g、炒山药 12 g、枸杞子 12 g、山萸肉 12 g、鹿角胶 12 g、菟丝子 12 g; 左归丸中滋阴药: 熟地黄 24 g、炒山药 12 g、枸杞子 12 g、山萸肉 12 g、龟甲胶 12 g; 右归丸中补阳药: 肉桂 6 g、杜仲 9 g、炮附片 6 g、鹿角胶 12 g、菟丝子 12 g。中药饮片购于辽宁中医药大学附属第一医院, 自制成水煎剂, 含生药量为 1 g/ml。补佳乐 (戊酸雌二醇片, 批号: J20080036), 购于 DELPHARM Lille S. A. S 公司。

### 1.3 主要仪器及试剂

Real Time PCR 仪: 美国 Agilent 公司 (型号: Mx3000P); 台式高速冷冻离心机: 香港 Heal Force 公司 (型号: Neofuge13R); 电泳通用型电源: 美

国 Bio-Rad 公司 ( 型号: PowerPac Universal); 凝胶图像分析软件: 美国 NatureCrop 公司 ( 型号: AlphaView SA 3. 4. 0)。兔 IgG-免疫组化试剂 SABC 即用型: 武汉博士德生物工程有限公司 ( 批号: 09F24C); PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser: 大连宝生物 TaKaRa 公司 ( 批号: AK2004); SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒: 北京鼎国昌盛公司 ( 批号: 4A400150); ALP ( 批号: bs-1535R-HRP)、BGP ( 批号: bs-4917R) 试剂盒均购自北京博奥森生物技术有限公司。

#### 1. 4 动物分组及处理方法

90 只大鼠适应性喂养 1 周后, 按体重分层采用随机数字表法分为空白组、假手术组、模型组、补佳乐组、左归丸组、右归丸组、共同药组、滋阴组、补阳组, 每组 10 只。除假手术、空白组外其余各组均进行双侧卵巢切除以制备骨质疏松症模型<sup>[8]</sup>, 取背侧切口, 于深部脂肪层中发现粉红色卵巢并结扎切除; 假手术组仅切除腹腔内子宫周围少量脂肪组织。造模 1 周后, 补佳乐组、左归丸组、右归丸组、共同药组、滋阴组、补阳组每只大鼠每天灌胃相应药物, 剂量分别为 0. 36 mg/( kg · d)、18. 9 g/( kg · d)、20. 52 g/( kg · d)、15. 12 g/( kg · d)、12. 96 g/( kg · d)、8. 1 g/( kg · d), 空白组、假手术组、模型组灌胃等量蒸馏水, 各组均灌胃 12 周。

#### 1. 5 观察指标及方法

末次给药 2 h 后, 麻醉, 小心摘取各组大鼠完整肾脏, 双肾放入 4% 多聚甲醛溶液中固定制成石蜡切片。取大鼠全股骨, 剔除附着肌肉及筋膜, 生理盐水冲洗, 湿纱布包裹, 置 - 80℃ 冰箱冻存备用。

1. 5. 1 肾组织中 ALP 及 BGP 表达 采用免疫组化法检测, 石蜡切片烘片 2 h 后脱蜡至水。双氧水去除内源性过氧化物酶, 抗原修复液中火浸泡后。用 5% BSA 封闭, ALP、BGP 一抗孵育, 过夜。PBS 洗 3 次, 滴加生物素山羊抗兔 IgG 室温 30 min。PBS 洗 3 次, 滴加试剂 SABC。DAB 显色, 苏木精复染。脱水, 透明, 封片。观察 ALP 及 BGP 的阳性表达。

1. 5. 2 肾组织 ALP 及 BGP mRNA 检测 各组取 3 只大鼠肾组织, 采用 Q-PCR 法检测, Trizol 法提取肾脏组织总 RNA, 进行 Q-PCR 扩增。引物序列由宝生物工程 ( 大连) 有限公司合成。ALP 上游引物: 5'-ACACCTTGTGTTACTGCTGA-3', 下游引物:

5'-CCTTGTAGCCAGGCCCGTTA-3'; BGP 上游引物: 5'-CAGGAGGGCAGTAAGGTG-3', 下游引物: 5'-TCCATTGTTGAGGTAGCG-3'。扩增条件: 95℃, 2 min; 95℃, 30 s; 60℃, 30 s ( 40 循环)。结果采用相对定量法:  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法, 确定目的基因在待测组中的含量与对照组相比升高或减低的倍数。

1. 5. 3 肾组织中 ALP、BGP 蛋白检测 各组取 3 只大鼠肾组织, 采用 Western blotting 法检测, 称取肾脏组织 0. 1 g, 加入 500  $\mu$ l 裂解液研磨提取匀浆液; 12 000 r/min、4℃ 离心 10 min, 取上清。加入 5  $\times$  SDS 上样缓冲液, 100℃ 煮沸 5 min。进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 每孔上样等量总蛋白, 利用半干印记转膜法将蛋白转移至膜上。加入封闭液配制的一抗 37℃ 水浴震荡 1 h, 4℃ 过夜。TBST 洗 3 次, 加入封闭液配制的二抗中, 37℃ 水浴震荡 1 h, 弃去二抗, TBST 充分洗膜后拿入暗室曝光。扫描胶片, 采用 AlphaView SA 3. 4. 0 凝胶图像分析软件检测条带灰度值。

1. 5. 4 离体区域骨密度测量 应用小动物专用双能 X 线骨密度仪, 对各组大鼠全股骨进行离体骨密度测量。仪器由中国医科大学附属盛京医院提供 [Discoverywi ( S/N88155) ], 分辨率为 0. 5 Lp/mm, 激光指示器波长 540 ~ 700 nm, 进行区域划分, 扫描时无介质。

#### 1. 6 统计学方法

采用 SPSS 13. 0 统计软件进行分析, 数据均采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用最小显著性差异法 ( LSD 法),  $P < 0. 05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

实验过程中空白组及假手术组大鼠无死亡, 其余各组大鼠各死亡 2 只。

#### 2. 1 各组大鼠肾组织中 ALP 及 BGP 阳性表达结果

在肾脏中 ALP 主要表达于肾近曲小管的细胞表面, 肾小管内皮细胞正常表达; BGP 表达在肾小球肾小管及血管上, 以血管和肾小球处明显。空白组、假手术组肾小球与肾小囊脏层紧密相连, 结构清晰完整, 近曲小管结构清晰, 在其管状断面可见 ALP 及 BGP 的阳性表达, 呈深棕黄色, 未见核阳性细胞, 较远曲小管染色深, 阳性表达明显; 模型组可见肾小体结构紊乱, 无法区别肾小球与肾小囊, 肾小体管状结构被破坏, 其管状断面细胞染色不明显, 少见棕黄色着色, 远曲小管基本无染色;

补佳乐组、左归丸组、右归丸组、滋阴药组均可见肾小体结构清晰完整，共同药组、补阳药组肾小体结构比较完整，近曲小管管状断面阳性染色细胞数量有不同程度的增加，细胞膜见棕黄色颗粒，其中以左归丸组阳性染色增加最为明显。

## 2.2 各组大鼠肾组织 ALP、BGP mRNA 表达比较

表 1 示，与空白组、假手术组比较，模型组大鼠肾脏 ALP、BGP mRNA 的表达明显降低 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，补佳乐组、左归丸组、右归丸组大鼠肾脏 ALP、BGP mRNA 表达明显提高 ( $P < 0.01$ )，而共同药组、滋阴组、补阳组大鼠肾脏 ALP、BGP mRNA 表达部分有所提高，但仍明显低于空白组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与补佳乐组比较，共同药组、补阳组 ALP、BGP mRNA 表达均降低，滋阴组 ALP mRNA 表达降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 1 各组大鼠肾组织 ALP、BGP mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 鼠数 | ALP                              | BGP                              |
|------|----|----------------------------------|----------------------------------|
| 空白组  | 3  | 1.0028 ± 0.0926                  | 1.0096 ± 0.1665                  |
| 假手术组 | 3  | 1.0030 ± 0.0442 <sup>△△</sup>    | 0.9428 ± 0.1641 <sup>△△</sup>    |
| 模型组  | 3  | 0.3007 ± 0.0744 <sup>**</sup>    | 0.4083 ± 0.0506 <sup>**</sup>    |
| 补佳乐组 | 3  | 0.9002 ± 0.1567 <sup>△△</sup>    | 0.8818 ± 0.0554 <sup>△△</sup>    |
| 左归丸组 | 3  | 0.9071 ± 0.0691 <sup>△△</sup>    | 0.9249 ± 0.0857 <sup>△△</sup>    |
| 右归丸组 | 3  | 0.8156 ± 0.0903 <sup>*△△</sup>   | 0.8847 ± 0.1041 <sup>△△</sup>    |
| 共同药组 | 3  | 0.3709 ± 0.0903 <sup>**▲▲</sup>  | 0.6540 ± 0.0968 <sup>**△△▲</sup> |
| 滋阴组  | 3  | 0.4642 ± 0.0863 <sup>**△▲▲</sup> | 0.7460 ± 0.0259 <sup>**△△▲</sup> |
| 补阳组  | 3  | 0.3915 ± 0.1025 <sup>**▲▲</sup>  | 0.6924 ± 0.0975 <sup>**△△▲</sup> |

注：ALP，碱性磷酸酶；BGP，骨钙素；与空白组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与补佳乐组比较， $\blacktriangle P < 0.05$ ， $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

## 2.3 各组大鼠肾组织 ALP、BGP 蛋白表达比较

表 2 示，与空白组、假手术组比较，模型组大鼠肾脏 ALP、BGP 蛋白表达明显降低 ( $P < 0.01$ )；

表 2 各组大鼠肾组织 ALP、BGP 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 鼠数 | ALP                             | BGP                             |
|------|----|---------------------------------|---------------------------------|
| 空白组  | 3  | 2.0350 ± 0.1328                 | 2.1236 ± 0.0533                 |
| 假手术组 | 3  | 1.8729 ± 0.0998 <sup>△△</sup>   | 2.0097 ± 0.0492 <sup>△△</sup>   |
| 模型组  | 3  | 1.2272 ± 0.1145 <sup>*</sup>    | 1.2043 ± 0.0669 <sup>*</sup>    |
| 补佳乐组 | 3  | 1.8861 ± 0.0520 <sup>△△</sup>   | 1.9820 ± 0.1291 <sup>△△</sup>   |
| 左归丸组 | 3  | 1.8856 ± 0.0796 <sup>△△</sup>   | 1.9609 ± 0.1302 <sup>△△</sup>   |
| 右归丸组 | 3  | 1.5202 ± 0.1284 <sup>*△△▲</sup> | 1.8262 ± 0.0714 <sup>*△△▲</sup> |
| 共同药组 | 3  | 1.2899 ± 0.0947 <sup>*▲</sup>   | 1.3541 ± 0.2536 <sup>*▲</sup>   |
| 滋阴组  | 3  | 1.4508 ± 0.1536 <sup>*△▲</sup>  | 1.4738 ± 0.0794 <sup>*△▲</sup>  |
| 补阳组  | 3  | 1.2836 ± 0.0437 <sup>*▲</sup>   | 1.5327 ± 0.0869 <sup>*△△▲</sup> |

注：ALP，碱性磷酸酶；BGP，骨钙素；与空白组比较，\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与补佳乐组比较， $\blacktriangle P < 0.01$

与模型组比较，补佳乐组、左归丸组、右归丸组、滋阴组大鼠肾脏 ALP、BGP 蛋白表达有所提高，补阳组大鼠肾脏 BGP 蛋白表达亦提高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )；而右归丸组、共同药组、滋阴组、补阳药组大鼠肾脏 ALP、BGP 蛋白表达亦明显低于空白组 ( $P < 0.01$ )。与补佳乐组比较，共同药组、滋阴组、补阳组大鼠肾脏 ALP、BGP 蛋白表达均降低，右归丸组大鼠肾脏 ALP 蛋白表达亦降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

## 2.4 各组大鼠全股骨骨密度比较

表 3 示，与空白组、假手术组比较，模型组大鼠全股骨骨密度显著度降低 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，补佳乐组、左归丸组、右归丸组、滋阴组大鼠全股骨骨密度均有所升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )；与补佳乐组比较，共同药组、滋阴组、补阳组大鼠全股骨骨密度均有所降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 3 各组大鼠全股骨骨密度比较 ( $g/cm^2$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 鼠数 | 骨密度                            |
|------|----|--------------------------------|
| 空白组  | 10 | 0.1246 ± 0.0155                |
| 假手术组 | 10 | 0.1210 ± 0.0143 <sup>△△</sup>  |
| 模型组  | 8  | 0.0890 ± 0.0102 <sup>*</sup>   |
| 补佳乐组 | 8  | 0.1291 ± 0.0172 <sup>△△</sup>  |
| 左归丸组 | 8  | 0.1270 ± 0.0171 <sup>△△</sup>  |
| 右归丸组 | 8  | 0.1153 ± 0.0176 <sup>△△</sup>  |
| 共同药组 | 8  | 0.0854 ± 0.0182 <sup>*▲▲</sup> |
| 滋阴组  | 8  | 0.1091 ± 0.0122 <sup>△▲</sup>  |
| 补阳组  | 8  | 0.0976 ± 0.0174 <sup>*▲▲</sup> |

注：与空白组比较，\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与补佳乐组比较， $\blacktriangle P < 0.05$ ， $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

## 3 讨论

骨形成是指新骨发生和成熟的过程<sup>[1]</sup>，ALP 为最常见的评价骨形成和骨转换的指标，广泛分布于人体各组织的细胞膜上，在肾脏中近曲小管的细胞表面含量也很丰富<sup>[8-9]</sup>。当绝经后骨质疏松症发生时，骨吸收大于骨形成，机体中尤其是肾与骨中 ALP 流失入血，使血液中 ALP 含量增多<sup>[10]</sup>。BGP 是反映骨形成速率的特异性指标，成熟的骨钙蛋白分子分泌到细胞外，其中大部分进入细胞外基质中<sup>[11]</sup>。BGP 可直接反映骨形成的速率，同 ALP 一样均为反映骨形成的特异性指标<sup>[12]</sup>。肾皮质细胞的微粒体内含有的 h-羟化酶可使 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 转化成维生素 D 的活性形式 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>，从而合成 BGP，促进骨有机基质的成熟，有利于成骨，其增减与 ALP 平行<sup>[13]</sup>。

中医学认为,骨与髓均为肾之所主,肾精充足则骨中之髓生化有源,进而骨髓充足,骨髓滋养骨使之坚韧有力,灵活自如。肾精亏虚是导致骨质疏松的主要病因病机之一。肾精不足,无法滋养骨,则发生“骨痿”“骨痹”,说明肾与骨有着密切的联系。左归丸填补肝肾真阴,可治疗肝肾阴虚、精血亏损者。右归丸温补肾阳,填精益髓,可补肾阳,使元阳得归其源。已有研究<sup>[14-15]</sup>证实,左归丸与右归饮可以通过补肾从而促进骨形成,右归饮作用于人的骨髓间充质干细胞(BMSCs),说明其有明显的成骨诱导作用;左归丸含药血清影响大鼠 BMSCs 骨向分化中 ALP 含量,证明了左归丸促进 BMSCs 的成骨分化作用。两方均为补肾之经典方剂,故而本实验采用左、右归丸治疗绝经后骨质疏松症进行研究。

本研究结果显示,各组大鼠肾脏组织中 ALP、BGP mRNA 和蛋白均有不同程度的表达,模型组显著低于空白组和假手术组,左归丸组、右归丸组、补佳乐组及各拆方组肾脏组织中 ALP、BGP mRNA 和蛋白较模型组均有不同程度的提高,其中以左归丸组和补佳乐组效果最好。大鼠切除卵巢后,模型组全股骨骨密度相较于空白组和假手术组明显降低,而左归丸组、右归丸组、补佳乐组骨密度较模型组均有所提高,仍以左归丸组和补佳乐组效果最好,说明“阳中求阴”之补肾益精法对于治疗绝经后骨质疏松症效果更佳。本研究基于中医“肾主骨”理论,以补肾方剂左归丸、右归丸及其拆方干预去卵巢骨质疏松症模型大鼠,探究补肾方剂对模型大鼠肾脏 ALP、BGP 表达的影响,从而为中医补肾方药防治绝经后骨质疏松症的作用机制提供一定的实验依据。

## 参考文献

- [1] PRITCHETT JW. Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids [J]. Clin Orthop Relat Res, 2001(386): 173-178.
- [2] 张秀珍. 骨质疏松症基础与临床研究 [M]. 上海: 上海科技教育出版社, 2003: 26.
- [3] 曹春雨, 刘婷, 回连强, 等. 黔岭淫羊藿总黄酮类成分对去势雌性大鼠骨质疏松症的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(10): 1913-1917.
- [4] 汪静, 张光海, 米绍平, 等. 孙同郊辨治骨质疏松症经验 [J]. 中医杂志, 2013, 54(5): 376-378.
- [5] 魏绍斌, 孙青凤. 补肾益精法治疗绝经后骨质疏松症的临床疗效评价 [J]. 中医杂志, 2006, 47(7): 512-513.
- [6] 谢肇, 李起鸿, 孟萍, 等. 去卵巢大鼠骨质疏松模型的特点 [J]. 中国临床康复, 2006, 28(10): 79-81.
- [7] 廖二元. 代谢性骨病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 526.
- [8] 李晨. 低强度脉冲电磁场治疗绝经后骨质疏松症的作用研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2009.
- [9] GROENEVELD MC, EVERTS V, BEERTSEN W. A quantitative enzyme histochemical analysis of the distribution of alkaline phosphatase activity in the periodontal ligament of the rat incisor [J]. J Dent Res, 1993, 72(9): 1344-1350.
- [10] ZHAO D, WANG J, LIU Y, et al. Expressions and clinical significance of serum bone Gla-protein, bone alkaline phosphatase and C-terminal telopeptide of type I collagen in bone metabolism of patients with osteoporosis [J]. Pak J Med Sci, 2015, 31(1): 91-94.
- [11] 宋霖. 肾病综合征及激素治疗对维生素 D 和骨代谢的影响 [D]. 天津: 天津医科大学, 2002.
- [12] DELMAS PD, BJARNASON NH, MITLAK BH, et al. Effect of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations and uterine endometrium in postmenopausal women [J]. N Engl J Med, 1997, 337(23): 1641-1647.
- [13] 毛达勇, 赵娟, 喻飞, 等. 慢性肾功衰患者骨密度与钙调节激素和胱抑素 C 的变化和关系 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(7): 593-595.
- [14] 吴云刚, 张志平. 右归饮含药血清对人骨髓基质干细胞诱导为成骨细胞的影响 [J]. 江西中医药, 2006, 37(7): 57-58.
- [15] 徐凌霄, 高俊, 张前德. 左归丸含药血清对大鼠骨髓间充质干细胞骨向分化中碱性磷酸酶含量的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 149-152.

## Impact of Zuogui Pill (左归丸), Yougui Pill (右归丸) and Their Decomposed Recipes on the Expression of Renal Alkaline Phosphatase and Osteocalcin in Ovariectomized Osteoporosis Model Rats

MENG Yue, REN Yanling, SUN Yuejiao, LI Shujuan

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, 110032)

**ABSTRACT Objective** To explore the possible mechanism of Zuogui Pill (左归丸) and Yougui Pill (右归丸) in the treatment of postmenopausal osteoporosis (PMOP). **Methods** Ninety Sprague Dawley female rats were randomized into the blank control group, the sham operation group, the model group, the progynova group, the Zuogui Pill

group, the *Yougui Pill* group, the common drug group, the nourishing Yin group, and the invigorating Yang group (  $n = 10$  in each group ). Rats in other groups were established models of PMOP by bilateral ovariectomy except rats in the sham operation group and the blank control group. After models were established for 1 week, the progynova group, the *Zuogui Pill* group, the *Yougui Pill* group, the common drug group, the nourishing Yin group and the invigorating Yang group were given corresponding drugs by gavage, with the dose of  $0.36 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,  $18.9 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,  $20.52 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,  $15.12 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,  $12.96 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  and  $8.1 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ , respectively for 12 weeks. The blank control group, the sham operation group and the model group were given equivalent distilled water by gavage for the same time. Alkaline phosphatase ( ALP ), bone gla-protein ( BGP ) mRNA and protein expression in renal tissue of rats in all groups were detected. Bone mineral density ( BMD ) of whole femur was detected. **Results** Compared with the blank control group, renal tissue ALP, BGP mRNA, protein expression and BMD of whole femur decreased in the model group (  $P < 0.01$  ). Compare with the model group, renal tissue ALP, BGP mRNA, protein expression and BMD of whole femur in all medication groups increased by different level (  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  ). The most effective groups were the progynova group and the *Zuogui Pill* group. **Conclusion** *Zuogui Pill*, *Yougui Pill* and their decomposed recipes might treat PMOP effectively by improving the expression of renal tissue ALP and BGP in ovariectomized osteoporosis model rats. *Zuogui Pill* is more effective.

**Keywords** *Zuogui Pill*; *Yougui Pill*; postmenopausal osteoporosis; alkaline phosphatase; osteocalcin

( 收稿日期: 2015 - 06 - 11; 修回日期: 2015 - 09 - 21 )

编辑: 邓 媛

## 欢迎订阅 2016 年 《中国针灸》 杂志 ( 月刊 ) 《针刺研究》 杂志 ( 双月刊 )

《中国针灸》杂志和《针刺研究》杂志均为中国针灸学会、中国中医科学院针灸研究所主办的针灸学术权威期刊, 均已成为中国科技核心期刊、中文核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊、中国权威学术期刊, 《中国针灸》为中国精品科技期刊。全面报道国内、国外针灸学科的最新研究成果, 《中国针灸》报道以临床为主, 介绍临床有效治疗方法、专家经验、特色疗法等, 提供继续教育培训、技能培训、学术会议、医疗药品器械信息。《针刺研究》报道以基础研究为主, 反映针灸机制探讨最新进展及研究现状。实为针灸科研、医务工作者及针灸爱好者订阅首选之一。

2016 年《中国针灸》杂志每册 18 元, 全年 216 元, 邮发代号: 2 - 53 《针刺研究》杂志每册 25 元, 全年 150 元, 邮发代号: 82 - 171。在全国各地邮局均能订阅。

如当地邮局订阅困难者, 请直接与《中国针灸》杂志发行部联系。地址: 北京市东直门内南小街 16 号, 邮编: 100700。电话: 010 - 84046331, 010 - 64089349。E - mail: zhenjiuguangfa@aliyun.com

## 欢迎订阅 2016 年 《世界中西医结合杂志》

《世界中西医结合杂志》[ISSN 1673 - 6613, CN 11 - 5511/R] 是由中国科学技术协会主管, 中华中医药学会主办, 国内外公开发行。由中国科学院吴孟超院士任名誉主编, 首届国医大师、中国中医科学院资深研究员路志正教授任主编。本刊为中国科技核心期刊, 连续两届获得中国科协精品科技期刊示范项目资助, 2012 年获得国家中医药管理局优秀期刊二等奖, 中华中医药学会中医药标志性文化 ( 徽标 ) 一等奖, 2013 年获中国知网“中国国际影响力优秀学术期刊”奖中国科协精品科技期刊, 影响因子也在逐年提升。本刊辟有国医传承、博士论坛、文献研究、实验研究、药物研究、临床研究、思路与方法、海外中医药、综述等栏目。及时报道中医及中西医结合在临床、科研等方面的新理论、新技术、新思路、新成果, 探讨中西医结合的思路和方法, 介绍相关学术领域的国内外新进展, 开展学术讨论。

本刊为月刊, 大 16 开本, 每期 144 页, 每月 28 日出版。每期定价 14 元, 168 元/年。欢迎订阅!

订阅方式: 1. 可在全国各地邮局订阅, 国内邮发代号: 80 - 538; 2. 编辑部代订: 1) 现场交现金, 填写订购人信息表; 2) 邮局汇款: 100101, 北京市朝阳区北四环东路 115 号院 6 号楼 109 室, 《世界中西医结合杂志》编辑部收, 电话/传真: 010 - 64822253, 网址: <http://www.zhongxi.org>, E - mail: sjzyjh@126.com