

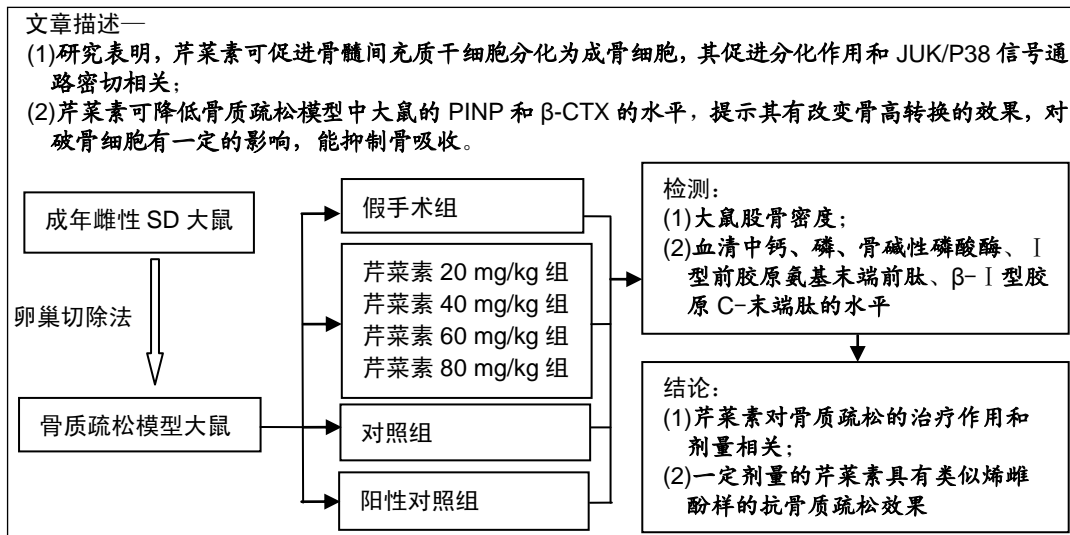
# 芹菜素治疗去卵巢骨质疏松模型大鼠的作用与剂量

赖丽金<sup>1</sup>, 莫浩轩<sup>2</sup>(<sup>1</sup>深圳市龙华区人民医院, 广东省深圳市 518129; <sup>2</sup>香港工人联合医疗所, 中国香港)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1905

ORCID: 0000-0002-9167-5286(赖丽金)

文章快速阅读:



赖丽金, 女, 1989 年生, 广东省电白县人, 汉族, 2012 年广州中医药大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事中医全科的研究。

通讯作者: 莫浩轩, 香港工人联合医疗所, 中国香港

文献标识码:A

投稿日期: 2019-03-02

送审日期: 2019-04-01

采用日期: 2019-05-16

在线日期: 2019-07-25



文题释义:

**芹菜素:** 主要存在于瑞香科、马鞭草科、卷柏科植物中, 如芫花, 卷柏中含量较大。芹菜素属于黄酮类, 具有抑制致癌物质的致癌活性; 作为治疗 HIV 和其他病毒感染的抗病毒药物; MAP 激酶的抑制剂; 治疗各种炎症; 抗氧化剂; 镇静、安神; 降压。与其他黄酮类物质(槲皮素、山奈黄酮)相比具有低毒、无诱变性等特点。

**骨密度:** 全称是骨骼矿物质密度, 是骨骼强度的一个重要指标, 以  $\text{g}/\text{cm}^3$  表示, 是一个绝对值。在临床使用骨密度值时由于不同的骨密度检测仪的绝对值不同, 通常使用 T 值判断骨密度是否正常。T 值是一个相对值, 正常参考值在 -1 和 +1 之间。当 T 值低于 -2.5 时为不正常。骨密度, 是骨质量的一个重要标志, 反映骨质疏松程度, 预测骨折危险性的重要依据。

**摘要**

**背景:** 研究证实芹菜素具有抗病毒、抗炎、抗氧化、镇静安神等功效。

**目的:** 研究不同剂量芹菜素对大鼠骨质疏松的疗效并探讨其机制。

**方法:** 实验方案经南方医科大学动物实验伦理委员会批准。成年雌性 SD 大鼠 42 只, 通过卵巢切除术建立大鼠骨质疏松模型, 实验分为 7 组, 每组 6 只大鼠, 分别为假手术组、芹菜素 20, 40, 60 和 80 mg/kg 组、对照组、阳性对照组。假手术组未摘除卵巢, 阳性对照组每天灌胃雌二醇(0.02 mg/kg)、维生素 D 和钙; 对照组给予同等量纯净水皮下注射; 芹菜素各组分别给予相应剂量的芹菜素皮下注射; 1 次/d, 用药 8 周。分别检测干预后第 4 周和第 8 周大鼠股骨密度和血清中钙、磷、骨碱性磷酸酶、I 型前胶原氨基末端前肽、 $\beta$ -I 型胶原 C-末端肽的水平。

**结果与结论:** ①与对照组比较, 芹菜素剂量为 40, 60 和 80 mg/kg 时, 大鼠的骨密度、血清中钙、磷在第 4 周和第 8 周时均较高( $P < 0.05$ ), I 型前胶原氨基末端前肽、 $\beta$ -I 型胶原 C-末端肽、骨碱性磷酸酶较低( $P < 0.05$ ); ②与阳性对照组比, 芹菜素剂量为 60 mg/kg 和 80 mg/kg 时, 大鼠的骨密度、血清中钙、磷和骨碱性磷酸酶、I 型前胶原氨基末端前肽、 $\beta$ -I 型胶原 C-末端肽在第 4 周和第 8 周时均无明显差别( $P > 0.05$ ), 剂量为 20 mg/kg 和 40 mg/kg 时, 骨密度、血清中钙、磷、均比阳性对照组低( $P < 0.05$ ), I 型前胶原氨基末端前肽、 $\beta$ -I 型胶原 C-末端肽比阳性对照组高( $P < 0.05$ ); ③对照组和假手术组比较, 在第 4 周和第 8 周时大鼠骨密度、血清中钙、磷均比较低( $P < 0.05$ ), I 型前胶原氨基末端前肽、 $\beta$ -I 型胶原 C-末端肽均比较高( $P < 0.05$ ); ④结果说明, 去卵巢法建立大鼠骨质疏松模型确实有效; 芹菜素对骨质疏松的治疗作用和剂量相关, 一定剂量的芹菜素具有类似雌激素样的抗骨质疏松效果。

**关键词:**

芹菜素; 骨质疏松; 雌激素; 碱性磷酸酶; 去卵巢大鼠

中图分类号: R446; R496; R318

Lai Lijin, Master, Attending physician, the People's Hospital of Longhua, Shenzhen 518129, Guangdong Province, China

Corresponding author: Mo Haoxuan, Hong Kong Workers' Union, Hong Kong Special Administrative Region, China

## Effect of apigenin on the osteoporosis in ovariectomized rats and its dose

Lai Lijin<sup>1</sup>, Mo Haoxuan<sup>2</sup> (<sup>1</sup>the People's Hospital of Longhua, Shenzhen 518129, Guangdong Province, China;

<sup>2</sup>Hong Kong Workers' Union, Hong Kong Special Administrative Region, China)

**Abstract**

**BACKGROUND:** Apigenin has been shown to hold the effects of antiviral, anti-inflammation, anti-oxidation and tranquilizer and sedative.

**OBJECTIVE:** To study the effect of different doses of apigenin on osteoporosis in rats and to explore the underlying mechanism.

**METHODS:** The study was approved by the Laboratory Animal Ethical Committee of Southern Medical University. Forty-two adult male Sprague-Dawley rats were selected, and the rat models of osteoporosis were established by ovariectomy. The rats were divided into seven groups ( $n=6$ /group): the sham operation group, the control group, the positive control group, and the 20, 40, and 60, and the 80 mg/kg apigenin groups according to the dose of apigenin. The sham operation group did not receive the removal of the ovaries. The positive control group was supplemented with diethylstilbestrol (0.02 mg/kg), vitamin D and calcium daily. The control group was given the subcutaneous injection of same volume of purified water. The apigenin groups were given the subcutaneous injection of various doses of apigenin, respectively, once daily, for 8 weeks. The femoral bone mineral density and serum levels of calcium, phosphorus, bone alkaline phosphatase, amino-terminal propeptide of type I procollagen, C-terminal telopeptide of type I collagen were measured at 4 and 8 weeks after intervention, respectively.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) Compared with the control group, when the dose of apigenin was 40, 60 and 80 mg/kg, the bone mineral density, and serum levels of calcium and phosphorus were increased significantly at 4 and 8 weeks ( $P < 0.05$ ), and the levels of amino-terminal propeptide of type I procollagen, C-terminal telopeptide of type I collagen and bone alkaline phosphatase were decreased significantly ( $P < 0.05$ ). (2) Compared with the positive control group, when the dose of apigenin was 60 and 80 mg/kg, the bone mineral density, serum levels of calcium and phosphorus, the levels of amino-terminal propeptide of type I procollagen, C-terminal telopeptide of type I collagen and bone alkaline phosphatase showed no significant difference at 4 and 8 weeks ( $P > 0.05$ ). When the dose of apigenin was 20 and 40 mg/kg, compared with the positive control group, the bone mineral density, and serum levels of calcium and phosphorus were decreased significantly at 4 and 8 weeks ( $P < 0.05$ ), and the levels of amino-terminal propeptide of type I procollagen, C-terminal telopeptide of type I collagen and bone alkaline phosphatase were increased significantly ( $P < 0.05$ ). (3) Compared with the sham operation group, in the control group, the bone mineral density, and serum levels of calcium and phosphorus were decreased significantly at 4 and 8 weeks ( $P < 0.05$ ), and the levels of amino-terminal propeptide of type I procollagen, C-terminal telopeptide of type I collagen and bone alkaline phosphatase were increased significantly ( $P < 0.05$ ). (4) These results suggest that it is indeed effective to establish a rat osteoporosis model by ovariectomy. The therapeutic effect of apigenin on osteoporosis is dose-related, and a certain dose of apigenin has an anti-osteoporosis effect.

**Key words:** apigenin; osteoporosis; estrogen; alkaline phosphatase; ovariectomized rats

## 0 引言 Introduction

骨质疏松目前已经是我国乃至全球的社会公共健康疾病, 容易引起脆性骨折、骨质丧失, 严重者可引起残疾, 因此可严重影响患者的生活质量<sup>[1-3]</sup>。骨质疏松是指体内的骨量比正常人少, 骨结构发生改变, 从而引起相应的骨病。骨质疏松是多因素引起的一种代谢性的骨病, 其特点是钙盐与基质比例失调, 单位体积内骨量减少。骨质疏松分为原发性骨质疏松和继发性骨质疏松, 原发性指老年人和女性绝经后雌激素减少引起的骨质疏松; 继发性发病原因常见于营养、药物、躯体疾病等。该病发病率最高的是亚洲和拉丁美洲, 女性雌激素减少引起的骨质疏松特别多见, 有研究显示, 60岁以上妇女患病率高达25%以上, 中国估计患骨质疏松的患者有3 000万以上<sup>[4]</sup>。骨质疏松目前虽然有大量的研究, 但是国内外仍然没有特效药可以根治, 中草药运用于骨质疏松的研究越来越多, 有研究证实淫羊藿、杜仲、地黄等中草药都有抗骨质疏松的作用, 中草药抗骨质疏松有广阔的前景。芹菜素是一种黄酮类化合物, 来源于瑞香科、卷柏科等植物, 有抗病毒、抗炎、抗氧化、抗骨质疏松、镇静安神等功效<sup>[5-8]</sup>。该研究提供了芹菜素抗骨质疏松的动物实验证据, 为芹菜素运用于临床治疗骨质疏松奠定基础。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2018年3月至9月在南方医科大学动物实验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 清洁级成年雌性SD大鼠42只, 体质量250-300 g, 由南方医科大学动物实验中心提供, 许可证号: SCXK(粤)2011-0015。实验已经通过南方医科大学伦理委员会审核。

1.3.2 实验药物 芹菜素(重庆普立科生物技术有限公司, 编号: 044217); 己烯雌酚(石家庄市协和药业有限公司,

国药准字H13021146); 钙、磷、骨碱性磷酸酶试剂盒(上海信裕生物科技有限公司); I型前胶原氨基末端前肽和 $\beta$ -I型胶原C-末端肽试剂盒(上海恒斐生物科技有限公司); 采血管(思科诺思生物科技(北京)有限公司); 骨密度检测仪(韩国InAlyzer), 奥林帕斯全自动生化分析仪(型号7170)。

1.4 实验方法 动物饲养采用标准化方法, 包括统一温度20 °C、统一环境、统一喂养食物量。标准化5 d后进行实验, 所有大鼠均用药8周。

1.4.1 大鼠骨质疏松模型造模方法 用卵巢切除法建立大鼠骨质疏松模型<sup>[9-11]</sup>, 各组大鼠均用腹腔注射戊巴比妥钠法麻醉(浓度1%, 剂量1 mL/kg), 假手术组只摘除卵巢周边2 g脂肪和结缔组织, 芹菜素组和阳性对照组均摘去双侧卵巢, 术后继续饲养8周, 建模成功后开始各项实验。

### 实验动物造模过程的相关问题

造模目的:	探讨不同剂量芹菜素对大鼠骨质疏松的疗效及其机制
借鉴已有标准实施动物造模:	用卵巢切除法建立大鼠骨质疏松模型 <sup>[9-11]</sup>
动物来源及品系:	成年雌性SD大鼠, 体质量250-300 g, 由南方医科大学动物实验中心提供
造模技术描述:	腹腔注射戊巴比妥钠法麻醉, 摘除大鼠摘去双侧卵巢
动物数量及分组方法:	42只大鼠随机分为6组: 芹菜素20 mg/kg组 $n=6$ ; 芹菜素40 mg/kg组 $n=6$ ; 芹菜素60 mg/kg组 $n=6$ ; 芹菜素80 mg/kg组 $n=6$ ; 对照组 $n=6$ ; 阳性对照组 $n=6$ ; 假手术组 $n=6$
造模成功评价指标:	手术摘除大鼠双侧卵巢形成骨质疏松模型, 已经被公认采纳, 7-12周就可造成模型
造模后实验观察指标:	①大鼠股骨密度; ②血清中钙、磷、骨碱性磷酸酶、I型前胶原氨基末端前肽、 $\beta$ -I型胶原C-末端肽的水平
造模后动物处理:	实验第4, 8周大鼠麻醉后检测股骨骨密度, 并采集10 mL血液。
伦理委员会批准:	实验已经通过南方医科大学伦理委员会批准

1.4.2 实验分组 实验分为7组, 每组6只大鼠, 分别为芹菜素20 mg/kg组、芹菜素40 mg/kg组、芹菜素60 mg/kg组、芹菜素80 mg/kg组、对照组、阳性对照组、假手术组。芹菜素各组分别给予相应剂量(20, 40, 60, 80 mg/kg)的芹菜素皮下注射, 1次/d; 对照组给以同等量纯净水皮下注射; 阳性对照组给以0.02 mg/kg的己烯雌酚灌胃, 1次/d; 假手术组皮下注射同等量纯净水。所有大鼠每天饮食, 生存环境均保持一致, 用药8周。

1.4.3 大鼠骨密度检测 分别在实验第4, 8周各组大鼠用1%戊巴比妥钠麻醉, 麻醉后置于骨密度检测仪中, 检测各组股骨骨密度。

1.4.4 大鼠血清钙、磷、骨碱性磷酸酶、I型前胶原氨基末端前肽(N-terminal propeptide of type I procollagen, PINP)、 $\beta$ -I型胶原C-末端肽(C-terminal telopeptides of type I collagen,  $\beta$ -CTX)的检测: 实验开始后, 各组大鼠分别在第4, 8周采集10 mL血液, 室温下800xg的速度离心10 min。血清分离后, 即刻使用全自动生化分析仪检测各组血中钙、磷、骨碱性磷酸酶、PINP、 $\beta$ -CTX水平。

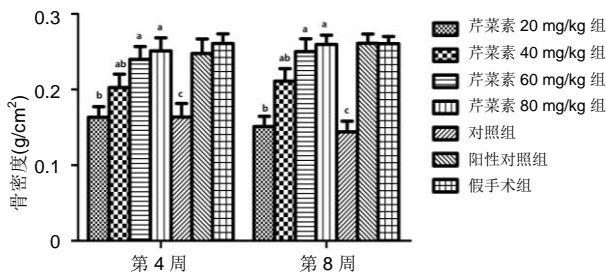
1.5 主要观察指标 ①大鼠骨密度; ②血清中钙、磷、骨碱性磷酸酶、I型前胶原氨基末端前肽、 $\beta$ -I型胶原C-末端肽的水平。

1.6 统计学分析 各项实验数据均用SPSS 17.0统计分析, 方差分析法评估组间均数统计学意义, 各项数据均用 $\bar{x} \pm s$ 来表示,  $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠42只, 分为7组, 实验过程无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 大鼠骨密度检测结果 见图1。①与对照组比较, 芹菜素40, 60, 80 mg/kg组大鼠骨密度在第4, 8周时均较高( $P < 0.05$ ), 芹菜素20 mg/kg组差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ②与阳性对照组比较, 芹菜素20, 40 mg/kg组大鼠骨密度在第4, 8周时较低( $P < 0.05$ ), 芹菜素60, 80 mg/kg组大鼠骨密度差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ③对照组和假手术组对比, 对照组大鼠骨密度在第4周和第8周均较低( $P < 0.05$ )。



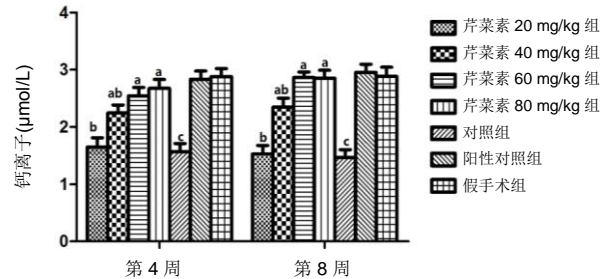
图注:  $n=6$ 。与对照组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与阳性对照组相比,  $^bP < 0.05$ ; 和假手术组相比,  $^cP < 0.05$

图1 大鼠骨密度检测结果

Figure 1 Results of bone mineral density of rats

2.3 大鼠血清中钙离子浓度检测结果 见图2。①与对照组比较, 芹菜素40, 60, 80 mg/kg组大鼠血清钙离子浓度

在第4, 8周时均较高( $P < 0.05$ ), 芹菜素20 mg/kg组差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ②与阳性对照组比较, 芹菜素20, 40 mg/kg组大鼠血清钙离子浓度在第4, 8周时较低( $P > 0.05$ ), 芹菜素60, 80 mg/kg组大鼠血清钙离子浓度差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ③对照组和假手术组对比, 对照组血清钙浓度在第4周和第8周均较低( $P < 0.05$ )。

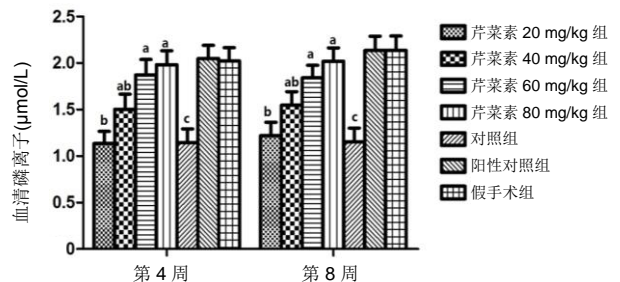


图注:  $n=6$ 。与对照组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与阳性对照组相比,  $^bP < 0.05$ ; 和假手术组相比,  $^cP < 0.05$

图2 大鼠血清钙离子检测结果

Figure 2 Results of serum calcium ion of rats

2.4 不同组大鼠血清磷检测结果 见图3。①和对照组比较, 芹菜素40, 60, 80 mg/kg组大鼠血清磷离子浓度在第4, 8周时均较高( $P < 0.05$ ), 芹菜素20 mg/kg组差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ②和阳性对照组比较, 芹菜素20, 40 mg/kg组大鼠血清磷在第4, 8周时较低( $P < 0.05$ ), 芹菜素60, 80 mg/kg组大鼠血清磷离子浓度差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ③对照组和假手术组对比, 对照组血清磷浓度在第4周和第8周均较低( $P < 0.05$ )。



图注:  $n=6$ 。与对照组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与阳性对照组相比,  $^bP < 0.05$ ; 和假手术组相比,  $^cP < 0.05$

图3 大鼠血清磷离子检测结果

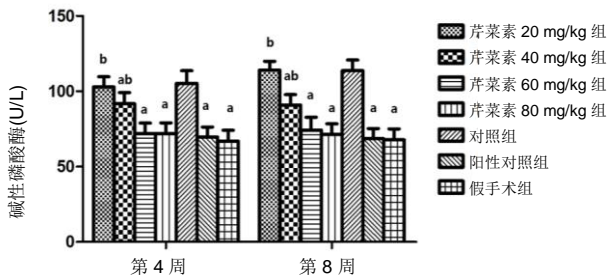
Figure 3 Results of serum phosphorus ion of rats

2.5 不同组大鼠血清骨碱性磷酸酶检测结果 见图4。①与对照组比较, 芹菜素40, 60, 80 mg/kg组、阳性对照组、假手术组的大鼠血清骨碱性磷酸酶水平在第4, 8周时均较低( $P < 0.05$ ), 芹菜素20 mg/kg组差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ②与阳性对照组比较, 芹菜素20, 40 mg/kg组大鼠血清骨碱性磷酸酶在第4, 8周时较高( $P < 0.05$ ), 芹菜素60, 80 mg/kg大鼠血清骨碱性磷酸酶水平差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

2.6 不同组大鼠血清PINP结果 见图5。①和对照组比较, 芹菜素40, 60, 80 mg/kg组大鼠血清PINP水平在第4, 8周时均较低( $P < 0.05$ ), 芹菜素20 mg/kg组差异无显著性意义



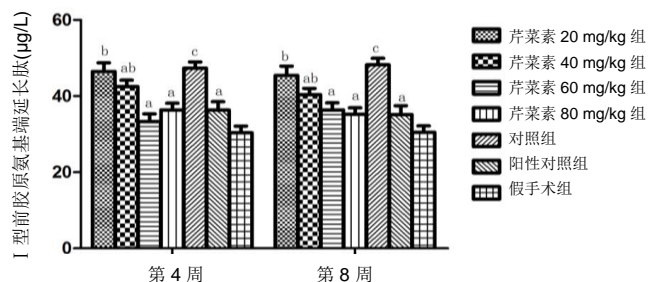
( $P > 0.05$ ); ②和阳性对照组比较, 芹菜素20, 40 mg/kg组大鼠血清PINP在第4, 8周时较高( $P < 0.05$ ), 60, 80 mg/kg组大鼠血清PINP水平差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ③对照组和假手术组对比, 对照组血清PINP水平在第4周和第8周均较高( $P < 0.05$ ).



图注:  $n=6$ 。与对照组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与阳性对照组相比,  $^bP < 0.05$

图 4 大鼠血清骨碱性磷酸酶检测结果

Figure 4 Results of serum bone alkaline phosphatase of rats

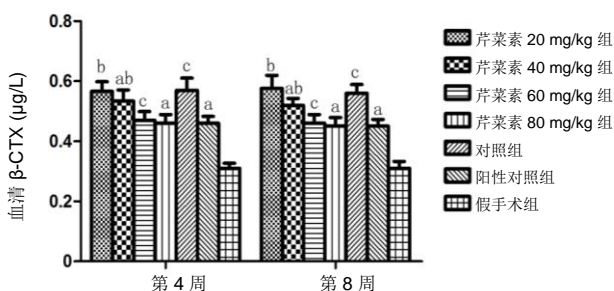


图注:  $n=6$ 。与对照组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与阳性对照组相比,  $^bP < 0.05$ ; 和假手术组相比,  $^cP < 0.05$

图 5 大鼠血清 I 型前胶原氨基端延长肽(PINP)检测结果

Figure 5 Results of serum N-terminal propeptide of type I procollagen in rats

2.7 不同组大鼠血清 $\beta$ -CTX结果 见图6。①和对照组比较, 芹菜素40, 60, 80 mg/kg组大鼠血清 $\beta$ -CTX水平在第4, 8周时均较低( $P < 0.05$ ), 芹菜素20 mg/kg组差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ②和阳性对照组比较, 芹菜素20, 40 mg/kg组大鼠血清 $\beta$ -CTX在第4, 8周时较高( $P < 0.05$ ), 芹菜素60, 80 mg/kg组大鼠血清 $\beta$ -CTX水平差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ③对照组和假手术组对比, 对照组血清 $\beta$ -CTX水平在第4周和第8周均较高( $P < 0.05$ ).



图注:  $n=6$ 。与对照组相比,  $^aP < 0.05$ ; 与阳性对照组相比,  $^bP < 0.05$ ; 和假手术组相比,  $^cP < 0.05$

图 6 大鼠血清  $\beta$ -CTX 检测结果

Figure 6 Results of serum C-terminal telopeptides of type I collagen in rats

### 3 讨论 Discussion

芹菜素是黄酮类化合物的一种, 是一种植物类的雌激素, 有研究证实它具有抗病毒、抗炎、抗氧化、镇静安神等功效<sup>[5-8]</sup>。王玉明等<sup>[12]</sup>建立了小鼠肺损伤模型, 并建立体外细胞炎症模型, 通过检测肿瘤坏死因子的炎症因子, 证实芹菜素有抗炎症的作用, 并且证实其抗炎作用是通过影响TLR4信号通路取作用的。有研究建立了小鼠肺癌的模型, 证实芹菜素可抑制肺癌细胞的增殖, 并能增加机体对抗肿瘤药物的敏感性<sup>[13]</sup>。芹菜素和骨代谢和骨细胞增殖分化密切相关, 有研究证实, 芹菜素可抑制破骨细胞形成, 促进破骨细胞凋亡, 可以抑制骨吸收, 防止体内骨质丢失<sup>[14-16]</sup>。有研究证实芹菜素可抑制成骨细胞增殖和分化, 抑制胶原蛋白产生, 减少碱性磷酸酶的活性, 同时可抑制破骨细胞的形成<sup>[15]</sup>。有研究通过建立体外细胞培养体系, 加入芹菜素干预后发现, 芹菜素可促进骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞, 其促进分化作用和JUK/P38信号通路密切相关<sup>[17]</sup>。尽管国内外关于芹菜素对破骨细胞和成骨细胞的相关研究比较多, 但是较少有关于芹菜素抗骨质疏松的实验室证据, 该课题通过动物实验证实其抗骨质疏松的效果。

目前原发性骨质疏松的治疗中比较重要的方法是激素替代疗法<sup>[18-22]</sup>, 此疗法有很多的优势, 特别是可纠正女性绝经后因雌激素分泌减少引起的病理和生理改变, 雌激素相关药物常被认为是抗骨质疏松的常规用药。雌激素有减少绝经症状及心脑血管病发生风险、治疗骨质疏松的作用。二磷酸盐类药物如奈立磷酸钠、奥帕磷酸钠等也都可用于治疗骨质疏松, 其原理是通过改变细胞形态, 抑制破骨细胞, 同时有干扰骨吸收, 抑制炎症相关因子, 如白细胞介素6、肿瘤坏死因子等的作用<sup>[23-24]</sup>。目前比较多的研究证实祖国传统中草药对骨质疏松也有一定的效果。李平等<sup>[25]</sup>建立大鼠骨质疏松模型, 并用健骨颗粒处理, 通过实验检测血清骨钙素、总胆固醇、瘦素受体等的表达, 发现健骨颗粒可改善大鼠体内脂质代谢, 改善大鼠基础代谢, 有治疗骨质疏松的作用。有研究建立动物骨质疏松模型, 通过X射线、PCR等技术, 证实人参总皂苷可上调碱性磷酸酶的表达<sup>[26]</sup>, 调节骨代谢, 可有效防治骨质疏松。蒋益萍等<sup>[27]</sup>研究指出淫羊藿能有效增加大鼠骨密度、可调节糖代谢、血脂代谢等, 和仙茅配伍后可治疗骨质疏松。

此次实验选用去卵巢法建立大鼠骨质疏松模型<sup>[1-2]</sup>, 该建立模型的方法被广泛运用于各项实验中, 去卵巢引起大鼠体内雌激素减少、子宫萎缩, 从而引起骨质疏松。有研究证实, 雌激素减少是导致骨质疏松最重要的因素<sup>[28]</sup>, 这也是绝经后妇女易发生骨质疏松的重要原因。无论是动物实验还是临床试验, 均证实补充雌激素可有效的逆转骨量丢失, 并能促进骨质形成, 有效的防治骨质疏松<sup>[29-31]</sup>。芹菜素作为一种植物类雌激素, 有类似于雌二醇治疗骨质疏松的作用。此次实验通过检测骨密度、钙离子、磷离子、碱性磷酸酶、PINP和 $\beta$ -CTX的水平证实芹菜素有治疗骨质疏松的作用。

作者发现芹菜素在低剂量时, 对大鼠骨密度、血清中钙、磷、骨碱性磷酸酶、PINP、和 $\beta$ -CTX水平影响均很小, 无统计学意义, 说明低剂量无抗骨质疏松的作用。当剂量大于

40 mg/kg时,各项检测指标均有意义,说明芹菜素抗骨质疏松的效果和剂量有关。实验选用雌二醇作为阳性对照组,是因为大量实验证实雌二醇能有效逆转切除卵巢引起的骨质疏松<sup>[29-31]</sup>,实验对比证实,芹菜素剂量为60 mg/kg和80 mg/kg时,其抗骨质疏松的效果和雌二醇相当,说明剂量大于60 mg/kg的芹菜素有类似雌激素的作用,可作为一种抗骨质疏松的物质。结果发现芹菜素剂量为60 mg/kg和80 mg/kg时,其对大鼠骨密度、血清钙、磷、PINP和 $\beta$ -CTX均无明显差别,说明芹菜素剂量大于60 mg/kg就有明显效果,单纯提高剂量并不能使其抗骨质疏松效果明显加强。实验结果发现,大鼠切除卵巢后,血清骨碱性磷酸酶含量明显升高,是因为切除卵巢后,雌激素减少,骨处于高代谢状态,骨形成和骨吸收存在不同程度增强,同时吸收速度小于形成速度,造成大量骨质的丢失,这和绝经妇女的骨代谢情况相符合。芹菜素可减弱这一效应,作者观察到剂量为60 mg/kg以上的芹菜素可使骨碱性磷酸酶比模型组少,说明芹菜素可部分替代雌激素效应。血清中的PINP和 $\beta$ -CTX的反应骨转换状态的重要指标,实验结果表明,芹菜素可降低骨质疏松模型中大鼠的PINP和 $\beta$ -CTX的水平,提示其有改变骨高转换的效果,对破骨细胞有一定的影响,能抑制骨吸收。

此次研究通过建立动物模型,论证了不同剂量芹菜素对骨质疏松的作用。研究探讨了20, 40, 60, 80 mg/kg分别4种不同浓度的芹菜素对骨质疏松的影响,结果发现浓度为40 mg/kg以上的芹菜素在动物骨关节模型中有初步的抗骨质疏松的作用效果,调整剂量到80 mg/kg,其抗骨质疏松效果并不能和剂量成正比。但是芹菜素精确的起效浓度尚需进一步实验证实。

**作者贡献:** 研究的设计、实施及评估均为第一作者和通讯作者。

**经费支持:** 该文章没有接受任何经费支持。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**机构伦理问题:** 实验方案经南方医科大学动物实验伦理委员会批准。实验动物在麻醉下进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

#### 4 参考文献 References

- COMPSTON JE, MCCLUNG MR, LESLIE WD. Osteoporosis. Lancet. 2019;393:364-376.
- GANJI R, MOGHBELI M, SADEGHI R, et al. Prevalence of osteoporosis and osteopenia in men and premenopausal women with celiac disease: a systematic review. Nutr J. 2019;18:9.
- YEDAVALLY-YELLAYI S, HO AM, PATALINGHUG EM. Update on Osteoporosis. Prim Care. 2019;46:175-190.
- 王欣荣,应汉杰,欧阳平凯. 骨质疏松症的发病机理及其治疗[J]. 生物工程进展, 2001,21(3):54-56,49.
- LI F, LANG F, ZHANG H, et al. Apigenin Alleviates Endotoxin-Induced Myocardial Toxicity by Modulating Inflammation, Oxidative Stress, and Autophagy. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:2302896.
- NABAVI SF, KHAN H, D'ONOFRIO G, et al. Apigenin as neuroprotective agent: Of mice and men. Pharmacol Res. 2018; 128:359-365.
- NABAVI SM, HABTEMARIAM S, DAGLIA M, et al. Apigenin and Breast Cancers: From Chemistry to Medicine. Anticancer Agents Med Chem. 2015;15:728-735.
- WANG M, FIRRMAN J, ZHANG L, et al. Apigenin Impacts the Growth of the Gut Microbiota and Alters the Gene Expression of Enterococcus. Molecules. 2017;22(8). pii: E1292.
- 李俐,郑旭仙,曹雅芬,等. 针刺肾俞足三里干预绝经后骨质疏松症大鼠模型的影响[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(1):107-111.
- 盛玲玲,李先娜,霍金海,等. 骨质疏松症动物模型及评价方法研究进展[J]. 黑龙江中医药, 2018,47(6):111-113.
- 王熙,张浩,张璐,等. 去势雌兔骨质疏松模型的建立[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019,6(13):6-7,10.
- 王玉明. 芹菜素对小鼠肺损伤抗炎活性的体外评价[J]. 畜牧兽医杂志, 2018,37(2):1-5.
- 黄好武,黄欢文,姜一平,等. 芹菜素对肺癌细胞的抗增殖作用和抗肿瘤药物的增敏作用[J]. 中国药业, 2017, 26(5):20-22.
- BANDYOPADHYAY S, LION JM, MENTAVERRI R, et al. Attenuation of osteoclastogenesis and osteoclast function by apigenin. Biochem Pharmacol. 2006; 72:184-197.
- GOTO T, HAGIWARA K, SHIRAI N, et al. Apigenin inhibits osteoblastogenesis and osteoclastogenesis and prevents bone loss in ovariectomized mice. Cytotechnology. 2015; 67:357-365.
- PARK JA, HA SK, KANG TH, et al. Protective effect of apigenin on ovariectomy-induced bone loss in rats. Life Sci. 2008;82:1217-1223.
- ZHANG X, ZHOU C, ZHA X, et al. Apigenin promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells through JNK and p38 MAPK pathways. Mol Cell Biochem. 2015;407:41-50.
- GAMBACCIANI M, LEVANCINI M. Hormone replacement therapy and the prevention of postmenopausal osteoporosis. Prz Menopauzalny. 2014;13:213-220.
- ERIKSEN EF. Hormone replacement therapy or SERMS in the long term treatment of osteoporosis. Minerva Ginecol. 2012; 64:207-221.
- BOWRING CE, FRANCIS RM. National Osteoporosis Society's Position statement on hormone replacement therapy in the prevention and treatment of osteoporosis. Menopause Int. 2011;17:63-65.
- MAICHUK E, VOEVODINA IV, MITROKHINA TV, et al. The risk of atherosclerosis and osteoporosis development in post-ovariectomy syndrome women during hormone replacement therapy. Ter Arkh. 2014;86:75-79.
- CHATTERJEE R, KATZ M, BAJORIA R. Use of hormone replacement therapy for correction of high turnover bone disease in hypogonadal beta-Thalassemia major patients presenting with osteoporosis: comparison with idiopathic premature ovarian failure. Hemoglobin. 2011;35:653-658.
- CELLI M, D'EUFEMIA P, PERSIANI P, et al. Clinical and biochemical response to neridronate treatment in a patient with osteoporosis-pseudoglioma syndrome(OPPG). Osteoporos Int. 2017;28:3277-3280.
- GAUDIO A, FIORE CE. Successful neridronate therapy in pregnancy-associated osteoporosis. Clin Cases Miner Bone Metab. 2016;13: 241-243.
- 李平,林煜,朱曦,等. 补肾健脾方影响高脂肪饮食骨质疏松模型大鼠脂代谢及瘦素的变化[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(3):470-475.
- 俞之胤,李晓华,隋欣,等. 人参皂苷防治原发性骨质疏松[J]. 中国老年学杂志, 2018,38(21):5288-5290.
- 蒋益萍,夏天爽,张志伟,等. 淫羊藿和仙茅有效部位配伍防治骨质疏松的代谢组学研究[J]. 药学服务与研究, 2018, 18(5):326-331.
- NIAN H, MA MH, NIAN SS, et al. Antiosteoporotic activity of icariin in ovariectomized rats. Phytomedicine. 2009;16:320-326.
- 张巧慧,胡玲,李婷. 雌二醇片/雌二醇地屈孕酮片复合包装联合阿仑膦酸钠片治疗卵巢早衰合并骨量减少及骨质疏松症患者临床疗效分析[J]. 中国药物与临床, 2018,18(6):987-989.
- 郑莎,弓慧杰. 围绝经期妇女雌激素水平与骨质疏松的关系研究[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(8):1806-1808.
- 周玉珊. 激素替代疗法联合阿仑膦酸钠治疗围绝经期妇女骨质疏松症的效果观察[J]. 当代医学, 2018, 24(36):82-83.