

植物提取物A对SD大鼠更年期综合症的缓解作用

葛亚中^{1*}, 金鑫¹, 欧颖仪², 高艺敏¹

(1. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 361100)(2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 该文研究了植物提取物A对更年期综合征尤其是骨质疏松的调节功效。采用卵巢摘除手术建立更年期大鼠模型, 设置空白组、模型组、低、中、高剂量组五组, 连续灌胃14周。结果表明, 植物提取物A可改善更年期大鼠子宫状态, 还可调节更年期大鼠性激素分泌, 提高血清中雌二醇含量(33.33%), 降低血清促卵泡激素分泌(8.42%), 促进抗苗勒氏管激素分泌(134.78%)。并且植物提取物A可改善更年期大鼠的骨组织结构, 提高更年期大鼠的血磷(14.04%)、血钙(12.58%)含量; 提高更年期大鼠的全骨骨密度(8.00%)、骨远端骨密度(7.69%)、骨中段骨密度(8.33%)以及骨钙含量(34.87%); 提高更年期大鼠血清25羟维生素D(Serum 25-hydroxy Vitamin D)水平(78.40%), 升高成纤维生长因子水平(60.21%)调节机体代谢, 提高碱性磷酸酶(40.00%)、骨钙素含量(51.61%), 降低I型前胶原交联C末端肽含量(34.22%), 提高I型前胶原N末端肽含量(128.57%), 对缓解骨质疏松有显著功效。该研究可为植物提取物A作为缓解更年期综合征的功能食品推广应用提供参考依据。

关键词: 更年期; 骨质疏松; 性激素; 功效

文章编号: 1673-9078(2024)02-9-18

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.1550

Alleviative Effects of Plant Extract A on Menopausal Syndrome in SD Rats

GE Yazhong^{1*}, JIN Xin¹, OU Yingyi², GAO Yimin¹

(1. Infinitus (China) Co. Ltd., Guangzhou 361100, China)

(2. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The regulatory effects of plant extract A on menopausal syndrome, particularly osteoporosis, was investigated. A menopausal rat model was established through ovariectomy, followed by continuous gavage for 14 weeks. Five groups, comprising blank group, control group, and low-, medium-, and high-dose groups, were designated. The results revealed that plant extract A improved the uterine condition of menopausal rats by regulating the secretion of sex hormones, leading to increased serum estradiol (33.33%) and serum anti-Müllerian hormone (134.78%) levels, and decreased serum follicle stimulating hormone (8.42%) levels. Additionally, plant extract A enhanced the structures and functions of bone tissues in menopausal rats. It also increased total bone mineral density (8.00%), distal bone mineral density (7.69%), and midshaft bone mineral density (8.33%), as well as the levels of blood phosphorus (14.04%), calcium (12.58%), bone calcium (34.87%) and serum 25-hydroxy vitamin D (78.40%) levels, fibroblast growth factor (60.21%), procollagen I N-terminal pro-peptide (128.57%), alkaline phosphatase (40.00%), and osteocalcin (51.61%) in menopausal rats. However, it reduced the level of C-terminal telopeptide of type I procollagen (34.22%). In conclusion, plant extract A can effectively regulate the secretion of sex hormones in menopausal rats and alleviate osteoporosis symptoms. This study offers valuable insights into

引文格式:

葛亚中,金鑫,欧颖仪,等.植物提取物A对SD大鼠更年期综合症的缓解作用[J].现代食品科技,2024,40(2):9-18.

GE Yazhong, JIN Xin, OU Yingyi, et al. Alleviative effects of plant extract a on menopausal syndrome in SD rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 9-18.

收稿日期: 2022-12-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(22278153)

作者简介: 葛亚中(1978-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功能性食品原料及产品开发, E-mail: star.ge@infinitus-int.com

the potential promotion and application of plant extract A as a functional food to mitigate menopausal syndrome symptoms.

Key words: menopause; osteoporosis; sex hormone; efficacy

更年期是女性逐渐步入老年期的过渡阶段,更年期女性的卵巢功能会从旺盛状态逐渐衰退直到完全衰竭^[1]。女性在更年期期间由于内分泌失调以及性激素的分泌紊乱,会出现一系列心理与生理上的变化。在此期间出现的一系列心理和生理方面的病症被统称为更年期综合征,涉及了神经系统、心血管系统、骨代谢^[2]等多方面,主要表现为头痛、潮热、血压升高、记忆力减退、骨质疏松^[3]等,这直接影响月经停止后女性生理健康和老年生活质量。

更年期期间的女性体内的性激素分泌会发生变化,如雌激素、抗苗勒氏管激素分泌减少;促卵泡生成素、促黄体生成素分泌增加;这些变化极大地影响更年期女性的身体健康。激素的变化也会带来一系列的病症,绝经后骨质疏松(Postmenopausal Osteoporosis, PMOP)是更年期综合征的重要表现,约有25%~30%的女性在月经停止后都患有骨质疏松^[4],PMOP人群可占到整体骨质疏松人群的80%。调查研究表明,骨质疏松在老年女性中的发病率约为男性的3倍^[5],雌激素水平下降常常被认为是导致PMOP的重要因素。雌激素可促进骨生成,减少骨吸收,故更年期女性体内雌激素与雄激素的平衡状态被打破,雌激素水平大幅降低^[6],进而诱发骨质疏松。

更年期综合征尤其是骨质疏松严重威胁老年女性的健康,如何预防、减轻更年期综合征,平缓度过更年期始终是备受关注的课题。目前针对更年期综合征在临床上主要采用激素替代疗法(HRT),直接补充雌激素可以有效缓解绝经后骨质疏松^[7]。然而,有研究表明对患者进行外源性雌激素补充,若长期作用或剂量控制不佳,有导致乳腺癌、子宫内膜癌^[8]等疾病的风险。且激素替代疗法并不适用于所有女性,有研究表明,对于肥胖女性,使用激素替代疗法可能会加剧她们的血栓风险^[9]。此外,目前市面上一些用于治疗更年期综合征的药物存在风险,如雷洛昔芬^[10],其在调节更年期综合征、骨质疏松上的功效被广泛认可,但是已有报道显示它存在诱发血凝块的风险。因此,人们更倾向于使用来源天然且安全的功能食品缓解更年期综合征及骨质疏松^[11],但目前市面上此类产品仍存在空白。本研究将研究植物提取物A在缓解更年期综合征,尤其

是调节更年期大鼠性激素分泌以及更年期导致的骨质疏松方面的作用,为其在功能食品方面的应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设备

1.1.1 样品

植物提取物A由无限极(中国)有限公司提供,1片为730 mg,每片含大豆提取物100.02 mg、鼠尾草提取物50 mg、百合提取物150 mg、墨旱莲提取物15 mg、甲萘醌7(维生素K2)35 μg、d-α-生育酚琥珀酸酯8.617 mg。

1.1.2 实验动物

使用SPF级的雌性SD大鼠(购入时体质量152.0~198.3 g,正式实验时体质量(197.6~266.3 g),试验动物由珠海百试通生物科技有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2020-0051,实验动物质量合格证明编号44822700001637。对购入SD大鼠检疫7 d。检疫期间为群养,每箱4只,造模后为每箱4只,饲养温度与湿度:20~26 °C,40%~70%,采用12 h:12 h昼夜间断照明;饲养室条件始终保持稳定,以保证试验结果的可靠性。试验期间动物均按实验要求喂以相应颗粒饲料,所有饲料由江苏省协同医药生物工程有限责任公司提供。动物自由进食饮食。

1.1.3 主要仪器设备

JSB3-01 电子天平,上海浦春计量仪器有限公司;Discovery A 双能X线骨密度仪,Hologic公司;台式离心机,Sigma 3K15;超纯水制备机,雷磁UPW-N30UV;全自动生化分析仪,SHINOVA chemo 120V;55AA型火焰原子吸收分光光度计,美国Agilent Technologies。日本岛津高性能液体色谱仪HLPC,液质联用仪API 5500LC-MS/M系统。

1.2 实验方法

1.2.1 造模方法

建立大鼠卵巢摘除模型^[12](OVX),分别设置空白组,模型组,植物提取物A低、中、高剂量组。

造模时吸入异氟烷麻醉，麻醉后动物俯卧位于背部肋脊角位置剃毛备皮，于肋脊角位置剪开约 1 cm 切口，看到脂肪团后，手术弯镊将脂肪团轻轻拉出，于脂肪团中可见粉红色或黄红色卵巢，结扎输卵管后剪除卵巢，并将脂肪和子宫角送回腹腔，同法剪除另一侧卵巢。空白组同法作背部切口，把卵巢和脂肪找到后送回腹腔内。逐层缝合肌肉和皮肤。术后连续 3 d 肌注青霉素钠注射液。

对实验动物每天进行阴道细胞监测。在卵巢摘除后第 5 天开始观察，连续 5 d 观察大鼠阴道涂片，可观察到阴道弹性降低、阴道皱缩且伴随动情周期紊乱的雌性大鼠即为已经进入更年期，造模成功，进而开展植物提取物 A 灌胃。

1.2.2 给药方法

完成更年期模型造模后各组动物喂饲无雌激素饲料至试验结束，造模后第 5 天分别开始对各组进行按剂量灌胃相应的植物提取物 A，空白对照组和模型组灌胃纯净水，高中低剂量组灌胃剂量分别为 280、140 和 70 mg/(kg·d)。灌胃频率为每天固定时间点，每天一次，连续灌胃 14 周，直至模型组动物出现骨质疏松症状。

1.2.3 观察

试验开始每天观察动物的一般临床情况一次，至试验结束。试验开始、试验结束及每周称量体质量 1 次。

1.2.4 性激素检测

对分离的血清，使用 ELISA 试剂盒检测动物体内的激素水平，包括雌二醇，促卵泡激素以及抗苗勒氏管激素，按照说明书测定血清中的激素含量，对激素水平进行定量分析。

1.2.5 骨钙指标及骨代谢标志物检测

骨钙含量测定：取左侧股骨，用原子吸收法测定骨钙含量。

骨密度测定：取右侧股骨用骨密度仪测定股骨中点和股骨远心端骨密度。

血磷和血钙检测：对分离的血清，采用血磷浓度测定试剂盒和血钙浓度检测试剂盒对各处理组中收集的血清进行定量分析，计算血磷和血钙含量。

对分离获得的血清，利用相应的 ELISA 试剂盒对大鼠血清中骨代谢调控激素 25 羟维生素 D、成纤维生长因子和骨转化标志物 I 型前胶原交联 C 末端肽、I 型前胶原 N 末端肽、碱性磷酸酶和骨钙素进行定量分析。

1.2.6 组织切片

对收集固定的子宫组织自来水洗涤，乙醇分级脱水，二甲苯透化，石蜡包埋。制备好的蜡块，进行切片厚度为 4 μm 。对固定的子宫组织进行切片苏木精伊红 (Hematoxylin and Eosin, HE) 染色，在显微镜下对切片观察分析各处理组之间的子宫组织面积，腔内大小，内膜情况及腺体数量的差异；

骨组织在制备前需要对骨进行脱钙，在骨组织固定后，使用盐酸甲酸甲醛液中对其脱钙处理，标本检查以手感有弹性、用大头针能轻松刺入为脱钙良好，所有标本脱钙后均放入自来水中反复冲洗 30 min。后续操作如常规切片制备操作，纵向切成 4 μm 厚的切片。对切片进行苏木精伊红 (Hematoxylin and Eosin, HE) 染色并在显微镜下观察分析骨小梁结构及小梁面积的差异分析。

1.3 数据分析

所有数据采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析；计量资料数据方差齐，或数据经转换后方差齐，则采用单因素方差分析；若数据经转换后方差仍不齐，采用秩和检验进行统计分析。检验水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 植物提取物 A 对更年期大鼠体质量影响

2.1.1 各组动物体变化

体质量是反映动物生长情况的重要参考指标，体质量出现异常升高下降时，则提示机体健康状况出现问题。由表 1 可知，试验期间各组动物随灌胃时间延长体质量逐渐升高，未见体质量异常，试验期间无动物死亡。与空白组相比，其余各组在第 2~14 周体质量更高，有统计学差异 ($P < 0.05$)。与模型组相比，给药各组在各个时间点的体质量无统计学差异 ($P > 0.05$)。

表 1 大鼠体质量变化情况

Table 1 Body weight change of rats during the experiment (g)

组别	空白组	模型组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
第一周	218.60 ± 8.04	216.25 ± 11.50	214.33 ± 6.57	216.53 ± 9.36	219.58 ± 9.36
第二周	241.89 ± 12.68	255.43 ± 17.72*	263.89 ± 10.87*	253.61 ± 13.21*	267.49 ± 19.55*
第三周	252.90 ± 12.57	283.73 ± 17.44*	289.95 ± 8.39*	280.58 ± 10.95*	289.39 ± 18.47*
第四周	255.79 ± 11.06	305.90 ± 18.58*	310.73 ± 7.55*	301.55 ± 16.96*	307.44 ± 22.45*
第五周	255.15 ± 13.63	214.75 ± 17.64*	322.75 ± 7.41*	310.33 ± 17.54*	311.84 ± 21.05*
第六周	262.33 ± 15.11	317.94 ± 16.64*	326.98 ± 7.04*	319.78 ± 18.95*	320.26 ± 20.86*
第七周	268.03 ± 16.82	324.33 ± 17.39*	328.51 ± 8.16*	325.33 ± 20.61*	326.76 ± 20.21*
第八周	272.45 ± 14.80	337.81 ± 19.67*	342.94 ± 7.38*	335.21 ± 22.40*	339.28 ± 20.08*
第九周	277.05 ± 18.51	339.74 ± 18.79*	349.85 ± 8.61*	338.26 ± 25.06*	344.95 ± 20.54*
第十周	284.95 ± 16.42	342.56 ± 20.13*	350.74 ± 7.50*	339.51 ± 22.99*	346.60 ± 21.78*
第十一周	284.96 ± 20.92	347.78 ± 16.73*	354.61 ± 6.77*	342.96 ± 20.80*	352.04 ± 19.99*
第十二周	283.80 ± 20.53	350.10 ± 17.57*	355.96 ± 7.59*	346.19 ± 19.87*	353.35 ± 21.24*
第十三周	290.41 ± 18.59	354.19 ± 18.28*	358.09 ± 9.86*	349.61 ± 21.77*	357.20 ± 20.13*
第十四周	293.73 ± 16.58	355.64 ± 18.29*	357.64 ± 8.50*	352.79 ± 19.78*	360.05 ± 20.27*

注: 采用单因素方差分析方法进行统计分析。与空白组相比, * $P < 0.05$ 。

2.2 植物提取物A对更年期大鼠子宫及性激素分泌影响

2.2.1 子宫切片

由图 1 可知, 模型组大鼠的子宫显著缩小, 子宫内膜变薄, 子宫内膜上皮细胞及子宫腺上皮细胞呈水样变性、坏死, 子宫腺体扩张, 可观察到固有层少量的炎性细胞浸润。灌胃低、中、高剂量植物提取物 A 后, 子宫内膜上皮细胞、子宫腺上皮细胞水样变性减少, 子宫腺扩张减少, 未见明显的炎性细胞浸润, 固有层细胞和肌层细胞排列紧密。这表明植物提取物 A 可以改善更年期大鼠的子宫状态, 其中高剂量组的改善效果最为显著。

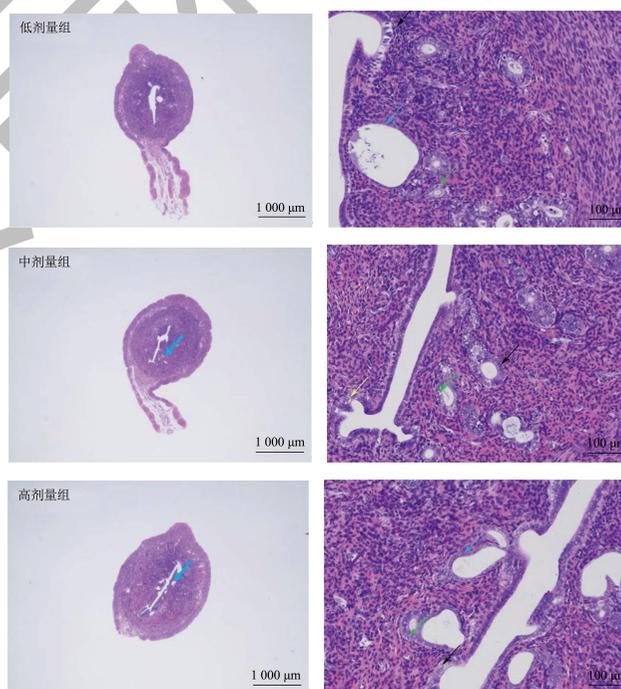
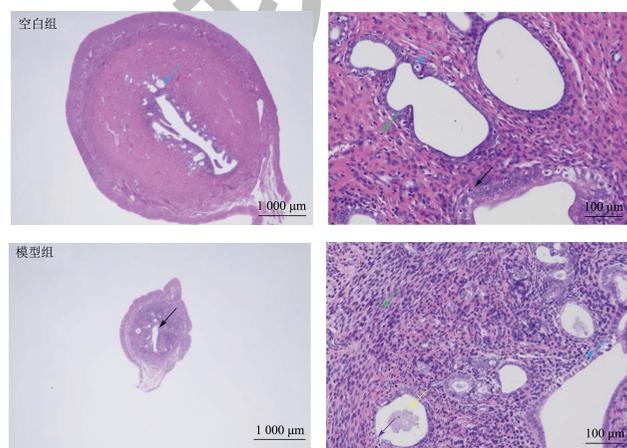


图 1 植物提取物 A 对大鼠子宫的影响

Fig.1 Effect of plant extracts A on rats uterus

2.2.2 雌二醇含量

雌激素如雌二醇 (Estradiol, E_2)、促卵泡激素 (Follicle Stimulating Hormone, FSH)、抗苗勒氏管激素 (Anti-Mullerian Hormone, AMH) 在机体内的平衡与更年期综合征的发生密切相关。它们参与调节卵泡生长、发育、成熟以及排出的过程, 雌激素水

平的变化可以早期预测卵巢功能的潜在变化^[13]。更年期转变与激素水平的改变有关，两个公认的激素特征是雌二醇显著下降和促卵泡激素显著上升^[14]。抗苗勒氏管激素抑制卵泡生长，防止卵泡过早过快被消耗的作用，可以早期预测卵巢功能的潜在变化^[15]。

如图 2~图 4 所示，摘除卵巢后模型组大鼠血清中 E₂ 含量、AMH 含量相较于空白组均显著降低 ($P < 0.05$)，而模型组大鼠血清的 FSH 含量较空白组显著升高 ($P < 0.05$)，符合更年期激素变化特征。相较于模型组，灌胃植物提取物 A 可以显著提高大鼠血清中的 E₂ ($P < 0.05$)、AMH ($P < 0.05$)，分别提高了 33.33%、134.78%；灌胃植物提取物 A 的大鼠血清中的 FSH 含量相较于模型组降低了 8.42% ($P < 0.05$)。在灌胃剂量 70、140 和 280 mg/(kg·d) 的范围内，植物提取物 A 对上述三种性激素的调节均具有剂量依赖性，随着灌胃剂量的升高，大鼠血清中 E₂、AMH 含量逐渐上升，FSH 含量逐渐降低。

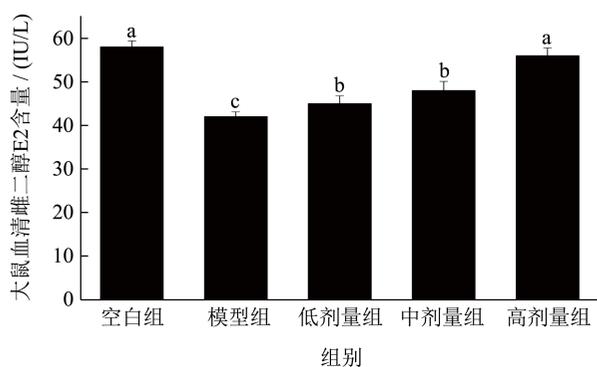


图 2 植物提取物 A 对大鼠血清雌二醇含量的影响

Fig.2 Effect of plant extracts A on the level of serum estradiol of rats

注：图中上标字母代表各组之间具有显著性差异， $P < 0.05$ 。

下图同。

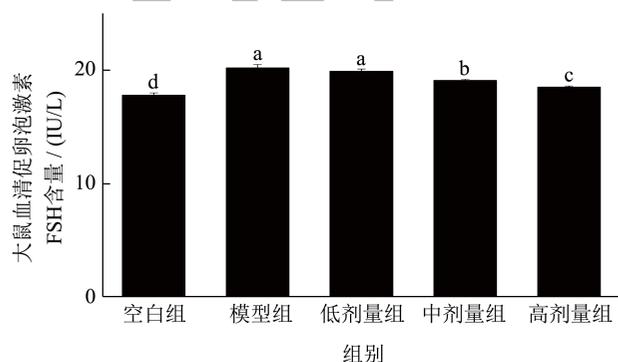


图 3 植物提取物 A 对大鼠血清促卵泡激素含量的影响

Fig.3 Effect of plant extracts A on the level of serum follicle stimulating hormone of rats

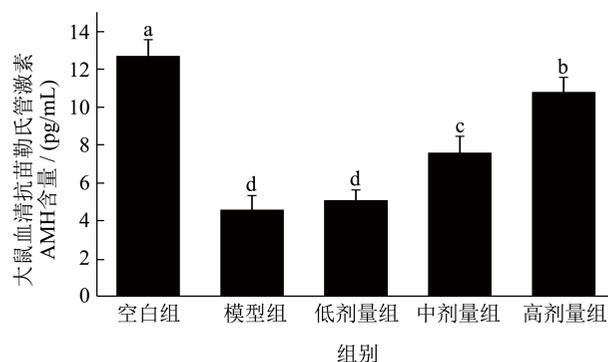


图 4 植物提取物 A 对大鼠血清抗苗勒氏管激素的影响

Fig.4 Effect of plant extracts A on the level of serum anti-Mullerian hormone of rats

植物提取物 A 中含大豆提取物、鼠尾草提取物、百合提取物、墨旱莲提取物、维生素 K、d- α -生育酚琥珀酸酯，丰富的营养成分可发挥缓解更年期综合征的作用。黎桂玉等^[16]研究表明，大豆异黄酮能提高更年期大鼠血清 E₂ 水平至模型组的 3.6 倍。李赛君^[17]使用百合地黄汤合加味逍遥散联合西药治疗更年期综合征患者，连续服用 30 d 后，联合服药组患者的血清 E₂ 水平高于单一用药组，血清 FSH 水平低于单一用药组，且联合组治疗总有效率 97.67% 高于单一用药组 78.94% ($P < 0.05$)。陈马兰等^[18]复配使用女贞子和墨旱莲灌胃更年期大鼠，结果表明女贞子和墨旱莲可以提高更年期大鼠血清 E₂ 含量。佐兆杭等^[19]建立卵巢衰老大鼠模型，使用不同剂量大豆膳食纤维连续灌胃 4 周，结果表明大豆膳食纤维可以提高卵巢衰老大鼠中的 E₂ 以及 AMH 含量，缓解卵巢衰老。

2.3 植物提取物 A 对更年期大鼠骨组织影响及骨质疏松缓解效果

2.3.1 各组大鼠骨组织切片

由图 5 可知，与空白组相比，模型组软骨及生长板软骨细胞坏死，胞核固缩深染、碎裂或溶解消失，骨陷窝增大；生长板周围骨小梁溶解，呈无结构的嗜酸性物，周围可见大量的成骨细胞；皮质骨处结缔组织增生，并伴有炎性细胞浸润。骨小梁数量明显减少，排列疏松。经中、高剂量植物提取物 A 干预后，骨组织症状有明显改善，植物提取物 A 中剂量组的骨小梁数量较模型组增加，而高剂量组的骨组织接近于空白组状态，表明植物提取物 A 可改善大鼠由更年期所致的骨质疏松。

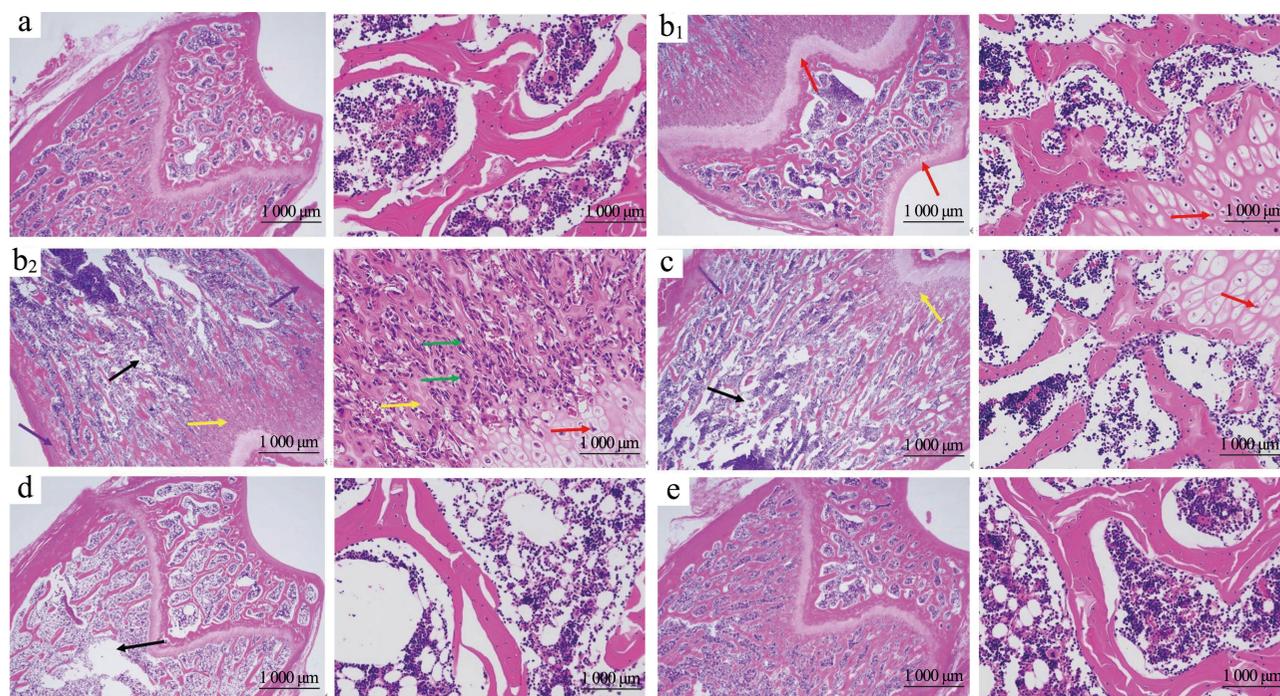


图5 植物提取物 A 对大鼠骨组织的影响

Fig.5 Effect of plant extracts A on the bone tissue of rats

注: a 为空白组, b₁ 和 b₂ 为模型组, c 为低剂量组, d 为中剂量组, e 为高剂量组。

2.3.2 血磷和血钙含量

当进入更年期, 雌激素的缺乏可导致机体内钙和磷的代谢紊乱。由表 2 可知, 与空白组对比, 模型组血磷和血钙均显著降低 ($P < 0.05$); 相较于模型组, 灌胃不同浓度的植物提取物 A 均可提高大鼠的血钙和血磷含量, 且伴随剂量依赖性。与模型组相比, 高剂量组大鼠血清中的血磷含量显著增加 ($P < 0.05$); 但低、中剂量灌胃组大鼠血磷和模型组相比无显著性差异。高剂量组大鼠的血磷较模型组提高了 14.04%, 与空白组相比无显著性差异, 表明高剂量植物提取物 A 可显著缓解更年期大鼠血磷降低。

表 2 植物提取物 A 对大鼠血磷和血钙含量的影响

Table 2 Effect of plant extracts A on the levels of blood phosphorus and calcium of rats (mmol/L)

组别	血磷	血钙
空白组	3.39 ± 0.17 [#]	3.37 ± 0.08 [#]
模型组	2.85 ± 0.13 [*]	3.10 ± 0.07 [*]
低剂量组	2.95 ± 0.17	3.29 ± 0.10 [#]
中剂量组	3.13 ± 0.16	3.38 ± 0.07 [#]
高剂量组	3.25 ± 0.14 [#]	3.49 ± 0.06 [#]

注: 采用单因素方差分析方法进行统计分析。与空白组相比, $*P < 0.05$, 与模型组对比, $\#P < 0.05$ 。表 3 同。

与模型组相比, 灌胃低、中、高剂量的植物提取物 A 后各组大鼠的血钙升高, 分别升高了 6.13%、

9.03% 和 12.58%, 均有统计学差异 ($P < 0.05$)。且中、高灌胃剂量的植物提取物 A 可以将大鼠的血钙水平回调至与空白组无显著性差异。上述结果显示植物提取物 A 在一定程度上恢复了钙磷代谢稳态, 缓解更年期血磷血钙降低所引起的潜在骨质疏松风险。Li 等^[20]对比大豆异黄酮苷元和雌二醇对去卵巢更年期大鼠血清磷、钙含量的影响, 结果表明大豆异黄酮苷元与雌激素具有相同的作用, 可缓解去卵巢大鼠血清磷、钙含量的下降, 灌胃大豆异黄酮苷元组较模型组分别提高了 8.13%、27.71%。

2.3.3 骨密度和骨钙含量

骨质疏松主要以绝经后妇女和老年人多见, 当进入更年期, 机体内雌激素的紊乱会加速骨量流失而导致骨质疏松的发生, 骨密度如全骨骨密度、骨远端骨密度、骨中端骨密度以及骨钙含量是骨质疏松的直观指标。

由表 3 可知, 模型组更年期大鼠的全骨骨密度、骨远端骨密度、骨中端骨密度以及骨钙含量较空白组均显著降低 ($P < 0.05$), 分别降低了 10.71%、10.34%、7.69%、32.64%, 即更年期会伴随骨质疏松和骨密度降低; 灌胃植物提取物 A 后, 大鼠的全骨骨密度、骨远端骨密度、骨中端骨密度以及骨钙含量均较模型组有显著提高 ($P < 0.05$) 且呈现剂量依赖性, 分别提高了 8.00%、7.69%、8.33%、34.87%。

表 3 植物提取物A对大鼠骨密度和骨钙含量的影响

Table 3 Effect of plant extracts A on the levels of bone mineral density and bone calcium of rats (g/cm²)

组别	全骨骨密度测定	骨远端骨密度测定	骨中段骨密度测定	骨钙含量
空白组	0.28 ± 0.011 [#]	0.29 ± 0.015 [#]	0.26 ± 0.006 [#]	447.4 ± 18.3 [#]
模型组	0.25 ± 0.007 [*]	0.26 ± 0.011 [*]	0.24 ± 0.004 [*]	301.1 ± 20.6 [*]
低剂量组	0.26 ± 0.006 [*]	0.26 ± 0.015	0.25 ± 0.003	361.5 ± 26.7 ^{#*}
中剂量组	0.26 ± 0.011 [*]	0.27 ± 0.014	0.24 ± 0.008	386.5 ± 15.4 ^{#*}
高剂量组	0.27 ± 0.006 [#]	0.28 ± 0.007 [#]	0.26 ± 0.007 [#]	406.1 ± 15.5 ^{#*}

Li 等^[20]使用大豆异黄酮苷元灌胃去卵巢更年期大鼠,连续灌胃 90 d 后,样品组的骨密度较模型组显著提高且具有剂量依赖性。陈方耿等^[21]调研了 210 例围绝经期妇女的骨密度和维生素 K2 水平,维生素 K2 缺乏组妇女的骨密度水平显著低于维生素 K2 正常组, Pearson 相关性分析表明围绝经期妇女维生素 K2 与骨密度呈正相关。

2.3.4 骨代谢调控激素

血清 25 羟维生素 D (Serum 25-hydroxy Vitamin D, 25-OH-V_D) 可通过调节骨密度与骨组织微结构,进而调控骨质疏松的发生^[22]。成纤维细胞生长因子 (Fibroblast Growth Factor 23, FGF23) 是一种主要由骨细胞产生的内分泌激素,可调节机体磷酸盐和维生素 D 水平^[23]。在人体的骨骼发育中,成骨细胞合成和分泌的骨碱性磷酸酶 (Alkaline Phosphatase, ALP) 具有重要作用,ALP 主要作用于骨矿化过程,是骨形成必需的催化剂^[24]。骨钙素 (Osteocalcin, OC) 是成骨细胞分泌的小分子非胶原蛋白,骨基质中含量最丰富的标志物,可直接反映骨形成和骨重建功能^[25]。I 型前胶原 C 端肽 (C-terminal Telopeptide of Type I Procollagen, CTX-I) 为 I 型前胶原降解产物,当 CTX-I 水平升高时, I 型胶原被破坏,继而破坏骨基质^[26]。成骨细胞合成新型 I 型胶原后,成骨细胞外的蛋白酶将 I 型前胶原 N 端肽 (Procollagen I N-terminal Propeptide, PINP) 从 I 型前胶原中裂解而来。血清 PINP 浓度反映骨新骨形成总量,是良好的骨形成指标^[27]。它们可直接反映成骨细胞、破骨细胞的活动,其改变相对于骨密度而言往往表现地更早^[28],国际临床化学联合会骨标志物标准工作组已将血液中的 CTX-I 和 PINP 确定为预测骨折风险和监测骨质疏松症治疗的骨转换的参考标志物^[29]。

由图 6 可知,模型组大鼠的血清 25-OH-V_D 水平较空白组显著降低 ($P < 0.05$),灌胃低、中、高剂量的植物提取物 A 后,各组大鼠的血清 25-OH-V_D

水平呈现剂量依赖型提高,分别提高了 11.73%、44.44%、78.40%,与模型组相比均有显著性增加 ($P < 0.05$)。由图 7 可知,模型组大鼠血清中 FGF23 水平较空白组显著降低 ($P < 0.05$),灌胃低、中、高剂量的植物提取物 A 后,各组大鼠的 FGF23 水平均较模型组显著升高 ($P < 0.05$) 且呈现剂量依赖性,分别提高了 14.21%、39.96%、60.21%。由图 8 可知,模型组大鼠血清 ALP 含量显著低于空白组 ($P < 0.05$),灌胃低、中、高剂量的植物提取物 A 后,大鼠血清中 ALP 含量呈剂量依赖型升高;中、高剂量组较模型组具有显著性差异 ($P < 0.05$),分别提高了 20.00%、40.00%,且高剂量的植物提取物 A 可将更年期大鼠血清中 ALP 含量回调至与空白组无显著差异水平 ($P > 0.05$)。由图 9 可知,模型组大鼠血清 OC 含量显著低于空白组 ($P < 0.05$),灌胃低、中、高剂量的植物提取物 A 后,大鼠血清中 OC 含量呈剂量依赖型升高,分别提高了 15.73%、25.81%、51.61%,且高剂量的植物提取物 A 可将更年期大鼠血清中 OC 含量回调至与空白组无显著差异水平 ($P > 0.05$)。如图 10 所示,模型组的大鼠 CTX-I 含量比空白组显著升高 ($P < 0.05$),而灌胃植物提取物 A 后,CTX-I 含量有明显降低,且呈现剂量依赖性。其中植物提取物 A 中、高剂量组大鼠血清中 CTX-I 含量较模型组显著降低 ($P < 0.05$),分别降低了 22.46%、34.22%。由图 11 可知,模型组的大鼠 PINP 含量较空白组显著降低 ($P < 0.05$),灌胃低、中、高剂量的植物提取物 A 后,大鼠血清中 PINP 含量呈剂量依赖型升高;中、高剂量组较模型组具有显著性差异 ($P < 0.05$),分别提高了 78.57%、128.57%。以上结果表明,植物提取物 A 可通过促进骨形成和抑制骨吸收的双重作用来提高骨密度和改善骨的微结构。

高美等^[30]研究不同剂量大豆甙元对去卵巢大鼠骨矿沉积的影响,结果表明服用大豆甙元可以提高大鼠血清中血清 25 羟维生素 D 和骨钙素的含量。

李小云等^[31]的研究表明,百合的有效成分槲皮素可通过雌激素受体信号通路促进骨髓间充质干细胞成骨分化,改善骨微结构。杨芳芳^[32]的研究表明,口服鼠尾草中的有效成分丹参酮可抑制去卵巢大鼠的骨量流失,提高大鼠血清中骨形成指标骨钙素的含量。程敏等^[33]建立大鼠骨质疏松模型,使用墨旱莲连续灌胃,结果表明墨旱莲可以提高骨转化指标如血清中碱性磷酸酶和骨钙素含量,且可提高骨密度。

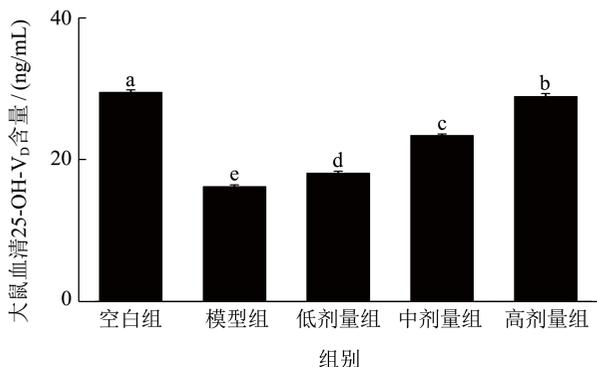


图6 植物提取物A对大鼠血清25羟维生素D含量的影响
Fig.6 Effect of plant extracts A on the level of serum 25-hydroxy vitamin D of rats

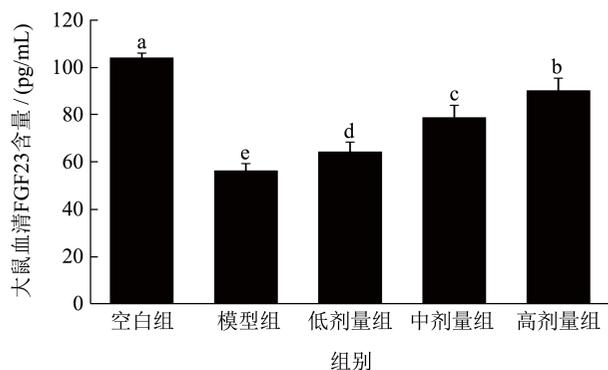


图7 植物提取物A对大鼠血清成纤维生长因子含量的影响
Fig.7 Effect of plant extracts A on the level of serum fibroblast growth factor 23 of rats

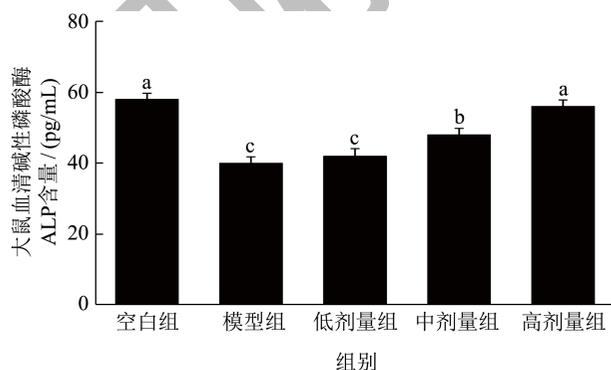


图8 植物提取物A对大鼠血清碱性磷酸酶含量的影响
Fig.8 Effect of plant extracts A on the level of serum alkaline phosphatase of rats

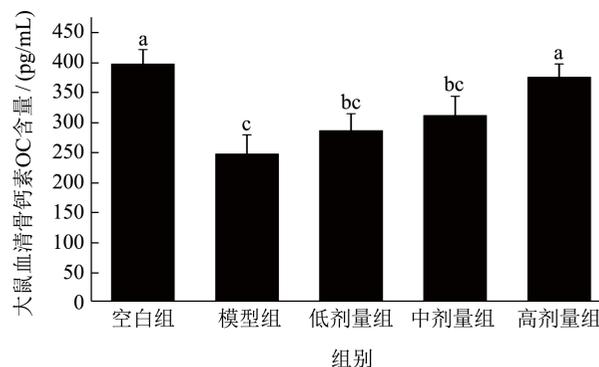


图9 植物提取物A对大鼠血清骨钙素含量的影响
Fig.9 Effect of plant extracts A on the level of serum osteocalcin of rats

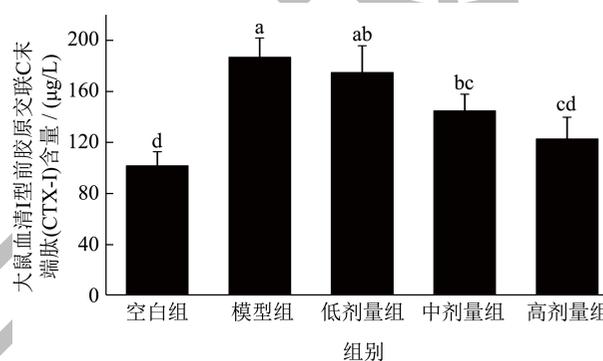


图10 植物提取物A对大鼠血清I型前胶原交联C末端肽含量的影响
Fig.10 Effect of plant extracts A on the level of serum C-terminal telopeptide of type I procollagen of rats

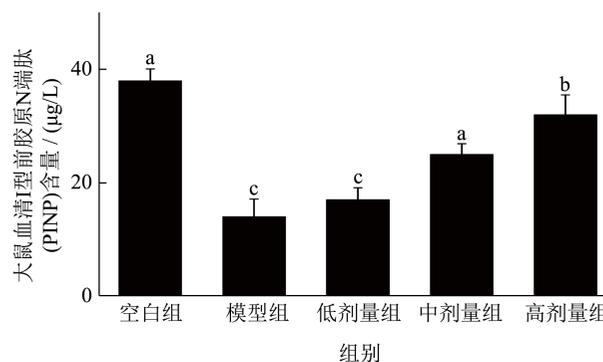


图11 植物提取物A对大鼠血清I型前胶原N端肽含量的影响
Fig.11 Effect of plant extracts A on the level of serum procollagen I N-terminal propeptide of rats

3 结论

本文旨在探讨植物提取物A在缓解更年期综合征,尤其是更年期导致的骨质疏松方面的改善作用。研究结果表明,植物提取物A可改善更年期引起的子宫内膜及子宫腺上皮细胞坏死和炎性细胞浸润症

状；还可调节更年期大鼠性激素分泌，提高血清中雌二醇、抗苗勒氏管激素含量，降低血清促卵泡激素，维持性激素稳态。并且植物提取物 A 可显著改善更年期引起的骨质疏松、骨结缔组织增生和炎症细胞浸润症状；调节机体血钙、血磷代谢，有助于维持更年期大鼠的钙磷代谢稳态；减轻更年期大鼠骨钙降低情况，提高全骨骨密度、骨远端骨密度、骨中段骨密度，维护骨骼健康；提高更年期大鼠血清 25 羟维生素 D 水平，升高成纤维生长因子水平调节机体代谢，提高碱性磷酸酶、骨钙素含量，降低 I 型前胶原交联 C 末端肽含量，提高 I 型前胶原 N 末端肽含量，通过促进骨形成、减缓骨吸收有效缓解更年期大鼠的骨质疏松。

综上，植物提取物 A 可以通过改善子宫形态、调节相关性激素分泌、改善骨质疏松以起到改善更年期综合征的效果，此结论为植物提取物 A 在功能食品上的应用提供数据支持。

参考文献

- [1] 张永忠. 玛咖对更年期综合征及骨质疏松的实验研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- [2] 刘奕辰, 陈伊凡, 胡福良. 蜂王浆治疗更年期综合征及其相关机制的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(3): 538-544.
- [3] VASUMATHY SIVARAJASINGAM, GP Partner. Breaking the silence around the menopause [J]. Br J Gen Pract, 2022, 72(717): 170.
- [4] YU J, CAO G, YUAN S, et al. Probiotic supplements and bone health in postmenopausal women: a meta-analysis of randomised controlled trials [J]. BMJ Open, 2021, 11(3): e41393.
- [5] 龚凌霄, 迟海林, 曹文燕, 等. 黄酮类物质预防骨质疏松症的研究进展[J]. 现代食品科技, 2017, 33(7): 328-335.
- [6] 刘华, 钟业俊, 吴丹. 夏枯草黄酮对去卵巢大鼠骨质疏松的抑制作用[J]. 现代食品科技, 2014, 30(8): 6-11.
- [7] PINKERTON J V, CONNER E A, KAUNITZ A M. Management of menopause and the role for hormone therapy [J]. Clin Obstet Gynecol, 2019, 62(4): 677-686.
- [8] TEMPFER C B, HILAL Z, KERN P, et al. Menopausal hormone therapy and risk of endometrial cancer: A systematic review [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(8): 2195.
- [9] KAPOOR E, KLING J M, LOBO A S, et al. Menopausal hormone therapy in women with medical conditions [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2021, 35(6): 101578.
- [10] 田利军. 阿托伐他汀/雌激素疗法对大鼠卵巢去势骨质疏松模型治疗作用的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [11] 侯娜, 孙晓娟. 枸杞提取物对骨质疏松症大鼠的改善作用[J]. 现代食品科技, 2019, 35(11): 37-44.
- [12] SINGH V, SINGH A, QUADRI S S Y H, et al. Pharmacological properties of durva swaras (*Cynodon dactylon* L. Pers.) in an ovariectomised rat model mimicking chronic menopausal syndrome [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 142: 111976.
- [13] SEVEN A, YUKSEL B, KABIL K S, et al. The evaluation of hormonal and psychological parameters that affect bone mineral density in postmenopausal women [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(1): 20-25.
- [14] ZHU D, LI X, MACRAE V E, et al. Extragonadal effects of follicle-stimulating hormone on osteoporosis and cardiovascular disease in women during menopausal transition [J]. Trends Endocrinol Metab, 2018, 29(8): 571-580.
- [15] YAN Y, CHEN W, WANG J, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels are associated with low bone mineral density in premenopausal women [J]. Biomarkers, 2020, 25(8): 693-700.
- [16] 黎桂玉, 段雪琳, 林基勇, 等. 大豆异黄酮对围绝经期综合征动物模型性激素水平及病理变化的影响[J]. 广西中医药大学学报, 2016, 19(3): 4-8.
- [17] 李赛君. 百合地黄汤合加味逍遥散治疗更年期综合征临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(20): 88-90.
- [18] 陈马兰, 唐胤泉, 姜耘宙, 等. 女贞子和墨旱莲对更年期大鼠内分泌系统和脂代谢的影响[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(10): 2366-2368.
- [19] 佐兆杭, 王颖, 刘淑婷, 等. 复合酶法提取大豆膳食纤维的结构分析及其对卵巢衰老的影响[C]//中国食品科学技术学会第十七届年会摘要集. 陕西西安, 2020: 181-182.
- [20] LI L, YANG Y, MA C, et al. Effects of soybean isoflavone aglycone on osteoporosis in ovariectomized rats [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1122045.
- [21] 陈方耿, 莫志平, 李美玲, 等. 围绝经期妇女维生素 D、维生素 K2 水平与骨质疏松的关系[J]. 吉林医学, 2023, 44(2): 287-290.
- [22] YANG R, ZHANG J, LI J, et al. Inhibition of Nrf2 degradation alleviates age-related osteoporosis induced by 1,25-Dihydroxyvitamin D deficiency [J]. Free Radic Biol Med, 2022, 178: 246-261.
- [23] BILHA S C, BILHA A, UNGUREANU M C, et al. FGF23 beyond the kidney: a new bone mass regulator in the general population [J]. Horm Metab Res, 2020, 52(5): 298-304.
- [24] ZHOU S, HUANG G, CHEN G. Synthesis and biological

- activities of drugs for the treatment of osteoporosis [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 197: 112313.
- [25] LIU Z, CHEN R, JIANG Y, et al. A meta-analysis of serum osteocalcin level in postmenopausal osteoporotic women compared to controls [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2019, 20(1): 532.
- [26] 姚华龙,李政,马雪峰,等.甲状旁腺激素、25羟基维生素D、血清 β -胶原降解产物在骨质疏松症筛查中的应用[J].*检验医学与临床*, 2022,19(3):393-395.
- [27] KREGE J H, LANE N E, HARRIS J M, et al. PINP as a biological response marker during teriparatide treatment for osteoporosis [J]. *Osteoporos Int*, 2014, 25(9): 2159-2171.
- [28] 张炳坤,张喜善.骨代谢标志物在骨质疏松症诊治中的应用[J].*中国矫形外科杂志*,2022,30(16):1483-1486.
- [29] SZULC P, NAYLOR K, Pickering M E, et al. Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National bone health alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability [J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2018, 76(4): 373-391.
- [30] 高美,金邦荃,张祎,等.大豆甙元对去卵巢大鼠雌二醇、维生素D和骨矿沉积的影响[J].*中国老年学杂志*,2009, 29(12):1480-1482.
- [31] 李小云,杨丽,张荣华.雌激素受体信号通路介导的槲皮素调控骨髓间充质干细胞成骨及成脂分化研究[J].*中华中医药杂志*,2020,35(12):6011-6014.
- [32] 杨芳芳.丹参酮II A抗骨质疏松活性及其提取分离工艺研究[D].兰州:甘肃中医药大学,2018.
- [33] 程敏,刘雪英,邓雅婷,等.墨旱莲对维甲酸所致大鼠骨质疏松症的药效学研究[J].*中国骨质疏松杂志*,2016,22(10): 1318-1323.