葡萄糖酸钙锌口服溶液对去卵巢大鼠骨质疏松症的改善作用

段娟慧，王 勇
（华润三九医药股份有限公司，广东深圳 518110）

摘要：目的 探讨葡萄糖酸钙锌口服溶液对去卵巢致骨质疏松大鼠的治疗作用。**方法** 将72只SD大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性对照组以及锌钙特低、中、高剂量（3、6、12 ml/kg）组，每组12只。除假手术组外，其余各组大鼠去除卵巢建立骨质疏松模型。阳性对照组给予雌二醇0.1 mg/kg，假手术组和模型对照组灌胃等体积纯化水，治疗99 d。每3 d观察大鼠体质量；治疗后，采用micro-CT分析股骨骨密度（bone mineral density，BMD）、骨体积分数（bone volume relative to tissue volume，BV/TV）、骨表面积组织体积比（bone surface relative to tissue volume，BS/TV）；酶联免疫吸附试验检测钙、锌和骨代谢指标。**结果** 与模型组比较，锌钙特组显著抑制大鼠体质量增长，锌水平升高，股骨骨丢失改善，骨小梁数量和连接、BMD增加，BV/TV、BS/TV升高，骨钙素、Ⅰ型前胶原羧基末端前肽水平下降。**结论** 锌钙特可改善去卵巢大鼠骨小梁微结构破坏，增加骨密度，减缓去卵巢大鼠骨质疏松进展，对去卵巢骨质疏松症大鼠具有良好疗效。

关键词：葡萄糖酸钙锌口服溶液；骨质疏松症；去卵巢模型
中图分类号：R-33 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2025)01-0038-006
引用：段娟慧, 王勇. 葡萄糖酸钙锌口服溶液对去卵巢大鼠骨质疏松症的改善作用[J]. 2025, 46(1): 38-43. DOI：10.13683/j.wph.2025.01.007

Effect of calcium and zinc gluconate oral solution on osteoporosis in ovariectomized rats

DUAN Juanhui, WANG Yong
（*China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co.,Ltd, Shenzhen 518110, Guangdong Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To investigate the therapeutic effect of calcium and zinc gluconate oral solution on osteoporosis in ovariectomized rats. ***Methods*** 72 SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, positive control group and low, medium and high doses of Xingaite groups(3, 6, 12 ml/kg), with 12 rats in each group. Except for the sham operation group, the ovaries were removed to establish the osteoporosis model. The positive control group was given estradiol 0.1 mg/kg, and the sham operation group and the model control group were given the same volume of purified water by gavage for 99 days. The body mass of the rats was observed every 3 days. After treatment, bone mineral density(BMD), bone volume relative to tissue volume(BV/TV) and bone surface relative to tissue volume(BS/TV) were analyzed by micro-CT. Calcium, zinc and bone metabolism were detected by enzyme linked immunosorbent assay. ***Results*** Compared with the model group, the zinc-calcium group significantly inhibited the growth of body mass, increased the level of zinc, improved the bone loss of femur, increased trabecular number and connection and BMD, increased BV/TV and BS/TV, and decreased the levels of osteocalcin and procollagen type Ⅰ carboxy-terminal peptide. ***Conclusion*** Xingaite can improve the microstructure of bone trabecular in ovariectomized rats, increase bone density, slow down the osteoporosis process in ovariectomized rats, and has a good effect on ovariectomized rats with osteoporosis.

Key words: calcium and zinc gluconate oral solution; osteoporosis; ovariectomized model

收稿日期：2024-05-24
作者简介：段娟慧，药师，研究方向：药理学。

骨质疏松症是以骨量减少、骨组织微结构损坏，导致骨脆性增加、易发生骨折为特征的全身性骨病[1—2]。随着社会高龄化及人类寿命延长，骨质疏松症发病率近年来呈上升趋势[3—4]，尤其是绝经后女性发病率高。葡萄糖酸钙锌口服溶液（锌钙特），主要成分是葡萄糖酸钙、葡萄糖酸锌、赖氨酸，主要用于治疗因缺钙、锌引起的疾病，包括骨质疏松症等。钙是维护骨骼健康的重要营养素，钙剂在骨质疏松治疗中一直作为基础药物。锌是促进人体发育不可缺少的重要元素，可增强成骨细胞的增殖能力和骨钙化能力。赖氨酸促进食欲消化，增加钙及各种营养的摄取，参与骨胶原的合成。三者协同促进骨骼生长发育。本研究旨在明确锌钙特对骨质疏松症的治疗作用，为其临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 12 周龄雌性 SD 大鼠 72 只，体质量 223.7 ～ 253.7 g；购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，动物生产许可证：SCXK（湘）2019-0004，动物使用许可证号：SYXK（粤）2020-0231；动物质量合格证号：430727220101179335。动物适应性饲养 1 周，自由进食饮水。饲养环境：温度为 22.4 ～ 25.7 ℃，相对湿度为 50.52% ～ 83.77%，12 h 明暗交替。

1.2 试验材料

葡萄糖酸钙锌口服溶液（锌钙特，10 ml，A2106017）购于澳诺（中国）制药有限公司。补佳乐（戊酸雌二醇，645A）购于拜尔医药保健有限公司广州分公司。

L3-5K 离心机购自湖南可成；Synergy HTX 酶标仪购自 BioTek；YD-315 石蜡切片机、YD-6LA 全自动生物组织包埋机购自金华益迪；TP1020 组织脱水机购自 Leica；R500IP 通用型小动物麻醉机购自瑞沃德。

大鼠骨钙素（bone Gla protein，BGP）试剂盒（L77DBJVSPK），大鼠Ⅰ型前胶原羧基末端前肽（procollagen type Ⅰ carboxy-terminal peptide，PICP）酶联免疫吸附试验试剂盒（E12776r）均购自 elabscience 公司；锌检测试剂盒（GR3422304-3、GR3426103-4）购自 abcam 公司；钙检测试剂盒（H220501）购自重庆中元生物技术有限公司。

1.3 方法

所有大鼠随机分成 6 组，即假手术组、模型对照组、阳性对照组以及锌钙特低、中、高剂量组，每组 12 只。除假手术组外，其余各组大鼠吸入异氟烷麻醉，手术从腹部切除双侧卵巢复制骨质疏松症大鼠模型，假手术组进行相同手术操作而不摘除卵巢。术后除假手术组继续予以正常饲料外，其余组均更换无植物雌激素饲料喂养。

次日各组分别灌胃给予相应药物，给药剂量参照人与动物按体表面积折算。锌钙特低、中、高剂量组分别灌胃给予锌钙特 3、6 及 12 ml/kg（相当临床等效剂量的 1、2、4 倍），阳性对照组给予雌二醇 0.1 mg/kg（相当临床等效剂量），给药体积 12 ml/kg，假手术组和模型对照组灌胃等体积纯化水，共给药 99 d。D77 每组随机 3 只进行骨密度检测，与假手术组比较，模型对照组大鼠股骨骨密度（bone mineral density，BMD）显著降低，则造模成功。

1.4 一般状况与体质量

每天观察大鼠毛色、饮食及活动情况等一般状况，每 3 d 进行体质量检测。

1.5 BMD 及 micro-CT 骨组织检测

D99 将剩余大鼠安乐死，中性甲醇固定大鼠右腿股骨远端，自来水洗涤后储存在 75% 乙醇中，采用 CT 影像对各组大鼠股骨进行 BMD、体积分数（bone volume relative to tissue volume，BV/TV）、骨表面积组织体积比（bone surface relative to tissue volume，BS/TV）比较。

1.6 血清钙、锌、BGP、PICP 检测

末次给药 24 h 后，腹主动脉取血 2 ml，4 ℃条

件下 2 000 *g* 离心 10 min，按试剂盒说明书要求完成相关指标检测。用偶氮胂Ⅲ法测定血清钙水平，比色法测定血清锌水平，酶联免疫吸附法测定血清 BGP 和 PICP 水平。

1.7 统计学方法

采用 SPSS24.0 进行统计分析。结果采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示。用 Levene's 检验方差齐性，若统计学无意义（$P>0.05$），则用单因素方差分析，用 LSD 法进行比较分析；若方差不齐（$P<0.05$），则用 Welch's *t* 检验；若 Welch's *t* 检验有统计学意义（$P<0.05$），则用 Mann-Whitney 法进行组间的两两比较。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

所有大鼠均未出现与给药相关异常症状。如图 1 所示，给药末期各组大鼠体质量比较有统计学差异（$F=3.379$，$P=0.011$）。与假手术组比较，D9 ～ D99 模型对照组大鼠体质量显著升高（$P<0.01$）；与模型对照组相比，D12 ～ D43 阳性对照组大鼠体质量显著降低（$P<0.05$），D58 ～ D61、D67 ～ D99 锌钙特高剂量组体质量显著降低（$P<0.05$）。

2.2 血清钙和锌水平

与假手术组比较，模型对照组大鼠血清锌水平显著降低（$P<0.05$）；锌钙特高剂量组大鼠血清锌水平显著升高（$P<0.05$），锌钙特低、中剂量组大鼠血清锌水平呈升高趋势。见表 1。

2.3 BMD、BV/TV、BS/TV

与假手术组相比，模型对照组大鼠股骨 BMD、BV/TV、BS/TV 显著降低（$P<0.001$）。与模型对照组相比，阳性对照组大鼠股骨 BMD 升高（$P<0.01$），锌钙特低、中、高剂量组大鼠股骨 BMD 显著升高（$P<0.05$，$P<0.001$），且呈剂量依赖性。阳性对照组、锌钙特高剂量组大鼠股骨 BV/TV、BS/TV 显著升高（$P<0.05$，$P<0.01$），见表 2。

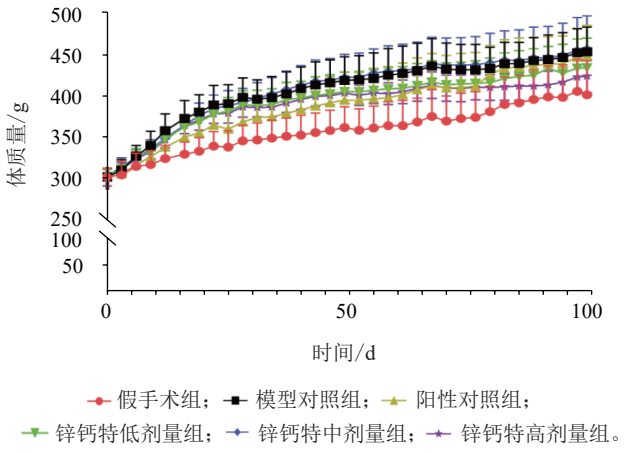


图 1 各组大鼠体质量比较 $(\bar{x}\pm s)$

Figure 1 Comparison of body mass in each group $(\bar{x}\pm s)$

表 1 各组大鼠血清钙和锌水平比较 $(\bar{x}\pm s,\ n=9)$

Table 1 Comparison of serum calcium and zinc levels in each group $(\bar{x}\pm s, n=9)$

组别	血清钙/mmol·L^{-1}	血清锌/μmol·L^{-1}
假手术组	2.64±0.06	19.86±2.07
模型对照组	2.58±0.05	15.74±2.25*
阳性对照组	2.56±0.07	17.85±2.33
锌钙特低剂量组	2.63±0.011	16.41±2.18
锌钙特中剂量组	2.73±0.26	18.06±1.26
锌钙特高剂量组	2.58±0.09	20.35±1.62##
*F*值	2.118	5.064
*P*值	0.079	0.002

注：与假手术组比较，*$P<0.05$；与模型组比较，##$P<0.01$。

Note: *vs* sham group, *$P<0.05$; *vs* model group, ##$P<0.01$.

假手术组大鼠骨小梁数量较多，结构紧凑，网状结构完整；模型组大鼠骨小梁数量明显减少，孔隙率增加，网状结构破坏严重，骨缺失明显。与模型组比较，各给药组骨小梁数量和连接明显增多，网状结构破坏和骨丢失程度得到改善，尤以锌钙特高剂量组改善作用最为显著，见图 2。

2.4 血清 PICP、BGP 水平

与假手术组比较，模型对照组大鼠的血清 PICP、BGP 显著升高（$P<0.05$）。与模型对照组相比，阳性对照组大鼠的血清 PICP、BGP 降低

表 2 各组大鼠 BMD、BV/TV、BS/TV 比较
($\bar{x}\pm s$，$n=9$)

Table 2 BMD, BV/TV and BS/TV were compared in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	BMD/g·cm^{-3}	BV/TV/%	BS/TV/1·mm^{-1}
假手术组	2.36±0.20	25.21±3.02	0.092±0.013
模型对照组	1.55±0.10***	14.22±3.43***	0.050±0.010***
阳性对照组	1.77±0.10$^{\#\#}$	18.10±4.05$^{\#}$	0.064±0.017$^{\#}$
锌钙特低剂量组	1.68±0.07$^{\#}$	14.59±3.78	0.053±0.015
锌钙特中剂量组	1.80±0.10$^{\#\#\#}$	15.35±3.73	0.052±0.011
锌钙特高剂量组	1.86±0.14$^{\#\#\#}$	20.52±3.28$^{\#\#}$	0.072±0.011$^{\#\#}$
F值	42.596	12.692	13.850
P值	＜0.01	＜0.01	＜0.01

注：与假手术组比较，***P＜0.001；与模型组比较，$^{\#}P$＜0.05，$^{\#\#}P$＜0.01，$^{\#\#\#}P$＜0.001。

Note:*vs* sham group, ***P＜0.001; *vs* model group, $^{\#}P$＜0.05, $^{\#\#}P$＜0.01, $^{\#\#\#}P$＜0.001.

表 3 各组大鼠血清 BGP 和 PICP 水平比较
($\bar{x}\pm s$，$n=9$)

Table 3 Comparison of serum BGP and PICP levels in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	BGP/ng·ml^{-1}	PICP/ng·ml^{-1}
假手术组	4.63±1.75	7.44±2.77
模型对照组	6.93±1.79*	11.09±2.83*
阳性对照组	4.22±2.5$^{\#}$	6.79±3.97$^{\#}$
锌钙特低剂量组	7.47±4.15	11.93±6.59
锌钙特中剂量组	6.83±3.71	10.93±5.87
锌钙特高剂量组	6.29±3.41	10.07±5.41
F值	2.406	2.407
P值	0.049	0.049

注：与假手术组比较，*P＜0.05；与模型组比较，$^{\#}P$＜0.05。

Note: *vs* sham group, *P＜0.05; *vs* model group, $^{\#}P$＜0.05.

(P ＜ 0.05)，锌钙特中、高剂量组下调大鼠的血清 PICP、BGP 水平，见表 3。

3 讨论

女性绝经后因体内雌激素水平降低，破骨细胞活跃增强，骨结构的动态平衡被破坏，从而使骨量迅速丢失造成骨质疏松。雌性动物去势造模是绝经后骨质疏松症经典病理动物模型[5—6]。本研究采用大鼠双侧卵巢摘除联合无植物雌激素饲料喂养造模。与假手术组相比，模型对照组大鼠体质量升高，股骨 BMD、BS/TV、BV/TV 降低，骨小梁数量明

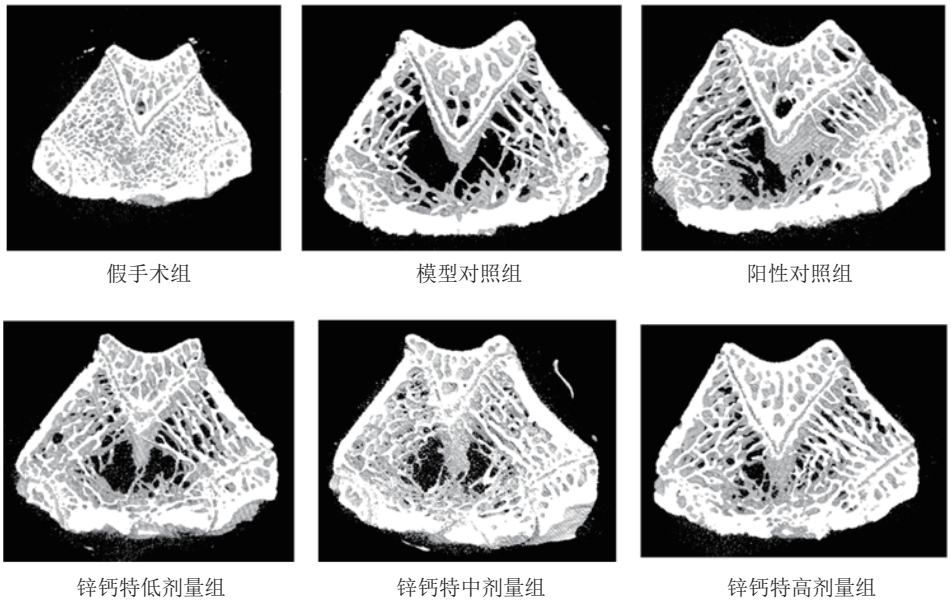


图 2 各组大鼠股骨远端 CT 影像比较

Figure 2 Comparison of CT images of distal femur in each group

显减少，网状结构破坏严重，血清 PICP、BGP 升高，表明绝经后骨质疏松模型制备成功。

钙是骨矿物质中最基本的元素，在骨代谢中有重要的作用。锌是多种酶的活性因子，也可增强成骨细胞的增殖能力和骨钙化能力。当机体长期处于缺钙水平时，为保证机体正常生理功能，骨代谢大于骨合成，骨钙溶出转化为血钙。锌钙特作为锌钙补充剂，长期给药可提高血锌水平，促进成骨细胞增殖和骨钙化，但血钙水平波动无显著差异，一方面可能是外源钙补充降低骨代谢水平，减缓骨钙向血钙转化速率；另一方面钙参与许多重要生理过程，如凝血、神经传递和肌肉收缩等，血钙受到机体严格的调控维持在较窄的范围内[7]。骨密度是评价骨质疏松的重要指标[8]，相比血钙更能代表机体钙状态[7]。骨小梁的微观结构常被认为是预测骨量丢失和结构破坏的理想指标[9—10]。骨小梁 BV/TV、BS/TV 反应骨量值，当骨量增多说明骨合成大于骨代谢。本结果表明，锌钙特低、中、高剂量组呈剂量依赖性显著升高去卵巢大鼠骨密度，高剂量组骨小梁 BV/TV、BS/TV 显著升高，骨小梁数量和连接增加，改善网状结构破坏和骨丢失程度，提示锌钙特可明显改善骨小梁微结构破坏，增加骨小梁骨量，促进骨形成，减缓去卵巢大鼠骨质疏松进展。

骨转换生化标记物已广泛用于评估骨重塑的代谢活性[11—13]。骨转换标志物反映全身骨吸收和骨形成的速度，是骨骼整体骨质流失的代表性指标[14—15]。BGP 是一种在成骨细胞分泌和合成的多肽，具有抑制异常的磷灰石晶体形成，维持骨矿化速率的作用。PICP 是骨组织中在成骨细胞合成的特有胶原，I 型胶原合成时与所形成的血清 PICP 水平呈正相关[16]。BGP 和 PICP 均是反映骨形成的一种特异性指标，为骨转换标志物。自然或人工绝经后雌激素缺乏会导致骨重塑和骨转换标志物水平的增加[17]。本研究中去卵巢大鼠血清 BGP 和 PICP 水平较假手术组明显升高，表明骨质疏松大鼠的骨转换加快。经长期给药后，锌钙特中、高剂量组大鼠的血清 PICP、BGP 均不同程度降低，提示锌钙特呈剂量依赖性调节骨代谢平衡，降低大鼠骨代谢的高转换水平，促进大鼠骨组织结构和功能的恢复。

4 结论

综上所述，葡萄糖酸钙锌口服溶液可显著改善去卵巢大鼠骨小梁微结构破坏，调节骨代谢平衡，增加骨密度，促进骨形成，减缓去卵巢大鼠骨质疏松进程，对去卵巢骨质疏松症大鼠具有良好的改善作用。

参考文献：

[1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2022, 15(6): 573-611.

[2] BIJLSMA AY, MESKERS CG, WESTENDORP RG, *et al*. Chronology of age-related disease definitions: osteoporosis and sarcopenia[J]. Ageing Res Rev, 2012, 11(2): 320-324.

[3] 于龙, 王亮. 老年骨质疏松症现状及进展[J]. 中国临床保健杂志, 2022, 25(1): 6-11.

[4] 朱秋漪, 缪玉婵. 绝经后骨质疏松症患者补钙认知情况调查及影响因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(17): 3309-3312.

[5] FORST HM, JEE WS. On the rat model of human osteopenias and osteoporosis[J]. Bone Miner, 1992, 18: 227-236.

[6] 郭鱼波, 马如风, 王丽丽, 等. 骨质疏松动物模型及其评价方法的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(9): 1149-1154.

[7] MORGAN SL. Calcium and vitamin D in osteoporosis[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2001, 27(1): 101-130.

[8] VÄÄNÄNEN SP, ISAKSSON H, JULKUNEN P, *et al*. Assessment of the 3-D shape and mechanics of the proximal femur using a shape template and a bone mineral density image[J]. Biomech Model Mechanobiol, 2011, 10(4): 529-538.

[9] 王宏伟, 卜晓洁, 战祥芹, 等. Vaspin对去卵巢大鼠骨质疏松的保护作用及机制研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(9): 1285-1291.

[10] OEFNER C, RIEMER E, FUNKE K, *et al*. Determination of anisotropic elastic parameters from morphological parameters

of cancellous bone for osteoporotic lumbar spine[J]. Med Biol Eng Comput, 2022, 60(1): 263-278.

[11] SINGER FR, EYRE DR. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice[J]. Cleve Clin J Med, 2008, 75(10): 739-750.

[12] HAN JF, WANG W. Effects of tanshinol on markers of bone turnover in ovariectomized rats and osteoblast cultures[J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181175.

[13] LEE MR, KIM B, LEE Y, *et al*. Ameliorative effects of pueraria lobata extract on postmenopausal symptoms through promoting estrogenic activity and bone markers in ovariectomized rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 6: 7924400.

[14] CHAKI O, YOSHIKATA I, KIKUCHI R, *et al*. The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in postmenopausal Japanese women[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(8): 1537-1544.

[15] DAI L, WU H, YU S, *et al*. Effects of OsteoKing on osteoporotic rabbits[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 1066-1074.

[16] 张鑫. 卷柏及地黄提取物对去卵巢大鼠骨质疏松干预作用的实验研究[D]. 郑州: 河南中医学院, 2014.

[17] DELMAS PD, EASTELL R, GARNERO P, *et al*. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation[J]. Osteoporos Int, 2000, 11: S2-S17.

（编辑：沈佳婕）

