

塞隆骨对骨缺失大鼠的作用研究

海平(青海省心血管病专科医院,西宁 810012)

摘要:目的 通过塞隆骨对大鼠骨缺损修复速度和骨质疏松症治疗作用的研究,探讨塞隆骨对骨缺失大鼠的强筋健骨作用。
方法 人为造成大鼠股骨缺损,观察塞隆骨对创口外观、新生骨厚度、荧光强度及显微改变的影响;另给大鼠饲喂低钙饲料,饮用去离子水,注射地塞米松引起骨质疏松症,观察塞隆骨对骨密度、骨灰分和骨钙含量的影响。**结果** 塞隆骨组骨缺损区域损伤明显好转,新生骨较厚,骨质细胞分化明显,成熟,骨小梁一致,其骨损伤修复作用明显好于对照组;另外塞隆骨可明显增加骨质疏松大鼠骨密度,尤其对髌骨密度、腰椎密度增加更明显,同时可明显增加骨灰分和骨钙含量。**结论** 塞隆骨有明显促进骨损伤大鼠的骨折愈合修复作用和治疗骨质疏松模型大鼠的骨质疏松症状的作用。

关键词:塞隆骨;骨缺失;骨损伤

The Action Of Sailong Bone In Bony Deficiency Rats

HAI Ping(Qinghai Province Cardiovascular Vocational Hospital, Xining 810012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE In order to probe into the action of Sailong bone's strengthening the muscles and bones in bony deficiency rats, the restoration speed in bony deficiency rats and the therapeutic action in osteoporotic rats were studied. **METHOD** The femur coloboma was man-made so as to observe the Sailong bone's influence on wound's outward appearance, neogenesis bone's thickness, fluorescence intensity and micro modification in rat. Besides, the models of osteoporosis in rats were caused by feeding hypocalcemia feed, drinking deionized water and injecting dexamethasone, then the effect of Sailong bone on the bone density, bone ash and bone calcium content were observed in these rats. **RESULTS** the bone injury area taken a favourable turn, the neogenesis bone grew thicker, the sclerous cell differentiation was clear and mature, the bone trabecula was consistency, all these showed that Sailong bone had better effect obviously on the action of bone injury restoration in comparison with the control group. In addition to, Sailong bone could obviously increase the bone density in osteoporosis rats, special for ilium, lumbar vertebrae. The content of bone calcium and bone ash were also increased. **CONCLUSION** Sailong bone had the actions to promote the union in bony injury rats and to treat the osteoporosis in osteoporotic rats.

KEY WORDS: Sailong bone; bone deficiency; bone injury

高原鼯鼠大量分布于青藏高原,是严重影响草原生态环境的害鼠。其风干全骨——塞隆骨性微温、味辛咸,入肝肾经,具有驱风除湿、散寒、舒筋活络、强筋健骨等功能。且其性味、功能、中药归经、主治等与虎骨(已禁用)相似,现已成为国家一类动物新药材。据报道^[1-4],塞隆骨可有效治疗类风湿性关节炎,其无机成分和脂肪油化学成分与虎骨十分接近。我们研究发现^[5-8],塞隆骨对大鼠蛋清性关节炎有预防作用,对甲醛性关节炎有治疗作用,对佐剂性关节炎、皮肤毛细血管瘤渗透性、胸膜炎白细胞游走均具有明显的抑制作用,且同剂量塞隆骨和虎骨作用强度无显著性差异;塞隆骨具有镇痛作用,但不是通过中枢产生的;塞隆骨对小鼠细胞和体液免疫功能无明显影响,而对非特异性免疫功能有抑制作用;还具有抗寒冷作用。本文就塞隆骨促进骨损伤大鼠骨质生长和治疗骨质疏松症进行了药效学研究。

1 实验材料

1.1 药品与试剂

高原鼯鼠捕于青海省海北州,由中国科学院西北高原生物所张宝琛研究员、张晓峰研究员鉴定。塞隆骨水煎煮提取液系中国科学院西北高原生物研究所植化室提供。先分离全骨,阴干,粉碎,混合取样,去离子水煎煮提取,减压浓缩,冰箱保存备用;虎骨购于青海省西宁市动物园,为16岁东北虎,因胃病死亡,处理方法同塞隆骨;尕痹冲剂由辽宁本溪第三制药厂生产,批号为940807-1;复方钙剂由多种钙片和维生素D3组成,每100mL中含活性钙500mg,维生素D31.5万单位。

1.2 饲料

低钙饲料由课题组监制,经青海省卫生防疫站测定含钙量为0.014%;普通饲料在低钙饲料中添加3%骨粉,经测定含钙量为0.82%。

1.3 仪器

H-800电子显微镜、AA-646原子吸收分光光度计和UV-260紫外分光光度计系日本岛津产品;SD1000骨矿物质含量分析仪系北京麦孚新技术开发公司产品。

1.4 实验动物

Wistar大白鼠由兰州医学院动物房提供。

2 实验方法

表2 塞隆骨对骨缺损大鼠骨愈合修复作用的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	外观检查				荧光观察			
			1级	2级	3级	R	1级	2级	3级	R
NS	11	-	8	3	0	0.242	8	3	0	0.242
塞隆骨	11	5	3	6	2	0.479 ¹⁾	3	6	2	0.479 ¹⁾
塞隆骨	10	10	1	4	5	0.658 ²⁾	1	4	5	0.658 ²⁾
虎骨	11	5	2	7	2	0.513 ¹⁾	2	7	2	0.513 ¹⁾
虎骨	11	10	1	6	4	0.612 ²⁾	1	6	4	0.612 ²⁾
尕痹冲剂	10	10	3	4	3	0.511 ¹⁾	3	4	3	0.511 ¹⁾

注:R为Ridit分析各组的平均Ridit值,¹⁾、²⁾分别表示与NS组相比 $P<0.05$ 、 $P<0.01$

按表1标准判断,表明塞隆骨ig给药5、10g/kg,无论外观还是荧光观察,大鼠骨损伤的恢复程度均明显好于NS组

表1 股骨损伤分级标准

组别	1级	2级	3级
外观检查	创口未愈合或愈合很浅,凹凸不平。	创口愈合较好,表面较平整,尚未与厚骨平齐,新生骨软、脆。	创口愈合较完全,基本与厚骨平齐,表面光滑平整,新生骨较硬。
横断面荧光	新生骨很薄、软,荧光极弱。	新生骨较厚,荧光明显。	新生骨较厚,坚硬,荧光很强。
病理电镜	新生骨很薄,骨小梁窄,不齐,缺乏钙盐沉着。	新生骨较厚,骨小梁较宽,不平齐,缺乏钙盐沉着,骨质分化不明显。	新生骨较厚,骨小梁宽窄一致,平齐,骨质分化明显。

2.1 塞隆骨对骨损伤大鼠的骨愈合修复作用

健康大鼠,体重 180 ± 20 g,雌雄兼用,戊巴比妥钠麻醉,分离出右侧股骨。在股骨颈下端中部用骨钳造成宽3mm,深2mm的骨缺损,手术后d2随机分为6组,分笼饲养,每天ig给药1次,共14d,对照组给同体积生理盐水。于末次给药后1h,im四环素50mg/kg,18h后断头处死动物,进行创口外观检查,记录创口愈合程度及新生骨的软硬度;在紫外灯下观察创面横断面新生骨的厚度及荧光程度;取股骨分别制作光镜和电镜片,以观察纤维组织增生,骨小梁形成,新生骨钙盐沉着及骨质细胞分化程度。判断标准见表1。

2.2 塞隆骨对骨质疏松模型大鼠的治疗作用^[9]

健康雄性大鼠,体重 193 ± 18 g,分成正常喂养鼠(对照组)8只,饲喂普通饲料,饮用自来水,im生理盐水,骨质疏松模型鼠50只,饲喂低钙饲料,饮用去离子水,im地塞米松的生理盐水溶液1mg/kg,每周2次,共6.5w。随后将模型鼠分为5组,有模型组,复方钙剂组,塞隆骨2g/kg、5g/kg组及虎骨2g/kg组,治疗期间ig给药,10mL/(kg·d),模型组ig同体积去离子水,对照组ig自来水。治疗期间继续按前述方法饲喂不同的饲料。5w后用骨矿物质含量分析仪测定股骨、髌骨、腰椎的骨密度(即骨矿量),用EDTA容量法测定钙含量,用灰化法测定股骨灰分含量。

3 实验结果

3.1 塞隆骨对骨损伤大鼠骨愈合修复作用的研究结果(表2)。

($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

组织学观察表明, NS 组新生骨质很薄, 骨小梁细, 无钙盐沉着, 纤维组织增生, 未见软骨生成; 塞隆骨 5、10g/kg 组缺钙明显好于 NS 组, 缺损区域骨质较厚, 成熟, 骨小梁一致,

表 3 塞隆骨对大鼠骨质疏松症的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	股骨密度 ($\rho/\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	髌骨密度 ($\rho/\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	腰椎密度 ($\rho/\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	骨钙 (%)	骨灰分 (%)
对照	8	--	0.334 ± 0.030	0.380 ± 0.037	0.364 ± 0.030	20.64 ± 0.57	56.3 ± 1.5
模型	12	--	$0.284 \pm 0.022^{2)}$	$0.309 \pm 0.021^{2)}$	$0.306 \pm 0.014^{2)}$	$17.79 \pm 0.60^{2)}$	$49.8 \pm 2.9^{2)}$
复方钙剂	8	--	$0.312 \pm 0.021^{3)}$	0.327 ± 0.028	$0.332 \pm 0.031^{3)}$	$19.54 \pm 0.84^{4)}$	$53.7 \pm 2.4^{4)}$
塞隆骨	8	2	0.302 ± 0.027	0.325 ± 0.034	$0.341 \pm 0.040^{3)}$	$19.04 \pm 0.64^{4)}$	$52.6 \pm 2.2^{3)}$
塞隆骨	8	5	0.300 ± 0.025	$0.338 \pm 0.019^{4)}$	$0.340 \pm 0.035^{3)}$	$19.17 \pm 0.78^{4)}$	$52.8 \pm 2.3^{4)}$
虎骨	8	2	0.317 ± 0.064	$0.350 \pm 0.016^{4)}$	$0.338 \pm 0.034^{3)}$	$19.60 \pm 0.77^{4)}$	$53.7 \pm 4.3^{3)}$

注: 模型组与对照组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 治疗组与模型组相比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$

结果表明, 模型组各部位骨密度、骨钙、骨灰分均明显低于对照组。各给药组与模型组相比骨密度增加, 尤其是髌骨密度、腰椎密度显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$); 大鼠骨钙、骨灰分含量也明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。提示, 塞隆骨对大鼠骨质疏松症状有明显治疗作用。

4 讨论

骨折多系外力因素造成骨断、骨裂、骨碎及筋骨损伤, 表面局部瘀血、红肿热痛、行动不便。影响骨折愈合的因素较多, 如年龄、骨折部位血液供应优劣及钙磷吸收、利用、代谢情况等, 这些因素均严重影响骨折愈合的快慢。本实验采用大鼠实验性股骨损伤模型观察塞隆骨的骨修复作用, 实验通过外观、荧光和组织学观察表明, 塞隆骨喂养组的大鼠新生骨质较厚, 成熟, 骨小梁宽窄基本一致, 钙盐沉着, 软骨增生活跃, 作用明显好于对照组。

骨质疏松是由于骨的代谢失衡, 骨吸收大于骨形成所致, 属于中医骨痿或骨枯髓减的范畴, 表现腰腿酸软、伸曲不利, 难以直立, 下肢萎弱无力, 骨脆易折。老年人骨质疏松是骨量减少、骨质微细结构破坏、坚韧性降低、易骨折的全身性骨病。目前虽然有一些治疗方案和治疗药物, 但均存在效果不佳或有一定的不良反应^[10]。因此开发高效、低毒的抗骨质疏松药物显得异常重要。

据文献报道^[9], 给大鼠食用低钙饲料, 并注射地塞米松, 可成功地制成骨质疏松模型。本实验也有同样结果。由于大鼠骨骼很小, 采用 X 线检查大鼠骨质疏松, 难度较大, 不易观察, 本实验使用骨矿物质含量分析仪测定骨密度, 方法简便、重复性和可靠性较强。通过测定股骨、髌骨和腰椎, 发现腰椎改变最为明显, 这与文献报道^[11], 骨质疏松发生率在全身各部位不均衡, 以松质骨丰富的部位如腰椎等发生率最高的结果一致。塞隆骨和虎骨均可增加骨质疏松大鼠各部位骨密度, 尤其是髌骨密度、腰椎密度显著增加, 显示出良好的治疗作用; 骨灰分和骨钙含量也是骨质疏松形成的重要指

镜下结构正常, 电镜观察新生骨较厚, 骨质细胞分化明显。提示, 塞隆骨有促进骨损伤大鼠的骨折愈合修复作用。

3.2 塞隆骨对骨质疏松大鼠骨密度、股骨钙、股骨灰分含量的影响(表 3)。

标, 经治疗各给药组均可显著增加模型大鼠的骨灰分和骨钙含量。

总之, 塞隆骨有促进骨损伤大鼠的骨折愈合修复作用, 对骨质疏松大鼠的骨密度、骨灰分、骨钙含量有明显的改善作用, 表明塞隆骨对大鼠骨缺失具有一定治疗作用。其作用机制以及临床治疗效果尚需进一步研究。

参考文献

[1] 张旭东. 塞隆骨治疗类风湿性关节炎 28 例报告[J]. 武警医学, 1999, 10(1): 29.

[2] 索有瑞, 伊甫申, 张宝琛. 高原鼯鼠和高原鼠兔骨无机化学成分的研究 I. 常量元素[J]. 兽类学报, 1997, 17(2): 146.

[3] 伊甫申, 索有瑞, 张宝琛. 高原鼯鼠和高原鼠兔骨无机化学成分的研究 II. 必需微量元素[J]. 兽类学报, 1997, 17(3): 221.

[4] 张晓峰. 高原鼯鼠脂肪油化学成分研究[J]. 兽类学报, 1997, 17(2): 155.

[5] 海平. 塞隆骨抗炎作用的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2000, 27(11): 524.

[6] 海平. 塞隆骨镇痛作用和对脑内单胺类神经递质的影响[J]. 山东中医杂志, 2001, (3): 26.

[7] 海平. 塞隆骨抗炎作用(II)[J]. 高原医学杂志, 2002, 12(1): 8.

[8] 海平. 塞隆骨免疫作用研究[J]. 现代医学与临床, 2002, 2(5): 396.

[9] 张履祥, 唐元太, 韩津生, 等. 复方钙剂对皮质激素引起大鼠骨质疏松的试验疗法[J]. 天津医药, 1985, (11): 670.

[10] Insogna K, Concato J, Henrich J, et al. Boning upon estrogen: new options, new concepts. JAMP, 1996, 276(17): 1430.

[11] 田利奇, 周太原, 潘巧红, 等. 老年慢性阻塞性肺疾病患者骨密度测定及影响因素分析[J]. 中华老年医学杂志, 1999, 18(2): 103.

收稿日期: 2004-03-20