

强骨饮对去势大鼠股骨颈骨形态计量学影响的实验研究

李春雯(哈尔滨医科大学附属第二医院, 哈尔滨 150086)

摘要:目的 观察自拟强骨饮对去势 SD 大鼠股骨颈骨形态计量学指标的影响。方法 随机将 SD 大鼠造模成功后分成强骨饮组和福善美组, 每组各 20 只。应用自拟强骨饮与福善美治疗, 分别在治疗过程中 1.5、3、4.5、6 个月处死大鼠, 取股骨颈标本, 进行骨形态计量学检测, 分别对治疗前后骨形态计量学指标变化及有效率进行观察和统计学分析。结果 1.5 个月和 3 个月福善美组指标改善情况好于强骨饮组, 4.5 个月两组数据已比较接近, 6 个月数据比较, 强骨饮组数据均好于福善美组。结论 强骨饮能有效的提高骨形态计量学指标, 且中远期疗效尤为突出, 可能是由于其能有效地刺激成骨作用, 有效地抑制破骨细胞活性作用来实现的。

关键词: 强骨饮; 骨质疏松症; 骨形态计量学

中图分类号: R289; R965. 1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007) 04-0274-04

Effect of Qiangguyin on Collum Femoris of the Ovariectomized Rats in the Area of Histomorphome

LI Chun-wen(*The Second Affiliated Hospital of Haerbin Medicine University, 150086, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effect of Qiangguyin on collum femoris of the ovariectomized rats in the area of histomorphome. **METHODS** Randomly to divide the ovariectomized SD rats into the Qiangguyin group and the Fushanmei group, each group 20 rats and use the Qiangguyin and Fushanmei separately. In the course of treatment, at 1.5, 3, 4.5, 6 months, the rats were killed, and have the collum femoris was taken for the detection and analysis of the histomorphome index. **RESULTS** The Fushanmei index of the 1.5 and 3 months is good than that of the Qiangguyin. The 4.5 months index is close between Qiangguyin and Fushanmei. The Qiangguyin index of the 6 months is better than that of the Fushanmei. **CONCLUSION** Qiangguyin has a significant effect on osteoporosis in the mid and later treatment course. The mechanism probably related with the stimulating effect of osteogenesis and inhibition of osteoclast activity.

KEY WORDS: Qiangguyin; histomorphometry; osteoporosis

骨质疏松症, 是以骨量减少及骨组织显微结构退变为特征的一种全身性骨骼疾病, 伴有骨脆性增加, 易于发生骨折。

骨组织形态计量学(bone histomorphometry) 属于体视学、生物医学组织形态计量学中的一个特殊分支, 是依据骨组织学和

作者简介: 李春雯, 女, 医学博士, 副教授 E-mail: xlshi-2002@ 163. com

生理学,基于体视学原理,从二维切片上推导三维结构的一种方法^[1]。它是一种有助于揭示骨的生理与病理改变的机能与组织定量研究的新方法,是在分析代谢性疾病的研究中一项不可或缺的基本技术,其在疾病的发生机制研究、药物疗效的评价中都有着广泛的应用价值,是评价骨转换与骨结构的有效手段,能直观、形象对松质骨进行定量分析^[2]。本实验用骨形态计量学手段,评价强骨饮和福善美对骨质疏松小鼠骨形态计量学指标的改善情况,以验证自拟中药方强骨饮的疗效,并取得了满意的效果。现报告如下。

1 实验材料

1.1 动物

健康雌性 SD 大鼠 30 只(由浙江中医药大学动物实验中心提供),体重 230 ~ 280 g。

1.2 药物

治疗组用自拟强骨饮,组成为忍冬藤、鸡血藤、独活等 12 味,对照组 1 用阿仑膦酸钠(福善美),对照组 2 为空白组。

2 实验方法

2.1 分组

随机将 SD 大鼠分成治疗组和 2 个对照组,每小组各 10 只。造模成功后(术后 10 周),治疗组用药为自拟强骨饮,用忍冬藤 210 mg · kg⁻¹,鸡血藤 210 mg · kg⁻¹,独活 150 mg · kg⁻¹等 12 味,煎汤,每天一次灌胃,每次 2 mL,1.5 个月 1 疗程。对照组 1 用福善美,由默沙东制药有限公司提供,剂量为 0.90 mg · kg⁻¹,每周一次,灌胃,1.5 个月 1 疗程。对照组 2 为空白组。

2.2 溶解方法

每付强骨饮煎成 500 mL 左右,每次 2 mL。福善美一颗,溶解于 150 mL 生理盐水中,每次 2 mL。

2.3 造模

卵巢切除法:测量 SD 雌性大鼠体重,3%戊巴比妥钠(40 mg · kg⁻¹)腹腔内麻醉,术区剃毛,常规消毒,切开腹腔,结扎并切除卵巢。术后注射庆大霉素 3 d,每只每次 1 mL,术后 10 周用药。

2.4 处死时间

见表 1。

表 1 处死时间

Tab 1 Time putting into death

组别	动物数量 /只	观察时间/月				测量指标
		1.5	3	4.5	6	
强骨饮	20	5	5	5	5	骨形态计量学
福善美	20	5	5	5	5	骨形态计量学
空白	20	5	5	5	5	骨形态计量学

2.5 固定方法

处死后,剔除股骨颈肌肉筋膜,每一个标本放入标本瓶中,乙醇固定。保留周围少量肌肉,福尔马林固定。然后脱钙,脱水,包埋,硬化,然后二甲苯透明,封固。

2.6 测定指标

①B. ar 骨小梁面积;②T. ar 整体松质骨面积;③B. Pm

骨小梁周长。

骨体积分数 $BV/TV = 100 * B. ar/T. ar$

骨小梁厚度 $Tb. Th = (B. ar/B. pm) * (\pi/2)$

骨小梁数 $Tb. N = (B. Pm/T. ar) * 10$

骨小梁间距 $Tb. sp = (1000 * T. ar - B. ar)/B. pm$

3 实验结果

见表 2 至 4。

表 2 1.5 个月强骨饮组与福善美组股骨颈骨形态计量学指标的比较

Tab 2 The comparison of index in 1.5 months

测定指标	强骨饮组	福善美组	空白
BV/TV/%	20.20 ± 0.27	32.01 ± 0.27 ¹⁾	18.23 ± 0.24
Tb. Th/μm	50.00 ± 0.43	70.23 ± 0.15 ¹⁾	86.57 ± 0.27
Tb. SP/μm	247.92 ± 3.18	212.86 ± 2.29 ¹⁾	218.05 ± 3.72

注:强骨饮组与福善美组比较,¹⁾P < 0.05

Note: Compared with Fosamax group,¹⁾P < 0.05

表 3 3 个月强骨饮组与福善美组股骨颈骨形态计量学指标的比较

Tab 3 The comparison of index in 3 months

测定指标	强骨饮组	福善美组	空白
BV/TV/%	33.95 ± 0.19	48.60 ± 0.19 ¹⁾	11.24 ± 0.29
Tb. Th/μm	74.15 ± 0.34	90.00 ± 0.28 ¹⁾	49.89 ± 0.30
Tb. SP/μm	175.15 ± 3.01	137.00 ± 1.24 ¹⁾	240.73 ± 0.29

注:强骨饮组与福善美组比较,¹⁾P < 0.05

Note: Compared with Fosamax group,¹⁾P < 0.05

表 4 4.5 个月强骨饮组与福善美组股骨颈骨形态计量学指标的比较

Tab 4 The comparison of index in 4.5 months

测定指标	强骨饮组	福善美组	空白
BV/TV/%	53.93 ± 0.16	55.35 ± 0.22 ¹⁾	9.11 ± 0.28
Tb. Th/μm	91.54 ± 0.24	112.14 ± 0.24 ¹⁾	33.34 ± 0.31
Tb. N/μm	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.29 ¹⁾	0.04 ± 0.24

注:强骨饮组与福善美组比较,¹⁾P < 0.05

Note: Compared with Fosamax group,¹⁾P < 0.05

表 5 6 个月强骨饮组与福善美组股骨颈骨形态计量学指标的比较

Tab 5 The comparison of index in 6 months

测定指标	强骨饮组	福善美组	空白
BV/TV/%	71.96 ± 0.24	63.72 ± 0.28 ¹⁾	7.46 ± 0.19
Tb. Th/μm	143.02 ± 0.24	134.39 ± 0.31 ¹⁾	24.39 ± 0.37
Tb. N/μm	0.07 ± 0.26	0.08 ± 0.89 ¹⁾	0.03 ± 0.16

注:强骨饮组与福善美组比较,¹⁾P > 0.05

Note: Compared with Fosamax group,¹⁾P > 0.05

所测指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示,在各组间以 SPSS 7.5 软件进行 t 检验,以 P < 0.05 为判断差异具有显著性的标准。以上各表中相对应数值为其 95% 可信区间。

4 讨论

近年来,对骨质疏松症的病因学和发病机制和对骨形态

结构的研究已渐深入,以评估骨折风险为热门,骨质量在评估骨折风险中有着极为重要的地位,而骨的微观结构又是其中最重要的一个方面。目前西医治疗多使用雌激素、钙剂、活性维生素D、降钙素、二膦酸盐等,虽有一定疗效,但不良反应大。

4.1 益气补肾温经通络是治疗骨质疏松症的标本兼治之法,益气补肾达到壮阳增髓生骨之效治其本;补血行血,通络以助气行,温经通络,补火助阳,以温熙肾阳助骨生长,治其标;通达阴阳,标本相合,益气补肾,温经通络,达到改善骨吸收与骨形成偶联失衡状况,即增加骨形成而抑制骨吸收;明显增加骨钙含量,促进骨钙沉积,促进I型胶原的合成,促进羟基磷灰石的强力结合的作用,从而使骨密度显著增强、疼痛症状显著改善,是治疗骨质疏松症的有效之法。中医从“肾”论治骨质疏松症已被中西医学者普遍接受,中医学认为骨质疏松症是肾精亏虚、骨骼失养所致。“肾为先天之本,主骨、生髓”,老年人年高体弱,肾虚精气不足,腰膝失养,腰背僵直,疼痛酸楚,骨失所养,膝酸腿软,不能持重。“肾主骨,生髓”,“肾藏精,精生髓,髓养骨,骨生髓,聚髓为脑”。《素问》中有“肾之合骨也”,“肾藏骨髓之气也”。说明骨为髓之主。若肾精肾气充足,骨骼化生有源,则身健力强;若肾气不足,肾精亏虚,骨髓失充,骨骼失养,则脆弱乏力。本病属中医学“骨痿”、“骨痹”等病范畴。因此本病的发病与肾虚证密切相关。《素问·上古天真论》曰:“女子七岁,肾气盛,齿更发长;……七七,任脉虚,太冲脉衰少,天癸竭,地道不通,故形坏而无子……筋骨解堕,天癸尽矣……身体重,行步不正”。研究证实,老年人下丘脑-垂体-性腺轴功能减退,性激素分泌下降,使成骨功能下降,单位体积内骨组织减少,最终导致骨质疏松症的发生。经研究证实补肾中药可纠正下丘脑-垂体-靶腺轴系统的功能紊乱,抑制骨吸收,增强成骨细胞活性,加快骨形成,延缓骨量丢失,调节机体内环境微量元素平衡,促使矿物质在骨中的沉积,从而发挥抗骨质疏松症的作用。补肾壮骨中药在抑制破骨细胞活性,抑制溶骨的同时,还能有效的刺激衍化成骨细胞的作用,显著减少骨小梁的骨量丢失,使骨质疏松模型鼠的骨重建过程呈正平衡状态,具有防止异常骨丢失,抑制破骨细胞活动,增加成骨细胞活性,调节骨代谢等作用^[3]。

4.2 本实验立足于以上中医治疗骨质疏松观点,着重研究了自拟方强骨饮治疗骨质疏松症的长期疗效。强骨饮功效以益气、补肾、通经络为主,方中重用黄芪益气行滞,与鹿角霜补肾助阳共为君药,达到益气补肾之功,二者咸甘并用,均入肾经,而达到鼓舞肾阳的目的;恰与骨质疏松疾病的机制相合。黄芪与鹿角霜并用,益气补肾以达到壮阳增髓生骨之效。臣以川芎、鸡血藤、忍冬藤、秦艽、露蜂房与肉桂温经通络,因补血行血,通络以助气行,肉桂本性有补火助阳之功,以温熙肾阳助骨生长,诸药相和,温经通络,补肾助阳;又臣以川断、杜仲、骨碎补补肾壮骨,以助君药补肾益气之功;佐使以防风,以通达内外,标本互应,使益气补肾而不滞,温经行络而不过。诸药相伍,通达阴阳,标本相合,达到益气补

肾,温经通络之效。因骨质疏松属于本虚标实证,而强骨饮疗效中就有益气补肾,故由实验数据也可以看出,在1.5个月和3个月虽然指标改善情况稍逊于福善美,骨小梁数目增多不甚明显,但较空白已确有改善。到治疗中后期,即4.5个月和6个月,数据改善已非常明显,骨小梁数目增多,面积和厚度明显增大,骨小梁间明显减小。说明强骨饮在这个阶段已较明显地抑制了骨吸收,加速骨形成,扭转了高骨转换代谢。现代药理研究也已证实,鹿角霜有良好的防治去卵巢对大鼠所引起的骨丢失^[4]。而骨碎补、鹿角霜具有增加骨量、改善骨质量、维持骨微结构的完整程度、增加成骨细胞活性、促进钙沉积等作用,并能缓解腰背及四肢骨痛,改善微循环,提高骨密度,调节下丘脑-垂体-性腺轴功能,改善骨调节激素的紊乱状态及骨代谢过程中的细胞因子,抑制骨吸收。

4.3 由实验结果可以看出,强骨饮组数据治疗1.5个月和3个月数据缓慢上升,而到6个月数据已明显超过福善美组,各阶段均明显高于空白组,可见其数据增加幅度较大。对照组福善美,在短期改善骨结构方面数据改变较明显,在实验中后期改善幅度已较前期明显下降;空白组则表现出抑制骨形成和骨吸收逐渐加速的去卵巢后的高骨转换的趋势。

分析实验数据结果:强骨饮对去卵巢大鼠的骨量抑制作用在中后期优势明显加强,表现为6个月与对照组比较除了骨体积有显著性意义以外,骨小梁体积和骨小梁厚度等均有显著性意义,也即起到了抑制高转换型骨代谢。与福善美组比较,4.5个月数据基本持平,而6个月数据,骨形成指标改善较明显,骨小梁厚度和体积均高于福善美组;与空白组比较,各项指标的差异均有显著性意义。本实验经过6个月的疗程,并统计数据后进行比较,结果证明了强骨饮组骨形态计量学指标升高明显,且4.5个月与6个月,也即治疗的中后期,指标改善情况好于福善美组,显示出中药适合长期应用的优势,更能有效地抑制骨转换,预防了骨量的丢失。分析原因可能是药物首先抑制了大鼠去卵巢后骨的快速丢失,通过调节机体相关内分泌功能,抑制雌激素水平下降后的高骨转换率,以及有效协调钙调节激素等作用,然后再加上随后的促进骨形成,因此明显降低骨丢失,使骨量维持在较高水平,达到抑制或延缓骨质疏松的发生,对机体的多方位调节正是纯中药制剂优势之所在。

自拟强骨饮作为中药制剂,功效以益气、补肾、通经络为主,经过毒理学研究,证明该方无明显不良反应,适合长期服用。经过临床观察应用研究,该方对促进骨的成骨细胞形成,抑制破骨细胞活性方面,以及骨质疏松症的所致的疼痛、肌痉挛等症状的疗效良好,应用后骨质疏松症的生化指标检测呈良性趋势,骨密度提高明显^[5];且该剂药源广泛,价格低廉,有中药独特的优势,并有长期稳定的确实疗效。福善美为氨基双膦酸盐类药物,价格较强骨饮高,不良反应方面也不及中药可靠。由此可见,强骨饮更适合长期服用。因此,本方在防治骨质疏松症确实疗效显著,应用现代药理学方法研制出的治疗骨质疏松症的中药,具有广泛的临床实用价值和实际意义。

(下转第293页)

参考文献

- [1] DZAJKOVA B, WERTHEIMER AI, MRHAR A. The burden-of-illness study on osteoporosis in the Slovenian female population [J]. Pharm World Sci, 2007, 20(1):44-46.
- [2] BONAN P R, KAMINAQAKURA E. Histomorphometry and immunohistochemical features of grade I (WHO) oral radiomucositis [J]. Oral Dis, 2007, 13(2):170-176.
- [3] WANG T, ZHANG J C. Progress in anti-osteoporosis activity of

traditional Chinese medicine and medicinal plants[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2006, 9(5):718-721.

- [4] XU F, GONG L H. The research summarize of the prevention and treatment of one traditional Chinese medicine and medicinal plants nourishing the kidney on osteoporosis[J]. Acta Chin Med Pharmacol(中医学报), 2006, 4(4):47-50.
- [5] SHI X L. The clinc report of the treatment of zi ni qiang gu yin on osteoporosis[J]. Chin J Tradit Med Traumatol Orthop(中国中医骨伤科杂志), 2006, 14(2):33-34.

收稿日期:2007-04-30