

强骨饮与密盖息对去势大鼠股骨颈骨形态计量学影响的对比研究

史晓林,茅月娟,刘康,毛应德龙(浙江中医药大学附属第二医院骨科,杭州 310005)

摘要:目的 观察自拟强骨饮对骨质疏松症的骨形态计量学的影响,并探讨其机制。方法 健康雌性 SD大鼠 60只,体重 230~280 g。随机分为 3组,分别为治疗组、对照组和空白组,每组 20只。分别采取切除双侧卵巢方法进行骨质疏松造模,10周造模成功后,开始给药,治疗组用自拟强骨饮灌胃,每日 1次,每次 $1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$,对照组用密盖息,皮下注射,每日 1次,每次 $0.72 \text{ u} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。空白组,不做处理。在给药后 1.5、3、4.5、6个月每组各取 5只大鼠进行检测,先测量体重,空气栓塞处死,分离股骨颈骨,获得股骨颈骨样本,经切片等处理后,显微镜下作骨形态计量学检测。结果 给药后强骨饮组 1.5、3个月骨体积分数与密盖息组数据相比有统计学意义,与空白组相比骨小梁厚度、骨小梁间距、骨体积分数都具有统计学意义。给药后 4.5个月强骨饮组骨小梁厚度与密盖息组相比差异均有统计学意义。给药后 6个月强骨饮组骨小梁厚度、骨小梁间距与密盖息组相比均具有统计学意义。结论 自拟强骨饮可以明显地改善去势大鼠股骨颈骨形态计量学指标,可能是通过刺激成骨细胞生长,抑制破骨细胞活性,并抑制高骨转趋势来实现的。

关键词:卵巢切除术;自拟强骨饮;骨形态计量学;骨质疏松症

中图分类号:R285.5;R971.8

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2008)06-0490-03

基金项目:浙江省科技厅重点攻关项目(2006C23011)

作者简介:史晓林,男,医学博士后,教授

Tel:13516724553

E-mail:xlshr2002@163.com

Effect of Chinese Herbal Medicine (Qianggu Yin) on Collum Femoris of Bone Histomorphometry in Ovariectomized Rats

SHI Xiao-lin, MAO Yue-juan, LIU Kang, MAO Ying de-long (The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Traditional Chinese Medicine University, Hangzhou 310005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the bone histomorphology effect of Qianggu Yin on collum femur of ovariectomized rats. **METHODS** Sixty femal SD rats, weight 230-280 gram, were divided into three groups randomly: Qianggu Yin group (treatment group), Miacalcic group (contrast group) and control group. All rats were ovariectomized. After 10 weeks, the osteoporosis model succeed, the treatment group, contrast group were given Qianggu Yin, Miacalcic, respectively. The treatment group used Qianggu Yin everyday, $1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$. The contrast group was hypodermic injected with Miacalcic $0.72 \text{ u} \cdot \text{kg}^{-1}$, everyday. And 1.5, 3, 4.5, 6 months after the treatment, 5 rats were killed. The neck of femurs were cut and stined with Masson Golder Trichrome for bone histomorphometry analysis. **RESULTS** Compared with contrast group, BV/TV of rats in treatment group in 1.5, 3 month had statistical significance. Compared with control group, Tb. sp, BV/TV, Tb. Th had statistical significance too. After 4.5 month Tb. Th of treatment group had statistical significance compared with contrast group. Given the medicine 6 month, Tb. sp, Tb. Th both had statistical significance compared with contrast group. **CONCLUSION** Qianggu Yin can effectively improve the histomorphometry index, probably by stimulating osteogenesis and inhibiting the cytoactive of osteoclast and trend of the high bone transform. **KEY WORDS:** ovariectomy; Qianggu Yin; histomorphometry; osteoporosis

骨质疏松症 (osteoporosis) 是以骨组织显微结构受损, 骨矿成分和骨基质等比例地不断减少, 骨质变薄、骨小梁数量减少、骨脆性增加和骨折危险度升高的一种全身骨代谢障碍的疾病^[1]。祖国医学中没有“骨质疏松症”这一明确的病名, 但历代中医文献的记载中, “骨痿”、“骨枯”、“骨极”、“骨痹”的描述与骨质疏松症的临床症状和体征极其相似, 其中定性、定位比较准确的当属“骨痿”^[2]。本实验用骨形态计量学手段, 评价功效以益气、补肾、通经络为主的自拟中药方强骨饮和密盖息对骨质疏松模鼠股骨颈骨形态计量学指标的改善情况, 以验证强骨饮的疗效, 并取得了满意的效果。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及药物

动物: 健康雌性 SD 大鼠 60 只 (由浙江中医药大学动物实验中心提供), 体重 $(230 \pm 30) \text{ g}$ 。药物: ①自拟强骨饮, 为浙江省新华医院协定中药处方, 组成为鹿角霜 20 g, 忍冬藤 25 g, 鸡血藤 25 g, 秦艽 15 g, 防风 15 g, 露蜂房 20 g, 肉桂 10 g, 川芎 20 g, 黄芪 30 g, 骨碎补 20 g, 杜仲 15 g, 川断 30 g, 常规中药煎煮, 每 1 mL 含生药量 245 mg, 由浙江中医药大学附属第二医院中药库提供。②降钙素 (密盖息) 针剂, $50 \text{ IU} \cdot \text{支}^{-1}$, 由诺华制药有限公司提供。

1.2 仪器与试剂

Krum dieck 组织切片机由上海第九人民医院提供, AD 电子秤由上海凯士有限公司提供。

1.3 方法

按照随机数字表法将 60 只健康 SD 大鼠分成 3 组, 分别为治疗组、对照组和空白组, 每组 20 只。用 3% 戊巴比妥钠 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔内注射麻醉, 常规无菌操作, 从下腹部正中切开, 暴露出子宫, 沿着子宫找到卵巢, 结扎后切除双侧卵

巢, 逐层缝合。普通饲料饲养 10 周, 10 周后治疗组以自拟强骨饮灌胃, 每日 1 次, $1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 对照组用密盖息皮下注射, 每次 $0.72 \text{ u} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每日 1 次。空白组不用任何药物。

处死及标本的获取: 分别于给药后 1.5, 3, 4.5, 6 个月每组各取 5 只检测, (空白组在相应时间段检测)。先测量体重, 用空气栓塞处死, 分离股骨颈, 去除股骨颈肌肉筋膜, 获得股骨颈标本。

1.4 观察项目与方法

观察项目: 骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁间距。检测方法: 在物镜放大率为 4 倍的显微镜下, 以相同的间隔移动切片, 使所有的显微视野均经数码相机输入计算机自动图像处理系统 (台湾中睿科技公司)。测算以下参数:

- ① B. ar (骨小梁面积); ② T. ar (整体松质骨面积); ③ B. Pm (骨小梁周长)

由以上参数, 通过公式计算出骨形态计量学指标:

骨体积分数 (BV/TV) = $100 \times \text{B. ar} / \text{T. ar}$

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

骨小梁间距 (Tb. sp) = $(1000 \times \text{T. ar} - \text{B. ar}) / \text{B. pm}$

1.5 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件处理数据, 以均数标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

不同时期 (分别为 1.5 个月, 3 个月, 4.5 个月, 6 个月) 所观察指标 BV/TV, Tb. Th, Tb. sp 见表 1。

由表 1 数据可以看出: ①治疗组与对照组相比, 具有统计学意义的指标为: 骨体积分数 (BV/TV): 在 1.5, 3 个月有统计学意义, 治疗组优于对照组; 骨小梁厚度 (Tb. Th): 在 4.5, 6 个月有统计学意义, 治疗组优于对照组; 骨小梁间距

表 1 1.5,3,4.5,6个月各组骨形态计量学参数的比较

Tab 1 Comparison of index in 1.5,3,4.5,6 months

时间/月	组别	BV/TV/%	Tb.Th/ μ m	Tb.SP/ μ m
1.5	强骨饮	20.20 \pm 0.27	50.00 \pm 0.43	247.92 \pm 3.18
	密盖息	17.01 \pm 0.16 ¹⁾	59.23 \pm 0.15	212.86 \pm 2.29
	空白组	18.23 \pm 0.24	86.57 \pm 0.27	218.05 \pm 3.72
3	强骨饮	33.95 \pm 0.19	74.15 \pm 0.34	175.15 \pm 3.01
	密盖息	29.22 \pm 0.13 ¹⁾	78.00 \pm 0.28	167.00 \pm 1.24
	空白组	11.24 \pm 0.29	49.89 \pm 0.30	240.73 \pm 0.29
4.5	强骨饮	53.93 \pm 0.16	91.54 \pm 0.24	157.92 \pm 1.13
	密盖息	55.35 \pm 0.22	81.14 \pm 0.26 ¹⁾	152.21 \pm 2.38
	空白组	9.11 \pm 0.28	33.34 \pm 0.31	324.19 \pm 0.28
6	强骨饮	71.96 \pm 0.24	143.02 \pm 0.24	131.32 \pm 2.97
	密盖息	68.72 \pm 0.28	134.39 \pm 0.31 ¹⁾	148.45 \pm 3.01 ¹⁾
	空白组	7.46 \pm 0.19	24.39 \pm 0.37	356.15 \pm 2.13

注:与对照组组间比较¹⁾ $P < 0.05$

Note: Compared with control group,¹⁾ $P < 0.05$

(Tb.sp):在6个月有统计学意义,治疗组优于对照组。②治疗组与空白组相比,具有统计学意义的指标为:除1.5个月骨小梁厚度、骨小梁间距无统计学意义外,其余各观察时间三个指标相比均具有统计学意义。

3 讨论

中药强骨饮是以“肾主骨”理论为指导,结合“脾肾相关论”、“血瘀论”,针对骨质疏松症“多虚多瘀”的病机特点,强骨饮由黄芪、鹿角霜等12味中药组成,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,经过临床观察应用研究,该方对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^[3]。强骨饮重用黄芪益气行滞,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,恰与骨质疏松症的机制相合。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,以治其标;又臣以川断、杜仲、骨碎补补肾壮骨,以助君药补肾益气之功,治其本;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。

本研究实验组与对照组比,初期大鼠(1.5月、3月)由于去卵巢,其骨形成和骨吸收参数是升高的,所以治疗组与对照组相比,其指标改善情况较差,表现出了骨形成和骨吸收同时升高的高转换型骨代谢特征,说明该组有明显的骨丢失,因此骨小梁厚度与骨小梁间距不及对照组。治疗组(1.5月、3月、4.5月)对去卵巢后的骨量丢失抑制作用不明显,表现为与对照组比较除了骨体积分数增加有显著性意义以外,其余两项参数的差异均无显著性意义,未能抑制高转换型骨代谢特征,因此其与对照组比较,骨吸收有增高趋势。治疗组在6个月对指标改善较明显,表现为与对照组比较除了骨小梁间距有显著性意义以外,骨小梁厚度也有统计学的显著性差异,可见其对去卵巢后的骨量抑制作用明显加强,即起到了抑制高转换型骨代谢,并在这两个指标上优于对照组。

因此,自拟强骨饮可较好的改善去势大鼠的骨形态计量学指标,其原理可能是通过刺激成骨细胞生长,抑制破骨细胞活性,并抑制高骨转趋势来实现的。

REFERENCES

[1] LIU Z H. Bone Mineral and Clinic Practise(骨矿与临床)[M]. Vol 1. Beijing: China science and technology press, 2006: 353-356.

[2] SHI X L. The clinic 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), 2006, 14(2): 33-34.

[3] WANG X, WU J, CHIBA H, et al. Puerariae radix prevents bone loss in ovariectomized mice[J]. Bone Miner Metab. 2003, 21(5): 268-275.