

仙灵真宝治疗骨质疏松大鼠的实验研究

姚青芬 陈慕莲 刘尚保 余志红 胡全忠

摘要 用自拟药方——“仙灵真宝”对骨质疏松大白鼠进行治疗。实验分四组,自然对照组(I)、中药治疗组(II)、阳性对照组(III)、阴性对照组(IV),其中II、III组又分A、B亚组,B亚组加喂活性钙冲剂,治疗分35、70天两疗程。用骨密度、骨组织显微形态学,骨质厚度测量作观察指标。结果:II组骨密度(BMD)明显高于I、IV组($P<0.05$ 、 <0.01),70天治疗组亦高于III组($P<0.05$)。II-B亚组BMD均值高于其它亚组,但无统计学意义。II组70天治疗骨组织形态学表现骨质发育正常,钙化完全,骨皮质增厚。较阴性对照组的骨质明显好转,亦优于阳性对照组,表明“仙灵真宝”治疗实验性骨质疏松取得较好疗效,配合钙剂治疗效果更佳。

关键词 中药—仙灵真宝 骨质疏松 骨组织形态学

随着社会逐渐老龄化,骨质疏松发病率日趋增加,研制治疗骨质疏松的有效药物实属迫切任务。我们自拟经验方“仙灵真宝”,通过对实验性骨质疏松大白鼠治疗,用骨密度测定及骨组织形态学,骨质厚度测定作疗效观察指标。

1 材料与方法

1.1 组方:中医理论认为:“肾主骨生髓”,肾充则骨强,肾衰则骨衰,说明肾对骨的生长、发育和维持骨的正常成份结构有重要作用。老年人肾气渐衰,精血不足,骨髓失养而致骨质疏松。本方主要以补肾中药淫羊藿、杜仲、骨碎补、枸杞等组成。

1.2 实验对象与分组:

对象:SD大白鼠,雌性,鼠龄310天,体重 280 ± 20 克。

分组:大白鼠共86只,分四组。I组,空白组(即自然对照组);II组,中药治疗组;III组,阳性对照组;IV组,阴性对照组。I~IV组动物均先造成骨质疏松模型,II、III组分A、B亚组,A亚组不加钙,B亚组加活性钙。I~IV组分35、70天两疗程。

1.3 造模:用维甲酸 45mg/kg/天 ,灌喂14天,第15天造模组、空白组各处死7只,观察其

骨质疏松情况。随后将造模组余下大鼠分成II、III、IV,用不同药物治疗。

1.4 治疗:II组——中药治疗组,用“仙灵真宝”混悬液灌喂, 2ml/只/天 ,含生药 0.32g/kg ,其中B亚组加喂活性钙冲剂 2ml/只/天 ,含钙元素 2.5mg/kg 。III组——阳性对照组,肌注雌三醇(E3)注射液 0.1mg/kg/周 ,B亚组加喂与II-B亚组等量活性钙。IV组——阴性对照组,灌喂蒸馏水 2ml/只/天 。以上各组分别于治疗后第36、71天处死,留取骨标本备测。

2 观察指标

2.1 骨密度测定,取鼠左股骨焙干,测出其重量和体积(用万分之一分析天平称重,用排水法测体积),按重量/体积法求出比值则为该股骨的骨密度(BMD)。

2.2 骨组织形态学观察,取左胫骨脱钙后切片,显微镜下观察骨小梁,小梁间隙变化。

2.3 骨质厚度测定,取左胫骨脱钙后在上下端中点取横断面,再脱水浸蜡、包埋切片(厚度 $5\mu\text{m}$),HE染色,用IBAS2000图像分析系统(德国产),在光学显微镜下经摄像机模/数转换输入图像分析系统测量,计算机打印出测量结果,得出胫骨骨皮质、髓质的厚度。

3 结果

3.1 骨密度测定(表1、2)

表 1 重量/体积法测定各组 BMD 结果(g/cm² $\bar{x} \pm s$)

组 别	15 天		35 天		70 天	
	例数	BMD	例数	BMD	例数	BMD
空白	6	1.242±0.040	6	1.305±0.033	5	1.277±0.072
中药			9	1.366±0.079*#	10	1.337±0.032*#
阳性对照			10	1.320±0.068	10	1.310±0.029
阴性对照	5	1.145±0.086*	6	1.252±0.064	6	1.275±0.050

注：* 与空白组比较， $P<0.05$ ；# 与阴性对照组比较， $P<0.01$ ；70 天与阳性对照比较， $P<0.05$

表 2 I、II 组 A、B 亚组 BMD 测定结果(g/cm² $\bar{x} \pm s$)

组 别	35 天		70 天	
	例数	BMD	例数	BMD
中药 A	4	1.322±0.037	5	1.331±0.033
B	5	1.401±0.090	5	1.343±0.033
阳性对照 A	5	1.301±0.043	5	1.310±0.029
B	5	1.339±0.088	5	1.309±0.031

注：中药-B 组 BMD 均值高于 A 组，亦高于阳性对照 B 组，但无显著差异

表 4 大鼠左胫骨骨干皮质厚度相关数测定(μm)

组 别	骨干直径	髓腔直径	皮质厚度
空白	1237.12	390.86	423.13
中药 A	1637.19	757.02	440.08
B	1791.26	562.50	614.38
阳性对照 A	2099.58	1283.33	408.62
B	1449.23	649.97	399.63
阴性对照	1033.37	214.26	394.55

4 讨论

用维甲酸诱导大鼠急性骨质疏松是有效的制模方法^[1]。阴性对照组灌喂维甲酸 14 天 BMD 明显低于空白组($P<0.05$)，显示骨小梁稀疏、断裂、小梁间隙扩大，表明骨质疏松模型是成功的。

疗效分析

用“仙灵真宝”治疗骨质疏松大鼠 35、70 天后 BMD 明显高于阴性对照组(IV)、空白对照组(I)($P<0.01$ 、 <0.05)，70 天亦高于阳性对照组(II)， $P<0.05$ ，骨组织切片显示骨小梁增多、增宽、小梁间隙变窄，表现骨质基本恢复正常，钙化完全，表现了中药的疗效。

加钙与不加钙疗效观察：I-B 亚组 BMD 均值高于 II-A，亦高于 III-A、B 亚组，但无统计学意义。然而骨组织学显示，加钙组优于不加钙组，这种 BMD 与骨组织学的差异可能与动物样本少有关，也许与骨矿丢失与骨基质改变不同步有关。

疗效与疗程关系：中药组(II)、对照组(E3 组)(III)35、70 天治疗，BMD 前者高于后者，但无显著差异，可能与机体对药物耐受性有关。许多药物治疗，疗效与疗程不总是呈线性关系，开始效果明显，随时间延长效果不呈正相关，药

表 3 胫骨骨组织变化

组 别	35 天	70 天
空白 A	骨发育正常，骨皮质与骨髓腔比 4:1	同左
中药 A	与 I 组比较，骨质稍疏松，但发育渐趋正常	同左
B	骨质发育正常，骨小梁间隙明显减少	骨质发育正常，钙化完全，与 I 组比，仅见骨内腔隙稍多
阳性对照 A	骨质内有较多裂隙，髓腔稍扩大软组织增生，与骨组织分界不清	同左
B	骨质增生稍活跃，骨内腔隙较大	同左
阴性对照	骨质疏松，骨髓腔增大，骨板间许多小裂隙，骨表面有糠样成骨及软组织增生	同左

- 3.2 骨组织切片观察(表 3)
- 3.3 骨质厚度测定(表 4)

称为“平台反应”^[2]。“仙灵真宝”70天治疗BMD略低于35天与上述反应有关。其次与鼠龄有关,实验结束时鼠龄有412天,属中年后期,骨峰值进入自然下降阶段。I组70天BMD均值低于35天,提示骨质随增龄而减少,是否还有其它因素,有待进一步研究。

作用机制的探讨:

“仙灵真宝”主要由淫羊藿、杜仲、骨碎补、枸杞等补肾中药组成。淫羊藿补肾壮阳、健骨强筋,文献报告具有降低破骨细胞活性,活跃成骨细胞作用^[3];杜仲补肾益精;骨碎补补肾坚骨兼活血止痛;枸杞功补肝肾、滋阴助阳使筋骨强壮;加牡蛎取其含多种矿物质有助骨质生长。

本实验研究结果表明,该方能使实验性骨质疏松的大鼠BMD增加,骨组织形态学有明显改变,骨皮质增厚,表明该药的良好效果。证实在“肾主骨生髓”理论指导下应用补肾中药治疗骨质疏松症的临床实用意义^[3~5]。

据初步临床观察,用“仙灵真宝”胶囊每天9克治疗绝经后骨质疏松患者,有明显改善疼

痛、降低尿钙的作用。

5 小结

中药——“仙灵真宝”治疗实验性骨质疏松大鼠取得明显效果,35天和70天治疗BMD均值前者优于后者,提示该药以60天或少于60天为一疗程较适宜,间隔一段时间后可重复用药。

本药经急性毒理试验未发现有明显的毒副作用。

参 考 文 献

- 1 刘忠厚主编. 骨质疏松研究与防治. 北京:化学工业出版社,1994:270~272.
- 2 朱宪彝主编. 代谢性骨病学. 第一版. 天津:天津科学技术出版社,1989:497~498;37~39.
- 3 李清尚等. 淫羊藿提取液对去势大鼠骨代谢的影响. 中草药,1993,24(12):637.
- 4 沈自尹等. 补骨药改善老年肾上腺皮质功能的临床与实验研究. 中西医结合杂志,1989,9(9):518.
- 5 邝安堃等. 补阳中药对正常雄性大鼠肾上腺皮质睾酮及甲状腺激素浓度的影响. 中西医结合杂志,1989,12(9):738.