

四组中药防治实验性骨质疏松症的对比研究

石印玉 石鉴玉 沈培芝 陈东煜 李浩钢

摘要 在临床观察能改善症状的基础上,用糖皮质激素性骨质疏松模型对四组补肾,或脾肾双补中药制剂治疗骨质疏松症作实验研究,其中两组还设立了预防用药组。结果显示这些中药都能使模型动物增加骨量,改善骨的微细结构和增加骨强度,组方中鹿茸、紫河车的作用最为明显,且在预防用药时尤为突出。血中雌激素水平高于模型组,也高于正常对照组,睾酮水平高于模型组而低于正常对照组,预防用药组则与正常对照组类同或升高,骨钙素与模型组无差异,甲状旁腺素降低而降钙素升高。作者认为中药防治骨质疏松有较为满意的疗效,但有许多急待解决的问题,包括组方、制剂,建立有可重复性的研究方法,建立多中心的规范的临床观察标准和有关的机理研究等。

关键词 中药 糖皮质激素性骨质疏松模型

我们分别用不同组方的中药在临床上治疗骨质疏松症,经3~6个月的初步观察,都有较为满意的临床疗效,表现为腰背酸痛的改善,连续活动时间的增加和分别用单光子骨矿密度测定仪或DA-I型X线骨矿密度分析仪测定骨矿密度在多数病例有增加的趋势等。在此基础上,用糖皮质激素制作成骨质疏松动物模型,其中两组在制作模型的同时给予喂药;制成模型后则用四组药物喂药,分别喂药18周和12周后处死全部动物作相关的检测。由此观察这些中药防治骨质疏松症的疗效并讨论、思考有关的问题。

1 材料与方法

1.1 实验药物 第I组中药由上海中医药大学附属曙光医院制剂室提供;其它中药由上海市黄浦区中医医院提供;地塞米松磷酸钠注射液由上海第一制药厂提供,规格1ml:5mg,批号93-1208;盐酸氯氨酮注射液由上海第九制药厂提供,规格2ml:0.1g,批号92-1201;维生素D₃由上海第九制药厂提供,批号91-0403。

1.2 实验动物 12月龄SD雄性大鼠64只,体重400±20g,由上海中医药大学实验动物中心提供(上海市医学实验动物管理委员会实验合格证书号001750)。

1.3 动物饲养 各组大鼠分笼饲养,自由摄取标准大鼠饲料(钙1.01%,磷0.78%),自由饮用蒸馏水,室温18±2℃。

1.4 动物分组与处理 将大鼠随机分为空白对照组8只、地塞米松组(模型组)8只,处方I预防组8只,处方I预防组8只,处方I治疗组8只,处方I治疗组8只,处方II治疗组8只,处方IV治疗组8只。空白对照组、地塞米松组分别肌肉注射生理盐水、地塞米松,6周后停用,常规饲养;预防组I、II在注射地塞米松的同时分别给予相应的中药复方,6周后停用地塞米松,继续给予相应的中药复方;各治疗组注射地塞米松6周后,停用地塞米松,开始给予相应的中药复方;18周以后各组全部处死。

1.5 试剂盒 骨钙素试剂盒由北京长城免疫技术研究所提供;甲状旁腺素试剂盒,睾酮试剂盒,雌二醇试剂盒、降钙素试剂盒全由美国

DPC 公司提供。

1.6 实验仪器 DPX-L 型双能 X 线骨密度仪(美国); INSTRON-1122 型万能材料试验机(英国); 游标卡尺(中华金华); 80-1 型离心沉淀机(中国上海); JOEL-100CX II 型透射电镜。

1.7 观察指标及其检测方法

全身骨密度的测定: 处死以前, 给予大鼠腹腔注射 5% 氯氨酮注射液, 剂量 10mg/100g 体重。当大鼠呈现稳定的昏睡状态达到 10 分钟以上时, 置于 DPX-L 型双能 X 线骨密度仪的探头下, 应用全身骨密度软件进行全身扫描, 并且自动打印测定结果。

股骨抗弯强度的测定: 大鼠致死以后, 取出完整的右侧胫骨。首先用游标卡尺测定股骨中段的宽度和厚度计算截面的面积; 然后将股骨放在万能材料试验机的支架上(跨距 = 25mm), 以 5mm/分钟的速度下压于股骨中段, 记录纸上呈现力线突然断裂时, 记录最大的压力载荷; 最后计算抗弯强度(单位截面积上最大的压力载荷)。

血清生化指标测定: 通过心脏采血法致死动物, 抽出的血液离心以后取出血清, 应用放免方法, 分别选择相应的试剂盒测定血清中的骨钙素, 降钙素, 甲状旁腺素, 睾酮, 雌二醇的水平。

骨组织显微结构观察: 取右侧胫骨投入 4% 福尔马林固定 24 小时以后, 锯下近端 1/3, 硝酸脱钙, 常规脱水, HE 染色, 光镜观察。

骨组织超微结构观察: 取左侧胫骨投入 15% 卡洛斯液进行前固定 2 小时, 然后在二甲

磷酸缓冲液洗 2 小时, 锇酸固定 1.5 小时, 系列酒精脱水, 环氧丙烷不同浓度树脂渗透, 包埋, 切片, 醋酸铅和柠檬酸铅双染色, 透射电镜观察。

1.8 统计学处理 各组大鼠所有观察结果都以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组均数之间比较采用 t 检验法。

2 结果

2.1 造模 6 周后光镜下骨小梁变细且紊乱, 再 12 周后未能修复, 预防组的骨小梁排列较整齐, 6 周后开始用药的治疗组骨小梁有一定的修复。透射电镜下正常的骨表面成骨细胞和破骨细胞均可见到, 较为平衡。模型组破骨细胞呈活跃状态, 覆盖在骨表面, 极少有成骨细胞, 胶原纤维破坏, 排列紊乱。预防组则成骨细胞活跃, 覆盖在骨表面, 有大量的胶原纤维形成, 治疗组也都有较多的成骨细胞。

2.2 双能 X 线骨矿密度测量、股骨抗弯强度测量, 血骨钙素、甲状旁腺素、降钙素、雌二醇、睾酮的测量见附表。治疗和预防各组的骨密度、股骨抗弯强度都高于模型组, 除了预防 I 组以外, 均未达到正常对照组的水平, 而预防 I 组与正常对照组之间无显著差异。各组雌激素水平高于模型组也高于正常对照组, 而睾酮水平高于模型组, 除了预防 I 组明显高于正常对照组外, 各组均未达到正常对照组的水平, 各组骨钙素的水平与模型组的水平相比无显著差异。各组甲状旁腺素的水平低于模型组, 除了 I 组还低于正常对照组, 降钙素除了治疗 III 组都升高。

附表 各项检测值表(各组 n=8, $\bar{x} \pm s$)

项目	正常组	模型组	治疗 I	治疗 II	治疗 III	治疗 IV	预防 I	预防 II
股骨抗弯强度	22.540 ± 5.454	14.152 ± 2.249	21.191 ± 3.407	20.556 ± 2.270	19.826 ± 3.314	16.251 ± 8.004	24.816 ± 6.368	20.457 ± 2.621
骨密度	0.4232 ± 0.025	0.3823 ± 0.017	0.4132 ± 0.0134	0.4175 ± 0.0210	0.4015 ± 0.0087	0.4173 ± 0.0450	0.4517 ± 0.1260	0.4042 ± 0.0166
骨钙素	2.802 ± 0.586	2.470 ± 0.450	3.126 ± 0.749	2.708 ± 0.273	2.973 ± 0.304	2.825 ± 0.714	2.817 ± 0.467	3.240 ± 0.739
降钙素	59.277 ± 19.132	70.192 ± 13.983	68.657 ± 53.939	72.021 ± 29.545	51.512 ± 16.360	101.689 ± 35.356	64.269 ± 16.364	82.187 ± 56.532
甲状旁腺素	9.203 ± 1.664	18.214 ± 8.499	13.626 ± 2.963	5.856 ± 4.328	6.658 ± 2.461	4.782 ± 2.163	10.190 ± 3.009	7.856 ± 3.744
睾酮	0.7883 ± 0.3504	0.2661 ± 0.1947	0.6614 ± 0.4072	0.6783 ± 0.7223	0.6091 ± 0.5269	0.7191 ± 0.4326	1.5422 ± 0.3584	0.7723 ± 0.3010
雌二醇	6.9764 ± 2.6907	5.3041 ± 1.7480	7.0796 ± 2.0292	7.7944 ± 3.8123	7.9172 ± 2.1067	8.4360 ± 2.1560	7.6244 ± 2.2687	7.6244 ± 2.2687

组方: 治疗 I、预防 I: 石斛 首乌 牡蛎 巴戟 茯苓 黄芪 补骨脂 杭菊 紫河车 鹿茸等; 治疗 II、预防 II: 黄芪 党参 丹参 附子 巴戟 茯苓 吐丝子 骨碎补 杜仲 紫河车 鹿角等; 治疗 III: 生地 龟板 党参 丹参 黄精 牛膝 首乌 玉竹 白芍 白术 山药 甘草等; 治疗 IV: 治疗 II 和治疗 III 各二分之一的组合

3 讨论

3.1 中药防治骨质疏松症的效果 在中国,即使是西医临床和科研人员在介绍骨质疏松症的药物时也把中药列为其中之一。因此,中药防治骨质疏松症是有效的已成为中国医学界的共识^[1~3]。临床报告及以某一侧面通过实验研究阐发机理的报告已屡见不鲜,但是在这个总的前提下又呈现组方的繁复多样,几个单位(或个人)可以有 $n+x$ 个处方^[4~15]。往往都能改善临床症状,也都能增加下降的骨量和降低的骨强度,然而要在其间作一点比较就很困难。

3.2 中药防治骨质疏松症的机理 从本研究结果看似与调节性激素的水平有关。在本研究中骨钙素的水平各组经统计学处理无显著差异,但如果从均值看似有使降低的骨形成得以改善。作者曾用第一处方治疗切卵巢动物模型,结果由于高转换引起的旺盛的骨形成得以抑制^[13,14]。两个实验放在一起就非常令人感兴趣。是否可以认为是对骨代谢的一种双向调节,中药治疗其他疾病也有类同情况,这是否是中药的一种特点,很值得进一步研究。

3.3 中药防治骨质疏松症的问题 虽然中药有效,但严格地说临床报告还都只是概念上的,因为尚没有超过一年的观察,出现连续用药和观察超过两年也许还要相当多的时间。因此,这一研究的规范性还有很大的距离。原因也许是多方面的,组方的繁复多样、组方沿用的功利关系、制剂的难以长期应用接受等等,由此也很难实现临床和实验的可重复性。这就影响这一工作进入一个新的阶段。在我们的实验中,各项检测的离散度也很大。如果不能再重复,则其确定性意义就很难定论。所以能有相对统一的原则、

组方、制剂、观察方法、实验规范,可能有望得到一些突破性的进展。

参 考 文 献

- 1 丁桂芝,李仁康,李榕,等. 从骨矿含量变化规律看肾主骨理论的科学性. 湖北中医杂志,1991,13(2):27.
- 2 许志奇,郭素华,杨定焯,等. 肾虚证骨矿物质含量的初步研究. 中西医结合杂志,1991,(4):222.
- 3 全国十三省市骨矿含量调查合作组. 骨骼生长衰老规律和原发性骨质疏松症预后研究. 中国骨质疏松杂志,1995,1(1):1.
- 4 陈大蓉,唐显著,郑坤渝,等. 中药护骨合剂防治绝经后骨质疏松症的临床研究. 中医杂志,1992,33(11):36.
- 5 刘和娣,李恩,佟晓旭. 补肾方药对地塞米松诱发的骨质疏松大鼠体内雌激素和 1,25 羟维生素 D₃ 的影响. 中国中西医结合杂志,1993,13(9):544.
- 6 沈霖,杜靖远,杨家玉,等. 补肾密骨液对实验性骨质疏松症的影响. 中医正骨,1994,6(4):3.
- 7 姚青芬,陈慕莲,刘尚保,等. 仙灵真宝治疗骨质疏松大鼠的实验研究. 中国骨质疏松杂志,1995,1(2):170.
- 8 蒋淑媛,尚亚平,吴林生,等. 骨疏康颗粒治疗骨质疏松症的临床观察. 中国骨质疏松杂志,1995,1(2):167.
- 9 李恩,陶静华,刘和娣,等. 补肾方药治疗骨质疏松的实验研究与临床观察. 中国骨质疏松杂志,1996,2(4):65.
- 10 邓伟民,贺扬淑,冯永佳. 补肾中药治疗绝经后骨质疏松症疗效分析. 中国骨质疏松杂志,1997,3(1):64.
- 11 李朝阳,吴铁,林柏云,等. 芪蓉肾宝与己烯雌酚对去卵巢大鼠骨代谢的影响. 中国骨质疏松杂志,1997,3(1):67.
- 12 王洪复,励杏娣,李洪奎,等. 补肾与富钙中药对维甲酸诱发大鼠骨质疏松防治作用观察. 老年医学与保健,1997,3(3):6.
- 13 宋献文,石印玉,沈培芝. 补肾中药防治绝经后骨质疏松症的实验研究. 上海铁道医学院学报,1995,9(3):1.
- 14 宋献文,石印玉,沈培芝. 补肾中药对实验性骨质疏松的疗效观察及其机制探讨. 中国中医骨伤科,1996,4(3):5.
- 15 沈培芝,徐宇,张戈,等. 比较密骨胶囊与维生素 D₃ 对糖皮质激素性骨质疏松模型骨量、骨强度影响的研究. 中国骨质疏松杂志,1997,3(3).