

芪藿肾宝对类固醇性大鼠骨质疏松骨密度和生物力学的实验研究

廖进民 李青南 吴铁 胡彬 黄连芳 李忠华 钟世镇

【摘要】 目的 从生物力学和骨矿含量测定研究芪藿肾宝胶囊对类固醇性大鼠骨代谢的影响。方法 采用3月龄雄性SD大鼠28只,随机分为基础对照组、年龄对照组、激素模型组和中药治疗组。后2组给醋酸泼尼松 $4.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig, 2次/周;治疗组还给芪藿肾宝胶囊 $5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($330 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), ig, 6次/周。3个月后取股骨和第5腰椎行骨密度测定,再行扭转、三点弯曲和压缩试验。结果 与年龄对照组比较,激素模型组股骨和第5腰椎的总骨密度减少了14.64% ($P < 0.01$);股骨干在三点弯曲试验时所承受的载荷减少了17.1% ($P < 0.05$);其余的力学参数都出现减少的趋势。芪藿肾宝预防组股骨和第5腰椎的总骨密度有所增加,股骨扭转角度明显增加40.3% ($P < 0.05$),其余的力学参数都出现增加的趋势。结论 长期使用糖皮质激素(GC)会使大鼠皮质骨和松质骨的骨密度和力学性能下降,从而易致骨折;应用芪藿肾宝则能阻止GC所致的力学性能下降及骨密度减少。

【关键词】 醋酸泼尼松; 骨质疏松症; 骨密度; 生物力学; 中药

Effects of Chinese herbal medicine *Qihuo Shenbao* on bone mineral density and biomechanical in rats with glucocorticoids-induced osteoporosis LIAO Jinmin¹, LI Qingnan², WU Tie², et al. 1. Institute of Clinical Anatomy, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Laboratory of Bone Biology Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China

【Abstract】 Objective To explore effects of Chinese herbal medicine *Qihuo Shenbao* on bone mineral density(BMD)and biomechanics in glucocorticoids(GC)-induced osteoporotic rats. **Methods** 28 male 3-month-old Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups: the basal control group the age control group, the corticosteroid group (prednisone acetate $4.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig, twice a week) and the *Qihuo Shenbao* group (*Qihuo Shenbao* $0.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig, 6 times per week, plus prednisone as in the corticosteroid group). The BMD and the bio-mechanical measurements of femurs and 5th lumbar vertebrae in each group were made by using DEXA and SWD-10 electronic universal material testing machine after 90d. **Results** the total BMD of femora and 5th lumbar vertebrae in the corticosteroid group were significantly decreased by 14.64% ($P < 0.01$), and the loads imposed on the femoral shalps in three-point bending test decreased by 17.1% ($P < 0.05$) though the other parameters tended to decrease in comparison with control groups. In the meantime in the *Qihuo Shenbao* group, the total BMD of femora and 5th lumbar vertebrae tended to increase. The torsion angle of femora were significantly increased by 40.3% ($P < 0.05$), and the other parameters tended to increase. **Conclusion** When GC is used for a long time, the BMD and mechanical characters of femora and 5th lumbar vertebrae in the rats will decrease, and bone fracture will easily occur. The decline of BMD and mechanical characters of rat skeleton induced by GC can be inhibited by the Chinese herbal medicine *Qihuo Shenbao*.

【Key words】 Prednisone acetate; Osteoporosis; Bone mineral density; Biomechanics; Chinese herbal medicine

基金项目:广东省中医药管理局资助项目(97253);广东省科技计划项目(302020401)

作者单位:510515 广州,第一军医大学临床解剖学研究所(廖进民、李忠华、钟世镇);广东医学院骨生物学研究室(李青南、吴铁、胡彬、黄连芳)

用骨组织形态计量学进行研究,GC能诱致实验性大鼠骨质疏松^[1-3],为了寻找安全、有效的抗GC致骨质疏松的药物,经过多年筛选发现,由中药淫羊藿、黄芪和白术等组成的芪藿肾宝胶囊(具有补肾益气健脾作用)^[4]能降低骨吸收和增加骨形成,从而对GC所致大鼠骨质疏松有明显的预防作用^[5]。然而,骨组织形态计量学只能研究骨的结构,不能直接判断骨量和骨的强度^[6]。为了能从多个侧面考察该药方的预防效果,本实验旨在从生物力学和骨矿含量测定角度观察该药方对GC诱致骨质疏松的力学性能和骨密度影响,为临床研制抗类固醇性骨质疏松药物提供参考资料。

材料和方法

1. 材料

(1)药物:醋酸泼尼松(广东医学院附属医院生产,批号960307),5 mg/片,使用前用生理盐水配成4.5 mg/ml的混悬液;芪藿肾宝胶囊由本院医药科技开发中心从箭叶淫羊藿、黄芪和白术中提取^[5]。

(2)动物和饲料:采用3月龄Sprague-Dawley (SD)雄性大鼠(第一军医大学实验动物中心),体重(226±12)g,普通级。饲料由本院动物实验中心提供。饲料配方选自朱清华等饲料配方^[7],非低钙饲料。

(3)仪器:双能X线吸收骨密度测量扫描仪(Dual energy X-ray absorptiometry Scanner, DEXA),美国Hologic公司QDR-2000+(广东省人民医院核医学科提供)。放射源为X线,精密度为1%,扫描速度60 mm/s,分辨率(resolution)1.0×1.0 mm,扫描宽度20.0 cm,并配置了专用动物测量软件包。SWD-10型材料试验机(长春试验机厂研究所)和扭转试验部件(第一军医大学医学生物力学实验室),由第一军医大学医学生物力学实验室提供,用于进行股骨干的扭转、三点弯曲和腰椎的压缩试验。

2. 方法

(1)建立模型:3月龄雄性SD大鼠(第一军医大学实验动物中心)37只,体重(226±12)g。随机分为4组:A组(基础对照组),实验开始时将其杀死取材;B组(年龄对照组),灌喂生理盐水5 ml·kg⁻¹·d⁻¹;C组(激素模型组),给醋酸泼尼松4.5 mg·kg⁻¹,ig,2次/周;D组(芪藿肾宝治疗组),除按C组同法泼尼松外,还给芪藿肾宝胶囊0.38 g·kg⁻¹,ig,6次/周。实验期间每周称体重1次,并按体重变化调整给药量。所有动物在24~28℃、通风良好、湿度60%~80%的条件下饲养,自由摄食和饮水。

(2)取材:实验90 d后,用2%戊巴比妥钠(50 mg·kg⁻¹)麻醉并用注射器穿右心室抽血处死,取下的股骨和第5腰椎置于10%磷酸缓冲液配制的福尔马林中固定24 h,再置于75%酒精中。

(3)骨密度测定和生物力学检测:用DEXA对剥离软组织的股骨和椎体进行骨密度测定。先测定每组每只大鼠股骨和第5腰椎的总骨量,再分别测每块股骨近段、中段、远段和第5腰椎各自的骨矿含量。数据处理采用586微机+DSP+单片控制机进行。然后取大鼠股骨用自凝牙托材料包埋股骨的两端(1 cm×1 cm×1 cm),待包埋块凝固后置于SWD-10型材料试验机上进行三点弯曲和扭转(该机上附一扭转试验部件)测试。取第5腰椎置于SWD-10型材料试验机上进行压缩测试。分别记录各力学参数。

(4)统计学处理:所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各組间差异用组间t检验处理,百分率(%)用 $\bar{\chi}_2 \div \bar{\chi}_1 \times 100 - 100$ 公式计算。

结果

1. 芪藿肾宝胶囊对大鼠股骨和第5腰椎的骨密度影响

用DEXA检测股骨、第5腰椎的总骨量及其各自的骨量,结果见表1。

表1 大鼠股骨干和第5腰椎骨密度值 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	总BMD (g/cm ²)	R-BMD(g/cm ²)			L-BMD(g/cm ²)			L.V-BMD(g/cm ²)
		PF	MF	DF	PF	MF	DF	
A	0.074±0.005	0.100±0.009	0.074±0.006	0.087±0.009	0.099±0.009	0.070±0.006	0.090±0.003	0.075±0.012
B	0.088±0.007	0.101±0.012	0.087±0.011	0.117±0.011	0.104±0.009	0.087±0.009	0.116±0.015	0.100±0.008
C	0.075±0.009	0.101±0.015	0.081±0.011	0.092±0.015	0.102±0.010	0.081±0.012	0.093±0.014	0.077±0.010
%-B	-14.64**	-0.28	-7.31	-21.42**	-1.96	-7.07	-19.62*	-23.48**
D	0.078±0.009	0.095±0.014	0.078±0.013	0.104±0.020	0.085±0.011	0.079±0.010	0.106±0.017	0.059±0.009
%-B	-11.42*	-6.14	-10.63	-10.80	-18.24**	-9.14	-8.29	-41.34**
%-C	3.78	-5.88	-3.58	13.52	-16.61*	-2.22	14.09	-23.24**

注:总BMD为股骨和第5腰椎的总骨密度;R-BMD为右侧股骨的骨密度;L-BMD为左侧股骨密度;L.V-BMD为腰椎的骨密度;PF为股骨近段;MF为股骨中段;DF为股骨远段;%-B:与B组比较的百分变化率;%-C:与C组比较的百分变化率,*P<0.05;**P<0.01(下同)

由表1可见,与年龄对照组比较,激素模型组股骨和第5腰椎的总骨密度减少了14.64% ($P < 0.01$);第5腰椎的骨密度减少了23.48% ($P < 0.01$);右股骨和左股骨远段的骨密度分别减少了21.42% ($P < 0.01$)、19.62% ($P < 0.05$)。与激素模型组比较,芪藿肾宝预防组除股骨和第5腰椎的总骨密度、左右股骨远段的骨密度有所增加外,左股骨近段和第5腰椎的骨密度分别减少了16.61% ($P <$

0.05)、23.34% ($P < 0.01$);其余的骨密度参数均有减少的趋势。

与年龄对照组比较,芪藿肾宝预防组股骨、腰椎的骨密度还达不到对照组的水平。

2. 芪藿肾宝胶囊对大鼠股骨干和第5腰椎的力学性能影响

通过SWD-10型材料试验机分别对股骨和第5腰椎进行检测,结果见表2。

表2 大鼠股骨干和第5腰椎各力学性能参数值 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	股骨弯曲		股骨扭转			腰椎压缩	
	载荷(N)	刚性(N/mm)	载荷(N.m)	刚性(Nm/deg)	角度(degree)	载荷(N)	刚性(N/mm)
A	104.1 ± 44.1	198.7 ± 39.6	1.6 ± 0.1	0.2 ± 0.03	5.8 ± 0.7	239.9 ± 46.3	425.4 ± 213.2
B	131.1 ± 16.3	251.6 ± 89.2	1.8 ± 0.5	0.3 ± 0.04	5.4 ± 1.0	293.6 ± 39.6	386.4 ± 139.3
C	108.7 ± 16.4	240.6 ± 55.5	1.7 ± 0.6	0.3 ± 0.1	4.4 ± 1.6	285.1 ± 86.4	346.6 ± 118.0
% - B	-17.1*	-4.4	-8.4	-0.9	-19.5	-2.9	-10.3
D	118.7 ± 24.5	292.7 ± 65.1	1.8 ± 0.3	0.3 ± 0.1	6.1 ± 1.3	265.6 ± 63.3	456.1 ± 194.1
% - B	-9.5	16.3	0.0	0.0	13.0	-9.5	18.0
% - C	9.2	21.7	9.2	0.9	40.3*	-6.8	31.6

由表2可见,与年龄对照组比较,激素模型组股骨干在三点弯曲试验时所承受的载荷减少了17.1% ($P < 0.05$);其余的力学参数(与对照组相比差异无显著性)都出现减少的趋势。与激素模型组比较,芪藿肾宝预防组除腰椎压缩试验载荷的参数有减少的趋势外,其余的力学参数都出现增加的趋势,而股骨扭转角度明显增加40.3% ($P < 0.05$)。

芪藿肾宝预防组与对照组比较,股骨三点弯曲载荷、腰椎压缩载荷和刚性分别减少了9.5%、9.5%,差异无显著性,其余的力学参数均超过了对照组。

讨论

骨由皮质骨和松质骨组成,不同性质的骨结构各具有其机械性能。在骨质疏松时,由于皮质骨的厚度减少和松质骨明量减少,其力学构筑将发生改变,骨的强度和刚度必然会减少^[8]。类固醇激素对大鼠皮质骨的影响主要是使骨外膜面的骨形成减少并使骨内膜面的骨吸收增加,从而导致皮质骨变薄、骨髓腔增大^[9];它对松质骨的影响是使骨吸收增加和骨形成减少,导致了骨小梁的面积减少^[10]。本实验激素模型组的皮质骨抵抗弯曲应力的能力出现下降,表现为弯曲载荷比对照组减少17.1%;其余的(弯曲刚性、扭转载荷和刚性)参数均有减少的倾向。同时,由于松质骨的构筑发生了变化,其抵抗压应力的能力也发生了改变,表现为腰椎抵抗变形的能力

下降,其压缩载荷和刚性也有减少的趋势。骨质疏松除了有机成分减少外,骨的化学成分也会相应减少,从本实验可见,激素模型组股骨、腰椎的总骨密度减少了14.64%;单个腰椎的骨密度减少了23.48%;右股骨远段和左股骨远段的骨密度分别减少了21.42%和19.62%。这些结果与骨组织形态计量学所得结果基本一致^[9,10],说明骨质疏松除影响骨的结构外,骨量和骨的强度也会受到影响。

骨组织形态计量学证实,芪藿肾宝不但对实验性骨质疏松有预防作用(抑制骨吸收,加强骨矿化,使骨小梁增厚)^[4],而且对类固醇性大鼠骨质疏松也有预防作用(促进新骨形成、抑制骨吸收,使骨小梁面积、密度达到对照组水平)^[5];通过扫描电镜观察大鼠松质骨结构,该药方能有效防止类固醇所引起的松质骨三维结构的损害,表现为骨小梁排列整齐,连接紧密^[11]。芪藿肾宝对类固醇性大鼠骨骼的骨密度和力学性能影响表现为:与激素模型组比较,芪藿肾宝预防组除腰椎压缩试验载荷的参数有减少的趋势外,其余的力学参数都出现增加的趋势,而股骨扭转角度明显增加40.3% ($P < 0.05$);同时,芪藿肾宝预防组除股骨和第5腰椎的总骨密度、左右股骨远段的骨密度都有所增加。这说明了该复方制剂对类固醇性大鼠骨质疏松所致的骨量和骨的强度降低有一定预防作用。

总之,长期使用类固醇激素,会导致大鼠骨的强度和骨量降低;芪藿肾宝胶囊除能改善类固醇性大

鼠骨骼的结构外,还能增强其力学性能。该药方对骨的矿化影响不大,提高骨量不明显,还值得进一步深入研究。

参 考 文 献

- 1 李青南,黄连芳,谢华,等. 糖皮质激素所致大鼠骨质疏松症的定量研究. 中国药理学通报, 1993, 9: 475-477.
- 2 廖进民,李青南,黄连芳,等. 泼尼松对大鼠骨骼影响的实验研究. 解剖学杂志, 1994, 17: 358-360.
- 3 李青南,黄连芳,谢华,等. 泼尼松对大鼠密质骨骨骼的影响. 广东医学院学报, 1993, 11(4): 183-185.
- 4 李朝阳,吴铁,林柏云,等. 芪藿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: 67-69.
- 5 吴铁,李青南,胡彬,等. 壮骨胶囊防治类固醇大鼠肾阳虚的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 1999, 5(4): 76-82.
- 6 李青南. 骨质疏松药物研究指南(美国-FDA)的方案简介-附去卵巢模型及联合用药. 中国骨质疏松杂志, 1997, 3: 75-78.
- 7 朱清华,主编. 实验动物学. 广州:广东高教出版社, 1991. 85.
- 8 过邦辅,译. 临床骨科生物力学基础. 上海:上海远东出版社, 1993. 18-55.
- 9 李青南,黄连芳,谢华,等. 泼尼松对大鼠密质骨骨骼的影响. 广东医学院学报, 1993, 11(4): 183-184.
- 10 廖进民,李青南,黄连芳,等. 泼尼松对大鼠骨骼影响的实验研究. 解剖学杂志, 1994, 17: 358-360.
- 11 谢华,吴铁,李青南,等. 芪藿肾宝抗泼尼松所致大鼠松质骨结构破坏作用. 中国骨质疏松杂志, 1998, 4(3): 54-57.

(收稿日期:2002-08-09)

第九届全国骨质疏松年会暨第六届全国钙剂年会 参 会 通 知 (第二轮通知)

2003年5月18~23日 四川·成都

(可获继续教育学会10分)

经上级批准,第九届全国骨质疏松年会暨第六届全国钙剂年会定于2003年5月18~23日,在四川省成都市成都军区空军第一招待所(即成都飞天饭店)举行。现将有关您参会的具体事项通知如下:

一、**报到时间:**1. 参加第三届中国老年学会骨质疏松委员会三届二次扩大会议的委员、各省、市、自治区骨质疏松委员会主任委员、秘书长、第三届中国骨质疏松杂志编委和参加大会优秀论文评选的代表于5月17日报到(5月18日上午8:30举行三届二次扩大会议,同时进行大会优秀论文评选)。

2. 其他参会代表于5月18日报到。

二、**报到地点:**成都市成都军区空军第一招待所(成都飞天饭店)。地址:成都市新南路102号(乘车路线:从火车站乘55路公交车至磨子桥站下车即到;从机场乘公交大巴到经干院下车换乘27路或19路(1~2站地)到四川大学门口下车往北100米左侧即到)。

三、**会议注册:**现场注册①参会代表:注册费为680元/人;②不参展、不举办卫星会议的厂家/公司参加会议代表:注册费为1000元/人;③继续教育学会:10分,收取成本费15元。

四、**住宿标准:**1. 三人间:80元/床/天;2. 双人标准间(甲:120元/床/天;乙:100元/床/天);3. 单人间:340元/天。

五、**撤离时间:**5月23日12时前;如需延住由本人自理。

六、**几项说明:**

1. 凡参会代表,免费参加开/闭幕宴会和赠送会议论文集、论文证书及资料包等。

2. 入住空军招待所以外的代表,每人每天交伙食费50天。

3. 国内代表入住空军招待所的陪同人员,每人交20元/天伙食费,将被邀请参加大会的开/闭幕宴会。

4. 拟参会代表为了在北京给您制作胸卡,向成都预订房间,有计划的印刷会议资料,制作会议包的数量,请将您的参会回执一定在4月12日前寄给学会办公室。

七、准备开展骨质疏松和骨矿研究工作希望到会学习的人员,虽没有论文摘要,也同正式代表一样注册、参会。

联系人:学会办公室孙继荣主任 地址:北京市朝阳区小营路9号亚运豪庭A座05F室 邮编:100101

电 话:010-64985881 传 真:010-64936211 E-mail:2001@china-osteofound.org

中国骨质疏松网:<http://www.china-osteofound.org> (网上下载或复制参会回执同样有效)

中国老年学学会骨质疏松委员会

中国骨质疏松杂志社

2003年1月20日