

活骨胶囊、抗骨坏死散联合用药对去势大鼠骨质病变的治疗作用

刘志云 葛争艳 李宏坤 刘建勳

【摘要】 目的 观察了内服活骨胶囊、外敷抗骨坏死散对去势大鼠骨质病变模型的治疗作用。方法 采用3月龄雌性大鼠,切除双侧卵巢造成骨质病变模型,观察两药联用对动物骨力学、骨组织形态学的影响。结果 活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用,骨力学指标明显增强,骨钙含量、骨皮质面积明显增加,骨小梁面积、骨钙化面积与对照组相近。结论 活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用可明显起到保护骨骼的作用。

【关键词】 去势雌性大鼠;骨力学;骨组织形态学;雌激素

The therapeutic effects of "Activating-Bone Capsule" and "Anti-Osteonecrosis Powder" and combination of both recipes on castrated female rats with osteoporosis LIU Zhiyun, GE Zhengyan, LIU JianXun Department of Basic Research, Xi Yuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China

【Abstract】 Objective To study therapeutic effects of combination recipes on castrated female rats with osteoporosis. **Methods** Female rats aged 3 months were used to be an animal model of osteoporosis caused by castrated bilateral ovaries. And then after one week, "activating-bone capsule", and "anti-osteonecrosis powder" combination of both recipes was administrated, respectively to observe parameters of bone mechanics, bone morphology, inorganic element, hormone and weight of uterus in female rats. **Results** The results demonstrated that "activating-bone capsule" and "anti-osteonecrosis powder" and combination of both recipes could obviously protect bone, such as parameters of bone mechanics strengthened, the concentration of bone calcium and area of bone cortex significantly increased. The area of bone trabecula, and bone calcification was equivalent to model control group. **Conclusion** The results demonstrated that "activating-bone capsule" and "anti-osteonecrosis powder" and combination of both recipes could obviously protect bone.

【Key words】 Castrated Female Rats; Bone mechanics; Bone morphology; Estrogen

活骨胶囊、抗骨坏死散是由骨碎补、桑寄生等中药组成,在临床上治疗股骨头缺血性坏死,骨质疏松等骨质病变疾病收到了较好的效果。本实验采用3月龄雌性大鼠,切除双侧卵巢造成骨质病变模型,观察了活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用对去势大鼠骨质病变模型的治疗作用。

材料和方法

1. 药物:内服药活骨胶囊 1g 生药/1g 粉,批号:990105;外敷药抗骨坏死散 1g 生药/1g 粉,批号:990120。由中国人民解放军空军指挥学院医院门诊部提供。

2. 动物:选用3月龄 Wistar 种雌性大鼠,Ⅱ级,体重 240 g 左右,由中国医学科学院实验动物研究所提供, < 医动字 > 01-3008。

3. 方法:动物腹腔麻醉,施双侧卵巢切除术(对照组做假手术不切除卵巢),手术当天肌注青霉素,以防感染。于术后1周随机分组:①对照组;②模型组;③两药联用大剂量组(内服 0.8 g 生药/kg);④两药联用中剂量组(内服 0.4 g 生药/kg);⑤两药联用小剂量组(内服 0.2 g 生药/kg);1周灌胃给药 6 d,外抹药膏方法:将大鼠用尼龙搭扣环裹住胸部吊绑于鼠架底栏上,使其双后肢能踩地为准。用理发推子推去左后肢至左后背部的毛,将调好的抗骨坏死散药膏在 37℃ 予热后抹在脱毛部位,3 g 生药/kg,并用保鲜膜敷盖其上,每日外敷 2 h。连续给药 3 个月,试验结束后,解剖取大鼠左侧股骨,应用 QTS-25 流

变仪测定计算骨力学指标^[1,3]。胫骨做不脱钙骨切片^[2],在 Jung①K 重型切片机(德国产)上进行不脱钙骨切片,应用浸染钙盐的 von Kossa 改良银染法(Ag 法)显示矿化骨,测量钙化骨面积及占总面积的百分比。应用 Alcian blue-PAS 法显示中性和酸性黏液物质(AB 法),测量酸性黏液物质占总面积的百分比。应用甲苯胺蓝染色法(TB 法)显示骨小梁等类骨质,测量骨小梁面积与髓腔面积的比值及骨小梁与总面积的比值。切片在显微镜下观察并输入 HPLAS-100 型图像分析仪(同济医科大学软件)进行分析测定,每张片子在靠近骨垢线附近取视野进行测量,所测数据均进行统计学处理, *t* 检验进行组间

比较。

结 果

1. 对大鼠骨力学的影响

测定结果表明:模型组 4 项骨力学指标明显低于对照组($P < 0.05 \sim 0.01$),活骨胶囊与抗骨坏死散联用大、中、小剂量组最大载荷、最大挠度、最大应力、弹性挠度与模型组比较有明显增强($P < 0.05 \sim 0.01$);提示活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用可明显提高去势大鼠骨结构力学,使骨组织承载能力趋于正常。

表 1 对骨力学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	大鼠数(只)	最大载荷(N)	最大挠度(mm)	最大应力(MPa)	弹性挠度(mm)
对照组	10	54.11 ± 6.03	0.19 ± 0.03	75.89 ± 8.50	0.08 ± 0.01
模型组	10	44.54 ± 5.14**	0.15 ± 0.02**	58.72 ± 4.87**	0.06 ± 0.01*
两药联用大剂量组	10	48.28 ± 4.58*	0.20 ± 0.03**	69.40 ± 10.29**	0.08 ± 0.02*
两药联用中剂量组	10	49.8 ± 4.32*	0.21 ± 0.04**	73.22 ± 12.95**	0.09 ± 0.03*
两药联用小剂量组	10	47.71 ± 5.12*	0.18 ± 0.03**	69.42 ± 16.94	0.08 ± 0.02*

注:与对照组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2. 对大鼠胫骨骨形态学的影响

不脱钙骨切片经 3 种特殊染色方法染色,镜下观察和图像分析结果表明,模型组骨小梁面积与髓腔面积比值及骨钙化面积等指标数值低于对照组。两药联用 3 个剂量组骨小梁面积与髓腔面积比值、

骨小梁面积占全骨面积及钙化面积与模型组比较有明显的增加。AB 法测量酸性黏液物质的含量,淡蓝色显示为酸性黏液物质,两药联用 3 个剂量组酸性黏液物质的含量明显减少,剂量越大黏液物质的含量越少。

表 2 对骨形态学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	TB 染色		Ag 染色		AB 染色
	骨小梁面积/髓腔面积	骨小梁面积/全骨面积	钙化骨面积	占总面积(%)	酸性黏液物质面积(%)
对照组	0.89 ± 0.18	0.47 ± 0.06	4613.00 ± 1885.61	36.62 ± 10.67	24.78 ± 9.73
模型组	0.83 ± 0.19	0.45 ± 0.06	4453.05 ± 1379.06	30.33 ± 12.37	21.16 ± 5.82
两药联用大剂量组	1.0 ± 0.07**	0.50 ± 0.02**	4601.39 ± 315.79	37.46 ± 6.97	11.56 ± 3.36***
两药联用中剂量组	0.95 ± 0.20	0.48 ± 0.07	4723.65 ± 127.32	34.34 ± 6.48	12.58 ± 4.37***
两药联用小剂量组	1.07 ± 0.42*	0.50 ± 0.06**	4981.73 ± 134.95	39.25 ± 10.66*	18.14 ± 6.93*

注:与对照组比较* $P < 0.05$;与模型组比较* $P = 0.05$, ** $P = 0.05$; $n = 10$

3. 活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用对大鼠雌激素、子宫重量的影响

结果表明,模型组与对照组比较雌激素水平明显降低,子宫重量明显减小。活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用 3 个剂量组血清雌激素水平与模型组比较明显增高,两药联用对子宫重量作用不明显。

表 3 对各组雌激素、子宫重量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	大鼠数(只)	雌二醇(pg/ml)	子宫指数(g)
对照组	10	2.65 ± 0.79	0.194 ± 0.053
模型组	10	1.36 ± 0.88*	0.026 ± 0.005**
两药联用大剂量组	10	3.82 ± 1.81*	0.032 ± 0.006
两药联用中剂量组	10	3.54 ± 0.93*	0.034 ± 0.006*
两药联用小剂量组	10	4.58 ± 0.71*	0.035 ± 0.009*

注:与对照组比较* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$;与模型组比较* $P = 0.05$

讨 论

机体通过激素的动态平衡来调节、维持正常骨代谢。去势大鼠内服活骨胶囊、外敷抗骨坏死散两药联用可能调节机体的这些动态变化而改善了骨的代谢。通过以上结果表明:模型组4项骨力学指标明显低于对照组($P < 0.05 \sim 0.01$),骨形态学指标及雌激素测定结果也明显低于对照组,说明采用3月龄雌性大鼠切除双侧卵巢后可造成一系列骨质改变。活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用大、中、小剂量组的骨力学最大载荷、最大挠度、最大应力、弹性挠度与模型组比较有明显增强($P < 0.05 \sim 0.01$)。不脱钙骨切片结果显示:骨钙化光密度值及骨小梁与髓腔面积比值,给药组中大剂量组明显增加。未钙化骨的酸性黏多糖物质给药组明显降低。血清雌激

素测定结果提示活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用有明显增高体内雌激素含量,对子宫重量无明显作用。综上所述,活骨胶囊、抗骨坏死散两药联用有明显改善骨组织结构,提高去势大鼠骨结构力学,使骨组织承载能力趋于正常,对改善和治疗骨质病变如股骨头坏死、骨质疏松等病痛有一定的治疗作用,其机理尚待进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 丁桂芝,曾天舒,周勇,等. 补肾中药对去势大鼠骨生物力学影响的研究. 中国中医骨伤科杂志, 1995, 3:1-3.
- 2 崔洪英,张柏丽,安秀玲,等. 补肾中药对骨质病变大鼠骨形态的影响. 天津中医, 1997, 14:226-227.
- 3 黎小坚, Harold MF, 朱绍舜, 等. 基础骨生物学新观. 中国骨质疏松杂志, 2001, 7:152-165. (收稿日期:2003-12-29)

(上接第318页)

应严密缝合,避免创口裂开。拔牙创如张力过大,可行龈粘膜骨膜剥离松解,缝合牙龈,压迫止血,这样有利于血液供应及创口愈合。⑤注意口腔卫生,减少创口损伤。因临床应用时间较短,例数有限,远期疗效有待进一步观察。

参 考 文 献

- 1 廖素三,崔福斋,张伟. 组织工程中胶原基纳米骨复合材料的研制. 中国医学科学院学报, 2003, 25:36-38.
- 2 张丽军,王影,吴燕丽,等. 胶原基纳米骨修复兔下颌骨缺损的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 2004, 10:155-157
- 3 徐莉译,欧阳翔英校. 多孔矿化骨 Bio-oss 和胶原膜 Bio-Gide 治疗牙周骨缺损的临床、X线和组织学评价 精粹中国口腔医学继续教育杂志. (收稿日期:2004-06-10)

(上接第321页)

质疏松发展的目的。以人工重组甲状旁腺激素(PTH)为代表的通过刺激成骨细胞功能,进而促进骨合成代谢的新一代药物已开始服务于临床。他汀类药物作用机制的研究有可能为通过骨合成代谢途径治疗骨质疏松提供新的方法。

参 考 文 献

- 1 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science, 1999, 284:143-147.
- 2 Owen M, Friendstein AJ. Stromal stem cells: Marrow-derived osteogenic precursors. Ciba Found Symp, 1988, 136:42-60.

- 3 Maeda T, Matsunuma A, Kawane T, et al. Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cell. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 280:874-877.
- 4 Qu Q, Perä-Heape M, Kapane A, et al. Estrogen enhances differentiation of osteoblasts in mouse bone marrow culture. Bone, 1998, 22:201-209.
- 5 曲强,万新海,陈翠珠. 转录因子 *cbfa1* 在骨髓干细胞向成骨细胞分化过程中的表达. 中华实验外科杂志, 2003, 20(3):62-63.
- 6 Mundy G, Garrett R, Harris S, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. Science, 1999, 286: 1946-1949.
- 7 Whitfield JF, Morley P, Willick GE. The control of bone growth by parathyroid hormone, leptin and statins. Crit Rev Eukary Gene Expre, 2002, 12:23-51.

(收稿日期:2003-10-23)