

强骨饮与仙灵骨葆对去势大鼠腰椎骨形态计量学影响的对比研究

朱勤 刘康 史晓林 吴连国 毛应德龙

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2008)01-0058-03

摘要:目的 观察自拟强骨饮和仙灵骨葆对骨质疏松症的骨形态计量学的影响,并对比结果的不同,分析其不同的原因。方法 健康雌性SD大鼠60只,体重230~280g。随机分为3组,分别为治疗组(强骨饮组)、对照组(仙灵骨葆组)和空白组,每组20只。分别采取去势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1ml/g,对照组用仙灵骨葆灌胃,每日1次,每次3mg/kg。空白组不做处理。在给药后1.5、3、4.5和6个月每组各取5只大鼠进行检测,获得腰椎样本,经切片等处理后,显微镜下作骨形态计量学检测。结果 给药后治疗组1.5个月骨体积分数、骨小梁厚度与仙灵骨葆组数据相比有统计学意义,与空白组相比骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁间距都具有统计学意义。给药后3个月强骨饮组骨体积分数、骨小梁厚度与仙灵骨葆组相比差异均有统计学意义。给药后4.5个月强骨饮组骨体积分数、骨小梁厚度与仙灵骨葆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、骨小梁间距与仙灵骨葆组相比均具有统计学意义。结论 自拟强骨饮可以明显改善骨形态计量学指标,可能是通过刺激成骨细胞生长,抑制破骨细胞活性作用来实现的。

关键词: 卵巢切除术; 自拟强骨饮; 骨形态计量学; 骨质疏松症

Effect of Chinese herbal medicine (QiangGuYin) on collum femoris of bone histomorphometry in ovariectomized rats. ZHU Qin, LIU Kang, SHI Xiaolin, et al. The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Traditional Chinese Medicine University, Zhejiang 310005, China

Abstract: **Objective** To explore the bone histomorphology effect of QiangGuYin on lumbar ovariectomized rats. **Methods** Sixty femal SD rats, weighing 230~280 gram, were randomized into three groups: QiangGuYin group (treatment group), Xianlinggubao group (contrast group) and control group. All rats were varietomized. After 10 weeks, the osteoporosis model was established and the treatment group and contrast group were given QiangGuYin and Xianlinggubao respectively. The treatment group used QiangGuYin everyday, 1 ml/g. The contrast group used Xianlinggubao 3 mg/kg. And 1.5, 3, 4.5, 6 months after the treatment, 5 rats were sacrificed to explore. The lumbar were cut and stained with Masson Golder Trichrome for bone histomorphometric analysis. **Results** In BV/TV, Tb.Th, Tb.sp, the treatment group ovariectomized rats' in 1.5 m, compared with contrast group presented statistical significance; compared with control group also showed statistical significance. After 3 month, treatment group compared with contrast group showed statistical significance in BV/TV, Tb.Th. After 4.5 month, treatment group compared with contrast group showed statistical significance in BV/TV, Tb.Th. Give the medicine 6 m, Tb.sp, Tb.Th compared with contrast group all have statistical significance. **Conclusions** QiangguYin can effectively improve the histomorphometry index. The effect is probably reached by stimulating osteogenesis and suppressing the cytoactive of osteoclast and trend of the high bone transformation.

Key words: Ovariectomy; QiangGuYin; Histomorphometry; Osteoporosis

基金项目 浙江省科技厅重点攻关项目(2006C23011)

作者单位: 310005 浙江 浙江中医药大学附属第二医院

通讯作者: 史晓林, Email: xlshi-2002@163.com

骨质疏松症是一种骨骼异常,特征是骨强度降低,导致骨折危险性增高^[1]。在祖国医学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〕}”。我院依据骨质疏松症的中医辩证论治,研制了益气补肾通经络的代表方剂-自拟强骨饮,可明显抑制骨吸收、促进骨形成,通过改善骨结构、提高骨质量治疗骨质疏松疾病。本实验用骨形态计量学手段,评价强骨饮和仙灵骨葆对骨质疏松模鼠腰椎骨形态计量学指标的改善情况,以验证自拟中药方强骨饮的疗效,并取得了满意的效果。现报道如下。

1 材料和方法

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230~280g。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20g,忍冬藤25g,鸡血藤25g等12味中药,常规中药煎煮,每ml含生药量245mg,由浙江中医药大学附属第二医院中药库提供。②仙灵骨葆针剂,0.5g/粒,由贵州同济堂制药股份有限公司生产。

1.2 仪器与试剂

硬组织切片机,是由上海第九人民医院提供的Krumdieck组织切片机。电子秤是由上海凯士有限公司提供的AD电子秤。

1.3 造模与分组

分组: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。造模:3%戊巴比妥钠40mg/kg腹腔内注射麻醉,常规无菌操作,从下腹部正中切开,结扎后切除

双侧卵巢,逐层缝合。普通饲料饲养10周,10周后开始给药。

1.4 实验方法

给药方法:治疗组以自拟强骨饮灌胃,1次/d,1ml/g;对照组用仙灵骨葆灌胃,每次3mg/kg,1次/d。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和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,分离腰椎,去除腰椎肌肉筋膜,获得腰椎标本。

1.5 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)。骨体积分数(BV/TV)=100 * B.ar/T.ar;骨小梁厚度(Tb.Th)=(B.ar/B.pm) * (π/2);骨小梁间距(Tb.sp)=(1000 * T.ar - B.ar)/B.pm。

1.6 统计学处理

采用SPAS 13.0软件处理数据,以均数标准差($\bar{x} \pm s$)表示,样品均数比较用t检验,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、3、4.5、6个月)所观察指标BV/TV、Tb.Th、Tb.SP见表1、2。

表1 1.5和3个月各组骨形态计量学参数($\bar{x} \pm s$)

组别	1.5个月			3个月		
	BV/TV (%)	Tb.Th (μm)	Tb.SP (μm)	BV/TV (%)	Tb.Th (μm)	Tb.SP (μm)
强骨饮组	17.18 ± 0.28	28.31 ± 0.46	235.01 ± 3.25	28.96 ± 0.25	56.32 ± 0.47	213.06 ± 3.15
仙灵骨葆组	16.09 ± 0.19	24.11 ± 0.16	245.29 ± 3.67	26.33 ± 0.17	49.32 ± 0.25	209.42 ± 2.01
空白对照组	16.56 ± 0.38	15.36 ± 0.19	248.35 ± 4.15	20.76 ± 0.43	25.23 ± 0.23	310.57 ± 0.41

表2 4.5和6个月各组骨形态计量学参数($\bar{x} \pm s$)

组别	4.5个月			6个月		
	BV/TV (%)	Tb.Th (μm)	Tb.SP (μm)	BV/TV (%)	Tb.Th (μm)	Tb.SP (μm)
强骨饮组	47.40 ± 0.21	116.14 ± 0.41	143.46 ± 3.20	42.95 ± 0.27	123.01 ± 0.41	125.37 ± 3.26
仙灵骨葆组	43.16 ± 0.29	105.57 ± 0.23	129.27 ± 1.44	45.04 ± 0.19	119.01 ± 0.12	130.31 ± 1.77
空白对照组	17.57 ± 0.38	18.43 ± 0.24	280.35 ± 3.15	18.36 ± 0.32	16.65 ± 0.42	272.16 ± 3.16

注:以上各表中相对应数值为其95%可信区间

由以上各表数据可以看出: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、4.5个月有统计学意义,治疗组优于对照组;骨小梁厚度(Tb.Th):在1.5、3、4.5、6

个月有统计学意义,治疗组优于对照组;骨小梁间距(Tb.sp):在1.5和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个月骨小梁间距无统计学意义

外,其余各观察时间3个指标相比均具有统计学意义。

3 讨论

中医从“肾”论治骨质疏松症已被中西医学者普遍接受,中医学认为骨质疏松症是肾精亏虚、骨骼失养所致。“肾为先天之本,主骨、生髓”,老年人年高体弱,肾虚精气不足,腰腑失养,腰背僵直,疼痛酸楚,骨失所养,膝酸腿软,不能持重^[3]。“肾主骨,生髓”;“肾藏精,精生髓,髓养骨,骨生髓,聚髓为脑”。《素问》中有“肾之合骨也”;“肾藏骨髓之气也”。说明骨为髓之主。若肾精肾气充足,骨骼化生有源,则身健力强,若肾气不足,肾精亏虚,骨髓失充,骨骼失养,则脆弱乏力。《素问·上古天真论》曰:“女子七岁,肾气盛,齿更发长;……七七,任脉虚,太冲脉衰少,天癸竭,地道不通,故形坏而无子……筋骨解堕,天癸尽矣……身体重,行步不正”。研究证实,老年人下丘脑-垂体-性腺轴功能减退,性激素分泌下降,使成骨功能下降,单位体积内骨组织减少,最终导致骨质疏松症的发生^[4]。

本实验就是立足于以上中医治疗骨质疏松观点,着重研究了自拟方强骨饮治疗骨质疏松症的长期疗效。强骨饮功效以益气、补肾、通经络为主,方中重用黄芪益气行滞,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,恰与骨质疏松疾病的机理相合^[5]。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;又臣以川断、杜仲、骨碎补补肾壮骨,以助君药补肾益气之功^[6];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^[7]。因骨质疏松属于本虚标实证,而强骨饮疗效中就有益气补肾,故由实验数据也可以看出,骨体积分数(BV/TV):在1.5、3、4.5个月有统计学意义,治疗组优于对照组;骨小梁厚度(Tb.Th):在1.5、3、4.5、6个月有统计学意义,治疗

组优于对照组;骨小梁间距(Tb.sp):在1.5和6个月有统计学意义,治疗组优于对照组。说明强骨饮在观察阶段已较明显地抑制了骨吸收,加速骨形成,扭转了高骨转换代谢。现代药理研究也已证实,鹿角霜有良好的防治去卵巢对大鼠所引起的骨丢失^[8]。

本实验结果显示了强骨饮与仙灵骨葆对不同时期大鼠骨形态计量学指标的改变的差异,证明了治疗组在治疗的后期能有效地预防了骨量的丢失。分析原因可能是药物首先抑制了大鼠去卵巢后骨的快速丢失,然后再加上随后的促进骨形成,因此明显降低骨丢失,使骨量维持在较高水平。总之,两组均表现出了可预防大鼠去卵巢后的骨量丢失的作用,可使大鼠骨量保持在基础状态水平。不同在于,对照组在后期表现出抑制骨形成和骨吸收逐渐加速的高骨转换的趋势,而治疗组则表现为指标的相对平稳状态。

从本实验结果可以看出,具有益气、补肾、通经络作用的强骨饮可较好的改善去势大鼠的骨形态计量学指标,可能是通过刺激成骨细胞生长,抑制破骨细胞活性作用实现的。

【参 考 文 献】

- [1] 刘忠厚,潘子昂,王石麟.原发性骨质疏松症诊断标准的探讨.中国骨质疏松杂志,1997,1(1):1-15.
- [2] 李春雯.强骨饮对去势大鼠股骨颈骨形态计量学影响的实验研究.中国现代药理学杂志,2007,15(8):41-43.
- [3] 史晓林.自拟强骨饮治疗骨质疏松症的32例临床报告.中国中医骨伤科杂志,2006,14(2):33-34.
- [4] Mortensen L, Chines A, Myers WR, et al. Risedronate increases bone mass in an early postmenopausal population. J Clin Endocrinol Metab, 1998, 83: 393-405.
- [5] Hahn M, Vogel M, Pompesius-Kempa M, et al. Trabecular bone microarchitecture. Bone, 1992, 13: 327-330.
- [6] Liu ZH. Bone Mineral and Clinic Practise. Vol 1. Beijing: China science and technology press, 2006: 353-356.
- [7] 史晓林,毛月娟,刘康,等.强骨饮与盖盖息对去势大鼠股骨颈骨形态计量学的对比影响.中国现代药理学杂志,2007,15(9):41-43.
- [8] Wang X, Wu J, Chiba H, et al. Puerariae radix prevents bone loss in ovariectomized mice. Bone Miner Metab, 2003, 21(5): 268-275.

(收稿日期:2007-08-22)