

# 骨宝对正常大鼠骨组织形态学影响的定量研究

谢 华 吴 铁 黄连芳 李朝阳

(广东医学院 湛江 524023)

**摘要** 分别用 5、15g/kg 的骨宝给 3 月龄 SD 大鼠灌胃,每周 6 次,持续 180d。不脱钙骨制片,用图象定量法,测量大鼠胫骨近端骨小梁。结果:高剂量骨宝组与对照组比较,骨吸收减少 31%,骨面积增加 39%。

**关键词** 淫羊藿 黄芪 白术 骨组织形态计量学

## Quantitative Bone Histomorphological Effect of Gubao Decoction in Rats

Xie Hua, Wu Tie, Huang Lianfang and Li Chaoyang

(Guangdong Medical College, Zhanjiang, 524023)

**Abstract:** Gubao decoction at a dose of 5, 15g/kg was orally given to 3-month-old SD rats 6 times per week for 180 days. The proximal tibiae of rats were processed and undecalcified for histomorphometric analyses. In comparison with control rats, the resorption of bone trabecula in the rats receiving high dose of the decoction was significantly decreased ( $-31\%$ ), while trabecular bone areas were increased ( $+39\%$ ).

**Key words:** Herba Epimedii, Radix Astragali, Rhizoma Atractylodis Macrocephalae, Bone Histomorphometry

骨宝是由淫羊藿、黄芪、白术组成的复方中药,根据《本草纲目》中记载,它们均有补腰膝及强筋骨的功效,现代研究证明其对骨的生长有促进作用,对大鼠去卵巢后骨质疏松和类固醇性骨质疏松症有明显的防治作用。本文探讨骨宝对正常大鼠骨代谢的影响,为人类寻找延缓骨质疏松的药物提供实验依据。

### 1 材料和方法

**1.1 动物** 3月龄SD大鼠(广东省实验动物中心),平均体重为 $220.19 \pm 14.86\text{g}$ 。

**1.2 药物** 骨宝由广东医学院医药科技开发中心从箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum Maxim*、膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus*、白术 *Atractylodis Macrocephala Koidz* 煎制成100%(低浓度)和300%(高浓度)的煎液,分别含相当1g/ml和3g/ml生药材。

**1.3 荧光标记物** 四环素(上海新亚制药厂);Calein(美国)。

**1.4 方法** 雌性SD大鼠30只,均随机分3组,每组10只。一组:正常对照组(用生理盐水灌胃)。二组:骨宝低剂量组(100%骨宝0.5ml/100g,每周灌胃6次)。三组:骨宝高剂量组(300%骨宝0.5ml/100g,每周灌胃6次)。3个组的动物在同一环境下饲养180d(饲料均由本院实验动物中心配制),每周称动物体重一次。在处死动物的前14、15d和2、3d分别给大鼠皮下注射盐酸四环素

25mg/kg两次和Calein溶液30mg/kg两次,它们在骨表面形成荧光双标记,反映两次注射期间内骨形成的动态情况。

6个月后,用戊巴比妥腹腔注射,麻醉大鼠,开胸,从心脏抽血进行血常规、肝功能、肾功能检查。将心、肝、肺、肾、胃、肠、肾上腺等作成组织切片。取其胫骨。用合金骨锯(美国产)把胫骨横断为三段,然后胫骨近端1/3再矢状锯开,置70%乙醇中固定一周,villanueva染色,乙醇和丙酮脱水,甲基丙烯酸甲脂包埋不脱钙骨,包埋块在骨锯下锯成厚度为300 $\mu\text{m}$ 的骨片,再经人工磨至20~25 $\mu\text{m}$ ,脱水,透明,封片<sup>[1]</sup>。

使用美国尤他大学赠送,由Nikon荧光显微镜、Mactablet测量板,Macintoshse电子计算机组成的数字图象分析仪(日本产),及体视学电脑程序(KSS ComPuter Engineers, Magna, UT U.S.A),对胫骨近端骨片(从距骺线1mm处至远端3mm范围内)进行骨计量学测量及计算<sup>[2]</sup>。实验的数值采用poms软件,经IBM微机作统计学处理,各组的参数以 $\bar{x} \pm s$ 表示,差异的显著性用t检验。百分率(%)用 $\bar{x}_2 \div \bar{x}_1 \times 100 - 100$ 公式计算。

### 2 结果

**2.1 大鼠体重** 大鼠在处死时,组1为 $277.5 \pm 30.6\text{g}$ ,组2为 $262.5 \pm 17.1\text{g}$ ,组3为 $275.6 \pm 13.8\text{g}$ 。三组间的体重差异无显著性。

2.2 各组的胫骨近端骨小梁计量学测算的 具体参数见附表。

附表 骨宝对大鼠胫骨近端骨小梁的作用( $\bar{x} \pm s$ )

组别	骨小梁面积 (%)	骨小梁厚度 (mm)	骨小梁间隙 ( $\mu$ )	荧光周长 (%)	骨吸收周长 (%)	矿化沉积率 ( $\mu/d$ )	骨形成率 ( $\mu/d$ )
对照组	15.65 $\pm$ 4.66	57.47 $\pm$ 4.44	336.33 $\pm$ 112.97	5.94 $\pm$ 1.75	0.83 $\pm$ 0.21	1.28 $\pm$ 0.19	7.58 $\pm$ 3.29
低剂量组	15.87 $\pm$ 1.86	53.60 $\pm$ 5.61	286.36 $\pm$ 35.45	4.68 $\pm$ 0.76	0.57 $\pm$ 0.25*	1.42 $\pm$ 0.25	6.68 $\pm$ 1.81
高剂量	21.67 $\pm$ 4.90* $\Delta$	62.78 $\pm$ 4.12* $\Delta$	237.94 $\pm$ 61.63*	6.27 $\pm$ 1.31 $\Delta$	0.57 $\pm$ 0.16*	1.55 $\pm$ 0.15**	9.64 $\pm$ 1.68 $\Delta$

注:与对照组比较 \*P<0.05, \*\*P<0.01;低、高剂量组间比较 $\Delta$ P<0.05 (n=10)

实验结果表明:高剂量骨宝组比对照组的骨吸收周长减少 31%,矿化沉积率增加 21%,骨质增多(骨小梁的面积增加 39%,厚度增加 9%,间隙减少 29%),两组的差异有显著性(P<0.05)。而低剂量组比对照组骨吸收周长减少 31%,其他指标无明显差异。

3 讨论

根据 Jee 等人的观察,正常的大白鼠出生后至 3 月龄骨量随月龄增加而增多,3 月龄时达到高峰期(骨峰),一直维持至 8 月龄,9 月龄时骨质开始丢失<sup>[1]</sup>。在人类,男女性骨量在 35~40 岁以后开始下降。青春期的骨量的峰值是衡量以后骨量变化和个体会不会发生骨质疏松的基础和决定因素。骨量储备越多,随后即使骨质每年逐渐丢失,其剩余部分仍足以应付因轻微外伤所致的骨折。反之,随后骨量下降至自发性骨折的危险性也大<sup>[3]</sup>。本文中的对照组的大鼠在处死前,已有 9 月龄,此时的骨吸收大于骨形成,骨质逐渐丢失。低剂量骨宝组只是骨吸收率有所减少,而骨形成无明显增加,以致和对照组无显著性差异。高剂量组骨小梁的骨吸收减少,骨形成稍有增加。推测高剂量的骨宝能增加大鼠的骨峰值,并减少骨吸收,有效地防止骨质的丢失。

淫羊藿、黄芪、白术的壮骨作用,早在《本草纲目》中已有记载:淫羊藿益精气,坚筋骨,补腰膝,强心力。黄芪为补药之长,能助气壮筋骨,长肉补血,实皮毛。白术补腰膝,长肌肉,和中补阳,理胃益脾,和中补气……<sup>[4]</sup>。现代研究证明:它们的作用是多方面的<sup>[5]</sup>。它们

能增强机体免疫功能,对氢化可的松抑制后的网状内皮系统吞噬功能有明显提高<sup>[6]</sup>。增强机体细胞的生理代谢,对在试管内培养中的鸡胚股骨生长均有明显的促进作用<sup>[7,8]</sup>。而且淫羊藿有促进精液分泌以及有性激素样的作用<sup>[9]</sup>。还有报道谓黄芪有促雌激素样作用,可使小鼠动情期延长<sup>[5]</sup>。我们也在另一个实验中发现,黄芪能使大白鼠的子宫重量增加。三者均有抗骨质疏松作用<sup>[10]</sup>(本室的实验也证明黄芪、白术有同样的功效)。本文通过骨组织形态学各指标,观察了由淫羊藿、黄芪、白术组成的骨宝对正常大鼠骨小梁的影响,证实骨宝的壮骨作用(对于正常鼠,高剂量骨宝作用更显著)。无论从中医的“补肾壮阳”理论还是通过现代医学对骨生物学的动态观察,均能说明该药有防止骨丢失,对骨质疏松有良好的防治作用。

参考文献

[1]Jee WSS, et al. Anat Rec 1991; 230 : 332  
 [2]Akamine T, et al. Bone 1992;13 : 11  
 [3]朱先彝. 代谢性骨病学. 天津:天津科学技术出版社,1989 : 262  
 [4]李时珍. 本草纲目(校点本). 第二册. 北京:人民卫生出版社, 1977 : 697  
 [5]阴康. 现代中药研究与临床应用. 北京:学苑出版社,1993 : 592  
 [6]蒋天佑. 中医药研究 1991(5) : 59  
 [7]高子范,杨宗智,马克昌等. 中西医结合杂志 1985;5(3) : 172  
 [8]高子范,马克昌,杨宗智等. 中草药 1988;19(5) : 18  
 [9]李炳如,余运初. 中医杂志 1984;25(7) : 63