

益髓胶囊对大鼠实验性骨质疏松症的保护作用

王鑫国 李澎涛 房家毅 白霞 曹刚 张雪静

(河北医科大学中医学院 石家庄 050091)

摘要 益髓胶囊对大鼠口服维甲酸造成的骨质疏松症有保护作用。经 IBAS2000 通用图象分析系统(美国)等多指标处理分析,益髓胶囊可明显提高实验性骨质疏松症大鼠股骨骨密度、骨小梁宽度及骨小梁面积密度($P < 0.001$),并有明显抗疲劳和提高痛阈的作用。

关键词 骨质疏松症 维甲酸 中医药疗法 益髓胶囊

Protective Effect of Yisui Capsule on Experimental Osteoporosis in Rats

Wang Xinguo, Li Pengtao, Fang Jiayi, Bai Xia, Cao Gang, Zhang Xuejing, Zhang Xuejing

(College of TCM, Hebei University of Medical Sciences, Shijiazhuang, 050091)

Abstract: The protective effects of Yisui capsule on osteoporosis induced by retinoic acid was studied in rats. By processing and analysing the index figures with IBAS 2000 General Graph Analysis System (U. S. A), indicates that Yisui capsule was found to display obvious action in increasing the femur density, thickness of trabecula and cortex, trabecular area ($P < 0.001$) in rats with experimental osteoporosis, and it could remarkably improve fatigue and increase the pain threshold.

Key words: osteoporosis, retinoic acid, traditional chinese drugs & therapy, Yisui capsule

骨质疏松症(Osteoporosis)是老年常见多发病之一,随着人口老龄化的出现,骨质疏松问题愈来愈引起全世界的关注。益髓胶囊

是根据祖国医学“肾主骨生髓”及气虚血瘀的理论严谨组方,用于治疗退行性骨质疏松症的纯中药制剂。临床应用效果十分突出。为

此,进行实验研究以进一步探讨其作用机理。

1 实验材料

1.1 药物 益髓胶囊(课题组自制,批号950421)。龙牡壮骨冲剂,武汉健民制药厂。维甲酸,上海长征医院,批号 930618。

1.2 动物 SD大鼠,体重200~240g,雄性,购于河北省实验动物中心。

1.3 仪器 钼靶DGX-3型50mA软射线X线机,上海医疗器械厂。X-RITE331型黑白密度计,X-RITECompany(美国)。IBAS-2000通用图象分析系统,KPNTRON公司(美国)。5000型火焰原子吸收分光光度计,P-E公司(美国)。

2 方法与结果

2.1 对骨质疏松症的保护作用 参考文献^[1]采用维甲酸每日70mg/kg体重,连续2周灌胃造成大鼠骨质疏松症。将实验动物随机分成5组,正常对照组每日灌服蒸馏水10ml/kg体重;模型组每日灌服维甲酸70mg/kg体重,同时灌服蒸馏水10ml/kg体重;益髓胶囊治疗组I(每日0.54g/kg体重)和治疗组II(每日1.62g/kg体重),维甲酸灌服同模型组;另设阳性对照组,除给予维甲酸每日70g/kg体重外,同时灌服龙牡壮骨冲剂每日5g/kg体重。两周后,各组停服维甲酸,继续给药二周。实验结束,测定各项指标。

2.1.1 抗疲劳作用 动物末次给药4小时后,分别按体重4%负重,进行游泳试验,测定耐力。结果如表1所示,模型组大鼠游泳时间明显缩短,与正常对照组有显著差异($P < 0.01$)。

表1 益髓胶囊对大鼠抗疲劳作用的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	耐疲劳时间(秒)
对照组	6	—	182.2±9.0
模型组	6	—	132.6±22.1**
阳性组	6	5	136.2±14.5
益髓I	6	0.54	170.0±14.8△
益髓II	6	1.62	161.0±3.9△

与对照组相比* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,与模型组相比△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$,△△△ $P < 0.001$,下表同

0.01),益髓胶囊两个剂量组均能明显延长大鼠游泳时间,与模型组相比差异显著($P < 0.05$)。

2.1.2 对大鼠骨小梁面积密度的影响 大鼠游泳完毕后,迅速小心剖取两侧股骨,并以钝性剥离除去所有软组织,取左侧股骨于骨下中段锯断,浸于10%福尔马林溶液中固定,以10%稀硝酸脱钙,石蜡定向包埋,纵行和横行切成5um切片,H.E染色。应用美国IBAS2000通用图象分析系统进行处理。结果模型组大鼠骨小梁宽度及骨小梁面积密度显著低于正常对照组($P < 0.01$),而益髓胶囊两个剂量组,骨小梁宽度及面积密度值明显高于模型组($P < 0.01$),如表2所示。

表2 益髓胶囊对大鼠骨小梁宽度及骨小梁面积密度的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	骨小梁面积密度		骨小梁宽度 (um)
	股骨头	股骨颈	
对照组	0.64±0.02	0.62±0.01	81.8±1.8
模型组	0.33±0.02**	0.31±0.01	68.6±3.4**
阳性组	0.33±0.03	0.32±0.02	68.6±2.4
益髓I	0.64±0.03△△	0.62±0.02△△	77.8±1.9△△
益髓II	0.64±0.02△△	0.62±0.02△△	80.7±1.7△△

n=6

2.1.3 股骨X线骨密度分析 对大鼠右侧股骨按组排列,使用钼靶DGX-3型50mA软射线X线机摄制X线软片,分别使用X-RITE331型黑白密度计及IBAS2000通用图象分析系统进行处理。前者数值越高,表示骨密度越低,而后者所测数值高,则示骨密度高。结果模型组大鼠骨密度明显低于正常组($P < 0.001$),而经益髓胶囊治疗的两组却明显高于模型组($P < 0.01$)。如表3所示。

表3 益髓胶囊对大鼠骨密度的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	骨X线光密度		骨X线灰度扫描值
	股骨头	股骨颈	
对照组	0.63±0.10	0.70±0.07	197.8±6.4
模型组	0.77±0.01*	0.83±0.03**	161.4±2.9***
阳性组	0.78±0.04	0.80±0.09	165.6±4.2
益髓I	0.69±0.06△	0.72±0.02△△	190.5±6.0△△△
益髓II	0.67±0.05△	0.71±0.03△△△	183.5±5.5△△△

n=6

2.1.4 对大鼠骨钙、磷含量的影响 大鼠股骨摄制软 X 线片后,干燥并研成细末,精密称适量,加混合酸 10ml(硝酸:高氯酸=5:1)消化定容 10ml。使用 5000 型火焰原子吸收分光光度计测定骨钙含量,采用钼兰法测定骨磷含量。结果如表 4,模型组大鼠骨钙含量明显低于正常组($P<0.01$),益髓胶囊组骨钙含量明显高于模型组($P<0.01$)。但骨磷含量无明显变化。

表 4 益髓胶囊对大鼠骨钙、磷含量的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	钙含量(mg/g)	磷含量(mg/g)
对照组	6	200.4±10.2	131.1±7.3
模型组	6	177.7±2.8**	127.9±3.5
阳性组	6	182.7±5.2	137.4±13.5
益髓 I	6	190.0±7.2 $\Delta\Delta$	123.3±2.1
益髓 II	6	191.8±6.2 $\Delta\Delta$	139.8±7.8

2.2 镇痛作用 取 SD 大鼠 18 只,体重 200~240g,随机分为 3 组(对照组及两个剂量的给药组)。对照组给予蒸馏水 10ml/kg,给药组分别灌服不同剂量的益髓胶囊,连续 3 天,于末次给药后 2 小时,使用 WQ-9E 痛阈测定仪测定大鼠痛阈。结果给药组大鼠痛阈明显高于对照组($P<0.001$)。如表 5。

表 5 益髓胶囊对大鼠痛阈的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	运动阈(mA)	嘶叫阈(mA)	后叫阈(mA)
对照组	0.82±0.11	1.88±0.11	2.48±0.23
益髓 I	1.72±0.23**	3.56±1.40*	5.24±1.26**
益髓 II	1.70±0.10**	3.28±0.46**	5.56±0.33**

n=6

3 讨论

已有研究表明,骨质疏松症的主要病理变化是骨矿含量的减少。对骨质疏松症长骨组织的横断面和纵切面,以及对椎骨体和骨盆等的切面观察,均表现为骨皮质变薄。同时骨小梁量减少,体积变小,其减少量可达 30%,从而使骨髓腔明显扩大,并被脂肪组织和造血组织所填充。

维甲酸是体内维生素 A(维甲醇)的代谢中间产物,主要影响骨的生长和上皮代谢。我们以此药喂服成年大鼠,模拟出了骨质疏松

症的病理形态学变化。与正常对照组相比,模型组骨小梁宽度缩减了约 16%,而骨小梁面积密度则减少了 48%,这种极显著的差异与骨 X 线软片进行的骨密度测试和灰度扫描分析得到的结果相吻合。同时,骨钙含量显著降低,但骨磷未见明显变化。该类变化为维甲酸使骨重建处于骨吸收大于骨形成的负平衡状态所致,可能与维甲酸直接作用于骨细胞有关^[2]。

益髓胶囊遵循益肾填精、和血除痹之原则组方,方中淫羊藿、杜仲、紫河车益肾填精、强健筋骨,辅以黄芪、丹参益气和血,佐以五加皮通络除痹,以奏气充血和络通之效。精气充实使筋骨强健而耐疲劳,血和络通则痛可止。益髓胶囊对维甲酸所致的上述骨质病理形态学损害有显著的抵抗作用。

我们认为,益髓胶囊的这种作用可能是通过两个途径的共同影响而实现的。一方面是通过补肾壮骨作用抑制骨矿丢失。肾主骨生髓,肾对骨的生长发育、骨的新陈代谢、骨折修复以及骨病的防治均具有重要作用^[3]。骨的再生与修复依靠肾气^[4]。因此,补肾填精可强健骨骼。有实验表明,补肾药淫羊藿可明显加强骨质疏松症模型鼠的成骨细胞活性,增加成骨细胞数量,使类骨质形成增多。这对调整骨基质代谢,抑制骨小梁破坏有重要作用。另一方面是活血化瘀、通经活络。骨髓内和骨外膜毛细血管与骨小管系统相通,而骨小管系统又与骨陷窝相通,由此,保障了骨陷窝内的组织液交换和骨细胞的营养。

活血化瘀药可改善微循环,可能增加了这一系统的微循环供应,从而改善了骨质营养,加强损伤骨组织的修复。另外,益髓胶囊增强实验动物抗疲劳能力的作用,也可能与活血化瘀药对肌肉及心脏血液供应的加强有关,而其通过增加肌肉血液供应,加强肌肉新陈代谢,从而缓解疲劳以及对痛阈的提高,则可能是益髓胶囊在临床应用中骨质疏松症腰背痛有良好缓解作用的生物学基础。有关

该剂对骨细胞活动及改善微循环的研究将另有专篇报道。

维甲酸在引起前述骨形态学改变的同时,还引起动物的性腺损害,这是维甲酸的一种不良反应,会引起血中性激素水平降低^[5]。因此,从整体表现上看,与老年退行性骨质疏松症极相似。当然,维甲酸所致骨质疏松模型尚不能代表老年退行性骨质疏松症的全貌。但是,由于其对骨形态学的显著影响,作为一种研究抗退行性骨质疏松症药物的动物模型是可行的。而其骨质破坏的病理表现在各种继发性骨质疏松症也同样存在,故也可用于继发性骨质疏松症的药物研究。退行性骨质

疏松症的模型制作还有其它方法^[6],有关骨髓胶囊对其他动物模型的影响将另有专篇报道。

参考文献

- [1]邵金莺,等. 中药药理与临床 1989;5:25
- [2]吴波,等. 药学学报 1996;4:241
- [3]施杞,等. 中医骨伤科学(卷一,基础理论). 广西人民出版社,1988:43
- [4]丁继华,等. 中医骨伤科基础. 中医古籍出版社,1987:144
- [5]王士凡编译. 药物不良反应. 人民卫生出版社,1988:868
- [6]吴波. 药学学报 1996;4:316

(收稿:1996—08—12)