

活骨丹胶囊对大鼠血液流变学及部分生化指标的影响

卞敬琦¹, 冯月男, 张瑶, 张禹, 武爽, 牛雯颖, 肖洪彬^{2*}

(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的:研究活骨丹胶囊对实验大鼠激素性股骨头坏死模型的血液流变学、血脂、血钙、骨代谢等指标的影响。方法:取清洁级健康 SD 大鼠 60 只,雌雄各 30 只,按体重随机分成空白组,模型组,阳性对照药仙灵骨葆胶囊组(0.28 g·kg⁻¹),活骨丹胶囊高、中、低剂量组(1.80, 0.90, 0.45 g·kg⁻¹)。除空白组外,各组每周 1 次大腿内侧 im 醋酸泼尼松龙(24.5 mg·kg⁻¹),连续 8 周造模,在造模的同时,各给药组均灌胃给药,模型组和空白组给予等量蒸馏水,预防性灌胃给药 8 周后取血测定大鼠全血黏度,血浆黏度,血沉 K 值,血清总胆固醇(CHO),甘油三酯(TG)的含量,血清碱性磷酸酶(ALP),酸性磷酸酶(ACP),血钙(Ca),血磷(P)的含量。结果:与空白组比较,模型组中高、中、低各组切变率下的全血黏度均显著升高($P < 0.01$),血沉 K 值及血浆黏度均显著升高($P < 0.01$),血清中 CHO, TG, ALP 的含量均显著升高($P < 0.01$),血清 Ca 含量升高($P < 0.05$)。与模型组比较,活骨丹胶囊各剂量组可明显增加血清中的 Ca, P 含量,同时降低 ALP 和 ACP 的活性,降低全血黏度,血浆黏度及血脂,差异有显著性意义($P < 0.05, P < 0.01$)。结论:活骨丹对于骨质破坏所引起的 ALP, ACP 升高有一定的拮抗作用,同时能降低血脂,调节血清中的 Ca, P 沉积,增加骨密度。

[关键词] 激素性股骨头坏死; 活骨丹胶囊; 血液流变学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0250-04

[doi] 10.11653/syfy2013130250

Effect of Huogu Dan Capsule on Hemorheology and Some Biochemical Indexes in Rats

BIAN Jing-qi¹, FENG Yue-nan, ZHANG Yao, ZHANG Yu, WU Shuang, NIU Wen-ying, XIAO Hong-bin^{2*}
(Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[收稿日期] 20121020(008)

[第一作者] 卞敬琦, 硕士研究生, Tel:15804669250, E-mail:bianjingqi@163.com

[通讯作者] * 肖洪彬, 教授, 博士生导师, Tel:0451-82194309, E-mail:hrbxiaohongbin@126.com

- [6] Hayami T, Pickarski M, Wesolowski G A, et al. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis; reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model [J]. Arthritis Rheum, 2004, 50(4):1193.
- [7] 韩国栋, 蒋再轶, 谭洁, 等. 仙灵骨葆胶囊联合盐酸氨基葡萄糖片治疗膝骨性关节炎[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17):263
- [8] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:357.
- [9] 贺牡丹, 王小平, 陈同生. 白介素-1 β 诱导关节软骨细胞凋亡的分子机理[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(1):49.
- [10] 刘陶文. 凋亡调控基因 Bcl-2 家族研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 1999, 26(3):216.
- [11] Chen C J, Chen F C, Liao S L, et al. Effects of naloxone on lactate pyruvate metabolism and antioxidant enzyme activity in rat cerebral L/RJ[J]. Neurosci Lett, 2011, 287(2):113.
- [12] 邵越峰, 陈维毅, 卫小春, 等. 周期性张应变对重组人白细胞介素-1 β 诱导的一氧化氮表达作用的实验研究[J]. 中国药物与临床, 2009, 9(4):265.
- [13] 王吉兴, 孙炜, 金大地. 一氧化氮酶抑制剂调控白细胞介素 1 β 和脂多糖对关节软骨的损害[J]. 中华风湿病学杂志, 2002, 6(1):10.
- [14] 刘献祥, 李西海, 周江涛, 等. 透骨消痛颗粒防治膝骨性关节炎的机理研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(1):50.

[责任编辑 聂淑琴]

[Abstract] Objective: To study the effect of Huogu Dan capsule on hemorheology, blood lipids, blood calcium and bone metabolism indicators of avascular necrosis of femoral head by hormone in rats. **Method:** Sixty SD rats were divided into 6 groups, the control group, the model group, the high, medium, low-dose group (1.80, 0.90, 0.45 g·kg⁻¹), the positive drug group (0.28 g·kg⁻¹). Except the normal group, each group was im given once a week prednisolone (24.5 mg·kg⁻¹). Meanwhile each dose group was ig Huogu dan capsule. After 8 weeks rats were sacrificed to collect blood from carotid artery for determination of the whole blood viscosity, plasma viscosity, ESR, the serum total cholesterol (CHO), triglycende (TG), alkaline phosphatase (ALP), acid phosphatase (ACP), serum calcium (Ca) and phosphorus (P). **Result:** Compared with the control group, the whole blood viscosity in the model group was significantly increased ($P < 0.01$). ESR values and plasma viscosity were significantly increased ($P < 0.01$). CHO, TG and ALP levels were significantly increased ($P < 0.01$). Ca level was increased ($P < 0.05$). Compared with model group, Ca and P levels were significantly increased in the Huogu dan group, ALP and ACP were reduced, whole blood viscosity, plasma viscosity and blood lipids were reduced, statistical significance is different ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The Huogu Dan capsule can be significantly increased Ca and P levels, and reduce ALP, ACP levels, whole blood viscosity, plasma viscosity and blood lipids.

[Key words] glucocorticoid-induced avascular necrosis of femoral head; Huogu Dan capsule; hemorheology

激素性股骨头坏死是因为长期或短时间内大剂量使用激素而导致的股骨头局部血运不良,引起骨细胞进一步缺血、坏死、骨小梁断裂、股骨头塌陷的一种病变。是一种严重的致残性疾病。西医治疗主要以手术置换关节为主,但术后经常会面临翻修的困境^[1]。中医药治疗股骨头坏死在缓解疼痛、改善功能等方面,取得了较好的疗效。活骨丹胶囊处方来源于临床经验方,临床应用 20 余年,受益患者逾千。为探讨活骨丹胶囊治疗股骨头坏作用机制,本实验研究了该药对激素性股骨头坏大鼠全血黏度,血浆黏度,血沉 K 值,血清总胆固醇(CHO),甘油三酯(TG),血清碱性磷酸酶(ALP),酸性磷酸酶(ACP),血钙(Ca),血磷(P)的含量影响^[2]。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康 SD 大鼠 60 只,雌雄各 30 只,体重(250±20)g。由黑龙江中医药大学 GLP 提供许可证编号 SCXK(黑)2008004。实验动物饲养环境 室温 20~22℃,自由饮水,饲固体饲料。

1.2 药品与试剂 活骨丹胶囊(大庆市望远医院提供;规格:0.40 g/粒;用法用量:4~6 粒/次,一日 3 次;批号庆卫制字(1999 年)-317 号)。活骨丹胶囊药物组成:黄芪 26 g,三七 8 g,血竭 8 g,桃仁 9 g,红花 7 g,当归 8 g,川芎 12 g,补骨脂 21 g,骨碎补 13 g,秦艽 21 g,羌活 9 g,独活 9 g,牛膝 16 g,续断 21 g,土鳖虫 8 g,僵蚕 8 g,桂枝 8 g,杜仲 21 g,菟丝子 21 g,木香 5 g,三棱 8 g,莪术 8 g,赤芍 8 g,丹参

13 g,延胡索 13 g,地龙 10 g,龙骨 16 g,香附 10 g,六神曲(炒)10 g,鸡内金 10 g,甘草 8 g,黄瓜子 27 g。32 味药经粉碎成细粉,过筛,混匀,装胶囊制得。质控指标为木香内酯,木香烯内酯,补骨脂素和异补骨脂素。阳性对照药:仙灵骨葆胶囊(贵州同济堂制药股份有限公司,批号 110628);醋酸泼尼松龙注射液(浙江仙琚制药股份有限公司,批号 110702);碱性磷酸酶试剂盒(ALP,中生北控生物科技股份有限公司,批号 110461);酸性磷酸酶试剂盒(ACP,批号 110291);磷测定试剂盒(P,批号 110722);钙测定试剂盒(Ca,批号 110471);总胆固醇测定试剂盒(CHO,批号 111261);甘油三酯测定试剂盒(TG,批号 114961),均为中生北控生物科技股份有限公司;二甲苯(北京北化精细化学品有限责任公司,批号 20111123)。

1.3 仪器与设备 LBY-N6 型全自动血流变仪(北京普利生仪器有限公司);XC-40 型血沉仪(北京普利生仪器有限公司);2000 型全自动生化分析仪(美国 MD 公司)。

2 方法

2.1 动物分组 大鼠按体重随机分成空白组、模型组、阳性对照药组(仙灵骨葆胶囊 0.28 g·kg⁻¹)、活骨丹胶囊高、中、低剂量组(1.80, 0.90, 0.45 g·kg⁻¹),共 6 组($n = 10$)。

2.2 激素性股骨头坏死造模及给药 上述 6 组除空白组外,其余各组每周 1 次大腿内侧 im 醋酸泼尼

松龙 ($24.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[3,4], 连续 8 周造模, 在造模的同时, 各给药组均 ig 给药, 模型组和空白组给予等量蒸馏水。正常饮食饮水, 记食记水, 每周测量体重 1 次。

2.3 观察指标及测定方法 大鼠给药 8 周后于末次给药后次日取血, 肝素抗凝, 取抗凝血 1 mL, 用于全血黏度测定。剪切参数别设定 3, 30, 60, 200 s^{-1} 4 个档次。血浆黏度测定: 取抗凝血 1 mL 离心 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min, 取 0.25 mL 用于血浆黏度测定。血沉测定: 另一部分枸橼酸抗凝, 取抗凝血 0.6 mL, 用于血沉测定。取全血离心, 血清用全自动生化仪检测 ALP, ACP, Ca, P, CHO, TG, 按照试剂盒说明进行。

2.4 统计学处理 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS

10.0 统计软件包进行组间 t 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对激素性股骨头坏死大鼠全血黏度、血浆黏度、血沉 k 值的影响 模型组高、中、低切变率的全血黏度均显著高于空白组 ($P < 0.01$), 表明大鼠激素性股骨头坏死时伴有血液流变学的异常变化。与模型组比较, 活骨丹高、中、低剂量组在 3, 30, 60, 200 s^{-1} 状态下可显著降低全血黏度 ($P < 0.01$)。活骨丹中剂量组 3, 30 s^{-1} 状态下可显著降低全血黏度 ($P < 0.01$), 在 60, 200 s^{-1} 状态下可降低全血黏度 ($P < 0.05$)。活骨丹低剂量组和阳性药组在 3, 30 s^{-1} 状态下可降低全血黏度 ($P < 0.05$), 其他切变率均无显著性差异。见表 1。

表 1 活骨丹胶囊对激素性股骨头坏死大鼠全血黏度、血浆黏度, 血沉的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全血黏度/ $\text{mPa} \cdot \text{s}$				血沉 K 值	血浆黏度 / $\text{mPa} \cdot \text{s}$
		3 s^{-1}	30 s^{-1}	60 s^{-1}	200 s^{-1}		
空白对照	-	5.71 ± 1.14 ²⁾	3.70 ± 0.56 ²⁾	3.17 ± 0.48 ²⁾	2.84 ± 0.30 ²⁾	0.003 9 ± 0.000 9 ²⁾	0.77 ± 0.13 ²⁾
模型对照	-	7.91 ± 1.91	5.30 ± 0.91	4.52 ± 0.89	3.99 ± 0.76	0.009 0 ± 0.002 7	1.27 ± 0.65
活骨丹	1.80	5.28 ± 0.68 ²⁾	3.93 ± 0.29 ²⁾	3.53 ± 0.19 ²⁾	3.30 ± 0.21 ²⁾	0.005 3 ± 0.001 1 ²⁾	0.95 ± 0.05 ²⁾
	0.90	6.08 ± 0.82 ²⁾	4.30 ± 0.34 ²⁾	3.78 ± 0.17 ¹⁾	3.43 ± 0.53 ²⁾	0.006 3 ± 0.001 7 ²⁾	1.01 ± 0.07 ²⁾
	0.45	6.53 ± 1.54 ¹⁾	4.50 ± 0.79 ¹⁾	4.01 ± 0.54	3.66 ± 0.39	0.006 7 ± 0.001 9 ¹⁾	1.05 ± 0.07 ²⁾
仙灵骨葆	0.28	6.44 ± 0.95 ¹⁾	4.59 ± 0.62 ¹⁾	4.08 ± 0.53	3.76 ± 0.47	0.005 4 ± 0.000 9 ²⁾	1.06 ± 0.05 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

模型组的血沉 K 值和血浆黏度均显著高于空白组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 表明大鼠激素性股骨头坏死时伴有血液流变学的异常变化。与模型组比较, 活骨丹高、中、低剂量组可显著降低血沉 K 值 ($P < 0.01$), 降低血浆黏度 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 活骨丹胶囊对激素性股骨头坏死大鼠 CHO, TG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CHO, TG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)	
		CHO	TG
空白对照	-	0.86 ± 0.14 ²⁾	0.58 ± 0.18 ²⁾
模型对照	-	2.14 ± 0.96	0.84 ± 0.22
活骨丹	1.80	1.05 ± 0.14 ²⁾	0.61 ± 0.21 ¹⁾
	0.90	1.27 ± 0.34 ¹⁾	0.65 ± 0.18 ¹⁾
	0.45	1.58 ± 0.49	0.73 ± 0.29
仙灵骨葆	0.28	1.84 ± 0.76	0.69 ± 0.30

3.2 对激素性股骨头坏死大鼠 CHO, TG 的影响 模型组的 CHO, TG 均显著高于空白组 ($P < 0.01$), 表明大鼠激素性股骨头坏死时伴有血脂异常。与模型组比较, 活骨丹高、中剂量组可显著降低 CHO

($P < 0.01, P < 0.05$), 降低 TG ($P < 0.05$)。活骨丹中剂量组可降低 CHO, TG ($P < 0.05$), 其他各组均无显著性差异。见表 2。

3.3 活骨丹胶囊对激素性股骨头坏死大鼠 ALP, ACP, Ca, P^[5-6] ALP 含量显著高于空白组 ($P < 0.01$), 表明大鼠激素性股骨头坏死时伴 ALP 异常。与模型组比较, 活骨丹高、中剂量组可显著降低 ALP, ACP 的含量 ($P < 0.01$), 升高 Ca 含量 ($P < 0.05$)、显著升高 P 含量 ($P < 0.01, P < 0.05$)。活骨丹低剂量组可显著降低 ALP 含量 ($P < 0.01$), 降低 ACP 含量 ($P < 0.05$), 升高 P 含量 ($P < 0.05$), 阳对药组可显著降低 ALP 含量 ($P < 0.01$), 降低 ACP 含量 ($P < 0.05$), 见表 3。

4 讨论

激素性股骨头坏死 (glucocorticoid-induced avascular necrosis of femoral head, GANFH) 是骨科的难治性疾病, 常双侧发病, 致残率高, 严重影响患者的生存质量。研究证明, 长期大剂量注射醋酸泼尼松龙可引起股骨头缺血性坏死, 但对其发病机制

表3 活骨丹胶囊对激素性股骨头坏死大鼠 ALP,ACP,Ca,P 的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

药物	剂量/g·kg ⁻¹	ALP/U·L ⁻¹	ACP/U·L ⁻¹	Ca/mmol·L ⁻¹	P/mmol·L ⁻¹
空白对照	-	59.37 ± 17.03 ²⁾	5.79 ± 1.94	0.20 ± 0.07 ¹⁾	0.90 ± 0.31
模型对照	-	167.62 ± 37.23	7.14 ± 2.14	0.14 ± 0.04	0.82 ± 0.19
活骨丹	1.80	101.51 ± 34.11 ²⁾	4.78 ± 1.22 ²⁾	0.18 ± 0.03 ¹⁾	1.13 ± 0.11 ²⁾
	0.90	105.61 ± 19.67 ²⁾	5.02 ± 1.40 ²⁾	0.18 ± 0.04 ¹⁾	1.01 ± 0.17 ¹⁾
	0.45	110.88 ± 28.72 ²⁾	5.13 ± 1.25 ¹⁾	0.17 ± 0.04	0.98 ± 0.16 ¹⁾
仙灵骨葆	0.28	111.02 ± 26.73 ²⁾	5.09 ± 1.70 ¹⁾	0.17 ± 0.05	0.91 ± 0.31

有不同观点。一般认为,大剂量或长期使用激素可促进肢体脂肪组织的分解,并使其重新分布,过快的脂肪分解,将导致血液游离脂肪滴的增加,脂肪滴作为机械栓子堵塞股骨颈部微血管,导致瘀血停滞引起股骨头内压的增高,股骨头内骨细胞因为缺血,缺氧而发生凋亡,从而形成激素性股骨头坏死^[7-8],股骨头坏死的另外一个原因是微循环障碍,微循环障碍将会导致静脉瘀滞,而高黏血症又是静脉瘀滞的主要原因。本实验结果显示,大剂量使用激素后,全血黏度和血浆黏度升高,血沉加快。CHO, TG, ALP, ACP 等指标升高。因此,激素性股骨头坏死的早期防治主要包括两个方面:恢复脂质代谢的平衡,包括调节全身和股骨头局部的脂代谢;改善股骨头血液及血管两方面的微循环。本实验中的活骨丹胶囊内含有黄芪、三七、血竭、桃仁、补骨脂、牛膝、川断等多种补肾填精,强筋壮骨,活血止痛的中药,标本兼治。给药后,可明显降低全血黏度,血浆黏度及血脂,增加血清中的 Ca、P 含量,同时降低 ALP 和 ACP 的含量。活骨丹胶囊是根据中医药理论组方,临床应用 20 余年,有活血化瘀,补肾健骨,祛风除湿,散寒止痛之功效,对于瘀血阻络,肾气不足,风寒湿邪闭阻所致的股骨头坏死疗效显著。

[参考文献]

[1] 陈雷雷,何伟,张庆文,等. 中医药治疗股骨头坏死临床试验的系统评价[J]. 中华中医药杂志,2012,27(3):710.

- [2] 尹华,章建华,李昌煜,等. 芪参建骨颗粒对股骨头坏死大鼠脂质代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(22):248.
- [3] 袁捷,林吉,徐传毅,等. 通络生骨胶囊预防激素性股骨头缺血性坏死的药效学实验[J]. 中药新药与临床药理,2005,16(3):185.
- [4] 杨俊兴,方斌,徐传毅,等. 通络生骨胶囊对激素性股骨头坏死大鼠骨钙素、降钙素与骨密度的影响[J]. 广州中医药大学学报,2007,24(1):41.
- [5] 刘宏泽,王文瑞,卫小春,等. 丹参与骨碎补注射液防治激素诱发股骨头坏死的试验研究[J]. 中国骨伤,2003,16(12):726.
- [6] 汤群珍,邹来勇. 杜仲对 SD 大鼠闭合骨折早期血生化指标的影响[J]. 河南中医,2011,31(4):349.
- [7] 李鸿,贾丙申. 激素合并内毒素诱导大鼠股骨头坏死扫描电镜观察[J]. 中国比较医学杂志,2007,17(5):256.
- [8] 熊明月,王坤正,党晓谦. 早期激素性股骨头坏死骨细胞凋亡的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志,2007,21(3):262.
- [9] 王婷,宋怀燕,张文明. 生骨片治疗激素性股骨头坏死的实验研究[J]. 实验动物科学与管理,2003,20(1):20.
- [10] 马信龙,孙智超,马剑雄,等. 改良型大鼠激素性股骨头坏死模型建立和相关评价[J]. 实用骨科杂志,2009,15(10):760.
- [11] 李玉彬,谢利民,李理,等. 健脾补肾方对家兔激素性股骨头坏死模型脂质代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2):90.

[责任编辑 聂淑琴]