

实验研究

黔岭藿合剂对大鼠去势后骨质疏松症的作用

福建省第二人民医院 (福州 350003)

陶有略 方亮 章志安* 张文光* 叶大付** 郑德柱***

摘要 黔岭藿合剂是一个治疗骨质疏松症的复方。雌性大鼠去势后 3 个月建立绝经后高转型骨质疏松症模型,分为模型组、中药组、尼尔雌醇组。治疗 3 个月后,中药组、尼尔雌醇组较模型组空腹尿钙 (U-Ca) / 尿肌酐 (U-Cr)、尿羟脯氨酸 (U-HOP) / 尿肌酐 (U-Cr) 比值均明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 血清雌二醇 (E_2)、骨矿含量 (BMC) 和骨密度 (BMD) 均升高;而中药组血清骨钙素 (BGP) 高于尼尔雌醇组、模型组 ($P < 0.05$); 尼尔雌醇组血清碱性磷酸酶 (S-AKP) 均低于中药组、模型组 (均为 $P < 0.05$)。结果表明黔岭藿合剂能改善骨质疏松大鼠的骨丢失状态,起到保护骨骼作用。

关键词 骨质疏松症 黔岭藿合剂 大鼠 卵巢切除

绝经后骨质疏松以及由此引起的骨折率增加是影响老年妇女健康的严重问题。尽管外力有一定关系,其根源乃是老年人内分泌失调。黔岭藿合剂具有补肾益精、壮骨增髓、活血补气、调整人体机能之功效。经临床使用结果血清磷、钙、碱性磷酸酶和同位素检查,与未经黔岭藿合剂治疗有明显差异。为了论证临床疗效,本文通过切除大鼠双侧卵巢骨质疏松症模型,应用合剂治疗,探讨其对骨代谢影响的机理,为该药在临床防治骨质疏松症提供科学实验依据。

实验材料

实验药物,黔岭藿合剂 (黔岭藿、刺五加、杜仲、黄芪和丹参等八味中药组成) 由福州中药厂加工提供。尼尔雌醇片由上海华联制药公司生产,批号: 1-1675-85。

实验动物 75 只 3 月龄健康 SD 系雌性近交大鼠由南京军区福州总医院动物实验中心提供。合格证书: 医动字第 23-024 号,编号: 006。大鼠饲料由上海西普尔——必凯实验动物有限公司提供。

实验方法

1. 骨质疏松动物模型制作

将 75 只 3 月龄大鼠常规喂养 1 周后,随机

分为三组: (1) 模型组: 41 只,用 25% 乌拉坦腹腔麻醉,在严格无菌条件下取腰椎旁背侧双切口,完整摘除双侧卵巢,止血,缝合切口; (2) 假手术组: 16 只,麻醉、手术条件同上,进入腹腔后,切除一小部分小肠系膜,止血,缝合切口; (3) 正常对照组: 18 只,不作任何手术处理。

术后饲养 3 个月,从模型组、假手术组和正常对照组分别随机取 8 只、7 只、8 只大鼠,分别置入代谢笼中收集 12 小时空腹尿液。翌日,以断头法处死,即刻剖腹,抽取后腔静脉血,置干净干燥塑料试管内静置 1 小时,然后置离心机上分离血清 (2000 转/分),20 分钟后,用吸管吸取血清,置于塑料试管内,塞紧塞子。血清及尿标本均置于 -20°C 冰箱内保存集中待测。处死之大鼠离断双后肢,剔除软组织,取出双侧股骨、胫骨备用。

2. 黔岭藿合剂治疗骨质疏松症实验

取上述造模 3 个月的模型组大鼠随机分为三组: (1) 中药组: 11 只,每鼠每日以黔岭藿合剂汤剂 6ml (含生药 6g) 灌胃一次; (2) 尼尔雌醇组: 11 只,按人鼠剂量换算^[1],每鼠每周给予尼尔雌醇 1mg/kg 一次,水化后灌胃; (3) 模型组: 11 只,不给任何药物。以上三组

* 福建中医学院 ** 福建省立医院 *** 福州总医院

给药、饲养 3 个月后，连同继续饲养 3 个月的上述假手术组 9 只、正常对照组 10 只，取尿液、血清、双侧股骨及胫骨，处理方法同上。

3. 观察指标

(1) 骨代谢生化指标：血清钙 (Ca)、磷 (P)、骨钙素 (BGP)、碱性磷酸酶 (AKP)；尿 Ca、肌肝 (Cr)、羟脯氨酸 (HOP)。

(2) 性激素测定指标：血清雌二醇 (E₂)。

(3) 骨组织学检测：取出的新鲜骨，经 5% 甲醛固定，5% 硝酸脱钙，按常规制成石蜡切片，HE 染色。于 Olympus 显微镜 10×10 倍下观察股骨下端及胫骨上端，观测骨小梁横径大小及骨小梁与其间骨髓组织横径之比 (梁髓比)，求均值。以正常对照组之骨小梁横径均值基数定为 1，其梁髓比为 1 : 1.5，与各组进行对比。

结 果

表 1 揭示：摘除卵巢 3 个月后，模型组大鼠骨质更新明显加速，骨丢失增加。表 2 摘除卵巢 6 个月后模型组骨质丢失更快；经中药合剂或尼尔雌醇治疗后，中药组 S-AKP、U-Ca/Cr 和 U-HOP/Cr 较模型组分别下降 12%、18% 和 25%，尼尔雌醇组较模型组分别下降 33%、28% 和 32%，表明中药合剂和尼尔雌醇均可抑制骨吸收，防止骨质进一步丢失。表 3 可见：摘除卵巢 3 个月后，模型组大鼠 S-

BGP 水平高于正常对照组，提高 13%，有显著差异性 (P<0.05)，说明大鼠骨质更新加速；模型组 S-E₂ 水平明显低于正常对照组，下降 46%，差异有显著性 (P<0.001)，揭示 S-E₂ 水平下降是绝经后骨质疏松症的重要发病因素。表 4 表明：摘除卵巢 6 个月后，模型组 S-BGP 水平较正常组提高 13%，S-E₂ 水平较正常组下降 48%，差异均有显著性 (P<0.05, P<0.01)；中药组、尼尔雌醇组较模型组大鼠 S-BGP 水平分别提高 30% 和下降 9.9% (P 均 <0.05)；中药组 S-BGP 水平明显高于尼尔雌醇组，差异有显著性 (P<0.001)，揭示中药合剂和尼尔雌醇均可改善骨质更新活动；中药组和尼尔雌醇组 S-E₂ 水平均高于模型组，差异有显著性 (P<0.05, P<0.01)，说明黔岭藿合剂具有尼尔雌醇样性激素作用，从而改善血中 E₂ 水平。

骨组织形态的变化：骨质疏松的主要变化是骨小梁，萎缩、变细，骨松质密度下降，骨基质减少。与正常对照组比较，摘除双侧卵巢的模型组大鼠其骨小梁横径均值数为 0.5，梁髓比为 1 : 3；经尼尔雌醇治疗者梁径均值数为 0.7，梁髓比为 1 : 2.3；中药组梁径均值数为 0.8，梁髓比为 1 : 2.1。(图 1~4)

表 1. 摘除双侧卵巢术后三个月 S-Ca、AKP、U-Ca/Cr 和 U-HOP/Cr 的水平变化 (X±S)

组别	只数(n)	S-Ca(mmol/L)	S-P(mmol/L)	S-AKP(IU/dL)	U-Ca/Cr	U-HOP/Cr
正常对照组	8	2.68±0.4	0.89±0.17	9.01±4.57	0.42±0.18	0.017±0.002
假手术组	7	2.56±0.38	0.92±0.28	8.85±3.61	0.42±0.23	0.019±0.002
模型组	8	2.56±0.46	0.88±0.14	13.52±4.12*	0.56±0.27**	0.026±0.003**

注：各组与正常对照组比较：* P<0.05 ** P<0.01

表 2 黔岭藿合剂、尼尔雌醇对模型鼠 S-Ca、AKP、U-Ca/Cr 和 U-HOP/Cr 的水平影响 (X±S)

组别	只数(n)	S-Ca(mmol/L)	S-P(mmol/L)	S-AKP(IU/dL)	U-Ca/Cr	U-HOP/Cr
正常对照组	10	2.63±0.46	0.89±0.21	9.00±4.51**	0.44±0.22*	0.020±0.003***
假手术组	9	2.60±0.41	0.91±0.19	8.91±4.24**	0.44±0.21*	0.021±0.003***
模型组	10	2.39±0.46	0.91±0.17	14.41±3.64	0.56±0.26	0.028±0.002
尼尔雌醇组	8	2.39±0.62	0.89±0.16	9.66±4.29* ^Δ	0.41±0.27*	0.019±0.003***
中药组	10	2.55±0.52	0.86±0.21	12.63±4.28*	0.46±0.31*	0.021±0.004*

注：各组与模型组比较：* P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

尼尔雌醇组与中药组比较：ΔP<0.05

表 3 摘除双侧卵巢术后三个月 S-BGP、S-E₂ 的水平变化(X±S)

组别	只数(n)	S-BGP(ng/ml)	S-E ₂ (ng/ml)
正常对照组	8	23.58±8.97	18.61±2.43
假手术组	7	23.42±8.89	17.98±3.35
模型组	8	26.74±10.04*	<10.00±0.00**

注:各组与正常组比较,*P<0.05 **P<0.01

表 4 龄呤甾合剂、尼尔雌醇对模型鼠 S-BGP、S-E₂ 的水平影响(X±S)

组别	只数(n)	S-BGP(ng/ml)	S-E ₂ (ng/ml)
正常对照组	10	24.21±8.21*	19.37±3.21**
假手术组	9	24.18±8.13*	19.01±3.03**
模型组	10	27.89±9.76	<10.00±0.00
尼尔雌醇组	8	25.13±10.79*△	25.39±5.21**
中药组	10	35.13±12.51*	26.89±6.02*

注:各组与模型组比较:*P<0.05 **P<0.01 尼尔雌醇组与中药组比较:△P<0.01

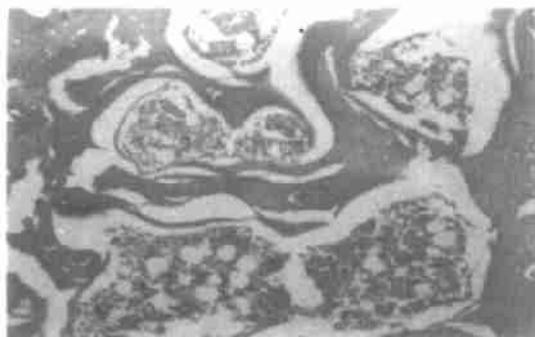


图 1 正常对照组(3个月)HE×100 骨小梁横径均值定为 1,梁髓比为 1:1.5



图 3 尼尔雌醇组(摘除双侧卵巢,尼尔雌醇治疗 3 个月)HE×100,骨小梁横径值数 0.7,梁髓比为 1:2.3

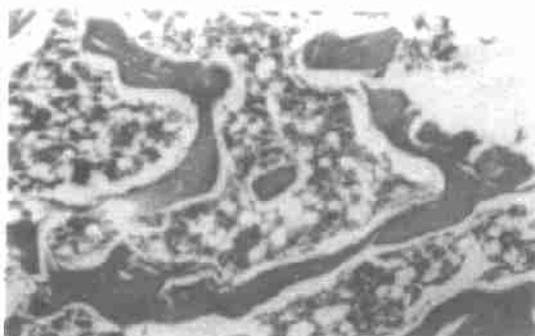


图 2 模型组(摘除双卵巢 3 个月)HE×100,骨小梁横径为正常组 0.5,梁髓比为 1:3

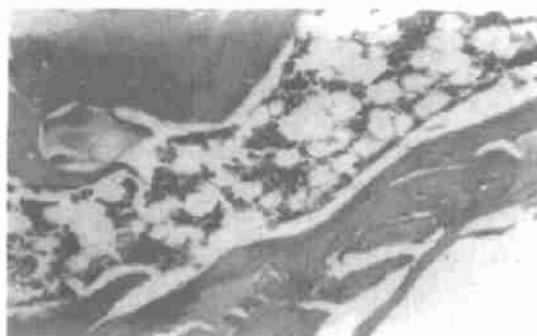


图 4 中药组(摘除双侧卵巢,中药治疗 3 个月)HE×100,骨小梁横径值数 0.8,梁髓比为 1:2.1

讨 论

本实验结果揭示黔岭藿合剂和临床治疗骨质疏松症的有效药物尼尔雌醇一样，具有维持或提高骨质疏松症骨质中骨矿含量的作用。绝经后性腺功能逐渐衰退，雌激素分泌减弱，导致骨代谢不平衡，也就是说破骨细胞的骨吸收活跃，成骨细胞的骨形成活动相应减弱，机体内完成一骨建周期，必然损失一部分骨量，日久导致骨质疏松症。采用雌激素替代治疗，能改善绝经后妇女的健康及生命质量，但其副作用较多，甚至可诱发癌症，难以被广泛接受。黔岭藿合剂以补肾为主，能提高模型大鼠 S-E₂ 水平，减少骨丢失，与文献^[2]报道一致。这种作用的产生，是通过兴奋垂体——肾上腺轴或性腺轴的功能来实现的。而黔岭藿合剂对骨的保护作用，是否单纯由于具有“性激素样”作用所致，有待深入讨论。本实验发现：尼尔雌醇组大鼠 S-E₂ 水平也上升，与程氏等^[3]报道尼尔雌醇治疗绝经后骨质疏松症前后 S-E₂ 水平无明显差异不一致。我们认为，差异原因是样本较小或是其它原因。此外与尼尔雌醇连续服用和周期服用给药方式有关。

目前采用摘除双侧卵巢的大鼠建立绝经后骨质疏松症的模型方法已广泛应用。尽管使用指标不同，模型的确定以统计学结果为准，如模型组与正常组比较，差异有显著性即认为模型成立^[4]。本实验根据去势 3 个

月雌性大鼠的 S-E₂、BMC、BMD 等多种检测结果均明显低于正常对照组，又根据骨组织病理学检验结果表明模型鼠骨小梁变细、髓腔径增大，可确认模型成立。

黔岭藿合剂用于临床治疗骨质疏松症由来已久^[5]，为了论证补肾可以提高体内雌激素水平的疗法已用于女性更年期综合征的治疗^[2]。黔岭藿合剂治疗实验性大鼠骨质疏松，大鼠体内 S-E₂ 水平得到回升，说明补肾疗法调整体内激素，雌激素水平增加，促进钙结合蛋白合成，利于肠钙吸收，改善骨质活力。

参考文献

1. 施新猷，等．医学动物实验方法．第二版．北京：人民卫生出版社 1986：448.
 2. 范振远，等．六味地黄丸（汤）药理研究及临床应用近况．中成药 1988；12：35
 3. 程国钧，等．尼尔雌醇防减绝经后妇女骨质丢失的初步研究．见刘忠厚主编骨质疏松症．北京：化学工业出版社 1992：285.
 4. 韩泽辉，等．实验性绝经后骨质疏松症的性激素治疗．中华外科杂志 1992；30（8）：451.
 5. 陶有略，等．黔岭藿合剂治疗骨质疏松症 60 例．中国中医药科技 1996；3（2）：39.
- （收稿：1996—08—19 修回：1996—12—04）

金华科惠公司 CPM 器供货信息

浙江金华市科惠医疗设备公司，是由科研单位创办的研制、生产各类 CPM 被动活动关节康复器的专业厂家，为国内最大 CPM 器生产厂。审批文号：浙药器监（准）字 97 第 126007 号。现货可供：

1. JK-B 型下肢关节康复器。
2. JK-C 型智能化下肢关节康复器。
3. JK-H 型肘/踝关节康复器。
4. JK-S 型手指关节康复器。
5. S-3 型便携式腰椎牵引器。
6. 外固定架等常规各类骨科消耗品。

地址：金华市青春东路通园南 7 幢。 邮编：321000 电话：0579—2339460，2319596 联系人：方明

Abstract of original Articles

Extradiscal Injection of Collagenase in The Treatment of Herniated Lumbar Disc—A Therapeutic Analysis of 240 Cases

Zhang Guomin, Wang Zhimin, Li Wenxian, et al.

Tang Du Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an (710038)

263 cases of lumbar disc herniation were treated with extradiscal injection of collagenase. All patients with typical clinical symptoms and signs were diagnosed by CT scanning or MRI, and all of them without therapeutic effect with conservative therapy. Among them, 240 cases had been followed up clinically for 3—12 months. The results showed that the cure rate, effective rate and ineffective rate were 62%, 92% and 8%, respectively. The theoretical foundation of extradiscal injection of collagenase was expounded that collagenase could dissolve the herniation of lumbar disc but did not affect to adjacent structures. The mechanisms of pain response after discolysis were analysed. The writers thought that the therapeutic effect of discolysis is closely related to the choice of the indication, the accuracy of the injection site, and the dosage of collagenase. Extradiscal discolysis is a safe, convenient and efficient method for treating herniated lumbar disc.

Key words Collagenase Discolysis Protrusion of inter vertebral disc Extradisc

(Original article on page 3)

The Comparative Study of Various Therapeutic Methods for Femoral Head Necrosis in Children

Wag Kunzheng, Li Zhiying, Yu Quansheng, et al.

The Second Affiliated Hospital, Xi'an Medical University, Xi'an (710004)

215 cases of femoral head necrosis in children were treated with non — operative therapy, drilling decompression, synovectomy of hip joint, fenestration decompression and cancellous bone grafting, transplation of satorius muscle — bone flap, and trans — plation of anastomotic blood vessel — fibula, respectively. Among them, 161 cases were followed up for 1—15 years and

systematically observed. According to Catterall's X—ray stages, and taking the function of hip joint and the changes of femoral head in X—ray film as the criteria of evaluation, the indication of various therapeutic methods in different stages were observed.

Key words Children Necrosis of femoral head Treatment

(Original article on page 7)

Effects of Qianlinghuo Heji on Osteoporosis Induced by Ovariectomy: An Experimental Study

Tao Youlue, Fang Liang, Zhang Zhian, et al.

The Second People's Hospital of Fujian Province, Fuzhou (350003)

Qianlinghuo Heji (Epemedium Leptorrhizum Agent) is a mixture of Chinese medical herbs on osteoporosis. The rats' models of postmenopausal high turnover osteoporosis were established three months after ovariectomy, and then divided into three groups: the Chinese drug group, nilestriol group, and model group. After treating for three months, the results showed that the ration of fasting urine calcium/urine creatinin and urine hydroxyproline/urine creatinin in Chinese druy group and in nilestriol group are obviously decreased than that in model group ($P < 0.05$ and < 0.01 , respectively); the serum estradiol, bone mineral capacity and bone mineral density in both the Chinese drug and nilestriol groups are increased than that in model group; the level of serum bone gal protein in Chinese drug group is higher than that in nilestriol and model groups ($P < 0.05$); and the activity of serum alkaline phosphatase in nilestriol group is lower than that in Chinese drug and model groups ($P < 0.05$). The results indicated that Qianlinghuo Heji can prevent the rats with osteoporosis from losing bone material and thus protect the bone.

Key words Osteoporosis Chinese drug Qianlinghuo Heji Rat Ovariectomy

(Original article on page 9)

Hemodynamic Study of Manipulative Treatment of The Experimental Osteoarthritis of Knee Joint

Wang Jiwei, Shi Weibin, Du Ning, et al.