

中药补骨丹治疗去卵巢大鼠骨质疏松的研究

同济医科大学附属协和医院 (武汉 430022)

夏志道 蔡国平* 常超英** 吴文才*** 冯世纶****

摘要 本文报道一种经生物化学增效的中药复方制剂“补骨丹”对卵巢切除大鼠骨质疏松模型的治疗。6月龄雌性 Wistar 大鼠 30 只,手术切除双侧卵巢造成骨质疏松模型;另 10 只假手术手正常对照。去卵巢大鼠随机分为 3 组,以生理盐水、补骨丹、或己烯雌酚腹腔注射,1 次/日,治疗 8 周。从生物力学、骨密度、骨组织形态等方面进行了研究。结果表明,补骨丹组股骨骨矿含量、生物力学性能均显著高于模型组,病理组织学观察结果与此相符。提示补骨丹是一种有研究和应用前景的制剂。

关键词 骨质疏松 补骨丹 生化增效 大鼠

Study on the Effects of Bu Gu Dan in the Treatment of osteoporosis in Ovariectomized Rats

Union Hospital, Tongji Medical University (Wuhan 430022)

Xia Zhidao, Cai Guoping, Chang Chaoying, et al

The effects of Bu Gu Dan (BGD), a biochemically synergic traditional Chinese herb preparation, in treatment of osteoporosis of ovariectomized rats have been studied. 40 female Wistar rats aged 6 months were used. 10 out of them, as normal group, were made a sham operation. 30 out of them were ovariectomized bilaterally to mould the models of osteoporosis, and then divided randomly into three groups; injected intraperitoneally Q. D. with normal saline, BGD, and diethylstilbestrol, respectively. After treating for 8 weeks, the biomechanical property, bone density, and histopathological changes were examined. The results showed that the bone mineral content and biomechanical property of femur in BGD group were higher significantly than that of model group, and the result of pathohistological observation was in accordance with them. It is concluded that BGD is a preparation with good prospects for research and application.

Key words Osteoporosis Bu Gu Dan Biomechanical synergics Rat

骨质疏松是一种以骨量减少,骨显微结构改变从而导致骨脆性增加和骨折危险性增大的一种疾病⁽¹⁾。近年来,国内有较多的中药被用于骨质疏松的治疗⁽²⁾,除了依据“肾主骨”的理论指导外,其对于骨代谢过程调节的机制尚无一致的结论。本文报道一种经生物工程增效处理的中药复方制剂“补骨丹”对卵巢摘除大鼠骨质疏松模型的治疗,从骨矿、生物力学、骨组织形态等方面进行研究,取得良好效果,报道

如下。

材料与方法

1. 动物模型 6月龄雌性 Wistar 大鼠 40 只(购自北京医科大学实验动物中心),体重 300~350g,以 1%戊巴比妥钠腹腔麻醉,30 只无菌条件下手术切除双侧卵巢,缝合切口,标准饲料养 42 天造成骨质疏松模型;另 10 只假手术,不切除卵巢作正常对照。

2. 分组 手术 42 天后大鼠随机分为以下

* 清华大学生物科学与技术系
** 中国中医研究院骨伤科研究所
*** 北京梵世生物高技术研究所
**** 北京中日友好医院

4 组，每组 10 只：(1) 正常对照组，为假手术组，动物常规饲养，不作其它处理；(2) 模型组，以 0.9% 生理盐水 1ml 腹腔注射，1 次/日；(3) 补骨丹组，以补骨丹溶于 37℃ 无菌双蒸水 24 小时，取相当原药 0.35mg/ml 上清液腹腔注射，1 次/日；(4) 己烯雌酚组，造模后以己烯雌酚 0.5mg/ml 腹腔注射，1 次/日。动物治疗 4 周后以 1% 戊巴比妥钠腹腔麻醉取材，用于以下测试。

3. 骨密度分析 每组动物取完整股骨 8 只，去除表面的软组织，保留骨膜，以 LUNAR 双能 X 线骨密度仪小动物软件检测完整股骨的骨密度含量。

4. 生物力学测试 取骨密度分析后标本以 WG-1 型电子万能试验机（长春非金属试

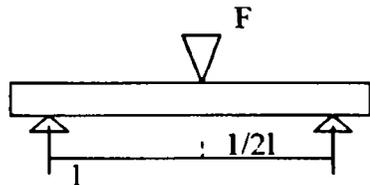


图 1 大鼠股骨三点加压试验

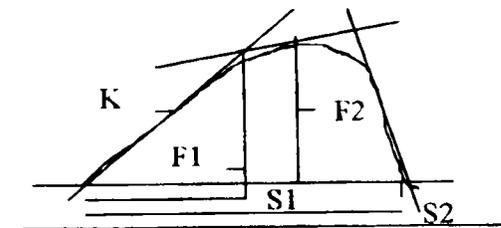


图 2 三点加压应力—应变图

验机厂) 作三点加压试验 (图 1)。标定 25kg，加载速度 2mm/min。根据三点加压记录图形 (图 2) 分析中斜率 (K)、屈服力 (F1)、屈服力矩 (S1)、破坏力 (F2)、破坏力矩 (S2)，计算出弹性模量 (K)、屈服能 (E1 = F1 × S1)、破坏能 (E2 = F2 × S2)。

5. 病理组织学观察 取生物力学测试后标本股骨髓，以 70% 酒精固定，30% 甲酸脱钙，石蜡包埋切片，苏木精—伊红染色，光镜观察。

结 果

1. 骨密度分析 结果显示，假手术、补骨丹、己烯雌酚三组骨密度均显著或非常显著地高于模型组。但假手术、补骨丹、己烯雌酚三组之间比较无显著性差异 (表 1)。

表 1 补骨丹治疗去卵巢大鼠骨质疏松模型的骨矿分析 (X ± SD)

组 别	样本数	骨矿含量 (g/cm ²)
假手术组	8	0.265 ± 0.024 [*]
模型组	8	0.240 ± 0.009
补骨丹组	8	0.261 ± 0.011 ^{**}
己烯雌酚组	8	0.256 ± 0.013 ^{**}

^{*} 与模型组相比，0.01 < P < 0.05；^{**} 与模型组相比，P < 0.01

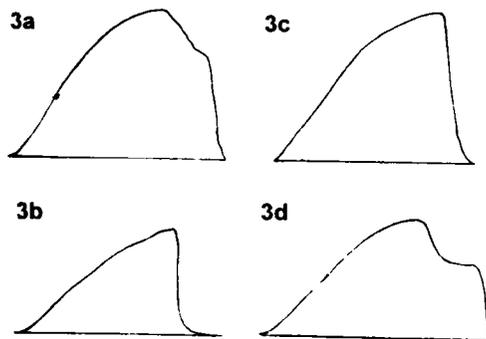


图 3 大鼠股骨三点加压应力—应变图分析 3a. 假手术组；3b. 模型组；3c. 补骨丹组；3d. 己烯雌酚组

2. 生物力学测试 四组生物力学测试记录结果从形态上来看显示明显差异。四组标本在加载后均有一段线性上升的过程，到达屈服点呈现非线性过程而到达最大载荷，然后过渡到破坏点而折断。其中假手术组到达最大载荷后仍持续一段时间后才发生骨折 (图 3a)；模型组承载力明显下降，屈服时间变短，到达最大载荷后立即折断 (图 3b)，显示脆性增加；补骨丹组最大载荷与屈服时间介于假手术组与模型组之间 (图 3c)；而己烯雌酚组到达最大载荷后发生两次折断 (图 3d)

生物力学分析结果见表 2

表 2 补骨丹治疗去卵巢大鼠骨质疏松模型的生物力学分析 (X±SD)

组别	样本数	弹性模量	屈服力	破坏力	屈服能	破坏能
假手术组	8	1.40±0.16**	8.98±1.58**	10.33±1.76**	6.46±1.80*	12.10±3.0
模型组	8	0.95±0.088	6.38±1.30	7.84±1.04	4.47±1.90	7.75±1.0
补骨丹组	8	1.19±0.16**	7.71±0.64*	9.39±1.26*	5.56±0.91	10.84±1.0
己烯雌酚组	8	1.25±0.16**	7.71±1.36	9.13±1.34	5.55±1.78	9.37±3.0

*与模型组相比, 0.01 < P < 0.05; **与模型组相比, P < 0.01

3. 病理组织学观察 组织切片 HE 染色, 光镜观察结果显示, 与假手术组相比, 模型组股骨髁干骺端成骨区骨小梁数目明显减少, 结构紊乱; 补骨丹组骨小梁数目有所减少, 但现存骨小梁较为粗大; 己烯雌酚组骨小梁数目亦有所减少, 但现存骨小梁较细, 其中残存较多未吸收的软骨。

讨 论

妇女原发性骨质疏松症主要发生于绝经后, 一般认为其发生主要原因是由于卵巢功能衰退, 雌激素水平下降^[3,4], 该机理已为大量的临床及动物实验结果所证实。因此成年雌性大鼠双侧卵巢切除后诱发骨质疏松模型已在国内外广泛使用。本实验采用该模型诱发大鼠骨质疏松, 去卵巢后大鼠股骨髁骨小梁数目明显减少, 骨矿含量降低, 力学性能下降, 提示本文动物模型与骨质疏松相符合。

一般认为, 骨量、骨显微结构和骨生物力学性能的改变是一致的。结合本实验三项结果来看, 四组动物骨量、骨显微结构和骨生物力学性能的改变基本相符。

骨密度是反映骨量的重要参量^[5]。本研究采用双能 X 线骨密度仪对骨质疏松大鼠完整股骨进行定量分析。结果显示去卵巢大鼠 10 周骨矿含量较假手术组明显降低 (0.01 < P < 0.05); 采用中药补骨丹和己烯雌酚治疗组骨矿含量均明显高于模型组, 显示补骨丹和己烯雌酚均能提高去卵巢大鼠的骨矿含量。但己烯雌酚组尽管骨矿含量显著高于模型组, 其力学性能除弹性模量外并未能显示与模型组的差异。由于两组之间骨矿含量基本接近, 因此推测此现象可能是由骨有机质成分变化所导致的。

对于骨质疏松症的治疗, 目前国际上常用

的治疗药物包括雌激素、降钙素、氟化物等^[6,7,8]。但这些药由于存在一些副作用而使用受到限制。因而, 从天然植物中提取有效成分以防治骨质疏松症受到越来越多的关注。

补骨丹是由传统中草药经生化增效的制剂。一般认为, 中草药的主要成分是大分子物质如纤维素、粗蛋白、淀粉、果胶等多糖类和多肽类高分子物质, 这些成分被作为没有药效的部分而在制剂中加以去除; 通常作为有效成分的为小分子物质包括生物碱、萜类、甙类等, 这些成分能控制疾病的症状而达到治疗作用, 对于其作用机制前人已作了大量工作。

近年来, 植物药物中中分子物质的作用被引起广泛的重视。植物药中的中分子物质包括低聚糖、小蛋白(低肽)和糖肽皂甙等。中分子物质一方面参与小分子药物成分的吸收、分布的调节, 另一方面直接对正常细胞基因水平的表达产生影响^[9]。这些作用主要取决于中分子物质的分子量。

事实上生物体内具有生物活性的中分子物质分布在一个很窄的分子量范围, 通过对植物药物中纤维素、粗蛋白、淀粉、果胶成分在指定分子量范围降解和重组, 使这些按常规制剂如煎煮、醇沉中破坏或弃去的具有生物活性的中分子物质大量释放出来, 而使药效几十至上百倍增加^[9]。

补骨丹是依据骨质疏松症多表现为肾虚寒湿, 故治以补肾去湿, 强筋健骨为法, 又根据多年临床经验组成的复方, 由补骨脂、蛇床子、十大功劳、豨莶草、当归等药物组成, 经生物化学增效处理后中分子物质含量由处理前 0.3% 上升到 76.7%。其对去卵巢造成的骨质疏松大鼠模型研究的结果表明, 该制剂能显著

提高去卵巢大鼠股骨的骨量和生物力学性能,改善其显微结构,达到了治疗去卵巢大鼠骨质疏松的目的,且治疗效果优于雌激素替代治疗组。提示补骨丹是一种有研究和应用前景的制剂。但其对骨质疏松的治疗机制仍有待于更进一步的实验和临床研究与论证。

参考文献

1. Fleisch H. Pathophysiology of osteoporosis. Bone Mineral 1993; 22 (suppl.): s3.
2. 沈霖,杜培远,杨家玉,等. 补肾法预防绝经后妇女骨质丢失的临床研究. 中国中西医结合杂志 1994; 14 (9): 915.
3. Melton JL. How many women have osteoporosis now? J Bone Miner Res 1995; 10 (2): 175.
4. Valinaki MJ, Jahlela R, Jones JD, et al. Bone resorption in healthy and osteoporotic postmenopausal women: comparison

marker for serum carboxyl-terminal telopeptide of type I collagen and urinary pyridinium cross-link. Europ J Endocrinol 1994; 131 (3): 258.

5. 王洪复,翁世芳,黄克. 大鼠骨密度测定方法及其在骨质疏松模型建立中的应用. 中国骨质疏松杂志 1995; 1 (1): 8.
6. Majeska RJ, Ryaby JT, Einhorn TA. Direct modulation of osteoblastic activity with estrogen. J Bone Joint Surg 1994; 76 (A5): 713.
7. Kanis JA. Treatment of symptomatic osteoporosis with fluoride. Am J Med 1993; 95 (5PartA): 535.
8. Gennari C, Agnusdei D. Use of calcitonin in treatment of bone pain associated with osteoporosis. Calcif Tissue Int 1991; 49 (suppl 2): 9.
9. 刘秀清,吴文才,冯世纶. 中药新制剂生化增效制剂的研制及应用. 中国中医药信息杂志 1995; 2 (12): 10.

(收稿: 1996—12—16)

外固定器治疗粗隆间骨折中针道感染的防治

北京市第六医院 (100007) 孙振杰 刘瑞波

现就我院应用外固定器治疗股骨粗隆间骨折中防治针道感染的体会报告如下。

临床资料 我院应用力臂式外固定器治疗股骨粗隆间骨折 170 例,其中男 86 例,女 84 例;年龄 32~93 岁;手术为伤后 2~10 天;术后外固定 8~15 周,平均 11 周。共用 4mm 直径骨圆钉 650 根。我们把针道周围有红肿或分泌物的均列为炎症针孔,进行细菌培养、药物敏感试验及血常规检查。本组炎症的针孔为 195/650。细菌培养阳性者 12 例,共 16 个针道,其中大肠杆菌 8 个,表皮葡萄球菌 6 个,克雷伯杆菌 2 个。病人的血白细胞总数及中性分类均有不同程度增高。按细菌培养阳性针孔计算,本组针道感染率是 16/650。

治疗方法及结果 对于有针道感染的病例,按药物敏感试验结果,选用抗菌素静脉点滴治疗,局部用 2.5% 碘酊及 75% 酒精清洁换药,保持针孔引流通畅,同时减少肢体活动,均于一周内得到控制。对于其它细菌培养阴性的炎症针孔,以局部处理为主,改善针皮界面的关系,避免针压迫皮肤,预防性应用抗菌素,防止继发细菌感染。

讨论 1. 无菌性炎症针孔:表现为针道有黄色渗液,可出现红肿疼痛,血常规检查正常,针孔部细菌培养阴性。其原因可能是:(1)外固定钉在钻透骨皮质过

程中产热,对针道周围组织造成损伤,使其水肿、变性、坏死,脂肪液化。故手术中应选用低速钻间歇钻入,同时在外固定钉上用生理盐水降温,使热损伤降到最低限度。(2)外固定针磨擦、压迫周围组织,造成坏死,多在组织丰厚的大粗隆部位针道,功能锻炼期出现,以疼痛、渗液为主。因此,术中要调整好进针角度,在锻炼期出现的组织压迫,可在无菌条件下切开松解。(3)由于大粗隆部位骨皮质薄,长期的固定使针体周围骨吸收,针体松动,加重与针道旁组织磨擦,出现炎症反应,在拆除外固定时,大粗隆部固定钉较容易拔出,与针孔炎症反应多发相吻合。此种情况见于外固定后期,防治上要求良好的骨折复位,外固定器加压保持骨折断端紧密接触,使应力经断端间传导,降低外固定针的动态应力。

2. 有菌性(感染)炎症针孔:针道周围软组织红肿、发热、疼痛较重,有脓性分泌物,血白细胞总数及中性分类均有不同程度升高,培养出细菌;本组以大肠杆菌为多(8/16)。主要是在无菌性炎症基础上继发细菌感染,本组 12 例针道感染者,经治疗,术后均按期拆外固定器,拔针时做针尖部的细菌培养,均无细菌生长,表明感染仅限于浅部组织,无深部组织及骨的感染。

(收稿: 1997—03—06)