

健骨冲剂对去卵巢大鼠股骨及腰椎的生物力学作用

王晓达 张风华 符诗聪 史炜镔 杜宁 李国衡
(上海第二医科大学附属瑞金医院, 上海 200025)

【摘要】 目的 研究不同剂量健骨冲剂预防去卵巢 1 月后 SD 大鼠生物力学特性降低的疗效。方法 77 只 6 月龄雌性 SD 大鼠随机分为 7 组: 假手术(Sham)组、卵巢切除(OVX)组、尼尔雌醇(E)组、仙灵骨葆(X)组、健骨冲剂低剂量(JL)组、健骨冲剂高剂量(JH)组、健骨冲剂中剂量(JM)组, 每组 11 只; 除 Sham 组外, 其余各组行卵巢摘除术诱导绝经后骨质疏松症模型, 术后除 OVX 组各治疗组分别给药, 1 月后测定生物力学指标。结果 JH 组股骨抗弯程度显著高于 OVX 组, 股骨中段直径显著小于后者; JM 组腰椎抗压强度显著高于 OVX 组; 3 种剂量组股骨弹性模量和椎体直径显著高于 E 组, 腰椎抗压强度均显著低于后者。结论 低、中剂量健骨冲剂短期应用能够预防 OVX 术大鼠骨折危险性增加的趋势。

【关键词】 补肾药 骨质疏松, 绝经后 生物力学

Biomechanical effects of Jiangu Chongji (a TCM decoction) on femur and lumbar vertebrae of ovariectomized female rats WANG Xiaoda, ZHANG Fenghua, FU Shicong, et al. Ruijin Hospital affiliated to Shanghai 2nd Medical University (Shanghai, 200025)

【Abstract】 Objective To study the biomechanical effect with different dosage of Jiangu Chongji (JC) on ovariectomy SD rats **Methods** 77 female SD rats at 6 months were randomly divided into 7 groups of 11 each: Sham group, OVX group, E group, X group, JL group, JH group, JM group. All the animals had ovariectomy except those in the Sham group and treated 1 month separately except OVX group. The biomechanical index of femur and lumbar vertebrae of ovariectomy female rats were measured after 1 month. **Results** The mechanical strength and diameter of the femur in low dose group were significantly higher than that of OVX group and diameter of the femur smaller than latter; the lumbar vertebrae compressive strength in middle dose group were higher, and the modulus of elasticity of the femur and diameter of the lumbar vertebrae in the 3 JC groups were significantly higher than that of the estrogen group and the lumbar vertebrae compressive strength were lower than the latter. **Conclusion** JC appears to be able to prevent increasing risk of fracture in ovariectomized rats.

【Key Words】 Kidney reinforcing drugs Osteoporosis, postmenopausal Biomechanics

妇女绝经后雌激素水平下降导致骨转换速率加快, 骨量下降引发骨质疏松症, 直接表现为骨的生物力学特性降低, 骨折危险性增加。现有文献报道卵巢摘除术(OVX)诱导的原发性骨质疏松症大鼠模型在去卵巢 2 周后即可观察到血清降钙素水平显著低于 Sham 组^[1], 尿吡啶酚、脱氧吡啶酚水平显著高于 Sham 组^[2], 骨小梁骨量的丢失开始有显著意义, 1 个月后检测到骨密度显著降低^[3,4]。目前, 国外尚无此类观察到骨生物力学特性有显著性降低的报道。本实验观察了雌

性 SD 大鼠 OVX 1 月后骨生物力学特性的改变以及中药健骨冲剂的预防作用, 并与尼尔雌醇、仙灵骨葆进行对照。

1 材料与方

1.1 动物 6 月龄 SD 大鼠 77 只, 体重 280±20g, 由中科院动物实验中心提供(中科院实验动物合格证号: 99-004)。

1.2 药物和试剂 健骨冲剂(主要成分为党参、生白术、淫羊藿等)李国衡教授经验方, 由上海瑞金医院制剂室提供; 尼尔雌醇片, 由上海华联制药有限公司生产, 批号: 971201; 仙灵骨葆, 由贵州仙灵药业有限责任公司生产, 批号: 980404。

1.3 动物分组及处理 随机分为 7 组: Sham 组、OVX 组、JL 组、JM 组、JH 组、E 组、X 组。各组大鼠以 1% 戊巴比妥钠腹

腔麻醉, 无菌条件下手术, Sham 组剖腹找到卵巢后立即放回原处, 关闭腹腔; 其余各组摘除双侧卵巢, 关闭腹腔。术后 Sham 组、OVX 组正常饲养; E 组灌喂尼尔雌醇, 剂量: 0.0166mg/100g/只(成人每公斤体重每月的 8 倍), 每月 2 次; 余组分别每天一次用含药饲料(正常饲料含量: 每天每只大鼠 7.5g) 喂养, 剂量: X 组: 仙灵骨葆 26.65mg/100g 体重/只/天(成人每公斤体重每天的 8 倍); JL 组, 健骨冲剂 0.0732g/100g 体重/只/天(成人每公斤体重每天的 4 倍); JM 组, 健骨冲剂 0.1464g/100g 体重/只/天(成人每公斤体重每天的 8 倍); JH 组, 健骨冲剂 0.2928g/100g 体重/只/天(成人每公斤体重每天的 16 倍)。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 股骨三点折弯力学指标的测定 取完整的右侧股骨, 测定股骨中段直径, 采用万能实验机[INSTRON 2211 型万能材料实验机(英国)]测定: 屈服载荷、最大载荷、断裂载荷、屈服变形, 计算出屈服应力、抗弯强度、断裂应力及弹性模量。

1.4.2 腰椎抗压力学指标的测定 取第 4 腰椎椎体, 测定中段直径, 采用万能实验机测定最大载荷, 计算出抗压强度。

1.5 统计学处理 采用 SAS 6.04 软件, 两两比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析。

2 结果

2.1 股骨生物力学特性(见表 1) 去卵巢 1 月后 OVX 组与 Sham 组比较, 仅弹性模量的升高和中段直径的增大有显著性差别; 股骨屈服载荷、最大载荷、破坏载荷、屈服应力、抗弯强度、破坏应力等指标均只表现出一定的变化趋势而无显著性意义。与 OVX 组比较, JL 组的抗弯强度显著高于后者, 中段直径显著小于后者; 屈服应力、破坏应力表现出高于后者的趋势; JM 组在最大载荷、抗弯强度和破坏应力方面表现出增高趋势, 在中段直径方面表现出小于后者的趋势; JH 组仅在抗压强度、破坏应力方面表现出优于 OVX 组及中段直径小于后者的趋势。JL、JM、JH 3 组的弹性模量均显著高于 E 组, 其余指标与后者无显著性差异。

表 1 造模 1 月后各组股骨生物力学状况

组别	屈服载荷 (N)	最大载荷 (N)	断裂载荷 (N)	弹性模量 (N/mm)	直径 (mm)	屈服应力 (N/mm ²)	抗弯强度 (N/mm ²)	断裂应力 (N/mm ²)
Sham 组	59.27±9.09	76.90±7.48	61.36±17.26	77.72±2.39*	3.44±0.16	9.67±1.71	12.58±1.96	10.01±2.97
JL 组	59.27±9.22	80.73±6.68	66.33±15.23	80.26±2.30 [△]	3.46±0.17	10.09±1.81	13.71±1.04*	11.44±2.98
JM 组	58.40±7.41	82.3±11.80	66.62±25.61	80.74±2.51 [△]	3.53±0.15	9.17±0.97	12.86±0.75	10.25±3.43
JH 组	0.20±11.2	80.40±11.3	67.87±18.01	80.52±1.51 [△]	3.57±0.19	9.38±1.34	12.59±1.39	10.58±2.79
X 组	56.50±8.36	75.80±7.76	50.13±14.23	79.05±1.41 [△]	3.64±0.13	8.82±0.97	11.56±1.79	7.80±1.90
E 组	3.55±13.6	83.45±15.6	72.36±15.81	75.29±2.14*	3.61±0.33	10.21±3.04	13.41±2.66	11.73±3.97
OVX 组	62.18±6.78	77.55±9.63	65.60±23.72	80.04±1.84	3.70±0.26	9.23±1.29	11.45±1.32	9.45±3.02

注: 与 OVX 组比较: * *P* < 0.05; 与 E 组比较: [△] *P* < 0.05。

2.2 腰椎生物力学特性(见表 2) 去卵巢 1 月后与 Sham 组比较, OVX 组抗压强度的降低和椎体直径的增加有显著性差异。与 OVX 组比较, JL 组各项指标均无明显差异; JM 组抗压强度的增高有显著性差异, 抗压载荷表现出增高的趋势; JH 组仅抗压载荷表现出增高的趋势。JL、JM、JH 3 组的椎体直径均显著高于 E 组, 而抗压强度均显著低于后者; 与 X 组比较, 各项指标无显著性差异, JL 组抗压载荷有降低趋势, JM 组抗压强度有增高趋势。

表 2 造模 1 月后各组腰椎生物力学状况

组别	抗压载荷(N)	椎体直径(mm)	抗压强度(N/mm ²)
Sham 组	122.78±30.64	2.58±0.22*	23.32±1.65* [△]
JL 组	126.90±26.90	2.79±0.18 [△]	21.09±1.08 [△]
JM 组	134.60±41.55	2.78±0.18 [△]	22.08±1.83* [△]
JH 组	138.20±35.74	2.91±0.14 [△]	20.63±1.46 [△]
X 组	137.67±27.02	2.98±0.16 [△]	19.92±1.42 [△]
E 组	146.40±23.43	2.56±0.13*	28.72±1.87*
OVX 组	127.78±43.24	2.83±0.21 [△]	19.82±1.56 [△]

注: 与 OVX 组比较: * *P* < 0.05; 与 E 组比较: [△] *P* < 0.05。

3 讨论

3.1 动物模型生物力学特性的改变

与 Sham 组比较, OVX 组术后 1 月时股骨承受的屈服、最大、断裂 3 种载荷及应力均无显著性差别; 腰椎的抗压载荷也无显著性差别, 但抗压强度(即应力)显著低于后者。说明造

模 1 月, 在生化指标、骨小梁形态以及骨密度已能检测到显著性改变时, 皮质骨生物力学特性和松质骨结构力学特性指标仍不能观察到显著性改变, 仅反映松质骨材料力学特性的腰椎抗压强度观察到显著性改变。提示骨质疏松症模型的发生过程中, 骨生物力学特性指标的敏感性低于前述几种指标, 其中, 松质骨应力的敏感性相对较高; 暗示骨质疏松症时骨折危险性是在生化指标、骨小梁形态及骨密度显著改变之后才开始显露的。这与临床的观测相符: 骨质疏松症患者骨折危险性是在骨密度检查出现明显降低(低于 2 个 SD)后才开始有意义的; 最先发生的骨折一般是胸腰椎(此处松质骨较多)处的压缩骨折。

弹性模量是反映骨质内在特性的指标, 与骨的尺寸大小无关, 主要受骨小梁定向和骨密度变化的影响。OVX 组股骨弹性模量显著低于 Sham 组, 说明其股骨脆性增加, 韧性下降, 如果此时骨强度低, 即提示骨折危险性高。同时发现弹性模量是皮质骨生物力学检测中最早改变的指标, 比同样是反映材料力学特性的应力更敏感, 可能与其主要受骨小梁定向和骨密度变化的影响而不受骨尺寸大小的影响有关。

另外, 本研究发现 OVX 组股骨中段直径明显高于 Sham 组, 椎体直径明显高于 Sham 组和雌激素组, 证实卵巢摘除后骨质疏松症模型大鼠骨骼发育增大, 这与 Roger E 等^[3]观察到的现象相符。这种形态上的壮大短期内抵消了骨小梁骨量降低导致的骨折危险性增加, 可以作为 OVX 组去卵巢短期

内(1月)骨小梁已有改变时受骨形状大小影响的载荷值却没有明显降低的解释。同时证实消除骨尺寸影响的弹性模量和应力成为生物力学检测中较早反应骨折危险性的敏感指标。

OVX 组腰椎抗压强度和股骨弹性模量均显著低于 Sham 组,提示 OVX 诱导绝经后骨质疏松症实验模型复制是成功的。OVX 组股骨远端和腰椎的不脱钙骨切片观察到骨小梁变细减少的现象进一步证实了这点(目前已完成进行计算机图象分析处理,另文发表)。

3.2 健骨冲剂预防大鼠骨质疏松症的疗效

在预防皮质骨骨折方面,去卵巢 1 月后 JL 组的股骨抗弯强度显著优于 OVX 组,中段直径与 Sham 组相似显著小于后者,屈服应力、破坏应力表现出优于后者的趋势,提示低剂量的健骨冲剂用药 1 个月即可以有效预防实验大鼠的骨质疏松症发生,减少皮质骨骨量丢失,提高皮质骨生物力学特性,降低骨折危险性。JM 组在最大载荷、抗弯强度和破坏应力方面表现出优于 OVX 组的趋势,同时中段直径有小于后者的趋势;JH 组在抗压强度、破坏应力方面表现出优于 OVX 组及中段直径小于后者的趋势;提示中、高剂量的健骨冲剂有预防大鼠骨质疏松症皮质骨丢失的趋势,但短期内疗效不如低剂量组。

JL、JM、JH 3 组的弹性模量均显著高于 E 组和 Sham 组,提示 3 种剂量的健骨冲剂短期内无雌激素样作用并增加皮质骨脆性,但其最大载荷和抗弯强度有明显的增加趋势,显示有降低骨折危险性的趋势,可能与健骨冲剂改善皮质骨骨量和结构的方式有关,在增加骨强度的同时降低了韧性。与中药对照组仙灵骨葆比较,JL、JM、JH 3 组屈服应力、抗弯强度、破坏应力等指标均有优于后者的趋势,长期治疗可能会显示出显著性(目前正在进行这方面的工作)。

在预防松质骨骨折方面,与 OVX 组比较,JL 组各项指标均无明显差异;JM 组抗压强度的增高有显著性差异,抗压载荷表现出增高的趋势;JH 组仅抗压载荷表现出增高的趋势;提示在预防大鼠骨质疏松症松质骨丢失时,短时间内(1月)

中剂量的健骨冲剂疗效最佳,能够显著提高动物模型松质骨生物力学特性,减少脆性骨折倾向,可能与其改善骨重建偶联,增加骨量(包括骨矿物质和骨基质),改善骨结构有关。JL、JM、JH 3 组的椎体直径均显著高于 E 组,而抗压强度均显著低于后者证实健骨冲剂无雌激素样作用。与 X 组比较,JM 组抗压强度的增高趋势暗示其后期疗效可能会显示出明显优势。

实验提示短期使用健骨冲剂能够改善松质骨生物力学特性,尤其是材料力学特性,在一定程度上预防雌激素遽然减少导致的骨折危险性增加。可能与其提高患者血清雌激素、降低尿 Ca/Cr 水平^[5]以及延长动物模型成骨细胞成骨期,增加骨量^[6]有关。作为纯中药制剂,其无雌激素长期使用产生的多种副作用,又有优于同类产品的趋势,是一种颇具研究和应用前景的复方药物。我们将进一步研究和论证其对骨质疏松症的治疗机理。

参考文献

- [1] Gukan L, Ekeland A, Gautvik KM, et al. Bone changes after castration in rats. A model for osteoporosis. Acta Orthop Scand, 1989, Feb, 57(1): 67-70.
- [2] Tordjman C, Lhumeau A, Pastoureaux P, et al. Evaluation and comparison of urinary pyridinium crosslinks in two rat models of bone loss—ovariectomy and adjuvant polyarthritis—using a new automated HPLC method. Bone Miner, 1994, 26(2): 155-67.
- [3] Roudebush RE, Magee DE, Bensley DN, et al. Effect of weight manipulation on bone loss due to ovariectomy and the protective effects of estrogen in the rat. Calcif Tissue Int 1993, 53(1): 6F-4.
- [4] Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, et al. FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. Bone 1995 17(4 suppl): 125-133.
- [5] 史伟镇,王济伟,符诗聪,等.骨松 I 号治疗绝经后骨质疏松症初步临床观察.中国骨伤,1996,9(6): 3-5.
- [6] 罗为民,符诗聪,杜宁,等.健脾补肾法防治绝经后骨质疏松的计量学研究.中国中医骨伤科杂志,1995,3(2): 1-4.

(收稿:2000-06-08 修回:2000-12-20 编辑:李为农)

中国中医研究院针灸研究所针灸培训学校招生

(京)教社证字 A91048 京教社广字(东城)2000072 号

我校以主办针灸、推拿名老专家临床经验传授班及针灸、推拿特色疗法培训班为常年教学任务而闻名于社会。依托于中国中医研究院得天独厚的人才优势及京城名医专家而吸引着全国同行源源不断来我校充电、提高。为感谢广大同行对我校的信任与厚爱,2001 年下半年将继续举办:1. 全国高级针灸进修班:9 月 16 日~9 月 28 日;10 月 23 日~11 月 4 日,此班为国家级继续教育项目,授予 25 学分,学费 800 元。2. 中医美容特效疗法培训班。11 月 7 日~11 月 13 日,学费 1200 元。3. 针灸推拿函授班:10 月 8 日~2003 年 3 月,学费 645 元。

新开办班有:1. 针灸专业英语涉外班:11 月 15 日~2002 年 3 月,为适应国际对于外向型复合型针灸人才的迫切需求而设。此班由国家中医药管理局国际合作司主办,中国中医研究院针灸所国际针灸培训中心及针灸培训学校承办。学习期满,择优推荐到国外进行涉外针灸医疗及针灸教学工作,学费 8000 元。2. 全国高级推拿进修班及按摩师、推拿师取证班:10 月 8 日~10 月 30 日,为满足社会对按摩专业复合型高技能人才的需求,提高其就业能力,拓宽其更广阔的就业渠道,而设此班,学习期满经考核颁发劳动保障部高级按摩师或高级保健推拿师资格证书,学费 2200 元。

以上各班详情请见招生简章,免费提供。联系电话:(010)64007111 或 64014411 转 2911 或 2781。通讯地址:北京东直门内北新仓 18 号 中国中医研究院针灸研究所 邮编:100700 联系人:裴女士,赵先生。广告刊出按时开课。