

· 研究简报 ·

仙贞汤对去卵巢大鼠骨密度及生物力学影响的实验研究

张立苹, 王文霞, 刘磊, 肖永华

(北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

关键词 仙贞汤; 骨密度; 生物力学; 骨质疏松; 卵巢切除术; 大鼠**Experimental studies on the effect of Xianzhen decoction on the bone density and biomechanics in ovariectomized rats** ZHANG Li-ping, WANG Wen-xia, LIU Lei, XIAO Yong-hua. Dongzhimen Hospital of Beijing TCM University, Beijing 100700, China**Key words** Xianzhen decoction; Bone density; Biomechanics; Osteoporosis; Ovariectomy; Rats

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(5):393-394 www.zggszz.com

骨质疏松的特征是骨矿质量减少, 骨的微细结构遭到破坏而导致骨的脆性增加, 使骨折的发生率增高。骨矿物质密度 (bone mineral density, BMD) 的测量在骨质疏松的诊断中有极其重要的意义。本实验采用了单光子吸收法 (SPA) 及双能 X 线吸收法 (DXA) 对实验中大鼠左下肢 BMD 进行测定。目前治疗骨质疏松的药物多侧重纠正骨质疏松症的病理特征的某个或某些方面, 缺乏高效性和根本性, 对骨组织结构的改善作用欠显著, 往往造成骨量增加而骨的生物力学性能恢复不明显。本实验采用去卵巢大鼠模型, 用仙贞汤对其进行治疗, 目的在整体动物水平研究该复方中药对去卵巢大鼠 BMD、骨生物力学性能的影响。

1 材料与方

1.1 药物与仪器 仙贞汤由淫羊藿 20 g, 黄芪 15 g, 女贞子 20 g, 熟地黄 5 g 等组成, 其治疗原则为益气活血, 泄浊补肾。仙贞汤为本院制剂室自制, 浓度为 2.5 g 生药/ml, 尼尔雌醇 (阳性对照药), 生理盐水。单能 X 线骨密度测量仪 (核工业北京地质研究院); 双能 X 线骨密度仪 (美国 LUNAR 公司); 电子万能试验机 (WD-1 型, 长春市非金属试验机厂)。

1.2 骨质疏松模型的建立及动物分组 雌性 SD 大鼠 59 只, 体质量 220~250 g, 购自北京 301 医院实验动物中心, 许可证号 SCXK11-00-0002。在本院 II 级动物室饲养, 动物环境及质量合格证号: 京 1999 第 039 号。用 SD 大鼠普通饲料喂养, 适应性饲养 1 周后, 开始实验。用 3.5% 水合氯醛, 1 ml/100 g 大鼠体重腹腔麻醉, 经背部行双侧卵巢切除 (OVX) 大鼠 50 只, 假手术组 9 只。术后 7 d, 将 OVX 大鼠随机分为模型组, 尼尔雌醇组, 仙贞汤小剂量、中剂量、大剂量组, 每组 10 只。实验设计时的样本数与实验结果的样本数不一致, 原因是灌胃过程中大鼠有死亡, 最后大批量处理样本时, 样本有丢失。

1.3 药物干预方案 假手术组及模型组用生理盐水灌胃, 每日 1 次, 剂量为 1 ml/100 g 大鼠体重。尼尔雌醇组用双蒸水配制成混悬液, 以 0.15 mg/100 g 大鼠体重, 每周灌胃 1 次。仙贞汤小剂量组 6.5 g/kg (相当成人的 6.5 倍), 中剂量组 13 g/kg, 大剂量组 26 g/kg, 每日灌胃 1 次, 除尼尔雌醇组, 其他组每周给药 6 次, 固定周日停药。每周称体重 1 次, 计算新的给药量, 共持续 3 个月。全部动物在最后一次喂药 24 h 称重后处死并收集标本进行以下测量。

1.4 观察项目与方法

1.4.1 BMD 测定 取大鼠下肢左侧股骨剔尽肌肉及筋膜, 放入 4 °C 保存, 测量时取出。用单光骨密度测量仪测定左侧股骨远端干骺端骨矿含量 (BMC) 和 BMD。用双能 X 线骨密度测量仪测定 BMD。操作方法: 将股骨放于 2 cm 高的米袋上用中等扫描模式测定 BMD。

1.4.2 最大载荷及破坏挠度测定 取大鼠下肢右侧股骨, 剔尽肌肉及筋膜, 用蘸满生理盐水的纱布包裹, 放入 -20 °C 保存。测量时取出放入生理盐水中, 室温 (20 °C) 下浸泡复温 3~4 h。用电子万能试验机测定最大载荷 (E) 及破坏挠度 (R)。

1.5 统计学处理 全部数据用 SPSS 12.0 处理。数据进行正态性和方差齐性检验。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 若方差齐, 均数两两比较采用 Sidak 法; 若方差不齐, 采用 Tamhane T2 法。

2 结果

2.1 SPA 测定药物对 BMD 的影响 SPA 测定结果见表 1。模型组 BMC 和 BMD 值低于假手术组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。模型组与尼尔雌醇组比较, 与仙贞汤大、中、小 3 个剂量组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 尼尔雌醇组与复方各组比较, 差异无统计学意义, 治疗各组与假手术组之间差异无统计学意义。

2.2 DXA 测定药物对 BMD 的影响 模型组 BMD (0.270 ± 0.010) g/cm² 低于假手术组 (0.290 ± 0.014) g/cm², 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示造模成功; 仙贞汤小剂量组 BMD ($0.280 \pm$

基金项目: 卫生部科学研究基金课题 (编号: 98-2-238)

通讯作者: 张立苹 Tel: 010-84013138 E-mail: lipingzhang10000@sina.com

com

表 1 单光子骨密度测量结果 ($\bar{x}\pm s, g/cm^2$)
Tab.1 The results of BMD measured by single photon
($\bar{x}\pm s, g/cm^2$)

| 组别 | 样本数 | 骨矿含量(BMC) | 骨密度(BMD) |
|---------|-----|---------------|---------------|
| 假手术组 | 7 | 0.370±0.023** | 0.410±0.016** |
| 模型组 | 9 | 0.330±0.025 | 0.370±0.021 |
| 尼尔雌醇组 | 8 | 0.390±0.169** | 0.430±0.013** |
| 仙贞汤小剂量组 | 8 | 0.410±0.032** | 0.440±0.023** |
| 仙贞汤中剂量组 | 8 | 0.400±0.024** | 0.403±0.019** |
| 仙贞汤大剂量组 | 8 | 0.380±0.018** | 0.420±0.014** |

注:与模型组相比, **P<0.01

Note: As compared with model group, **P<0.01

0.012) g/cm² 与模型组相比, BMD 略高, 差异无统计学意义。其他用药各组(含阳性对照与模型组)相比无统计学意义。

2.3 对生物力学的影响 结果见表 2。仙贞汤中剂量组与模型组相比最大载荷明显高(P<0.05), 差异有统计学意义; 模型组与假手术组相比最大载荷略低, 但差异无统计学意义。仙贞汤小剂量、大剂量组、尼尔雌醇组与模型组相比差异均无统计学意义。仙贞汤各剂量组、假手术组、尼尔雌醇组与模型组相比, 破坏挠度差异无统计学意义。

表 2 各组对去卵巢大鼠股骨结构力学性能的影响 ($\bar{x}\pm s$)
Tab.2 The effects on bone mechanics of ovariectomy rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 样本数 | 最大载荷(kg) | 破坏挠度(mm) |
|---------|-----|-----------------|-------------|
| 假手术组 | 8 | 111.000±14.544 | 0.800±0.075 |
| 模型组 | 8 | 102.700±7.256 | 0.720±0.080 |
| 尼尔雌醇组 | 9 | 107.730±9.773 | 0.740±0.107 |
| 仙贞汤小剂量组 | 9 | 104.090±7.424 | 0.770±0.065 |
| 仙贞汤中剂量组 | 9 | 120.360±12.586* | 0.830±0.102 |
| 仙贞汤大剂量组 | 9 | 107.290±10.241 | 0.730±0.086 |

注:与模型组相比, *P<0.05

Note: As compared with model group, *P<0.05

3 讨论

用 SPA 方法测定的结果显示, 阳性对照组与模型组相比, 差异有统计学意义, 与以往的文献报道^[1]相符。从统计结果看, 仙贞汤大、中、小 3 个剂量组与模型组相比差异有统计学意义, 即仙贞汤对骨质疏松的治疗有确切的疗效。仙贞汤小剂量及中剂量组对增加大鼠的 BMC 及 BMD 比大剂量组疗效更明显, 这为今后开发治疗骨质疏松的复方中药提供了实验依据。DXA 测量结果与 SPA 的测量结果有差异, 分析原因, SPA 测量的部位是左侧股骨远侧干骺端(也是骨代谢最活跃

的部位), 为周边骨, 同时是去掉了软组织的非活体测量, 这就避免了定位不准和软组织干扰的问题。许多研究发现 DXA 扫描鼠类时精确度与准确度均较高, 但测量部位不同而有所不同, 其中, 大鼠全身、整体股骨和胫骨的平均精密度小于股骨远端及胫骨近端, 尤以股骨远端为最理想部位^[2]。本实验测定的是左侧股骨平均骨密度, 而没有选定骨代谢最敏感区(ROI), 因此测定结果不够理想。

从生物力学的角度看, 测量骨组织在外力作用下的力学特性和骨在受力后生物学效应对骨质量进行评定的一种可靠方法^[3], 对开发抗骨质疏松新药是不可缺少的手段之一。本实验发现, 仙贞汤中剂量药物对改善骨质疏松后骨的生物力学性能有作用。前期的实验研究^[4]表明: 淫羊藿对体外培养成骨细胞有明显的促成骨细胞增殖作用, 这与文献^[5]报道淫羊藿可抑制破骨细胞功能, 增强成骨细胞的活性相符; 女贞子、黄芪有明显的促成骨细胞的增殖作用, 且在最小的实验浓度 5 mg/L, 即具有显著效果, 尤以黄芪最明显, 其具体的作用机制有待进一步研究。张宇明^[6]实验显示 2% 的黄芪对体外培养的软骨细胞分泌 GAG、II 型胶原蛋白有促进作用, 其机制可能为黄芪的有效成分选择性地作用于软骨细胞合成代谢的途径。

仙贞汤治疗去卵巢大鼠的骨质疏松模型的疗效是肯定的, 它能提高去卵巢大鼠骨质疏松模型的 BMD, 在中剂量时能提高去卵巢骨质疏松模型的骨生物力学性能, 增加骨组织承载能力, 提高骨骼抵抗外力冲击的能力。分析其作用机制: 首先, 复方药能够促进成骨细胞的增殖; 其次, 能促进钙磷的吸收, 减少钙磷丢失。这对今后开发中药治疗骨质疏松提供了有益的资料。目前有的测量方法还不够精确, 药物剂量与其作用机制之间的内在联系还不明确, 需要再进一步研究、挖掘。

参考文献

- 1 王莉, 胡玮, 孔德诚, 等. 卵巢早衰与自然绝经妇女骨密度的对比研究. 中国骨质疏松杂志, 2002, 8(1): 41-42.
- 2 伍贤平, 廖二元, 陆泽元, 等. 双能 X 线吸收法测定老鼠骨量的评价及去卵巢骨丢失的敏感区的选择. 中华内分泌代谢杂志, 2000, 16(4): 212-215.
- 3 陈亚琼, 杨海燕, 黄艳红, 等. 补肾中药提纯活性部位预防卵巢摘除小鼠的骨丢失. 中国骨质疏松杂志, 2002, 8(1): 68-72.
- 4 秦腊梅, 肖永华, 周丽珍, 等. 4 味中药对体外培养成骨样细胞增殖的影响-对通补强骨方中主要组成药物的研究. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(2): 18-21.
- 5 林燕萍, 周瑞祥, 冯尔宥, 等. 健骨颗粒对去卵巢骨质疏松模型鼠钙调节激素的影响. 中国骨伤, 2005, 18(1): 22-24.
- 6 张宇明, 卫小春. 兔关节软骨细胞体外培养的生物学特性及中药黄芪对其的影响. 中国骨伤, 2005, 18(5): 275-277.

(收稿日期: 2007-12-10 本文编辑: 李为农)