

· 基础研究 ·

益气活血壮骨方对去势大鼠骨形态学的影响

仇春涛¹, 邓敦¹, 施杞², 王拥军²

(1. 温州医学院附属温岭医院, 浙江 温岭 317500; 2. 上海中医药大学, 上海 200032)

摘要 目的:探讨益气活血壮骨方对去势大鼠骨形态学的影响。**方法:**将 45 只 6 月龄雌性 SD 大鼠随机分为 5 组:假手术组(A 组)、模型组(B 组)、益气活血壮骨方组(C 组)、乐力胶囊组(D 组)和骨松宝组(E 组),每组 9 只。假手术组仅开腹缝合,其余 4 组做卵巢切除术。术后 4 周,A、B 组大鼠以生理盐水灌胃($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),C 组大鼠以益气活血壮骨方灌胃($9.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),D 组大鼠以乐力胶囊灌胃($0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),E 组大鼠以骨松宝灌胃($8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),每天 1 次,连续给药 12 周。12 周后处死大鼠,观察各组大鼠骨小梁平均宽度、相对骨体积、单位面积骨小梁骨细胞数、平均骨皮质厚度及股骨头平均灰度。**结果:**①A、C、D、E 组大鼠的骨小梁平均宽度、相对骨体积、单位面积骨小梁骨细胞数、平均骨皮质厚度及股骨头平均灰度均高于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);②A、C 组各项实验指标均高于 D、E 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);③A、C 组各项指标差异无统计学意义($P > 0.05$),D、E 组各项指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**益气活血壮骨方能提高去势大鼠骨小梁平均宽度、相对骨体积、单位面积骨小梁骨细胞数、平均骨皮质厚度及股骨头平均灰度,并能使其接近正常水平,疗效优于乐力胶囊和骨松宝。

关键词 骨质疏松 益气活血 补肾养血 骨形态学

Effect of Yiqihuoxue Zhuanggu decoction(益气活血壮骨方) on bone morphology in castrated rats QIU Chun - tao*, DENG Dun, SHI Qi, et al. *Wenling Hospital Affiliated to Wenzhou Medical College, Wenling 317500, Wenzhou, China

ABSTRACT Objective:To explore the effect of Yiqihuoxue Zhuanggu(YQHXZG) decoction(益气活血壮骨方) on bone morphology in castrated rats. **Methods:**45 rats were randomly divided into sham - operated group(group A), model group(group B), YQHXZG decoction group(group C), LELI(compound calcium amino acid chelate) capsules group(group D) and GUSONGBAO(a kind of traditional Chinese medicine) group(group E), 9 cases in each group. The cases in group A were administrated with sham - operation only, while those in other groups were administrated with oophorectomy. 4 weeks after operation, rats in group A and group B were lavaged with physiological saline ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), rats in group C were lavaged with YQHXZG decoction($9.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), rats in group D were lavaged with LELI capsules ($0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and rats in group E were lavaged with GUSONGBAO($8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), once a day for consecutive 12 weeks. 12 weeks later, all the rats were sacrificed. The average width of the bone trabecula, relative bone volume, cell population of bone trabecula in unit area, the average thickness of cortical bone and the average gray scale of femoral head of the rats were measured. **Results:**①The average width of the bone trabecula, relative bone volume, cell population of bone trabecula in unit area, the average thickness of cortical bone and the average gray scale of femoral head of the rats in group A, group C, group D and group E were higher than those of the rats in group B($P < 0.05$). ②Every experimental index of group A and group C was higher than that of group D and group E($P < 0.05$). ③There was no statistical difference in every experimental index between group A and group C($P > 0.05$), and there was no statistical difference in every experimental index between group D and group E($P > 0.05$). **Conclusion:**Yiqihuoxue Zhuanggu decoction(益气活血壮骨方), which performs better than LELI capsules and GUSONGBAO, can elevate the following index as the average width of the bone trabecula, relative bone volume, cell population of bone trabecula in unit area, the average thickness of cortical bone and the average gray scale of femoral head of the castrated rats, and make them close to normal levels.

Key words Osteoporosis; Reinforcing Qi activat blood; Reinforcing kidney nour blood; Bone Morphology

生成不足、继发钙盐减少及骨组织微细结构破坏^[2]。中医药治疗该病有着明显的优势,但目前有关中医药治疗 OP 机理的研究较少。为此,笔者对中药益气活血壮骨方对骨形态学的影响进行了研究,现报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 6 月龄雌性 SD 大鼠 45 只,清洁级,体质量 220 ~ 270 g,购自西普尔-必凯实验动物有限公司,实验动物编号 SCXK(沪)2003-0002。

1.2 实验药物 ①益气活血壮骨方。药物组成:丹参 18 g、黄芪 15 g、补骨脂 12 g、骨碎补 15 g、续断 9 g、川芎 6 g 等。由温岭医院制剂室水煎浓缩成 1:1 浓度煎剂。②骨松宝。由贵州富华公司提供,批号:081209。③乐力胶囊。由美国矿维公司提供,批号:081205。

1.3 实验仪器 芬兰 Hidex 计数仪(芬兰 Hidex 公司提供);Biomias 图相分析系统(成都东胜创新生物科技有限公司提供)。

2 方法

2.1 分组方法 将 45 只大鼠随机分为 5 组:假手术组(A 组)、模型组(B 组)、益气活血壮骨方组(C 组)、乐力胶囊组(D 组)和骨松宝组(E 组),每组 9 只。

2.2 造模方法 采用绝经骨质疏松动物模型造模方法^[3]造模。采用 45 mg · kg⁻¹戊巴比妥钠腹腔麻醉,在最末肋骨下腋中线与距脊柱外侧 1 cm 交叉处消毒后切开腹膜。B、C、D、E 组将脂肪团拉出分离,结扎双侧输卵管并切除卵巢;A 组不切除卵巢,仅开腹缝合。术后每只大鼠肌肉注射青霉素 0.1 mL。

2.3 药物干预 术后 4 周根据动物与人体表面积换算,A、B 组以 10 mL · kg⁻¹生理盐水灌胃,C 组以 9.6 g · kg⁻¹益气活血壮骨方(生药)灌胃,D 组以 0.15 g · kg⁻¹乐力胶囊(生药)灌胃,E 组以 8 g · kg⁻¹骨松宝(生药)灌胃,每天 1 次,连续给药 12 周。

2.4 检测方法 最后一次给药后禁食 24 h,将大鼠处死。切取大鼠左后肢股骨,剔除骨上附着的软组织,以生理盐水纱布包裹,冰箱内 -20 ℃ 保存备用。将所取股骨在 105 ℃ 烘 24 h,称重后用硝酸-高氯酸溶液(4:1)硝化、定容。然后切取 2 cm 长的一段(含股骨头)进行常规脱钙,石蜡包埋切片,切片厚度 4 μm,HE 染色。最后采用 Hidex 计数仪检测单位面积骨小梁骨细胞数,采用 Biomias 图相分析系统观察骨小梁

平均宽度、相对骨体积(骨小梁占骨髓腔的百分比)、股骨头平均灰度及骨皮质平均厚度。

2.5 统计学方法 采用 SPSS16.0 统计学软件对所得数据进行统计学处理,组间比较采用单因素方差分析,差异有统计学意义者,再用 q 检验进行两两比较,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

在实验过程中每组各有 1 只大鼠死亡。①骨小梁平均宽度。各组大鼠骨小梁平均宽度的差异有统计学意义($F = 8.162, P = 0.000$)。组间两两比较:B 组与 A、C、D、E 组比较,差异均有统计学意义($q = 3.02, P = 0.000; q = 3.23, P = 0.012; q = 4.05, P = 0.037; q = 3.65, P = 0.024$);C 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 6.35, P = 0.016; q = 5.43, P = 0.039$);A 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 4.27, P = 0.001; q = 5.69, P = 0.002$);其余各组间差异均无统计学意义。②相对骨体积。各组相对骨体积差异有统计学意义($F = 15.762, P = 0.001$)。组间两两比较:B 组与 A、C、D、E 组比较,差异均有统计学意义($q = 3.13, P = 0.003; q = 3.47, P = 0.023; q = 4.23, P = 0.042; q = 3.49, P = 0.017$);C 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 5.43, P = 0.006; q = 7.25, P = 0.029$);A 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 5.36, P = 0.003; q = 5.49, P = 0.002$);其余各组间差异均无统计学意义。③单位面积骨小梁骨细胞数。各组单位面积骨小梁骨细胞数的差异有统计学意义($F = 19.479, P = 0.013$)。组间两两比较:B 组与 A、C、D、E 组比较,差异均有统计学意义($q = 3.24, P = 0.011; q = 3.59, P = 0.018; q = 6.29, P = 0.037; q = 4.28, P = 0.026$);C 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 5.87, P = 0.018; q = 6.47, P = 0.039$);A 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 3.89, P = 0.001; q = 6.72, P = 0.012$);其余各组间差异均无统计学意义。④骨皮质平均厚度。各组平均骨皮质厚度差异有统计学意义($F = 32.639, P = 0.003$)。组间两两比较:B 组与 A、C、D、E 组比较,差异均有统计学意义($q = 6.32, P = 0.013; q = 3.48, P = 0.035; q = 6.79, P = 0.025; q = 5.37, P = 0.027$);C 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 3.35, P = 0.027; q = 6.73, P = 0.015$);A 组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 4.85, P = 0.002; q = 7.49, P = 0.023$);其余各组间差异均无统计学意义。⑤股骨头平均灰度。各

组股骨头平均灰度差异有统计学意义($F = 16.599, P = 0.023$)。组间两两比较:B 组与 A、C、D、E 组比较,差异均有统计学意义($q = 5.15, P = 0.024; q = 3.59, P = 0.027; q = 5.63, P = 0.039; q = 4.21, P = 0.037$);C

组与 D、E 组差异有统计学意义($q = 4.75, P = 0.027; q = 5.34, P = 0.015$);A 与 D、E 组差异有统计学意义($q = 3.89, P = 0.001; q = 6.83, P = 0.015$);其余各组间差异均无统计学意义。(表 1)

表 1 各组大鼠骨形态学计量指标的比较

组别	骨小梁平均宽度(μm)	相对骨体积(%)	单位面积骨小梁骨细胞数(个)	骨皮质平均厚度(μm)	股骨头平均灰度(%)
A 组	58.45 ± 7.31	17.10 ± 4.57	10.57 ± 0.85	280.56 ± 86.38	145.57 ± 8.65
B 组	46.47 ± 4.52	13.64 ± 1.93	7.73 ± 0.62	175.56 ± 33.16	118.00 ± 15.74
C 组	56.82 ± 8.34	16.57 ± 4.40	10.53 ± 1.41	270.23 ± 77.13	144.68 ± 8.78
D 组	50.40 ± 4.53	14.72 ± 5.44	9.56 ± 0.94	188.62 ± 41.23	140.56 ± 7.20
E 组	54.71 ± 5.67	15.99 ± 3.60	10.31 ± 1.25	260.77 ± 64.34	143.76 ± 7.76

4 讨 论

多虚多瘀为 OP 的病机特点。肾虚为本,血瘀为标,本虚标实,互为影响,互为因果,故治疗应以补虚化瘀为原则。益气活血壮骨方以丹参为君,活血化瘀兼能养血;黄芪为臣,益气活血;二者同用,符合中医学“以气为主,以血为先”的气血理论。补骨脂补肾壮阳止冷痛,兼能温脾;骨碎补补肾续伤,兼能活血,两者为佐。续断、川芎补肝肾,行血脉,续筋骨,是为使药。全方以益气活血补肾立法,调节气血,补中寓通,补而不滞,共收补肾壮骨、益气活血、通络止痛之效。另外,本研究所使用的对照药物乐力胶囊和骨松宝均为临床治疗骨质疏松的常用药,其疗效已得到普遍认可。

通过切除雌性大鼠双侧卵巢所建立的 OP 模型,其骨代谢变化特点和结果可较好地模拟绝经后妇女 OP 骨丢失状态^[4]。卵巢切除后,雌激素水平下降,破骨细胞生成活跃,骨吸收增加。成骨细胞形成新骨数难以弥补破骨细胞所形成的骨陷窝,在骨转换过程中造成短暂骨丢失。静力学参数表现为骨小梁体积减少,厚度变窄,间隙增加,连接减少,游离末端增加,出现空隙。OP 可影响小梁骨和皮质骨微结构。小梁骨微结构改变可使骨量减少、小梁骨厚度和数目减少、横梁强度降低、骨小梁连续性减少,使骨板穿孔增多;皮质骨微结构改变包括皮质骨厚度降低和皮质骨多孔性(孔隙率、疏松度)增加。

分析本实验的结果:① B 组骨小梁平均宽度、相对骨体积、单位面积骨小梁骨细胞数、骨皮质平均厚度及股骨头平均灰度值低于 A 组,差异有统计学意义,说明造模成功;② C、D、E 组各项指标均高于 B

组,说明经治疗后,各项指标均有改善;③ A、C 组各项实验指标均高于 D、E 组,差异有统计学意义,而 A、C 组各项指标差异无统计学意义,说明益气壮骨活血方在改善实验大鼠各项实验指标方面的作用优于乐力胶囊和骨松宝,且能使实验指标恢复至接近正常水平;④ D、E 组各项指标的差异统计学意义,说明乐力胶囊和骨松宝在改善各实验指标方面的疗效相当。

益气活血壮骨方使去势大鼠骨小梁平均宽度、相对骨体积、单位面积骨小梁骨细胞数、骨皮质平均厚度及股骨头平均灰度明显增加,接近正常水平,提示其能抑制骨转换,促进骨再建,提高骨密度,有明显抗 OP 作用^[5]。

5 参考文献

[1] Reginster JY, Burlet N. Osteoporosis: a still increasing prevalence[J]. Bone, 2006, 38(2 Suppl 1): S4-9.

[2] 胥少汀, 葛宝丰, 徐印坎. 实用骨科学[M]. 2 版. 北京: 人民军医出版社, 1999: 1072-1093.

[3] Bowles EA, Weaver DS, Telewski FW, et al. Bone measurement by enhanced contrast image analysis: ovariectomized and intact Macaca fascicularis as a model for human postmenopausal osteoporosis[J]. Am J Phys Anthropol, 1985, 67(2): 99-103.

[4] Jee WS. The aged rat model for bone biology studies. Cells and Materials[M]. Chicago: Scanning Microscopy International, 2007: 25-29.

[5] Conte-Devolx B, Giraud P, Castanas E, et al. Effect of neonatal treatment with monosodium glutamate on the secretion of alpha-MSH, beta-endorphin and ACTH in the rat[J]. Neuroendocrinology, 1981, 33(4): 207-211.