

骨疏康胶囊对去卵巢大鼠骨小梁的影响

李学朋, 朱立国

(中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

摘要 **目的:**观察骨疏康胶囊对去卵巢大鼠骨小梁的影响。**方法:**将 120 只 6 月龄雌性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、骨疏康组和仙灵骨葆组, 每组 30 只。除空白组外, 其余 3 组大鼠均切除双侧卵巢进行骨质疏松造模。造模手术 3 d 后, 骨疏康组、仙灵骨葆组分别以骨疏康胶囊($4.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、仙灵骨葆胶囊($3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)与蒸馏水配成的药液灌胃, 空白组和模型组均以等量蒸馏水灌胃, 共持续 30 d。药物干预结束后处死大鼠, 取双侧股骨制成 HE 染色切片, 测定并比较各组大鼠的股骨骨小梁面积、骨小梁厚度、骨小梁间距及骨小梁面积百分数。**结果:**4 组大鼠股骨骨小梁厚度、骨小梁间距、骨小梁面积及骨小梁面积百分数比较, 组间差异均有统计学意义[(118.74 ± 8.93) μm , (52.00 ± 6.49) μm , (107.00 ± 9.02) μm , (85.00 ± 4.38) μm , $F = 5.382$, $P = 0.038$; (258.37 ± 78.48) μm , (564.19 ± 135.83) μm , (301.37 ± 89.54) μm , (426.48 ± 98.32) μm , $F = 7.482$, $P = 0.006$; (648092.35 ± 11353.46) μm^2 , (254872.04 ± 7429.42) μm^2 , (589435.58 ± 10374.58) μm^2 , (465683.69 ± 14294.49) μm^2 , $F = 13.272$, $P = 0.004$; (0.49 ± 0.02)%, (0.17 ± 0.01)%, (0.41 ± 0.03)%, (0.29 ± 0.02)%, $F = 2.143$, $P = 0.019$]。模型组的骨小梁厚度、骨小梁面积及骨小梁面积百分数均小于空白组($P = 0.002$; $P = 0.001$; $P = 0.014$), 骨小梁间距大于空白组($P = 0.014$); 骨疏康组和仙灵骨葆组的骨小梁厚度、骨小梁面积、骨小梁面积百分数均大于模型组($P = 0.025$; $P = 0.017$; $P = 0.019$; $P = 0.042$; $P = 0.015$; $P = 0.022$), 骨小梁间距均小于模型组($P = 0.019$; $P = 0.019$); 骨疏康组的骨小梁厚度、骨小梁面积、骨小梁面积百分数均大于仙灵骨葆组($P = 0.003$; $P = 0.001$; $P = 0.017$), 骨小梁间距小于仙灵骨葆组($P = 0.016$)。**结论:**骨疏康胶囊能明显增大去卵巢大鼠骨组织的骨小梁厚度、骨小梁面积及骨小梁面积百分数, 减小骨小梁间距, 其效果优于仙灵骨葆胶囊。

关键词 骨质疏松; 骨疏康胶囊; 仙灵骨葆胶囊; 骨小梁; 形态计量法; 大鼠, Sprague - Dawley; 动物实验

Effect of Gushukang Jiaonang(骨疏康胶囊) on bone trabecula in the ovariectomized rats

LI Xuepeng, ZHU Ligu

Wangjing Hospital of China Academy Of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China

ABSTRACT **Objective:** To observe the effect of Gushukang Jiaonang(骨疏康胶囊, GSKJN) on bone trabecula in the ovariectomized rats. **Methods:** One hundred and twenty 6-month-old female SD rats were randomly divided into blank group, model group, GSKJN group and Xianling Gubao Jiaonang(仙灵骨葆胶囊, XLGBJN) group, 30 cases in each group. The rats in model group, GSKJN group and XLGBJN group were administrated with ovariectomy to build models of osteoporosis. Three days after modeling operation, the rats in GSKJN group and XLGBJN group were intragastric administrated with mixed solution of distilled water combined with GSKJN(4.32 g/kg/day) and XLGBJN(3 g/kg/day) respectively, while the rats in blank group and model group were intragastric administrated with equivalent distilled water for consecutive 30 days. After drug intervention, the rabbits were executed and their bilateral femurs were fetched out and sectioned for HE staining. Then the femoral trabecular area, trabecular thickness, trabecular interval and percentage of trabecular area were measured and compared between the 4 groups. **Results:** There were statistical differences in femoral trabecular thickness, trabecular interval, trabecular area and percentage of trabecular area between the 4 groups(118.74 ± 8.93 , 52.00 ± 6.49 , 107.00 ± 9.02 , $85.00 \pm 4.38 \mu\text{m}$, $F = 5.382$, $P = 0.038$; 258.37 ± 78.48 , 564.19 ± 135.83 , 301.37 ± 89.54 , $426.48 \pm 98.32 \mu\text{m}$, $F = 7.482$, $P = 0.006$; 648092.35 ± 11353.46 , 254872.04 ± 7429.42 , 589435.58 ± 10374.58 , $465683.69 \pm 14294.49 \mu\text{m}^2$, $F = 13.272$, $P = 0.004$; 0.49 ± 0.02 , 0.17 ± 0.01 , 0.41 ± 0.03 , 0.29 ± 0.02 %, $F = 2.143$, $P = 0.019$). The trabecular thickness, trabecular area and percentage of trabecular area were less in model group compared with blank group($P = 0.002$; $P = 0.001$; $P = 0.014$), and the trabecular interval was greater in model group compared with blank group($P = 0.014$). The trabecular thickness, trabecular area and percentage of trabecular area were greater and the trabecular interval was less in GSKJN group and XLGBJN group compared with model group($P = 0.025$; $P = 0.017$; $P = 0.019$; $P = 0.042$; $P = 0.015$; $P = 0.022$; $P = 0.019$; $P = 0.019$). The trabecular thickness, trabecular area and percentage of trabecular area were greater and the trabecular interval was less in GSKJN group compared with XLGBJN group($P = 0.003$;

$P=0.001; P=0.017; P=0.016$)。 **Conclusion:** Oral application of GSKJN can obviously increase the trabecular thickness, trabecular area and percentage of trabecular area and decrease the trabecular interval in the ovariectomized rats, moreover, its therapeutic effect is better than that of XLGBJN.

Key words osteoporosis; Gushukang Jiaonang; Xinling Gubao Jiaonang; bone trabecula; morphometry; rats, Sprague - Dawley; animal experimentation

随着人口老龄化问题日益严重,我国骨质疏松的发病人群逐渐扩大,寻求更加有效的防治骨质疏松的方法和药物已成为广大骨科医务工作者的工作重点^[1]。骨疏康胶囊具有补肾益气、活血壮骨的功效,主要用于治疗肾虚兼气血不足所致的原发性骨质疏松症。为探讨其治疗骨质疏松的具体作用机制,我们通过动物实验观察了骨疏康胶囊对去卵巢大鼠骨小梁的影响,并与仙灵骨葆胶囊进行了比较,现总结报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 6 月龄 SPF 级健康雌性 SD 大鼠 120 只,体质量 1.8 ~ 2.2 kg,由中国中医科学院望京医院动物实验中心提供,实验动物合格证号:鲁 20130313002。实验方案通过医学实验动物伦理委员会批准。

1.2 实验药物 骨疏康胶囊(辽宁康辰药业有限公司生产,国药准字 Z20060270,每粒 0.32 g);仙灵骨葆胶囊(贵州同济堂制药有限公司,国药准字 Z20025337,每粒 0.5 g)。

1.3 实验仪器 TC - 120S 自动脱水机、RM2235 切片机(湖北徕克医疗仪器有限公司);TK - 218V 恒温烤片机(湖北泰维科技实业有限公司);GZX - DH - 40X45 电热恒温干燥箱(上海双旭电子有限公司);BX50 荧光显微镜(OLYMPUS 公司);DP70 彩色数码相机系统(北京华跃英泰科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及造模 采用随机数字表将 120 只大鼠随机分为空白组、模型组、骨疏康组和仙灵骨葆组,每组 30 只。除空白组大鼠外,其余 3 组大鼠均进行去卵巢造模手术^[2]:以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉,剂量 $3.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,麻醉起效后将大鼠俯卧位固定在操作台上,在肋骨弓下脊柱旁开 1 cm 处,逐层切开,仔细分离局部组织,找到输卵管,然后顺着输卵管找到卵巢,结扎输卵管、切掉卵巢,将腹腔脏器复位后逐层缝合,再以同样手术方式切掉对侧卵巢,术后肌肉注射 0.1 mL 80 万单位青霉素预防感染^[3]。

2.2 药物干预 造模手术 3 d 后开始药物干预,持续 30 d。骨疏康组和仙灵骨葆组分别以骨疏康胶囊($4.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)和仙灵骨葆胶囊($3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)进行干预,用蒸馏水将药物配成药液后灌胃;空白组和模型组均以等量蒸馏水灌胃。

2.3 骨小梁形态计量学指标观察 药物干预 30 d 后,所有大鼠禁食 12 h 后断头处死,手术取出双侧股骨并编号标记。以甲醛固定、脱钙处理后制成 HE 染色切片。在显微镜下观察并采集图像,选择同一个位点作为观察点,每张切片选取 10 个视野观察骨组织形态,测量骨小梁面积、骨小梁厚度、骨小梁间距及骨小梁面积百分数^[4-5]。

2.4 数据统计分析 采用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析,4 组大鼠股骨骨小梁厚度、骨小梁间距、骨小梁面积及骨小梁面积百分数的组间比较均采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD - t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

空白组骨小梁排列非常紧密,连续性较好,呈网状排列,宽度均匀,骨小梁间距较短;模型组骨小梁变细、数量减少、连续性较差、游离断端增加、骨小梁间距增宽;骨疏康组和仙灵骨葆组,骨小梁较粗、排列整齐整齐、连续性好、游离断端减少、骨小梁间距变窄,而且骨疏康组优于仙灵骨葆组(图 1)。

4 组大鼠股骨骨小梁厚度、骨小梁间距、骨小梁面积及骨小梁面积百分数比较,组间差异均有统计学意义。模型组的骨小梁厚度、骨小梁面积及骨小梁面积百分数均小于空白组($P=0.002; P=0.001; P=0.014$),骨小梁间距大于空白组($P=0.014$);骨疏康组和仙灵骨葆组的骨小梁厚度、骨小梁面积、骨小梁面积百分数均大于模型组($P=0.025; P=0.017; P=0.019; P=0.042; P=0.015; P=0.022$),骨小梁间距均小于模型组($P=0.019; P=0.019$);骨疏康组的骨小梁厚度、骨小梁面积、骨小梁面积百分数均大于仙灵骨葆组($P=0.003; P=0.001; P=0.017$),骨小梁间距小于仙灵骨葆组($P=0.016$)。见表 1。

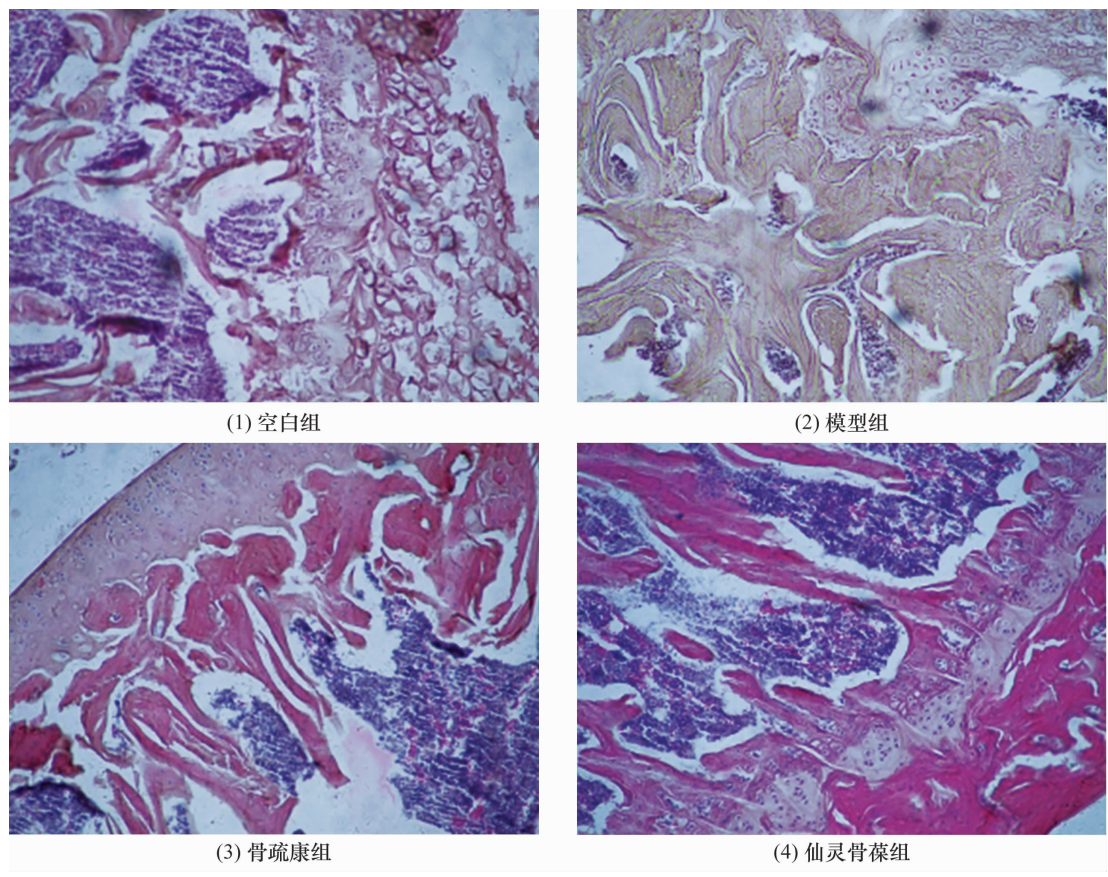


图 1 药物干预后去卵巢大鼠股骨组织切片 (HE 染色 ×400)

表 1 药物干预后 4 组大鼠股骨骨小梁参数的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	样本量 (只)	骨小梁厚度 (μm)	骨小梁间距 (μm)	骨小梁面积 (μm^2)	骨小梁面积 百分数(%)
空白组	30	118.74 \pm 8.93	258.37 \pm 78.48	648 092.35 \pm 11 353.46	0.49 \pm 0.02
模型组	30	52.00 \pm 6.49	564.19 \pm 135.83	254 872.04 \pm 7 429.42	0.17 \pm 0.01
骨疏康组	30	107.00 \pm 9.02	301.37 \pm 89.54	589 435.58 \pm 10 374.58	0.41 \pm 0.03
仙灵骨葆组	30	85.00 \pm 4.38	426.48 \pm 98.32	465 683.69 \pm 14 294.49	0.29 \pm 0.02
F 值		5.382	7.482	13.272	2.143
P 值		0.038	0.006	0.004	0.019

4 讨 论

本研究所采用的骨质疏松造模方法为国际通用的造模方法^[6]。与空白组相比,造模后模型组的骨小梁变细、数量减少、连续性变差、游离断端增加、骨小梁间距增宽。这提示本研究通过切除卵巢获得了绝经后骨质疏松大鼠模型。

仙灵骨葆胶囊的主要成分包括淫羊藿、续断、丹参、知母、骨碎补、地黄,具有滋补肝肾、接骨续筋、强身健骨的作用,临床主要用于骨质疏松、骨折、骨关节炎、骨无菌性坏死等的治疗^[7]。骨疏康胶囊的主要成分包括淫羊藿、熟地黄、骨碎补、黄芪、丹参、木耳、黄瓜子,具有补肾益气,活血壮骨的作用,临床主要用于治疗肾虚兼气血不足所致的原发性骨质疏松症。

骨疏康胶囊与仙灵骨葆胶囊均是骨科临床治疗骨质疏松的常用药物,从本研究的结果来看,二者均能有效改善骨质疏松大鼠的形态计量学指标,而且骨疏康胶囊的作用强于仙灵骨葆胶囊。邢磊等^[8]的研究表明,仙灵骨葆胶囊可抑制去卵巢大鼠骨吸收,促进骨形成,降低其骨转换水平,进而部分阻止其骨量丢失。王和鸣等^[9]的临床研究已证实了骨疏康胶囊治疗骨质疏松的确切疗效和良好安全性。骨疏康胶囊的原剂型骨疏康颗粒的含药血清可推进体外培养大鼠成骨细胞细胞周期进程,促进成骨细胞增殖^[10]。张保亭^[11]的研究表明,骨疏康可使去卵巢雌鼠骨组织的骨小梁宽度、周长及面积百分数等指标明显升高,而且其作用优于尼尔雌醇。

本研究的结果提示,骨疏康胶囊能明显增大去卵巢大鼠骨组织的骨小梁厚度、骨小梁面积及骨小梁面积百分比,减小骨小梁间距,效果优于仙灵骨葆胶囊。目前有关骨疏康胶囊对骨质疏松骨小梁影响的研究较少,本研所得结果和结论是对该药作用机制研究的有益补充。

5 参考文献

[1] 孟宏霞,刘洁冰,张升红. 绝经后骨质疏松症发病相关因素临床分析[J]. 武警医学院学报,2011,20(1):13-16.
[2] 杨滢侠,杨洋,薛鹏,等. 龟鹿胶、淫羊藿及红景天对骨质疏松大鼠骨密度及破骨细胞的影响[J]. 中国组织工程研究,2013,17(15):2669-2676.
[3] 李素萍. 骨质疏松动物模型的研究现状[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(20):3767-3770.
[4] 薛延,杨欣,阮祥燕. 骨质疏松症的药物治疗[J]. 中国全科医学,2005,8(16):1302-1303.

[5] 杨铸,唐德志,杨洲,等. 药物治疗骨质疏松症的最新研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志,2011,4(12):70-72.
[6] 廖海浪. 雌激素、钙与骨质疏松症[J]. 当代医学(学术版),2008,6(16):26-27.
[7] 邢燕,毕宏焱,张倩楠,等. 骨质疏松常用中成药介绍[J]. 中国骨质疏松杂志,2013,19(1):83-85.
[8] 邢磊,焦颖华,耿丽华,等. 仙灵骨葆治疗骨质疏松大鼠:血清学及骨组织形态计量学评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(15):2786-2789.
[9] 王和鸣,葛继荣,石关桐,等. 骨疏康胶囊治疗骨质疏松症临床试验总结[J]. 中国中医骨伤科杂志,2006,14(6):10-15.
[10] 余兴华. 骨疏康颗粒含药血清对成骨细胞增殖及细胞周期的影响[J]. 北京中医药,2010,29(12):953-955.
[11] 张保亭. 骨疏康对去卵巢雌鼠骨质疏松症防治作用的研究[J]. 中国骨肿瘤骨病,2002,1(5):283-286.

(2015-08-16 收稿 2015-09-01 修回)

(上接第 11 页)

[10] 施鸣,范璐,陈新. 骨代谢标志物与骨质疏松的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床,2012,19(6):351-353.
[11] 阙文君,冯正平. 骨转换生化标志物的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2014,20(5):575-579.
[12] Mountzios G, Terpos E, Syrigos K, et al. Markers of bone remodeling and skeletal morbidity in patients with solid tumors metastatic to the skeleton receiving the bisphosphonate zoledronic acid[J]. Transl Res, 2010, 155(5):247-255.
[13] 俞华威,王兆杰,胡小军,等. 抗骨质疏松药物应用的依据:骨生化代谢标志物及骨组织病理学[J]. 中国组织工程研究,2013,17(28):5126-5132.

[14] Naylor K, Eastell R. Bone turnover markers: use in osteoporosis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2012, 8(7):379-389.
[15] Biver E. Use of bone turnover markers in clinical practice[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2012, 19(6):468-473.
[16] 张萌萌,毛未贤,马倩倩,等. 骨代谢标志物在骨质疏松诊疗中的应用指南(2012 年版)(日本骨质疏松症学会制定)[J]. 中国骨质疏松杂志,2013,19(7):645-657.
[17] Lee J, Vasikaran S. Current recommendations for laboratory testing and use of bone turnover markers in management of osteoporosis[J]. Ann Lab Med, 2012, 32(2):105-112.

(2015-10-22 收稿 2015-11-18 修回)

· 通 知 ·

关于《中医正骨》同时启用新旧版采编系统的通知

《中医正骨》的各位作者、审稿专家:

由于《中医正骨》的采编系统开发较早,仅支持 IE 浏览器登录,且服务器老化、运行速度不稳定,造成部分作者和审稿专家在一些时间段无法正常上传稿件甚至无法正常打开《中医正骨》网站主页。为此,编辑部新近购买了新的采编系统,建立了新的投稿网站,并于日前通过了国家工信部 ICP 审核备案,将于 2016 年 1 月 1 日起正式上线运行。

自 2016 年 1 月 1 日起,作者新投稿件(或审稿专家审核 2016 年 1 月 1 日后的新稿件),请登录 www.zygzgzz.com,点击进入新版采编系统,注册后进行投稿(或审稿)。2016 年 1 月 1 日之前的作者投稿,将继续在旧版采编系统 www.zygzgzz.cn 中运行,进行审稿、退修、上传等操作。

感谢大家对《中医正骨》的信任、支持和厚爱!

《中医正骨》编辑部