

益髓胶囊对老年大鼠骨质形态学及相关机能的影响

李澎湃* 王新月* 王鑫国* 房家毅* 白霞*

摘要 益髓胶囊可有效地抑制 12 月龄老年大鼠 10 个月自然增龄后骨基质及骨矿含量的显著减少趋势,显著改善微循环血流状态,并维持一定的性激素水平。认为该制剂是通过维持性激素水平,保持了较高的肠钙吸收率及骨吸收与骨形成的平衡,以及改善微循环,保证了骨陷窝内组织液交换和骨细胞营养从而抑制骨质丢失。

主题词 骨密度/药物作用 骨和骨组织/病理学 @ 益髓胶囊

老年性骨质疏松症是老年人的常见多发病,表现为骨矿物质和骨基质随年龄增长而等比例的减少,骨组织显微结构发生改变。我们以丹参、淫羊藿、杜仲、黄芪、没药等八味中药研制的益髓胶囊具有良好的改善老年性骨质疏松症病人的骨质和症状的作用。为进一步探讨其作用规律,观察了其对老年大鼠骨形态学及某些相关机能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物:采用 12 月龄 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,各分为三个组(共六组)观察,每组 10 只。分笼饲养于同一环境中,以常规饲料喂养。

1.2 用药方法:雌雄各设一对照组,不用任何药物。实验用药雌雄各分两个剂量组(益髓 I 组为 0.54g/kg/日,益髓 II 组为 1.63g/kg/日)。应用时药粉用白开水调成水状。置喂水瓶中,浓度为 1g/10ml,每日 1 次,喝完换普通饮水。至大鼠 22 月龄时进行各项指标的观察。

1.3 观察指标:包括生理、生化及骨形态学指标。

微循环观察:称体重后,以 1%戊巴比妥钠作腹腔注射麻醉。在 WX-6 型多部位微循环显微仪(徐州医用光学仪器厂)下观察球结膜微循环形态,统计积分值,作组间比较。

性激素水平测定:以摘取眼球方式采血 4ml,3000 转/分钟离心 20 分钟分离血清, -20℃ 保存待测。应用放射免疫分析法测定雌二醇(E₂),试剂盒为天津 DPC

公司产,8900 液体闪烁计数仪为 Bekman 公司产。

性腺与性器官计量:摘取大鼠卵巢、子宫、睾丸,在取出 5 分钟之内剥离周围脂肪组织,在岛津 AEL-200 型电子天平上称取重量。

骨组织学计量:迅速切取大鼠的双侧股骨,钝性剥离,去除软组织。左侧股骨于中段锯断,浸于 10% 中性福尔马林溶液中固定 1 周。取股骨头段,以 10% 稀硝酸脱钙,石蜡包埋,横行和纵行切成 5μm 切片,HE 染色,应用美国产 IBAS2000 型通用图象分析系统作骨小梁宽度和密度计量。股骨膝段骨干作约 30μm 厚骨磨片,行空气封闭法,显微镜下观察骨小管、骨陷窝形态。

骨 X 线分析:右侧股骨按组分别排列,以钼靶 DGX-3 型 50mA 软射线 X 线机摄制 X 线软片。选取固定部位(股骨头、中段骨干)应用 X-RITE331 型黑白密度计和 IBAS2000 型通用图象分析系统灰度扫描分析,进行骨密度测量。黑白密度计所测数值越小,骨密度越高,而灰度扫描值小,则骨密度低。

骨钙、磷含量分析:股骨 X 线摄片后,将其干燥研为细末,精密称定适量,加混合酸(硝酸:高氯酸=5:1)10ml 放置过夜。然后,在电热板上加热消化成无色透明液体,定容 10ml,应用美国 5000 型火焰原子吸收分光光度计测定骨钙含量;骨磷含量用钼蓝法测定。

2 结果

2.1 益髓胶囊对老年大鼠球结膜微循环的影响:表 1 示,用药组,无论雄性或雌性,其微循环状态均显著优于对照组,并有显著的量效关系,表现为高剂量组(益髓 II 组)优于低剂量组(益髓 I 组),而雌雄组间无显著差异。而且,上述差异主要表现在形态上,用药组未发现缺血区、囊性扩张,对照组则有明显的缺血区、囊性扩张,严重者可达 3~5 灶。

2.2 性腺与性器官重量的变化:用药组性腺重量高于对照组,尤以雄性大剂量组(益髓 II 组)明显,高、低剂量组间差异不显著。对子宫重量无显著影响,见表 2。

2.3 性激素水平的比较:表 3 示,益髓胶囊可有效地提高实验大鼠的性激素水平,尤其雄激素水平提高最为显著,但高、低剂量组间差异不显著。

2.4 益髓胶囊对老年大鼠骨小梁形态的影响:表 4 示,给药组的骨小梁宽度与骨小梁密度均高于对照组

* 河北医科大学中医学院,河北省石家庄市新石南路(050091)

收稿日期:1996-08-02;修回日期:1996-10-18

表 1 各组大鼠球结膜微循环状态(积分值)的比较

分组	鼠数	形态	流态	管周状态	总积分值
雄性					
对照组	9	8.2±2.7	1.3±0.8	0.5±0.2	10.0±2.7
益髓 I	10	5.3±2.2 *	1.6±1.2	0.5±0.5	7.4±1.8 *
益髓 II	7	3.1±0.8 * * △	1.2±0.9	0.2±0.2	4.5±0.6△△
雌性					
对照组	10	8.7±3.2	1.4±0.3	0.7±0.5	10.8±2.8
益髓 I	8	5.0±2.8 *	1.3±1.1	0.5±0.2	6.8±2.3 * *
益髓 II	7	3.1±1.6 * *	1.4±0.8	0.3±0.1	4.8±0.7 * * △

表中数据为均值±标准差,益髓 I 为低剂量组,益髓 II 为高剂量组,以下表同

与对照组比较 * P<0.05, * * P<0.01; I、II 组间比较△P<0.05,△△P<0.01

表 2 各组大鼠性腺与性器官重量(mg)比较

分组	鼠数	卵巢	子宫	睾丸
对照组	10	90.2±4.17	310.4±10.23	3653±27.36
益髓 I	10	116.4±3.82 *	308.5±5.87	4575±31.62 *
益髓 II	10	121.8±7.35 *	312.3±8.82	4758±19.44 * △

与对照组比较 * P<0.01; I、II 组间比较△P<0.01

表 3 各组大鼠性激素水平比较

分组	鼠数	雌性组 E ₂ (pg/ml)	雄性组 T(ng/dl)
对照组	10	18.37±11.42	4.25±1.38
益髓 I	10	29.88±10.31 *	6.73±2.28 * *
益髓 II	10	32.36±13.24 *	6.49±1.54 * *

与对照组比较 * P<0.05, * * P<0.01

且小梁间脂肪组织的沉积也少于对照组。高低剂量组间无显著差异。提示益髓胶囊具有显著的抑制老年大鼠骨小梁萎缩的作用。

表 4 各组大鼠骨小梁形态比较

分组	鼠数	骨小梁密度		骨小梁宽度 (μm)
		股骨头	股骨颈	
雌性				
对照组	8	0.54 $\pm$ 0.07	0.48 $\pm$ 0.06	72.52 $\pm$ 4.38
益髓Ⅰ	8	0.64 $\pm$ 0.03 **	0.54 $\pm$ 0.05 *	82.44 $\pm$ 5.16 **
益髓Ⅱ	9	0.63 $\pm$ 0.04 **	0.55 $\pm$ 0.03 **	84.24 $\pm$ 6.93 **
雄性				
对照组	7	0.56 $\pm$ 0.03	0.50 $\pm$ 0.06	74.17 $\pm$ 6.24
益髓Ⅰ	9	0.68 $\pm$ 0.05 **	0.62 $\pm$ 0.08 **	83.32 $\pm$ 3.35 **
益髓Ⅱ	8	0.67 $\pm$ 0.04 **	0.61 $\pm$ 0.05 **	85.54 $\pm$ 4.42 **

与对照组比较 * P<0.05, * * P<0.01

2.5 益髓胶囊对老年大鼠骨小管、骨陷窝形态的影响:对照组哈佛氏系统内,其空骨陷窝占骨陷窝的百分比,雄性 34.16±5.24%,雌性 42.83±7.13%,周围的鞘增厚,骨细胞核固缩。益髓 I 组,雌、雄的空骨陷窝比例分别为 12.87±3.61%和 10.26±4.18%,显著低于对照组(P<0.01)。益髓 II 组雌、雄组的空骨陷窝比例分别为 11.16%和 12.35%,与 I 组比较无显著差异(P>0.05)。并且,给药组的骨小管密度也高于对照组。

2.6 益髓胶囊对老年大鼠骨密度的影响:在对股骨头、股骨干固定部位的 X 线软片进行灰度扫描、光密度测量及骨密度计量可见,无论雄性或雌性,给药组股骨头骨密度测量值均高于对照组。但是,股骨干雌性给药组骨密度高于对照组,而雄性三组之间差异不显著。另外,在对照组的骨密度值雄性与雌性间差异也不显著(P>0.05)。综合表 5 可见,益髓胶囊具有增加骨质或抑制骨丢失的作用,对股骨头部的影响尤为显著,高低剂量组间差异不显著。

表 5 各组大鼠骨 X 线骨密度分析比较

分组	鼠数	光密度测量		灰度扫描值
		股骨头	股骨干	
雌性				
对照组	6	0.71±0.12	0.75±0.09	171.42±6.74
益髓Ⅰ	6	0.57±0.08 *	0.66±0.03 *	198.75±4.43 * *
益髓Ⅱ	5	0.59±0.05	0.61±0.03 *	201.62±2.38 * *
雄性				
对照组	5	0.68±0.03	0.71±0.05	187.14±4.16
益髓Ⅰ	7	0.59±0.08 *	0.69±0.02	199.23±5.51 * *
益髓Ⅱ	6	0.61±0.05 *	0.69±0.06	196.84±7.35 * *

与对照组比较 * P<0.05, * * P<0.01

2.7 骨钙、磷含量分析:表6示,各组间骨磷含量无显著差异($P>0.05$),但对照组雄性骨钙值高于雌性($P<0.05$)。而给药各组骨钙含量显著增加,与对照组比较差

异显著,并且高剂量组(益髓II组)优于低剂量组(益髓I组)。提示益髓胶囊可有效地提高骨钙含量或抑制骨钙丢失。

表6 各组大鼠骨钙、磷含量(mg)分析

分组	鼠数	雄 性		雌 性	
		骨钙	骨磷	骨钙	骨磷
对照组	10	173.42±16.51	133.21±16.58	162.24±12.71	137.31±3.45
益髓I	10	191.31±17.15 *	129.71±10.26	188.51±18.17 * *	128.42±8.78
益髓II	10	210.79±18.60 * * △	134.91±17.34	207.14±13.22 * * △	133.25±11.18

与对照组比较 * $P<0.05$, * * $P<0.01$; I、II组间比较△ $P<0.05$

3 讨论

骨质疏松症的主要病理表现为骨矿含量的减少,骨皮质变薄,骨小梁数量减少、体积变小,骨髓腔明显扩大,并被脂肪组织和造血细胞所填充。骨量的减少与年龄有明显关系,中年以后,骨矿量开始减少,骨密度和骨强度均下降,女性比男性更明显,妇女绝经期几年内骨量丢失加快。而且,随着年龄的增长,骨细胞逐渐减少,部分骨细胞核固缩,空骨陷窝数量逐渐增加。70岁以后,在哈佛氏系统内有45%的空骨陷窝,而哈佛氏系统以外空骨陷窝可达75%,其周围的鞘增厚,骨小梁变短,且数量减少。一般认为,肠钙吸收减少或钙调节障碍,是骨矿减少导致骨质疏松的主要因素。雄激素和雌激素均具有促进肠钙吸收的作用,绝经后妇女雌激素水平下降,肠钙吸收减少;40岁以后的男性,肠钙吸收也随着年龄的增长而减少。因此,延缓性激素的衰减,增加肠钙吸收,调节骨代谢,从而抑制骨矿丢失,是防治退行性骨质疏松症的一项重要措施。

本实验选用12月龄老年大鼠,在常规喂养条件下,观察了益髓胶囊对10个月增龄后骨矿含量及骨形态学的影响,并对相关机能的变化进行了分析。结果表明,益髓胶囊能有效地抑制老年大鼠增龄变化松质骨和密质骨的骨质丢失,表现为经益髓胶囊治疗后,骨小梁数量、宽度、骨钙含量优于对照组,骨X线骨密度亦高于对照组。而且,成骨细胞活跃,数量多,类骨质形成增多。这种作用的产生可以认为与以下作用有关。一方面是益髓胶囊的补肾填精作用,大量研究显示,补肾剂具有维持性腺机能的作用。经给予益髓胶囊,其性激素水平和性腺重量显著高于对照组,具有延缓性腺衰老的作用。由于性激素水平得以维持,阻止了肠钙吸收率的下降。我们另有实验(待发表)发现,益髓胶囊并没有直接提高血清钙浓度的作用。因此,我们认为,益髓胶囊使性激素维持一定水平,既维持了较高的钙吸收率,又提高了骨代谢对钙的利用率。性激素对调节骨吸收和骨形成,维持骨

量,具有重要作用。此即所谓“肾主骨生髓”的益肾壮骨之作用。另一方面,益髓胶囊益气活血作用,改善微循环灌注,对骨的营养产生了积极的影响。给予益髓胶囊,大鼠球结膜微循环流态显著优于对照组,球结膜微循环可反映全身微循环的状态,骨微循环的良好维持,必将影响骨的代谢过程。骨髓内和骨外膜毛细血管与骨小管系统相通,而骨小管系统又与骨陷窝相通,由此,保障骨陷窝内的组织液交换和骨细胞的营养。在益髓胶囊治疗组,骨小管密度高,空骨陷窝比例低。骨小管密度高与良好的微循环血供有关,保障了骨细胞的代谢需要,阻止了骨细胞核固缩、死亡的发生,故空骨陷窝少。

在益髓胶囊的上述作用中,除微循环变化和骨钙含量高剂量组优于低剂量组外,余项指标未发现高、低剂量组间的疗效有显著差异,由此可以认为,该制剂具有多层次、复杂的调整作用,涉及循环、内分泌、骨代谢的多个环节,对骨代谢调节作用的进一步研究,将有益于益髓胶囊作用机理的揭示。

• 征 文 •

中国中医药学会定于1997年10月召开“全国中医心、脑病中药用药临床评价专题研讨会,并成立临床药物评价专家委员会”。

征文内容:各类中医心病、脑病中药的临床疗效评价研究、中药证效、量效、时效的评价研究、中药的临床不良反应的评价研究、中药的用药给药方案的评价研究、中药的临床经济学评价研究、中药的不同剂型的临床评价研究、中药新用途及再开发的评价研究。征文要求:论文4千字以内,附4百字内容摘要,加盖单位公章。务请写明作者姓名、职称、工作单位、通讯地址、邮编。有关事宜:本会议药物评价主要指近年来生产的中成药,也欢迎临床疗效确切,具有新药开发前景的内部制剂。论文由专家评审,每篇收取评审费20元,一经录用,即发正式邀请与会通知。论文由学会主管的刊物出版。中国中医药学会临床药物(中药)评价专家委员会将公布评价结果。与会正式代表由中国中医药学会颁发论文证书,并设“优秀论文奖”。截稿日期:1997年8月1日。来稿请寄:北京和平里北口樱花东路甲4号中国中医药学会周国萍收,邮编:100029。(广告编号:9704-17)