

补肾益精方提高卵巢切除大鼠骨质疏松模型 松质骨骨质量的实验研究^{*}

朱太咏¹ 石印玉² 张 戈³ 谢 艳¹ 赵咏芳² 谢 文¹ 沈培芝³ 王健智¹ 徐 宇³ 马克昌¹

内容提要 目的 探讨补肾益精方对去卵巢大鼠骨质疏松模型松质骨骨质量的影响。方法 40 只 10 月龄 Wistar 雌性大鼠随机分为正常组、模型组、倍美力组和补肾益精方组,每组 10 只。正常组仅行假手术,其余 3 组行卵巢切除术。术后第 91 天开始给药,连续用药 90 天,处死动物,取出第 2 腰椎,测定骨质密度和钙、磷、有机质含量,取出第 3 腰椎,测定其骨质密度和生物力学性能。应用上述多项指标评价骨质量。结果 补肾益精方能明显提高骨质疏松大鼠腰椎骨的骨质密度和钙、磷、有机质含量,增强椎骨的抗压生物力学性能。结论 补肾益精方能够提高去卵巢大鼠松质骨的骨质量。

关键词 骨质疏松 骨质量 补肾益精方 骨质密度 钙 磷 生物力学

Experimental Study of Reinforcing Effect of Bushen Yijing Capsule on Bone Quality of Cancellous Bone in Ovariectomy Caused Rats Osteoporosis Model ZHU Tai-yong, SHI Yin-yu, ZHANG Ge, et al *Luoyang Institute of Traditiononal Chinese Orthopedics and Traumatology of Henan Province, Henan (471002)*

Objective : To explore the influence of Bushen Yijing Capsule (BSYJC) on bone quality of cancellous bone in ovariectomy induced osteoporosis rats model. **Methods** : Forty Wistar female rats, 10 months old, were randomly divided into 4 groups, the normal group, the model control group, the premarin treated and the BSYJC treated group, 10 in each group. The normal group was only sham operated and the other three were ovariectomy performed and treated starting at day 91 postoperationally for consecutively 90 days. Rats were sacrificed at the end of experiment, the second lumbar vertebra was taken out to determine bone density and contents of calcium, phosphorus and organic substances, and the third lumbar vertebra taken out to measure the bone density and biomechanics properties. Bone quality was evaluated with the above indices. **Results** : BSYJC could significantly raise the bone density, increase the contents of calcium, phosphorus and organic substances, and improve the biomechanical properties of the lumbovertebral bone in osteoporosis rats. **Conclusion** : BSYJC could improve the bone quality of the cancellous bone in ovariectomized rats.

Key words osteoporosis, bone quality, Bushen Yijing Capsule, density of bone matter, calcium, phosphorus, biomechanics

为了研究补肾益精方胶囊对绝经后骨质疏松的治疗作用,探讨其对松质骨骨质吸收、骨质构成成分丢失和松质骨生物力学性能的影响以及骨质密度与骨强度之间的关系,特设计了该实验。实验证明,补肾益精方胶囊有明显的抗骨吸收作用,能使骨质密度增加,骨的力学性能得到改善,骨的钙、磷含量,骨的有机质成分含量增加,使骨质成分构成比趋向正常,骨的质量得到提高。

材料与方法

1 动物 10 月龄 Wistar 雌性大鼠,体重(350±20)g,由上海中医药大学实验动物中心提供。

2 药物 补肾益精方胶囊:每粒胶囊含浸膏 0.6g 相当于 3g 生药,主要由黄芪、骨碎补、仙灵脾、何首乌、菊花、石斛、肉苁蓉等中药组成,上海中医药大学附属曙光医院制剂中心制备,批号:980528。倍美力:口服雌激素类药物,美国惠氏艾尔斯特大药厂产品,批号:A984055。

3 实验方法 Wistar 雌性大鼠 40 只,随机分为:(1)正常组(或称卵巢假切除组)(2)模型组(3)倍美力组(4)补肾益精方组,每组 10 只。正常组只做手术

^{*} 国家中医药管理局“九五”攻关课题(96906-09-05)

1. 河南省洛阳正骨研究所(河南 471002) 2. 上海中医药大学附属曙光医院 3. 上海市中医药研究院骨伤科研究所

切口不去除卵巢,其余 3 组行双侧卵巢切除术。术后正常饲养,3 个月开始用药,其中倍美力组、补肾益精方组喂服相应的含药饲料,给药剂量为临床等效剂量:补肾益精方胶囊,750mg/d(生药量);倍美力,0.01mg/d。正常组和模型组不用药。连续给药 3 个月,处死动物,完整取出大鼠的第 2、3 腰椎,剔净附着的软组织和软骨,第 2 腰椎保留脊椎棘突和关节突,第 3 腰椎去除棘突和关节突,把两端面磨平且与轴线垂直。丙酮脱水并真空干燥恒重,根据浮力原理,用十万分之一电子天平称重,测定腰椎体积,计算骨质密度。第 2 腰椎经脱钙液脱钙以测定钙、磷。脱钙后的残留物干燥后测定有机质含量。第 3 腰椎取其体积和椎体高的比值作为椎体的平均横截面积,取加载速度为 6mm/min,用电子万能材料试验机做椎体抗压力学性能的测量与分析。

- 4 观察指标
- 4.1 骨质密度 单位体积内所含的全部骨质的量,即骨质密度=骨干重/骨体积。
- 4.2 钙含量 单位骨体积内所含钙的量。第 2 腰椎用 10%三氯醋酸 3ml 脱钙 3 次,每次 24h,合并脱钙液,取适量,用 EDTA 法测钙,计算单位骨体积内的含钙量。
- 4.3 磷含量 单位骨体积内所含磷的量。取适量脱钙液,用硫酸亚铁法^[1]测定脱钙液中的磷,计算单位骨体积内的含磷量。
- 4.4 有机质含量 脱钙后的残留物即为总有机质,102℃烘干,称重,计算单位骨体积内所含残留物的量,即为有机质含量。
- 4.5 成分构成比 计算单位骨体积内各构成成分所占的重量百分比。

- 4.6 生物力学参数
- 4.6.1 结构力学参数 最大载荷(Max-Load),试件所能承受的最大外力;破断载荷(Break-Load),试件破断时所承受的外力。结构刚度(Stiffness),为最大载荷值与弹性模量线上的等值载荷点所对应的位移值的比值,表示结构抵抗外力引起变形的能力。
- 4.6.2 材料力学参数 极限强度为最大载荷/试件受力面积。破断强度为破断载荷/试件受力面积。

表 1 各组大鼠第 2 腰椎骨质密度和骨质构成成分比较 (mg·mm⁻³, $\bar{x} \pm s$)

组别	骨质密度	钙	磷	有机质
正常	1.433±0.027*	0.3606±0.0123*	0.1344±0.0040*	0.3257±0.0126*
模型	1.324±0.021 [△]	0.3175±0.0137 [△]	0.1216±0.0078 [△]	0.3486±0.0128 [△]
倍美力	1.437±0.086*	0.3546±0.0265*	0.1322±0.0108*	0.3511±0.0099 [△]
补肾益精方	1.413±0.027*	0.3490±0.0066*	0.1313±0.0043*	0.3484±0.0291 [△]

注:与模型组比较,* $P<0.01$;与正常组比较,[△] $P<0.01$,每组鼠数为 10 只;下表同

弹性模量(Elastic)为弹性限度内应力/对应的线应变,代表材料的抗变形的能力。最大应变(Max-Strain)为最大载荷下试件产生的变形率。破断应变(Break-Strain)为破断载荷下试件产生的变形率。

5 统计学方法 采用 Excel 97 软件,具体采用 t 检验和相关性分析。

结 果

1 对骨质密度、骨质中钙、磷及有机质的影响 见表 1。与正常组比较,模型组骨质密度、骨质中的钙、磷含量明显降低,而骨有机质含量明显升高($P<0.01$);补肾益精方组、倍美力组骨质密度、骨质中的钙、磷含量已达到或接近正常组水平,而此两组的骨有机质含量则比正常组有所升高($P<0.01$)。和模型组比较,补肾益精方组、倍美力组的骨质密度、骨质中的钙、磷含量都明显增加($P<0.01$),而骨有机质含量的增加不明显。

2 对骨质中各构成成分构成比的影响 见表 2。和正常组比较模型组的骨钙、骨磷构成比降低,而骨中有机质构成比显著增高($P<0.05$)。补肾益精方组骨钙、骨磷的构成比都向正常组的方向靠近。倍美力组的骨钙构成比向正常组方向靠近,而骨磷构成比则无明显变化。补肾益精方组、倍美力组的有机质构成比较模型组有所下降。

表 2 各组大鼠第 2 腰椎各构成成分构成比的比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	钙	磷	有机质
正常	25.16±0.66*	9.380±0.196	22.72±0.67*
模型	23.97±0.95 [△]	9.180±0.537	26.33±1.18 [△]
倍美力	24.64±0.60	9.191±0.360	24.47±0.97* [△]
补肾益精方	24.71±0.45	9.293±0.280	24.65±1.94* [△]

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与正常组比较,[△] $P<0.05$

3 对椎体生物力学性能的影响 见表 3。模型组和正常组比较,椎体的生物力学性能明显下降。其结构力学参数(最大载荷、破断载荷、结构刚度)明显降低。材料力学参数中,弹性模量、极限强度、破断强度等都明显减小($P<0.05$)。倍美力组、补肾益精方组和模型组比较,上述生物力学指标都有不同程度的改善,和正常组比较差异无显著性。

表 3 各组大鼠第 3 腰椎骨质密度和生物力学性能的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	骨质密度	最大载荷	破断载荷	结构刚度	弹性模量	极限强度	破断强度	最大应变	破断应变
	($\text{mg} \cdot \text{mm}^{-3}$)	(N)		($\text{N} \cdot \text{mm}^{-1}$)	($\text{N} \cdot \text{mm}^{-2}$)		(%)		
正常	1.408 $\pm 0.031^{**}$	473.80 $\pm 90.71^{*}$	438.73 $\pm 110.21^{*}$	1500.8 $\pm 270.6^{*}$	699.66 $\pm 115.89^{*}$	32.63 $\pm 7.34^{*}$	30.64 $\pm 7.85^{**}$	4.426 ± 1.254	4.568 ± 1.083
模型	1.324 ± 0.025	375.96 ± 108.57	304.12 ± 94.54	1234.6 ± 199.2	556.12 ± 76.22	26.82 ± 6.71	21.00 ± 5.57	4.136 ± 1.256	4.656 ± 1.298
倍美力	1.414 $\pm 0.077^{**}$	419.88 ± 118.18	411.06 $\pm 130.77^{*}$	1413.0 ± 294.5	672.71 $\pm 153.15^{*}$	27.83 ± 8.12	27.28 $\pm 7.70^{*}$	4.059 ± 1.005	4.073 ± 0.999
补肾益精方	1.406 $\pm 0.042^{**}$	457.43 ± 121.21	442.44 $\pm 126.26^{*}$	1480.5 ± 374.9	712.30 $\pm 170.59^{*}$	31.36 ± 8.02	30.36 $\pm 8.41^{*}$	4.253 ± 0.847	4.585 ± 0.925

注 : * 与模型组比较 , $P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$

表 4 大鼠第 3 腰椎骨质密度和生物力学参数之间的相关系数表

组别	最大载荷	破断载荷	结构刚度	弹性模量	极限强度	破断强度	最大应变	破断应变
正常	0.6052 [*]	0.5881 [*]	0.6324 [*]	0.5028	0.6821 [*]	0.6672 [*]	0.5396	0.5071
模型	0.2562	0.3432	0.1463	0.0997	0.2082	0.2911	0.5080	0.0110
倍美力	0.5845 [*]	0.5839 [*]	0.3951	0.3052	0.5027	0.5058	0.2178	0.1846
补肾益精方	0.4725	0.4437	0.6122 [*]	0.6053 [*]	0.4135	0.4079	-0.0839	-0.0617
总体 [△]	0.4437 ^{**}	0.4997 ^{**}	0.2683 [*]	0.2836 [*]	0.3586 [*]	0.4321 ^{**}	0.1704	-0.1409

注 : * $P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$, [△] : 总体的样本数 $n = 40$

4 骨质密度与力学参数间的相关性 见表 4。总体相关性统计分析的结果说明 ,反应骨的生物力学强度性能的主要指标(最大载荷、破断载荷、结构刚度、弹性模量、极限强度、破断强度)的变化和骨质密度的变化呈正相关($P < 0.05$, $P < 0.01$)。但分组的相关性统计分析结果显示 ,各组各指标间的相关系数差别较大 ,大多数指标和骨质密度的相关性较差。反映骨的构成材料性能的弹性模量 ,只有补肾益精方组和骨质密度的相关性较好($P < 0.05$) ,这说明该组骨的材料质量趋于一致 ,骨质量较好。

讨 论

应用骨矿含量(骨矿密度)的变化作为效应指标来评价骨质疏松药物治疗的有效性的方法已得到了较广泛的认同。但也有不少作者发现 ,单项骨矿含量的提高和骨质疏松治疗药物的实际疗效之间或实际骨质量改善之间有时存在明显偏差 ,单纯追求骨矿密度的提高 ,有时可能会引起骨生物力学性能的恶化⁽²⁻⁴⁾。本研究对骨质密度、生物力学、骨矿含量和骨中有机质的含量等多种指标的观察发现 ,骨矿含量提高和骨生物力学性能改善之间不能划等号。

1 切除卵巢后的高骨转换状态伴有钙化机制的紊乱 本实验模型组比正常组松质骨中的有机质成分增多而骨质密度减少的结果表明 ,去卵巢造成的高骨转换状态可能同时伴有钙化机制的紊乱 ,钙、磷沉积落后于基质形成 ,导致骨有机质成分的升高 ,骨矿物质减少。此时所形成的新骨 ,可能未达到正常骨的质量 ,其矿盐和有机质比例失调 ,骨质成分构成比发生改变 ,骨的微细结构受到破坏 ,从而导致骨质量的降低和生物力学性能下降。应用补肾益精方进行治疗 ,可使上述

紊乱得到纠正 ,生物力学性能得到改善 ,骨质量得到维护或提高。

2 骨丢失不一定是等比例丢失 一般认为 ,骨质疏松症的骨丢失 ,是按构成比的等比例丢失^(5,6)。但本实验的构成比分析结果提示 ,切除卵巢后 ,骨质的钙、磷构成比下降 ,有机质构成比上升。应用不同的实验药物后 ,其钙、磷、有机质构成比都发生了各不相同的变化。这说明在不同因素的影响下骨中各成分的丢失速度可能不同 ,由骨形成过程产生的新骨的各成分比例也可能不同。这说明原发性骨质疏松造成的骨丢失 ,不是等比例的丢失 ,在不同的情况下骨丢失的情况可能不同。应用补肾益精方可以调整这种比例的失衡。

3 治疗骨质疏松的重点在于保护和提高骨质量 决定骨质量的要素主要有 3 个 :骨的构成材料的“质”和“量”以及骨的结构。骨质密度、骨矿含量等参数仅从骨的物质的“量”这一个侧面描述了骨质量。骨的物质的“量”参数不能描述骨的微细结构、骨胶原性能的变化对骨质量的影响。因此 ,它们还不能准确反映骨质量的真实变化。而骨的生物力学性能则是骨质量的直接反映 ,能比较好地描述骨质量。已有资料表明 ,骨的微细结构包括空间微细结构的细微变化⁽⁷⁾或破坏^(8,9)(比如显微骨折、骨小梁减少或变薄及其空间结构变化等)以及骨质成分的改变⁽¹⁰⁾(如骨盐和有机物丢失 ,骨胶原空间结构的改变和性能下降等) ,都是导致骨的力学性能下降的重要因素。这些都是构成骨质量的重要因素。不同的治疗药物虽都可使骨质疏松骨的“骨量”或骨矿量增加 ,但由于药物的作用机理或作用方式和作用部位不同 ,所达到的治疗效果和对骨的“质量”最终影响可能不同。单纯追求骨矿量的增高而

骨的微细结构破坏、骨胶原性能下降未能改善或进行性加重,势必导致骨生物力学性能的恶化。所以,如何提高或保持骨质量,是中医药治疗骨质疏松研究的一个重要课题。研究表明,补肾益精方能比较好地维护或提高骨质量。

参 考 文 献

1. 福州部队总医院. 临床医学检验. 上海:上海科学技术出版社,1978:366—386.
2. Segaad CH, Mosekide L, Schwartz W, et al. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. Bone 1995 ;16(1):163—170.
3. Fratzl P, Schreiber S, Roscher P. Effects of sodium fluoride and alendronate on the bone mineral in minipigs : a samll-angle X-ray scattering and backscattered electron imaging study. J Bone Min Res 1996 ;11:248—255.
4. Pak CYC, Sakhaee K, Bell NH, et al. Comparison of nonran-

domized trials with slow release sodium fluoride with a randomized placebo-controlled trial in post-menopausal osteoporosis. J Bone Min Res 1996 ;11:160—166.
5. 刘忠厚主编. 骨质疏松学. 北京:科学出版社,1998:142—161.
6. 蒋 明, 朱立平, 林孝义主编. 风湿病学. 北京:科学出版社,1995:1442—1450.
7. 戴克戎. 骨质疏松症导致骨力学性能下降的机理. 中华骨科杂志 1997 ;17(6):405—406.
8. Hahn M, Vogel M, Amling M, et al. Microcallus formations of the cancellous bone : a quantitative analysis of human spine. J Bone Miner Res 1995 ;10:1410—1417.
9. Fazzalari NL. Trabecular Microfracture. Calcif Tissue Int 1993 ;53(Suppl 1):143—154.
10. 陈一心, 韩祖斌. 雌性大鼠去势后股骨生物力学变化. 医用生物力学 1996 ;11(6):51—53.

(收稿 2000-07-10 修回 2001-06-08)

新癬片治疗外耳道炎性疾病 68 例

蒋福山

2000 年 3~8 月,我们采用新癬片口服及外用治疗外耳道炎性疾病 68 例(73 耳),并与服用抗生素及局部用药治疗的 30 例(32 耳)对照比较,现报告如下。

临床资料 98 例均为门诊患者,按就诊顺序随机分为两组。治疗组 68 例(73 耳),男 45 例(49 耳),女 23 例(24 耳),年龄 16~54 岁,平均 35 岁,病程 5~7 天。对照组 30 例(32 耳),男 21 例(23 耳),女 9 例(9 耳),年龄 18~57 岁,平均 37.5 岁,病程 5~7 天。两组患者均为外耳道炎性疾病,主要表现为耳内肿痛、流水等。检查可见,外耳道皮肤糜烂或红肿、有分泌物,触压外耳时疼痛明显,耳膜完整。两组患者临床资料比较,差异无显著性,有可比性。

治疗方法 治疗组用新癬片(组成:三七、牛黄、九节茶、珍珠层粉,每片 0.32g,由厦门中药厂生产,批号 980615),每次 2~4 片,每天 3 次口服。同时在清洗(双氧水或生理盐水)患侧外耳道后,用新癬片 1~2 片研成粉末后直接吹入外耳道内,每天 1 次。下一次吹入新癬片粉末前清洗外耳道。对照组口服抗生素(先锋霉素 IV、环丙沙星或阿莫西林、罗红霉素),患耳点用环丙沙星耳剂或 3% 酚甘油,每天 3 次,两组均治疗 5~7 天

评定疗效。

结 果 (1)疗效标准 治愈:外耳道红肿消退、疼痛消失、干耳,皮肤恢复正常。显效:外耳道红肿明显好转、疼痛消失、皮肤稍潮红。好转:外耳道红肿好转、仍疼痛但减轻,耳道少许分泌物。无效:临床症状及体征改善不明显。(2)疗效 治疗组 68 例(73 耳),治愈 46 例(67.7%),显效 15 例(22%),好转 7 例,总有效率 100%。对照组 30 例(32 耳),治愈 14 例(46.7%),显效 10 例(33.3%),好转 6 例,总有效率 100%。两组比较差异无显著性($P>0.05$)。

体 会 外耳道的炎性疾病主要由细菌感染引起,多因自行挖耳或外伤,引起皮肤组织的损伤而继发细菌感染。临床表现为耳内肿胀、疼痛及流水,使用新癬片起到了与抗生素相同的效果,具有抗菌消炎作用,尤其局部应用效果更为理想,镇痛效果显著,其优点是避免了使用抗生素引起过敏反应和毒副作用的危险,使用安全,疗效可靠,提供了治疗外耳道疾病的一种新方法,值得推广。不足的是每次吹药之前,必须先行清洁,清洗外耳道后方可再吹入新癬片粉末,才能发挥较好的效果,并需在专科医生操作下施治效果理想。

(收稿 2000-08-30 修回 2001-06-12)

天津市第三医院耳鼻喉科(天津 300250)