

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)11-1018-03

益肾中药复方对模拟失重大鼠股骨生物力学特性的影响

韩艳¹, 覃华¹, 刘新友¹, 杜晓燕¹, 李运明², 陈长生²(¹ 第四军医大学唐都医院药剂科, 陕西 西安 710038, ² 第四军医大学预防医学系卫生统计学教研室, 陕西 西安 710033)

Effects of "kidney-tonifying" Chinese herb compounds on bone biomechanics of hindlimb of rats during simulated weightlessness

HAN Yan¹, QIN Hua¹, LIU Xin-You¹, DU Xiao-Yan¹, LI Yun-Ming², CHEN Chang-Sheng²¹Department of Pharmacy, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China, ²Department of Health Statistics, School of Preventive Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

【Abstract】 AIM: To explore the effects of "kidney-tonifying" Chinese herb compounds against bone loss in hindlimb-unloaded rats. **METHODS:** Eighteen male SD rats were randomly divided into control group (C, n=6), tail-suspension group (S, n=6) and Chinese herb compounds treated group (T, n=6). On the basis of tail-suspension to simulate weightlessness, rats of T group were given Chinese herb compounds per day. The effects of 4-week Chinese herb compounds treatment on tail-suspended rats were evaluated by measuring physical and bio-mechanical parameters of femur. **RESULTS:** Femoral mass (fresh, dry and ash), diameter, and density (fresh) of S, T rats were declined significantly, compared with those of C rats ($P < 0.05$). The diameter ($P < 0.05$) and the density ($P < 0.01$) of T rats' femurs obviously improved, compared with those of S rats, and all qualities tended to increase. The strength and stiffness of femoral bone were significantly weakened in S rats, compared with those of C rats ($P < 0.01$). Compared with group C, the maximum load (ML) and bending rigidity coefficient (BRC) decreased ($P < 0.05$), while the bending toughness coefficient increased ($P < 0.01$) in group T. Elastic load of T rats improved more markedly than that of S rats ($P < 0.05$). ML, BRC and elastic deformation also tended to improve in group T. **CONCLUSION:** By using "kidney-tonifying" Chinese herb compounds, the growth and bio-mechanical parameters of weight loading bones of the unloaded femur of rats with tail suspended can partly be protected from bone loss.

收稿日期 2007-03-15; 接受日期 2007-04-30

通讯作者 陈长生. Tel (029) 84774853 Email zhencs@fmmu.edu.cn
 作者简介 韩艳. 学士 药师. Tel (029) 84778235 Email wyyw2002912@126.com

【Keywords】 weightlessness simulation; Chinese herb compounds; bone; biomechanics

【摘要】目的 研究益肾中药复方对抗措施对尾部悬吊大鼠承重骨的影响. 方法 SD 雄性大鼠 18 只, 按体质量配对后随机分为对照组(6 只)、悬吊组(6 只)和中药处理组(6 只). 在尾部悬吊大鼠模型模拟失重的基础上, 中药处理组大鼠每日给予中药复方灌胃. 利用物理测量和三点弯曲等实验, 观察 4 wk 中益肾中药复方灌胃对尾部悬吊大鼠股骨生长、生物力学特性的影响. 结果: 悬吊组和中药处理组大鼠股骨质量、灰分、直径和密度均较对照组大鼠下降($P < 0.05$); 与悬吊组比较, 中药处理组大鼠股骨的直径($P < 0.05$)和密度($P < 0.01$)改善, 质量和灰分有增加趋势. 与对照组相比, 悬吊组大鼠股骨的强度和刚度降低($P < 0.01$), 中药处理组最大载荷和刚性系数降低($P < 0.05$), 韧性系数升高($P < 0.01$); 与悬吊组大鼠相比, 中药处理组大鼠弹性载荷提高($P < 0.05$), 最大载荷、刚性系数和挠度载荷比值有提高趋势. 结论 益肾强骨中药可对抗骨丢失, 对尾部悬吊大鼠承重骨的生长及力学特性有一定保护作用.

【关键词】 模拟失重; 中药复方; 骨; 生物力学

【中图分类号】 R318.01

【文献标识码】 A

0 引言

航天员在失重环境下, 生理系统会出现一些变化, 心血管系统失调、航天贫血症、肌肉萎缩、骨质脱钙等. 而失重引起骨骼系统的变化是航天医学工作者关注的问题之一. 航天实践表明, 失重条件下骨形成减弱, 骨吸收相对增强, 失重性骨量减少和钙代谢紊乱呈进行性过程. 航天员在飞行过程中平均每月丧失 1%~2% 的钙^[1]. 为防止长期太空飞行中可能出现的骨质疏松、骨折等严重后果, 人们设计和采用了多种对抗失重的方法, 如体育锻炼、药物、添加营养物质等^[2]. 虽然这些措施减缓了骨量减少的速度, 却不能有效阻止这一现象的发生.

传统中药毒副作用小、药效温和, 近年在航天医学领域的应用逐渐受到国内外重视. 中医学理论的精华在于“整体观念”和“辨证施治”. 在航天微重力、辐射、狭小隔离环境等综合因素作用下, 人体神经-内分泌-免疫系统将会发生一系列生理功能变化. 有研究者认为在航天微重力环境较长时间停留及模

拟失重状态均可出现肾虚及血瘀之证^[3]。沈羨云等根据对兔头低位-20°限制活动模型观察,提出利用益气活血等中药行防护的观点^[4]。本实验我们根据中医“肾主骨”的理论和航天期间的特殊变化,从整体调节入手,在尾部悬吊大鼠模型模拟失重的基础上,给予益肾强骨中药,考察了其对尾部悬吊大鼠骨丢失的防治作用,为中药防护失重性骨丢失提供实验依据,初步考察此种对抗方法的作用效果及其机制。

1 材料和方法

1.1 材料 SD 清洁级大鼠,雄性,18只,由第四军医大学实验动物中心提供,动物合格证号:军医动字第 C98008。于动物饲养室内适应 1 wk。实验开始当日随机分为对照组(6只)、悬吊组(6只)和中药处理组(6只),体质量分别为:(200±7)g;(203±7)g;(206±5)g。4 wk 实验期间,给予充足清洁饮水和摄食,大鼠可自由活动。室温保持在(22±2)°C,人工控制室内照明,保持 12 h 光照(08 00~20 00)和黑暗(20 00~次日 8 00)交替循环。

1.2 方法 悬吊组大鼠采用李勇枝等^[5]改进的方法做尾部悬吊,大鼠始终保持 30°头低位及后肢自由悬垂不荷重状态。中药处理组在尾部悬吊处理的基础上,每天给予益肾中药复方灌胃。益肾中药复方由黄芪、丹参、杞子、山楂等构成,由本医院制剂室分别煎汤浸膏,制成干粉备用。用蒸馏水将中药干粉配制成悬浊液,按照 100~110 g/(kg·d)的剂量,每天灌胃 1 次。自实验期满开始,依次断头处死大鼠,尽快取出其双侧股骨,去除结缔组织。右侧股骨测量一般物理指标,包括质量(湿)、长度、直径、体积、密度、质量(干)和灰分质量,除后两项外其余均在处死大鼠后立即测量。质量及灰分采用 ACA 2100 型电子天平测量(精度为 1×10⁻⁴ g,Denver Instrument Company,美国)。测质量(干)时,标本先在 118°C 加热烘烤 48 h 至质量恒定,然后在灰化炉中 800°C 24 h 完全灰化测其灰分。长度和直径(骨干中点最细处)使用精度为 0.02 mm 游标卡尺测量。用排水法测量体积(精度为 1×10⁻⁴ cm³)。湿质量密度为湿质量和体积的比值。

左侧股骨即刻密封保存于 4°C 环境中,并于 2 d 内进行三点弯曲实验。三点弯曲实验在 Instron 1195 (Instron,英国)电子拉伸机上进行。股骨放置方向及位置保持不变,跨距为 16 mm,加载砝码 2 kg,加载速度为 0.05 mm/min。通过所得载荷-应变曲线计算弹性载荷、最大载荷、破坏载荷、极限挠度、破坏挠度、刚性系数和韧性系数等力学指标。

统计学处理:所得数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析,组间比较利用方差分析和 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 对照组大鼠在实验期间体质量持续增加,而悬吊组和中药处理组大鼠体质量在实验期间的前 4 d 均呈下降趋势,从第 5 日开始逐渐增加。实验结束时 3 组大鼠的体质量分别为:对照组(292±11)g;悬吊组(255±8)g;中药处理组(263±7)g。悬吊组和中药处理组大鼠平均体质量低于对照组大鼠,而悬吊组和中药处理组之间大鼠平均体质量无统计学差异。

2.2 大鼠股骨理化指标的变化 3 组大鼠在股骨长度方面未见明显差异。悬吊组和中药处理组大鼠在股骨质量(湿、干)、灰分、直径和密度等方面均较对照组大鼠下降($P < 0.05$)。与悬吊组大鼠比较,采用中药对抗措施处理后,中药处理组大鼠在直径($P < 0.05$)和密度($P < 0.01$)有改善,在质量和灰分方面有提高的趋势。说明给予益肾强骨中药灌胃对抗措施后,悬吊大鼠的骨量丧失减少(表 1)。

表 1 各组大鼠股骨(右)基本物理指标 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	股骨质量 (湿)/mg	股骨质量 (干)/mg	灰分 /mg	长度 /mm	直径 /mm	密度 ($g \cdot cm^{-3}$)
对照	689±50	450±43	286±32	30.37±0.89	1.56±0.10	1.72±0.03
悬吊	587±49 ^b	330±34 ^b	220±19 ^b	29.97±1.02	1.29±0.19 ^b	1.48±0.04 ^b
中药 处理	620±38 ^b	380±33 ^b	236±20 ^b	30.02±0.48	1.47±0.07 ^{ac}	1.59±0.03 ^{bd}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 悬吊。

2.3 大鼠股骨力学特性的变化 悬吊组大鼠在股骨弹性载荷、最大载荷和刚性系数等方面均较对照组下降($P < 0.01$)。韧性系数和弹性范围内的挠度载荷比值较对照组上升($P < 0.01$)。表明模拟失重引起大鼠股骨力学性能的全面明显降低。中药处理组与对照组大鼠比较,最大载荷和刚性系数降低($P < 0.05$),韧性系数升高($P < 0.01$);与悬吊组大鼠相比,中药处理组大鼠在弹性载荷方面提高($P < 0.05$),最大载荷、刚性系数和挠度载荷比值有提高的趋势,表明给予益肾强骨中药灌胃对抗措施后,模拟失重大鼠的股骨力学性能有所提高(表 2)。

3 讨论

力学特性是反映骨的生长代谢情况的一个重要指标。航天失重和模拟失重均可引起骨力学特性的显

表2 各组大鼠股骨(左)力学指标

(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	弹性载荷/N	最大载荷/N	弹性挠度/mm	最大挠度/mm	刚性系数/ (N·mm ² ·10 ⁴)	韧性系数/ (mm/N·10 ⁻²)	挠度载荷比
对照	72 ± 15	111 ± 17	0.28 ± 0.05	0.62 ± 0.07	2.5 ± 0.5	0.96 ± 0.19	0.23 ± 0.06
悬吊	43 ± 6 ^b	73 ± 10 ^b	0.26 ± 0.07	0.74 ± 0.09 ^a	1.7 ± 0.3 ^b	1.68 ± 0.25 ^b	0.4 ± 0.09 ^b
中药处理	60 ± 8 ^c	90 ± 11 ^a	0.31 ± 0.03	0.69 ± 0.06	1.8 ± 0.2 ^a	1.52 ± 0.20 ^b	0.31 ± 0.05

^aP < 0.05, ^bP < 0.01 vs 对照; ^cP < 0.05 vs 悬吊。

著降低, Cosmos 飞行发现大鼠股骨和脊柱的力学性能下降^[2]。 Skylab23 飞行大鼠骨的强度和硬度均较对照下降。 Morey-Holton 等^[6]利用后肢悬吊大鼠模型发现股骨的所有弯曲参数(硬度、负荷、能量)较对照显著降低。前人的实验结果提示失重引起骨力学性能降低,且主要发生在承重骨。本次实验也得到类似结果,悬吊组大鼠股骨的股骨质量(湿、干)、灰分、直径和密度、股骨弹性载荷、最大载荷和刚性系数等方面均较对照组显著下降,韧性系数和弹性范围内的挠度载荷比值较对照组显著上升,表明尾部悬吊使大鼠股骨骨钙丢失,力学性能降低。

国内外在进行失重药物防护措施的研究时,一般是从各自的专业领域出发,针对失重对不同生理系统的影响,采用不同的药物。我们认为航天中虽然各生理系统的反应不一,表现不同,但它们的起因是一致的,都是由于失重引起的体液头向分布和运动减退所产生的一种适应失重环境的征候群(航天适应性综合征)^[7]。在这个征候群中,各个生理系统有其各自的表征和特点,但其内在的机制却互相联系、互相制约。所以在进行本课题研究时,我们从中医“审证求因”“辩证论治”的理论出发,分析失重引起生理变化的特点,确定以补肾、益气活血中药为主来选择中药,最后选定了黄芪、丹参、杞子、山楂等进行实验。

骨矿盐含量反映骨中无机质含量。而且由于单纯骨矿盐含量测定不能表现骨结构和材料特征的变化,因此结合骨力学指标测定可以更全面评价骨质量,反映骨骼抗骨折能力。最大载荷和弹性载荷反映骨结构力学特性,它们的变化反映骨小梁质量、结构

连续性和皮质厚度的改变^[8]。与悬吊组大鼠相比,中药处理组大鼠的股骨直径和密度有显著改善,弹性载荷显著提高,在质量、灰分、最大载荷、刚性系数和挠度载荷比值等方面有提高的趋势,表明采用补肾、益气活血中药对抗措施后,模拟失重大鼠股骨的生长和力学性能有一定恢复。

【参考文献】

- [1] Saunders DK, Roberts AC, Aldrich KJ, et al. Hematological and blood viscosity changes in tail-suspended rats[J]. Aviat Space Environ Med, 2002, 73(7): 647-653.
- [2] Ohira Y, Yoshinaga T, Nomura T. Gravitational unloading effects on muscle fiber size, phenotype and myonuclear number[J]. Adv Space Res, 2002, 30(4): 777-781.
- [3] 范全春,李勇枝,白桂娥,等. 强骨抗萎方对模拟失重大鼠骨代谢影响的观察[J]. 航天医学与医学工程, 2003, 16(2): 107-109.
- [4] 沈芸云,孟京瑞,王玉清,等. 头低位-20度限制活动期间兔生理指标的变化[J]. 航天医学与医学工程, 1994, 7(3): 186-191.
- [5] 李勇枝,石宏志,范全春,等. 强骨抗萎方对模拟失重大鼠骨及相关组织生化指标的影响[J]. 航天医学与医学工程, 2003, 16(2): 103-106.
- [6] Morey-Holton ER, Globus RK. Hindlimb unloading of growing rats: A model for predicting skeletal changes during space flight[J]. Bone, 1998, 22(5): 83-85.
- [7] 马永洁,万玉民,谢力勤,等. 复方活血补肾中药对尾悬吊大鼠骨质量的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(3): 133-135.
- [8] 范全春,李勇枝,石宏志,等. 中药复方对卧床模拟失重骨代谢的影响[J]. 航天医学与医学工程, 2004, 17(6): 402-405.

编辑 袁天峰