

· 药理 ·

补肾方对激素性股骨头坏死大鼠的骨修复作用

王慧^{1,2}, 刘春芳², 姜宜妮², 陈卫衡³, 林娜^{2*}

(1. 福建中医药大学, 福州 350122; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
3. 中国中医科学院 望京医院, 北京 100102)

[摘要] 目的:观察补肾方对激素性股骨头坏死(SONFH)大鼠股骨头骨修复的作用。方法:雄性 Wistar 大鼠随机分为正常组,模型组,补肾方高、中、低剂量组和阳性药健骨生丸组。除正常组外其余各组臀肌注射 21 mg·kg⁻¹ 甲泼尼龙琥珀酸钠, 1 d 1 次,连续 3 d,建立单纯性糖皮质激素股骨头坏死模型。各给药组从第 4 天开始,分别给予 5.3, 10.6, 21.2 g·kg⁻¹ 的补肾方和 1.68 g·kg⁻¹ 健骨生丸,给药 6 周后取血和股骨头,HE 染色观察股骨头组织的病理学改变, Micro-CT 扫描观察股骨头骨形态变化并进行骨计量学分析, ELISA 检测血清骨形成标志物骨钙素(BGP)和降钙素(CT)含量。结果:模型组大鼠股骨头表现出大量空骨陷窝和脂肪细胞、骨小梁变窄或断裂、骨髓腔内血细胞减少、可见大量坏死区等组织病理学改变;还可见股骨头塌陷、骨质减少、骨小梁稀疏等影像学改变,骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁模式因子、骨小梁数量、骨密度等骨计量学参数降低而骨小梁分离度升高,血清 BGP 和 CT 含量也显著降低;与模型组比较,补肾方中、高剂量组能明显改善大鼠股骨头组织病理学改变程度,补肾方高、中、低剂量组均显著抑制骨坏死程度,中、高剂量组还显著升高血清 BGP 和 CT 的含量($P < 0.05$, $P < 0.01$);健骨生丸组的作用与补肾方中剂量组的作用相当。结论:补肾方组能明显改善 SONFH 大鼠股骨头组织病理学和影像学改变,增加血清中 BGP 及 CT 的含量,这一促进骨修复的作用可能是其防治激素引起的股骨头骨坏死的机制之一。

[关键词] 激素性股骨头坏死; 补肾方; 骨组织形态; 骨计量; 骨钙素; 降钙素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)01-0088-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016010088

Bone Repair Effect of Bushen Formula on Rats with Steroid-induced Osteonecrosis of Femoral Head

WANG Hui^{1,2}, LIU Chun-fang², JIANG Yi-ni², CHEN Wei-heng³, LIN Na^{2*}

(1. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the bone repair effect of Bushen formula on rats with steroid-induced osteonecrosis of the femoral head (SONFH). **Method:** Male Wistar rats were randomly divided them into 6 groups: control group, model group, high-dose Bushen formula, mid-dose Bushen, low-dose Bushen groups, and Jiangusheng pills group. Then gluteal injection with methylprednisolone sodium succinate by 21 mg·kg⁻¹ into all rat groups except for control group, once a day, for 3 consecutive days was conducted to establish the model of SONFH. Since the fourth day, low-dose Bushen, Mid-dose Bushen, High-dose Bushen groups and Jiangusheng group were give 5.3, 10.6, 21.2 g·kg⁻¹ Bushen formula and 1.68 g·kg⁻¹ Jiangusheng pills respectively. Six weeks later, their blood and femoral head were collected to observe the histopathological changes of femoral head by HE staining. Micro-CT scanning was used to observe femoral bone morphogenetic changes and analyze the bone

[收稿日期] 20151004(003)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81173417, 81373656)

[第一作者] 王慧,在读硕士,从事中药药理研究, Tel: 010-64014411-2869, E-mail: jamlivon@163.com

[通讯作者] *林娜,博士生导师,研究员,从事中药药性理论和中药药理研究, Tel: 010-64014411-2869, E-mail: linna888@163.com

morphometry. Bone metabolism markers osteocalcin (bone gla-protein, BGP) and calcitonin (CT) content were detected by ELISA. **Result:** The femoral head of model group rats showed many histopathological changes, such as more empty lacunae, more fat cells, narrowed or broken bone trabecula, the bone marrow cavity cytopenia, massive necrosis zones. Besides, femoral head collapse, osteopenia, trabecular thinning and other imagological changes can also be observed. According to the bone metrological parameters, bone volume fraction, trabecular thickness, trabecular bone pattern factor, trabecular number and bone density decreased, but trabecular separation increased in model group rats. BGP and CT content in serum significantly reduced in model group rats. Compared with the model group, mid-dose and high-dose Bushen can significantly improve the pathological changes in femoral head of rats. The three dose Bushen groups showed significant inhibition of bone necrosis. Mid-dose and high-dose Bushen can remarkably increase BGP and CT content in serum. The Jiangusheng group had a similar effect with mid-dose Bushen group. **Conclusion:** Bushen formula can significantly improve the histopathological and imagological changes of rats with SONFH and increase BGP and CT content in serum. This effect in promoting bone repair may be one of its mechanisms of preventing steroid-induced femoral head osteonecrosis.

[**Key words**] steroid-induced osteonecrosis of the femoral head; Bushen formula; bone histomorphology; bone histomorphometry; bone gla-protein; calcitonin

激素性股骨头坏死 (steroid-induced osteonecrosis of the femoral head, SONFH) 是指因大剂量或长期使用激素而引起股骨头骨组织死亡的病理过程, 其中骨坏死和骨修复与重建相伴发生^[1]。中医将股骨头坏死归属于“骨痹”、“骨蚀”、“骨痿”范畴, 认为激素性股骨头坏死是药毒损肾蚀骨的结果, 患者多表现肾虚^[2], 常采用补肾生髓、舒筋活络等方法进行治疗, 取得一定疗效。补肾方具有补肾壮骨、活血通络功效, 是笔者治疗股骨头坏死的系列临床经验方之一^[3]。为了进一步了解其作用机制, 本研究拟采用大鼠臀肌注射大剂量激素以造成实验性 SONFH 模型的方法, 观察补肾方对股骨头坏死骨修复的影响, 为临床的合理应用提供实验参考。

1 材料

1.1 动物 雄性 Wistar 大鼠 120 只, SPF 级, 体重 300 ~ 320 g, 12 周龄, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 动物合格证号为 SCXK(军)2007-004。

1.2 药物及试剂 补肾方(中国中医科学院中药研究所提供, 制成浸膏, 干燥保存)由熟地黄 20 g, 山药 12 g, 山茱萸 12 g, 肉桂 6 g, 杜仲 10 g, 鹿角胶(烊化)20 g, 当归 10 g, 菟丝子 15 g, 狗脊 15 g 等组成; 健骨生丸(北京匡达制药厂, 国药准字 Z10970030), 注射用甲泼尼龙琥珀酸钠(methylprednisolone acetate, MPSL, 国药准字 H20080285, Pfizer Manufacturing Belgium NV), 水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司, 批号 T20080530), 兔骨钙素(BGP) ELISA 试剂盒(批号 20131001A)和兔降钙素(CT) ELISA 试剂盒(批号

20131001A)均购自苏州卡尔文生物科技有限公司。

1.3 仪器 SKYSCAN-1172 型微计算机断层扫描设备(德国 Bruker microCT 公司); BMJ-1 型生物组织包埋机, QPJ-C 型轮转式切片机, KPJ 型烤片机, ZPJ 型展片机(天津天利航空机电有限公司); BH-2 型光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 造模方法及分组 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为 6 组, 每组 20 只: 正常组、模型组、补肾方高、中、低剂量组和健骨生丸组。所有动物均给予标准化饮食并不限制其活动。除正常组外, 其他各组大鼠均参考文献并结合前期研究结果^[4-5], 采用单纯糖皮质激素肌注方法造模, 按 $21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 臀肌注射 MPSL, 每天 1 次, 连续 3 d。操作时将大鼠右腿屈起使肌肉集中便于进针, 所有动物统一从左侧臀大肌以 45 度角匀速注射。

2.2 给药 造模完后, 给药组分别 *ig* 给予补肾方 5.3, 10.6, 21.2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和健骨生丸 1.68 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的健骨生丸, 每天 1 次, 共 6 周。

2.3 股骨头组织病理学 给药 6 周后, 取双侧股骨头, 置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 ~ 72 h, 然后以 10% 的 EDTA-2Na 溶液脱钙, 梯度乙醇脱水, 常规石蜡包埋、切片, 切片厚度为 4 μm , 进行 HE 染色, 光镜下观察, 并进行半定量分析, 计算空骨陷窝率、脂肪细胞面积、以及脂肪细胞直径。计算方法如下, 空骨陷窝率: 在 100 倍放大倍率下, 在股骨头软骨下区 HE 染色的骨组织切片上任选 10 个视野, 每个视野计数 50 个骨陷窝, 分别数出空骨陷窝数, 求出空骨

陷窝所占的百分数;脂肪细胞面积:在 200 倍放大倍率下观察骨髓腔内脂肪细胞,用 Motic Images plus 2.0 测量视野中所有脂肪细胞的面积,求平均数;脂肪细胞直径:在 200 倍放大倍率下观察骨髓腔内脂肪细胞,用 Motic Images plus 2.0 测量视野中的所有脂肪细胞最大直径,求平均数。

2.4 股骨头 Micro-CT 扫描 取大鼠股骨头,4% 多聚甲醛固定;采用 Micro-CT 对样品扫描,扫描参数如下:二值化阈值 72 ~ 255,电压 75 千伏,电流 133 mA,兴趣区域 6.88 μm \times 6.88 μm ;用 CTA nV1.1.13 软件进行三维重建,并进行骨体积分数(BV/TV),骨小梁厚度(Tb.Th),骨小梁模式因子(Tb.Pf),骨小梁数量(Tb.N),骨密度(BMD)和骨小梁分离度(Tb.Sp)等骨计量参数分析。

2.5 血清 BGP 和 CT 含量检测 给药 6 周大鼠静脉取血,离心,取血清。ELISA 检测各组动物血清中 BGP 和 CT 的含量。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 版统计软件,所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析对数据进行分析处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

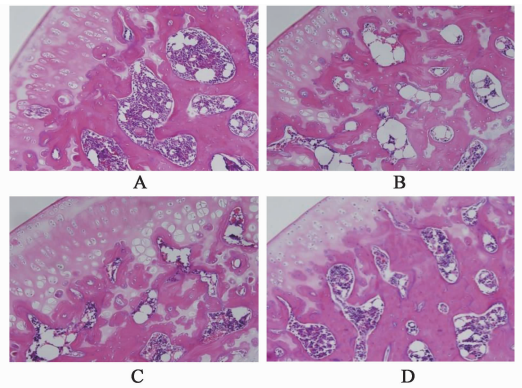
3 结果

3.1 对 SONFH 大鼠股骨头组织病理改变的影响

正常组大鼠股骨头软骨细胞排列规则整齐;骨小梁宽度正常,周围可见成骨细胞和少量破骨细胞;骨细胞内空骨陷窝和核固缩较少;骨髓腔内各种血细胞丰富,未见坏死区,脂肪细胞未见增多和变大。模型组大鼠股骨头部分软骨细胞呈簇状肥大,排列不整齐,骨小梁变窄或断裂,骨细胞内可见大量空骨陷窝和核固缩,骨髓腔内血细胞减少,可见大量坏死区,脂肪细胞明显增多变大;补肾方高剂量组大鼠股骨头软骨细胞规则尚整齐,骨小梁宽度较正常,未见明显断裂,骨细胞内有少量空骨陷窝,脂肪细胞面积和直径均明显低于模型组;补肾方中剂量组大鼠骨小梁宽度较正常,骨细胞内可见空骨陷窝,脂肪细胞数量稍增多变大;补肾方低剂量组软骨细胞排列不整齐,骨小梁变窄或断裂,骨细胞内可见空骨陷窝和核固缩,骨髓腔内血细胞减少,脂肪细胞增多变大;健骨生丸组大鼠股骨头软骨细胞规则尚整齐,骨小梁宽度较正常,未见明显断裂,骨细胞内有少量空骨陷窝,脂肪细胞面积和直径均明显低于模型组。见图 1。

3.2 对 SONFH 大鼠股骨头影像学改变的影响

3.2.1 Micro-CT 二维和三维重建形态观察 正常组股骨头外形完整,骨小梁结构致密、粗细均匀,骺



A. 正常组;B. 模型组;C. 补肾方高剂量组;D. 健骨生丸组

图 1 补肾方对 SONFH 大鼠股骨头组织病理改变的影响(HE, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of Bushen formula on histopathological changes in femoral head of SONFH rats(HE, $\times 200$)

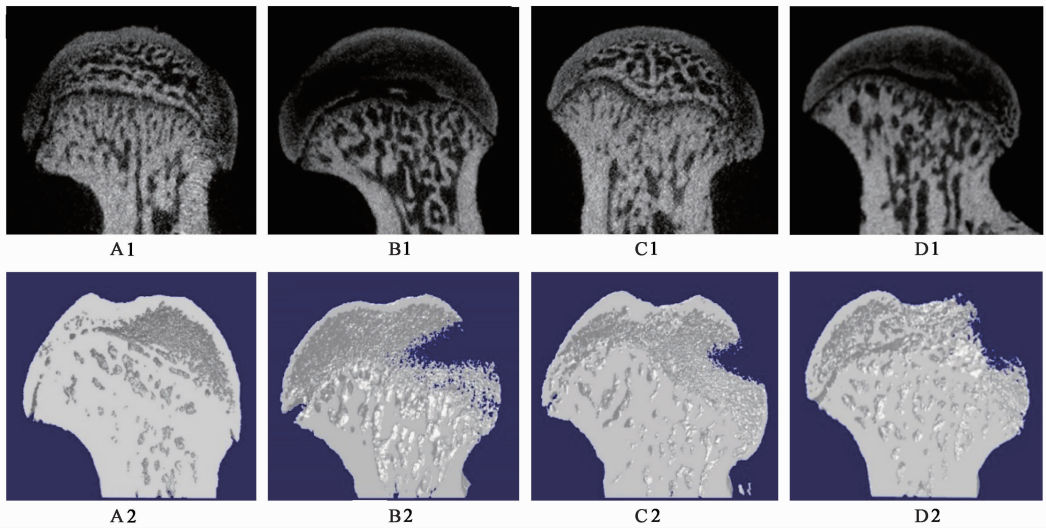
板上区域骨质较多;模型组股骨头外形有塌陷,骨小梁结构明显疏松,粗细不均,骺板上区域骨质明显较少;补肾方高剂量组骨小梁结构比模型组致密、增粗,股骨头外形完整,骺板上区域骨质增多;补肾方中剂量组股骨头外形无塌陷,骨小梁结构较均匀,骺板上区域骨质较模型组增多;补肾方低剂量组股骨头外形可见塌陷,骨小梁结构稍疏松,骺板上区域骨质较少;健骨生丸组股骨头外形较完整,骨小梁结构尚致密,较模型组增粗,骺板上区域骨质增多。见图 2。

3.2.2 股骨头骨计量学参数分析 与正常组比较,模型组 BV/TV, Tb.Th, Tb.Pf, Tb.N 和 BMD 均显著降低($P < 0.01$)而 Tb.Sp 显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,补肾方 3 个剂量组和健骨生丸组均显著升高 BV/TV, Tb.Th, Tb.Pf, Tb.N, BMD ($P < 0.05$)并降低 Tb.Sp($P < 0.01$),且健骨生丸组与补肾方中剂量组作用相当。见表 1。

3.3 对 SONFH 大鼠血清骨形成标志物 BGP 和 CT 含量的影响 采用 ELISA 检测血清骨形成标志物。与正常组比较,模型组 BGP 和 CT 含量均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,补肾方中、高剂量组 BGP 和 CT 含量均显著升高($P < 0.05$),健骨生丸组作用与补肾方中剂量组相当。见表 2。

4 讨论

激素性股骨头坏死病程长、致残率高,已成为骨伤科治疗的疑难重症。激素性股骨头坏死的发病机制目前尚不清楚,但激素对骨细胞的毒性学说^[6]被广泛接受。该学说认为激素可促进破骨细胞活性和成骨细胞、骨细胞凋亡,成骨细胞生成减少,骨髓



A1 ~ D1. 二维图; A2 ~ D2. 三维图; A1, A2. 正常组; B1, B2. 模型组; C1, C2. 补肾方高剂量组; D1, D2. 健骨生丸组

图 2 补肾方对 SONFH 大鼠股骨头影像学改变的影响 (micro CT)

Fig. 2 Effect Bushen formula on imageological changes in femoral head of SONFH rats (micro CT)

表 1 补肾方对 SONFH 大鼠股骨头 BV/TV, Tb. Th, Tb. Pf, Tb. N, BMD 和 Tb. Sp 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 1 Effect Bushen formula on bone volume fraction BV/TV, Tb. Th, Tb. Pf, Tb. N, BMD and Tb. Sp in femoral head of SONFH rats ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	BV/TV /%	Tb. Th /mm	Tb. Pf /mm ⁻¹	Tb. N /mm ⁻¹	BMD /g·mm ⁻³	Tb. Sp /mm
正常	-	85.3 ± 22.7	0.25 ± 0.07	41.3 ± 8.1	8.6 ± 1.9	727.9 ± 184.7	0.04 ± 0.01
模型	-	26.1 ± 7.3 ¹⁾	0.05 ± 0.02 ¹⁾	11.9 ± 3.5 ¹⁾	2.6 ± 1.3 ¹⁾	204.0 ± 56.2 ¹⁾	0.17 ± 0.03 ¹⁾
补肾方	5.3	51.3 ± 11.6 ²⁾	0.11 ± 0.02 ²⁾	17.4 ± 4.0 ²⁾	5.0 ± 1.2 ³⁾	394.5 ± 106.9 ³⁾	0.13 ± 0.02 ³⁾
	10.6	61.5 ± 12.4 ³⁾	0.15 ± 0.04 ³⁾	24.5 ± 5.4 ³⁾	5.7 ± 1.2 ³⁾	476.5 ± 106.9 ³⁾	0.10 ± 0.02 ³⁾
	21.2	79.1 ± 20.3 ³⁾	0.22 ± 0.05 ³⁾	34.3 ± 9.5 ³⁾	8.2 ± 2.1 ³⁾	624.4 ± 173.8 ³⁾	0.06 ± 0.01 ³⁾
健骨生丸	1.68	62.6 ± 20.5 ³⁾	0.17 ± 0.04 ³⁾	27.6 ± 7.1 ³⁾	7.0 ± 1.9 ³⁾	522.5 ± 93.3 ³⁾	0.09 ± 0.02 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ P < 0.01;与模型组比较²⁾ P < 0.05,³⁾ P < 0.01(表 2 同)。

表 2 补肾方对 SONFH 大鼠血清 BGP 和 CT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 2 Effect of Bushen formula on BGP and CT in SONFH rats ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	BGP/μg·L ⁻¹	CT/μg·L ⁻¹
正常	-	1.37 ± 0.37	1.54 ± 0.37
模型	-	0.46 ± 0.11 ¹⁾	0.57 ± 0.11 ¹⁾
补肾方	5.3	0.65 ± 0.17	0.77 ± 0.27
	10.6	0.87 ± 0.28 ²⁾	0.97 ± 0.28 ²⁾
	21.2	1.18 ± 0.31 ³⁾	1.38 ± 0.31 ³⁾
健骨生丸	1.68	0.84 ± 0.24 ²⁾	0.89 ± 0.24 ²⁾

内脂肪细胞大量增殖,骨细胞脂肪细胞变性,静脉回流受阻、骨内压升高,骨小梁变细、稀疏、萎缩,最终导致股骨头性坏死^[7]。因此,通过调节成骨细胞的骨形成和破骨细胞的骨吸收的动态平衡来维持骨的正常代谢和完整性以及骨的重建显得尤为重要,而促进骨修复已成为目前防治激素性股骨头坏死的主

要策略之一。

目前可用的实验性股骨头坏死动物模型有多种^[8],但造模方式各异,评价方法也未能统一。家兔是应用较多的动物种属,而大鼠的生理和药理特性与人类更相近,故也常被应用于 SONFH 的病因和发病机制研究。本实验通过注射大剂量 MPSSL 方法建立大鼠股骨头坏死动物模型。除了采用经典的 HE 染色法观察到造模大鼠股骨头骨小梁变窄或断裂、骨细胞内可见大量空骨陷窝和核固缩、骨髓腔内血细胞减少可见大量坏死区、脂肪细胞明显增多变大等组织病理学变化之外,笔者还采用微计算机断层扫描的方法^[9]观察模型大鼠股骨头的骨小梁形态,同时结合软件重建定量分析骨小梁参数,得到 BV/TV, Tb. Th, Tb. Pf, Tb. N 和 BMD 降低,而 Tb. Sp 升高的股骨头骨坏死特征参数,提示本实验所复制的激素性股骨头坏死大鼠模型成功。

中医认为激素性股骨头坏死的病机为“肾气亏虚,不能生髓长骨,同时肾气不足则无力推动气血运行,气血不行则血瘀阻闭经脉”^[10-13]。补肾方据此立法遣方而成,方中熟地黄、山药、山茱萸、杜仲、鹿角胶、菟丝子、狗脊温补肝肾、益精血、破瘀血、续筋骨,肉桂补火助阳、散寒止痛,当归补血活血止痛,全方共奏补肾壮骨、活血通络之功,以取治疗 SONFH 之效。笔者前期实验研究结果显示,补肾方能改善 SONFH 鸡的血脂、血黏度、凝血及纤溶功能^[14],但对股骨头坏死骨修复的作用如何尚没有直接证据。本实验中,采用大鼠 SONFH 模型,笔者观察到补肾方具有改善股骨头中空骨陷窝、脂肪细胞、骨小梁结构等异常组织病理形态,降低股骨头塌陷、骨质减少、骨小梁稀疏等影像学改变程度,升高 BV/TV, Tb. Th, Tb. Pf, Tb. N, BMD 和降低 Tb. Sp 等骨计量学参数,提示该方具有一定的促进 SONFH 骨修复作用。

激素对骨形成代谢的影响,是通过促进成骨细胞和骨细胞凋亡、促进破骨细胞活性而实现的,这一过程受到多种因子的调控。其中,由成骨细胞产生和分泌、具有骨代谢调节激素作用的因子 BGP,能促进成骨细胞的合成,维持骨的正常矿化速率,抑制生长软骨矿化的速度^[15];其在血清中的浓度可特异性反映成骨细胞的活性,是骨形成功能的良好标志^[16]。而 CT 既能直接抑制破骨细胞的活性,减少骨骼中的钙和磷流失到血液中,从而促进骨生长,同时又能增加成骨细胞碱性磷酸酶的活性,抑制成骨细胞和骨细胞凋亡,促进成骨的形成和矿化过程。BGP 和 CT 作为骨形成的二种标志物,其血清含量的测定具有无创、特异、敏感、准确等特点,从而受到医学界的广泛认可^[17]。本研究结果提示补肾方能促进 SONFH 大鼠血清中 BGP 和 CT 的含量,这可能对改善激素所引起的股骨头骨组织形态异常改变起到有效的作用,其对骨修复方面的影响趋势与笔者前期在鸡 SONFH 模型上所观察到的实验结果相符^[18]。

综上,本研究通过 SONFH 大鼠模型提供了补肾方组明显改善坏死股骨头的组织病理学和影像学、促进血清骨形成标志物含量的实验证据,相关研究结果提示了补肾方促进骨修复的作用可能是其防治激素引起的股骨头坏死的机制之一。

[参考文献]

[1] 史风雷,陈峰,郑志永. 激素性骨坏死的发病机制及中医药防治[J]. 现代中西医结合杂志, 2002, 11(15):1519-1521.
[2] 赵万军,肖鲁伟,周辉,等. 激素性股骨头坏死中医病机学实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2005, 13

(2):23-27.

[3] 陈卫衡,刘道兵,张强,等. SARS 后股骨头坏死的证候特点及治疗方案优化研究(下)[J]. 中国中医药现代远程教育, 2006, 4(11): 54-57.
[4] 暴淑英,赵庆国,毕黎琦. 激素性股骨头坏死早期细胞凋亡相关基因表达及阿仑磷酸钠的干预[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(46):9095-9099.
[5] Jiang Y N, Zhang Y Q, Zhang H J, et al. Pravastatin prevents steroid-induced osteonecrosis in rats by suppressing PPARc expression and activating Wnt signaling pathway[J]. Exp Biol Med, 2014, 239(3): 347-355.
[6] Cui Q J. The otto aufranc award. Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis[J]. Clin Orthop, 1997, 344:8-19.
[7] 邵光湘. 股骨头缺血性坏死[M]. 石家庄:河北科学技术出版社,1998:41.
[8] 周磊,翁习生. 激素性股骨头坏死动物模型的选择与应用[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(21): 2155-2158.
[9] Boussein M L, Boyd S K, Christiansen B A, et al. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography [J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(7): 1468-1486.
[10] 康鹏德,裴福兴,沈彬,等. 钻孔减压自体松质骨打压植骨结合同种异体腓骨棒植入治疗早期股骨头坏死的近期疗效观察[J]. 中华关节外科杂志:电子版, 2012, 6(2):184-191.
[11] 周文娟,姚菊英,陈海燕,等. 髓心减压联合脱钙骨基质植入治疗早期股骨头坏死的围手术期护理[J]. 中国临床护理, 2012, 4(2):137-138, 140.
[12] 夏炳江,童培建,肖鲁伟,等. 大鼠激素性股骨头坏死肾阳虚型病证结合模型构建与评价的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 33(2):301-304, 454.
[13] 田雷,王坤正,党晓谦,等. 阿魏酸钠对兔激素性股骨头坏死早期的干预作用及对骨细胞凋亡的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2011, 32(2): 220-225, 266.
[14] 王荣田,林诗富,万蓉,等. 不同治法方药对激素性股骨头坏死鸡血脂、血粘度、凝血及纤溶功能的影响[J]. 中医正骨, 2013, 25(3):21-30.
[15] Kusec V. Osteocalcin: biochemical consideration and clinical application[J]. Lijec Vjesn, 2005, 127(5/6): 139-145.
[16] 杨俊兴,方斌,徐传毅,等. 通络生骨胶囊对激素性股骨头坏死大鼠骨钙素、降钙素与骨密度的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(1):41-43.
[17] 李岩,李跃华. 劲骨坚颗粒对骨代谢指标的影响[J]. 吉林中医药, 2013, 33(3):265-266.
[18] 万蓉,李莉,孔祥英,等. 不同治法方药对激素性股骨头坏死鸡股骨头 OPG, RANKL mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8):161-165.

[责任编辑 周冰冰]