

地黄饮子水煎剂对去势骨质疏松大鼠骨强度和股骨病理形态结构的影响

颜春鲁^{1,2*}, 安方玉^{1,2}, 刘永琦^{1,2}, 宋敏¹, 陈丽¹, 马正民¹, 牛彦强¹

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究省级重点实验室, 兰州 730000)

[摘要] 目的:研究地黄饮子水煎剂对去势大鼠骨强度和骨病理形态结构的影响,进一步探讨其作用机制。方法:采用去卵巢法制备大鼠骨质疏松症模型,将大鼠随机分为假手术组,模型组,地黄饮子水煎剂低、中、高剂量组,西药组(戊酸雌二醇片),每组 10 只,分别予相应药物灌胃 4 周,股动脉采血处死大鼠。观察大鼠的一般状况,称量体重,比色分析法检测血清钙 (calcium, Ca), 磷 (phosphorus, P) 含量,酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清骨钙素 (osteocalcin, BGP) 含量和抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate resistant acid phosphatase, trACP) 含量,双能 X 射线吸收测量仪平台上测定右股骨部位骨密度 (bone mineral density, BMD),用 AG-IX 生物力学万能实验机检测股骨最大载荷,定位-伸长位移及苏木素-伊红 (HE) 染色法观察股骨的病理形态学变化。结果:与假手术组比较,模型组大鼠 BMD, Ca, P, BGP, 最大载荷,定伸长-位移均显著降低 ($P < 0.05$),而模型组大鼠体重和 trACP 的含量及地黄饮子水煎剂各干预组大鼠体重则显著增加 ($P < 0.05$),同时模型组骨小梁结构不完整、丢失、断裂严重。与模型组相比,地黄饮子水煎剂各干预组大鼠 BMD, BGP, Ca, 最大载荷,定伸长-位移均显著升高 ($P < 0.05$),其高、中剂量组大鼠 P 含量显著升高,而其高剂量组大鼠体重和 trACP 的含量则显著降低 ($P < 0.05$),并且地黄饮子水煎剂高剂量组骨小梁排列规则,数目增多、增宽。结论:地黄饮子能够提高绝经后骨质疏松大鼠的骨密度,促进骨形成、抑制骨吸收,对绝经后骨代谢异常具有积极的防治作用。

[关键词] 地黄饮子水煎剂; 去势大鼠; 骨强度; 钙 (Ca), 磷 (P) 代谢

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)24-0148-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017240148

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170926.1050.026.html>

[网络出版时间] 2017-09-26 10:50

Effect of Dihuang Yinzi Decoction on Bone Strength and Femur Pathological Morphology in Rats by Ovariectomy

YAN Chun-lu^{1,2*}, AN Fang-yu^{1,2}, LIU Yong-qi^{1,2}, SONG Min¹,
CHEN Li¹, MA Zheng-min¹, NIU Yan-qiang¹

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Lanzhou 730000, China;
2. Provincial-Level Key Laboratory for Molecular Medicine of Major Diseases and Study on Prevention and Treatment of TCM, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Dihuang Yinzi decoction on bone strength and femur pathological morphology of ovariectomized rats, to further explore its mechanism. **Method:** Cutting off ovaris on both sides made rat model of osteoporosis, all animals were randomly separated into sham operation group, model control group, Dihuang Yinzi decoction high, medium, low dose group, western medicine control group (estradiol

[收稿日期] 20170722(001)

[基金项目] 甘肃省高等学校科研项目(2015A-097);甘肃中医药大学教学研究与教学改革项目(ZH-201606);甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究重点实验室开放基金项目(FZYK15-16-7)

[通讯作者] * 颜春鲁, 硕士, 副教授, 从事中药抗骨病的分子生物学机制研究, Tel:13893303982, E-mail:yanchl1979@126.com

valerate tablets), with 10 rats in each group. The rats were gavaged with corresponding drugs for 4 weeks. And weight method was monitor the weight body of each rats. The general statu of the rats was evaluated, the contents of Ca and P was used to check by colorimetric analysis, the contents of BGP and trACP were used to check by ELISA, bone mineral density (BMD) was used to obtain data by X ray dual energy absorptiometer, maximum load and fixed elongation displacement was used to obtain data by AG-IX biomechanical universal testing machine, the morphological changes of the femur was used to observe by HE staining. **Result:** Compared with those of sham operation group, the BMD, Ca, P, BGP, maximum load and fixed elongation displacement were all decreased obviously ($P < 0.05$), but the weight body and trACP activity were both markedly increased ($P < 0.05$), as well as, trabecular bone structure was incomplete, missing and broken seriously. Compared with those of model control group, the BMD, Ca, P, BGP, maximum load and fixed elongation displacement were all raised sharply in dihuangyinzi decoction treatment group, the P content was increased sharply in dihuangyinzi decoction high, middle dose group ($P < 0.05$), but the weight body and trACP activity were both significantly slowed in Dihuang Yinzi decoction high dose group ($P < 0.05$), meantime, bone trabecula was arranged regularly, bone trabecula was increased in number and width in Dihuang Yinzi decoction high dose group. **Conclusion:** Dihuang Yinzi could improve bone density and inhibit bone formation, reduce bone absorption in rats with postmenopausal osteoporosis, and lead to a positive effect on the treatment of postmenopausal abnormal bone metabolism.

[**Key words**] Dihuang Yinzi decoction; ovariectomized rats; bone strength; calcium and phosphorus metabolism

绝经后骨质疏松症 (PMOP) 是由于妇女绝经后, 卵巢功能逐步减退引起雌激素分泌减少导致骨量减少、骨组织微结构退化、骨形成障碍的一类全身性骨骼性疾病, 临床表现主要以各类疼痛、骨折为主^[1-2]。西药治疗主要包括骨吸收抑制剂 (雌激素)、骨形成和骨矿化促进剂 (分别为维生素 K 和维生素 D) 等。但这些药物长期服用会引发一系列毒副作用, 如阴道出血、血栓形成、冠心病、子宫内膜癌及乳腺癌等, 寻找安全、低毒、有效的药物成为防治骨质疏松的关注焦点。

骨质疏松属于中医的“骨痹”或“骨痿”范畴。中医理论认为“肾主骨生髓”, 故通过补肾方药来治疗 PMOP 可能有显著疗效。也有研究证实, 一些补肾中药具有良好的抗骨质疏松作用^[3-4]。地黄饮子水煎剂出自刘完素《素问宣明论方》, 为中医方剂中“滋肾阴补肾阳, 填精益髓”的经典代表方, 临床主要用于治疗神经系统疾病、内分泌系统疾病、循环系统疾病、男科疾病、老年疾病、皮肤病等, 对病机为肾精亏虚的不同系统疾病均有一定疗效^[5], 但是具体机制未明。骨质疏松症主要是由于肾虚髓减导致骨失所养, 其病在骨, 但因在肾, 故本方地黄饮子对骨质疏松症具有潜在的治疗作用。本实验通过观察地黄饮子水煎剂对去卵巢骨质疏松模型大鼠骨密度、生化代谢指标、生物力学参数变化及股骨病理形态学变化的影响, 以期为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雌性大鼠 60 只, 体重 (180 ± 20)g, 购自甘肃中医药大学科研实验动物饲养中心。合格证号 SCXK (甘) 2011-0001。实验动物的开展取得了甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准 (编号 2016-055)。

1.2 试剂 水合氯醛 (天津市光复精细化工研究所, 批号 20150105); 鼠抗酒石酸酸性磷酸酶 (trACP), 骨钙素 BGP 酶联免疫吸附 (ELISA) Kit 检测试剂盒 (上海源叶生物科技有限公司, 批号分别为 E20151102B, E20151201A); 钙 (Ca), 磷 (P) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号分别为 20151127, 20151204)。

1.3 仪器 iMark 型自动酶标分析仪 (美国 Bio-Rad 公司); FA2004N 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); T6 新悦型可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); ZY12306 型微量加样器 (Sciencifi 公司); TDZ5-WS 型医用离心机 (湖南平凡科技有限公司); 双能 X 射线骨密度仪 (美国 GE 公司); AG-IX 型生物力学万能实验机 (日本岛津公司)。

1.4 药物 地黄饮子由熟地黄 (焙) 12 g, 巴戟天 (去心) 15 g, 山茱萸 (炒) 15 g, 石斛 (去根) 15 g, 肉苁蓉 (酒浸, 切焙) 15 g, 附子 (炮裂, 去皮脐) 15 g, 五味子 (炒) 15 g, 肉桂 (去粗皮) 15 g, 茯苓 (去黑皮)

15 g, 麦冬(去心, 焙) 15 g, 菖蒲 15 g, 远志(去心) 15 g 等药组成。具体换算方法可以参考《中药药理实验方法学》, 地黄饮子人常用剂量是 $177 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, 换算成标准体重大鼠的剂量为 $177 \times 0.018 = 3.186 \text{ g}/\text{只}$, 按照大鼠的标准体重为 200 g, 则大鼠的剂量为 $3.186 \text{ g} \times 5 \approx 16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。换算成大鼠中剂量为 $177 \times 0.018 \times 5 \approx 16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 则地黄饮子高、中、低剂量分别为 32, 16, 8 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。常规水煎, 制成含生药 $1.593 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的药液; 戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司广州分公司, 国药准字 J20130009, 批号 156A); 青霉素(北制药股份有限公司, 国药准字 H13020657, 批号 F6042103)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 将 60 只 SPF 级 SD 雌性大鼠随机分为假手术组, 模型组, 戊酸雌二醇组, 地黄饮子水煎剂高、中、低剂量组, 每组 10 只。参照文献[6-8], 4% 水合氯醛($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉动物, 俯卧位, 备皮, 消毒手术区皮肤。沿背部后正中中线作一个 1.0~1.5 cm 的纵形切口乳白色发亮的脂肪团中找到棕黄色的卵巢, 结扎子宫角、摘除卵巢, 将伤口逐层缝合。假手术组大鼠只切卵巢附近脂肪组织。术后常规使用青霉素并注意术后保温。造模成功后给予药物干预, 戊酸雌二醇组给予雌激素戊酸雌二醇片($0.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)灌胃治疗, 假手术组和模型组大鼠给予等体积蒸馏水灌胃, 地黄饮子水煎剂治疗组按高、中、低剂量(32, 16, 8 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)灌胃治疗, 每日 1 次, 连续 4 周。

2.2 指标测定

2.2.1 动物一般状况观察 观察并记录各组大鼠体重, 精神状态, 毛发, 活动, 饮食饮水, 大小便等。

2.2.2 骨密度的测定 末次给药结束后, 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉各组动物后平置于双能 X 射线吸收测量仪平台上测定右股骨部位骨密度(BMD)。

2.2.3 血清生化指标 BGP, trACP, Ca, P 测定 末次给药后, 腹主动脉采血, 静置 2~3 h, 于转速 $1500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离血清。ELISA 法检测血清 BGP 和 trACP 的含量, 比色分析法检测血清 Ca, P 含量。BGP 和 trACP 的含量的测定是先要根据 BGP 和 trACP 的对照品绘制 BGP 和 trACP 的标准曲线, 依据标准曲线得出 BGP 和 trACP 的回归方程, BGP 的回归方程为 $y = 0.0867x - 0.0011$ ($R^2 = 0.9906$), trACP 的回归方程为 $y = 0.1487x + 0.0225$ ($R^2 = 0.9994$), 然后根据回归方程代入待测样品的吸光度(y)计算出待测样品的浓度(x), 即

为 BGP 和 trACP 的含量; Ca, P 含量测定是通过分光光度计测定空白管、标准管和测定管的吸光度 A, 根据公式计算法分别计算出待测样品的 Ca, P 含量, Ca 含量计算公式为 $\text{Ca} = (\text{测定管 } A - \text{空白管 } A) / (\text{标准管 } A - \text{空白管 } A) \times 1 \times 2.5$, P 含量计算公式为 $\text{P} = (\text{测定管 } A - \text{空白管 } A) / (\text{标准管 } A - \text{空白管 } A) \times 0.5 \times 5$ 。具体操作按试剂盒说明书进行。

2.2.4 骨生物力学检测 处死大鼠后取出完整股骨, 将其右侧股骨送至陆军总院, 用 AG-IX 生物力学万能实验机检测最大载荷和定位-伸长位移等相应指标。

2.2.5 苏木素-伊红(HE)染色观察骨形态学变化 动物处死后取完整股骨, 对左侧股骨脱钙处理并脱蜡至水, 蒸馏水 2~5 min, 苏木精 30 min, 1% 盐酸乙醇 20 s, 自来水冲洗。1% 伊红复染后蒸馏水冲洗 30 s。脱水、封片、镜检。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 21.0 分析软件, 将实验数据所得结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA), $P < 0.05$ 为具有显著性差异。

3 结果

3.1 对骨质疏松大鼠一般状态及体重的影响 与假手术组比较, 模型组、地黄饮子水煎剂高、中、低剂量组及戊酸雌二醇组大鼠皮毛欠光滑, 其他一般状况(精神状态、活动、饮食饮水、大小便)均未见明显异常。与模型组比较, 戊酸雌二醇组及地黄饮子水煎剂高、中、低剂量组精神状态、活动、饮食饮水、大小便均无差异。与假手术组比较, 模型组及给药组大鼠体重较假手术组均明显升高($P < 0.05$); 地黄饮子水煎剂高剂量组体重较模型组显著降低($P < 0.05$); 地黄饮子水煎剂中、低剂量组和戊酸雌二醇组体重较模型组降低, 但无显著差异。见表 1。

表 1 地黄饮子水煎剂对骨质疏松大鼠末次给药后体重, BMD 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Dihuang Yinzi decoction on body weight, BMD of last administration in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g	BMD/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$
假手术	-	173.20 ± 13.92	0.145 ± 0.004
模型	-	264.10 ± 28.61 ¹⁾	0.116 ± 0.007 ¹⁾
戊酸雌二醇	0.000 09	249.44 ± 26.64 ¹⁾	0.146 ± 0.006 ²⁾
地黄饮子水煎剂	32	241.89 ± 30.39 ^{1,2)}	0.139 ± 0.005 ²⁾
	16	253.80 ± 15.87 ¹⁾	0.130 ± 0.006 ²⁾
	8	256.00 ± 30.39 ¹⁾	0.123 ± 0.004 ²⁾

注: 与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2~3 同)。

3.2 对骨质疏松大鼠 BMD 的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠 BMD 显著降低($P < 0.05$); 与模型

组比较,地黄饮子水煎剂高、中、低剂量组和戊酸雌二醇组大鼠 BMD 含量均显著升高 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 对骨质疏松大鼠血清生化指标 BGP, trACP, Ca 和 P 的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清 BGP, Ca 和 P 含量均显著降低, trACP 含量显著升高

($P < 0.05$);与模型组比较,地黄饮子水煎剂高、中、低剂量组和戊酸雌二醇组大鼠血清 BGP 和 Ca 含量均显著升高,地黄饮子水煎剂高、中剂量组和戊酸雌二醇组大鼠血清 P 含量显著升高,地黄饮子水煎剂高剂量组大鼠血清 trACP 含量显著降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 地黄饮子水煎剂对骨质疏松大鼠 BGP, trACP, Ca 和 P 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Dihuang Yinzi decoction on contents of BGP, trACP, Ca and P in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	BGP/ $\mu g \cdot L^{-1}$	trACP/ $\mu g \cdot L^{-1}$	Ca/ $mmol \cdot L^{-1}$	P/ $mmol \cdot L^{-1}$
假手术	-	2.00 ± 0.20	0.46 ± 0.14	2.07 ± 0.07	0.30 ± 0.02
模型	-	1.04 ± 0.54 ¹⁾	1.38 ± 0.05 ¹⁾	0.92 ± 0.08 ¹⁾	0.10 ± 0.03 ¹⁾
戊酸雌二醇	0.000 09	1.65 ± 0.17 ²⁾	0.99 ± 0.18	1.89 ± 0.11 ²⁾	0.22 ± 0.03 ²⁾
地黄饮子水煎剂	32	1.86 ± 0.17 ²⁾	0.93 ± 0.11 ²⁾	1.98 ± 0.10 ²⁾	0.22 ± 0.17 ²⁾
	16	1.82 ± 0.33 ²⁾	1.01 ± 0.15	1.97 ± 0.05 ²⁾	0.17 ± 0.08 ²⁾
	8	1.55 ± 0.13 ²⁾	103 ± 0.07	1.84 ± 0.07 ²⁾	0.14 ± 0.04

3.4 对骨质疏松大鼠骨生物力学参数的影响 与假手术组比较,模型组大鼠股骨的结构力学参数如最大载荷、定位-伸长位移等均明显下降 ($P < 0.05$);与模型组比较,地黄饮子水煎剂高、中、低剂量组和戊酸雌二醇组可明显改善去卵巢模型大鼠最大载荷参数和定位-伸长位移参数 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 地黄饮子水煎剂对骨质疏松大鼠骨生物力学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

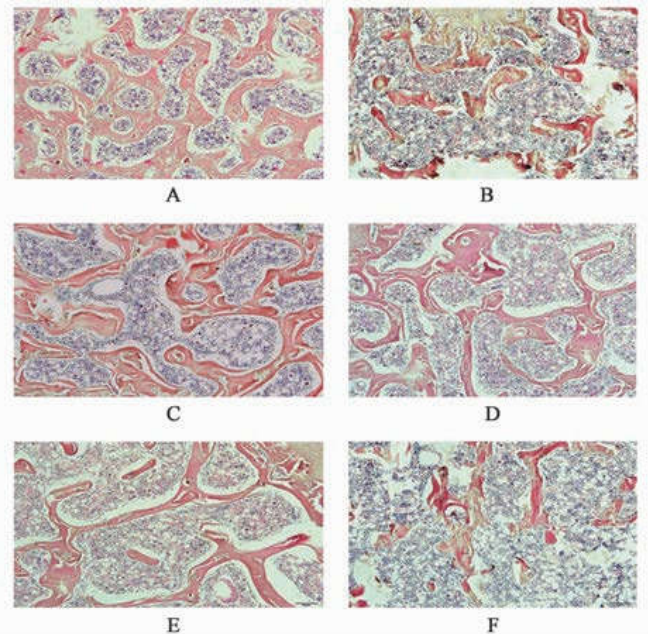
Table 3 Effect of Dihuang Yinzi decoction on biomechanics in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	最大载荷/N	定位-伸长位移/mPa
假手术	-	142.16 ± 0.10	1.45 ± 0.021
模型	-	86.26 ± 0.13 ¹⁾	0.17 ± 0.012 ¹⁾
戊酸雌二醇	0.000 09	126.43 ± 0.31 ²⁾	0.54 ± 0.014 ²⁾
地黄饮子水煎剂	32	120.29 ± 0.35 ²⁾	0.43 ± 0.011 ²⁾
	16	118.76 ± 0.51 ²⁾	0.34 ± 0.009 ²⁾
	8	102.04 ± 1.50 ²⁾	0.31 ± 0.005 ²⁾

3.5 对骨质疏松大鼠股骨骨形态学影响 假手术组大鼠骨小梁排列规则、均匀、完整并呈网状结构;模型组大鼠骨小梁数量明显减少,排列稀疏、不整齐,明显断裂;与模型组比较,地黄饮子水煎剂高、中剂量组和戊酸雌二醇组骨小梁数量增加,连接完整、排列较整齐、连续性好,尤以地黄饮子水煎剂高剂量组表现更突出。见图 1。

4 讨论

中医认为骨质疏松为“骨痿”、“骨痹”等证。《素问·痿论》中记载:“肾主身之骨髓……肾气热,则腰脊不举,骨枯而髓减,发为骨痿”;《景岳全书·



A. 假手术组; B. 模型组; C. 戊酸雌二醇组; D ~ F. 地黄饮子水煎剂高、中、低剂量组

图 1 地黄饮子水煎剂对骨质疏松大鼠股骨病理形态学的影响 (HE, $\times 100$)

Fig. 1 Effect of Dihuang Yinzi decoction on pathology of femur in ovariectomized rats (HE, $\times 100$)

痿论》中也记载:“肾者,水脏也,今水不胜火,则骨枯而髓虚,故足不能任身,发为骨痿。”因此,“肾虚”被中医学认为是骨质疏松症的根本病机,治疗的根本法则是调肾补肾^[9]。地黄饮子方中熟地黄、山茱萸滋补肾阴;巴戟天、肉苁蓉温补肾阳,共为君;麦冬、石斛、五味子以助滋阴敛液;附子、肉桂以助温养真元,摄纳浮阳,引火归原,共为臣药;菖蒲、远志、茯苓交通心肾,宣窍化痰。诸药合用,共奏滋阴助阳补肾、填精益髓之功效。

机体去卵巢后,会造成骨量增加受阻和骨生物力学发生改变。BMD 可以反映骨质量和骨强度,其可预测骨折危险性,有助于诊断骨质疏松^[10]。骨生物力学是全面评价骨评价治疗骨质疏松治疗药物对骨质量、骨量、骨结构和骨强度影响中最可靠的指标^[11]。在骨生物力学实验中,三点弯曲实验主要反映皮质骨的力学特性,压缩实验主要反映松质骨力学特性的体现^[12]。本研究结果说明地黄饮子通过增加股骨的 BMD,股骨的结构力学特性和材料力学特性而进一步增加骨质量和骨强度,降低骨质疏松骨折的风险。但是 BMD 不能反映骨小梁表面的重建情况^[13],股骨病理学改变恰能反映骨小梁表面的重建情况,骨量损失和骨骼结构的改变情况^[14]。本研究发现地黄饮子高剂量组骨小梁排列规则、数量明显增加,完整性、连续性明显好转,说明地黄饮子可以显著改善骨质疏松大鼠的股骨病理形态的改变。

另外,机体去卵巢后,在造成骨量增加受阻和骨生物力学发生改变的同时,骨形成小于骨吸收。骨钙素(BGP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(trACP)则是可以反映骨形成和骨转换的重要指标。BGP 是由成骨细胞合成和分泌的存在于骨组织中的一种肽类物质,是骨中非胶原蛋白的主要成分,其中有 20% 降解解释防入血,故血循环中 BGP 含量反映骨形成速率^[15]。TrACP 5b 是一种由破骨细胞分泌可反映骨细胞活性和骨吸收状态同工酶,闭经妇女由于激素分泌减少引起破骨细胞功能增强,使 trACP 5b 分泌增多^[16]。另有研究也发现,闭经妇女的激素分泌减少会引起骨质中的 Ca, P 大量释放入血,导致血清 Ca, P 含量升高,骨密度降低^[17]。而地黄饮子水煎剂干预可以明显提高骨质疏松大鼠 BGP, Ca 和 P 含量,显著降低 trACP 含量,说明地黄饮子可能具有雌激素样的调节活性,可抑制 trACP 活性升高而改善骨质高转化状态,提高 BGP 含量来促进骨形成,促进 Ca, P 含量升高而提高骨密度,从而抑制骨吸收。

由此可见,地黄饮子可能通过调节 Ca, P 代谢来提高骨密度,进一步提高骨质量,降低骨质疏松骨折发生的风险,或可能通过提高 BGP 含量,降低 trACP 活性来促进骨形成和抑制骨吸收,从而维持骨代谢的动态平衡,进一步发挥其抗骨质疏松作用,为中医的“肾主骨生髓”理论提供了实验依据。

[参考文献]

[1] Lewiecki E M. New targets for intervention in the treatment of postmenopausal osteoporosis [J]. Nat Rev

Rheumatol, 2011, 7(11): 631-638.
[2] CHANG S F, HONG C M, YANG R S. Global computer-assisted appraisal of osteoporosis risk in Asian women: an innovative study [J]. J Clin Nurs, 2011, 20(9/10): 1357-1364.
[3] 孙宁, 邓洋洋, 孙鑫, 等. 补肾、活血复方对骨质疏松症模型大鼠 VEGF 表达的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(9): 1096-1100.
[4] 刘爽, 张玉莲, 毕聪聪, 等. 补肾法中药对去卵巢大鼠骨质疏松骨代谢指标的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(3): 529-530.
[5] 范宇嘉, 柳广周, 谢宁. 地黄饮子的临床应用 [J]. 长春中医药大学学报, 2017, 33(2): 226-228.
[6] 巢传琦, 蔡君, 吕俊华. 补骨方对去卵巢大鼠骨质疏松的防治作用研究 [J]. 中药材, 2015, 38(4): 807-809.
[7] 王琳, 吴纪凯, 范淦彬, 等. 补骨制剂 II 对摘除卵巢大鼠骨质疏松的防治作用 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(6): 1633-1635.
[8] 王权, 毛颖, 马春晖, 等. 鹿骨粉治疗大鼠卵巢摘除后所致的骨质疏松 [J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(17): 2861-2864.
[9] 邢亚群, 王迪生, 王群, 等. 精骨补肾颗粒对地塞米松诱导骨质疏松大鼠的保护作用 [J]. 中成药, 2016, 38(6): 1221-1225.
[10] 赵丽丽, 秦文艳, 朱竟赫, 等. 补土益水汤对去卵巢大鼠骨质疏松影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(3): 20-22.
[11] 吴青云, 熊雪婷, 许碧莲, 等. 泼尼松对 II 型胶原诱导性关节炎大鼠股骨微结构及生物力学的影响 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(7): 1018-1022.
[12] 孙平, 胡伶平, 董群伟, 等. 复方贞术调脂胶囊对糖皮质激素诱导骨质疏松大鼠股骨和腰椎骨密度及生物力学特性的研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(2): 135-138.
[13] Hatori K, Camargos G V, Chatterjee M, et al. Single and combined effect of high-frequency loading and bisphosphonate treatment on the bone micro-architecture of ovariectomized rats [J]. Osteoporosis Int, 2015, 26(1): 303-313.
[14] 李凝旭, 涂艳, 沈莹, 等. 淫羊藿和女贞子提取物对骨质疏松症大鼠性激素功能水平的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(8): 1145-1149.
[15] 赵玉玺, 张彬, 湛梅圣, 等. 金天格胶囊对骨质疏松性骨折大鼠 BGP、TRAcP 表达的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(1): 1302-1306.
[16] 杨宏栋, 陈贵彬, 翁阳华, 等. 鲑鱼降钙素鼻喷剂治疗绝经后骨质疏松患者骨密度及骨转换指标的变化探讨 [J]. 北方药学, 2015, 12(6): 42-43.
[17] 许文胜, 张涛, 康文磊, 等. 石榴籽油对去卵巢大鼠骨质代谢的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 10(36): 4956-4958.

[责任编辑 邹晓翠]