

• 基础研究 •

经典骨质疏松症模型大鼠的肾虚证研究

许兵^{1,2#}, 刘慧^{1,2}, 金红婷^{1,2}, 方剑利^{1,2}, 肖鲁伟^{1,2}, 童培建^{2,3}

(1. 浙江中医药大学第一临床医学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省骨伤研究所, 浙江 杭州 310053; 3. 浙江省中医院, 浙江 杭州 310006)

【摘要】 目的:观察采用双侧卵巢切除术制备的骨质疏松症模型大鼠的一般情况、生理状态、脏器湿重及血清学指标,以验证绝经后骨质疏松模型大鼠的肾虚证表现,为中医药临床防治骨质疏松症采用补肾治本的原则提供一定的理论基础。**方法:**24 只雌性 SD 大鼠分为 3 组:模型组、假手术组和正常组。模型组麻醉后行双侧卵巢切除术,假手术组麻醉后行假手术处理,正常组进行麻醉处理。饲养 3 个月进行股骨的病理组织观察及骨密度检测,确认造模成功后进行大鼠的一般情况观察及生理状态的量化检测。麻醉下处死大鼠,用电子天平称垂体、肾、肾上腺和子宫的湿重,采用 ELISA 法进行 ACTH、E₂、T₃、T₄ 的血清学检测。**结果:**骨质疏松模型组大鼠出现体毛稀疏无光泽、畏寒倦卧、群聚角落、精神萎靡、眼睛黯淡、眼球运动慢、反应迟钝、活动迟缓、食欲下降、身体肥胖、嗜睡、大便略稀、小便清长等一系列肾虚证的表现;活动度、肛温及进食量均低于假手术组与正常组;血清 ACTH、E₂、T₃、T₄ 水平均低于假手术组与正常组;肾上腺、肾、子宫的湿重均低于假手术组与正常组。**结论:**采用经典的骨质疏松症造模方法即双侧卵巢切除术制备的骨质疏松症模型大鼠具有肾虚的器质性及功能性变化表现,骨质疏松症模型大鼠存在肾虚病机,具有肾虚的临床表现。

【关键词】 骨质疏松; 肾虚; 模型, 动物; 生理学

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2012.09.015

Research on osteoporosis model rats with kidney deficiency syndrome XU Bing, LIU Hui, JIN Hong-ting, FANG Jian-li, XIAO Lu-wei, TONG Pei-jian*. * Institute of Orthopaedic and Traumatology of Zhejiang, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT Objective:To observe general conditions, physiological condition, viscera wet weight and kidney asthenia serological index in osteoporosis model rats established by bilateral ovarian resection, and provide basis for treating osteoporosis by invigorating kidney. **Methods:** Twenty-four female SD rats were randomly divided into 3 groups as model group, sham group and normal group. After anesthesia, model group were treated by bilateral ovarian resection, sham group by sham operation, and normal group without any processing. Pathological tissue and bone mineral density (BMD) of femur was performed 3 months postoperatively. The general conditions and physiological conditions were processed after successfully modeling. Electronic balance was used to collect the weight of kidney, adrenal, pituitary, and uterus. Estrogen (E₂), Adrenocorticotrophic hormone (ACTH), Three typical thyroid original acid (T₃), Four typical thyroid original acid (T₄) were detected by ELISA. **Results:** Osteoporosis model appeared with syndromes of kidney deficiency, such as body hair without burnish, chills, cluster, sluggishness, eyes dark, eye movement slow, slow to respond to the delay, decreased appetite, activities slow, body fat, and drowsiness, defecate slightly thin and clear abundant urine. Mobility, anal temperature and food-intake were lower than normal and sham group; the level of ACTH, E₂, T₃, T₄ lower than sham and normal group; the weight of kidney, adrenal, pituitary, and uterus also lower than other two groups. **Conclusion:** Osteoporotic model rats, established by bilateral ovarian resection, have manifestation of organic and functional performance of kidney deficiency. Therefore, osteoporotic model rats have the pathogenesis of kidney asthenia and clinical manifestations of kidney deficiency.

KEYWORDS Osteoporosis; Kidney deficiency; Models, animal; Physiology

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2012, 25(9): 766-770 www.zggszz.com

基金项目: 卫生部科学研究基金(省部共建项目计划)(编号: WKJ2008-2-032); 浙江省中医药管理局(编号: 2009YA001); 浙江省中医药重点研究项目计划(编号: 2006Z003); 浙江省中药现代化专项项目[浙经信医化(2010)421 号]

Fund programs: The Scientific Research Funds of Ministry of Health (No. WKJ2008-2-032)

通讯作者: 童培建 Tel: 0571-86613684 E-mail: tongpeijian@163.com

现工作单位: 温州市中西医结合医院骨科, 浙江 温州 310053

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 主要是由于妇女绝经后雌激素水平下降导致骨量减少、骨的脆性增高及骨折危险性增加的一种全身性骨疾病。中医认为 PMOP 属于“骨萎”和“骨痹”的范畴,是由肾精亏虚、骨骼失养所致,属于本虚标实之证,以肾虚为其主要病机,因此绝经后骨质疏松症患者多有肾虚表现^[1]。本实验通过经典的骨质疏松症造模方法,即双侧卵巢切除术进行造模,

通过病理组织观察及骨密度确认造模成功, 然后观察模型大鼠的一般情况、生理状态、脏器湿重及常用肾虚血清学指标来评价经典的骨质疏松症模型大鼠的肾虚表现, 为临床采用补肾治本的原则提供一定的理论基础。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 健康清洁级 3 月龄雌性 SD 大鼠 24 只, 体重(200±20) g, 24 h 循环光照, 自由摄食饮水, 每个标准笼饲养 6 只。大鼠饲料为普通清洁饲料, 均由浙江中医药大学动物实验中心提供, 实验动物许可证号: SYXK(浙)2008-0115。

1.2 主要实验药品 10%水合氯醛(浙江省中医院提供, 浙药制字 H020100240); 15%盐酸溶液(浙江省骨伤研究所配置); 中性甲醛缓冲溶液(衢州巨化有限公司); 氯化钠注射液(百特公司生产); 注射用青霉素钠(华北制药生产)。

1.3 主要实验试剂与仪器 ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司生产); ELISA 自动检测仪(Thermo Scientific Varioskan Flash 光谱扫描多功能酶标仪); 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司 XS-205DU); 离心机(MiniSpin 德国 Eppendorf); 倒置显微镜(日本 OLYMPUS 公司); 组织脱水机(日本 VIP 5jr); 组织包埋机(德国美康公司 EC-350); LEICA RM2016 型切片机(德国 LEICA 公司); 组织学烘片机(德国美康公司 Drying Tables SW85)。代谢笼(浙江中医药大学动物中心设计); 电子体温计(上海华辰医用仪表有限公司 DT-1TB); 无创血压测定系统(上海奥尔科特生物技术有限公司 ALC-NIBP); 多功能大鼠自主活动记录仪(山东省医学科学院设备站 YLS-1B)。

1.4 绝经后骨质疏松模型的制备 所有实验动物适应性喂养 1 周后, 根据随机数字表分为模型组、假手术组和正常组, 每组 8 只。用 10%水合氯醛溶液 0.2 ml/100 g 大鼠腹腔内注射麻醉, 固定动物于手术台上。常规无菌操作, 从下腹部正中逐层切开皮肤、肌层, 进入腹腔。模型组大鼠行双侧卵巢切除术: 先结扎输卵管与伴行血管, 再切除卵巢, 同法处理对侧, 少量青霉素冲洗后逐层缝合切口。假手术组: 切除卵巢周围少量脂肪组织后少量青霉素冲洗, 逐层缝合切口。正常组仅进行麻醉处理。术后 3 d 预防感染, 每只大鼠每日臀肌注射青霉素 2 万 U/100 g。动物中心饲养 3 个月后随机每组选 1 只大鼠进行股骨病理切片观察, 确定造模成功, 模型制备完成。

1.5 观察项目与方法

1.5.1 一般项目观察 造模 3 个月后连续观察 3 d 3 组大鼠的生理活动表现, 注意观察大鼠的毛发稀疏度及色泽、眼神(眼球运动)、呼吸、睡眠、二便等。

1.5.2 一般生理表现检测 3 组大鼠造模 3 个月 后采用多功能大鼠自主活动记录仪进行自主活动度 检测, 即大鼠放置测量筒内静置 5 min, 然后连续记 录 15 min 内的活动度, 计算平均活动度。采用无创 血压测定系统测量大鼠尾部血压。采用电子体温计 测量大鼠的肛温, 连续 3 d 测量, 取平均值。采用代 谢笼每笼 1 只饲养, 定量大鼠饲料, 每 24 h 称取 1 次饲料重量, 连续 3 d 称取, 计算平均每日进食量。

1.5.3 血清学检测 造模 90 d 后在一般项目观察 及生理表现检测结束后, 将大鼠固定于动物手术台 上, 水合氯醛麻醉下心脏取血, 用 10 ml 注射器吸出 血液约 8 ml。将血液室温静置 2 h 后离心(3 000 r/min, 10 min), 分离得到血清。应用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 方法检测血清雌激素(E2)、促肾上腺皮质 激素(ACTH)、三碘甲腺原氨酸(T3)及四碘甲腺原 氨酸(T4)。具体操作根据 ELISA 试剂说明书进行。

1.5.4 称取脏器湿重 心脏取血后处死动物, 取出 大鼠垂体、肾、肾上腺及子宫, 利用电子天平进行称 重, 记录脏器湿重。

1.5.5 股骨骨密度及 HE 染色 取出右侧股骨, 剔 除附着于骨骼表面的肌肉等软组织。用生理盐水浸 透的纱布包裹后放入密封标本袋中, 放入-20℃冰 箱内保存, 采用双能 X 线骨密度测量仪检测得到 BMD 结果。再用 10%甲醛固定, 利用 15%盐酸溶液 进行常规脱钙。采用全自动脱水机脱水, 包埋机进行 常规石蜡包埋, 日产滑动式切片机切片, 进行 HE 染 色, 倒置显微镜下观察骨组织病理形态改变。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分 析, 计算各组数据的均值与标准差, 全部指标数据均 采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐性 采用 LSD 法, 方差不齐采用 Dunnett's T3 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察 模型组大鼠出现体毛稀疏无 光泽、畏寒倦卧、群聚角落、精神萎靡、眼睛黯淡、眼 球运动慢、反应迟钝、活动迟缓、食欲下降、身体肥 胖、嗜睡、大便略稀、小便清长等一系列肾虚的症状 表现; 正常组与假手术组大鼠体毛稠密光滑, 行动活 泼, 精神佳, 食欲可, 眼睛明亮、眼角干燥、反应尚可, 二便正常。

2.2 一般生理状态检测 结果见表 1。模型组大鼠 的活动度、肛温及进食量均低于假手术组与正常组, 假手术组与正常组间差异无统计学意义。模型组大 鼠的血压与假手术组及正常组比较差异无统计学意义。

2.3 血清学检测 结果见表 2。模型组大鼠的血清 E₂、ACTH、T₃、T₄ 水平均低于假手术组与正常组, 假

手术组与正常组比较差异无统计学意义。

2.4 脏器湿重检测 结果见表 3。模型组大鼠的肾上腺、肾、子宫的湿重均低于假手术组与正常组,假手术组与正常组比较差异无统计学意义。模型组大鼠的垂体湿重与假手术组、正常组比较差异无统计学意义。

2.5 股骨骨密度(BMD)检测 股骨 BMD 检测结果:正常组(0.116 3±0.020 7) g/cm²,假手术组(0.105 6±0.019 7) g/cm²,模型组(0.087 3±0.016 2)g/cm²。模型组与正常组比较,P=0.001;与假手术组比较,P=0.028。正常组与假手术组比较,P=0.196。模型组大鼠的右侧股骨 BMD 低于假手术组与正常组,假手术组与正常组差异无统计学意义。

2.6 HE 染色股骨病理组织形态观察 HE 染色观察股骨病理组织形态可以看出模型组大鼠的骨小梁变细、变薄,形态结构性差,有扭曲或断裂,小梁间间隙增大(图 1)。假手术组与正常组大鼠的骨小梁粗壮、饱满,壁较厚,形态结构完整,排列紧密有序呈网

状,密度、面积正常,间隙较小(图 2-3)。

3 讨论

绝经后骨质疏松是女性绝经后骨重建加快,骨的基本多细胞单位将遭受破坏的骨迅速移除而变为负骨平衡,使骨质丢失,骨小梁变薄,连接性丧失;皮质骨亦变薄,孔隙增多所引发的,它是以雌激素下降引起的以单位体积内骨组织量减少为特点的骨量减少、骨的脆性增高及骨折危险性增加的一种全身性代谢性骨疾病^[2]。

3.1 骨质疏松症模型的选择 为了深入研究骨质疏松症的发病机制、研制防治新药,选择和建立一个科学、合理的骨质疏松动物模型对实验研究成果的科学性具有重大意义^[3]。本实验采用的动物模型是通过将雌性大鼠双侧卵巢切除来模拟动物卵巢功能缺陷导致骨质疏松症的活体模型,已证实该方法是研究 PMOP 的病理发展过程的经典模型^[4]。

3.2 骨质疏松症模型的确认 骨的病理组织形态学观察是对骨质疏松的骨组织最直接客观的观察手

表 1 各组大鼠的活动度、肛温及进食量比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.1 Comparison of activity, anal temperature and food-intake of rats among 3 groups($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数(只)	活动度(次/min)	肛温(°C)	进食量(g)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)
正常组	7	229.63±19.48	36.29±0.35	22.96±1.12	133.68±2.54	100.90±7.08
假手术组	7	215.50±13.66 ^{a1}	36.24±10.32 ^{a2}	22.43±1.70 ^{a3}	131.13±5.16 ^{a4}	99.52±6.75 ^{a5}
模型组	7	161.75±36.49 ^{b1c1}	35.44±0.25 ^{b2c2}	15.06±0.97 ^{b3c3}	130.04±5.55 ^{b4c4}	97.53±9.70 ^{b5c5}

注:与正常组比较,^{a1}P=0.274,^{b1}P=0.000;^{a2}P=0.766,^{b2}P=0.000;^{a3}P=0.425,^{b3}P=0.000;^{a4}P=0.283,^{b4}P=0.130;^{a5}P=0.732,^{b5}P=0.406。与假手术组比较,^{c1}P=0.000,^{c2}P=0.000,^{c3}P=0.000,^{c4}P=0.641,^{c5}P=0.622

Note:Compared with normal group,^{a1}P=0.274,^{b1}P=0.000;^{a2}P=0.766,^{b2}P=0.000;^{a3}P=0.425,^{b3}P=0.000;^{a4}P=0.283,^{b4}P=0.130;^{a5}P=0.732,^{b5}P=0.406。Compared with sham group,^{c1}P=0.000,^{c2}P=0.000,^{c3}P=0.000,^{c4}P=0.641,^{c5}P=0.622

表 2 各组大鼠的血清 E₂、ACTH、T₃、T₄ 检测结果($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Results of detection of E₂,ACTH,T₃,T₄ of rats among 3 groups($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数(只)	ACTH (pg/ml)	E ₂ (pmol/L)	T ₃ (nmol/L)	T ₄ (nmol/L)
正常组	7	110.09±4.66	84.05±4.55	22.82±2.08	18.75±2.64
假手术组	7	107.15±8.65 ^{a1}	82.91±1.63 ^{a2}	22.53±1.05 ^{a3}	18.38±0.77 ^{a4}
模型组	7	97.46±3.29 ^{b1c1}	70.98±1.75 ^{b2c2}	18.97±1.67 ^{b3c3}	14.14±2.9 ^{b4c4}

注:与正常组比较,^{a1}P=0.337,^{b1}P=0.000;^{a2}P=0.453,^{b2}P=0.000;^{a3}P=0.732,^{b3}P=0.000;^{a4}P=0.750,^{b4}P=0.0001。与假手术组比较,^{c1}P=0.004,^{c2}P=0.000,^{c3}P=0.000,^{c4}P=0.001

Note:Compared with normal group,^{a1}P=0.337,^{b1}P=0.000;^{a2}P=0.453,^{b2}P=0.000;^{a3}P=0.732,^{b3}P=0.000;^{a4}P=0.750,^{b4}P=0.0001。Compared with sham group,^{c1}P=0.004,^{c2}P=0.000,^{c3}P=0.000,^{c4}P=0.001

表 3 各组大鼠的脏器湿重比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparison of organic wet weight of rats among 3 groups($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数(只)	垂体(g)	肾上腺(g)	肾(g)	子宫(g)
正常组	7	0.005 0±20.002 1	0.088 87±20.015 60	1.694 0±0.116 7	2.152 9±0.179 2
假手术组	7	0.005 0±0.002 8 ^{a1}	0.087 83±0.016 50 ^{a2}	1.636 3±0.049 8 ^{a3}	2.121 5±0.168 5 ^{a4}
模型组	7	0.002 9±0.000 0 ^{b1c1}	10.066 53±0.013 50 ^{b2c2}	1.429 5±0.087 5 ^{b3c3}	0.378 8±0.076 3 ^{b4c4}

注:与正常组比较,^{a1}P=1.000,^{b1}P=0.059;^{a2}P=0.892,^{b2}P=0.008;^{a3}P=0.208,^{b3}P=0.000;^{a4}P=0.678,^{b4}P=0.000。与假手术组比较,^{c1}P=0.059,^{c2}P=0.011,^{c3}P=0.000,^{c4}P=0.000

Note:Compared with normal group,^{a1}P=1.000,^{b1}P=0.059;^{a2}P=0.892,^{b2}P=0.008;^{a3}P=0.208,^{b3}P=0.000;^{a4}P=0.678,^{b4}P=0.000。Compared with sham group,^{c1}P=0.059,^{c2}P=0.011,^{c3}P=0.000,^{c4}P=0.000

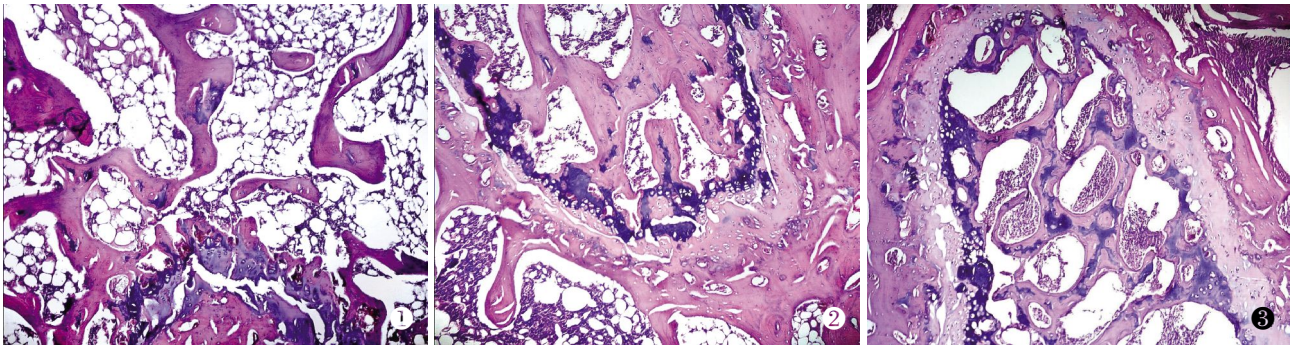


图 1 模型组大鼠股骨骨小梁变细、变薄,形态结构性差,有扭曲或断裂,小梁间间隙增大 图 2 假手术组大鼠股骨骨小梁粗壮、饱满,壁较厚,形态结构完整,排列紧密有序呈网状,密度、面积正常,间隙较小 图 3 正常组大鼠股骨骨小梁粗壮,无变薄,壁较厚,排列整齐并连接成网,密度、面积正常,间隙较小

Fig.1 Trabecular bone became thin, sparse, structural difference, distorted or broken and gap between trabecular bone increased in model group Fig.2 Trabecular bone became thick, plump, thick-walled, structural integrity, tightly packed orderly reticular, normal density and area, narrow gap in sham group Fig.3 Trabecular bone showed thick, no thin, thick-walled, neatly arranged and connected into a network, normal area and gap in normal group

段,能够客观地反映骨质疏松的病理组织状况。BMD能够反映出骨量的情况,是骨质疏松程度的评判标准,WHO以BMD评判作为骨质疏松的诊断标准,临床诊断骨质疏松的金标准^[5]。本实验通过病理组织观察发现模型组大鼠骨小梁变细、变薄,形态结构性差,有扭曲或断裂,小梁间间隙增大,并且模型组大鼠骨密度低于正常组与假手术组,因此确认造模成功。

3.3 骨质疏松症模型的肾虚辨证 中医认为骨质疏松属于“骨萎”“骨痹”范畴,其病因病机主要为肾虚^[6]。2002年出版的《中药新药治疗肾阳虚证的临床研究指导原则》中明确肾阳虚的中医辨证为“主症:腰膝酸痛,畏寒肢冷,性欲减退,舌质胖大,苔白,脉沉。次症:精神不振,夜尿频多,下肢浮肿,气短而喘,大便溏,脱发。”

本实验对大鼠一般情况的观察发现模型组大鼠出现一系列肾虚表现,进一步对大鼠的一般生理状态进行了量化研究,发现模型组大鼠的活动度、肛温及进食量均低于假手术组与正常组,表明绝经后骨质疏松症模型大鼠出现了生理机能状态下降的肾虚的临床表现,具有肾虚的病机。

3.4 骨质疏松症模型的现代医学研究 近年来随着对“肾主骨藏精”的中医理论不断研究,发现“肾”是机体进行骨代谢的内环境。机体的生长发育、生殖及各个脏腑生理功能发挥与维持,无不依赖肾中之“精”。肾虚的实质是多器官多系统功能失调与低下的病理生理学变化,主要与下丘脑-垂体-靶腺(肾上腺、性腺、甲状腺)功能改变有关^[7-9]。

3.4.1 肾虚与下丘脑-垂体-肾上腺轴 肾虚会出现下丘脑-垂体-肾上腺轴的不同环节、不同程度的功能紊乱或抑制,ACTH是HPA轴的重要激素,它

的变化反应了该轴的功能状态。研究表明肾阳虚时会出现ACTH含量的降低,并出现形态萎缩,表现为垂体、肾上腺重量减轻^[10-11]。

3.4.2 肾虚与下丘脑-垂体-甲状腺轴 肾虚还存在下丘脑-垂体-甲状腺轴的不同程度的功能紊乱。研究表明肾阳虚会出现甲状腺功能降低,T₃、T₄低于正常,并且随着肾虚的程度而逐渐下降^[12-13]。

3.4.3 肾虚与下丘脑-垂体-性腺轴 现代研究表明中医学的肾-天癸-冲-胞宫与现代医学的下丘脑-垂体-性腺轴有一定的相似性,E₂的变化是肾虚证有效的检测指标^[14-15]。

因此,下丘脑-垂体-靶腺(肾上腺、性腺、甲状腺)轴的生理改变及反映这几个轴功能的关键激素ACTH、T₃、T₄及E₂都可以作为肾虚的特异性指标来进行观察^[16-18]。本实验通过对下丘脑-垂体-靶腺轴的脏器进行湿重称重,发现模型组大鼠的脏器出现了萎缩,重量减轻,结果显示肾上腺、肾、子宫的湿重模型组均低于假手术组与正常组。同时采用ELISA方法检测大鼠的下丘脑-垂体-靶腺轴的血清,发现模型组大鼠血清E₂、ACTH、T₃、T₄水平低于假手术组与正常组,表明绝经后骨质疏松症模型大鼠出现了与肾虚本质相关的下丘脑-垂体-靶腺轴的脏器的萎缩、激素的下降、功能及生理机能的降低。因此,从现代医学研究可以说明骨质疏松模型大鼠的发病具有肾虚的器质性和功能性改变,存在肾虚的病机。

综上所述,本实验发现采用经典的骨质疏松症造模方法,即双侧卵巢切除术制备的骨质疏松症模型大鼠具有肾虚的器质性及功能性的变化表现,出现了生理机能的下降,具有肾虚的临床表现。说明骨质疏松症模型大鼠存在肾虚的病机,为解释绝经后

骨质疏松症患者的临床症状提供了理论与实验基础,为中医临床采用补肾治本的原则治疗绝经后骨质疏松症提供了一定的理论根据,更为以后进一步的采用现代医学研究中药防治骨质疏松症的新药开发奠定了一定的理论和实验基础。

参考文献

- [1] 钱小燕. 肾虚与老年性骨质疏松症[J]. 中国骨伤, 2000, 13(7): 435-436.
Qian XY. Kidney empty and senile osteoporosis[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2000, 13(7): 435-436. Chinese with abstract in English.
- [2] Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis[J]. Lancet, 2006, 367(9257): 2010-2018.
- [3] 吕音, 杨玉彬. 绝经后骨质疏松大鼠模型文献回顾及实验初探[J]. 现代医院, 2010, 10(5): 21-22.
Lü Y, Yang YB. Postmenopausal osteoporosis rat model literature review and experimental research[J]. Xian Dai Yi Yuan, 2010, 10(5): 21-22. Chinese.
- [4] 富灵杰, 汤亭亭, 戴魁戎. 骨质疏松动物模型的建立和应用[J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25(2): 270-272.
Fu LJ, Tang TT, Dai KR. Osteoporosis animal model and application[J]. Zhonghua Shi Yan Wai Ke Za Zhi, 2008, 25(2): 270-272. Chinese.
- [5] World Health Organization. Assessment of fracture risks and its application to screening for postmenopausal osteoporosis[S]. WHO Technical Report Series 843. Geneva: WHO, 1994.
- [6] 邹本贵, 刘宏奇. 骨质疏松症的中医病因病机的理论基础[J]. 中国骨伤, 2002, 15(3): 160-161.
Zou BG, Liu HQ. Osteoporosis Chinese medicine etiology theoretical basis[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2002, 15(3): 160-161. Chinese with abstract in English.
- [7] 李恩, 薛延, 王洪复, 等. 骨质疏松鉴别诊断与治疗[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 4.
Li E, Xue Y, Wang HF, et al. The differential diagnosis and treatment of osteoporosis[M]. Beijing: People's Medical Press House, 2005: 4. Chinese.
- [8] 金珉廷, 郑洪新. 中医肾藏精髓主骨理论与骨质疏松症[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(3): 35-36.
Jin MT, Zheng HX. Traditional Chinese medicine give birth to the marrow of renal hid the bone theory and osteoporosis[J]. Liao Ning Zhong Yi Yao Da Xue Xue Bao, 2009, 11(3): 35-36. Chinese.
- [9] 彭成. 氢化可的松阳虚动物模型的反思[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(2): 55-57.
Peng C. Cortisol Yang reflection of animal models[J]. Zhongguo Zhong Yi Ji Chu Yi Xue Za Zhi, 1998, 4(2): 55-57. Chinese.
- [10] 沈自尹. 有关证与神经内分泌免疫网络的研究[J]. 中华中医药学刊, 2003, 21(1): 10-14.
Shen ZY. The card and neuroendocrine immune network research [J]. Zhonghua Zhong Yi Yao Xue Kan, 2003, 21(1): 10-14. Chinese.
- [11] 郑小伟, 宋红, 李荣群. 金匮肾气丸对肾虚大鼠 ACTH 影响的实验研究[J]. 中国医药学报, 2003, 18(5): 280-282.
Zheng XW, Song H, Li RQ. Effect of Jingui Shenqi pill on ACTH in Shen-Yang deficiency rats[J]. Zhongguo Yi Yao Xue Bao, 2003, 18(5): 280-282. Chinese.
- [12] 王建红, 伍庆华, 刘海云, 等. 肾虚大鼠垂体-甲状腺轴功能动态分析[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 26(3): 751-752.
Wang JH, Wu QH, Liu HY, et al. Kidney Yang rats pituitary-thyroid shaft function dynamic analysis[J]. Liao Ning Zhong Yi Za Zhi, 2006, 26(3): 751-752. Chinese.
- [13] 林燕萍, 李咏高, 王和鸣, 等. 健骨颗粒对骨质疏松大鼠垂体-甲状腺轴的影响[J]. 中国骨伤, 2002, 15(3): 154-156.
Lin YP, Li YG, Wang HM, et al. Effect of Jiangu granula on the pituitary-thyroid axis of ovariectomized rats[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2002, 15(3): 154-156. Chinese with abstract in English.
- [14] 赵蓉, 陈大蓉. 更年期妇女中医辨证分型与雌二醇、卵泡刺激素及黄体生成激素相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(2): 171-173.
Zhao R, Chen DR. A research on the correlativity between syndrome differentiation and E2, FSH, LH of climacteric women[J]. Zhonghua Zhong Yi Yao Za Zhi, 2008, 23(2): 171-173. Chinese.
- [15] 何成奇, 谢薇, 熊素芳, 等. 女性原发性骨质疏松肾虚三证与性激素变化关系的临床研究[J]. 华西医学, 2003, 18(1): 2-14.
He CQ, Xie W, Xiong SF, et al. Clinical study on relationship between sexual hormones and three types of kidney deficiency in female patients with primary osteoporosis[J]. Hua Xi Yi Xue, 2003, 18(1): 2-14. Chinese.
- [16] 李广曦. 肾虚证动物模型的造模方法及其相关指标回顾[J]. 中国中医基础医学杂志, 2000, 6(4): 256-263.
Li GX. Kidney Yang card animal models building model method and its related index review[J]. Zhongguo Zhong Yi Ji Chu Yi Xue Za Zhi, 2000, 6(4): 256-263. Chinese.
- [17] 俞瑾. 肾主生殖与生命网络研究中的启示[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(6): 409.
Yu J. The kidneys and life network in the study of reproductive enlightenment[J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2000, 20(6): 409. Chinese.
- [18] 陈英华, 欧阳轶强, 孙琪, 等. 肾虚证动物模型规范化研究中诊断指标选择的初步探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(10): 26-30.
Chen YH, Ouyang YQ, Sun Q, et al. Kidney Yang the study of standardization of syndrome diagnosis animal model of index selection preliminary study[J]. Zhongguo Zhong Yi Ji Chu Yi Xue Za Zhi, 2003, 9(10): 26-30. Chinese.

(收稿日期: 2011-12-27 本文编辑: 连智华)