

· 论著 ·

藤黄健骨胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠骨密度和骨代谢的影响

颜春鲁^{1,2} 李盛华^{1*} 郭爱军³ 安方玉^{1,2} 刘永琦^{1,2} 宋敏¹ 陈丽¹ 王鹏¹ 马正民¹ 牛彦强¹

1. 甘肃中医药大学,甘肃 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,甘肃 兰州 730000

3. 兰州理工大学,甘肃 兰州 730000

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 01-0005-06

摘要: 目的 研究藤黄健骨胶囊对骨质疏松大鼠骨密度和骨代谢的影响。方法 采用去卵巢法制备大鼠骨质疏松症模型,灌胃藤黄健骨胶囊干预,灌胃1个月取材。称重法检测各组大鼠的体重,酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒检测血清骨钙素(osteocalcin, BGP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, trACP)含量;双能X线吸收测量仪测量获得骨密度(bone mineral density, BMD);AG-IX生物力学万能实验机检测最大载荷和断裂载荷;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,模型组大鼠体重明显升高,血清抗酒石酸酸性磷酸酶明显升高($P < 0.05$);而模型组大鼠血清骨钙素明显降低,骨密度明显减少,最大载荷和断裂载荷明显减少($P < 0.05$);模型组骨小梁结构不完整、丢失、断裂严重。与模型组相比,藤黄健骨胶囊组大鼠血清骨钙素的含量和抗酒石酸酸性磷酸酶的活性得到纠正($P < 0.05$),股骨的骨微观参数骨密度均得到了良好地修复,骨生物力学参数中最大载荷、断裂载荷得到了明显修复($P < 0.05$),骨小梁排列规则,数目增多、增宽。结论 藤黄健骨胶囊能够修复去卵巢骨质疏松症大鼠股骨微观结构破坏和股骨生物力学性能的下降,提示藤黄健骨胶囊具有良好的抗骨质疏松作用。

关键词: 藤黄健骨胶囊;骨质疏松;骨密度;骨代谢

Effect of gamboge strong-bone capsule on bone mineral density and bone metabolism in ovariectomized rats

YAN Chunlu^{1,2}, LI Shenghua^{1*}, GUO Aijun³, AN Fangyu^{1,2}, LIU Yongqi^{1,2}, SONG Min¹, CHEN Li¹, WANG Peng¹, MA Zhengmin¹, LIU Yanqiang¹

1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu, China

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

3. Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730000, Gansu, China

* Corresponding author: LI Shenghua, Email: lishenghua0619@126.com

Abstract: Objective To explore the effect of gamboge strong-bone capsule on bone mineral density (BMD) and bone metabolism in osteoporotic rats. **Methods** Rats were ovariectomized to establish the osteoporosis model. Gamboge strong-bone capsule was used for intervention. The samples were harvested in one month. The body weight of rats in each group was measured. BGP and trACP were measured using ELISA method. BMD was examined with dual energy X ray absorptiometer. The maximum load and fracture load were determined with AG-IX biomechanical universal testing machine. The morphological changes of the femur were observed with HE staining. **Results** Compared with those in the sham group, the weight and trACP content raised obviously in the model rats ($P < 0.05$). In model rats, BGP and BMD reduced significantly ($P < 0.05$), the maximum load and

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大实验室开放基金(FZYX15-16-7)

* 通讯作者: 李盛华, Email: lishenghua0619@126.com

fracture load declined ($P < 0.05$), and the trabecular bone structure was incomplete, missing, and broken seriously. Compared with those in the model group, BGP and trACP were corrected in gamboge strong-bone capsule group, trabecular microstructure was well repaired, the maximum strength and break strength significantly improved, bone trabecula was arranged regularly, and bone trabecula increased in number and width ($P < 0.05$). **Conclusion** Gamboge strong-bone capsule greatly improves the trabecular microstructure and the biomechanical properties of the femur in osteoporotic rat model. It may have great potential in the prevention of osteoporosis.

Key words: Gamboge strong-bone capsule; Osteoporosis; Bone mineral density; Bone metabolism

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以低骨量和骨组织微结构破坏为特征,导致骨脆性增加和易于骨折的慢性代谢性骨病,起病比较隐匿^[1]。寻找骨质疏松的防治方法成为医学界关注的焦点。根据中医学“肾主骨生髓”的理论,参照藤黄健骨胶囊的方剂组成(熟地黄、鹿衔草、骨碎补、肉苁蓉、淫角藿、鸡血藤、莱菔子),我们推测藤黄健骨胶囊的补肾强骨活血作用有可能影响骨质疏松模型大鼠的骨代谢。鉴于此,我们采用去卵巢法建立骨质疏松大鼠模型,通过观察其骨代谢生化指标,骨质微结构及骨密度等指标的变化,揭示藤黄健骨胶囊防治骨质疏松的作用机制,为藤黄健骨胶囊的临床应用和后续开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

60只SPF级SD雌性大鼠,体重(180±20)g,由甘肃中医药大学科研实验动物中心提供。实验动物质量合格证编号:SCXK(甘)2011-0001。

1.1.2 主要试剂

水合氯醛(天津市光复精细化工研究所,批号:20150105);Rat trACP ELISA Kit检测试剂盒(上海源叶生物科技有限公司,批号:E20151102B);Rat BGP ELISA Kit检测试剂盒(上海源叶生物科技有限公司,批号:E20151201A)。

1.1.3 主要仪器

iMark型自动酶标分析仪(美国Bio-Rad公司);FA2004 N型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);ZY12306型微量加样器(Sciencific产品);T6新悦-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);TDZ5-WS型医用离心机(湖南平凡科技有限公司);双能X骨密度仪(GE公司,美国);AG-IX生物力学万能实验机(岛津公司,日本)。

1.2 方法

1.2.1 实验药物及给药剂量

藤黄健骨胶囊(甘肃省西峰制药有限责任公司,国药准字Z20123001,批号:503010),人的临床用量为:2g/d,按照人与大鼠的体表面积换算法:2g×0.018×5≈0.18g/kg,作为中剂量。则藤黄健骨胶囊高、中、低剂量分别为0.36、0.18、0.09g/kg;西药对照组药物为戊酸雌二醇片(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(华北制药股份有限公司,国药准字:H13020657,批号:F6042103)。

1.2.2 动物分组、造模及给药

参考文献^[2],4%水合氯醛(3mg/kg)腹腔注射麻醉动物体重,俯卧位,备皮,消毒手术区皮肤。沿背部后正中中线作一1.0-1.5cm的纵形切口乳白色发亮的脂肪团中找到棕黄色的卵巢,沿子宫角处结扎并切除卵巢,逐层缝合伤口。假手术组大鼠只切除卵巢周围脂肪,其含量与卵巢重量一致。术后给予青霉素抗感染,大鼠术后注意保温。造模成功12w后,将SPF级SD雌性大鼠随机分为5组,分别为假手术组、模型组、西药对照组(戊酸雌二醇片组)、藤黄健骨胶囊高剂量组、中剂量组、低剂量组,每组10只,另设假手术组10只。给予药物干预,西药对照组给予雌激素戊酸雌二醇片(0.09mg/kg)灌胃治疗,藤黄健骨胶囊药物干预组按高、中、低剂量(0.36、0.18、0.09g/kg)灌胃治疗,假手术组和模型组大鼠给予等体积蒸馏水灌胃,每日1次,连续4周^[3,4]。

1.2.3 指标测定

(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)骨代谢相关血清生化指标测定:末次给药后,腹主动脉采血,静置2-3h,1500rpm/min,离心10min,分离血清。检测各组动物血清骨钙素(osteocalcin, BGP),抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, trACP)等指标。具体操作按试剂盒说明书进行。

(3)骨密度的测定:末次给药结束后,10%水合氯醛腹腔注射麻醉各组动物,四肢展开平置于双能

X线吸收测量仪平台上,通过计算机系统中小动物软件测定右股骨部位骨密度(bone mineral density, BMD)。

(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断裂载荷等相应指标。

(5)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20sec,自来水冲洗。1%伊红复染后蒸馏水冲洗30sec。脱水、封片、镜检。

1.3 数据分析

采用SPSS 17.0统计软件分析,实验数据结果用“均数±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示,采用单因素方差分析(One-Way-Anova), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状态及体重结果

与假手术组比较,模型组及各干预组大鼠皮毛欠光滑,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。与模型组对比,西药对照组及藤黄健骨胶囊各干预组精神状态、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均明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,藤黄健骨胶囊高剂量组体重显著降低($P < 0.05$);藤黄健骨胶囊低、中剂量组和西药对照组体重较模型组降低,但无显著差异。见表1。

表1 藤黄健骨胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠末次给药后体重的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of gamboge strong-bone capsule on the weight of ovariectomized rats after the last drug given ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重(g)
假手术组	10	173.20 ± 13.92
模型组	10	264.10 ± 28.61 [#]
西药对照组	10	249.44 ± 26.64 [#]
藤黄健骨胶囊高剂量组	10	236.50 ± 26.02 ^{**}
藤黄健骨胶囊中剂量组	10	249.70 ± 21.76 [#]
藤黄健骨胶囊低剂量组	10	246.11 ± 22.17 [#]

注:与假手术组比较,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

2.2 对骨代谢相关血清生化指标的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清BGP含量显著降低,trACP含量显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,藤黄健骨胶囊各干预组和西药对照组血清BGP含量均显著升高,藤黄健骨胶囊高剂量组血清trACP含量明显降低($P < 0.05$)。见表2。

表2 藤黄健骨胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠血清生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of gamboge strong-bone capsule on the serum biochemical indices in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BGP(ng/mL)	trACP(ng/mL)
假手术组	10	2.00 ± 0.20	0.46 ± 0.14
模型组	10	1.04 ± 0.54 [#]	1.38 ± 0.05 [#]
西药对照组	10	1.65 ± 0.17 [*]	0.99 ± 0.18
藤黄健骨胶囊高剂量组	10	2.00 ± 0.19 [*]	0.65 ± 0.10 [*]
藤黄健骨胶囊中剂量组	10	1.89 ± 0.21 [*]	0.82 ± 0.24
藤黄健骨胶囊低剂量组	10	1.72 ± 0.17 [*]	0.90 ± 0.05

注:与假手术组比较,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

2.3 对骨密度的影响

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,藤黄健骨胶囊各干预组和西药对照组BMD均显著升高($P < 0.05$)。见表3。

表3 藤黄健骨胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠骨密度的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of gamboge strong-bone capsule on bone mineral density in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BMD
假手术组	10	0.145 ± 0.004
模型组	10	0.116 ± 0.007 [#]
西药对照组	10	0.146 ± 0.006 [*]
藤黄健骨胶囊高剂量组	10	0.145 ± 0.003 [*]
藤黄健骨胶囊中剂量组	10	0.133 ± 0.004 [*]
藤黄健骨胶囊低剂量组	10	0.126 ± 0.005 [*]

注:与假手术组比较,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

2.4 对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、断裂载荷等均明显下降($P < 0.05$);藤黄健骨胶囊各干预组和西药对照组可明显改善去卵巢大鼠断裂载荷参数,藤黄健骨胶囊中、高剂量组和西药对照组可明显改善去卵巢大鼠最大载荷参数($P < 0.05$)。见表4。

表4 藤黄健骨胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠骨生物力学的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of gamboge strong-bone capsule on biomechanical properties of the femur in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	最大载荷	断裂载荷
假手术组	10	142.16 ± 0.10	142.17 ± 0.15
模型组	10	86.26 ± 0.13 [#]	86.22 ± 0.09 [#]
西药对照组	10	126.43 ± 0.31 [*]	122.17 ± 0.14 [*]
藤黄健骨胶囊高剂量组	10	117.56 ± 2.15 [*]	116.53 ± 1.45 [*]
藤黄健骨胶囊中剂量组	10	100.88 ± 5.87 [*]	97.89 ± 1.75 [*]
藤黄健骨胶囊低剂量组	10	94.27 ± 5.23	97.44 ± 1.51 [*]

注:与假手术组比较,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

2.5 股骨骨形态学影响

假手术组大鼠可见骨小梁排列规则、紧密、有序、结构完整、呈网状,密度、面积正常,骨小梁间隙较小;模型组大鼠可见骨小梁排列不规则,数量减少,结构稀疏,骨小梁丢失、断裂严重,骨小梁之间连

接点较少,分布稀疏凌乱,间距增大;藤黄健骨胶囊高剂量组和西药对照组大鼠骨小梁明显增粗,排列尚整齐并连接成网,部分区域骨小梁间隙略增大。见图1。

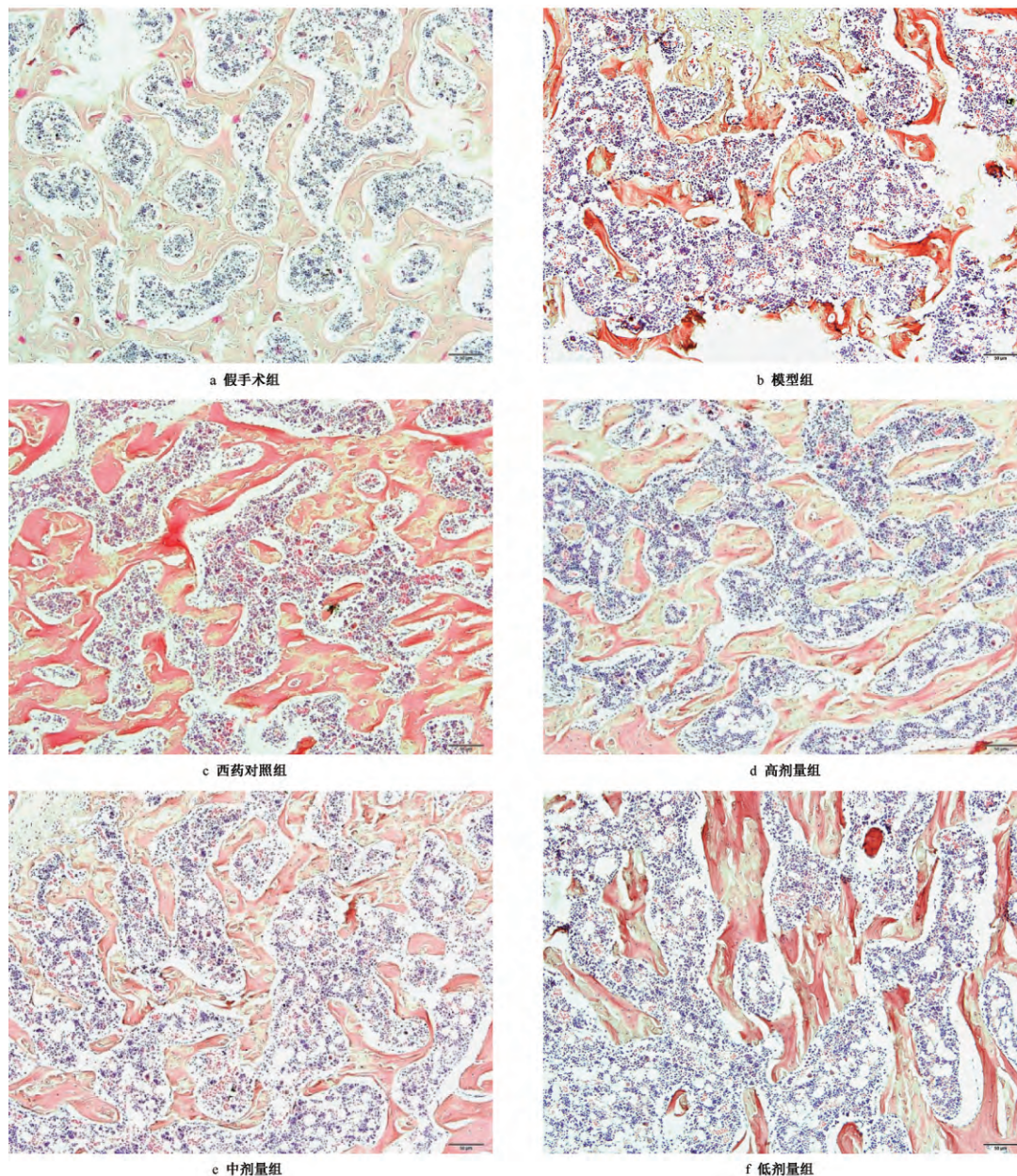


图1 股骨病理形态学变化(HE,100×)

Fig. 1 The pathomorphological changes of the femur (HE, 100 ×)

3 讨论

大多数骨质疏松症患者为绝经后女性,其特点是雌激素水平下降^[5]。目前,骨质疏松的经典治疗仍然选用激素替代疗法,西药戊酸雌二醇片是补充

或替代雌激素分泌不足的一种处方药,主要用于由自然或人工绝经导致的雌激素缺乏病,但长期使用雌激素易增加患者患乳腺癌、子宫出血、心血管系统疾病等疾病的风险^[6]。而中药治疗骨质疏松,具有安全、毒副作用小等优点^[7]。

中医将骨质疏松归属于“骨痿”“骨痹”等范畴。中医认为,肾为先天之本,主骨生髓,肾精亏虚,骨髓生化无源,骨骼失养,发生骨折,认为肾虚是造成骨病的主要原因^[8],故治则以补肾为主。方中熟地黄滋补肾阴,骨碎补、肉苁蓉和淫羊藿补肾助阳,鹿衔草和鸡血藤补肝肾、强筋骨。诸药合用,具有补肾、活血、止痛的功效。

骨代谢生化指标中的骨形成标志物和骨吸收标志物能够动态地反映骨代谢情况。骨钙素(BGP)主要由成骨细胞合成并分泌,在骨形成受到抑制时BGP会降低,是评价骨形成和骨转换率的特异性指标^[9]。抗酒石酸酸性磷酸酶(trACP)可由破骨细胞释放后进入血液循环,骨吸收活跃时trACP会升高,是反映骨吸收的特异性指标^[10]。本实验藤黄健骨胶囊各干预组和西药对照组血清BGP含量较模型组均显著升高,而藤黄健骨胶囊高剂量组血清StrACP含量较模型组显著降低,提示藤黄健骨胶囊可影响骨代谢,其机制是通过促进骨形成、增强骨转化,抑制骨吸收实现的。

骨组织骨量、结构、形状及内在的生物力学等指标对骨组织的强度起决定作用^[11]。骨密度(BMD)可以反映骨质量和骨强度,是一种可预测骨折危险性的敏感指标^[12]。本实验藤黄健骨胶囊各干预组和西药对照组BMD明显增加,提示藤黄健骨胶囊可有效降低骨质疏松症骨折的发生率,其机制可能是通过增加BMD实现的。骨生物力学主要是研究骨组织在外界作用下的力学性能和骨在受力后的所产生的生物学效应,是评价药物对骨质量的指标^[13],骨量的减少以及骨质内部结构的改变均能影响骨生物力学,可降低生物力学强度。本实验结果显示,藤黄健骨胶囊各干预组和西药对照组断裂载荷参数较模型组明显升高;与此同时,藤黄健骨胶囊中、高剂量组和西药对照组最大载荷参数较模型组也明显升高,提示藤黄健骨胶囊通过改善骨生物力学的性能来防治骨质疏松。

骨的病理形态学观察是反映骨质疏松的病理组织状况的客观指标^[3]。摘除女性卵巢后,骨的重建会加快,骨质丢失严重,骨小梁变薄,连接性中断、间隙变大,引发骨质疏松症。本实验结果显示,藤黄健骨胶囊高剂量组和西药对照组大鼠与模型组比较,骨小梁明显增粗,排列尚整齐并连接成网,部分区域骨小梁间隙略增大,说明藤黄健骨胶囊通过改善或修复骨组织的形态结构来防治骨质疏松。

总之,本实验通过体内动物实验证明了成年雌

性SD大鼠卵巢切除后,BMD、BGP、最大载荷和断裂载荷等指标均明显降低,TrACP含量明显升高,使骨吸收大于骨形成,造成骨代谢失衡,最终导致骨质疏松发生。而藤黄健骨胶囊具有类雌激素的作用,可以拮抗上述骨质疏松的相关指标来发挥保护骨组织的作用。该研究结果为藤黄健骨胶囊治疗骨质疏松的机制提供了理论依据。

【参 考 文 献】

- [1] 于琼,吕思敏,崔燎,等. 辅酶Q10对环磷酰胺大鼠股骨的显微结构和生物力学的影响. 中国药理学通报, 2015, 31(3): 421-425.
Yu Q, Lv SM, Cui L, et al. Preventive effects of CoQ10 on trabecular microstructure and biomechanical properties of femur in a rat model of cyclophosphamide-induced bone loss. Chinese Pharmacological Bulletin 2015, 31(3): 421-425.
- [2] 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. 中国妇幼保健, 2015, 30(17): 2861-2864.
Wang Q, Zhang H, Mu Q, et al. Treatment of osteoporosis by sika bone powder among rats after ovariectomy. Chin Matern Child Health Care 2015, 30(17): 2861-2864.
- [3] 柳占彪,樊官伟,王欢欢,等. 参竹精片对骨质疏松症模型大鼠胫骨密度及病理形态的影响. 中药药理与临床, 2017, 33(1): 131-134.
Liu ZB, Fan GW, Wang HH, et al. Effect of shenzujing tablets on bone mineral density and the pathologic morphology of tibia in osteoporosis rats. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica 2017, 33(1): 131-134.
- [4] 姜花,何成奇,欧禹萍,等. 鹿茸血酒对去势大鼠骨密度与T细胞亚群的影响. 华西医学, 2016, 31(2): 283-286.
Jiang H, He CQ, Ou YP, et al. Effects of pilose antler blood wine on bone mineral density and T-lymphocyte subsets in ovariectomized female rats. West China Medical Journal, 2016, 31(2): 283-286.
- [5] 王晓燕,常时新,李冠武,等. 经方青娥丸对去势大鼠骨质疏松作用机制的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(2): 729-731.
Hu J, Zhang H, Mu Q, et al. Experimental study on the effect of Qing'E Formula on postmenopausal osteoporosis in rats induced by ovariectomy. Chin J Osteoporos 2017, 23(2): 729-731.
- [6] Kim T, Ha H, Shim K S, et al. The anti-osteoporotic effect of Yijung-tang in an ovariectomized rat model mediated by inhibition of osteoclast differentiation. J Ethnopharmacol, 2013, 146(1): 83-89.
- [7] 乔伟伟,赵先哲. 骨质疏松动物模型研究进展和展望. 实验动物与比较医学, 2011, 31(1): 73-78.
Qiao WW, Zhao XZ. Progress and prospect of animal models of osteoporosis. Laboratory animals and comparative Medical Science 2011, 31(1): 73-78.

(下转第19页)

- in Heart Failure Patients. Clin Med Circ Respirat Pulm Med, 2009 2009(3):9-17.
- [19] Brull D, Dhamrait S, Myerson S, et al. Bradykinin B2BKR receptor polymorphism and left-ventricular growth response. Lancet 2001 358(9288):1155-1156.
- [20] 陈烁, 周利武, 张雷, 等. 缓激肽 B2 受体基因多态性对膝关节骨关节炎易感性的影响. 中国骨质疏松杂志, 2016 22(2): 139-144.
Chen S, Zhou L W, Zhang L, et al. The effect of BDKRB2 gene polymorphism on the risk of knee osteoarthritis. Chin J Osteoporos 2016 22(2):139-144. (in Chinese)
- [21] Chen S, Zhou Y, Li J, et al. The Effect of Bradykinin B2 Receptor Polymorphisms on the Susceptibility and Severity of Osteoarthritis in a Chinese Cohort. Journal of Biomedicine and Biotechnology 2012 2012:597637.
- [22] Wang H, Tian Y, Wang J, et al. Inflammatory cytokines induce NOTCH signaling in nucleus pulposus cells: implications in intervertebral disc degeneration. J Biol Chem 2013 288(23): 16761-16774.
- [23] 叶臻, 李民, 陈定家. 骨关节炎软骨下骨的微结构改变. 中国骨质疏松杂志 2016 22(5):624-627.
Ye Z, Li M, Chen D J, et al. Microstructural changes of the subchondral bone in osteoarthritis. Chin J Osteoporos, 2016 22(5):624-627. (in Chinese)
- [24] Bae J, Park K, Seon J, et al. Biomechanical analysis of the effects of medial meniscectomy on degenerative osteoarthritis. Medical and Biological Engineering and Computing 2012 50(1):53-60.
- [25] Schenker L, Mauck L, Ahn J, et al. Pathogenesis and prevention of posttraumatic osteoarthritis after intra-articular fracture. J Am Acad Orthop Surg 2014 22(1):20-28.
- [26] Obtulowicz K. Bradykinin-mediated angioedema. Pol Arch Med Wewn 2016 126(1-2):76-85.
- [27] Barros C C, Haro A, Russo F J, et al. Bradykinin inhibits hepatic gluconeogenesis in obese mice. Lab Invest, 2012 92(10):1419-1427.
- [28] Duka I, Shenouda S, Johns C, et al. Role of the B(2) receptor of bradykinin in insulin sensitivity. Hypertension, 2001 38(6):1355-1360.
- [29] Ali A M, Habeeb R A, El-Azizi N O, et al. Higher nitric oxide levels are associated with disease activity in Egyptian rheumatoid arthritis patients. Rev Bras Reumatol 2014 54(6):446-451.
- [30] Pham T N, Rahman P, Tobin Y M, et al. Elevated serum nitric oxide levels in patients with inflammatory arthritis associated with co-expression of inducible nitric oxide synthase and protein kinase C-eta in peripheral blood monocyte-derived macrophages. J Rheumatol 2003 30(12):2529-2534.
- [31] Abu E M M, Hanafi R S, El-Badawy S, et al. Interplay of vitamin D and nitric oxide in post-menopausal knee osteoarthritis. Aging Clin Exp Res 2014 26(4):363-368.
- [32] Meini S, Cucchi P, Catalani C, et al. Bradykinin and B(2) receptor antagonism in rat and human articular chondrocytes. Br J Pharmacol 2011 162(3):611-622.
- [33] Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, et al. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. Annals of the Rheumatic Diseases 2005 64(9):1263-1267.
- [34] Ma J X, Wang D Z, Ward D C, et al. Structure and chromosomal localization of the gene (BDKRB2) encoding human bradykinin B2 receptor. Genomics 1994 23(2):362-369.
- [35] Powell S J, Slynn G, Thomas C, et al. Human bradykinin B2 receptor: nucleotide sequence analysis and assignment to chromosome 14. Genomics 1993 15(2):435-438.

(收稿日期: 2017-05-22; 修回日期: 2017-09-21)

(上接第 9 页)

- [8] 戎堃, 刘彬丽, 李木子, 等. 中药防治骨质疏松的研究进展. 世界中医药 2013 8(12):1505-1507.
Rong K, Liu BL, Li MZ, et al. Research progress of Chinese medicine in prevention and treatment of osteoporosis. World traditional Chinese Medicine 2013 8(12):1505-1507.
- [9] 龙梓, 刘丹霞, 廖华卫, 等. 健骨片对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢、骨微结构及骨强度的影响. 中国实验方剂学杂志, 2016 22(9):116-121.
Long Z, Liu DX, Liao WH, et al. Effect of jiangsu tablets on bone metabolism, microarchitecture and stiffness in ovariectomized rat model. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2016 22(9):116-121.
- [10] 康学, 李翥, 张伟华, 等. 淫羊藿女贞子配伍对维甲酸致大鼠骨质疏松模型的影响研究. 中国中药杂志 2013 38(23):4124-4127.
Kang X, Li Zhan, Wei QY, et al. Effect of epimedii folium combined with ligustri lucidi fructus on osteoporosis model in rats. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013 38(23):4124-4127.
- [11] 李朵, 魏启幼. 骨微结构与骨质疏松性骨折. 中国骨质疏松杂志 2004 10(4):519-522.
Li D, Wei QY. Bone microstructure and osteoporotic fracture. Chin J Osteoporos 2004 10(4):519-522.
- [12] 韩艳, 温利平, 刘娜, 等. 补肾活血方对去卵巢大鼠骨代谢及骨密度的影响. 中医正骨 2015 27(12):7-11, 15.
Han Y, Wen LP, Liu N, et al. Effect of bushen huoxue decoction on bone metabol and bone mineral density in osteoporosis rats. Journal of Traditional Chinese Orthopedics and Traumatology 2015 27(12):7-11, 15.
- [13] 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. 中国药理学通报, 2014 30(7):1018-22.
Wu QY, Xiong XT, Xu BL, et al. Effect of prednisone on femoral microstructure and biomechanics in rats with type II collagen induced arthritis. Chin Pharmacol Bull, 2014 30(7):1018-22.

(收稿日期: 2017-05-17; 修回日期: 2017-08-30)