

DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2016.10.007

· 基础研究 ·

超早期高压氧治疗对脊髓全横断损伤大鼠股骨骨钙、 骨生物力学及骨胶原的影响

刘敏, 伍贤平, 童敏, 伍西羽, 周金平

[摘要] 目的 探讨超早期高压氧治疗对脊髓全横断损伤大鼠股骨骨钙、骨生物力学及骨胶原的影响。方法 75 只 Sprague-Dawley 大鼠随机分为假手术组(n=15)、模型组(n=20)和高压氧组(n=40), 其中高压氧组又分为 3 小时组(高压氧 1 组, n=20)和 12 小时组(高压氧 2 组, n=20)。假手术组仅行椎板切除术, 其他三组均行 T₁₀ 水平脊髓完全横断术。高压氧 1 组和高压氧 2 组分别于术后第 3、12 小时开始高压氧治疗, 10 d 为 1 个疗程, 共 3 个疗程。治疗后, 各组取右股骨测定股骨生物力学性能参数, 测定骨钙、骨羟脯氨酸(Hyp)含量; HE 染色和 Masson 染色观察骨小梁和骨胶原形态学变化。结果 治疗后, 与假手术组比较, 模型组股骨结构力学和材料力学参数下降($P<0.05$), 骨干重、骨钙及 Hyp 含量减少($P<0.05$); 骨小梁及骨胶原数目减少, 稀疏、断裂、排列不整。与模型组和高压氧 2 组比较, 高压氧 1 组股骨结构力学和材料力学参数均增高, 骨干重、骨钙及 Hyp 含量增加($P<0.05$), 骨小梁及骨胶原数目增多, 连续性较好, 排列较整齐。结论 超早期高压氧治疗可明显改善脊髓全横断损伤大鼠股骨骨钙含量, 改善骨胶原含量及质量, 改善生物力学性能。

[关键词] 脊髓全横断; 高压氧; 超早期; 股骨; 骨钙; 骨生物力学; 骨胶原; 大鼠

Effect of Ultra-early Hyperbaric Oxygenation on Bone Calcium, Biomechanical Properties and Bone Collagen of Femur in Rats with Complete Spinal Cord Transection Injury

LIU Min, WU Xian-ping, TONG Min, WU Xi-yu, ZHOU Jin-ping

Department of Rehabilitation, The Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China

Correspondence to LIU Min. E-mail: liumin22626@126.com

Abstract: **Objective** To explore the effect of ultra-early hyperbaric oxygenation (HBO) on bone calcium, biomechanical properties and bone collagen of femur in rats with complete spinal cord transection. **Methods** A total of 75 Sprague-Dawley rats were randomly divided into to sham group (n=15), model group (n=20) and HBO group (n=40). HBO group was divided into three hours group (HBO1 group, n=20) and twelve hours group (HBO2 group, n=20). All groups underwent laminectomy at T₁₀, while the model group, HBO1 group and HBO2 group underwent complete spinal cord transection at the same level. Three hours and twelve hours after surgery, HBO1 group and HBO2 group received HBO, respectively, for three courses with ten days in a course. After treatment, the femoral biomechanical properties, bone calcium and hydroxyproline (Hyp) were determined. The morphology of bone trabecula and the bone collagen was observed with HE staining and Masson triad color staining, respectively. **Results** After treatment, compared with the sham group, the femoral biomechanical properties, the content of bone calcium and Hyp decreased in the model group ($P<0.05$); compared with the model group and HBO2 group, they increased in HBO1 group ($P<0.05$). The number of bone trabecula and the bone collagen decreased, and derangement and sparseness were observed in the model group; however, the changes were substantially mild in HBO1 group. **Conclusion** Ultra-early HBO could increase the content of bone calcium and Hyp of femur, improve the morphology of the femur bone collagen, and improve the femoral biomechanical properties in rats with complete spinal cord transection.

Key words: complete spinal cord transection; hyperbaric oxygenation; ultra-early stage; femur; bone calcium; bone biomechanical properties; bone collagen; rats

基金项目: 湖南省科技厅基金项目(No. 2008SK3108)。

作者单位: 中南大学湘雅二医院, 湖南长沙市 410011。作者简介: 刘敏(1965-), 女, 汉族, 湖南长沙市人, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向: 高压氧医学。E-mail: liumin22626@126.com。

<http://www.cjrtponline.com>

[中图分类号] R651.2 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2016)10-1145-06

[本文著录格式] 刘敏, 伍贤平, 童敏, 等. 超早期高压氧治疗对脊髓全横断损伤大鼠股骨骨钙、骨生物力学及骨胶原的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2016, 22(10): 1145-1150.

CITED AS: Liu M, Wu XP, Tong M, et al. Effect of ultra-early hyperbaric oxygenation on bone calcium, biomechanical properties and bone collagen of femur in rats with complete spinal cord transection injury [J]. Zhongguo Kangfu Lilun Yu Shijian, 2016, 22(10): 1145-1150.

脊髓损伤是一种严重的神经系统创伤, 常常带来难以恢复的感觉运动功能障碍。继发的骨质疏松(osteoporosis, OP)因易致骨折^[1-4]进一步阻碍患者的康复进程。有资料显示, 完全性脊髓损伤较不完全性脊髓损伤发生骨质疏松的可能性高 6.17 倍^[4], 完全性脊髓损伤者发生骨折的风险大于不完全性脊髓损伤患者^[5]。Modlesky 等用高分辨率 MRI 检测病程 2 年以上的完全性脊髓损伤患者股骨远端、胫骨近端微观结构, 发现脊髓损伤后骨小梁微观结构衰退, 骨折危险度增加^[6]。目前尚无有效的方法阻止脊髓损伤后骨质疏松的发生^[7]。

有关脊髓损伤后骨量的变化及骨质疏松防治的研究具有重要的临床意义。我们前期研究发现, 超早期高压氧治疗可改善脊髓全横断损伤大鼠脊髓水肿, 促进其后肢运动功能的部分恢复^[8], 改善后肢骨密度^[9-10], 并可改善其血生化及骨转换^[11]。但超早期高压氧治疗对脊髓全横断损伤大鼠骨质量的影响如何目前国内外尚未见报道。

有文献表明尽管骨密度和骨强度高度相关^[12], 测定简单而快捷, 并常常用于对骨脆性和骨折危险性进行预测^[13]; 但大量的动物实验和临床研究的结果表明, 骨密度不是预测骨质疏松性骨折的唯一标准, 单纯骨量增加, 骨质量不一定相应增加, 有时反而降低^[14-15]。有学者认为在预测骨折方面骨密度只占 70%~80% 的作用, 而力学结构方面的因素占 20%~30%。有些患者骨密度很低却未发生骨折, 有些患者骨密度尚未低到骨质疏松水平却发生了骨折, 这说明骨折与非骨折患者的骨密度之间存在较大的重叠。因为单纯测定骨密度不能发现包括器官和组织水平的结构特性信息, 不能完全反映骨的力学完整性, 所以近年来人们更倾向于从骨的力学和结构特性方面预测骨折危险度^[16]。骨的力学性能测试是评价骨质量最直接和最有力说服力的指标之一。对于骨质疏松动物模型, 任何治疗最重要的目的是改善骨的生物力学性能。

本研究通过对已采用超早期高压氧治疗的脊髓全横断损伤大鼠模型, 取股骨标本进行三点弯曲试验测定大鼠骨生物力学指标, 并测定骨胶原及骨钙的变化, 以进一步探讨超早期高压氧治疗对脊髓全横断损伤大鼠骨质量的影响。

1 材料与方法

1.1 动物分组

清洁级雌性 Sprague-Dawley 大鼠 75 只, 3 月龄, 体重 195~240 g, 由本院动物室提供, 合格证号 SCXK(湘)2003-0003。随机分成假手术组(n=15)、模型组(n=20)及高压氧组(n=40), 其中高压氧组又分为 3 小时组(高压氧 1 组, n=20)和 12 小时组(高压氧 2 组, n=20)。

1.2 方法

假手术组仅行 T₁₀ 椎板切除, 不损伤脊髓。模型组、高压氧组均行 T₁₀ 椎板切除并在该水平横断脊髓。实验过程中对动物处置方法符合 2006 年科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》^[17]。

1.2.1 模型制备^[18]

大鼠术前禁食 12 h, 称重, 10% 水合氯醛 0.3 ml/100 g(中南大学湘雅二医院制剂室)腹腔注射麻醉, 俯卧位固定于手术台上, 胸背部剃毛备皮, 75% 酒精消毒, 铺消毒巾。按肋骨确定椎体序列, 自背部正中切开 T₈₋₁₂ 椎体水平的皮肤、皮下及筋膜, 剥离竖脊肌, 暴露 T₉₋₁₁ 椎体棘突及双侧椎板。模型组 and 高压氧组均切除 T₁₀ 椎板, 充分暴露 T₁₀ 椎体水平的脊髓, 以弯头眼科镊轻轻挑起脊髓并用尖锐刀片横切脊髓, 动物即刻出现摆尾, 双下肢抽搐或尿失禁, 以无菌纱布按压止血后逐层缝合。假手术组仅行 T₁₀ 椎板切除, 不损伤脊髓, 之后逐层缝合。

1.2.2 高压氧处理

HBO1 组及 HBO2 组分别在脊髓损伤后 3 h、12 h 开始高压氧治疗。将 YLC0.5/1A 型婴儿纯氧舱(武汉 701 研究所)改作动物舱使用。门缝洗舱法^[19]洗舱 10

min 至舱内氧浓度达 93%~95%，将舱门关紧，20 min 内加压到 2.2 个绝对大气压 (absolute atmosphere, ATA)，稳压 40 min (吸氧浓度 97%~99%)，后用 20 min 匀速减至环境压出舱。为保持舱内氧浓度，稳压全过程持续低流量等量换气。10 d 为 1 个疗程，共 3 个疗程，其中第 1 疗程每天 2 次，第 2、3 疗程每天 1 次，每个疗程后休息 6 d。

1.2.3 大鼠饲养及护理

术后每只动物肌肉注射青霉素 16 万 U/d，连续 1 周。每天定量供应充足饲料和水，在安静、通风、清洁环境下分笼饲养，任意进食大鼠全价颗粒饲料(约含钙 1.5% 和磷 0.9%，本院动物室)和自来水，饲养环境温度 22~25 ℃，相对湿度 40%~70%。

模型组、高压氧 1 组和高压氧 2 组均采用相同的护理。①人工排尿：术后每天早晚 2 次，排尿时，左手撑起大鼠腹部，右手触摸找到充盈的膀胱，然后按住膀胱底，自上而下轻柔挤压，逼尿排出；②防止压疮：挤压膀胱排尿后，及时清理会阴或包皮，使其保持干燥，被尿液浸湿的肢体及时用温肥皂水清洗，并用电吹风吹干。将动物放在软垫上，并常改变体位，局部撒敷压疮粉。预防后肢水肿。

1.3 指标测定

1.3.1 股骨三点弯曲试验力学指标测定

取用生理盐水纱布包裹的大鼠右股骨，-20 ℃保存。测试前 4~6 h 常温解冻，用游标卡尺测定股骨长轴、短轴，然后将股骨放在万能材料试验机上(跨距=20 mm)，以 2 mm/min 的速度下压股骨中段，记录载荷-变形曲线。之后用游标卡尺测量长轴、短轴方向的壁厚，实验数据根据有关力学公式^[20]计算有关参数，即最大载荷、破坏载荷、最大挠度、能量吸收、极限强度、破坏强度、弹性模量及刚度系数等。

1.3.2 骨钙及羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)含量测定

将上述完成生物力学测试的右股骨于 80 ℃烤箱烘烤至恒重，称量骨干重，然后将标本置于 6 mmol/L 盐酸中，108 ℃恒温消化 24 h，取过滤液，将滤液分成两份，一份用 Hyp 试剂盒测定骨 Hyp 的含量；一份用乙二胺四乙酸络合滴定法测骨钙含量。

1.3.3 形态学观察

每组各取左股骨一只(已剔除表面软组织)，4%多聚甲醛固定，10% EDTA 磷酸盐缓冲液脱钙，常规方

法脱水，石蜡包埋，切片，厚 5 μm，分别进行 HE 染色和 Masson 三色法染色，采用 Olympus-BH2 显微镜观察骨小梁形态和骨胶原纤维形态。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，采用方差分析进行比较，并根据方差齐性或不齐性分别采用 LSD 或 Tamhane 作两两比较。显著性水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 死亡情况

实验期间，共死亡大鼠 20 只，其中模型组、高压氧 1 组和高压氧 2 组分别为 8 只、5 只、7 只死亡，总死亡率 26.7%。脊髓损伤后死亡率 33.3%，主要死因为胃肠道、泌尿系并发症及自噬后创面感染，死亡者未列入统计。

2.2 股骨干重、骨钙及 Hyp 含量

假手术组股骨干重、骨钙及 Hyp 含量均高于其他三组 ($P<0.05$)。高压氧 1 组股骨干重、骨钙及 Hyp 含量均高于模型组及高压氧 2 组 ($P<0.05$)。见表 1。

2.3 股骨结构力学性能参数

假手术组股骨最大载荷、破坏载荷、最大挠度及能量吸收均明显高于其他三组 ($P<0.05$)。高压氧 1 组各指标高于模型组及高压氧 2 组 ($P<0.05$)。见表 2。

2.4 股骨材料力学性能参数比较

假手术组股骨弹性模量、刚度系数、极限强度和破坏强度均高于其他组 ($P<0.05$)。高压氧 1 组各指标高于模型组及高压氧 2 组 ($P<0.05$)。见表 3。

2.5 股骨骨小梁形态变化

假手术组骨小梁数目多，小梁间距小，连续性及完整性好，无吸收、穿孔及断裂现象，小梁厚度均一。模型组骨小梁数目明显减少稀疏，间距增大，连续性差，小梁明显吸收、穿孔、断裂。高压氧 1 组骨小梁数目明显增多，间距小，连续性及完整性较好，小梁厚度较均一，骨小梁吸收、穿孔、中断现象明显减少。高压氧 2 组骨小梁数目明显减少，间距大，连续性及完整性较差，小梁厚度不均一，骨小梁吸收、穿孔、中断现象较明显。见图 1。

2.6 股骨骨胶原形态变化

假手术组骨胶原纤维粗壮，致密紧凑呈板层样，排列规则，连续性好，无断裂及溶解现象，染色为鲜

绿色(成熟色)。模型组骨胶原纤维数目明显减少，稀疏，形态变细，排列不规则，并可见明显断裂、溶解现象，着色较差，染色为浅绿色。高压氧 1 组骨胶原纤维明显增粗，增多，排列较规则、密集，连续性较好，胶原纤维断裂及溶解现象明显减少，纤维之间有斜向纤维相连，染色为鲜绿色。高压氧 2 组骨胶原纤维数目明显减少，排列稀疏，连续性较差，胶原纤维断裂及溶解现象较明显，染色为浅绿色。见图 2。

表1 治疗后各组大鼠股骨干重、骨钙及骨HYP含量比较(mg/g)

组别	n	骨干重	骨 Hyp	骨钙
假手术组	15	0.561±0.04	20.09±3.19	329.31±25.12
模型组	12	0.480±0.01 ^a	17.01±2.99 ^a	275.97±18.84 ^a
高压氧 1 组	15	0.520±0.06 ^{b,c}	18.11±2.21 ^{b,c}	295.47±19.13 ^{b,c}
高压氧 2 组	13	0.483±0.02 ^a	17.41±2.64 ^a	278.97±17.34 ^a
<i>F</i>		3.432	2.789	8.724
<i>P</i>		0.006	0.007	0.004

注：与假手术组比较，a. *P*<0.01; b. *P*<0.05；与模型组和高压氧 2 组比较，c. *P*<0.05

表2 治疗后各组大鼠股骨结构力学性能参数比较

组别	n	最大载荷(N)	破坏载荷(N)	最大挠度(mm)	能量吸收(N·mm)
假手术组	15	123.39±7.20	129.67±9.42	0.75±0.15	62.73±5.51
模型组	12	98.24±5.52 ^a	99.89±9.75 ^a	0.54±0.12 ^a	42.24±8.01 ^a
高压氧 1 组	15	110.35±6.12 ^{b,c}	112.87±5.47 ^{b,c}	0.63±0.24 ^{b,c}	53.16±5.01 ^{b,c}
高压氧 2 组	13	100.13±5.21 ^a	102.06±8.65 ^a	0.58±0.13 ^a	44.32±7.81 ^a
<i>F</i>		10.718	9.278	15.321	14.324
<i>P</i>		0.009	0.003	0.002	<0.001

注：与假手术组比较，a. *P*<0.01; b. *P*<0.05；与模型组和高压氧 2 组比较，c. *P*<0.05

表3 治疗后各组大鼠股骨材料力学性能参数比较

组别	n	弹性模量(10 ⁴ N/mm)	刚度系数(10 ³ N/mm)	极限强度(MPa)	破坏强度(MPa)
假手术组	15	0.6432±0.1391	5.976±1.3247	138.79±6.14	137.59±5.45
模型组	12	0.5249±0.2014 ^a	4.3231±2.0114 ^a	115.17±5.03 ^a	121.61±4.93 ^a
高压氧 1 组	15	0.5879±0.2374 ^{b,c}	5.1356±1.7164 ^{b,c}	129.77±3.31 ^{b,c}	132.87±2.58 ^{b,c}
高压氧 2 组	13	0.5331±0.2114 ^a	4.532±1.542 ^a	117.67±3.05 ^a	124.74±2.97 ^a
<i>F</i>		6.425	13.247	16.289	18.232
<i>P</i>		<0.001	0.008	0.005	<0.001

注：与假手术组比较，a. *P*<0.01; b. *P*<0.05；与模型组和高压氧 2 组比较，c. *P*<0.05

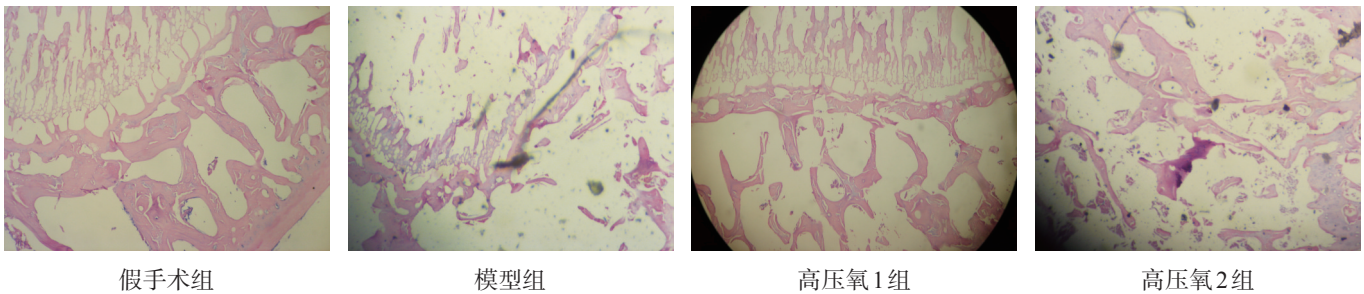


图1 治疗后各组骨小梁形态变化(HE染色，200×)

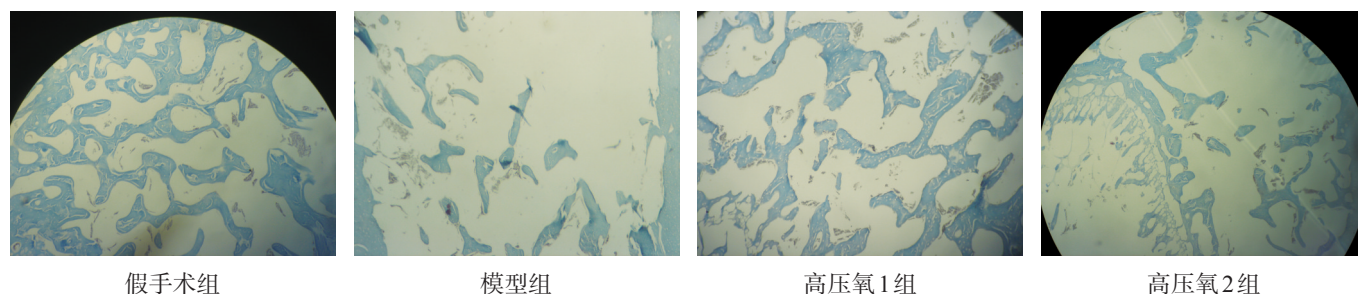


图2 治疗后各组骨胶原形态变化(Masson 三色法, 200×)

3 讨论

生物力学特性是反映骨生长代谢情况的一个重要指标,它是骨量、骨结构连续性、骨皮质厚度及骨材料特性的综合反映^[21-23]。骨生物力学参数可较直接地反映骨的抗骨折能力,是评定治疗手段有效性的客观依据。三点弯曲力学试验是评价骨的生物力学特征较为常用的手段,其反映骨结构力学指标主要有最大载荷、破坏载荷、最大挠度及能量吸收等,反映骨的整体抗骨折能力,骨皮质厚薄及骨小梁多少均可引起它们的变化,即骨的几何形态决定骨的结构力学特性;反映骨材料力学指标则主要有骨弹性模量(又称内在硬度)、骨刚度系数(又称外在硬度)、极限强度和破坏强度等参数,反映骨的自身强度和韧性,与骨的大小及形态无关,主要由骨的构成成分及胶原的含量、排列决定,即与骨无机质含量及骨胶原等有机质相关^[24-25]。骨胶原含量增加,形成提供骨矿化框架机械支持功能的胶原纤维增多,使得钙盐等无机质沉积矿化,从而能够预防及治疗骨质疏松^[26-27]。骨 Hyp 为 I 型胶原的代谢物,测量骨 Hyp 含量可以很好地预测骨质疏松的发病风险^[28]。同样,这些变化也直接影响骨的综合力学强度。

本实验结果显示,脊髓横断大鼠出现明显骨质疏松表现。超早期高压氧治疗可明显改善脊髓全横断损伤大鼠股骨骨钙及骨胶原蛋白含量,改善股骨骨小梁及骨胶原的形态,并改善其生物力学性能。

正常骨由骨基质和细胞组成,细胞包括骨细胞、成骨细胞和破骨细胞。骨基质包括有机质和无机质两类,有机质中 90% 为 I 型胶原蛋白,它是骨的结构基础,并使其具有一定强度;无机质主要包括羟磷灰石和胶体磷酸钙,以结晶的形式沉积于胶原上,无机质与胶原相结合,使骨骼既有一定的硬度,又有一定的弹性。骨的形成是钙磷灰石等骨矿物质沉积在成骨细

胞分泌的骨基质中的过程^[30]。钙、磷是骨矿物质的主要成分, Hyp 是骨基质骨胶原的主要氨基酸。超早期高压氧可能通过及时迅速改善脊髓损伤部位的缺血缺氧,促进神经纤维再生和传导功能恢复,使骨细胞活性逐渐恢复^[11,31],并迅速改善骨微循环,增强骨微循环调节功能,促进细胞外基质 Hyp 的合成和钙盐沉积,改善骨小梁及骨胶原的形态和微细结构,既增加骨骼的硬度,又增加骨骼的韧性,从而防止骨生物力学性能的下降。

总之,超早期高压氧治疗可明显改善脊髓全横断损伤大鼠股骨骨钙含量,改善骨胶原含量及质量,并改善其生物力学性能,为其临床应用提供理论指导。确切机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Jiang SD, Dai LY, Jiang LS. Osteoporosis after spinal cord injury [J]. *Osteoporos Int*, 2006, 17(8): 1278-1281.
- [2] Shen J, Fan L, Yang J, et al. A longitudinal Raman microspectroscopic study of osteoporosis induced by spinal cord injury [J]. *Osteoporos Int*, 2010, 21(1): 81-87.
- [3] Chen B, Stein A. Osteoporosis in acute spinal cord injury [J]. *Top Spinal Cord Inj Rehabil*, 2003, 9(1): 26-35.
- [4] Garland DE, Adkins RH, Kushwaha V, et al. Risk factors for osteoporosis at the knee in the spinal cord injury population [J]. *J Spinal Cord Med*, 2004, 27 (3): 202-206.
- [5] Mulsow J, O'Toole GC, McManus F. Traumatic lower limb fractures following complete spinal cord injury [J]. *Ir Med*, 2005, 98(5): 141-142.
- [6] Modlesky CM, Majumdar S, Narasimhan A, et al. Trabecular bone microarchitecture is deteriorated in men with spinal cord injury [J]. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(1): 48-55.
- [7] Hamid S, Hayek R. Role of electrical stimulation for rehabilitation and regeneration after spinal cord injury: an overview [J]. *Eur Spine J*, 2008, 17(9): 1256-1269.
- [8] 刘敏,伍贤平,童敏. 超早期高压氧治疗对脊髓全横断大鼠脊

- 髓水肿及后肢运动功能的影响[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(10): 2014-2017.
- [9] Liu M, Wu X, Tong M. Effects of ultra-early stage hyperbaric oxygenation on the hind limb bone mineral density in rats after complete spinal cord transaction [J]. Undersea Hyperb Med, 2013, 40(1): 15-22.
- [10] 刘敏,伍贤平,童敏,等. 超早期高压氧治疗应用对脊髓全横断损伤大鼠后肢骨密度的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2012, 27(9): 818-821.
- [11] 童敏,伍贤平,陈军,等. 脊髓完全横断损伤大鼠的骨转换:超早期高压氧干预之效应[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(15): 2684-2687.
- [12] Jiang Y, Zhao J, Augat P, et al. Trabecular bone mineral and calcified structure of human bone specimens scanned by peripheral quantitative computed tomography: relation to biomechanical properties [J]. J Bone Miner Res, 1998, 13(11): 1783-1790.
- [13] Eastell R. Treatment of postmenopausal osteoporosis [J]. N Engl J Med, 1998, 338(11): 736-746.
- [14] Sogaard CH, Mosekilde L, Schwartz W, et al. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass [J]. Bone, 1995, 16(1): 163-165.
- [15] Watts NB, Harris ST, Genant HK, et al. Intermittent cyclical etidronate treatment of postmenopausal osteoporosis [J]. New Engl J Med, 1990, 323(2): 73-79.
- [16] 张敏,郭雄,何树梅,等. 老龄骨质疏松骨形态、骨密度、生物力学实验研究[J]. 现代预防医学, 2009, 36(22): 4311-4313.
- [17] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见[Z]. 2006-09-30.
- [18] 闫慧博,金大地,鲁凯伍,等. 稳定性大鼠脊髓全横断模型的建立[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(6): 1091-1094.
- [19] 吴峰静,彭争荣,吴致德. 婴幼儿氧舱的操作方法介绍[J]. 中国临床康复, 2002, 6(24): 3745.
- [20] 史念珂,富东慧. 大鼠股骨生物力学实验研究[J]. 天津大学学报, 2006, 39(4): 458-462.
- [21] 姚新苗,杨林,王靖,等. 益骨汤对去势大鼠血清激素水平、骨密度和骨生物力学影响的实验研究[J]. 中医正骨, 2006, 18(1): 3-4.
- [22] 王凯,杨建全. 运动康复联合补肾活血方对髋部骨折术后髋关节功能、骨生物力学指标和骨密度的影响[J]. 中国临床研究, 2016, 29(3): 397-399.
- [23] 梁德,康晶晶,江晓兵,等. 泼尼松灌胃与肌肉注射对大鼠骨密度、骨生物力学及骨代谢的影响[J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(6): 85-88.
- [24] Uppel ME, Miller LM, Burr DB. The effect of the microscopic and nanoscale structure on bone fragility [J]. Osteoporosis Int, 2008, 19(9): 1251-1265.
- [25] Seeman E. Invited review: pathogenesis of osteoporosis [J]. J Appl Physiol, 2003, 95(5): 2142-2151.
- [26] Gawa K, Hori M, Takao R, et al. Effects of combined elcatomin and alendronate treatment on the architecture and strength of bone in ovariectomized rats [J]. Bone Miner Metab, 2005, 23(5): 351-358.
- [27] 王兵,李富震,白玉宾,等. 肾消康对糖尿病骨质疏松大鼠骨胶原重塑的影响[J]. 中医学报, 2015, 30(8): 1122-1124.
- [28] Eastell R, Hannon RA. Biomarkers of bone health and osteoporosis risk [J]. Proc Nutr Soc, 2008, 67(2): 157-162.
- [29] 刘海春,张剑锋,陈允震. 骨质疏松大鼠股骨生物力学特性与骨胶原质量变化的相关研究[J]. 山东大学学报(医学版), 2009, 47(5): 42-45.
- [30] 张海啸,尹智炜,李芳芳. 何首乌水提液对去卵巢大鼠骨组织动态影响[J]. 中日友好医院学报, 2006, 20(4): 217-221.
- [31] 童敏,伍贤平,陈军,等. 超早期高压氧对脊髓完全横断损伤大鼠血液生化及后肢运动功能的影响[J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(3): 212-215.

(收稿日期:2016-04-25 修回日期:2016-09-05)