基础研究 DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.11.004

复方脑复康预防大鼠去卵巢后骨质疏松的研究

黄健萍[1]，林思恩[1]，吴玲芝[1]，崔 燎[2]，吴 铁[1]
（广东医学院 1. 药理学教研室；2. 广东天然药物研究与开发实验室，湛江 524023）

【摘 要】目的：探讨复方脑复康防治去卵巢后骨质疏松的效果。方法：4 月龄 Sprague-dawley(SD)雌性大鼠 38 只随机分为 5 组：基础组，6 只，于实验前取材；假手术组，8 只，给予生理盐水灌胃；去卵巢组，8 只，去卵巢后给予生理盐水灌胃；已烯雌酚组，8只，去卵巢后给予已烯雌酚 30 μg/(kg·d)灌胃；复方脑复康组，8 只，去卵巢后给予吡拉西坦 432 mg/(kg·d)和司坦唑醇 0.54 mg/(kg·d)灌胃。连续灌胃 90 d 后，处死大鼠并取左胫骨包埋、切片、染色后作静态和动态骨组织形态计量学测定。结果：与假手术组相比，去卵巢组骨小梁面积百分数(%Tb.Ar)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁数目(Tb.N)和标记周长百分数(%L.Pm)均显著降低($P<0.01$)，骨小梁分离度(Tb.Sp)增加（均 $P<0.01$）；每毫米破骨细胞数目(Oc.N)和破骨细胞周长百分数(%Oc.Pm)均显著增加($P<0.01$)；骨形成率(BFR/BV) 增加（$P<0.05$）。与去卵巢组相比，已烯雌酚及复方脑复康都可使%Tb.Ar 显著增加（均 $P<0.01$），Tb.N 显著增加（均 $P<0.01$），Tb.Th 增加（$P>0.05$，$P<0.05$）；并使 Tb.Sp 显著降低（均 $P<0.01$）；使 Oc.N 和%Oc.Pm 显著减少（均 $P<0.01$）。与已烯雌酚组相比，复方脑复康可以使胫骨骨小梁 Tb.Th 和%L.Pm 增加（均 $P<0.05$）。结论：复方脑复康可以预防大鼠去卵巢后骨质疏松，其作用效应与雌激素相当，作用机制可能与复方脑复康促进骨形成，抑制骨吸收有关。

【关键词】司坦唑醇；吡拉西坦；去卵巢；形态计量学
【中国图书分类法分类号】R336；R681.08 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-09-25

Effects of compound piracetam in preventing osteoporosis in ovariectomized rats

HUANG Jian-ping[1], LIN Si-en[1], WU Ling-zhi[1], CUI Liao[2], WU Tie[1]
(1. Department of Pharmacology; 2. Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Guangdong Medical College)

【Abstract】*Objective*: To examine the effects of compound piracetam(P-S) in preventing cancellous bone loss in ovariectomized (ovx) rats. *Methods*: Thirty eight female Sprague-dawley rats of four months old were randomly divided into five groups: the basal control (BAS, $n=6$), sham+saline (SHAM, $n=8$), ovx+saline (OVX, $n=8$), ovx+diethylstilbestrol 30 μg/(kg·d) (OVX+DES, $n=8$), and ovx+Piracetam 432 mg/(kg·d)+ stanozolol 0.54 mg/(kg·d) (OVX+P-S, $n=8$). Rats were treated by oral gavage for 90 days. The basal control were sacrificed at day 0; other groups were killed 90 days later. Left tibias were harvested and examined by both static and dynamic histomorphometry. *Results*: Compared with the sham-operated group, trabecular bone area(%Tb.Ar), trabecular thickness (Tb.Th), trabecular number (Tb.N) and percent labeled perimeter (%L.Pm) were significantly decreased (all $P<0.01$); trabecular separation (Tb.Sp), osteoclast number per millimeter (Oc.N), and percent osteoclast surface perimeter(% Oc.Pm) in OVX rats were significantly increased (all $P<0.01$); additionally, bone formation rate/bone volume (BFR/BV) was increased ($P<0.05$). Compared with the OVX group, both diethylstilbestrol and compound piracetam increased %Tb.Ar ($P<0.01$ and $P<0.01$, respectively), Tb.Th ($P>0.05$ and $P<0.05$ respectively) and Tb.N ($P<0.01$ and $P<0.01$ respectively), but Tb.Sp was decreased ($P<0.01$ and $P<0.01$ respectively). Compared with the OVX+DES group, compound piracetam increased Tb.Th and %L.Pm (both $P<0.05$). *Conclusion*: Like the effects of diethylstilbestrol, compound piracetam can prevent cancellous bone loss in ovx rats. The mechanism may be that compound piracetam promotes bone formation and inhibits bone absorption.

【Key words】stanozolol; piracetam; ovariectemized; morphometry

骨质疏松是一种以骨量减少、骨强度降低和微结构损伤等为特征的系统性骨代谢性疾病[1]。骨质疏松症是一种发病率很高的世界性医学难题，大部分绝经后妇女可患此病[2]。雌激素缺乏被认为是导致骨丢失的主要原因，绝经会导致骨转换增快，并造成骨形成和骨吸收的失衡[3]。雌激素替代治疗(Estrogen replacement therapy, ERT)曾经被认为是预防绝经期妇女骨丢失[4]和防治去卵巢后大鼠骨质疏松的有效途径[5]。然而，ERT 会增加妇女患乳腺癌等风险限制了其应用[6]。本课

作者介绍：黄健萍(1982-)，女，讲师，硕士，研究方向：骨药理学和口腔医学。
通信作者：吴 铁，男，教授，Email：wutie2@163.com。
基金项目：广东省科技计划资助项目(编号：2010B060500014)。

题组曾发现吡拉西坦有益于防治老年性骨质疏松[7],另外,本课题组也发现司坦唑醇可以有效促进骨形成[8]。因此本课题组将 2 种药物组成复方脑复康(简称 P-S 合剂),以骨组织形态计量学方法探讨该复方是否能有效预防去卵巢后骨质疏松。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选用 4 月龄 SPF 级雌性 Sprague-dawley(SD)大鼠 38 只(广东医学院实验动物中心提供),体重(254±20) g。适应性喂养 10 d。于实验开始前随机挑选出 6 只作为基础组(BAS),于实验前进行取材。其余 32 只大鼠随机分为假手术组(SHAM)、去卵巢组(OVX)、已烯雌酚组(OVX+DES)、复方脑复康组(OVX+P-S),每组 8 只。所有动物自由饮水及摄食(标准饲料,含钙 1.33%,磷 0.95%),在室温 25℃~28℃,湿度 75%~80%,清洁级环境中喂养。

1.1.2 药物 已烯雌酚片(批号 091008):合肥久联制药有限公司,每片 0.5 mg;康力龙(司坦唑醇,批号 090805):广西南宁白会药业集团有限公司;脑复康(吡拉西坦,批号 091002):广东康奇力药业有限公司;盐酸四环素,美国 Sigma Chemical Co;钙黄绿素,美国 Sigma Chemical Co。

1.1.3 仪器 美国 Buehler LTD 慢速锯;德国 Leica2155 硬组织切片机;德国 Leica 碳化钨钢刀;日本 Nikon 自动化图像数字分析仪;美国 OsteoMetrics 骨组织形态计量学软件。

1.2 方法

1.2.1 动物处理 动物在全身麻醉条件下,参照文献方法[9]对各实验组大鼠作双侧去卵巢手术,假手术组(BAS 组)做同样手术,但不去除卵巢。术后 3 d 开始随机分组,每组 8 只。正式实验:假手术组(SHAM 组)及去卵巢组(OVX 组)均以生理盐水 5 ml/(kg·d)灌胃,已烯雌酚组(DES 组)以已烯雌酚 30 μg/(kg·d)灌胃,复方脑复康组(P-S 合剂组)按司坦唑醇 0.54 mg/(kg·d)和吡拉西坦 432 mg/(kg·d)灌胃,各组大鼠均连续灌胃给药 90 d。动物每周称重 1 次,按照体重变化调整给药剂量。所有动物在处死前 14、13 d 和 4、3 d 分别皮下注射四环素 30 mg/(kg·d)和钙黄绿素 10 mg/(kg·d)进行体内荧光标记。实验结束时,麻醉后心脏抽血处死大鼠,取左侧胫骨做骨组织形态计量学研究。

1.2.2 骨组织形态计量学测定 取左侧胫骨,以慢速锯暴露骨髓腔,取其上段以 10%福尔马林缓冲液固定 24 h、随后进行梯度酒精脱水,二甲苯透明后以甲基丙烯酸甲酯进行不脱钙骨包埋。包埋剂硬化后以石膏打磨机打磨成合适的形状,随后用 Leica 2155 型硬组织切片机切成 9 μm 厚片和 5 μm 薄片。9 μm 厚片直接封片测量动态参数;5 μm 薄片行硝酸银染色,封片后测量静态参数,运用公式[10]计算有关参数。

参考相关文献[11],选择测量区域及有关的测量参数。为避开初级海绵体,胫骨上段测量范围为生长板远端 1~4 mm 之间的松质骨区域。静态测量参数包括骨组织总面积(T.Ar)、骨小梁面积(Tb.Ar)、骨小梁周长(Tb.Pm);吸收测量参数包括破骨细胞个数(N.Oc)、破骨细胞贴壁长度(Oc.S)。动态测量参数包括单荧光周长(sL.Pm)、双荧光周长(dL.Pm)、双标记间隙(Ir.L.Wi)。参照相关公式,可以计算出计算参数:骨小梁面积百分数(%Tb.Ar)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、标记周长百分数(%L.Pm)、骨矿化形成率(MAR)、骨形成率(BFR/BV)、骨形成率(BFR/BS)、骨形成率(BFR/TV)、每毫米破骨细胞数目(Oc.N)、破骨细胞周长百分数(%Oc.Pm)。

1.3 统计分析

计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS16.0 软件行 ANOVA 方差分析并以 *LSD-t* 检验进行组间比较,$P<0.05$ 可认为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠体重和子宫重量变化的影响

已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠体重变化及子宫重量的影响见表 1。由表 1 可知,在实验结束时,与 SHAM 组相比,OVX 组大鼠体重增加 11.3%($P<0.01$),子宫重量降低 78.8%($P<0.01$);与 OVX 组相比,DES 组大鼠体重下降 16.2%($P<0.01$),子宫重量增加 272.2%($P<0.01$),P-S 合剂组大鼠体重无明显变化,子宫重量增加 55.6%($P>0.05$)。与 DES 组相比,P-S 合剂组大鼠体重增加 16.5%($P<0.01$),与子宫重量降低 58.2%($P<0.01$)。

表 1 实验结束时大鼠体重及子宫重量($\bar{x}\pm s$)

分组	大鼠个数	体重(g)	子宫重量(g)
SHAM	8	304.8 ± 14.0	0.85 ± 0.30
OVX	8	339.3 ± 30.5**	0.18 ± 0.05**
OVX + DES	8	284.1 ± 17.7△△	0.67 ± 0.19△△
OVX + P-S	8	331.1 ± 34.0▲▲	0.28 ± 0.07▲▲

注:SHAM,假手术组组;OVX,去卵巢组;DES,已烯雌酚;P-S,复方脑复康;与假手术组相比,*,$P<0.05$,**,$P<0.01$;与去卵巢组,△,$P<0.05$,△△,$P<0.01$;与已烯雌酚组相比,▲,$P<0.05$,▲▲,$P<0.01$

2.2 已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠胫骨上段骨组织静态参数及吸收参数的影响

已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠胫骨上段骨组织静态参数的影响见表 2 和图 1。从表 2 可见,与 BAS 组相比,SHAM组各静态参数和吸收参数差异均无统计学意义($P>0.05$);与 SHAM 组相比,OVX 组骨小梁面积百分数(%Tb.Ar)降低 70.0%($P<0.01$),骨小梁厚度(Tb.Th)降低 21.7%($P<0.01$),骨小梁数目(Tb.N)降低 62.8%($P<0.01$),骨小梁分离度(Tb.Sp)增加 378.6%($P<0.01$),每毫米破骨细胞数目(Oc.N)增加 116.7%($P<0.01$),破骨细胞周长百分数(%Oc.Pm)增加173.7%($P<0.01$);与OVX组相比,DES组%Tb.Ar增加124.2%($P<0.01$),Tb.N 增加 112.7%($P<0.01$),Tb.Sp 减少 69.5%($P<0.01$),Oc.N 减少 45.1%($P<0.01$),%Oc.Pm 减少 53.8%($P<0.01$);与 OVX 组相比,P-S 合剂组%Tb.Ar 增加 114.0%($P<0.01$),Tb.Th 增加 25.9%($P<0.05$),Tb.N 增加 74.5%($P<$

表 2 已烯雌酚与复方脑复康对胫骨上段静态参数和吸收参数的影响（$\bar{x} \pm s$）

分组	Tb.Ar（%）	Tb.Th（μm）	Tb.N（个/mm）	Tb.Sp（μm）	Oc.N（个/mm）	%Oc.Pm（%）
BAS	27.30 ± 4.34	48.31 ± 2.72	5.65 ± 0.85	132.11 ± 29.27	0.32 ± 0.18	0.22 ± 0.13
SHAM	29.70 ± 4.73	51.91 ± 4.74	5.70 ± 0.55	125.02 ± 20.16	0.42 ± 0.28	0.38 ± 0.17
OVX	8.90 ± 4.27**	40.65 ± 5.72**	2.12 ± 0.87**	594.59 ± 506.87**	0.91 ± 0.47**	1.04 ± 0.56**
OVX + DES	19.95 ± 4.47△△	43.88 ± 4.80	4.51 ± 0.62△△	181.45 ± 32.96△△	0.50 ± 0.24△△	0.48 ± 0.10△△
OVX + P-S	19.05 ± 7.12△△	51.18 ± 4.84△▲	3.70 ± 1.16△△	239.02 ± 78.60△△	0.42 ± 0.26△△	0.57 ± 0.31△△

注：BAS，基础组；Tb.Ar，骨小梁面积；Tb.Th，骨小梁厚度；Tb.N，骨小梁数目；Tb.Sp，骨小梁分离度；Oc.N，每毫米破骨细胞数目；%Oc.Pm，破骨细胞周长百分数。与假手术组相比，**，$P<0.01$；与去卵巢组相比，△，$P<0.01$，△△，$P<0.01$；与已烯雌酚组相比，▲，$P<0.05$



A. 基础组　B. 假手术组　C. 去卵巢组　D. 已烯雌酚组　E. P-S 合剂组

图 1 已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠胫骨上段骨量影响（硝酸银染色，×20）

表 3 已烯雌酚与复方脑复康对胫骨上段动态参数的影响（$\bar{x} \pm s$）

分组	%L.Pm（%）	MAR（μm/d）	BFR/BS（%/yr）	BFR/BV（%/yr）	BFR/TV（%/yr）
BAS	18.3 ± 1.2	0.91 ± 0.18	16.8 ± 3.3	211.0 ± 37.6	57.2 ± 10.9
SHAM	18.2 ± 2.8	0.94 ± 0.11	17.0 ± 3.4	200.3 ± 38.9	59.2 ± 13.9
OVX	24.3 ± 6.8*	0.84 ± 0.16	20.5 ± 8.3	302.4 ± 105.6*	61.8 ± 17.6
OVX + DES	17.2 ± 5.1△△	0.85 ± 0.18	17.2 ± 7.8	242.2 ± 101.7	46.8 ± 18.7
OVX + P-S	24.9 ± 4.0▲	0.90 ± 0.12	22.5 ± 4.0	267.6 ± 43.2	50.8 ± 19.0

注：%L.Pm，荧光周长百分数；MAR，矿化沉积率；BFR/BS、BFR/BV、BFR/TV 均为骨形成率。与假手术组相比，*，$P<0.05$；与去卵巢组，△△，$P<0.01$；与已烯雌酚组相比，▲，$P<0.05$



A. 基础组　B. 假手术组　C. 去卵巢组　D. 已烯雌酚组　E. P-S 合剂组

图 2 已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠胫骨上段骨小梁荧光的影响（未染色，×100）

0.01），Tb.Sp 减少 59.8%（$P<0.01$），Oc.N 减少 53.8%（$P<0.01$），%Oc.Pm 减少 45.2%（$P<0.01$）。与 DES 组相比，P-S 合剂组 Tb.Th 增加 16.6%（$P<0.05$），此外，两个用药组之间其它静态参数及吸收参数无统计学差异（$P>0.05$）。从图 1 显示，与 SHAM 组相比，OVX 组骨小梁面积、厚度和数量都明显减少，骨小梁间隙增宽，提示 OVX 组在去卵巢 90 d 后发生了明显的骨质疏松；与 OVX 组相比，DES 组和 P-S 合剂组骨小梁面积、数量有明显增加，间隙变窄，提示 DES 及 P-S 合剂均可有效预防去卵巢后骨丢失；与 DES 组相比，P-S 合剂组骨小梁厚度增加，连续性较好。

2.3 已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠胫骨上段骨组织动态参数的影响

已烯雌酚与 P-S 合剂对去卵巢大鼠胫骨上段骨组织动态参数的影响见表3和图2。从表3可见，与BAS组相比，SHAM组各动态参数差异无统计学意义；与 SHAM 组相比，OVX大鼠标记周长百分数（%L.Pm）显著增加 33.5%（$P<0.05$），BFR/BV 增加 51.0%（$P<0.05$），BFR/BS、BFR/TV 有所增加但无统计学差异；与OVX组相比，DES组%L.Pm显著降低 29.2%（$P<0.01$），BFR/BS、BFR/BV 和 BFR/TV 均有所减低但没有显著性差异（$P>0.05$）；与 OVX 组相比，P-S 合剂组%L.Pm、MAR和BFR/BS 均有一定程度的增加但无显著性差异（$P>0.05$）；而与DES组相比，P-S 合剂组%L.Pm 增加 44.8%（$P<0.05$），MAR、BFR/BS、BFR/BV 和 BFR/TV 均有所增高，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。由图 2 可见，与 BAS 组相比，SHAM 组骨小梁表面荧光亮度有所减弱；与 SHAM 组相比，OVX 组荧光亮度强，延续性好，提示 OVX 组大鼠胫骨在去卵巢 90 d 后处于高骨转换状态；与 OVX 组相比，DES 组荧光亮度弱，延续性较差，提示 DES 可抑制去卵巢后的高骨转换状态，而 P-S 合剂组荧光亮度与 OVX 组相当，提示骨形成并未受到抑制；P-S 合剂组与 DES 组相比，荧光亮度较强且覆盖周长较大，提

示 P-S 合剂成骨功能较 DES 强。

3 讨 论

3.1 去卵巢可致大鼠产生明显的骨质疏松表现

本实验通过骨组织形态计量学方法观察到，大鼠去卵巢 90 d 后，骨小梁呈现典型的骨质疏松表现，对破骨细胞的观察提示该模型骨吸收活性是增加的，对成骨指标的观察提示骨形成增高，这种去卵巢导致的骨吸收增加，骨形成也增加，属于高转换型的骨质疏松。另外，研究还观察到去卵巢后大鼠体重明显增加，子宫重量明显减轻，说明了这种骨质疏松伴随子宫萎缩等特征，与人类绝经期骨质疏松相似，与本课题组以往的报道相一致[9,12]。

3.2 雌激素替代疗法可以预防去卵巢所致的大鼠骨质疏松

本研究观察到，采用雌激素 30 μg/(kg·d)替代预防 90 d 后，与 OVX 组相比，DES 组大鼠骨量丢失明显减少，反映骨吸收指标及反映骨形成指标均明显降低，提示补充雌激素后，破骨细胞活性降低，成骨活性也降低，使去卵巢导致的高转换型的骨质疏松受到抑制。研究还观察到，DES 组大鼠体重明显减轻，子宫重量增加。以上结果提示已烯雌酚替代治疗可以有效预防去卵巢后骨质疏松，此结果与以往的报道相一致[9]。雌激素替代疗法曾是临床上预防和治疗绝经后骨质疏松应用最广泛的方法，雌激素替代疗法可明显改善绝经后妇女的骨丢失，减轻绝经期症状和骨质疏松[13]。但由于雌激素长期应用可以增加乳腺癌和子宫癌的发病率，还能显著增加血栓栓塞性疾病和心血管事件的风险，因此也使限制了雌激素应用[4]。

3.3 复方脑复康可预防去卵巢所致的大鼠骨质疏松

由本研究结果可知，经过 90 d 后，与 OVX 组相比，复方脑复康预防组大鼠骨量丢失明显减少，骨质疏松表现明显减轻，此效果与雌激素替代治疗效果相当。此外，复方脑复康预防组大鼠反映骨吸收指标的 Oc.N 和%Oc.Pm 显著降低（$P<0.01$）；但与 OVX 组相比，反映骨形成指标的动态指标均没有显著性差异，说明了复方脑复康与单纯补充雌激素组不同，复方脑复康虽可显著抑制骨吸收，但是对成骨活性无抑制作用，也就是说，复方脑复康对去卵巢后导致的成骨细胞活性增加没有抑制作用。研究还观察到，与 OVX 组相比，复方脑复康预防组大鼠体重无明显变化，子宫重量增加，但增加子宫重量的程度较雌激素差。以上结果提示复方脑复康可以有效预防去卵巢后骨质疏松，并有不抑制骨形成的特点。本实验通过去卵巢大鼠骨组织形态计量学研究初步证明了复方脑复康预防骨质疏松的疗效。

3.4 复方脑复康预防去卵巢所致的大鼠骨质疏松的可能机制

本课题组之前的研究曾表明，复方脑复康主要成分吡拉西坦和司坦唑醇均能有效防治骨质疏松[7,8]，但作用机制、作用靶点可能有所不同。Baeza 等学者认为去卵巢会加速动物的衰老过程[14]。因此，笔者认为吡拉西坦主要通过影响神经系统功能以改善脑神经衰老状态，可能在中枢神经系统的层面上调节机体骨吸收与骨形成不协调状态；另外，Beneton 等学者表明通过蛋白同化激素司坦唑醇促进骨小梁骨再建和皮质骨内表面骨形成[15]。本研究通过骨组织形态计量学观察到，由吡拉西坦和司坦唑醇组成的复方脑复康能有效改善骨质疏松状态，其效果与雌激素替代治疗相接近；同时复方脑复康可以有效促进成骨作用的同时抑制破骨细胞功能，证明复方脑复康对去大鼠卵巢后骨质疏松具有良好的防治效果。

参 考 文 献

[1] Rachner T D, Khosla S, Hofbaver L C. Osteoporosis: now and the future[J]. Lancet, 2011, 377(9773): 1276-1287.

[2] Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon D H, et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025[J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(3): 465-475.

[3] Heaney R P, Recker R R, Saville P D. Menopausal changes in bone remodeling[J]. J Lab Clin Med, 1978, 92(6): 964-970.

[4] Aitken J M, Hart D M, Lindsay R. Oestrogen replacement therapy for the prevention of osteoporosis after oophorectomy[J]. Br Med J, 1973, 3(5879): 515-518.

[5] Turner R T, Vandersteenhoven J J, Bell N H. The effects of ovariectomy and 17β-estradiol on cortical bone histomorphometry in growing rats [J]. J Bone Miner Res, 1990, 2(2): 115-122.

[6] Francisco J A de Paula, Clifford J Rosen. Developing drugs to treat osteoporosis: lessons learned[J]? Expert Opin Pharmacother, 2010, 11(5): 867-869.

[7] 吴 铁，崔 燎，覃冬云，等. 具有改善脑代谢的药物制剂防治骨质疏松症的新用途[P]. 中国专利：CN1709274, 2005-12-21.

[8] 吴 铁，李青南，李朝阳，等. 司坦唑醇对类固醇性大鼠骨质疏松的预防作用[J]. 药学学报，1999, 34(10): 725-729.

[9] 李朝阳，吴 铁，林柏云，等. 已烯雌酚对去卵巢大鼠密度质骨影响诉定量研究[J]. 中国药理学报，1997, 13(1): 33-35.

[10] Cui L, Wu T, Liu X Q, et al. Prevention effects of ginsenosides on osteopenia of rats induced by ovariectomy[J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(5): 428-434.

[11] 李青南，吴 铁，李朝阳，等. 骨质疏松实验动物研究：骨组织形态计量学[M]. 成都：四川大学出版社，2001. 41-43.

[12] Cui L, Wu T, Liu Y Y, et al. Tanshinone prevents cancellous bone loss induced by ovariectomy in rats[J]. Acta Pharmacol Sin, 2004, 25(5): 678-684.

[13] Komm B S, Vlasseros F, Samadfam R, et al. Skeletal effects of bazedoxifene paired with conjugated estrogens in ovariectomized rats[J]. Bone, 2011, 49(3): 376-386.

[14] Baeza I, De Castro N M, Giménez-Llort L. Ovariectomy, a model of menopause in rodents, causes a premature aging of the nervous and immune systems[J]. J of Neuroimmunology, 2010, 219(1-2): 90-99.

[15] Beneton M N, Yates A J, Rogers S, et al. Stanozolol stimulates remodelling of trabecular bone and net formation of bone at the endocortical surface[J]. Clin Sci (Colch), 1991, 81(4): 543.

（责任编辑：冉明会）