

· 论著 ·

芦丁对去卵巢骨质疏松症大鼠的防治作用

耿壮¹ 徐丽丽¹ 张晓英² 王颜刚^{1*}

1. 青岛大学附属医院内分泌与代谢性疾病科, 山东 青岛 266000

2. 青岛大学附属医院急诊科, 山东 青岛 266000

中图分类号: R454 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 04-0497-05

摘要: **目的** 探讨芦丁在去卵巢骨质疏松大鼠中发挥的抗骨质疏松作用, 找到治疗绝经后骨质疏松症的新思路。 **方法** 取40只大鼠, 10只行剖腹手术未摘除卵巢为假手术组, 30只行去卵巢手术。去卵巢手术大鼠随机分成3组: OVX组(用生理盐水灌胃)、R5低剂量组[喂食芦丁剂量5 mg (kg·d)]、R10高剂量组[喂食芦丁剂量10 mg (kg·d)], 每日灌胃一次, 观察3个月。观察芦丁干预前后大鼠体重和子宫指数的变化, 利用双能X线骨密度仪测定大鼠右侧股骨的骨密度(bone mineral density, BMD)。经HE染色分析左侧胫骨组织形态学。用ELISA方法检测IL-6、IFN- γ 、TNF- α 的含量, 观察芦丁对炎症指标的影响。同时监测干预后的去卵巢大鼠体内E2、1,25(OH)2D3、OCN水平变化。 **结果** 芦丁对去卵巢大鼠体重无显著影响, 但干预组子宫指数显著升高, 且提高了去卵巢大鼠的BMD, 降低了OVX大鼠的炎症因子IL-6、TNF- α 、INF- γ 水平。芦丁干预后E2和1,25(OH)2D3水平显著升高, 并且通过剂量依赖性逆转了大鼠的血清OCN水平, 使骨小梁变厚。此外, 芦丁显著改善了去卵巢大鼠骨小梁的平均厚度及平均骨体积分数。 **结论** 芦丁具有明显抗骨质疏松的活性, 是一种理想的治疗骨质疏松症的备选药物。

关键词: 芦丁; 去卵巢大鼠; 骨质疏松症; 防治

Effects of rutin on the prevention and treatment of osteoporosis in ovariectomized rats

GENG Zhuang¹, XU Lili¹, ZHANG Xiaoying², WANG Yangang^{1*}

1. Department of Endocrinology and Metabolism, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000

2. Department of Emergency, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, China

* Corresponding author: WANG Yangang, Email: wangyg1966@126.com

Abstract: **Objective** To explore the anti-osteoporosis effect of rutin in ovariectomized rats and to find a new way to treat postmenopausal osteoporosis. **Methods** 40 mice were used in this study, among them 10 mice without their ovaries removed by laparotomy were in the sham operation group, and 30 mice underwent ovariectomy. The ovariectomized rats were randomly divided into 3 groups, control group, rutin was graded as low dose group [5 mg (kg·d)] and high dose group [10 mg (kg·d)], once a day, and the control group received normal saline; the observation period was for 3 months. The changes in body weight and uterus index were observed before and after the intervention of rutin. The histomorphology of the left tibia was analyzed by HE staining. The content of IL-6, IFN- γ and TNF- α in was determined by ELISA, and the effect of rutin on inflammatory markers was observed. Changes in E2, 1,25(OH)2D3 and OCN levels in ovariectomized rats after intervention were also monitored. **Results** The weight of ovariectomized rats was not significantly affected by rutin, but the uterine index was significantly increased in the rutin intervention group. Rutin significantly increased BMD in ovariectomized rats, and decreased the levels of inflammatory cytokines IL-6, IFN- γ and TNF- α in OVX rats. E2 and 1,25(OH)2D3 levels were significantly increased after the rutin intervention, and dose-dependently reversed serum OCN levels in rats. Rutin thickened bone trabeculae. In addition, rutin significantly improved the mean thickness and mean bone volume fraction of the trabecular bone in ovariectomized rats. **Conclusion** Rutin has significant anti-osteoporosis activity and is an ideal candidate drug for the treatment of osteoporosis.

Key words: Rutin; ovariectomized rats; osteoporosis; prevention and treatment

* 通信作者: 王颜刚, Email: wangyg1966@126.com

骨质疏松症是一种骨代谢障碍, 由于成骨细胞的形成与破骨细胞的吸收不平衡, 导致骨质脆弱、易于发生骨折^[1-2]。它是一种潜移默化、不可预测的

疾病,直到进入晚期阶段才会出现症状^[3]。

绝经后女性卵巢性激素缺乏是引起骨质疏松症的主要危险因素。据预测截止到 2050 年,全球有一半以上的骨质疏松性髋骨骨折将发生在亚洲^[4]。目前用于治疗骨质疏松症的药物,包括雌激素替代治疗(HRT)、双膦酸盐和选择性雌激素受体调节剂(SERMs)等^[5],然而,这些药物存在潜在的副作用,包括双膦酸盐的胃肠道耐受问题和 HRT 潜在导致恶性肿瘤发生的困扰^[6-7]。因此,具有抗骨质疏松活性的天然化合物是日前研究的热点。黄酮类化合物已被广泛应用于延缓绝经后骨质疏松症。研究^[21-22]表明,黄酮类化合物(如槲皮素)可防止骨质流失。槲皮素是主要的黄酮醇,主要被发现为糖苷(芦丁也被称为槲皮素-3-o-rutinoside),它与雌激素受体结合,并影响几种激素依赖性癌症细胞系的发育。在食品中,槲皮素主要存在于糖苷和芦丁。芦丁显示具有抗氧化性,能够抑制癌细胞的生长^[23-24]。本研究将探讨芦丁对去卵巢大鼠骨代谢的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 化学试剂:芦丁购自国家控制药品和生物制品研究所,经高效液相色谱法测定其纯度 $\geq 98\%$ 。除另有说明外,其他所有试剂均为分析级。

1.1.2 动物分组实验:40 只 8 月龄雌性 SD 大鼠(340~350 g),被安置在室温(22 ± 2)℃条件下,12 h 光/暗周期,允许自由获取食物和蒸馏水。1 周后,在无菌条件下,用氯醛麻醉大鼠。对 10 只大鼠进行双侧剖腹手术,但未摘除卵巢,为假手术组,其余 30 只均行双侧卵巢切除术并被随机分为 3 组:OVX 组(用生理盐水灌胃)、R5 低剂量组[喂食芦丁剂量 5 mg (kg·d)]、R10 高剂量组[喂食芦丁剂量 10 mg (kg·d)],每日灌胃一次,持续 3 个月。实验期间每周记录大鼠子宫湿重及子宫指数。动物研究的程序包括饲养、喂养和整个手术过程。遵循 APS 的“照顾和使用动物的指导原则”,并得到了青岛大学动物研究委员会的批准。

1.2 实验方法

1.2.1 酶联免疫吸附试验:在水合氯醛深度麻醉下,通过股动脉放血处死大鼠。收集血液样本在 4℃、3 000 r/min,持续离心 15 min。立即进行血清分离,储存在-20℃备用。根据试剂盒指示,ELISA 测定血清水平骨钙素(OG)、雌激素(E2)、1,25(OH)₂D₃ 和

炎症细胞因子(IL-6、TNF- α 、INF- γ)。

1.2.2 骨组织形态分析:首先制备股骨切片,在戊巴比妥钠腹腔麻醉下,迅速取出股骨头、股骨颈,立即投入 10%中性甲醛中固定 48 h,4℃,混合酸脱钙液脱钙 7 d,梯度乙醇脱水,用二甲苯进行冲洗,最后制成石蜡切片后应用钻石刀切片。用 10%中性甲醛缓冲液冲洗嵌在石蜡上的股骨切片,用金纳的三色染色法染色。观察切片的组织病理学变化,分析左侧股骨的组织形态学,并对其进行骨微观结构分析。染色借鉴既往研究进行^[25],利用图像分析软件进一步分析。

1.2.3 骨矿物质密度:采用双能 X 线骨密度仪中的小型实验动物骨密度评估软件对右侧股骨的骨密度(bone mineral density, BMD)进行测量,结果以 g/cm² 显示。

1.3 统计分析

使用统计分析软件 SPSS 11.5 版本处理本研究的数据。实验数据以均值 $\pm$ 标准差表示,通过方差分析来分析各群体间的统计比较。当 $P<0.05$ 时,用最小显著性差异法进行两两比较。

2 结果

2.1 体重

所有小组在研究期间,均没有大鼠死亡。四组大鼠最初的平均体重是相同的。在 3 个月的实验期间,每周监测大鼠体重,研究在行卵巢切除术后,喂食芦丁是否改变了体重。与假手术组(sham)相比,切除卵巢大鼠的体重持续增高($P<0.05$),见图 1;术后第 4 周,OVX 组的体重明显高于假手术组($P<0.05$);除了 R10(高剂量芦丁)组的大鼠体重稍微偏低点之外,R5(低剂量芦丁)组的体重在整个实验过程中没有明显增加。

2.2 子宫指数

子宫指数的变化趋势与体重相似。与假手术组(sham)子宫组织相比较,OVX 组明显萎缩($P<0.05$);与 OVX 组比较,芦丁组的子宫重量显著增加($P<0.05$),似乎与剂量有关(见表 1)。

表 1 各组干预期间子宫指数($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Uterus index during intervention ($\bar{x}\pm s$)

组别	体重/mg	子宫指数/(mg/g)
Sham	326.8 $\pm$ 16.4	2.15 $\pm$ 0.75
OVX	81.6 $\pm$ 6.3 [*]	0.99 $\pm$ 0.83 [*]
R10	168.8 $\pm$ 12.9 ^{*#}	1.85 $\pm$ 0.75 ^{*#}
R5	159.4 $\pm$ 13.2 ^{*#}	1.69 $\pm$ 0.94 ^{*#}

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与 OVX 组比较,# $P<0.05$ 。

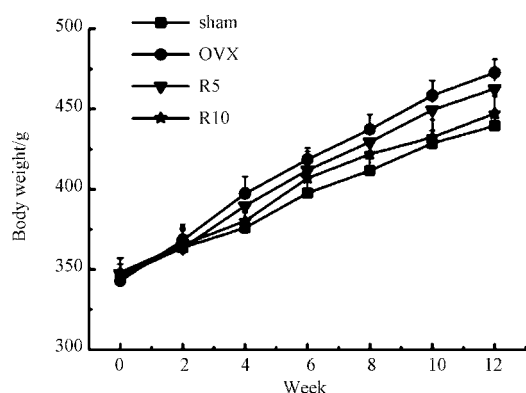


图1 治疗期间大鼠体重增加情况

Fig.1 Weight gain during treatment

2.3 芦丁对炎症标志物的影响

用 ELISA 法检测不同治疗组的血清细胞因子水平并进行分析评价。如表 2 所示,与假手术组相比,OVX 组的细胞因子 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 明显升高 ($P < 0.05$)。然而,芦丁的干预逆转了细胞因子 IL-6、IFN- γ 和 TNF- α 的水平,此过程似乎也呈剂量依赖性的方式。

表2 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 水平 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 IL-6, IFN- γ and TNF- α levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-6/(pg/mL)	TNF- α /(pg/mL)	INF- γ /(pg/mL)
Sham	369.72 $\pm$ 38.82	38.92 $\pm$ 17.95	0.948 $\pm$ 0.135
OVX	583.82 $\pm$ 41.73 [*]	104.74 $\pm$ 27.84 [*]	2.582 $\pm$ 0.852 [*]
R5	482.83 $\pm$ 28.89 ^{*#}	82.84 $\pm$ 21.37 [*]	1.862 $\pm$ 0.957 ^{*#}
R10	427.95 $\pm$ 38.48 ^{*#}	63.95 $\pm$ 24.53 [#]	1.264 $\pm$ 0.729 [#]

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

2.4 血清参数

不同组大鼠血清参数结果见表 3。结果显示,与假手术组相比,OVX 组大鼠血清 E2 和 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 水平显著降低,芦丁干预后 E2 和 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 水平显著增加,具有统计学意义 ($P < 0.05$);与假手术组相比,在 OVX 组大鼠中观察到血清 OCN。有趣的是,芦丁治疗以剂量依赖性的方式逆转了 OVX 大鼠的血清 OCN 水平。

表3 血清 E2、1,25(OH) $_2$ D $_3$ 、OCN 水平 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Serum E2, 1,25(OH) $_2$ D $_3$ and OCN levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	E2 ng/L	OCN ng/mL	1,25-(OH) $_2$ -VitD $_3$ ng/mL
Sham	369.72 $\pm$ 38.82	38.92 $\pm$ 17.95	0.948 $\pm$ 0.135
OVX	583.82 $\pm$ 41.73 [*]	104.74 $\pm$ 27.84 [*]	2.582 $\pm$ 0.852 [*]
R5	482.83 $\pm$ 28.89 ^{*#}	82.84 $\pm$ 21.37 [*]	1.862 $\pm$ 0.957 ^{*#}
R10	427.95 $\pm$ 38.48 ^{*#}	63.95 $\pm$ 24.53 [#]	1.264 $\pm$ 0.729 [#]

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

2.5 股骨的骨密度

与假手术组比较,OVX 组右侧股骨 BMD 明显降低 ($P < 0.05$)。芦丁对 OVX 大鼠的干预显著改善了股骨骨密度;与 OVX 组相比,经过 3 个月的治疗,高剂量的芦丁增加了右侧股骨的 BMD ($P < 0.05$),似乎是呈剂量依赖性(表 4)。

表4 股骨的骨密度检测 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Bone density of femur ($\bar{x} \pm s$)

组别	BMD/(g/cm 2)
Sham	0.251 $\pm$ 0.007
OVX	0.148 $\pm$ 0.004 [*]
R10	0.198 $\pm$ 0.008 ^{*#}
R5	0.176 $\pm$ 0.005 ^{*#}

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

2.6 芦丁减少骨小梁丢失

用苏木精和伊红染色对股骨骨结构进行分析。假手术组大鼠表现出正常的骨干(图 2A);OVX 组大鼠表现出均匀稀疏的骨小梁(图 2B);低剂量芦丁组表现出明显的改善(图 2C);采用高剂量芦丁(R10)治疗后,几乎完全改善为正常骨和骨小梁(图 2D),类似于假手术组。这些结果证实了芦丁对卵巢切除引起的骨丢失起到了积极的作用。

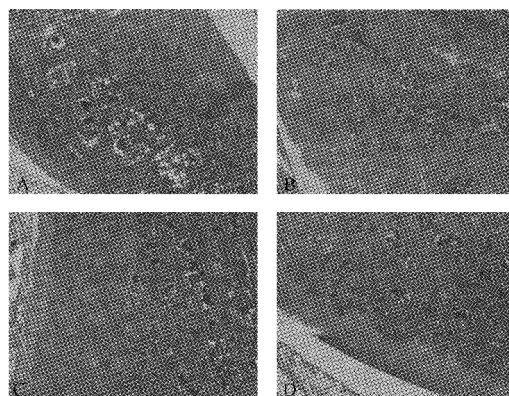
图2 不同组大鼠股骨的组织学($\times 200$)

Fig.2 Histology of the femur of different groups of rats (200 times magnification)

3 讨论

骨质疏松症是一种骨代谢障碍疾病,其特点是成骨细胞的形成与破骨细胞的吸收不平衡,导致骨骼脆弱,容易骨折。卵巢激素缺乏症是绝经后骨质疏松的主要危险因素。卵巢切除术导致子宫重量、骨密度和生物力学强度显著下降,而这些变化部分是由于雌激素缺乏导致。在老年妇女中^[25],茶的摄入量与高骨密度有关,这被认为是由儿茶素引起的,它抵消了咖啡因对骨骼代谢的影响。许多研究表

明^[8-14],一些蔬菜和水果如洋葱、豆类和茶可以抑制骨吸收。它们是强的抗氧化剂^[11],可以通过抑制低密度脂蛋白的氧化来预防心血管疾病。洋葱富含黄酮类化合物,抗氧化作用被认为是蔬菜中最强的^[15]。一些独立的证据表明,含有多酚分子的特殊天然产物可能起到有益的作用。例如,在儿茶素^[16]、芦丁^[17]、绿茶多酚^[18]、橄榄油多酚^[19]、苹果多酚中发现了对于骨质减少或骨质疏松症起到改善作用的物质。以类黄酮为代表的酚类化合物^[20],已被证实具有促进健康和抗骨质疏松活性的作用。

大鼠在食用富含洋葱的饮食后表现出对骨吸收的抑制作用,作为槲皮素的糖基化形式,芦丁被发现是洋葱中主要的黄酮类化合物。洋葱提取物已被证明可以抑制体外和体内的骨吸收^[26]。本研究旨在评价芦丁对去卵巢诱发大鼠骨量减少的保护作用。数据显示,与假手术组相比,OVX 组减少了身体和子宫的重量。芦丁的干预增加了卵巢切除大鼠的身体和子宫的重量。目前体重和骨质疏松关系存在争议,体重与骨质疏松呈非线性关系,加拿大的研究认为低体重可能为骨质疏松及骨质疏松性骨折的危险因素。Gilsanz 实验室发现皮下脂肪与骨量直接相关,而内脏脂肪则与骨量无关。对于不同脂肪分布对骨密度产生不同作用的原因,目前还无明确说法。芦丁组股骨的组织病理学检查显示骨化、矿化和钙化沉积,所有这些都表明有明显的修复作用,因此表明芦丁起到的保护作用可能是由于骨形成增加和骨吸收减少。众所周知,雌二醇(E2)、骨钙素(OCN)、钙和磷是骨形成标志物^[27]。先前的研究^[17]表明,芦丁的消耗在改善 OVX 大鼠骨矿物质丢失方面比异黄酮更有效,尿排泄后骨吸收标志物(脱氧吡啶啉)减少,成骨活性标记物(骨钙素)增加。在本研究中,结果显示 OVX 大鼠血清 E2 和 1,25(OH)₂D₃ 的水平与假手术组相比显著降低,而芦丁干预显著增加了 E2 和 1,25(OH)₂D₃ 的水平。有趣的是,芦丁治疗以剂量依赖的方式逆转 OVX 大鼠上调的血清 OCN 水平。大量的证据表明,促炎细胞因子如白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)通过增加骨吸收参与骨转换的调节^[28-29]。盛莉等^[30]研究表明,未经治疗的绝经后妇女的骨细胞中,白细胞介素 1(IL-1)、肿瘤坏死因子(TNF)和 IL-6 mRNA 的表达比雌激素替代治疗组更高。该途径反过来会抑制成骨细胞募集和成熟细胞的活性^[31],并增加破骨细胞吸收。在本研究中,芦丁干预以剂量依赖的方式逆转 OVX 大鼠

细胞因子 IL-6、IFN-γ 和 TNF-α 的上调。笔者的研究表明芦丁对于预防卵巢切除术引起的骨质流失有一定的有效性和效果。与假手术组相比,OVX 组右侧股骨 BMD 明显降低,给予 OVX 组大鼠芦丁后则显著恢复了股骨的 BMD,且呈剂量依赖性。陈丽思等^[32]发现粪便和尿钙排泄增加以及钙吸收率降低可能有助于减少 BMD。芦丁可以以剂量依赖的方式抵消大鼠卵巢切除术后诱导的骨量减少。

本研究表明,芦丁改善了因切除大鼠卵巢后引起的骨小梁微结构消失,有助于预防骨量流失,是治疗绝经后骨质疏松症的一种潜在替代治疗剂。

【 参 考 文 献 】

- [1] Krajewski-Hall SJ, Blackmore EM, McMinn JR, et al. Estradiol alters body temperature regulation in the female mouse [J]. *Temperature (Austin)*, 2017, 5(1):56-69.
- [2] Guleken Z, Ozbeyli D, Acikel-Elmas M, et al. The effect of estrogen receptor agonists on pancreaticobiliary duct ligation induced experimental acute pancreatitis [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2017, 68(6):847-858.
- [3] Shimizu S, Matsushita H, Morii Y, et al. A Effect of anthocyanin-rich bilberry extract on bone metabolism in ovariectomized rats [J]. *omed Rep*, 2018, 8(2):198-204.
- [4] Abdul Shukoor MS, Baharudin MTHB, Mat Jais AM, et al. Antidepressant-Like Effect of Lipid Extract of *Channa striatus* in Postpartum Model of Depression in Rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017:1469209.
- [5] Hernández-Munive AK, Rebollo-Solheiro D, Ventura-Aquino E, et al. Reduced Lordosis and Enhanced Aggression in Paced and Non-Paced Mating in Diabetic Female Rats [J]. *J Sex Med*, 2018, 15(2):124-135.
- [6] Abd El-Haleem MR, Selim AO, Attia GM. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate parotid injury in ovariectomized rats [J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(2):204-217.
- [7] Cao J, Ng M, Felmlee MA. Sex Hormones Regulate Rat Hepatic Monocarboxylate Transporter Expression and Membrane Trafficking [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2017, 20(1):435-444.
- [8] Jourkesh M, Choobineh S, Soori R, et al. Effect of combined endurance-resistance training and soy extract supplementation on expression of eNOS gene in ovariectomized rats [J]. *Arch Med Sci Atheroscler Dis*, 2017, 13(2):e76-e81.
- [9] Ono-Ohmachi A, Ishida Y, Morita Y, et al. Milk Basic Protein Facilitates Increased Bone Mass in Growing Mice [J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2017, 63(5):315-322.
- [10] Gatti V, Azoulay EM, Fritton SP. Microstructural changes associated with osteoporosis negatively affect loading-induced fluid flow around osteocytes in cortical bone [J]. *J Biomech*, 2018, 66:127-136.
- [11] Nakao K, Iwata K, Takeshita T, et al. Expression of hypothalamic kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin A

- neurons attenuates in female Zucker fatty rats [J]. *Neurosci Lett*, 2018, 665:135-139.
- [12] Abd El-Haleem MR, Selim AO, Attia GM. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate parotid injury in ovariectomized rats [J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(2):204-217.
- [13] GK, Caldeira de Oliveira TH. Cardiac Hypertrophy and Brain Natriuretic Peptide Levels in an Ovariectomized Rat Model Fed a High-Fat Diet [J]. *Med Sci Monit Basic Res*, 2017, 23: 380-391.
- [14] Estrada CM, Ghisays V, Nguyen ET, et al. Estrogen signaling in the medial amygdala decreases emotional stress responses and obesity in ovariectomized rats [J]. *Horm Behav*, 2018, 98: 33-44.
- [15] Kania N, Widowati W, Dewi FRP, et al. Cinnamomum burmanini Blume increases bone turnover marker and induces tibia's granule formation in ovariectomized rats [J]. *J Ayurveda Integr Med*, 2018, 9(1):20-26.
- [16] Green MR, Marcolin ML, McCormick CM. The effects of ovarian hormones on stressor-induced hormonal responses, glucocorticoid receptor expression and translocation, and genes related to receptor signaling in adult female rats [J]. *Stress*, 2018, 21(2):90-100.
- [17] Babaei P, Shirkouhi SG, Hosseini R, et al. Vitamin D is associated with metabotropic but not neurotrophic effects of exercise in ovariectomized rats [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2017, 9:91.
- [18] Khodamoradi M, Asadi-Shekaari M, Esmacili-Mahani S, et al. Effects of Hydroalcoholic Extract of Soy on Learning, Memory and Synaptic Plasticity Deficits Induced by Seizure in Ovariectomized Rats [J]. *Basic Clin Neurosci*, 2017, 8(5): 395-403.
- [19] Abuhashish HM, Khairy DA, Abdelsalam MM, et al. In-vivo assessment of the osteo-protective effects of eugenol in alveolar bone tissues [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97:1303-1310.
- [20] Ouyang N, Zhang P, Fu R, et al. Mechanical strain promotes osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells from ovariectomized rats via the phosphoinositide 3kinase/Akt signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1):1855-1862.
- [21] Bachagol D, Joseph GS, Ellur G, et al. Stimulation of liver IGF-1 expression promotes peak bone mass achievement in growing rats: a study with pomegranate seed oil [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 52:18-26.
- [22] Elsayed AA, Menze ET, Tadros MG, et al. Effects of genistein on pentylene tetrazole-induced behavioral and neurochemical deficits in ovariectomized rats [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2018, 391(1):27-36.
- [23] Iwasa T, Matsuzaki T, Yano K, et al. The effects of ovariectomy and lifelong high-fat diet consumption on body weight, appetite, and lifespan in female rats [J]. *Horm Behav*, 2018, 97:25-30.
- [24] Kim HJ, Lee WJ. Low-intensity aerobic exercise training: inhibition of skeletal muscle atrophy in high-fat-diet-induced ovariectomized rats [J]. *J Exerc Nutrition Biochem*, 2017, 21(3):19-25.
- [25] Gingery A, Iwaniec UT, Subramaniam M, et al. Skeletal and Uterotrophic Effects of Endoxifen in Female Rats [J]. *Endocrinology*, 2017, 158(10):3354-3368.
- [26] Moazen P, Taherianfard M, Ahmadi Soleimani M, et al. Synergistic effect of spexin and progesterone on pain sensitivity attenuation in ovariectomized rats [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(4):349-354.
- [27] Kang YJ, Choi MJ. Liver Antioxidant Enzyme Activities Increase After Taurine in Ovariectomized Rats [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017(975 Pt 2):1071-1080.
- [28] 宋文琦, 梁洁, 苏玉林, 等. 三种膳食结构对去卵巢大鼠骨量和骨结构的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(10): 1183-1186.
- [29] 杨国大, 宋国胜, 张涛, 等. 牛膝提取物对去卵巢大鼠骨密度、骨转换及 I 型胶原蛋白表达的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2011, 17(2):109-112.
- [30] 盛莉, 邢国胜, 王毅, 等. 熟地对去卵巢大鼠骨代谢生化指标及骨密度的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2006, 5(2): 496-498.
- [31] 雷鸣, 刘晓峰, 刘春颖, 等. 唑来膦酸对人羊膜间充质干细胞移植治疗去卵巢大鼠骨质疏松协同效应研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 9(2):15-19.
- [32] 陈丽思, 黄志蓉, 吴海清, 等. 辅酶 Q10 对去卵巢大鼠股骨显微结构及生物力学的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(8):2-5.

(收稿日期: 2018-10-06; 修回日期: 2018-10-25)