

熟地黃이 卵巢摘出로 閉經이 誘發된 흰쥐에 미치는 影響

조수인^{#*}

동신대학교 한의과대학 본초학교실

Effects of the Rehmanniae Radix Preparat on Ovariectomized Rats

Su-In Cho^{#*}

Dept. of Herbology, College of Korean Medicine, Dongshin University

ABSTRACT

Objectives : Obese and osteoporosis are diseases characterized by bone loss and morbidity with osteoporotic fracture is increasing in elderly. The present study was carried out to determine the effects of Rehmanniae Radix Preparat(RRP) on the postmenopausal obese.

Methods : The variance of body weight, femoral bone weight, serum level of cholesterol and microscopic view of tibia were investigated. Animals were observed for 8 weeks, and vehicle and extracts of prescriptions were administered ad libitum.

Results : Body weight increased significantly in 6 weeks after ovariectomy, and the weight of RRP administered group decreased significantly. RRP decreased the serum level of cholesterol.

Conclusions : According to above results, RRP can be used for prevention and curing the postmenopausal obese.

Key words : Menopause, obese, osteoporosis, Rehmanniae Radix Preparat.

#, * 제1저자, 교신저자 : 조수인. 전라남도 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 본초학교실.

E-mail : sicho@dsu.ac.kr 전화 : 061-330-3513, Fax : 061-330-3519

· 접수 : 2005년 10월 21일 · 수정 : 2005년 12월 15일 · 채택 : 2005년 12월 20일

서 론

인간의 평균 수명이 늘어나면서부터 여성에서의 폐경과 같은 연령과 관련된 질병의 치료와 예방에 대한 대책들이 관심의 대상이 되고 있다¹⁾. 이와 관련한 에스트로젠의 분비 부족으로 골다공증 및 심혈관질환 등 치명적인 결과를 초래할 수 있는 질환들이 속발되며 의학계 뿐만 아니라 민간 요법에서도 에스트로젠 보충치료에 대한 관심이 늘어나고 있다. 이 중 골다공증은 골형성보다 골흡수가 증가되어 발생하는 대사성 골질환²⁻⁴⁾으로, 주증상은 배부동통, 신장의 감소, 척추의 변형, 골절 등^{2, 3, 5)}이고, 노인성과 폐경기 후 나타나는 원발성 골다공증과 내분비 이상, 영양결핍 등의 원인으로 나타나는 속발성 골다공증으로 분류된다^{5, 6)}. 그 중 폐경기후 골다공증은 폐경 후 estrogen의 급격한 감소로 인해 발생하는데 골다공증의 유병율이 남성에 비해 여성에게서 높은 것은 이 여성호르몬이 골대사과정에서 매우 중요한 요소이기 때문이다⁶⁻⁹⁾.

韓醫學에서는 《素問·宣明五氣論》¹⁰⁾에 “腎主骨”, 《素問·生氣通天論》¹⁰⁾에 “腎氣乃傷…高骨乃壞”라 하여 뼈는腎과 밀접한 관계가 있다고 하는 등 이와 유사한 여러 기록들¹⁰⁻¹²⁾을 많이 접할 수 있다.

이러한 腎과 骨의 관계에 대한 기본적인 인식 아래 골다공증의 치료법으로는 補腎法이 기본인 滋陰壯骨·助補肝腎·溫補脾腎·溫陽壯骨·補腎壯陽·滋陰補腎 등이 사용되고 있다¹³⁾.

본 실험에 사용된 熟地黃은 玄蓼科에 속한 다년생 초본인 지황 또는 중국의 회경지황의 뿌리에 해당되며 補血滋陰·補精益髓의 효능이 있다¹⁴⁾

熟地黃에 관한 연구로는 제조 방법을 포함한 많은 연구 결과들¹⁵⁻²³⁾이 보고된 바 있으나, 熟地黃이 부인과 질환에 많이 응용되고 있는 것으로 미루어 閉經과 관련된 골다공증 등과 같은 증상에도 응용될 수 있을 것으로 생각되나 아직 이에 관한 연구는 발표된 바 없다.

이에 저자는 熟地黃 추출물을 재료로 흰쥐의 난소를 절제하여 estrogen 결핍으로 인한 인공 폐경 병태 모델을 만들고 위의 熟地黃 추출물을 8주간 투여하여 체중의 변화, 체중에 대한 대퇴골 무게 비율, 혈청 중 cholesterol 함량 변화 및 경골의 조직 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재 료

1) 동물

체중 180g 내외의 Sprague-Dawley 계 암컷 흰쥐를 대한실험동물(한국)에서 공급받아 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 2주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 熟地黃은 九蒸九晒한 것(송산제약, 광주, 한국)을 구입하여 본 대학 본초학교실에서精選된 것을 사용하였다.

2. 방 법

1) 검액의 제조

熟地黃 200g을 증류수 1,500ml와 함께 전기 약탕기(DWP-1800T, 대웅, 한국)로 100℃에서 2시간 전당한 후 추출액을 부직포를 이용하여 찌꺼기를 제거한 후 동결 건조기(SFDSM06, 삼원, 한국)를 이용하여 75.5g의 건조 추출물을 얻었다. 이들을 냉동실에 신선하게 보관하였다가 회석하여 사용하였다.

2) 수술 및 약물 투여 방법

난소 절제를 위한 수술은 복부 정중선 피부만 절개하여 개복한 군(sham-operation group, 정상군), 양쪽의 난소를 절제한 군(ovariectomized group, 대조군), 양쪽의 난소를 절제하고 약물을 처치한 군(ovariectomized and RRP administered group, 실험군)으로 나누어 pentobarbital sodium(Entobar, 한림 제약)으로 마취(50mg/kg, I.P.)한 다음 실시하였다. 정상군은 복부를 면도한 후, 복부 정중선을 따라 약 2cm의 피부 및 근육절개 후 바로 봉합하였으며, 대조군과 실험군은 양측의 난소를 제거한 후 피부와 근육을 봉합하였다. 수술 후 모든 실험 동물은 감염을 방지하기 위해 gentamycin sulfate 주사액(겐타마이신주, 동신제약)을 1회 투여(0.2mg/kg, I.M.)하였고 정제수를 식수로 공급하였다. 수술 후 대조군은 아무 것도 투여하지 않았고 실험군은 熟地黃 추출물을 0.05% 농도로 회석하여 급수기를 통해 자유로이 섭취하도록 하였다.

3) 체중의 변화 및 체중에 대한 대퇴골 무게 비율

수술 후 매 2주마다 실험 동물의 체중을 관찰하였으며 8주째에 실험 동물을 ether를 이용하여 희생시킨 후 체중과 대퇴골의 무게를 측정하였다. 희생 후 난소가 완전히 제거되었는지 확인하기 위하여 복강 절제 후 자궁을 관찰하였다.

4) 혈액 채취

혈청 성분의 변화를 관찰하기 위하여 심장 천자를 통해 채혈하였으며, 이를 4°C에서 1시간 방치한 후 원심분리기를 이용하여 1,200×g에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하여 혈청 중 여러 대사 산물의 측정에 이용하였다.

5) 혈청 중 cholesterol 함량 측정

혈청 중 cholesterol 함량은 측정용 kit(아산제약, 한국)와 분광광도계를 사용하여 측정하였다.

6) 경골의 조직학적 소견

흰쥐의 심장을 통하여 관류고정(4% paraformaldehyde)을 한 다음 왼쪽 경골을 적출하였다. 적출된 경골은 고정액이 첨가된 탈회용액 속에 넣고 교반하면서 12일간 탈회하였다. 탈회가 끝난 다음 paraffin으로 포매한 후 microtome을 사용하여 경골(tibia)의 근위부(proximal region) 부위를 10µm 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 통상적인 방법으로 파라핀을 제거한 후 함유과정을 거쳤다. Periodic acid-Schiff(PAS) 염색을 한 다음 hematoxylin으로 대조 염색하고 Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

7) 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하여 p값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 체중의 변화

난소 제거 수술 전 각 군의 체중은 sham operation만을 시행한 정상군의 경우 체중이 190±4.6g에서 이후 2주 간격으로 208±5.3g, 221±6.3g, 234±7.2g 및 242±4.6g으로 증가하였다. 이에 비해 난소를 절제한 후 아무런 처치를 하지 않은 대조군은 192±7.3g에서 218±6.2g, 238±6.1g, 268±5.0g 및 292±4.7g으로 증가하여 정상군에 비해 수술 후 6주째부터 체중의 차이가 나타났다. 실험군의 경우 192±4.3g에서 214±5.1g, 224±6.5g, 243±7.6g 및 257±8.3g으로 나타나 대조군에 비해 8주째에 체중의 감소가 있었다(Fig. 1).

2. 체중에 대한 대퇴골 무게 비율

수술 후 8주 후 희생시켜 측정된 체중에 대한 대퇴골의 무게는 정상군의 경우 0.73±0.04%, 대조군에서는 0.65±0.10%로 두 군 간 평균의 차이는 없었으며, 실험군에서는 0.69±0.08%로 나타나 대조군과 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2).

3. 혈청 중 cholesterol 함량

혈청 중 cholesterol 함량은 정상군이 67.8±3.2mg/dl 이고, 대조군에서는 89.2±3.6mg/dl 로 유의하게 증가하였다. 실험군에서는 69.5±4.3mg/dl로 나타나 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

4. 경골의 조직학적 소견

정상군 흰쥐의 골세포들은 세포질 돌기가 매우 발달되어 골세관(canaliculi)을 통하여 이웃한 골세포의 세포질돌기와 연결을 하고 있다(Fig. 4-A). 대조군의 골세포의 밀도는 정상군과 유사하게 나타났으나 골세포의 세포질돌기의 발달은 정상군에 비하여 다소 미약하였다(Fig. 4-B). 실험군에서의 골세포는 핵의 형태가 뚜렷하고 세포질은 PAS에 대하여 염색성이 가장 높게 나타났으며 다수의 세포질 돌기를 갖고 있었으나 골세포의 배열은 다소 불규칙적이었다(Fig. 4-C).

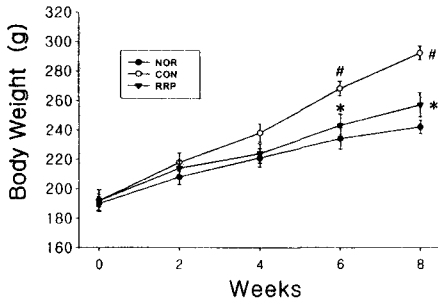


Fig. 1. The effect of Rehmanniae Radix Preparat(RRP) on body weight of ovariectomized rats. NOR, sham operated group : CON, ovariectomized group : RRP, ovariectomized and RRP administered group : #, statistically different when compared with normal group : *, statistically different when compared with control group.

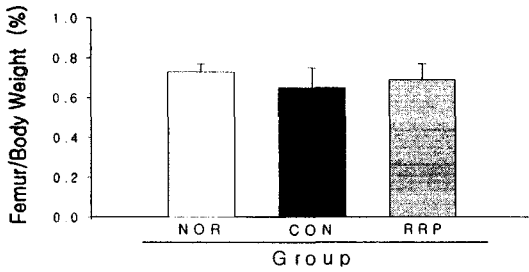


Fig. 2. The effect of RRP on femur/body weight in ovariectomized rats. NOR, sham operated group : CON, ovariectomized group : RRP, ovariectomized and RRP administered group.

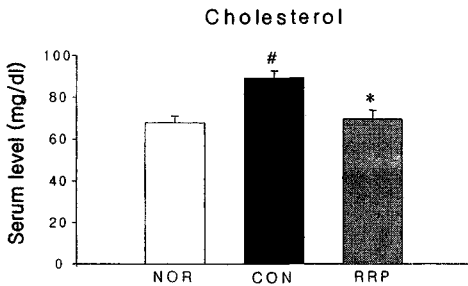


Fig. 3. The effect of RRP on serum level of cholesterol in ovariectomized rats. NOR, sham operated group : CON, ovariectomized group : RRP, ovariectomized and RRP administered group : #, statistically different when compared with normal group : *, statistically different when compared with control group.

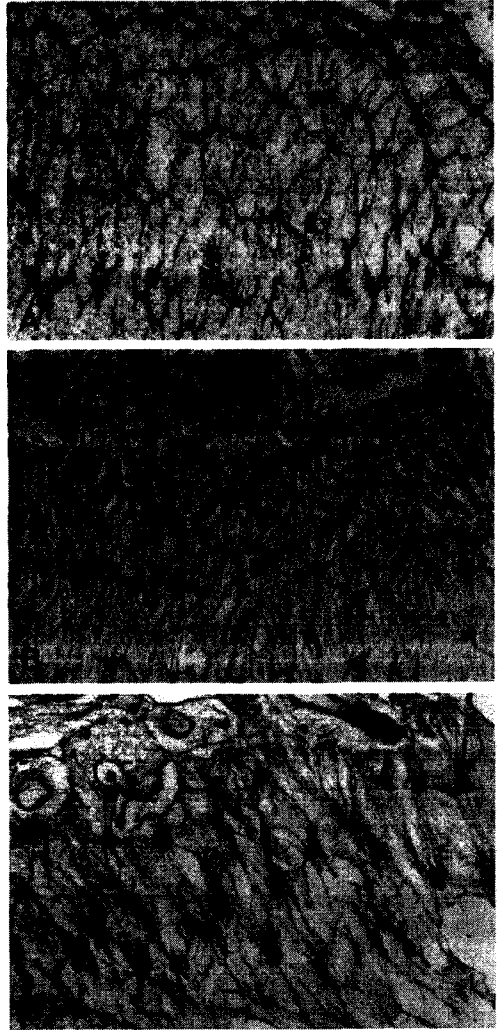


Fig. 4. Light micrograph of proximal region of tibia from normal(A), control(B) and sample(C). PAS-stain $\times 200$.

고찰

노인성과 폐경기 후 나타나는 원발성 골다공증과 내분비 이상, 영양결핍 등의 원인으로 나타나는 속발성 골다공증으로 분류되며^{5, 6)} 특히 골 소실에 가장 중요한 요인은 estrogen의 결핍인데, estrogen의 결핍은 폐경기 여성이나 자궁적출을 한 여성의 주요한 골다공증 요인이 되며 자궁적출을 한 여성은 자연 폐경된 여성에 비해 골밀도가 유의성 있게 저하되어 골다공증으로 인한 골절의 위험성이 더욱 높아진다^{6,24,25)}.

韓醫學에서는 《素問·宣明五氣論》¹⁰⁾에 “腎主骨”, 《素問·生氣通天論》¹⁰⁾에 “腎氣乃傷…高骨乃壞”라

하여 뼈는 腎과 밀접한 관계가 있다고 하였으며¹¹⁾ 골다공증이라는 병명을 직접 표현하지는 않았으나, 《素問·痿論》¹⁰⁾에 “腎氣熱則 腰脊不舉 骨枯而髓減 發爲骨痿 腎生骨髓 在體爲骨 腎氣熱而 精液竭 則髓減 骨枯而發爲骨痿也.”라 하여 原因, 機轉, 症狀을 감안하여 볼 때 骨痿, 骨痺, 骨枯 등의 범위에 속한다¹²⁾.

본 실험에 사용된 熟地黄은 玄蓼科에 속한 다년생 초본인 지황 또는 중국의 회경지황의 뿌리에 해당되는데, 生地黄은 지황의 신선한 塊根이며 熟地黄은 이 塊根에 黃酒를 고르게 뿌려 九蒸九晒한 제품으로, 甘·微溫·無毒하여 補血滋陰·補精益髓의 효능이 있다^{14, 26)}.

地黄은 《神農本草經》²⁷⁾에 “乾地黄, 味甘寒, 主折跌, 絕筋, 傷中, 逐血痺, 填骨髓, 長肌肉, 除寒熱積聚, 除痺, 生者尤良, 久服輕身不老, 一名地髓, 生川澤.”이라 하여 生地黄과 乾地黄으로 구분되어 기재되어 있고, 《本草圖經》²⁸⁾에서 “二月, 八月, 採根, 蒸三日, 令爛暴乾, 謂之熟地黄, 陰乾者, 謂之生地黄.”이라 기록되어 熟地黄, 生地黄, 乾地黄으로 분류되었다.

熟地黄은 甘·微溫·無毒하여 補血滋陰·補精益髓의 효능이 있어 肝腎陰虛와 血虛로 인한 腰膝酸軟, 骨蒸潮熱, 盜汗遺精, 內熱消渴, 血虛萎黃, 心悸怔忡, 月經不調, 崩漏下血, 眩暈, 耳鳴, 鬚髮早白 등의 치료에 응용되고 있다^{14, 26)}.

본 연구에서는 補血滋陰·補精益髓하는 熟地黄이 폐경에 의한 골다공증 등의 신체 증상에 미치는 영향을 알아보기 위해 흰쥐의 난소를 절제하여 estrogen 결핍으로 인한 인공 폐경 병태 모델을 만들고 熟地黄 추출물을 8주간 자유로이 섭취하게 한 후, 체중의 변화, 체중에 대한 대퇴골 무게 비율, 혈청 중 cholesterol 함량 변화 및 경골의 조직 변화를 관찰하였다.

일반적으로 난소를 적출한 쥐의 체중은 증가하고, estrogen의 투여는 체중 증가를 억제한다^{29, 30)}고 하며, 난소를 적출한 흰쥐에게 estrogen을 투여한 결과, 대조군에 비하여 체중이 정상 혹은 그 이하였다는 보고^{31, 32)}도 있다. 본 실험에서는 대조군의 체중이 정상군에 비해 난소 적출 6주째부터 유의하게 증가하였고 이에 대해 실험군에서는 대조군에 비해 6주째부터 유의한 체중의 감소를 보였다(Fig. 1).

체중에 대한 대퇴골의 무게 비율은 난소 적출로 인한 체중 증가의 영향을 받아 정상군에 비해 대조군에서 감소하는 경향을 보였으나 유의하지는 않았으며, 실험군에서는 대조군에 비해 증가하는 경향은 있었으나 역시 유의성은 없었다(Fig. 2).

폐경 후 여성에게서 나타나는 estrogen의 결핍은 골 흡수를 증가시켜 골다공증을 유발시킬 뿐만 아니라 지질 대사에도 영향을 미쳐 동맥경화성 혈관질환, 특히 관상동맥 심질환을 유발할 가능성이 증가된다. 그러므로 폐경 후 여성이나 난소를 적출한 여성에게 투여될 약물은 혈청 내 지질을 증가시키지 않아야 한다. 혈청 내 주요 지질로는 cholesterol과 triglyceride 등이 있는데 혈청 내 cholesterol 대부분은 LDL-cholesterol이므로 혈청 내 cholesterol의 증가는 관상동맥 심질환의 위험도를 증가시킨다³³⁾. 본 실험 결과 혈청 중 cholesterol 함량은 정상군에 비해 대조군에서 유의하게 증가하였으며, 실험군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 감소시켰다(Fig. 3). 그러므로, 熟地黄 추출물의 섭취가 혈청 중 지질을 증가시키지 않는다는 것을 알 수 있었고 또한 estrogen 결핍으로 인하여 발생할 수 있는 동맥경화성 혈관 질환을 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

경골의 조직 변화에 있어서 대조군에서는 정상군에서 보다 골세포의 세포질돌기의 발달이 미약한데 비해 실험군에서의 골세포는 핵의 형태가 뚜렷하고 세포질은 PAS에 대하여 염색성이 가장 높게 나타났으며 다수의 세포질 돌기를 갖고 있었으나 골세포의 배열은 다소 불규칙하였다(Fig. 4).

이상의 실험 결과를 통해 補血滋陰·補精益髓의 효능을 지닌 熟地黄은 난소 절제된 흰쥐의 체중감소, 혈청 중 cholesterol 함량의 감소 및 경골 조직의 상태 개선 등의 효과를 보여 熟地黄이 난소 절제된 흰쥐의 폐경과 관련된 몇몇 증상의 개선에 유효한 작용을 하고 있음을 증명하였다. 폐경은 노화의 과정에서 겪게 되는 자연스러운 현상이지만 경우에 따라서 이에 수반하는 각종 질환에 노출되며 이러한 과정을 문제없이 보내기 위해서는 규칙적인 운동과 고 calcium 식이를 하면서 증상 완화에 도움이 되는 약물을 꾸준히 복용하는 것이 최선의 방법이 될 수 있을 것이며, 한약재의 이용도 함께 병행된다면 더욱 건강한 폐경 이후의 삶을 유지할 수 있을 것으로 생각된다.

결론

熟地黄 추출물의 폐경과 관련된 증상들의 개선에 대한 효과를 관찰하기 위해 흰쥐의 난소를 적출로 폐경을 유발한 후 추출물을 8주간 섭취토록 하여 체중의 변화, 체중에 대한 대퇴골 무게 비율, 혈청 중 cholesterol 함량, 경골 조직의 변화를 측정된 결과 다

음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중의 변화는 실험군에서 6주 이후부터 대조군에 비해 유의한 감소가 있었다.
2. 체중에 대한 대퇴골의 무게 비율은 실험군에서 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.
3. 혈청 중 cholesterol 함량 변화는 실험군에서 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다.
4. 추출물 투여로 골세포 핵의 형태가 뚜렷하였고 세포질은 PAS에 대하여 염색성이 가장 높게 나타났으며 다수의 세포질 돌기를 갖고 있는 것이 관찰되었다.

참고문헌

1. 이영진, 홍민. 갱년기증후군 환자의 Hormone Replacement Treatment에 대한 혈중지질의 변화. 대한산부학회지. 1996 ; 39(10) : 1899-1904.
2. 해리슨 번역 편찬위원회. HARRISON'S 내과학. 서울 : 도서출판 정담. 1997 : 2312-2313, 2342-2343.
3. 민용기, 정호연, 장학철, 한인권. 이중에너지 방사선 흡수계측기로 측정된 한국인 여성의 측면요추 골밀도. 대한골대사학회지. 1994 ; 1(1) : 70-76.
5. 대한정형외과학회. 정형외과학. 서울 : 대한정형외과학회. 1993 : 15-23, 133-135.
6. 대한골대사학회, 골다공증(골조송증), 서울 : 최신의학사, 1991 : 3-7, 27-36, 47-56, 60-63, 69-79.
7. 고석봉. 폐경기 증상과 양측 난소제거술이 골밀도에 미치는 영향. 대한산부인과학회지. 1994 ; 37(10) : 2037-2046.
8. 문명상, 최영길, 장준섭, 이수균, 김광원. 골다공증(골조송증). 서울 : 최신의학사. 1997 : 1, 27-29, 32-37, 52-56.
9. 변영순. 신공법, 골다공증이란 무엇인가. 서울 : 도서출판 정담. 1997 : 15-20, 43-45, 49-50, 70-73.
10. 楊維傑. 黃帝內經素問譯解. 서울 : 성보사. 1980 : 6, 52, 89, 90, 104, 210, 269, 337, 338, 340, 399.
11. 양석현. 紫河車 및 酵素療法이 난소적출로 유도된 흰쥐의 골다공증에 미치는 영향. 우석대학교 대학원 박사학위 논문. 2000.
12. 김종환. 골다공증에 관한 문헌적 고찰-주로 최근의 한의학적 임상 및 실험논문을 중심으로. 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 437-454.
13. 이진혁, 유동열. 골다공증에 응용되는 數種의 筋骨藥物에 대한 文獻的 考察. 대한한방부인과학회지. 1999 ; 12(1) : 105-124.
14. 신민교. 임상본초학. 서울 : 영림사. 2000 : 248-254.
15. 문성호, 이영중. 熟地黃의 제조방법에 따른 소화작용에 관한 비교연구. 대한본초학회지. 2001 ; 16(2) : 65-77.
16. 시진국, 손영중, 이영중. 熟地黃 제조 방법에 따른 당류함량의 변화. 대한본초학회지. 1999 ; 14(2) : 1-11.
17. 이영중. 시판 熟地黃 제제의 성분 정량에 관한 연구. 대한본초학회지. 1998 ; 13(2) : 1-6.
18. 류도곤, 노진구. 熟地黃煎湯液이 정상 백서와 실험적 腎性 고혈압 백서 및 자발성 고혈압 백서의 신장기능에 미치는 영향. 대한동의생리학회지. 1994 ; 9(1) : 27-42.
19. 김경식, 박정배. 지황(地黃) 수침이 실험적 신성(腎性) 고혈압 백서(白鼠)의 신장 기능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1994 ; 11(1) : 225-239.
20. 김윤상, 조웅행. 熟地黃이 고과당사료를 식이한 쥐의 혈액상에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003 ; 18(1) : 73-78.
21. 마진열. Cyclophosphamide로 Rat에 유도된 악성 빈혈에 대한 熟地黃의 증(蒸)수에 따른 치료효능에 관한 연구. 생약학회지. 2000 ; 31(3) : 325-334.
22. 정덕진, 서영배. 熟地黃의 造血作用에 대한 실험적 연구. 大韓本草學會誌. 2001 ; 16(1) : 73-89.
23. 안상원, 이철완. 숙지황(熟地黃)과 육미지황탕(六味地黃湯)이 노화과정 흰쥐에서의 항산화 기전에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1999 ; 8(1) : 593-623.
24. 아주대학교 갱년기연구회. 최신 갱년기 관리. 서울 : 연구사. 1996 : 31 : 109-146.
25. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학(제3판). 서울 : 갈빈서적. 1991 : 330-331.
26. 全國韓醫科大學本草學教授共編著. 本草學. 서울 : 영림사. 1991 : 190-192, 580-581.
27. 孫星衍, 孫馮翼 輯. 神農本草經. 臺北 : 五洲出版社. 1985 : 42-43.
28. 蔣頌 撰, 尙志均 輯校. 本草圖經. 合肥市 : 安徽科學技術出版社. 1994 : 80-81.
29. Dike NK, Bahran HA, Chung CL, Mohammed AS and Roger SB. Effects of ovariectomy and estrogen on the serum levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor

- binding protein-3, Bone and Mineral, 1994 : 25 : 135-148.
30. Aitken, Armstrong, Anderson. Osteoporosis after oophorectomy in the mature female rat and the effect of estrogen and/or progestogen replacement therapy in its prevention. J. Endocr. 1972 : 55 : 79-87.
31. Abe T, Chow JWM, Lean JM and Chambers TJ. Estrogen does not restore bone lost after ovariectomy in the rat. Bone and Mineral. 1993 : 8(7) : 831-838.
32. James K Y, John FA and Maria L. Effects of 17β -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bones of the ovariectomized rat. Bone and Mineral. 1994 : 24 : 223-224.
33. 강세윤. 오늘의 진단 및 치료(Current Medical Diagnosis & Treatment). 서울 : 도서출판 한우리. 2000 : 1218, 1295-1296.