

·基础研究·

低强度全身振动与阿仑膦酸钠防治去势大鼠骨质疏松的对比研究*

陈国仙¹ 林宗锦¹ 李国山¹ 曾清东¹ 陈伟义¹ 林卫挺¹

摘要

目的:对比分析低强度全身振动与阿仑膦酸钠防治去势大鼠骨质疏松效果。

方法:104只SD大鼠随机分为对照组(sham组)、卵巢摘除术+注射生理盐水组(OVX+VEH组)、卵巢摘除术+全身振动组(OVX+WBV组)和卵巢摘除术+阿仑膦酸钠组(OVX+ALE)。OVX+VEH组是单纯卵巢切除后给予生理盐水(1mg/kg,每周灌胃1次);OVX+WBV组是切除卵巢后给予全身振动(振动强度为0.3g,频率为45—55Hz,每次振动20min,每天1次,每周5次,休息间隔不大于2d,共12周);OVX+ALE组是切除卵巢后给予阿仑膦酸钠(1mg/kg,每周灌胃1次);定期收集标本,测定血清中骨钙素(osteocalcin, OC)和I型胶原C端交联肽(CTX)水平,micro-CT检查分析和三点弯曲生物力学检测。

结果:血清中OC和CTX在卵巢切除后均增加显著($P<0.001$),WBV和ALE治疗组对OC影响不大,但ALE能够显著抑制血清CTX的增加。在实验12周时,与WBV治疗组比,ALE治疗组更能够显著提高胫骨近端松质骨的骨微结构参数[BV/TV(+25.3%, $P=0.004$), TV apparent (+60.3%, $P<0.001$), BV material (+28.4%, $P=0.044$), Tb. N (+15.6%, $P=0.001$), and Tb. Th (+16.9%, $P=0.037$)。在实验12周时,与OVX+WBV治疗组对比时,OVX+ALE治疗组能够提高胫骨的最大载荷、骨的刚度参数和骨的吸收能量,但差异无显著性意义。

结论:相对于低强度全身振动,阿仑膦酸钠能够更好的防治去势大鼠骨质疏松和改善骨的微结构。

关键词 全身振动;阿仑膦酸钠;骨质疏松症;预防

中图分类号:R493,R681 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2016)-10-1060-07

The different effect between low-magnitude whole-body vibration and alendronate in ovariectomized rats/
CHEN Guoxian, LIN Zongjin, LI Guoshan, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31
(10): 1060—1066

Abstract

Objective: To investigate the different effect between low-magnitude whole-body vibration(WBV) and alendronate(ALE) on bone properties in ovariectomized rats.

Method: A total of 104 SD rats were randomly divided into four groups (sham, OVX+VEH, OVX+WBV, OVX+ALE). The level of WBV applied was 0.3g at 45—55Hz for 20 min/d, 5d/week and for 12 weeks. ALE was administered in dose of 1 mg/kg once a week. Every 4 weeks 8 rats from each group were sacrificed and their blood and both tibiae were harvested. The expression of osteocalcin(OC) and C-terminal cross linked telopeptides of type I collagen(CTX) in serum was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the tibiae were subjected to metaphyseal three-point bending and micro-CT analysis.

Result: OC rose after ovariectomy and was not appreciably changed by either ALE or WBV alone or in combination. ALE treatment significantly prevented an increase of CTX. Compared with the OVX+WBV group,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.10.003

*基金项目:福建省医学创新课题资助项目(2014-CXB-31);福建莆田市科技局资助项目(2012S01)

1 福建医科大学莆田市第一医院教学医院骨科,福建莆田市,351100

作者简介:陈国仙,男,博士,副主任医师;收稿日期:2015-04-05

nearly all tested indices such as the BV/TV, TV apparent, Tb.N, Tb.Th, and Conn.D were higher in the OVX+ALE group at week 12. At week 12, tibiae treated with ALE exhibited a significantly higher Fmax, energy absorption and stiffness compared to the OVX+WBV group, but there was no significant difference.

Conclusion: Compared with the WBV, ALE was more effective at preventing bone loss and improved the trabecular architecture.

Author's address Department of Orthopedic, the First Hospital of Putian City, Putian, 351100

Key word whole-body vibration; alendronate; osteoporosis; prevention

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种全身性骨骼系统疾病,其以骨组织微结构退变,骨量减少,致使骨强度下降,骨脆性增加以及骨折风险增大为特征^[1]。随着社会人口老龄化,OP成为老年人群常见的疾病,严重危害其健康,因此寻找更有效方法来满足不同人群对骨质疏松防治的需要是目前研究的重要内容之一。阿仑膦酸钠(Alendronate, ALE)是第三代二膦酸盐类药物的代表药物,也是临床上使用最为广泛的抗骨质疏松药物。ALE防治骨质疏松的机制^[2-3]是通过抑制破骨细胞的活性,减少其骨吸收的面积,从而增加骨密度和抑制骨转换,缓解或减轻骨质疏松性疼痛,但其若长期应用可抑制骨矿化,还有一些不良反应,主要是胃肠道反应,如腹痛、腹泻、呕吐、恶心等。随着社会经济的发展和医疗模式的转变,在关注药物治疗的同时,越来越多的关注已转向了非药物的措施。振动作为一种特殊的力学刺激,其在防治骨质疏松方面受到越来越多的关注。目前短时间、低强度、高频率的全身振动(whole-body vibration, WBV)已被广泛用于防治OP的研究。在动物及临床实验中^[4-13],WBV均有程度不等的增加骨量效果,而且没有明显副作用^[14],使得其在骨质疏松的防治方面具有潜在的应用前景,被认为是一种安全有效的、新型的防治方法。但目前关于WBV与ALE防治绝经后骨质疏松的疗效有何区别未进行详细研究。本实验的目的是通过Micro-CT和生理力学检测,从骨的微结构和力学上对比分析ALE和WBV防治骨质疏松的效果。

1 材料与方法

1.1 实验主要仪器和试剂

复合振动仪(南方医科大学南方医院专利申请号:200710026393.3),生物材料实验机(Electroplus E1000 Test System, Instron公司);u-CT 80图像分

析系统(Image Proplus 5.01, Scanco Medical AG公司);灌胃针(广州动物器械公司);ElecSys2010电化学发光免疫分析仪(Roche公司);骨钙素检测试剂盒,I型胶原C端交联肽检测试剂盒(Cusabio公司);戊巴比妥钠(广州化学试剂公司);阿仑膦酸钠(默沙东公司)。

1.2 实验动物

8周龄雌性未育SD大鼠104只,体重 180 ± 20 g,由广东省实验动物中心提供(SPF级),合格证号:SCXK(粤)2012-0002。

1.3 实验分组

实验大鼠按顺序进行编号,4只SD大鼠住一笼,在我们实验室适应性喂养1周后,按照数字随机法进行实验分组,对照组(sham group)、卵巢切除后未干预组(OVX+VEH)、卵巢切除后振动预防组(OVX+WBV)和卵巢切除后阿仑膦酸钠预防组(OVX+ALE)。正常对照组大鼠为32只,后3组大鼠每组均为24只。卵巢切除1周后才施行振动和药物干预。

1.4 实验干预方法

卵巢摘除建立大鼠骨质疏松模型:2%戊巴比妥钠 30mg/kg 腹腔内注射麻醉,麻醉起效后,首先鼠背侧备皮,常规消毒、铺巾,取大鼠背侧切口入路,Sham组仅切除卵巢旁1小块脂肪,其余两组完整切除双侧卵巢,生理盐水冲洗伤口后,腹腔内注射0.4%头孢哌酮1ml以预防感染,然后逐层关闭切口。

干预:sham组和OVX+VEH组不进行振动干预,但将这两组的实验大鼠置于与振动相同面积围栏和相同环境内自由活动,放置的时间同振动组。并且OVX+VEH组每周给予生理盐水灌胃1次(1mg/kg);OVX+WBV组在术后1周切口愈合后振动。振动参数:振动强度为0.3g,频率为45—55Hz,每次振动20min,每天1次,1周5次,休息间隔不大

于2天,实验时间12周;OVX+ALE组在术后1周后每周给予阿仑膦酸钠灌胃1次(1 mg/kg),实验时间12周。

1.5 检查指标及检验方法

主要观察指标:正常对照组(sham组)于实验前(即实验0周时)随机选择8只大鼠进行取材检测骨微结构、骨生物力学测试及骨转化标志物,然后于实验4周、8周和12周时每组随机选择8只实验大鼠取材检测上述3个指标。

1.5.1 骨微结构:标本处理:实验时间点到时随机选择8只实验大鼠处死后,取大鼠左侧胫骨,剔尽软组织,剪除胫骨远端,80%酒精固定。扫描兴趣区为胫骨近端骺板下2mm远端2mm范围内松质骨。断层扫描后,3D重建,去除骨皮质影像,分析软件定量分析。测量参数:骨小梁数量(trabecular number, Tb. N)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb. Th)、骨小梁分离度(trabecular separation/spacing, Tb. Sp)、结构模型指数(structure model index, SMI)、连接密度(connective density, Conn. D.)、骨体积分数(bone volume, BV/total volume, TV)。

1.5.2 骨生物力学测试:标本处理:实验时间点到时随机选择8只实验大鼠处死后,取出大鼠右侧胫骨,剔尽软组织,0.9%氯化钠溶液纱布包裹。20℃冰箱保存。三点弯曲力学测试实验前1天室温下解冻,解冻及后期处理过程中0.9%氯化钠溶液保持骨湿润,尽可能减少干燥对骨力学性能影响。参数获取:胫骨近端骨的最大应力(Fmax, N)、胫骨近端骨破坏的吸收能量(energy absorption, mJ)和骨骼刚度(stiffness, N/mm)。

1.5.3 骨转化标志物检测:标本处理:实验时间点到时随机选择8只实验大鼠,将实验大鼠进行腹腔内注射2%戊巴比妥钠来麻醉,待麻醉起效后行穿刺心脏采血,采血量约为6—8ml,静置1h后,低温(4℃)离心(3000r/m)10min分离血清后,-80℃冰箱保存。OC及CTX检测由Elecsys2010电化学发光免疫分析仪进行。检测项目:骨钙素(osteocalcin, OC)和I型胶原c端交联肽(C-terminal cross-linked telopeptides of type I collagen, CTX)。

1.6 统计学分析

SPSS13统计软件包统计,骨转换标志物、骨生

物力学和骨微结构参数值以均数±标准差表示。两组之间比较采用两独立样本 t 检验,多组间独立样本比较采用单向方差分析, $P<0.05$ 时为统计学有显著性差异。

2 结果

手术、灌胃及振动干预期间各组大鼠无死亡脱落,数据无缺失剔除。实验过程中所有大鼠无明显异常。振动组大鼠约经3—4d适应振动后,于振动平台上活动无异常。

2.1 骨的微结构

Micro-CT扫描骨微结构结果(见图1),在实验4周和8周时OVX+VEH组、OVX+WBV治疗组和OVX+ALE治疗组无显著性差异,但在实验12周时他们之间有很多指标有显著性差异。在实验12周时,与OVX+VEH组对比,OVX+WBV治疗组BV/TV(+38.1%, $P<0.001$), Tb.N(+12.3%, $P=0.015$), Tb.Th(+33.7%, $P=0.001$)和Conn.D(+47.5%, $P=0.029$)有显著性提高,而SMI(-17.9%, $P=0.003$)显著性减低。在实验12周时,与OVX+VEH组对比,OVX+ALE治疗组BV/TV(+73%, $P<0.001$), TV apparent(+89.9%, $P<0.001$), Tb.N(+29.9%, $P<0.001$), Tb.Th(+56.3%, $P<0.001$), 和Conn.D(+53.6%, $P=0.012$)有显著性提高,而SMI(-31.3%, $P<0.001$) and Tb.Sp(-38.7%, $P=0.027$)显著性减低。同样在实验12周时,与OVX+WBV组对比,OVX+ALE治疗组BV/TV(+25.3%, $P=0.004$), TV apparent(+60.3%, $P<0.001$), BV material(+28.4%, $P=0.044$), Tb.N(+15.6%, $P=0.001$)和Tb.Th(+16.9%, $P=0.037$)有显著性提高,而SMI(-16.4%, $P=0.013$)显著性减低。

2.2 骨的生物力学检测

胫骨的三点弯曲实验检测结果(见图2):在实验8周和12周时,与sham组比较,OVX+VEH组所有上述生物力学参数同样均有显著性意义,但在各个时间段比起sham组,OVX+WBV治疗组无显著性差异;在实验12周时,与OVX+VEH组比较,OVX+ALE组里胫骨的最大应力[(89.07±4.96)N, +27.6%])和胫骨破坏的吸收能量[(66.27±2.64)N, +27.4%])有显著性的增高,但对于骨的刚度仍无显著

性差异。在实验12周时,与OVX+WBV治疗组对比时,OVX+ALE治疗组能够提高胫骨的最大载荷、骨的强度参数和骨的吸收能量,但差异无显著性意义。

2.3 骨转化标志物的检测

各组骨转换标志物测量值如表1。OC为骨形成标志物,CTX为骨吸收标志物。在实验12周时,

与sham组比较,OVX+VEH组OC和CTX指标均有显著性提高(OC, +25.6%, $P<0.05$; CTX, +53.1%, $P<0.05$)。WBV和ALE对血清内OC影响不大。ALE实验过程均可抑制血清内CTX的表达,在实验12周时,与OVX+VEH组比较,OVX+ALE组里CTX指标有显著性降低(-29.6%, $P<0.05$)。

图1 全身振动联合阿仑膦酸钠对卵巢切除后大鼠胫骨骨微结构影响变化情况

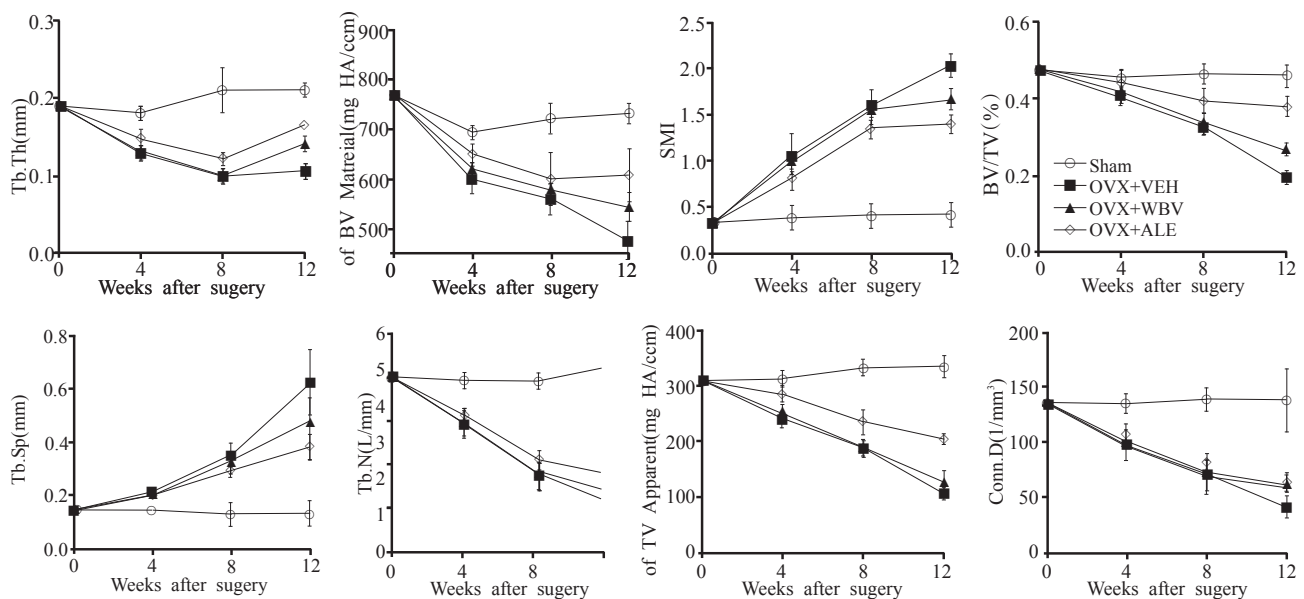
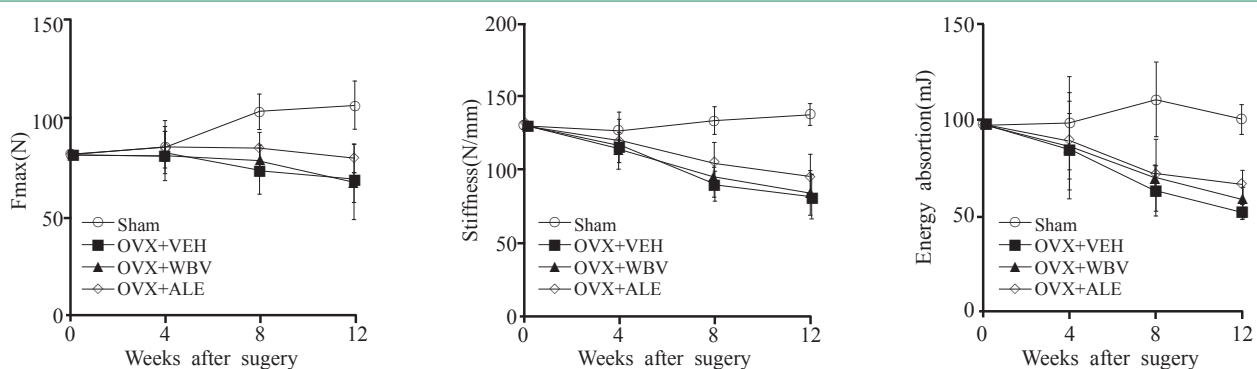


图2 全身振动及阿仑膦酸钠对卵巢切除后大鼠胫骨生物力学影响变化图



3 讨论

近年来物理疗法中低强度高频率复合振动防治OP的研究成为热点。一定的振动刺激可以调节骨代谢相关细胞因子的表达^[15-16],促进骨形成,抑制骨吸收,可能具有较好的OP防治应用研究前景。体

外实验研究发现了低强度、高频WBV可以直接促进成骨细胞的增殖和分化^[17],也通过调节骨细胞分泌因子间接抑制破骨细胞的成熟和活性^[18]。体内实验同样发现了低强度、高频WBV抑制骨吸收,促进骨形成^[19],增加骨密度^[20],改善骨组织的微结构,从

表1 全身振动和阿仑膦酸钠对卵巢切除后大鼠血清骨转化标志物影响变化

骨转化标志物 检测项目	实验时间点(周)			
	0	4	8	12
Osteocalcin(ng/ml)				
sham组	30.13±1.04	30.52±1.35	28.78±1.04	28.10±1.69
OVX+VEH组		36.92±1.54 ^①	33.21±1.15 ^①	35.29±2.38 ^①
OVX+WBV组		35.49±1.00 ^①	37.66±0.82 ^{①②}	34.45±1.40 ^①
OVX +ALE组		39.87±0.82 ^{①②}	37.89±3.43 ^①	37.48±2.12 ^①
F		60.265	24.901	23.560
P		<0.05	<0.05	<0.05
CTX(ng/ml)				
sham组	21.52±1.98	31.02±3.95	34.21±1.56	33.71±4.06
OVX+VEH组		43.05±4.34 ^①	44.09±3.14 ^①	51.61±3.86 ^①
OVX+WBV组		48.70±2.55 ^①	42.15±4.13 ^①	49.24±4.03 ^①
OVX +ALE组		30.90±2.15 ^②	35.47±1.96 ^②	36.31±2.37 ^②
F		51.326	22.719	41.251
P		<0.05	<0.05	<0.05

注: Osteocalcin: 骨钙素; CTX: I型胶原c端交联肽; sham: 正常对照组; OVX+VEH: 骨质疏松对照组; OVX+WBV: 复合振动治疗组; OVX+ALE: 阿仑膦酸钠治疗组。①与sham组比较 $P<0.05$; ②与OVX+VEH组比较 $P<0.05$

而降低骨质疏松性骨折风险。一定条件的局部振动还能促进瘫痪患者骨密度的增高, 骨强度的提高^[21]。振动不仅可以促进成骨, 而且对增加肌肉体积, 增强肌力, 改善神经肌肉系统协调性, 增强平衡能力同样具有较好作用^[22-23]。所以说, WBV为临床提供一种安全、简便、无创的骨质疏松防治方法。

振动成骨主要作用于松质骨, 一般实验中所检测骨密度结果是包括皮质骨在内的单位面积骨矿含量, 所以实际松质骨骨密度的变化可能因皮质骨一定程度的“遮蔽”影响而不能准确反映。本实验采用micro-CT骨扫描检测, 可以对小梁骨结构进行更广泛和准确的分析测定, micro-CT重建则去除了皮质骨的影响, 从而能更好地了解骨质量^[24]。Laib等^[25]研究发现大鼠在卵巢切除术后的早期出现骨量快速丢失, 卵巢切除后期骨量丢失的速度逐渐变慢, 这与临床表现相同, 绝经妇女早期出现骨量快速丢失, 到老年期, 骨量丢失速度变缓慢, 类似老年性骨质疏松特点。在我们的实验中大鼠卵巢切除后, 同样出现骨量早期快速丢失, 与正常对照组比较, 大部分骨微结构指标有较大显著性差异。卵巢切除术后大鼠胫骨近端骨微结构表现为小梁骨厚度变薄、骨小梁数量减少, 骨小梁连接密度降低, 骨小梁间距加大, 同时骨小梁由板状骨向杆状骨转变。本实验大鼠胫骨骨微结构的变化结果同样说明该大鼠骨质疏松模型

的成功建立, 进一步说明了雌激素对骨微结构有巨大影响。本实验研究发现切除卵巢后的大鼠经复合振动干预后, 胫骨近端的BV/TV, Tb. N, Tb. Th能够显著性的提高, 而且能够维持骨小梁Conn.D。骨小梁的数量越多, 骨小梁的厚度越大, 骨小梁的间距越小则说明骨的微结构越好, 骨强度越大。Conn.D值越小则代表骨小梁之间连接点越少, 骨小梁的稳定性越低, 相应骨的生物力学性能也越差, 反之亦然。SMI是骨小梁模型指数, 发生骨质疏松时, 骨小梁从板状向杆状转变, SMI数值增加。本实验中与OVX+VEH组比较, OVX+WBV组可以有效地维持一定的骨小梁数量和厚度, 避免小梁骨间距的扩大, 同时维持一定的骨小梁间距, 说明复合振动在一定程度上能够减轻或延缓卵巢切除大鼠骨微结构破坏, 复合振动具有改善骨微结构的作用, 本课题研究结果与Judex等^[26]研究发现相似。

关于药物防治骨质疏松方面, 目前二膦酸盐类药物是防治骨质疏松的一线药物, 其是通过抑制破骨细胞活性减少骨吸收, 还能抑制人或动物的骨细胞系和成骨细胞系凋亡^[27-28], 从而增加骨密度和抑制骨转换。ALE是第三代二膦酸盐类药物的代表药物, 临床上使用广泛^[29-30], 因此ALE抗骨吸收的作用可以用骨吸收指标变化来证实。本实验研究显示ALE治疗组能够显著性降低卵巢切除大鼠血清内CTX水平, 而CTX是骨吸收标志酶, 这说明阿仑膦酸钠能够有效降低骨转换, 抑制骨吸收, 从而减缓了骨质疏松的进行; 本实验研究显示ALE治疗组在实验12周时, 与OVX+VEH组对比, BV/TV(+73%), Tb.N(+29.9%), Tb.Th(+56.3%), 和Conn.D(+53.6%)有显著性提高, 而SMI(-31.3%)和Tb.Sp(-38.7%)显著性减低, 本研究结果提示ALE能改善因去卵巢造模引起的骨小梁结构的恶化, 并且这种改善似乎与增加骨小梁数量, 减少骨小梁之间的孔隙有关。本实验研究显示ALE能够显著性降低SMI, 这说明ALE能够改善骨的结构模型指数, 使胫骨骨小梁能接近理想的板状骨结构。骨微结构的改变可以使骨韧性和弹性的改变, 以致骨生物力学性能改变。在本实验研究12周时, 通过胫骨三点弯曲生物力学检测显示: 与OVX+VEH组比较, OVX+ALE组里胫骨近端的最大应力(+27.6%)和胫

骨破坏的吸收能量(+27.4%)有显著性的增高,这也说明ALE能够提高胫骨的生物力学性能。

骨转换标志物指标反映的是全身骨转换情况,Ivaska等^[31]研究表明血循环中的OC浓度反映骨形成的速率,CTX反应骨吸收的速率。本实验结果显示卵巢切除后大鼠骨形成和骨吸收标志物均会明显增高,说明卵巢切除后大鼠骨骼呈现高转换代谢状态,本研究结果与以往的很多研究很相似。然而,本实验仅在实验8周时,与OVX+VEH组比较时,OVX+WBV组里OC有显著性提高,而其他时间点OVX+VEH组与OVX+WBV组间血清OC和CTX指标均无显著性差异。这可能血清内骨转化标志物有昼夜变化,使得检测时间点差异已不明显,不能有效检出;还有可能由于采血量的限制,未能实现血清骨转换标志物动态观察,使得骨转换标志物检测意义降低。

本实验研究目的是通过骨的微结构和生物力学来对比分析WBV和ALE对防治去势大鼠骨质疏松的效果。通过分析本实验胫骨标本的骨微结构,我们实验发现:在实验12周时,对比WBV治疗组,ALE治疗组能够显著性提高胫骨的BV/TV(+25.3%),TV apparent(+60.3%),BV material(+28.4%),Tb.N(+15.6%)和Tb.Th(+16.9%),而SMI(-16.4%)显著性减低。本实验研究首先发现:比起低强度高频率WBV,ALE药物更能增加实验胫骨近端松质骨的骨小梁数量、骨小梁厚度和骨体积分数,更能够改善骨的结构模型指数,使胫骨骨小梁能接近理想的板状骨结构。本实验通过分析实验胫骨标本的生物力学发现:在实验12周时,虽然WBV治疗组和ALE治疗组生理力学参数均无显著性意义,但对比WBV治疗组,ALE治疗组能够提高胫骨的最大应力、骨的刚度参数和骨破坏的吸收能量。这可能也本实验研究的时间较多有关,有待进一步研究。总之说明ALE比低强度WBV能更好预防OP,进一步说明ALE药物仍是目前防治OP的主要方法。

4 结论

本实验研究发现:低强度WBV和ALE均可改善去势大鼠骨质的微结构,但比起低强度高频率

WBV,ALE能够更好的减少骨吸收,抑制骨转换,更好改善松质骨的微结构,提高骨的生物力学性能。

参考文献

- [1] Christiansen C. Conference report: consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis[J]. *Am J Med*, 1993, 94: 646—650.
- [2] Papapoulos SE, Landman JO, Bijvoet OL, et al. The use of bisphosphonates in the treatment of osteoporosis[J]. *Bone*, 1992, 13(Suppl 1): S41—S49.
- [3] Donaldson MG, Palermo L, Ensrud KE, et al. Effect of alendronate for reducing fracture by FRAX score and femoral neck bone mineral density: the Fracture Intervention Trial [J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(8): 1804—1810.
- [4] Gilsanz V, Wren TA, Sanchez M, et al. Low-level, high-frequency mechanical signals enhance musculoskeletal development of young women with low BMD[J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21 (9) : 1464—1474.
- [5] Haanan MT, Cheng DM, Green E, et al. Establishing the compliance in elderly women for use of a low level mechanical stress device in a clinical osteoporosis study[J]. *Osteoporos Int*, 2004, 15(11): 918—926.
- [6] Verschueren SM, Roelants M, Deleeluse C, et al. Effect of 6-month whole body vibration training on hip density, muscle strength, and postural control in postmenopausal women: a randomized controlled study[J]. *J Bone Miner Res*, 2004, 19 (3): 352—359.
- [7] Ward KC, Alsop C, Caulton J, et al. Low magnitude mechanical loading is osteogenic in children with disabling conditions[J]. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(3): 360—369.
- [8] Rubin C, Reeker R, Cullen D, et al. Prevention of postmenopausal bone loss by a low-magnitude, high-frequency mechanical stimuli: A clinical trial assessing compliance, efficacy, and safety[J]. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(3): 343—351.
- [9] Garman R, Gaudette G, Donahue LR, et al. Low-level accelerations applied in the absence of weight bearing Call enhance trabecular bone formation[J]. *J Orthop Res*, 2007, 25 (6): 732—740.
- [10] Totossy DZJ, Giangregorio LM, Craven BC. Whole-body vibration as potential intervention for people with low bone mineral density and osteoporosis: a review[J]. *Rehabil Res Dev*, 2009, 46(4): 529—542.
- [11] Flieger J, Karachalios T, Khaldi L. Mechanical stimulation in the form vibration prevents postmenopausal bone in ovariectomized rats[J]. *Calcif Tissue Int*, 1998, 63 (6) : 510—514.
- [12] Judex S, Lei X, Han D, et al. Low-magnitude mechanical

- signals that stimulate bone formation in the ovariectomized rat are dependent on the applied frequency but not on the strain magnitude[J]. *J Biomech*,2007,40(6):1333—1339.
- [13] Oxlund BS,Ortoft G,Andreassen TT,et al. Low-intensity, high-frequency vibration appears to prevent the decrease in strength of the femur and tibia associated with ovariectomy of adult rats[J]. *Bone*,2003,32(1):69—77.
- [14] Chapurlat RD, Delmas PD. Drug insight: bisphosphonates for postmenopausal osteoporosis[J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*,2006,2(4):211—219.
- [15] Judex S,Zhong N,Squire ME,et al. Mechanical modulation of molecular signals which regulate anabolic and catabolic activity in bone tissue[J]. *J Cell Biochem*,2005,94(5):982—994.
- [16] Bacabac RG,Smit TH, Van Loon JJ,et al. Bone cell responses to high-frequency vibration stress: does the nucleus oscillate within the cytoplasm?[J]. *FASEB J*,2006,20(7):858—864.
- [17] Luu YK, Capilla E, Rosen C, et al. Mechanical stimulation of mesenchymal stem cell proliferation and differentiation promotes osteogenesis while preventing dietary-induced obesity[J]. *J Bone Miner Res*,2009, 24(1):50—61.
- [18] Lau E, Al-Dujaili S, Guenther A, et al. Effect of low-magnitude, high-frequency vibration on osteocytes in the regulation of osteoclasts[J]. *Bone*, 2010,46 (6):1508—1515.
- [19] Hwang SJ,Lublinsky S,Seo YK,et al. Extremely small-magnitude accelerations enhance bone regeneration:a preliminary study[J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*,2009,467(4):1083—1091.
- [20] Xie L,Jacobson JM,Choi ES,et al. Low-level mechanical vibrations can influence bone resorption and bone formation in the growing skeleton[J]. *Bone*, 2006, 39(5): 1059—1066.
- [21] Xie L,Rubin C,Judex S. Enhancement of the adolescent murine musculoskeletal system using low-level mechanical vibrations[J]. *J Appl Physiol*,2008,104(4):1056—1062.
- [22] Kawanabe K, Kawashima A, Sashimoto I, et al. Effect of whole-body vibration exercise and muscle strengthening, balance, and walking exercises on walking ability in the elderly[J]. *Keio J Med*,2007,56(1):28—33.
- [23] Fagnani F, Giombini A, Di Cesare A, et al. The effects of a whole-body vibration program on muscle performance and flexibility in female athletes[J]. *Am J Phys Med Rehabil*,2006,85(12):956—962.
- [24] Marfinez-Cummer MA,Heek R,Leeson S. Use of axial X-ray microcomputed tomography to assess three-dimensional trabecular micro-architecture and bone mineral density in single comb white leghorn hens[J]. *Poult Sci*,2006,85(4):706—711.
- [25] Laib A, Kumer JL, Majumdar S, et al. The temporal changes of trabecular architecture in ovariectomized rats assessed by Micro-CT[J]. *Osteoporos Int*,2001,12(11):936—941.
- [26] Judex S,Boyd S,Qin YX,et al. Adaptations of trabecular bone to low magnitude vibrations result in more uniform stress and strain under load[J]. *Ann Biomed Eng*,2003,31(1):12—20.
- [27] Giuliani N, Pedrazzoni M, Passed G, et al. Bisphosphonates inhibit IL-6 production by human osteoblast-like cells[J]. *Scand J Rheumatol*, 1998, 27(1):38—41.
- [28] Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, et al. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin[J]. *J Clin Invest*, 1999,104(10):1363—1374.
- [29] Black DM, Schwartz AV, Ensrud KE, et al. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the fracture intervention trial long-term extension (FLEX): a randomized trial[J]. *JAMA*,2006,296(24):2927—2938.
- [30] Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, et al. Ten years experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women[J]. *N Engl J Med*,2004,350(12): 1189—1199.
- [31] Ivaska KK, Kakonen SM, Gerdhem P, et al. Urinary osteocalcin as a marker of bone metabolism[J]. *Clin Chem*, 2005,51 (3) : 618—628.