

## · 基础研究 ·

## 不同强度正弦交变电磁场对大鼠骨密度及骨形态计量学的影响

高玉海, 成魁, 葛宝丰, 甄平, 周建, 马小妮, 李少锋, 陈克明  
(兰州军区兰州总医院骨科研究所, 甘肃 兰州 730050)

**【摘要】** 目的: 研究 50 Hz 不同强度正弦交变电磁场 (sinusoidal electromagnetic fields, SEMFs) 对 SD 大鼠骨密度和骨形态计量学的影响。方法: 将 30 只雌性 SD 大鼠随机分为 3 组: A 组 (正常对照组), B 组 (0.1 mT 磁场组) 和 C 组 (0.6 mT 磁场组)。除对照组外, 分别给予各磁场组每日 3 h 的磁场干预。实验 8 周后处死大鼠, 用双能 X 线骨密度仪检测各组大鼠全身、股骨及椎体骨密度, 并对左侧胫骨及椎体 L<sub>4</sub> 分别进行骨组织静态和动态分析评价。结果: 与 A 组相比, B 组大鼠全身、股骨和椎体骨密度显著增加; 股骨和椎体骨小梁面积百分数、骨小梁数量和骨小梁宽度显著增加, 骨小梁分离度明显降低; 观察双标记有明显变化。C 组骨小梁数目与 A 组相比差异有统计学意义, 其余指标差异均无统计学意义。结论: 50 Hz 0.1 mT 磁场强度的正弦交变电磁场, 能够有效增加大鼠骨密度, 改善大鼠的骨组织微结构, 促进骨形成。

**【关键词】** 电磁场; 骨密度; 骨和骨组织; 大鼠

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2014.11.012

**Effect of different-intensity SEMFs on bone mineral density and histomorphometry in SD rats** GAO Yu-hai, CHENG Kui, GE Bao-feng, ZHEN Ping, ZHOU Jian, MA Xiao-ni, LI Shao-feng, and CHEN Ke-ming. Institute of Orthopaedics, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, Gansu, China

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effects of different-intensity sinusoidal electromagnetic fields (SEMFs) on bone mineral density (BMD) and histomorphometry in SD rats. **Methods:** Thirty female SD rats were randomly divided into three groups: group A (a control group), group B (0.1 mT group) and group C (0.6 mT group). The rats in group B and C were exposed to 50 Hz SEMFs 3 hours each day. However, the magnetic intensity was different between group B and group C: 0.1 mT for group B and 0.6 mT for group C. After 8 weeks, all the animals were killed. Changes of BMD and histomorphometric properties were observed. **Results:** Compared with group A, the BMD of whole body, femur and vertebrae of rats in group B increased significantly; the area percentage, number and width of bone trabeculae in vertebrae and femur of rats in group B were larger than those of group A; but the resolution of bone trabeculae of rats in group B was lower than that of group A. The trabecular number in group C rats were significantly decreased, compared with that in group A rats. The outcome of double fluorescence labeling in group B was found to be significantly different with that in group A. But the difference between rats in group A and C was not significant. **Conclusion:** This study demonstrates that 50 Hz 0.1 mT SEMFs can increase BMD, improve bone tissue microstructure and, promote bone formation.

**KEYWORDS** Electromagnetic fields; Bone density; Bone and bones; Rats

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2014, 27(11):933-937 www.zggszz.com

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种全身性骨骼疾病, 其特征是骨量减少, 骨组织微结构破坏, 引起代谢紊乱, 使得骨脆性增加而易骨折<sup>[1-2]</sup>。随着人口老龄化, 骨质疏松症已成为一个重要的公共卫生

问题而被人们所重视<sup>[3]</sup>。骨形态计量学是能定量观察和研究骨组织形态及其结构的一门体视学技术, 可以利用动物组织样品进行不脱钙方法包埋制片, 在图像分析仪上对切片中的骨小梁和皮质骨的骨量和结构以及骨形成和骨吸收的参数测量、计算和分析, 对骨质疏松做出正确的判断<sup>[4]</sup>。正弦交变电磁场 (sinusoidal electromagnetic fields, SEMFs) 作为一种可施加于人体的外来物理因子, 其生物效应在医学中鲜有应用。低频电磁场具有无创性、无感染、操作简单等优点<sup>[5-6]</sup>。临床试验也证实低频电磁场是一种

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81270963); 甘肃省科技重大专项计划资助项目 (编号: 092NKDA025);

Fund program: Supported by National Natural Science Foundation of China (No.81270963)

通讯作者: 陈克明 E-mail: Chkeming@126.com

Corresponding author: CHEN Ke-ming E-mail: Chkeming@126.com

有效的促进骨折愈合的方法,诸多研究表明,电磁场能够通过改变骨组织微结构,促进骨形成。本研究通过不同磁场强度干预 SD 大鼠,检测大鼠骨密度,探究其对骨组织微结构的改变,从形态计量方面探究其作用机制。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

1.1.1 主要仪器 双能 X 线骨密度仪 (GE 公司, 美国), 正置相差显微镜 (奥林巴斯公司, 日本), SP1600 硬组织切片机 (LEICA 公司, 德国), SB-5200DT 超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司, 中国), 便携式真空泵, Image-Pro Plus6.0 (IPP 6.0) 图片分析软件。

1.1.2 主要试剂 水合氯醛 (天津大茂化学试剂公司, 中国); 钙黄绿素 (Enzo Life Sciences, 瑞士); 四环素 (Enzo Life Sciences, 瑞士); 甲基丙烯酸甲酯 (天津市凯信化学工业有限公司, 中国); 邻苯二甲酸二丁酯 (烟台市双双化工有限公司, 中国); 过氧化苯甲酰 (上海山浦化工有限公司, 中国); 无水乙醇 (天津市富宇精细化工有限公司, 中国); 正丁醇 (湖北大学化工厂, 中国); 二甲苯 (天津市巴斯夫化工有限公司, 中国)。

#### 1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及处理 6 周龄 SPF 级雌性 SD 大鼠 30 只, 由甘肃中医学院动物实验中心提供, 许可证号: SCXK (甘) 2011-0001, 体重 (130±10) g。将大鼠随机分为 A、B、C 3 组, 每组 10 只。A 组为正常对照组, 分别给予 B 组 50 Hz 0.1 mT 的磁场强度和 C 组 50 Hz 0.6 mT 的磁场强度干预, 两组磁场干预时间均为 3 h/d, 干预时间为每日 9:00~15:00。饲养温度 (22±2) °C, 湿度 60%~70%, 饮用自来水, 标准类饲料, 不限制饮水和食量。所有大鼠随机分组后安置在塑料筐内, 在实验开始前驯化 1 周。

1.2.2 骨密度检测 磁场连续干预 8 周后, 采用 100 g/L 的水合氯醛, 在实验大鼠腹腔注射 3 ml/kg 进行麻醉。将麻醉后的大鼠置于双能 X 线骨密度仪下检测其全身骨密度。处死大鼠后, 分离股骨和椎体骨组织, 分别置于双能 X 线骨密度仪下检测离体骨密度。

1.2.3 骨形态计量学分析 SD 大鼠处死前第 13、14 天皮下注射四环素, 剂量为 25 mg/kg; 处死前第 3、4 天皮下注射钙黄绿素, 剂量为 10 mg/kg。

大鼠处死后, 分离其左侧胫骨, 并将检测完骨密度的椎体统一取其 L<sub>4</sub> 一并保存于 70% 的乙醇中用于骨形态分析。将胫骨和 L<sub>4</sub> 进行乙醇脱水, 二甲苯透明后, 采用不脱钙塑料包埋法包埋。将包埋好的骨

组织置于 SP 1600 硬组织切片机切片, 厚度 30 μm, 采用 1200-2000 的砂纸打磨, 1 个切片用于观察双荧光标记, 另 1 个切片采用苦味酸-品红 (van gieson, VG) 染色后, 显微镜下观察染色结果, 并用 IPP6.0 图片分析软件进行骨形态计量学分析。

1.3 统计学处理 统计分析均采用 SPSS 16.0 软件完成, 所有检测数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示。不同组间差异采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间两两比较用 LSD 检验法。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

2.1 SEMFs 对大鼠骨密度的影响 如表 1 所示, 与 A 组相比, B 组大鼠的全身、股骨、椎体骨密度均升高, 说明 0.1 mT 磁场强度对大鼠骨密度有影响。C 组大鼠的全身、股骨、椎体骨密度与 A 组比较, 差异无统计学意义, 说明 0.6 mT 磁场强度对大鼠骨密度无影响。

表 1 不同磁场强度对大鼠全身、股骨和椎体骨密度影响 ( $\bar{x} \pm s, g/cm^2$ )

Tab. 1 Effects of different-intensity sinusoidal electromagnetic fields on BMD of whole body, femur and vertebrae in rats ( $\bar{x} \pm s, g/cm^2$ )

| 组别  | 鼠数 | 全身骨密度                         | 股骨骨密度                         | 椎体骨密度                         |
|-----|----|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| A 组 | 10 | 0.147 1±0.006 4               | 0.103 5±0.010 9               | 0.116 2±0.005 5               |
| B 组 | 10 | 0.154 6±0.004 4 <sup>a1</sup> | 0.119 3±0.007 0 <sup>a2</sup> | 0.145 0±0.010 0 <sup>a3</sup> |
| C 组 | 10 | 0.150 0±0.006 8 <sup>b1</sup> | 0.099 3±0.007 4 <sup>b2</sup> | 0.118 6±0.005 3 <sup>b3</sup> |
| F 值 | -  | 4.001                         | 14.875                        | 24.243                        |
| P 值 | -  | <0.01                         | <0.01                         | <0.01                         |

注: 与 A 组比较, <sup>a1</sup> $P=0.009$ , <sup>a2</sup> $P=0.000$ , <sup>a3</sup> $P=0.000$ ; <sup>b1</sup> $P=0.288$ , <sup>b2</sup> $P=0.287$ , <sup>b3</sup> $P=0.611$

Note: Compared with group A, <sup>a1</sup> $P=0.009$ , <sup>a2</sup> $P=0.000$ , <sup>a3</sup> $P=0.000$ ; <sup>b1</sup> $P=0.288$ , <sup>b2</sup> $P=0.287$ , <sup>b3</sup> $P=0.611$

2.2 SEMFs 对胫骨骨形态计量学的影响 如图 1 示, 胫骨骨组织中, B 组骨小梁数量明显密集, 骨小梁分离度明显低于 A 组; C 组骨小梁数量略高于 A 组, 骨小梁分离度与 A 组相比无明显差异。表 2 显示, B 组骨小梁数量、宽度、面积百分比均高于 A 组, 骨小梁分离度低于 A 组; C 组骨小梁数量高于 A 组, 其余各项指标差异均无统计学意义。

2.3 SEMFs 对椎体骨形态计量学的影响 如图 2 所示, 椎体骨组织中, B 组骨小梁数量明显密集, 骨小梁分离度明显低于 A 组; C 组骨小梁数量略高于 A 组, 骨小梁分离度与 A 组相比无明显差异。表 3 显示, B 组骨小梁数量、宽度、面积百分比均高于 A 组, 骨小梁分离度低于 A 组。C 组骨小梁数量高于 A 组, 其余各项指标差异均无统计学意义。

表 2 各组大鼠胫骨近心干骺端组织计量学静态参数( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.2 Histomorphometric indices of statics in the proximal tibia metaphysis of rats( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别  | 鼠数 | 骨小梁宽度( $\mu\text{m}$ )   | 骨小梁分离度( $\mu\text{m}$ )   | 骨小梁数量(n/mm)             | 骨小梁面积百分比(%)              |
|-----|----|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| A 组 | 10 | 53.38±0.89               | 211.58±2.05               | 3.79±0.12               | 21.03±1.29               |
| B 组 | 10 | 67.21±1.23 <sup>a1</sup> | 133.57±3.02 <sup>a2</sup> | 7.45±0.12 <sup>a3</sup> | 39.97±1.23 <sup>a4</sup> |
| C 组 | 10 | 55.21±0.87 <sup>b1</sup> | 202.79±6.87 <sup>b2</sup> | 4.36±0.15 <sup>b3</sup> | 22.85±1.63 <sup>b4</sup> |
| F 值 | -  | 166.317                  | 271.603                   | 698.868                 | 167.962                  |
| P 值 | -  | <0.01                    | <0.01                     | <0.01                   | <0.01                    |

注:与 A 组比较, <sup>a1</sup>P=0.000, <sup>a2</sup>P=0.000, <sup>a3</sup>P=0.000, <sup>a4</sup>P=0.000; <sup>b1</sup>P=0.068, <sup>b2</sup>P=0.053, <sup>b3</sup>P=0.002, <sup>b4</sup>P=0.162

Note: Compared with group A, <sup>a1</sup>P=0.000, <sup>a2</sup>P=0.000, <sup>a3</sup>P=0.000, <sup>a4</sup>P=0.000; <sup>b1</sup>P=0.068, <sup>b2</sup>P=0.053, <sup>b3</sup>P=0.002, <sup>b4</sup>P=0.162

表 3 各组大鼠 L<sub>4</sub> 松质骨静态参数( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.3 Static indices of cancellous bone in the L<sub>4</sub> of rats( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别  | 鼠数 | 骨小梁宽度( $\mu\text{m}$ )     | 骨小梁分离度( $\mu\text{m}$ )   | 骨小梁数量(n/mm)             | 骨小梁面积百分比(%)              |
|-----|----|----------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| A 组 | 10 | 83.59±6.64                 | 151.65±4.37               | 4.09±0.13               | 22.63±0.59               |
| B 组 | 10 | 133.25±12.62 <sup>a1</sup> | 85.47±5.34 <sup>a2</sup>  | 8.92±0.09 <sup>a3</sup> | 40.97±1.55 <sup>a4</sup> |
| C 组 | 10 | 89.08±4.36 <sup>b1</sup>   | 144.24±4.95 <sup>b2</sup> | 4.53±0.25 <sup>b3</sup> | 21.25±0.94 <sup>b4</sup> |
| F 值 | -  | 95.388                     | 164.310                   | 749.783                 | 300.509                  |
| P 值 | -  | <0.01                      | <0.01                     | <0.01                   | <0.01                    |

注:与 A 组比较, <sup>a1</sup>P=0.000, <sup>a2</sup>P=0.000, <sup>a3</sup>P=0.000, <sup>a4</sup>P=0.000; <sup>b1</sup>P=0.213, <sup>b2</sup>P=0.113, <sup>b3</sup>P=0.019, <sup>b4</sup>P=0.178

Note: Compared with group A, <sup>a1</sup>P=0.000, <sup>a2</sup>P=0.000, <sup>a3</sup>P=0.000, <sup>a4</sup>P=0.000; <sup>b1</sup>P=0.213, <sup>b2</sup>P=0.113, <sup>b3</sup>P=0.019, <sup>b4</sup>P=0.178

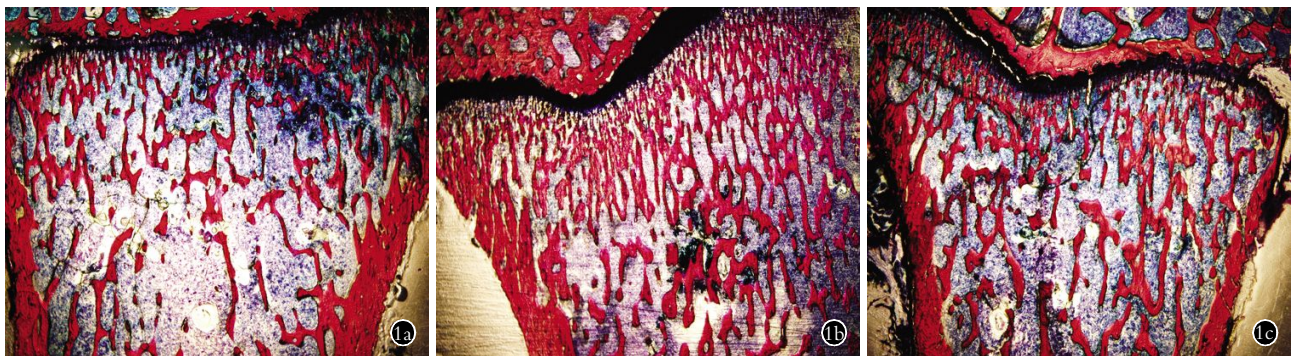


图 1 各组大鼠胫骨上段骨组织形态学变化(40×),红色显示皮质骨和骨小梁,蓝色显示骨髓腔,黑色为骨骺线 1a. 对照组 1b. B 组 1c. C 组

Fig.1 Tibia bone tissue morphology (40×), red indicated as cortical and trabecular bone, blue indicated as bone marrow cavity, black indicated as the epiphyseal line 1a. Control group 1b. Group B 1c. Group C

2.4 荧光双标记观察 如图 3-4 所示,与 A 组相比, B 组 SD 大鼠胫骨和椎体钙黄绿素和四环素之间距离明显较大, C 组略有差异。

### 3 讨论

3.1 研究意义 骨质疏松的特点是骨质量受损,从而导致骨强度下降,进而增加骨折的风险<sup>[7]</sup>。骨量和骨结构是 OP 的重要方面,在 OP 发生过程中,由于骨吸收大于骨形成,骨量逐渐降低;骨微结构的变化首先表现为骨小梁变细,随着病程的发展,骨小梁穿孔、断裂,最终导致骨小梁数量减少,连接减少。骨形态计量学不仅能反映骨量,还可进一步明确骨微观

结构和骨代谢的动态水平<sup>[8]</sup>。目前已用于细胞反应、组织病理学、肿瘤生长和代谢紊乱等诸多方面的研究<sup>[9]</sup>。多研究显示,低频电磁场能克服传统治疗方法的不足,对骨质疏松引起的疼痛、骨量减少、骨密度降低具有肯定疗效,但作用机制尚未完全阐明。本研究选用不同强度的低频正弦交变电磁场,通过对 SD 大鼠骨密度检测和组织形态学两方面研究,探讨其作用机制,为未来骨质疏松症的病理及磁场的作用机制及临床应用提供参考。

3.2 SEMFs 与骨密度的关系 骨密度显示骨量的多少,是衡量骨质量、评价骨强度的指标,通过检测



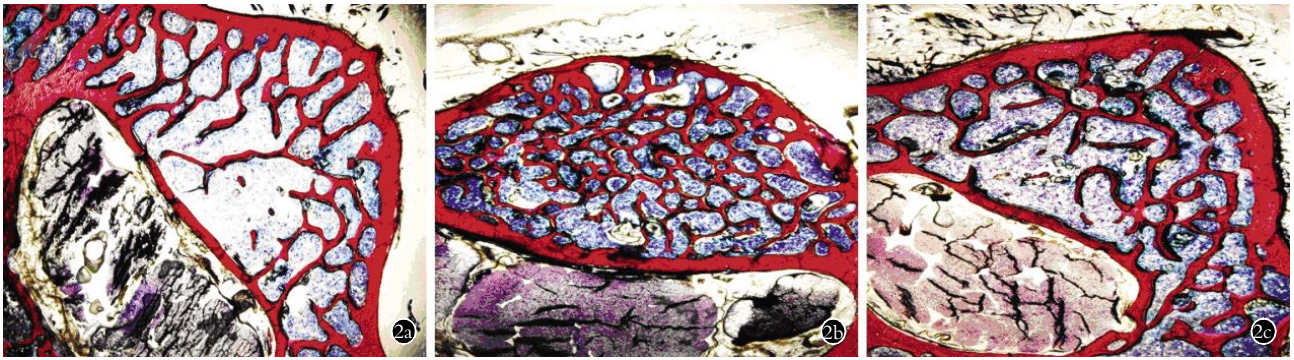


图 2 各组大鼠 L<sub>4</sub> 腰椎骨组织形态学变化(40×),红色显示皮质骨和骨小梁,蓝色显示骨髓腔,黑色为骨骺线 2a. 对照组 2b. B 组 2c. C 组

Fig.2 The fourth lumbar vertebra bone tissue morphology (40×),red indicated as cortical and trabecular bone,blue indicated as bone marrow cavity, black indicated as the epiphyseal line 2a. Control group 2b. Group B 2c. Group C

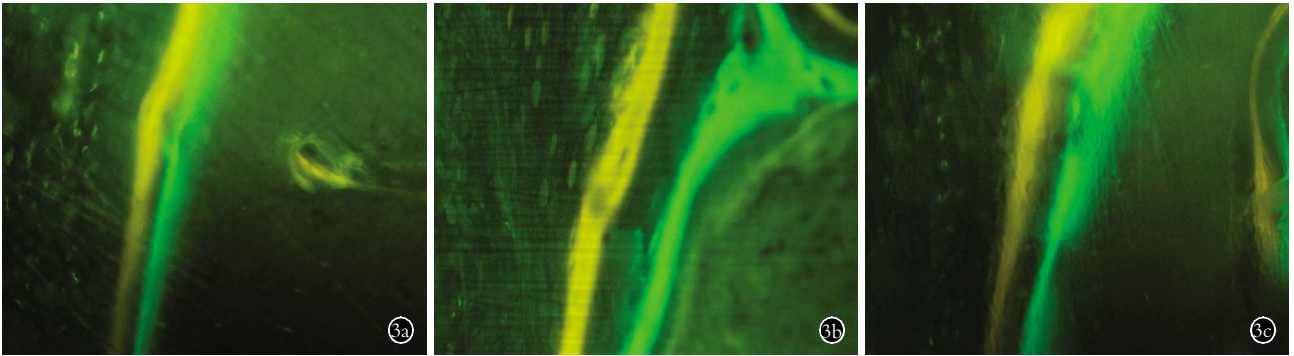


图 3 胫骨中段皮质骨双荧光标记结果(200×),黄色为四环素标记,绿色为钙黄绿素标记 3a. 对照组 3b. B 组 3c. C 组

Fig.3 Effects of cortical bone double fluorescent labeling on tibia (200×),tetracycline marked as yellow,calcein labeled as green 3a. Control group 3b. Group B 3c. Group C

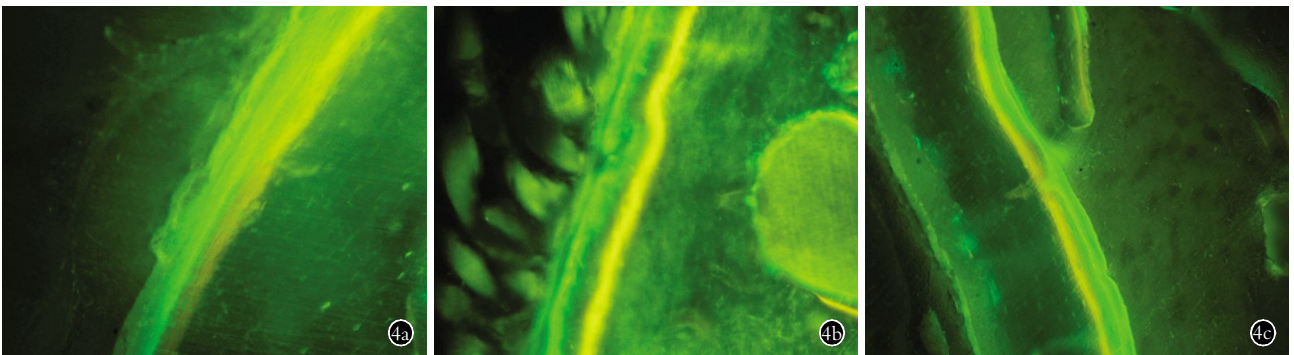


图 4 L<sub>4</sub> 皮质骨双荧光标记结果(200×),黄色为四环素标记,绿色为钙黄绿素标记 4a. 对照组 4b. B 组 4c. C 组

Fig.4 The effects of cortical bone double fluorescent labeling on the fourth lumbar vertebra (200×),tetracycline marked as yellow,calcein labeled as green 4a. Control group 4b. Group B 4c. Group C

骨密度,能准确预测骨折发生的风险<sup>[10]</sup>,是确定骨质疏松症最基本的依据。虽然骨密度是决定骨强度的一个重要因素,但是骨密度不能反映骨小梁微结构的变化。骨密度和骨的微结构可以作为证明电磁场对骨强度作用的证据。本研究选用频率为 50 Hz,磁场强度分别为 0.1 mT 和 0.6 mT 两种 SEMFs 干预大鼠。大鼠作为动物模型被广泛接受研究骨骼疾病,因

为骨重塑和青年、成年大鼠的骨吸收过程类似于人类,人的骨代谢反应,激素、药物和磁场等作用机制都与大鼠相似<sup>[11]</sup>。通过骨密度检测发现,0.1 mT 的 SEMFs 能使大鼠全身骨密度、股骨骨密度和椎体骨密度均显著增加,说明 50 Hz 0.1 mT 的 SEMFs 能够增加大鼠的峰值骨量,影响骨密度;而 50 Hz 0.6 mT 的磁场强度对大鼠的骨密度增加影响不大,说明不

同磁场强度的 SEMFs 干预,对大鼠的骨密度增加产生不同的影响。结果显示,股骨和椎体的骨密度值高于全身骨密度检测值,但其结果与对照都有显著差异,表明磁场的作用效果是全身性的,其作用机制可能是通过调节全身骨代谢,增加了骨量,从而提高了骨强度。

**3.3 SEMFs 与骨形态计量学的关系** 骨形态计量学技术是利用硬组织切片染色、免疫组化等方法对组织包埋后显微镜对骨切面进行观察拍照,用相应的图像分析软件进行分析,获得骨小梁数量、骨小梁宽度、骨小梁分离度和骨小梁面积百分比等参数的一种方法。骨小梁面积百分比和骨小梁数量反映骨量的多少,骨小梁分离度和骨小梁宽度用于描述骨小梁形态。骨形态计量学既可以通过观察骨组织形态来评估骨量的好坏和组织微结构的改变,以及通过软件分析其相关参数,统计学处理定量检测其静态参数,做出对其骨量的鉴定;还可以利用双荧光标记检测其骨代谢的快慢,尤其是通过对胫骨及椎体的 VG 染色来进行骨微结构的观察,有利于明确磁场作用机制,因此在该领域得以广泛应用<sup>[12-14]</sup>。本研究结果显示,50 Hz 0.1 mT 的磁场强度干预增加了 SD 大鼠的骨量,改善了 SD 大鼠骨组织微结构,从而增加了骨强度,提高了骨代谢,促进了骨形成。

总之,本研究结果显示骨密度和骨形态计量学能客观评价骨质好坏,骨形态计量学尤其能从骨组织微结构探讨分析磁场作用效果,进而为研究磁场的作用机制提供更为广阔的思路。然而磁场的作用机制并非如此简单,骨表面的成骨细胞和破骨细胞的变化,骨髓腔内大量细胞在骨形成中发挥的作用,以及一些血清生化指标的变化、信号途径和生物力学性能的改变仍需进一步探究。

#### 参考文献

- [1] Cranney A, Guyatt G, Griffith L, et al. Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. IX: summary of meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis[J]. *Endocr Rev*, 2002, 23(4): 570-578.
- [2] Xu J, Rong H, Ji H, et al. Effects of different dosages of parathyroid hormone-related protein 1-34 on the bone metabolism of the ovariectomized rat model of osteoporosis[J]. *Calcif Tissue Int*, 2013, 93(3): 276-287.
- [3] Lane NE. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194(2 Suppl): S3-S11.
- [4] 陈文双, 许碧莲, 崔燎, 等. 大鼠椎骨生物力学与骨形态计量学的灰色关联分析[J]. *数理医药学杂志*, 2011, 24(1): 38-41. Chen WS, Xu BL, Cui L, et al. Analysis of grey correlation between bone bio-mechanical property and histomorphometry of lumbar vertebrae body in rats[J]. *Shu Li Yi Yao Xue Za Zhi*, 2011, 24(1): 38-41. Chinese.
- [5] Tabrah F, Hoffmeier M, Gilbert F Jr, et al. Bone density changes in osteoporosis-prone women exposed to pulsed electromagnetic fields (PEMFs)[J]. *J Bone Miner Res*, 1990, 5(5): 437-442.
- [6] Cheng G, Zhai Y, Chen K, et al. Sinusoidal electromagnetic field stimulates rat osteoblast differentiation and maturation via activation of NO-cGMP-PKG pathway[J]. *Nitric Oxide*, 2011, 25(3): 316-325.
- [7] Li Z, Peng S, Pan H, et al. Microarchitecture and nanomechanical properties of trabecular bone after strontium administration in osteoporotic goats[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2012, 145(1): 39-46.
- [8] 陈健, 黄礼群, 胡裕君, 等. 低频脉冲电磁场对去势骨质疏松大鼠腰椎骨形态计量学的影响[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2011, 25(12): 1455-1458. Chen J, Huang LQ, Hu YJ, et al. Effect of low frequency pulsed electromagnetic fields on lumbar bone histomorphometry in ovariectomized osteoporosis rats[J]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2011, 25(12): 1455-1458. Chinese.
- [9] Egan KP, Brennan TA, Pignolo RJ. Bone histomorphometry using free and commonly available software[J]. *Histopathology*, 2012, 61(6): 1168-1173.
- [10] Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry: scientific review[J]. *JAMA*, 2002, 288(15): 1889-1897.
- [11] Mehat MZ, Shuid AN, Mohamed N, et al. Beneficial effects of vitamin E isomer supplementation on static and dynamic bone histomorphometry parameters in normal male rats[J]. *J Bone Miner Metab*, 2010, 28(5): 503-509.
- [12] Burt-Pichat B, Follet H, Toulemonde G, et al. Methodological approach for the detection of both microdamage and fluorochrome labels in ewe bone and human trabecular bone[J]. *J Bone Miner Metab*, 2011, 29(6): 756-764.
- [13] Pastoureau P, Hunziker E, Pelletier JP. Cartilage, bone and synovial histomorphometry in animal models of osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(Suppl 3): S106-S112.
- [14] Choi J, Baek SH, Lee JI, et al. Effects of clodronate on early alveolar bone remodeling and root resorption related to orthodontic forces: a histomorphometric analysis[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2010, 138(5): 548.

(收稿日期: 2014-01-30 本文编辑: 连智华)