

# Rezonans stochastyczny w reakcji tworzenia kości na obciążanie mechaniczne

Shigeo M. Tanaka, Imranul Alam i Charles H. Turner

Zakład Chirurgii Ortopedycznej, Indiana University School of Medicine, 541 Clinical Drive, Indianapolis, Indiana

Autor korespondujący: Charles H. Turner, Director of Orthopedic Research, Indiana University, 541 Clinical Drive, Room 600, Indianapolis, IN 46202. E-mail: turnerch@iupui.edu

## STRESZCZENIE

Działanie rezonansu stochastycznego, polegające na szumach zwiększających odpowiedź systemu nieliniowego na słaby bodziec, było obserwowane w różnych biologicznych układach czucia. Podejrzewaliśmy, że tworzenie kości w odpowiedzi na mechaniczne obciążanie może zostać zwiększone poprzez dodanie szumów (wibracji) to standardowego zestawu ćwiczeń. Aby zbadać tę hipotezę, zastosowano trzy różne schematy obciążania kości łokciowej myszy: (1) obciążanie sinusoidalne o wysokiej amplitudzie, niskiej częstotliwości (częstotliwość 2 Hz, amplituda 3N) jako symulacja ćwiczenia; (2) drgania o niskiej amplitudzie i dużym zakresie częstotliwości w przedziale 0-50 Hz (średnia amplituda o wartości 0,3 N); (3) drgania sinusoidalne z nałożonymi drganiami (S+D), co wywołuje rezonans stochastyczny. Zmieniony schemat ćwiczeń pobudza tworzenie kości od strony okostnej, jednakże dodanie szumów wibracyjnych do ćwiczeń zwiększyło reakcję tworzenia kości niemal czterokrotnie. Drgania same w sobie nie wykazały wpływu na proces tworzenia kości. Z badania wyciągnięto wniosek, że dodanie drgań o niewielkich parametrach znacznie zwiększa tworzenie kości w odpowiedzi na obciążanie, co sugeruje, że rezonans stochastyczny przyczynia się do zwiększenia reakcji osteogenicznej.

Kluczowe słowa: biomechanika • tworzenie kości • osteoporoza • przewodzenie mechaniczne

Zjawisko nazywane rezonansem stochastycznym, polegające na wzmożeniu odpowiedzi systemu nieliniowego na słaby sygnał przez szumy o charakterze drgań, może wpływać na czułość osteoblastów na bodźce mechaniczne. O rezonansie stochastycznym donoszono w kontekście wielu różnych układów. Zjawisko to po raz pierwszy opisał Benzi (1) i zastosował je przy teoretycznym wyjaśnieniu okresowego występowania epok lodowcowych na ziemi (2, 3). Wykazywano doświadczalnie obecność zjawiska rezonansu stochastycznego w wielu czuciowych układach neuronalnych, w tym u raków (4), rekinów (5), świerszczy (6) i ludzi (7, 8). Collins (7) wykazał, że wrażenia dotykowe ludzi odczuwane przez palec mogą być zwiększone przez wibracje mechaniczne o rozkładzie Gaussa i składowych o zróżnicowanych częstotliwościach do 30 Hz. Wyniki uzyskane przez Collinsa sugerują, że rezonans stochastyczny może mieć wpływ na mechanoreceptory.

W naszej poprzedniej pracy (9) wykazaliśmy, że sinusoidalne drgania o niskiej amplitudzie i szerokim zakresie częstotliwości zwiększały ekspresję mRNA osteokalcyny w połączeniu z sinusoidalnym obciążaniem o wysokiej amplitudzie i niskiej częstotliwości komórek linii osteoblastycznej MC3T3-E1 hodowanych w żelu kolagenowym. Wyniki te wskazują na to, że rezonans stochastyczny może zwiększać czułość tkanki kostnej na bodźce mechaniczne. W takim przypadku rezonans stochastyczny mógłby zwiększać pobudzający tworzenie kości wpływ

ćwiczeń. Potencjalnie można by stworzyć nowe ćwiczenia dla osób starszych, aby zwiększyć masę ich tkanki kostnej w celu zapobiegania osteoporozie.

W niniejszym badaniu sprawdzaliśmy wpływ drgań o niskiej amplitudzie i szerokim zakresie częstotliwości połączonych z symulowanymi ćwiczeniami na tworzenie kości *in vivo*. Założyliśmy, że drgania o niskiej amplitudzie i szerokim zakresie częstotliwości zwiększają proces tworzenia kości w odpowiedzi na ćwiczenia poprzez rezonans stochastyczny.

## **MATERIAŁY I METODY**

### **Zwierzęta**

Badanie przeprowadzono na trzydziestu sześciu samicach myszy C57BL/6 (w wieku 16 tygodni) o średniej wadze ciała  $22,0 \pm 0,2$  g. Myszy te zostały podzielone na cztery grupy, w tym grupę myszy nieobciążanych (grupa kontrolna,  $n = 8$ ) i trzy obciążane grupy: fala haversine symulująca ćwiczenie (sinusoidalna,  $n = 10$ ); drgania o szerokim zakresie częstotliwości (drgania;  $n = 10$ ); i drgania połączone z falą sinusoidalną w celu wywołania rezonansu stochastycznego (S+D;  $n = 8$ ). Cztery do pięciu myszy należących do jednej grupy były przetrzymywane razem. Wszystkie procedury w ramach doświadczenia przeprowadzane były zgodnie z wytycznymi komitetu ds. opieki na zwierzętami i wykorzystywaniem zwierząt Uniwersytetu w Indianie.

### **Pobudzanie mechaniczne**

Na rysunku 1 przedstawiono schemat urządzenia do mechanicznego pobudzania kości łokciowej i systemu sterującego, wykorzystywanych w tym badaniu. Prawe przedramię utrzymywane było przez część przenoszącą drgania oraz nylonową śrubę (rysunek 1 i 2). Obciążenia przenoszono na kość łokciową wzdłuż jej osi długiej przez zgięty nadgarstek oraz wyrostek łokciowy. Do obciążania kości użyto czterech biomorficznych aktuatorów piezoelektrycznych (LPD12060X, Megacera Inc., Saitama, Japonia). Sygnał napięciowy był wysyłany przez komputer do aktuatorów, zgodnie z zaprogramowaną falą obciążenia, poprzez kartę AD/DA (aISA-A57, Adtek-system Science, Kanagawa, Japonia) i wzmacniacz piezoelektryczny o paśmie przenoszenia 3 kHz (E470.00, Physik Instrumente (PI) GmbH & Co., Waldbronn, Niemcy). Obciążanie kości łokciowej myszy było kontrolowane przy użyciu tensometru na wsporniku. Sygnał z tensometru był wzmacniany przez kondycjoner (2120B, Measurements Group, Inc., Raleigh, NC) i odbierany przez kartę AD/DA. Rozbieżności pomiędzy pożądaną z mierzoną falą były zmniejszane przez kontrolę sprzężenia zwrotnego w odstępach o czasie 250  $\mu$ s, co odbywało się przy użyciu programu napisanego przez Visual Basic (Microsoft, Bellevue, WA). Trzy fale obciążeń przedstawione na rysunku 3 były zaprogramowane na komputerze osobistym w LABVIEW<sub>r</sub> (National Instruments Co., TX) i Visual Basic (Microsoft,): 1) sinusoidalna (fala haversin o częstotliwości 2 Hz i amplitudzie 3N pomiędzy dwoma kolejnymi wychyleniami); 2) drgania (szum prawie biały o rozkładzie gaussowskim, odchyleniu standardowym 0,3 N i składowych częstotliwości 0,5 Hz); oraz 3) S + D (drgania z nałożoną falą sinusoidalną, tak aby obie fale oddziaływały jednocześnie na kość myszy. Mysz poddawano obciążeniom pod znieczuleniem ogólnym przez 30 sekund dziennie przez dwa kolejne dni.

### **Analiza pomiarów tensometru**

Obciążenia były przenoszone na kość łokciową przez staw nadgarstkowy i pokrywające go tkanki miękkie. Dlatego też spodziewaliśmy się, że staw wraz z tymi tkankami będzie tłumił drgania, zwłaszcza składowe o wysokiej częstotliwości. Aby zbadać zjawisko tłumienia, drgania mechaniczne przenoszone były na kość łokciową myszy przy użyciu opisanego wyżej urządzenia do pobudzania kości i jednocześnie mierzono napięcia mechaniczne w przyśrodkowej powierzchni środkowej części trzonu. Rysunki 4a i 4b przedstawiają odpowiednio siłę przyłożoną do kości i pomiar napięć panujących w niej. Przeprowadzono analizę metodą szybkiej transformacji Fouriera (FFT), aby przedstawić obciążenia i napięcia jako funkcję częstotliwości. Rysunki 4c i 4d przedstawiają średnią moc fal odpowiednio wywieranych obciążeń oraz mierzonych napięć w zakresie 0-50 Hz w przedziałach co 10 Hz. Odnotowano składowe o częstotliwości do 50 Hz zarówno w siłach obciążających jak i napięciach mierzonych w kości łokciowej. Średnia moc napięć była nieco niższa w zakresach 30-40 Hz i 40-50 Hz. Dane te wskazują na to, że drgania, generowane przez nasze urządzenie, przenoszone na kość przedramienia wywoływały napięcia o wysokiej częstotliwości, chociaż obciążenia o częstotliwości powyżej 30 Hz były w pewnym stopniu tłumione.

### **Histomorfometria kości**

Wszystkim myszom podawano zastrzyki kalceiny (po 0,1 ml) w 2. i 6. dniu po ostatniej sesji obciążania, a w 13. dniu były one usypiane. Obie kości łokciowe (prawa i lewa) zostawały wypreparowane do badania histomorfometrycznego. Umieszczano je na 48 godzin w 10% roztworze formaliny, odwadniano je w stopniowanych stężeniach etanolu i acetonu, a następnie umieszczano w metakrylanie metylu (MMA; K-Plast; Delaware Diamond Knives, Wilmington, DE). Przekroje poprzeczne o grubości 50  $\mu\text{m}$  odcinano w odległości 1 mm dystalnie w stosunku do połowy trzonu kości łokciowej przy użyciu diamentowej piły linowej (Histo-saw; Delaware Diamond Knives). Przekroje te były badane pod mikroskopem fluorescencyjnym (Nikon Melville, NY). Badano następujące parametry tworzenia kości na podstawie obwodu powierzchni podokostnowej i od strony jamy szpikowej przy użyciu systemu histomorfometrii Bioquant (R&M Biometrics, Nashville, TN): 1) powierzchnia mineralizacji (MS/BS, %) –  $100 \times (\text{suma długości podwójnie znaczonego obwodu i połowy pojedynczo znakowanego obwodu}) / (\text{całkowita długość obwodu})$ ; 2) szybkość apozycji mineralnej (MAR,  $\mu\text{m} / \text{dzień}$ ) =  $(\text{średnia odległość kątowna pomiędzy dwoma znakowaniami}) / (\text{czas między zastrzykami kalceiny, 4 dni})$ ; 3) szybkość tworzenia kości (BFR/BS,  $\mu\text{m}^3 / \mu\text{m}^2 / \text{rok}$ ) =  $\text{MS/BS} \times \text{MAR} \times 3,65$ , co odwzorowuje objętościową szybkość tworzenia kości. Względne parametry tworzenia kości, rMS/BS, RMAR i rBFR/BS zostały wyliczone poprzez odjęcie wartości parametrów dla lewej kości łokciowej od parametrów dla prawej kości.

### **Metody statystyczne**

Analiza zmienności (ANOVA, Statview, SAS Institute, Cary, NC) została wykonana w celu zbadania statystycznie istotnych różnic w wartościach parametrów tworzenia kości. Badano istotność statystyczną, jeżeli wartość p wynosiła 0,05 lub mniej. Przeprowadzono sparowane testy t dla każdej grupy obciążeń, aby określić istotne różnice w wartościach parametrów tworzenia kości między lewą a prawą kością łokciową. Test LSD Fishera był przeprowadzany w celu porównania grup obciążanych z grupą kontrolną. Przekroje bez oznaczeń kalceiną nie były analizowane. U dwóch myszy z grupy S+D oraz jednej z grupy sinusoidalnej wykryto kość grubowłóknistą w prawej kości łokciowej. Myszy te nie były brane pod uwagę w analizie.

## WYNIKI

Tworzenie nowej kości na powierzchni podokostnowej kości łokciowej było zwiększone przez obciążanie sinusoidalne oraz S+D, jednak nie wykryto takiego wpływu w przypadku samych drgań (Rys. 5). Stymulacja S+D silniej powiększała wartości parametrów tworzenia nowej kości niż obciążenia sinusoidalne (Rys. 6). W przypadku S+D parametry tworzenia kości, tj. rMS/BS, rMAR i rBFR/BS, były 1,6 razy ( $P < 0,05$ ), 3,3 razy ( $P < 0,001$ ) oraz 3,9 razy ( $P < 0,001$ ) większe niż dla stymulacji sinusoidalnej.

Na powierzchni od strony jamy szpikowej stwierdzono znacznie mniejszy wpływ obciążeń mechanicznych niż na powierzchni podokostnowej. Obciążenia sinusoidalne i S+D miały lekko anaboliczny wpływ na szybkość tworzenia kości od strony jamy szpikowej (rBFR/BS;  $P < 0,05$  dla każdej grupy porównywanej z grupą kontrolną). Obciążanie S+D nie zwiększyło znacząco parametru rBFR/BS w porównaniu do samej stymulacji sinusoidalnej. Obciążenie drganiami nie miało żadnego istotnego wpływu na parametry tworzenia kości na obu powierzchniach kości.

## OMÓWIENIE

Zarówno obciążanie sinusoidalne, jak i S+D pobudzało tworzenie nowej tkanki kostnej w kości łokciowej myszy. Dotyczy to zwłaszcza S+D, które wywoływało 3,9 razy intensywniejsze tworzenie kości na powierzchni okostnowej w porównaniu z pobudzaniem sinusoidalnym. Wyniki te świadczą o tym, że tworzenie nowej kości w odpowiedzi na symulację ćwiczeń (pobudzanie sinusoidalne) może być zwiększone przez nałożenie drgań o niskiej amplitudzie i szerokim zakresie częstotliwości, co sugeruje wpływ rezonansu stochastycznego. Rezonans stochastyczny może zmieniać czułość mechaniczną i/lub mechanizmy przekazywania sygnałów w komórkach tkanki kostnej. Kanały wapniowe i inne kanały jonowe pełnią podstawową rolę w odpowiedzi osteoblastów na działanie zewnętrznych sił mechanicznych (10). Wsunęto przypuszczenie, że pewne kanały jonowe wykazują rezonans stochastyczny (11). W naszym badaniu nie udało się wykazać pobudzającego wpływu samych drgań o niskiej amplitudzie i szerokim zakresie częstotliwości na tworzenie kości na obu powierzchniach kości łokciowej. Wcześniej Rubin i wsp. (12, 13) donosili o pobudzającym anabolizmie kości wpływie obciążania o niskiej amplitudzie i wysokiej częstotliwości (30 Hz). Jednakże reakcja anaboliczna obserwowana była jedynie w kości gąbczastej, na końcach kości długich. Nie udało im się udowodnić występowania tego zjawiska w kości korowej. Ponieważ nasze badanie ograniczało się do badania wyłącznie kości korowej, nasze wyniki okazują się być zgodne z rezultatami utrzymanymi w pracy Rubina i wsp., tj. same drgania o niskiej amplitudzie nie są w stanie pobudzić tworzenia kości korowej. Nie jest wyjaśnione, dlaczego drgania o niskiej amplitudzie mogą pobudzać anabolizm kości gąbczastej, ale nie korowej. Można się domyślać, że obciążanie drganiami stawów wytwarza fale ciśnienia o niskiej amplitudzie w szpiku kostnym, co z kolei może pobudzać osteoblasty znajdujące się na powierzchni kości gąbczastej. Te fale ciśnienia rozchodzące się w szpiku mogą być tłumione w trakcie przemieszczania się w kierunku środka trzonu kości, co wyjaśniałoby brak wpływu obciążenia drganiami na tworzenie kości w połowie trzonu kości łokciowej. Nie dokonywaliśmy pomiarów tworzenia kości gąbczastej na końcach kości łokciowej, zatem nie jesteśmy w stanie potwierdzić wyników Rubina i wsp.

Nasze wyniki sugerują istotną rolę obserwowanych *in vivo* naprężeń kości o niskiej amplitudzie i szerokim zakresie częstotliwości (14-16) w podtrzymywaniu lub zwiększaniu reakcji adaptacyjnej kości na bodźce mechaniczne, wywoływane takimi codziennymi czynnościami jak

chodzenie, bieganie lub skakanie. Możliwe, że drgania mięśni są odpowiedzialne za część mierzonych *in vivo* naprężeń w kościach o wysokiej częstotliwości. Donoszono o tym, że amplituda drgań wywoływanych przez mięśnie o częstotliwości powyżej 20 Hz zmniejsza się wraz z wiekiem (17). W pracy Rubina (13) przypuszczano, że brak drgań wywoływanych przez mięśnie przyczynia się do postępu osteoporozy u pacjentów starszych. Rezonans stochastyczny może być mechanizmem, za pośrednictwem którego naprężenia w kości, wywoływane zwykle przez mięśnie, zwiększają czułość osteoblastów na bodźce mechaniczne spowodowane aktywnością fizyczną, aby utrzymać masę tkanki kostnej.

Nasze wyniki wskazują na możliwość wykorzystania rezonansu stochastycznego do polepszenia efektów ćwiczeń pobudzających tworzenie kości. Ćwiczenia mogą zwiększyć zarówno masę kości jak i ich wytrzymałość u dzieci rosnących i dorastających, jednak ich potencjał pobudzający tworzenie kości znacząco spada po osiągnięciu dojrzałości (18). Szkielet człowieka zaledwie umiarkowanie reaguje na obciążenia mechaniczne i ta reaktywność zmniejsza się wraz z wiekiem (19). Ćwiczenia połączone z drganiami są obiecującą techniką pobudzania tworzenia kości w starzejącym się szkielecie. Istnieją informacje o tym, że same drgania o niskiej amplitudzie i wysokiej częstotliwości zwiększają tworzenie nowej kości gąbczastej u owiec (12, 13, 20) oraz tworzenie kostniny u królików z nacięta kością (21), jednak same drganie nie mają zauważalnego wpływu na tworzenie nowej kości korowej. Nasze wyniki dowodzą o potencjalnym wpływie pobudzającym anabolizm kości korowej, gdy drgania o niskiej amplitudzie są stosowane jednocześnie z symulowanym ćwiczeniem. Kość korowa warunkuje w przeważającym stopniu wytrzymałość mechaniczną kości długich oraz wielu klinicznie ważnych miejsc, takich jak koniec bliższy kości udowej. Stosowanie rezonansu stochastycznego stanowi nowy sposób pobudzania tworzenia kości tam, gdzie jest to najważniejsze z biomechanicznego punktu widzenia.

## PODZIĘKOWANIA

Niniejsze badanie zostało wsparte przez dotację od Służby Zdrowia Publicznego Stanów Zjednoczonych wydaną przez Narodowy Instytut Zapalenia Stawów oraz Chorób Układu Mięśniowo-Szkieletowego i Skóry (AR45218).

## PIŚMIENNICTWO

1. Benzi, R., Sutera, A., and Vulpiani, A. (1981) The mechanism of stochastic resonance. *J. Phys.* A14, L453.457.
2. Benzi, R., Parisi, G., Sutera, A., and Vulpiani, A. (1982) Stochastic resonance in climatic change. *Tellus* 34, 10.16.
3. Nicolis, C. (1982) Stochastic aspects of climatic transitions. response to a periodic forcing. *Tellus* 34, 1.9.
4. Douglass, J. K., Wilkens, L., Pantazelou, E., and Moss, F. (1993) Noise enhancement of information transfer in crayfish mechanoreceptors by stochastic resonance. *Nature* 365, 337. 340.
5. Braun, H. A., Wissing, H., Schafer, K., and Hirsch, M. C. (1994) Oscillation and noise determine signal transduction in shark multimodal sensory cells. *Nature* 367, 270.273.
6. Levin, J. E., and Miller, J. P. (1996) Broadband neural encoding in the cricket cercal sensory system enhanced by stochastic resonance. *Nature* 380, 165.168.
7. Collins, J. J., Imhoff, T. T., and Grigg, P. (1996) Noise-enhanced tactile sensation. *Nature* 383, 770.

8. Collins, J. J., Imhoff, T. T., and Grigg, P. (1997) Noise-mediated enhancements and decrements in human tactile sensation. *Physical Review E* 56, 923.926.
  9. Tanaka, S. M., Li, J., Duncan, R. L., Burr, D. B., and Turner, C. H. (2001) Mechanical stimulation with broad frequency vibration promotes differentiation of osteoblasts in 3D culture. *J Bone Miner Res* 16, S481
  10. Duncan, R. L., Akanbi, K. A., and Farach-Carson, M. C. (1998) Calcium signals and calcium channels in osteoblastic cells. *Semin Nephrol* 18, 178.190.
  11. Bezrukov, S. M., and Vodyanoy, I. (1995) Noise-induced enhancement of signal transduction across voltage-dependent ion channels. *Nature* 378, 362.364.
  12. Rubin, C., Turner, A. S., Bain, S., Mallinckrodt, C., and McLeod, K. (2001) Anabolism. Low mechanical signals strengthen long bones. *Nature* 412, 603.604.
  13. Rubin, C., Turner, A. S., Mallinckrodt, C., Jerome, C., McLeod, K., and Bain, S. (2002) Mechanical strain, induced noninvasively in the high-frequency domain, is anabolic to cancellous bone, but not cortical bone. *Bone* 30, 445.452.
  14. Turner, C. H., Yoshikawa, T., Forwood, M. R., Sun, T. C., and Burr, D. B. (1995) High frequency components of bone strain in dogs measured during various activities. *J Biomech* 28, 39.44.
  15. Rubin, C. T., McLeod, K. J., and Bain, S. D. (1990) Functional strains and cortical bone adaptation: epigenetic assurance of skeletal integrity. *J Biomech* 23, 43.54.
  16. Fritton, S. P., McLeod, K. J., and Rubin, C. T. (2000) Quantifying the strain history of bone: spatial uniformity and self-similarity of low-magnitude strains. *J Biomech* 33, 317.325.
  17. Huang, R. P., Rubin, C. T., and McLeod, K. J. (1999) Changes in postural muscle dynamics as a function of age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 54, B352.357.
  18. Khan, K., McKay, H. A., Haapasalo, H., Bennell, K. L., Forwood, M. R., Kannus, P., and Wark, J. D. (2000) Does childhood and adolescence provide a unique opportunity for exercise to strengthen the skeleton? *J Sci Med Sport* 3, 150.164.
  19. Turner, C. H., Takano, Y. and Owan, I. (1995) Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats. *J Bone Miner Res* 10, 1544.1549.
  20. Rubin, C., Turner, A. S., Muller, R., Mittra, E., McLeod, K., Lin, W., and Qin, Y. X. (2002) Quantity and quality of trabecular bone in the femur are enhanced by a strongly anabolic, noninvasive mechanical intervention. *J Bone Miner Res* 17, 349.357.
  21. Usui, Y., Zerwekh, J. E., Vanharanta, H., Ashman, R. B., and Mooney, V. (1989) Different effects of mechanical vibration on bone ingrowth into porous hydroxyapatite and fracture healing in a rabbit model. *J Orthop Res* 7, 559.567.
- Received July 18, 2002; accepted October 16, 2002.*

**Rys. 1 Schemat urządzenia do mechanicznego pobudzania kości łokciowej myszy oraz systemu sterującego.**

**Rys. 2 Prawe przedramię myszy utrzymywane w urządzeniu przenoszącym obciążenia.**

**Rys. 3 Rodzaje fal stosowanych obciążeń. a)** Fala sinusoidalna o wysokiej amplitudzie i niskiej częstotliwości, częstotliwość 2Hz, amplituda 3N, symulująca ćwiczenie **b)** Drgania o niskiej amplitudzie i szerokim zakresie częstotliwości ze składowymi w zakresie częstotliwości 0–50 Hz i średnią amplitudą o wartości 0,3 N; **c)** fala sinusoidalna połączona z drganiami (S+D) aby wywołać rezonans stochastyczny.

**Rys 4** Obciążenia o charakterze drgań przenoszone na przedramię myszy (a) oraz napięcie kości mierzone tensometrem umieszczonym na przyśrodkowej powierzchni środkowej części trzonu kości łokciowej (b). Rozkład średniej mocy obciążeń kości (c) i napięć kości (d) w przedziałach co 10 Hz. Drgania przenoszone na tkankę kostną wywołały napięcia o częstotliwości do 50 Hz.

**Rys. 5** Tworzenie nowej kości obserwowane na przekroju prawej (obciążanej) kości łokciowej. Zdjęcia po stronie prawej są powiększeniem przyśrodkowej powierzchni okostnowej, pokazanej na lewym zdjęciu. Białe zarysy są oznaczeniami fluorescencyjnymi wskazującymi na umiejscowienie frontu mineralizacyjnego w 2. i 6. dniu po obciążaniu. Mocniej oznaczona powierzchnia lub większa odległość między oznaczeniami świadczy o intensywniejszym tworzeniu kości. Odcinki na lewym i prawym zdjęciu odpowiadają odpowiednio 280  $\mu\text{m}$  i 140  $\mu\text{m}$ . Fala sinusoidalna oraz obciążanie złożone z drganiami (S+D) istotnie zwiększyło tworzenie nowej kości, podczas gdy same drgania nie wpłynęły na ten proces.

**Rys. 6** Porównanie grup obciążanych pod względem względnych parametrów tworzenia kości na powierzchni okostnowej na przekrojach kości łokciowej. Do pomiarów histomorfometrycznych należy powierzchnia mineralizacji (rMS/BS), szybkości apozycji mineralnej (rMAR) i szybkość tworzenia kości (rBFR/BS). Parametry te przedstawiają wartości względne, które zostały wyliczone poprzez odjęcie wartości parametrów lewej kości łokciowej (nieobciążanej) od wartości parametrów prawej kości (obciążanej). Grupa S+D wykazała znacznie wyższe wartości wszystkich parametrów w porównaniu do pozostałych obciążanych grup. Nie stwierdzono istotnych różnic między grupą poddaną samym drganiom a grupą kontrolną. Dane przedstawiają średnią  $\pm$  błąd standardowy.

\* $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ .