



DeneySEL ÇALIŞMA / Experimental Study

Osteoporoz oluşturulan sıçanlarda zoledronik asit ve egzersizin kemik mineral yoğunluğu ve biyomekaniği üzerine etkilerinin karşılaştırılması

Comparison of the effects of zoledronic acid and exercise on bone mineral density and biomechanics in rats with induced osteoporosis

Murat Gürger,¹ Gürkan Akgöl,² Mustafa Ulaş,³ Remzi Atılğan,⁴ Arif Gülkesen²

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

³Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

⁴Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Geliş tarihi / Received: Ocak 2015 Kabul tarihi / Accepted: Haziran 2015

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada osteoporoz oluşturulan sıçanlarda zoledronik asit ve egzersizin kemik mineral yoğunluğu (KMY) ve biyomekaniği üzerine olan etkileri karşılaştırıldı.

Gereç ve yöntemler: Çalışmaya 32 adet üç aylık dişi Wistar albino sıçan alındı. Kontrol grubuna (n=8) yalnızca cilt insizyonu yapıldı. Ovariectomize edilen sıçanlara iki ay sonra KMY ölçümü yapıldı. Osteopeni saptanan sıçanlar rastgele üç gruba ayrıldı. Birinci gruba (n=8) tek doz 0.1 mg/kg intravenöz zoledronik asit, ikinci gruba (n=8) treadmill egzersiz testi uygulandı. Üçüncü gruba ise (n=8), ilaç ve egzersiz uygulanmadı. On iki hafta sonunda sıçanların tümü sakrifiye edildi. Sağ femurların KMY ölçümü yapıldı. Sol femurlara ise üç nokta eğme testi yapıldı.

Bulgular: Cerrahi menopozdan 12 hafta sonra ortalama KMY değerleri, diğer gruplara kıyasla, kontrol grubunda anlamlı düzeyde daha yüksekti (p<0.05). En düşük KMY değerleri ovariectomi grubunda bulundu (p<0.05). Zoledronik asit grubu ve egzersiz grubunun KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Kontrol grubundaki örneklerin ortalama maksimum stres değerleri, diğer gruplara kıyasla, anlamlı düzeyde daha yüksekti (p<0.05). Kontrol grubundaki ortalama maksimum gerilme değeri, zoledronik asit grubu ve ovariectomi grubuna kıyasla, daha yüksekti (p<0.05). Ovariectomi grubu, diğer gruplara kıyasla, daha zayıf biyomekanik dayanıma sahipti. Egzersiz grubunun maksimum gerilme değerleri, zoledronik asit grubu ve ovariectomi gruplarına kıyasla, anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu (p<0.05).

Sonuç: Çalışma sonuçlarımız, osteoporozun tedavisinde ve önlenmesinde egzersizin zoledronik asit tedavisi kadar etkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Biyomekanik; egzersiz; osteoporoz; zoledronik asit.

ABSTRACT

Objectives: This study aims to compare the effects of zoledronic acid and exercise on the bone mineral density (BMD) and biomechanics in rats with induced osteoporosis.

Materials and methods: Thirty-two three-month-old female Wistar albino rats were enrolled in this study. In the control group (n=8), only skin incision was performed. Bone mineral density was measured in the ovariectomized rats after two months. The rats with osteopenia were randomly divided into three groups. The first group (n=8) received single dose 0.1 mg/kg intravenous zoledronic acid, while the second group (n=8) underwent treadmill exercise test. The third group (n=8) received no medication or exercise. All rats were sacrificed at the end of week 12. The BMD of the right femurs was measured. The three-point bending test was performed on the left femurs.

Results: The mean BMD values 12 weeks after surgical menopause was significantly higher in the control group than the other groups (p<0.05). The lowest BMD values were found in the ovariectomy group (p<0.05). No statistically significant difference was found between the BMD values of zoledronic acid group and exercise group (p>0.05). The mean maximum stress values of the samples from the control group were significantly higher than the other groups (p<0.05). The mean maximum strain value in the control group was higher than the zoledronic acid group and ovariectomy group (p<0.05). Ovariectomy group had a lower biomechanical strength compared to the other groups. The maximum strain values of the exercise group were significantly higher than the zoledronic acid group and ovariectomy group (p<0.05).

Conclusion: Our study results show that exercise is as effective as the zoledronic acid therapy in the treatment and prevention of osteoporosis.

Keywords: Biomechanics; exercise; osteoporosis; zoledronic acid.

İletişim adresi / Corresponding author: Dr. Gürkan Akgöl, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, 23119 Elazığ, Türkiye.
e-posta / e-mail: drgurkanakgol@gmail.com

Cite this article as:

Gürger M, Akgöl G, Ulaş M, Atılğan R, Gülkesen A. Comparison of the effects of zoledronic acid and exercise on bone mineral density and biomechanics in rats with induced osteoporosis.
[Article in Turkish] Turk J Phys Med Rehab 2016;62:156-61.

Osteoporoz, azalmış kemik kütlesi ve kemiğin mikromimari yapısının bozulması sonucunda kırılabilirliğin artışıyla karakterize metabolik ve sistemik bir hastalıktır. Osteoporoz tüm yaş grubundaki kadınları etkileyen bir durumdur, fakat özellikle yaşlılardaki etkileri oldukça şiddetlidir.^[1] Dünya genelinde her yıl osteoporoz nedeniyle yaklaşık olarak 1.66 milyon kırık meydana gelmektedir ve 2050 yılına kadar bu sayının dört kat artacağı tahmin edilmektedir.^[2]

Menopozda gelişen östrojen eksikliği, kadınlarda kemik döngüsünün artmasının, kemik kütle ve dayanıklılığının azalmasının en önemli nedenlerinden biridir. Kemik kütlesindeki azalma ve mikromimarideki değişiklikler uygun olarak tedavi edilmez ise kırık riski artar.^[3,4] Klinik ve laboratuvar çalışmaları kemiğin dinamik bir doku olduğu ve çevresel faktörlerden etkilendiğini kanıtlamıştır. Bu değişiklikler kemik yapımı ve yıkımının doku seviyesindeki aktivitelerinden kaynaklanır. Azalan östrojenin kemik üzerine olan olumsuz etkilerini dengelemeyi amaçlayan müdahaleler bu iki aktiviteyi hedef alır. Kemik kütlesini ve dayanıklılığını artırdığı kanıtlanan en önemli tedavi seçeneklerinden ikisi egzersiz ve bifosfonat tedavisidir.^[5-10] Kemiğin, kemik oluşumunu artırarak mekanik zorlanmalara yanıt veren mekanosensitiv bir doku olduğu görüşü yaygın olarak kabul edilmektedir.^[11-13] Bununla birlikte bifosfonat da osteoklastlar tarafından oluşturulan kemik yıkımını ve kemik döngüsünü yavaşlatırlar.^[14]

Bifosfonatlar gibi bazı medikasyonlar kemikteki dejeneratif hastalık sürecini durdurabilir hatta geri döndürebilir. Bifosfonatlardan biri olan zoledronik asit kemik rezorpsiyonunun güçlü bir inhibitörüdür.^[15,16] Bifosfonatların kemik doku kütlesini artırmasına yönelik çalışmalar vardır ancak kemiğin mekanik performansı üzerine etkisini inceleyen yeterli biyomekanik çalışma yoktur.

Genellikle egzersizin iskelet üzerine pozitif bir etkiye sahip olduğu ve osteoporozun tedavisinde ve önlenmesinde faydalı olduğu düşünülmektedir. Uzun süreli yatak istirahati ve immobilizasyon gibi fiziksel aktivitenin ve mekanik yüklenmenin azaldığı durumlarda, kemik yıkımı artmakta, kemik yapımı azalmakta ve hızlı bir şekilde kemik kaybı gelişmektedir.^[17,18]

Yaptığımız literatür araştırmasında, zoledronik asit ve egzersiz tedavisinin kemik mineral yoğunluğu (KMY) ve kemiğin biyomekaniği üzerine olan etkilerini karşılaştıran çok az çalışma olduğunu tespit ettik ve yaptığımız çalışmayla bu konuda literatüre katkı sağlamayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneylerde üç aylık, ağırlıkları 250-260 gram arasında değişen 32 adet dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda oda sıcaklığı 21 °C ve ortalama nem yaklaşık %50 olacak şekilde kafeslerde tutuldu, deney süresince standart yem ve su ile beslendi. Kontrol grubu dışındaki sıçanlara ketamin ile anestezi yapılarak ventral insizyon ile iki taraflı overektomi yapıldı. Kontrol grubuna sadece cilt insizyonu yapıldı. Deneyler tamamlanmadan kontrol grubu dışındaki diğer gruplardan birer sıçan öldü. Çalışma için yerel hayvan deneyleri etik kurulu onayı alındı.

Örnek gruplarındaki bütün sıçanlara sekiz hafta sonra küçük hayvan tarama modu kullanılarak Hologic Discovery QDR Serisi çift enerji X ışını absorpsiyometre (DXA) cihazı (Hologic Inc., Bedford, MA, ABD) kullanılarak KMY ölçümü yapıldı. Bu işlem sıçanlar genel anestezi ile immobilize edilerek yapıldı. Femur boyun ve diyafiz bölgelerinden ölçüm yapıldı. Kontrol grubu (n=8) dışında kalan ve osteopeni saptanan sıçanlar rastgele olarak üç gruba ayrıldı. Birinci gruba (Zol, n=8) 0.1 mg/kg i.v zoledronik asit tek doz,^[19] ikinci gruba (Egz, n=8) dakikada 17 metre, günde bir saat, haftada beş gün 12 hafta boyunca treadmill egzersizi uygulandı.^[20] Üçüncü gruba ise (Ovx, n=8) ilaç ve egzersiz uygulanmadı. Her dört gruptaki sıçanlara benzer diyetler verildi.

On iki hafta sonunda sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi ve sağ ve sol femurları çıkarıldı, yumuşak dokular temizlendi, kırık ve anormal patolojiler açısından incelendi (Şekil 1). Sağ femurların KMY ölçümü hemen aynı gün yapıldı, sol femurlar ise üç nokta eğme testi için salinle ıslatılmış gazlı beze sarıldı



Şekil 1. Overektomi grubundan osteoporotik femur kırığı oluşan bir örnek.

ve -80 °C derecede saklandı. Kemikler biyomekanik testlerden önce iki saat oda sıcaklığında bekletildi ve ardından ölçümler yapıldı.

Örnek gruplardaki her bir sol femurun biyomekanik özellikleri elektrohidrolik materyal test sistemi (Shimadzu-Autograph-50 kN) kullanılarak yapılan üç nokta eğme (3PB) testleri ile değerlendirildi. Bütün testlerde yüklenme hızı 2 mm/sn olarak ayarlandı. İki destek arasındaki mesafe 15.5 mm olarak tespit edildi. Testlere başlamadan önce 20 Newton (N) ön yükleme uygulandı. Maksimum deformasyon (mm), maksimum stres (N/mm²) ve maksimum gerilme (%) değerlerine bakıldı.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi ve istatistiksel anlamlılığın sınırı p<0.05 olarak kabul edildi. Değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediğini kontrol etmek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırma için Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi kullanıldı. İkili karşılaştırmalar ise Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Bonferroni düzeltilmesi yapıldı ve düzeltilmiş "p" değerleri kullanıldı.

BULGULAR

Kontrol grubu hariç diğer gruplardan birer sıçan test tamamlanmadan öldü. Bu yüzden kalan 29 sıçanın verileri analiz edildi. Başlangıç vücut ağırlık değerleri arasında (overektomiden 8 hafta sonra) istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p<0.05). Tedaviden 12 hafta

sonra egzersiz grubu (n=7) diğer gruplarla karşılaştırıldığında %40 daha az kilo aldığı gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05). Cerrahi menopoza 12 hafta sonra KMY medyan değerleri kontrol grubu için (n=8) 0.267 (0.262-0.278) zoledronik asit grubu için (n=7) 0.244 (0.232-0.255), egzersiz grubu için (n=7) 0.235 (0.228-0.241) ve overektomi grubu için (n=7) 0.211 (0.208-0.225) olarak bulundu (Tablo 1). Kontrol grubundaki ortalama KMY değeri diğer gruplardan yüksek bulundu (p<0.05). Overektomi grubundaki ortalama KMY değeri diğer gruplardan düşük bulundu (p<0.05). Zoledronik asit ve egzersiz grubu KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05).

Bütün grupların sol femur örneklerinden elde edilen biyomekanik değerler karşılaştırıldı (Tablo 1). Kontrol grubundaki örneklerin maksimum deformasyon değerleri, maksimum stres değerleri ve maksimum gerilme değerleri, zoledronik asit ve overektomi grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik vardı (p<0.05), ancak egzersiz grubu ile aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). Overektomi grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında daha zayıf biyomekanik dayanımlar sergiledi. Egzersiz grubu ile zoledronik asit grubunun maksimum stres değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05). Egzersiz grubunun maksimum gerilme değerleri zoledronik asit ve overektomi gruplarından yüksek bulundu (p<0.05) (Tablo 2).

TARTIŞMA

Bu çalışmadaki sonuçlar iki ana başlık altında değerlendirildi. Birincisi, egzersizin ve zoledronik

Tablo 1. Grupların kemik mineral yoğunluğu ve biyomekanik değerleri

	Maximum deformasyon (mm)	Maximum stres (N/mm ²)	Maximum gerilme %	Kemik mineral yoğunluğu
Kontrol grubu				
Medyan	1.137	159.802	8.906	0.267
Minimum	0.905	104.886	6.163	0.262
Maximum	1.561	186.224	11.697	0.278
Zoledronik asit				
Medyan	0.671	119.964	5.561	0.244
Minimum	0.592	98.469	4.995	0.232
Maximum	0.774	128.765	6.546	0.255
Egzersiz grubu				
Medyan	0.866	114.922	7.525	0.235
Minimum	0.794	95.814	6.667	0.228
Maximum	1.010	150.872	9.088	0.241
Overektomi grubu				
Medyan	0.420	78.536	3.567	0.211
Minimum	0.350	56.217	2.711	0.208
Maximum	0.571	96.580	4.993	0.225

Tablo 2. Gruplar karşılaştırıldığında (Bonferroni düzeltilmesi yapıldıktan sonra) bulunan “p” değerleri

	Maximum deformasyon (mm)	Maximum stres (N/mm ²)	Maximum gerilme %	Kemik mineral yoğunluğu
	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>
Kontrol grubu				
Zoledronik asit grubu	0.006*	0.048*	0.012*	0.006*
Kontrol grubu				
Egzersiz grubu	0.066	0.168	0.990	0.006*
Kontrol grubu				
Overektomi grubu	0.006*	0.006*	0.006*	0.006*
Zoledronik asit grubu				
Egzersiz grubu	0.012*	1.000	0.012*	0.498
Zoledronik asit grubu				
Overektomi grubu	0.012*	0.012*	0.012*	0.012*
Egzersiz grubu				
Overektomi grubu	0.012*	0.018*	0.012*	0.012*

* İstatistiksel anlamlılığın sınırı $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

asitin KMY değerleri üzerine olan etkisi, ikincisi, egzersiz ve zoledronik asitin kemiğin biyomekaniği üzerine olan etkisi.

Bu çalışmada, dört grubun KMY değerleri karşılaştırıldı. Egzersiz grubunun ortalama KMY değerinde %9.3'lük, zoledronik asit grubunun KMY değerlerinde ise ortalama %12.5'lik bir artış olduğu gözlemlendi. Bu artış, overektomi grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Uygun fiziksel aktivitenin kemik sağlığı üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Fiziksel aktivitenin hem gençlerde hem de KMY değerleri düşük olan genç ve yaşlılarda kemik kütlelerini artırdığı gösterilmiştir.^[21-23] Ayrıca menopoza ve overektomi sonrasında ortaya çıkan kemik kayıplarının uygun egzersizler ile önlenilebileceği bildirilmiştir.^[24] Yatak istirahati, yük verme, paraliz ve immobilizasyon gibi nedenler ile mekanik yüklerin ortadan kaldırılmasının kemik kayıpları ile sonuçlandığı bildirilmiştir.^[25-27] Zoledronik asitin vertebra kırıklarının anlamlı ölçüde azalttığı, femur boyun ve trokanterik bölge KMY değerlerini artırdığı pek çok çalışmada gösterilmiştir.^[28-31] Zoledronik asit uygulamasından sonra kemik turnover belirteçlerindeki en anlamlı düşüşün (%50-80) ilk üç ayda olduğu gösterilmiştir.^[32-34] Bu süre dikkate alınarak deneyler zoledronik asit uygulamasından üç ay sonra yapıldı ve overektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı sonuçlar elde edildi.

Bu çalışmada, biyomekanik testlerden maksimum deformasyon (mm), maksimum stres (N/mm²) ve maksimum gerilme (%) değerlerine bakıldı. Egzersiz grubundan elde edilen değerler overektomi grubundan yüksek bulundu ($p < 0.05$). Egzersiz grubunun maksimum gerilme değerleri zoledronik asit grubundan

yüksekti ($p < 0.05$). Bu farkın, özellikle egzersizle elde edilen periostal kemik şekillenmesi ve kortikal kalınlaşma sonucu olduğu düşünülmektedir. Fuchs ve ark.^[10] yaptıkları çalışmada alendronatın endokortikal yüzeydeki kemik rezorpsiyonunu azalttığını ancak egzersizin periostal kemik yapımını daha fazla uyardığını tespit etmişlerdir. Koşma ve mekanik yüklenmeler ile kemiğin dayanıklılığının arttığı bilinmektedir. Fiziksel aktivitenin kemiğin yeniden şekillenmesi üzerine olan etkisi sadece mekanik yüklenmeler sonucu değil aynı zamanda hormonal değişiklikler ile de gerçekleşmektedir.^[35-38] Camacho-Alonso ve ark.^[39] yaptıkları bir çalışmada, birer hafta arayla artan dozlarda 0.2 mg, 0.4 mg ve 0.6 mg zoledronik asiti sıçanlara intraperitoneal olarak vermişler ve son dozdan 28 gün sonra sıçanları sakrifiye etmişlerdir. Yaptıkları biyomekanik testler ile hem mandibulanın hem de femur başının biyomekanik dayanımlarının arttığını ve kırık oluşmasına karşı direncin arttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda, zoledronik asit grubuna yapılan biyomekanik testler sonucunda elde edilen değerler overektomi grubundan yüksek bulundu ($p < 0.05$) ve kırık oluşumuna karşı direncin arttığı tespit edildi.

Zoledronik asit ve egzersiz gruplarından elde edilen KMY değerleri ve biyomekanik değerler karşılaştırıldığında maksimum gerilme ve maksimum deformasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$). Zoledronik asit grubunun maksimum gerilme değerlerindeki düşüklüğün kemiğin egzersiz grubuna kıyasla daha kırılabilir olmasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Uzun süreli bifosfonat kullanımı sonrasında atipik femur kırıklarının görülebileceği literatürde belirtilmiştir.^[40] Bu çalışmada, tespit ettiğimiz zoledronik asit grubunun maksimum gerilme değerlerindeki düşüklüğün

uzun vadede atipik kırıklardan sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.

Bifosfonat tedavisi ve egzersizin birlikte uygulandığında sinerjik etki gösterdiğini savunan yayınlar^[10] olduğu gibi etkisiz olduğunu gösteren yayınlar da vardır.^[41] Lespessailles ve ark.^[41] zoledronik asit (20 µg/kg, tek doz) ve egzersizin (8-15 m/dk, 30-60 dk/gün, 5 gün/hafta) sinerjik etkilerini ortaya koymak için benzer bir çalışma yapmışlar ancak bu tedavi uygulamalarının kombine edildiklerinde herhangi bir sinerjik veya additif etki oluşturmadıklarını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada egzersizin KMY üzerine herhangi bir pozitif etkisinin olmadığını ancak kemiğin biyomekanik dayanımı üzerine pozitif etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.^[41]

Bu çalışmadan elde edilen veriler, osteoporozun tedavisinde ve önlenmesinde egzersizin bu dozdaki zoledronik asit tedavisi kadar etkili olduğunu göstermektedir. Ancak her iki tedavinin de tek başına yeterli olmadığını ve kombine edilmiş tedavilere gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

- Nelson HD, Helfand M, Woolf SH, Allan JD. Screening for postmenopausal osteoporosis: a review of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2002;137:529-41.
- Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2003;916:1-149.
- Ahlborg HG, Johnell O, Turner CH, Rannevik G, Karlsson MK. Bone loss and bone size after menopause. *N Engl J Med* 2003;349:327-34.
- Seeman E. Invited Review: Pathogenesis of osteoporosis. *J Appl Physiol* (1985) 2003;95:2142-51.
- Beck BR, Snow CM. Bone health across the lifespan--exercising our options. *Exerc Sport Sci Rev* 2003;31:117-22.
- Wallace BA, Cumming RG. Systematic review of randomized trials of the effect of exercise on bone mass in pre- and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2000;67:10-8.
- Warden SJ, Fuchs RK, Turner CH. Steps for targeting exercise towards the skeleton to increase bone strength. *Eura Medicophys* 2004;40:223-32.
- Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, Tucci JR, Emkey RD, Tonino RP, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004;350:1189-99.
- Harris ST. Bisphosphonates for the treatment of postmenopausal osteoporosis: clinical studies of etidronate and alendronate. *Osteoporos Int* 2001;12:11-6.
- Fuchs RK, Shea M, Durski SL, Winters-Stone KM, Widrick J, Snow CM. Individual and combined effects of exercise and alendronate on bone mass and strength in ovariectomized rats. *Bone* 2007;41:290-6.
- Robling AG, Hinant FM, Burr DB, Turner CH. Improved bone structure and strength after long-term mechanical loading is greatest if loading is separated into short bouts. *J Bone Miner Res* 2002;17:1545-54.
- Robling AG, Burr DB, Turner CH. Skeletal loading in animals. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2001;1:249-62.
- Sugiyama T, Price JS, Lanyon LE. Functional adaptation to mechanical loading in both cortical and cancellous bone is controlled locally and is confined to the loaded bones. *Bone* 2010;46:314-21.
- Rogers MJ, Crockett JC, Coxon FP, Mönkkönen J. Biochemical and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone* 2011;49:34-41.
- Cheer SM, Noble S. Zoledronic acid. *Drugs* 2001;61:799-805.
- Boonen S, Black DM, Colón-Emeric CS, Eastell R, Magaziner JS, Eriksen EF, et al. Efficacy and safety of a once-yearly intravenous zoledronic acid 5 mg for fracture prevention in elderly postmenopausal women with osteoporosis aged 75 and older. *J Am Geriatr Soc* 2010;58:292-9.
- Sundberg M, Gärdsell P, Johnell O, Karlsson MK, Ornstein E, Sandstedt B, et al. Peripubertal moderate exercise increases bone mass in boys but not in girls: a population-based intervention study. *Osteoporos Int* 2001;12:230-8.
- Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S. Effect of exercise training and detraining on bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *J Orthop Sci* 2001;6:128-32.
- Gasser JA, Ingold P, Venturiere A, Shen V, Green JR. Long-term protective effects of zoledronic acid on cancellous and cortical bone in the ovariectomized rat. *J Bone Miner Res* 2008;23:544-51.
- Yeh JK, Aloia JF, Tierney JM, Sprintz S. Effect of treadmill exercise on vertebral and tibial bone mineral content and bone mineral density in the aged adult rat: determined by dual energy X-ray absorptiometry. *Calcif Tissue Int* 1993;52:234-8.
- Omi N. Influence of exercise and sports on bone. *J Phys Fitness Sports Med* 2014;3:241-8.
- Bolton K, Egerton T, Wark J, Wee E, Matthews B, Kelly A, et al. Effects of exercise on bone density and falls risk factors in post-menopausal women with osteopenia: a randomised controlled trial. *J Sci Med Sport* 2012;15:102-9.
- Chaconas EJ, Olivencia O, Russ BS. Exercise interventions for the individual with osteoporosis. *Strength & Conditioning Journal* 2013;35:49-55.
- Tolomio S, Ermolao A, Lalli A, Zaccaria M. The effect of a multicomponent dual-modality exercise program targeting osteoporosis on bone health status and physical function capacity of postmenopausal women. *J Women Aging* 2010;22:241-54.
- Rittweger J, Beller G, Armbrecht G, Mulder E, Buehring B, Gast U, et al. Prevention of bone loss during 56 days of strict bed rest by side-alternating resistive vibration exercise. *Bone* 2010;46:137-47.

26. Karimi MT, Esrafilian O, Esrafilian A, Sadigh MJ, Amiri P. Determination of the influence of walking with orthosis on bone osteoporosis in paraplegic subjects based on the loads transmitted through the body. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2013;28:325-9.
27. Sibonga JD. Spaceflight-induced bone loss: is there an osteoporosis risk? *Curr Osteoporos Rep* 2013;11:92-8.
28. Lewiecki EM. A clinician's perspective on the use of zoledronic acid in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Clin Densitom* 2008;11:478-84.
29. Zhang J, Wang R, Zhao YL, Sun XH, Zhao HX, Tan L, et al. Efficacy of intravenous zoledronic acid in the prevention and treatment of osteoporosis: a meta-analysis. *Asian Pac J Trop Med* 2012;5:743-8.
30. Hwang JS, Chin LS, Chen JF, Yang TS, Chen PQ, Tsai KS, et al. The effects of intravenous zoledronic acid in Chinese women with postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Metab* 2011;29:328-33.
31. Lin H, Tian-su X, Fan L. 5 mg zoledronic acid for treatment of postmenopausal women with osteoporosis and osteoporotic fracture. *Chin J Orthop Trauma* 2012;14:31-5.
32. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2007;356:1809-22.
33. Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, Mautalen C, et al. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med* 2007;357:1799-809.
34. Reid IR, Brown JP, Burckhardt P, Horowitz Z, Richardson P, Trechsel U, et al. Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2002;346:653-61.
35. Park J, Omi N. The effects of different exercise modes for preventing endothelial dysfunction of arteries and bone loss in ovariectomized rats. *J Exerc Nutrition Biochem* 2014;18:133-9.
36. Trüssel A, Müller R, Webster D. Toward mechanical systems biology in bone. *Ann Biomed Eng* 2012;40:2475-87.
37. Chilibeck PD. Hormonal regulations of the effects of exercise on bone: positive and negative effects. In: Constantini N, Hackney AC, editors. *Endocrinology of Physical Activity and Sport*. 2nd ed. New York: Springer Science; 2013. p. 245-58.
38. van den Heuvel EG, van Schoor N, de Jongh RT, Visser M, Lips P. Cross-sectional study on different characteristics of physical activity as determinants of vitamin D status; inadequate in half of the population. *Eur J Clin Nutr* 2013;67:360-5.
39. Camacho-Alonso F, López-Jornet P, Vicente-Hernández A. Short-term effect of zoledronic acid upon fracture resistance of the mandibular condyle and femoral head in an animal model. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013;18:421-6.
40. Edwards BJ, Bunta AD, Lane J, Odvina C, Rao DS, Raisch DW, et al. Bisphosphonates and nonhealing femoral fractures: analysis of the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) and international safety efforts: a systematic review from the Research on Adverse Drug Events And Reports (RADAR) project. *J Bone Joint Surg [Am]* 2013;95:297-307.
41. Lespessailles E, Jaffré C, Beaupied H, Nanyan P, Dolléans E, Benhamou CL, et al. Does exercise modify the effects of zoledronic acid on bone mass, microarchitecture, biomechanics, and turnover in ovariectomized rats? *Calcif Tissue Int* 2009;85:146-57.