

궁둥신경절제술을 통한 무부하가 성별에 따른 성장기 쥐 해면골에 미치는 영향

Effects of Unloading induced Denervation on Trabecular Bone of Growing Mice; Gender-difference

서동현¹, 고창용¹, 강순영¹, 임도형², 김한성^{1,✉}
Dong Hyun Seo¹, Chang-Yong Ko¹, Sun Young Kang¹, Dohyung Lim² and Han-Sung Kim^{1,✉}

¹ 연세대학교 보건과학대학 의공학과 & 의료공학연구원 (Department of Biomedical Engineering & Institute of Medical Engineering, Yonsei University.)

² 한국생산기술연구원 실버기술개발단 (Silver Technology Center, Korea Institute of Industrial Technology)

✉ Corresponding author: hanskim@yonsei.ac.kr, Tel: 033-760-2913

Manuscript received: 2009.4.2 / Accepted: 2009.6.30

The aim of this study was to investigate, through a longitudinal tracking, whether gender influences morphological characteristics on trabecular bone of tibia during unloading. 12 male and 15 female ICR mice at 6 week of age were used and randomly allocated into two groups in each gender; unloading and normal group, respectively. Mice in unloading group were operated on denervation (sciatic neurectomy). The tibiae were scanned by using in vivo micro-computed tomography (micro-CT) at 0 day (before denervation) and after 14 days. Structural parameters and BMD on tibia were measured. In female, BV/TV (65%), Tb.Th (5%), Tb.N (61%) and BMD (62%) were significantly decreased and BS/BV (17%), Tb.Sp (54%), SMI (19%) and Tb.Pf (75%) were significantly increased after unloading ($p < 0.05$). In male, BV/TV (1%) and Tb.N (10%) were significantly decreased and SMI (5%) was significantly increased after unloading ($p < 0.05$). In addition, trabecular bone loss of female was significantly bigger than that of male ($p < 0.05$). These results indicated that effects of unloading on trabecular bone in growing mice might have difference between female and male, although unloading result in loss of quantity and quality on trabecular bone both female and male.

Key Words: BMD (골밀도), Gender-difference (성별 차이), Growing Mice (성장기 쥐), In-vivo Micro-CT (생체 내 미세단층촬영시스템), Structural Parameters (구조적 파라미터), Unloading (무부하),

1. 서론

지상에서 생체조직은 1G의 중력에 적응되어 있으며 이에 따라 우주환경과 같은 무부하 환경에서 생체조직은 많은 변화를 일으키게 된다. 생체조직 중 뼈는 외부 자극에 민감한 조직이며 무부하 환경에서 골 손실이 발생한다.^{1,2} 우주에서 수행한 Skylab 연구 결과, 실험에 참가했던 우주인들의

정강 뼈와 발꿈치 뼈, 요추 등에서 골 밀도가 감소함을 보였다.³ 미르(MIR) 우주정거장에서 6개월간 체류한 우주인들 또한 우주공간에서 뼈에 작용하는 부하가 줄어들음으로 인해 골 손실이 발생함을 보였다.⁴ 또한 동물(흰쥐)을 대상으로 한 코스모스 우주특무비행(Cosmos spaceflight mission)에서도 상당한 골의 손실을 확인할 수 있었다.⁵ 이처럼 뼈는 무부하 환경하에서 손실 및 위축이 발생하며, 특

히 체중 부하가 많이 작용하는 척추나 다리부분에서 그 손실 및 위축이 주로 발생한다.¹

하지만 위와 같은 실제 우주공간에서 이루어지는 연구는 많은 위험과 높은 비용 등이 문제로 지상 기반에서 무부하 환경을 모방할 수 있는 연구 방법들이 사용되고 있다.⁶ 사람의 경우 기울어진 침대에 누워서 생활을 하게하여 그때 골격계의 변화를 보거나 척추 손상 등으로 인하여 장기간 침대에 누워있는 환자의 골격계의 변화를 보는 연구 등이 진행 중에 있다.⁶ 동물의 경우 쥐를 이용하여 무부하를 모방하기 위하여 궁둥신경절제술(denervation) 등이 사용되고 있다.⁷⁻⁹ 이와 같은 기존의 대부분의 연구에서는 수컷의 변화를 보고하고 있으며 암컷에 대한 연구는 많지 않은 실정이다.¹⁰ 하지만 뼈의 성장이나 발달에 영향을 주는 여러 요소들은 성별 및 연령에 따라 차이를 보일 수 있다.¹¹⁻¹³ 이에 따라 무부하가 암컷에게 미치는 영향을 관찰하기 위한 연구가 필요하다.

본 연구에서는 성장기 암컷과 수컷 쥐의 뒷다리 궁둥신경을 절제함으로써 무부하를 인위적으로 가하였다. 생체 내 미세 단층 영상 촬영 장치(in vivo micro-computed tomography)를 이용하여 정강 뼈 해면골의 형태학적 특성 및 BMD 변화를 관찰하였다. 이를 통해 무부하가 성장기 암컷, 수컷 쥐에 미치는 영향과 그 성별에 대한 차이에 대하여 연구하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물 및 처치

본 실험에서의 동물실험은 연세대학교 동물 보호 및 사용에 관한 가이드라인과 법규에 따라 수행되었다.

ICR Mouse(8 주) 암컷 15 마리($24.0 \pm 1.3g$), 수컷 12 마리($26.8 \pm 2.6g$)를 대상으로, 수컷 무부하군(UM, Unloading Male) 7 마리, 수컷 대조군(NM, Normal Male) 5 마리, 암컷 무부하군(UF, Unloading Female) 8 마리, 암컷 대조군(NF, Normal Female) 7 마리의 4 개군으로 나누었다.

무부하군에게 무부하환경을 유발시키기 위하여 오른쪽 뒷다리의 궁둥신경을 절제하였다. 궁둥신경절제시 흡입마취제(Diethyl Ether, Daejung)로 마취시킨 후, 오른쪽 엉덩관절 부근의 피부를 약 10mm 정도 절개하여, 넓적다리 근육 사이에서 궁둥신경을 찾아 약 10mm 정도 제거하였다.

2.2 생체 내 미세 단층 촬영

생체 내 미세단층촬영 시스템(Skyscan 1076, Skyscan, Belgium)을 이용하여 궁둥신경절제술 시행 전(day 0)과 시행 14 일 후(day 14)의 쥐의 정강 뼈를 촬영하였다. 촬영 시 케타민(Ketamine, Huons)과 럼폰(Rompun, Bayer)을 복강투여를 통하여 마취시킨 후 동일한 부위를 촬영하였다.

2.3 구조적 파라미터 및 BMD 측정

생체 내 미세단층촬영 시스템에서 획득한 영상으로부터 CT-AN(Skyscan, Belgium) 프로그램을 이용하여 day 0 와 day 14 의 쥐의 정강 뼈 해면골의 구조적 파라미터 및 BMD(bone mineral density, g/cm^3) 값을 구하였다. 측정전에 BMD 가 정해진 2 개의 팬텀($0.25g/cm^3$, $0.75g/cm^3$)을 이용하여 교정하였다.

획득한 해면골의 구조적 파라미터는 뼈 체적비(BV/TV, bone volume fraction, %), 뼈 부피당 뼈의 표면적(BS/BV, bone surface to volume, $1/mm$), 뼈 잔 기둥 두께(Tb.Th, trabecular thickness, mm), 뼈 잔 기둥간 거리(Tb.Sp, trabecular separation, mm), 뼈 잔 기둥 개수(Tb.N, trabecular number, $1/mm$), 해면 뼈 패턴 요소(Tb.Pf, trabecular bone pattern factor, $1/mm$), 구조적 모델 지수(SMI, structure model index) 를 구하였다. BV/TV 는 관심 부피 안에서 해면 뼈의 부피 비를 나타낸다. Tb.Th 는 뼈 잔 기둥의 평균 두께를 나타낸다. Tb.Sp 는 뼈 잔 기둥간의 평균 거리를 나타낸다. Tb.N 는 단위길이당 뼈 잔 기둥의 개수를 나타낸다. SMI 는 뼈 잔 기둥의 형태학적 특성을 나타내는 값으로 0 이면 이상적인 판 형태의 구조를, 3 이면 막대 형태의 구조, 4 이면 구 형태의 구조를 나타낸다. Tb.Pf 는 해면 뼈의 연결성을 나타내는 값으로 낮은 값일수록 연결성이 높음을 나타낸다. BS/BV 는 일정 부피에서 해면 뼈의 표면적을 나타내는 값으로 이 값을 이용하여 뼈 교체율(turnover rate)의 정도를 파악할 수 있다.

2.4 통계 처리 방법

두 그룹 사이의 차이를 비교하기 위하여 독립 표본 T 검정을 시행하였으며 정규성을 벗어나는 경우 Mann-Whitney 검정을 시행하였다. 무부하 그룹과 대조군 사이의 차이점을 보기 위해서 day 0 을 기준으로 하여 변화율을 구하였고, 그 변화율을 이용하여 통계검정을 시행하였다($p < 0.05$).

Table 1 Structural parameters and BMD of trabecular bone (Mean ± SD)

	BV/TV(%)		BS/BV(1/mm)		Tb.Th(mm)		Tb.Sp(mm)		Tb.N(1/mm)		Tb.Pf(1/mm)		SMI		BMD(mg/cm ³)	
	day 0	day 14	day 0	day 14	day 0	day 14	day 0	day 14	day 0	day 14	day 0	day 14	day 0	day 14	day 0	day 14
UM	9.16 ±1.24	9.02 ±1.23	90.03 ±4.91	75.26 ±3.32	0.06 ±0.00	0.07 ±0.00	0.23 ±0.02	0.27 ±0.03	1.42 ±0.17	1.27 ±0.19	24.92 ±2.51	23.98 ±2.02	2.42 ±0.07	2.53 ±0.10	0.12 ±0.01	0.11 ±0.01
NM	9.79 ±2.78	11.02 ±2.13	83.60 ±7.6	72.00 ±6.09	0.07 ±0.00	0.07 ±0.00	0.24 ±0.04	0.27 ±0.04	1.47 ±0.39	1.54 ±0.27	23.49 ±4.24	20.30 ±3.03	2.40 ±0.11	2.36 ±0.10	0.12 ±0.02	0.12 ±0.02
UF	12.97 ±3.33	4.61 ±0.79	71.65 ±5.26	83.66 ±6.50	0.07 ±0.00	0.07 ±0.00	0.25 ±0.05	0.39 ±0.06	1.84 ±0.43	0.69 ±0.10	17.73 ±3.65	30.01 ±3.31	2.23 ±0.13	2.64 ±0.09	0.14 ±0.03	0.05 ±0.01
NF	13.36 ±2.63	10.90 ±1.87	68.99 ±5.45	65.98 ±4.64	0.07 ±0.00	0.08 ±0.00	0.25 ±0.02	0.34 ±0.04	1.88 ±0.30	1.44 ±0.23	16.82 ±3.23	17.53 ±2.99	2.19 ±0.12	2.27 ±0.10	0.14 ±0.02	0.11 ±0.02

UM : Unloading Male, NM : Normal Male, UF : Unloading Female, NF : Normal Female, BV/TV : bone volume fraction, BS/BV : bone specific surface, Tb.Th : trabecular thickness, Tb.Sp : trabecular seperation, Tb.N : trabecular number, Tb.Pf : trabecular bone pattern factor, SMI : structure model index, BMD : bone mineral density

3. 결과

3.1 성장기 암컷 쥐와 수컷 쥐 정강 뼈내의 해면골의 형태학적 특성 및 BMD 비교 (0day)

궁둥신경절제술 시행 이전에 촬영한 영상으로부터 획득한 구조적 파라미터를 통해 성장기 암컷 쥐와 수컷 쥐의 정강 뼈를 비교해 보았다(Fig. 1).

BV/TV, Tb.Th, Tb.N, BMD 는 각각 암컷 쥐가 수컷 쥐보다 28%, 8%, 6%, 22% 유의하게 높은 값을 나타냈다(p<0.05). BS/BV, Tb.Pf 와 SMI 는 암컷이 수컷보다 24%, 40%, 9% 유의하게 작은 값을 나타냈다(p<0.05).

3.2 궁둥신경절제술 이후 정강뼈 해면골의 형태학적 특성 및 BMD 변화 비교

궁둥신경절제술 시행 이전과 14 일 후에 촬영한 영상으로부터 획득한 파라미터들의 변화율 비교를 통해 무부하를 가한 암컷 쥐와 수컷 쥐의 정강 뼈의 해면골의 구조 변화 정도를 비교해 보았다(Fig. 2).

3.2.1 암컷 쥐 정강뼈 해면골의 형태학적 특성 및 BMD 비교

BV/TV 는 UF 군이 63%, NF 군이 17% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05). BS/BV 는 UF 군이 17% 증가한 반면,

NF 군은 4% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05). Tb.Th 는 UF 군이 5% 감소한 반면, NF 군은 7% 증가하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05). Tb.Sp 는 UF 군이 54%, NF 군이 36% 증가하였으나, 이 두 군 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다(p>0.05). Tb.N 는 UF 군이 61%, NF 군이 23% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05). Tb.Pf 는 UF 군이 75%, NF 군이 7% 증가하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05). SMI 는 UF 군이 19%, NF 군이 4% 증가하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05).

BMD 는 UF 군이 62%, NF 군이 26% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05).

3.2.2 수컷 쥐 정강뼈 해면골의 형태학적 특성 및 BMD 비교

BV/TV 는 UM 이 1% 감소한 반면 NM 은 15% 증가하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다(p<0.05). BS/BV 는 UM 군이 16%, NM 군이 14% 감소하였으나, 이 두 군 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다(p>0.05). Tb.Th 는 UM 군이 11%, NM 군이 8% 증가하였으나, 이 두 군 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다(p>0.05). Tb.Sp 는 UM 군이 16%, NM 군이 11% 증가하였으나, 이 두 군 사

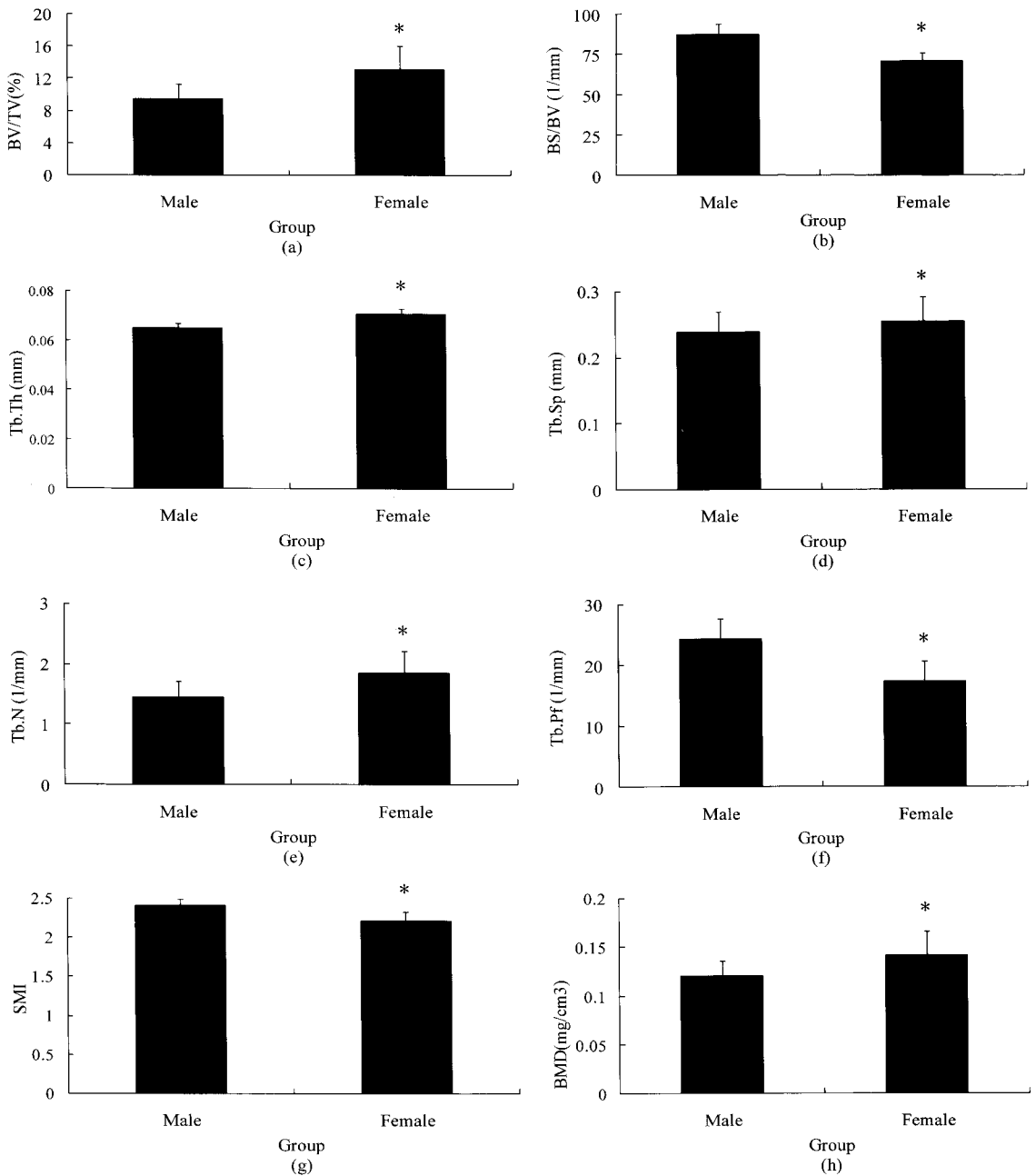


Fig. 1 Structural parameters in trabecular bone at 0 day (a) BV/TV, (b) BS/BV, (c) Tb.Th, (d) Tb.Sp, (e) Tb.N, (f) Tb.Pf, (g) SMI, (h) BMD, *: vs. Male ($p < 0.05$)

이에 유의한 차이는 보이지 않았다($p > 0.05$). Tb.N 는 UM 군이 10% 감소한 반면, NM 군은 7% 증가 하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). Tb.Pf는 UM 군이 3%, NM 군이 13% 감

소하였으나, 이 두 군 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다($p > 0.05$). SMI 는 UM 군이 5% 증가한 반면, NM 군은 2% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

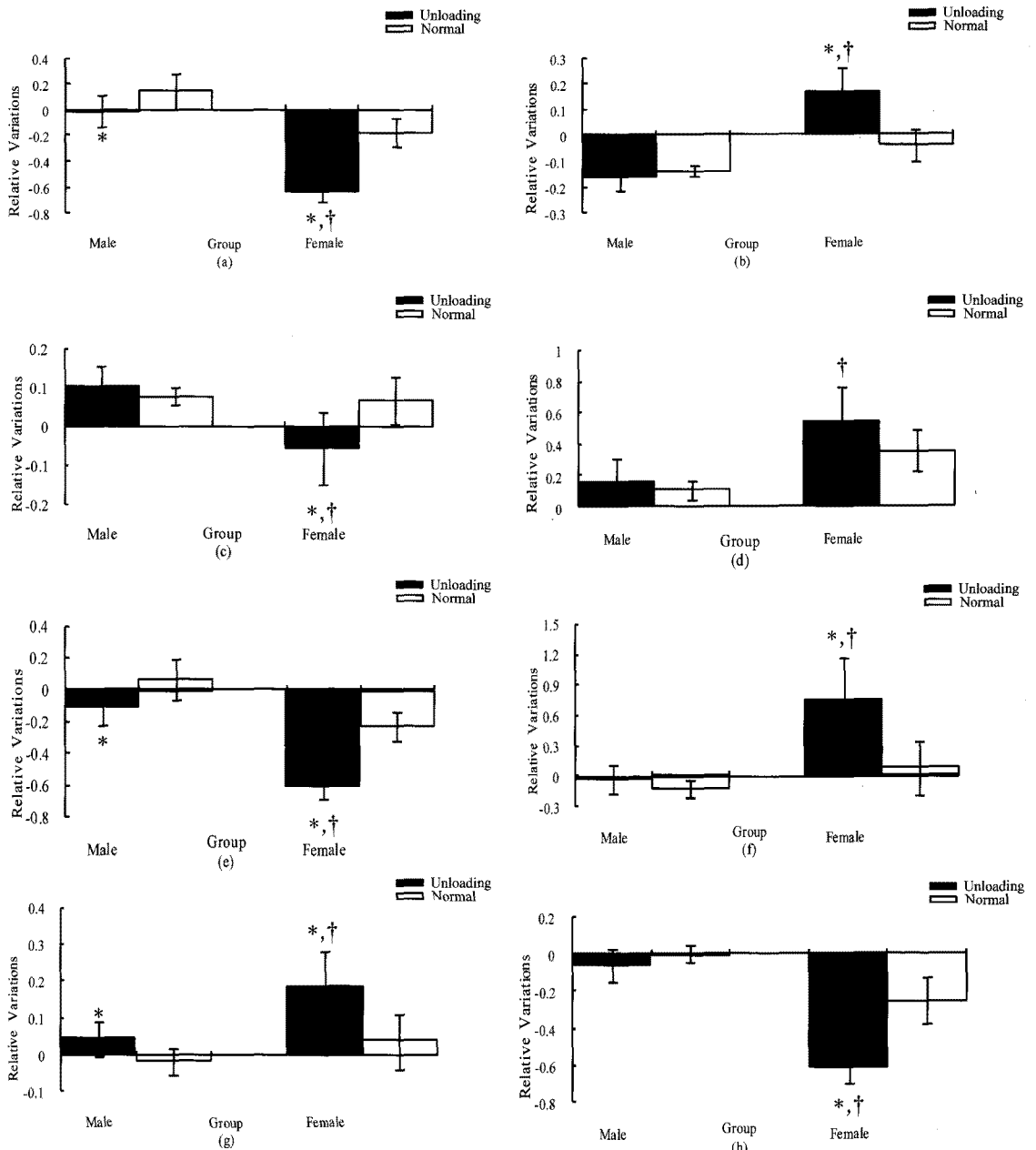


Fig. 2 The relative variations of structural parameters in trabecular bone, (a) BV/TV, (b) BS/BV, (c) Tb.Th, (d) Tb.Sp, (e) Tb.N, (f) Tb.Pf, (g) SMI, and (h) BMD, *: vs. Normal group in each gender ($p < 0.05$), †: vs. Male in unloading group after 14 days of denervation ($p < 0.05$)

BMD 는 UM 군이 6% 감소한 반면, NM 군은 큰 변화가 없었으나, 이 두 군 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다($p > 0.05$).

3.2.3 공동신경절제술 이후 암컷 쥐와 수컷 쥐의 정강뼈 해면골의 형태학적 특성 및 BMD 변화를 비교

BV/TV 는 수컷이 1%, 암컷이 63% 감소하였으며 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). BS/BV 는 수컷이 16% 감소한 반면, 암컷은 17% 증가하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). Tb.Th 는 수컷이 11% 증가한 반면 암컷은 5% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). Tb.Sp 는 수컷이 16%, 암컷이 54% 증가하였으나, 이 두 군 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다($p > 0.05$). Tb.N 는 수컷이 10%, 암컷이 61% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). Tb.Pf 는 수컷이 3% 감소한 반면, 암컷은 75% 증가하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). SMI 는 수컷이 5%, 암컷이 19% 증가하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). BMD 는 수컷이 6%, 암컷이 62% 감소하였으며, 이 두 군 사이에는 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

4. 고찰

본 연구에서는 성장기의 암컷, 수컷 쥐에게 궁둥신경절제술을 시행하여 무부하 환경을 모방한 후 정강뼈 해면골의 형태학적인 특성 변화를 관찰하였고 성별에 따른 그 변화를 비교하였다.

궁둥신경절제술을 시행하기 전에(day 0) 암컷 쥐 해면골의 BV/TV, Tb.Th, Tb.N 는 수컷에 비하여 유의하게 큰 값을 보였으며 Tb.Pf, SMI 는 유의하게 작은 값을 보였다. 이를 통하여 어린 암컷 쥐의 해면골은 수컷 쥐에 비해 골량이 더 많으며 연결성은 더 좋고 골 소주의 형태가 좀더 판 구조에 가깝다는 것을 알 수 있다. 이로써 성장기 쥐는 성별에 따라 골의 상태가 다를 수 있음을 확인 할 수 있으며, 특히 궁둥신경절제술을 통한 무부하 이전의 어린 암컷 쥐의 해면골이 수컷에 비해 양적, 질적으로 더 좋음을 알 수 있고 이는 기존의 연구와 유사한 결과이다.¹⁴ 이와 같은 차이는 암컷의 임신과 수유와 같은 생식주기(reproductive cycle)에 손실되는 골량을 보상하기 위한 것으로 생각되고 있지만, 정확한 기전은 정확하게 밝혀진 바 없다.¹⁴

암컷의 무부하군과 정상군의 해면골 구조적 파라미터 변화를 비교하였다. 그 결과 무부하군 암컷의 해면골 BV/TV, Tb.Th, Tb.N, BMD 는 유의하게 감소하였고 BS/BV, Tb.Pf 와 SMI 값은 유의하게 증가하였다. 이는 무부하로 인하여 해면 골의 양적인 감소가 유발되며 연결성이 떨어지고 골 소주의

형태가 막대구조로 변함을 나타낸다. 특히 BS/BV 의 증가 및 다른 구조적 파라미터의 변화로부터 골 화된(mineralized) 골 소주의 표면이 침식(erosion)이 많이 발생하였음을 확인할 수 있고 이로부터 재흡수(resorption)가 과도하게 발생하였음을 알 수 있다. 또한 이와 같은 결과는 뼈의 교체율이 무부하에서 변화됨을 나타내며 이는 무부하시 골생성이 감소하며 골의 재흡수가 증가하기 때문으로 여겨진다.¹² 이로부터 암컷의 무부하로 인한 골 손실 형태는 구멍 뚫림(perforation)과 해면골의 얇아짐(trabecular thinning)의 두 특성을 모두 보임을 확인할 수 있다. 이와 같은 해면골의 구조적 파라미터 변화로부터 무부하는 암컷의 해면골의 양적, 질적 손실을 유발함을 확인할 수 있었다. 또한 구조적인 손실이 발생하여 강도가 약화됨을 예측할 수 있다.

수컷의 경우 무부하 환경은 해면골의 BV/TV, Tb.N 이 유의하게 감소하였고 SMI 값이 유의하게 증가하여 해면 골의 양적인 손실과 골 소주의 형태적인 변화를 일으키는 것을 확인할 수 있었다. 이로부터 수컷에서 무부하는 골의 재흡수를 향상 시킴을 확인할 수 있었다.^{12,14} 하지만 암컷의 변화와는 다르게 BS/BV 및 다른 구조적 파라미터는 유의한 차이가 없었다. 이로써 뼈 교체율은 변화가 없음을 예측할 수 있었다. 이로부터 수컷의 무부하로 인한 골 손실 형태는 암컷과는 다르게 주로 해면골의 얇아짐의 특성을 보임을 확인할 수 있다. 이로써 무부하는 수컷 해면골의 양적 질적 손실을 유발하며 그로 인해 뼈의 강도가 약화됨을 예측할 수 있다.

또한 암수의 구조적 파라미터들의 변화율을 비교하였을 때, 암컷의 변화율이 더 큼을 확인할 수 있었고, 이로써 무부하는 암컷의 뼈에 더 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 이 결과는 무부하로 인하여 수컷의 해면골의 변화가 더 크다는 기존의 연구와는 상반되는 결과이다.¹⁴ 이와 같은 차이는 무부하 유도 방법, 연령차이, 동물 종의 차이로 기인한 것으로 여겨진다.¹⁴ 특히 암컷 쥐의 경우 연령이 증가할수록 무부하가 해면골에 미치는 영향이 감소한다.¹⁴ 본 연구에서 사용한 쥐의 연령이 기존의 연구보다 더 어린 쥐를 사용하였기 때문에 이와 같은 차이를 보이는 것으로 사료된다(6 주 vs. 12 주).¹⁴

본 연구의 결과로부터 무부하는 성별에 관계없이 해면골의 양적인 손실 및 질적인 손실을 일으

키고 구조적인 변화를 일으키지만 그 변화 정도 및 특성은 성별에 따라 다름을 확인하였다. 이로써 우주환경과 같은 무부하 하에서 발생하는 뼈의 손실을 방지하기 위한 대응책 및 치료를 위한 연구가 필요하며 이때 성별을 고려해야 함을 알 수 있다. 특히 여성의 경우 연령에 따라 어떠한 변화를 일으키는지에 대한 주의깊은 연구가 필요하다.

참고문헌

1. Chung, K. Y., "Artificial Gravity; Aerospacemedical Aspect," *Journal of Aerospace Medical Center, ROKAF*, Vol. 53, No. 1, pp. 3-20, 2006.
2. Cavanagh, P. R. and Rice, A. L., "Bone Loss During Spaceflight," *Cleveland Clinic Press*, pp. 2-5, 2007.
3. Cavanagh, P. R., Licata, A. A. and Rice, A. J., "Exercise and Pharmacological Countermeasures for Bone Loss During Long-Duration Space Flight," *Gravitational and Space Biology*, Vol. 18, No. 2, pp. 39-58, 2005.
4. Collet, P., Uebelhart, D., Vico, L., Moro, L., Hartmann, D., Roth, M. and Alexandre, C., "Effects of 1-and 6-Month Spaceflight on Bone Mass and Biochemistry in Two Humans," *Bone*, Vol. 20, No. 6, p. 547, 1997.
5. Ames Research Center, "Final Reports of the U.S. Experiments Flown on the Soviet Biosatellite Cosmos 2044," *National Aeronautics and Space Administration*, 1994.
6. Morey-Holton, E. R. and Globus, R. K., "Hindlimb Unloading Rodent Model: Technical Aspects," *Journal of Applied Physiology*, Vol. 92, No. 4, pp. 1367-1377, 2002.
7. Suzue, N., Nikawa, T., Onishi, Y., Yamada, C., Hirasaka, K., Ogawa, T., Furochi, H., Kosaka, H., Ishidoh, K., Gu, H., Takeda, S., Ishimaru, N., Hayashi, Y., Yamamoto, H., Kishi, K. and Yasui, N., "Ubiquitin Ligase Cbl-B Downregulates Bone Formation through Suppression of Igf-I Signaling in Osteoblasts During Denervation," *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 21, No. 5, pp. 722-734, 2006.
8. Garces, G. and Santandreu, M., "Longitudinal Bone Growth after Sciatic Denervation in Rats," *Journal of Bone and Joint Surgery, British Volume*, Vol. 70-B, No. 2, pp. 315-318, 1988.
9. Zeng, Q. Q., Jee, W. S., Bigornia, A. E., King, J. G. Jr., D'Souza, S. M., Li, X. J., Ma, Y. F. and Wechter, W. J., "Time Responses of Cancellous and Cortical Bones to Sciatic Neurectomy in Growing Female Rats," *Bone*, Vol. 19, No. 1, pp. 13-21, 1996.
10. Bikle, D. D., Sakata, T. and Halloran, B. P., "The Impact of Skeletal Unloading on Bone Formation," *Gravitational and Space Biology Bulletin*, Vol. 16, No. 2, pp. 45-54, 2003.
11. Järvinen, T. L., Kannus, P., Pajamäki, I., Vuohelainen, T., Tuukkanen, J., Järvinen, M. and Sievänen, H., "Estrogen Deposits Extra Mineral into Bones of Female Rats in Puberty, but Simultaneously Seems to Suppress the Responsiveness of Female Skeleton to Mechanical Loading," *Bone*, Vol. 32, No. 6, pp. 642-651, 2003.
12. Hefferan, T. E., Evans, G. L., Lotinun, S., Zhang, M., Morey-Holton, E. and Turner, R. T., "Effect of Gender on Bone Turnover in Adult Rats During Simulated Weightlessness," *Journal of Applied Physiology*, Vol. 95, No. 5, pp. 1775-1780, 2003.
13. Lanyon, L. and Skerry, T., "Postmenopausal Osteoporosis as a Failure of Bone's Adaptation to Functional Loading: A Hypothesis," *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 16, No. 11, pp. 1937-1947, 2001.
14. David, V., Lafage-Proust, M., Laroche, N., Christian, A., Rueggsegger, P. and Vico, L., "Two-Week Longitudinal Survey of Bone Architecture Alteration in the Hindlimb-Unloaded Rat Model of Bone Loss: Sex Differences," *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, Vol. 290, No. 3, pp. E440-E447, 2005.