

· 基础研究 ·

不同治疗时间的脉冲电磁场对去势大鼠股骨生物力学性能的影响

何成奇 王维 肖登 杨霖 雷中杰

【摘要】目的 通过采用不同治疗时间的脉冲电磁场(PEMFs)干预去势大鼠骨质疏松模型,观察各组大鼠的股骨生物力学性能的变化,以探索 PEMFs 治疗骨质疏松的最适治疗时间。**方法** 按随机分组原则用密闭信封法将雌性 3 个月龄 SD 大鼠 50 只分为 5 组:假手术对照组 10 只,卵巢切除对照组 10 只,卵巢切除 I 组 10 只,卵巢切除 II 组 10 只,卵巢切除 III 组 10 只。除假手术对照组以外,对所有动物按文献方法去势造模。卵巢切除 I 组、卵巢切除 II 组和卵巢切除 III 组大鼠每天在强度为 3.8 mT,频率为 8 Hz 的电磁场环境中分别照射 20,40,60 min,共 30 d。假手术对照组和卵巢切除对照组不干预。各组动物均在满 30 d 后,行股动脉放血处死,取右侧股骨作生物力学性能测定。**结果** 卵巢切除对照组大鼠的股骨结构力学指标(包括最大位移、最大载荷及最大能量吸收)和材料力学指标(包括最大应力、最大应变及弹性模量)显著低于其它 4 组大鼠($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而假手术对照组、卵巢切除 I 组、卵巢切除 II 组及卵巢切除 III 组 4 组大鼠的股骨生物力学指标之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** PEMFs 能阻止大鼠在卵巢切除后的股骨生物力学性能下降,对去势大鼠的骨质疏松症有肯定的预防作用。在磁场强度(3.8 mT)和脉冲频率(8 Hz)相同的前提下 3 种治疗时间的 PEMFs 均能使卵巢切除大鼠股骨生物力学性能维持在接近正常的水平,但 3 种治疗时间之间的差异无统计学意义,说明每日用 PEMFs 对去势大鼠治疗 20~60 min,对其骨生物力学性能的维持效果相同。

【关键词】 脉冲电磁场; 去势大鼠; 生物力学; 治疗时间

Effect of pulsed electromagnetic fields of different daily treatment durations on biomechanical properties of femur in ovariectomized rats HE Cheng-qi, WANG Wei, XIAO Deng, YANG Lin, LEI Zhong-jie. Department of Rehabilitation, Western China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

【Abstract】Objective To observe the effect of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) of different daily treatment durations on biomechanical properties of femur in ovariectomized rats, so as to find out the optimal daily treatment time. **Methods** Fifty female Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups: (1) SHAM control (no PEMFs treatment), (2) OVX control (no PEMFs treatment), (3) OVX I (PEMFs treatment at 8Hz frequency with 3.8 mT intensity, 20 min daily for 30 days), (4) OVX II (PEMFs treatment at 8 Hz frequency with 3.8 mT intensity, 40 min daily for 30 days), and (5) OVX III (PEMFs treatment at 8Hz frequency with 3.8 mT intensity, 60 min daily for 30 days). All the rats were subject to bilateral ovariectomy except those in the SHAM control group. The biomechanical properties of the femur were assessed after 30 days of PEMFs treatment. **Results** The values of the parameters of the biomechanical properties obtained with the OVX control group were significantly lower than those of the other 4 groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), but the difference of values of biomechanical properties parameters was not significant among the other 4 groups ($P > 0.05$). **Conclusion** PEMFs of the three different daily treatment durations can maintain the biomechanical properties of the femur in ovariectomized rats. Under certain intensity (3.8 mT) and frequency (8 Hz), PEMFs of the three different treatment durations can significantly maintain biomechanical properties of femur in ovariectomized rats approximately to the normal level, but among the three groups, the difference is not significant. It was shown that exposure to PEMFs for 20 to 60 minutes daily had similar effect of maintaining biomechanical properties of the femur in ovariectomized rats.

【Key words】 Pulsed electromagnetic fields; Ovariectomized rat; Biomechanical property; Treatment time

有研究显示,脉冲电磁场(pulsed electromagnetic fields, PEMFs)能够克服传统治疗方法的缺陷,对骨质疏松引起的疼痛、骨量减少、骨密度降低具有肯定的治疗

作用,并且已经部分应用于骨质疏松症(osteoporosis, OP)的康复治疗中。低频率低强度的磁场对于骨质疏松可产生提高骨密度或者减缓骨量丢失的作用^[1,2]。但是,PEMFs 治疗 OP 的最适治疗时间尚不清楚。本研究通过采用不同治疗时间的 PEMFs 干预去势大鼠骨质疏

松模型,观察各组大鼠的股骨生物力学性能的变化,以探索 PEMFs 治疗骨质疏松的最适治疗时间。

材料与方法

一、实验动物

健康雌性 3 个月龄清洁级 SD 大鼠 50 只,体重 150 ~ 180 g。

二、实验方法

(一) 实验动物分组

按随机分组原则,用密闭信封法将 50 只大鼠平均分为 5 组:假手术对照组、卵巢切除对照组、不同磁场频率组(卵巢切除 I 组、卵巢切除 II 组、卵巢切除 III 组)。

(二) 动物模型的建立

将所有动物用 1% 的戊巴比妥(3 ml/kg 体重)腹腔注射麻醉。麻醉完备后,俯卧位固定于手术台上,经腰背侧肋脊角切口进入腹腔。假手术对照组大鼠仅切除卵巢周围部分脂肪组织,不摘卵巢,而其余 40 只大鼠均切除双侧卵巢。仔细止血,冲洗后,腹腔灌注 5% 甲硝唑注射液 2 ml 腹腔消毒,再逐层缝合肌肉、皮下组织、皮肤,对合皮肤,用 75% 酒精、2.5% 碘酒消毒皮肤。

(三) 干预方式与处死动物时间

假手术对照组和卵巢切除对照组大鼠不进行干预。卵巢切除 I 组、卵巢切除 II 组、卵巢切除 III 组大鼠在造模结束后第 5 天开始进行 PEMFs 干预。干预采用 UNION-2000A 型骨质疏松治疗系统(中国医学科学院生物医学工程研究所),磁场频率范围为 2 ~ 16 Hz,磁场强度范围为 0.6 ~ 11 mT。根据已有研究结果^[1,2]和治疗仪的参数特点以及整个课题研究的需要,本次研究将脉冲频率设定为 8 Hz,磁场强度设定为 3.8 mT,治疗 30 次,每天 1 次,每次治疗时间在卵巢切除 I、II、III 组各不相同,分别为 20、40 或 60 min,共 30 d,每次将大鼠完全暴露于磁场范围内。不同治疗时间组在治疗 30 d 结束后的次日同批处死各组动物,假手术对照组和卵巢切除对照组同日处死。

(四) PEMFs 疗效观察指标——股骨生物力学检测

处死动物后分离大鼠右侧股骨,去除软组织,用生理盐水湿纱布包裹标本,贮存于冷冻室 -20℃ 冰箱内备测。

测试方法:选用三点弯曲试验测定右侧股骨的力学性能。采用日本 AG-ISM 20 kN 岛津电子万能试验机,用计算机对侧力及位移自动采控,采样频率 10 Hz。用 SLBL-1kN 力传感器(满量程 1 kN,误差范围 $\leq \pm 1\%$),使用岛津内置的光电编码器测定位移(分辨率 0.001 mm),记录挠度,计算机采集挠度及载荷信

号,并对载荷-挠度曲线自动处理。测试环境温度 10 ~ 12℃,湿度 70% ~ 76%。用游标卡尺测量股骨长度、短轴宽度、长轴宽度后进行三点弯曲试验,随后测量断骨的内径和壁厚(计算股骨截面时,视股骨为管材)。将大鼠股骨置于三点弯曲器具,跨距 14 mm,上压头以 2 mm/min 的速率加载。测试指标:最大载荷(N)、最大位移(mm)、最大能量吸收(J)、最大应力(N/mm²)、最大应变(%)、弹性模量(N/mm²)。

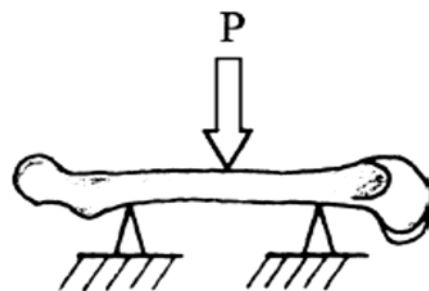


图1 股骨三点弯曲试验示意图



图2 股骨三点弯曲试验

三、统计学分析

以上各项检测指标均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,将各组大鼠的检测指标之间进行单因素方差分析,计算 F 值,若 F 值 $> F_{0.05}$,则 $P < 0.05$,再用最小显著差法(least significant difference, LSD)进行各组间的两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。以上统计均采用 SPSS 10.0 软件。

结 果

一、一般情况

卵巢切除对照组大鼠 3 周后毛发逐渐稀疏,活动迟缓,精神萎靡不振,反应较为迟钝;而假手术对照组、卵巢切除 I 组、卵巢切除 II 组、卵巢切除 III 组大鼠毛发光洁,精神及活动正常。

二、不同治疗时间对大鼠右侧股骨生物力学性能的影响

表 1 和表 2 显示,卵巢切除对照组大鼠的股骨结构力学指标(包括最大位移、最大载荷及最大能量吸收,下同)和材料力学指标(包括最大应力、最大应变

及弹性模量,下同)低于其它 4 组大鼠,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而假手术对照组、卵巢切除 I 组、卵巢切除 II 组及卵巢切除 III 组大鼠的股骨生物力学指标之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 不同治疗时间对大鼠右侧股骨结构力学性能影响的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	最大载荷(N)	最大位移(mm)	最大能量吸收(J)
假手术对照组	10	116.960 ± 9.370 ^a	0.864 ± 0.254 ^a	0.080 ± 0.026 ^a
卵巢切除对照组	10	94.570 ± 19.030	0.531 ± 0.119	0.045 ± 0.030
卵巢切除 I 组	10	121.080 ± 8.700 ^a	0.831 ± 0.131 ^a	0.080 ± 0.013 ^a
卵巢切除 II 组	10	125.860 ± 17.990 ^a	0.837 ± 0.223 ^a	0.079 ± 0.023 ^a
卵巢切除 III 组	10	125.970 ± 11.840 ^a	0.839 ± 0.178 ^a	0.081 ± 0.020 ^a

注:与卵巢切除对照组比较,^a $P < 0.01$

表 2 不同治疗时间对大鼠右侧股骨材料力学性能的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	最大应力(N/mm ²)	最大应变(%)	弹性模量(N/mm ²)
假手术对照组	10	167.60 ± 20.83 ^a	8.38 ± 2.59 ^a	6378.50 ± 919.20 ^b
卵巢切除对照组	10	119.88 ± 32.09	5.38 ± 1.56	5217.60 ± 1731.40
卵巢切除 I 组	10	174.42 ± 17.85 ^a	8.02 ± 1.11 ^a	7157.30 ± 704.60 ^a
卵巢切除 II 组	10	173.85 ± 14.76 ^a	8.12 ± 2.29 ^a	7246.90 ± 914.00 ^a
卵巢切除 III 组	10	178.66 ± 19.09 ^a	8.14 ± 1.72 ^a	7262.60 ± 981.60 ^a

注:与卵巢切除对照组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$

讨 论

OP 是骨强度下降、易于发生骨折的骨骼系统疾病,在世界多发病中排第 6 位,不仅是一个卫生问题,而且已经成为一个严重的经济和社会问题。

目前对骨质疏松的治疗主要包括:激素替代疗法(hormone replacement therapy, HRT),选择性雌激素受体调节剂、双磷酸盐、降钙素、氟剂、活性维生素 D、钙剂等。但这些药物的使用均会出现不同程度的不良反应。同时,所有的药物治疗都要求长期服药从而导致沉重的经济负担。解决上述问题的希望在于寻找一种疗效确切,毒副作用小,使用方便的临床治疗方法。有研究表明,PEMFs 能够克服传统治疗方法的缺陷,对骨质疏松引起的疼痛、骨量减少、骨密度降低具有肯定的治疗作用^[3-7]。

但不同频率、强度、时间等参数的 PEMFs 治疗骨质疏松目前仍有争议。由于所用 PEMFs 的频率、强度、时间等参数不同,实验结果往往差异很大,甚至出现矛盾的结果。每天的治疗时间也是影响 PEMFs 疗效的重要因素。在体实验中,各家报道相差很大,从 30 min 到 24 h 不等,大部分研究的治疗时间较长,多在 3 ~ 12 h 之间。目前有研究认为,每天治疗 6 h 是合适的,而更长时间的治疗,其疗效并不能成比例增加^[7]。Gonzalez-Riola 等^[8]应用 100 Hz, 3 mT 的

PEMFs 对生长发育期的雌性大鼠进行全天 24 h,共 30 d 的治疗,发现这种 PEMFs 使骨形成减少,骨吸收增加。至今为止,对于每次治疗骨质疏松的时间仍旧存在各种争议,因此,寻找合适的治疗时间是临床应用 PEMFs 治疗 OP 的一项重要工作。

绝经后雌激素水平下降,致使骨吸收增加已是公认的事实。利用去势大鼠作为骨质疏松模型也已是一项成熟的技术。雌激素不仅具有抑制骨吸收的作用,同时具有促进骨生长的作用。长期应用雌激素或激素替代治疗可以预防和治疗 OP,也说明了雌激素与骨质疏松密切相关。因此,雌激素减少后,骨代谢转换亢进,骨吸收超过骨形成,从而导致骨量减少。

本研究以骨生物力学性能为参数指标,是因其可较直接地反映骨的抗骨折能力,骨生物力学性能的改善是评定某些治疗手段有效性的客观依据。股骨是人体骨骼系统的主要构成部分,各种因素所致的骨量丢失及骨生物力学性能下降均可在股骨体现出来,因此,本实验以大鼠股骨为标本是具有科学性的。

骨的微细结构改变包括空间微细结构的细微变化或破坏(如显微骨折、骨小梁变薄或减少及其空间结构的改变)、骨构成成分的改变(如钙盐的丢失)以及骨胶原空间结构的改变和性能下降等,这些都将导致骨生物力学性能的减退。根据以上的论述,雌激素减少,大鼠将出现骨代谢转换亢进,骨吸收超过骨形成,从而导致骨量减少的情况。因此,去势大鼠同样也会因为雌激素的降低导致骨生物力学性能的减退。

本实验证明,3 种治疗时间的 PEMFs 均能阻止去势 SD 大鼠的骨生物力学性能的减退。在治疗 30 d 后发现,卵巢切除 I 组、卵巢切除 II 组、卵巢切除 III 组大鼠的股骨骨生物力学性能与假手术对照组之间的差异无统计学意义($P > 0.05$),而卵巢切除对照组大鼠的股骨骨生物力学性能均低于其它 4 组大鼠的股骨骨生物力学性能,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。说明在磁场强度和脉冲频率相同的前提下,3 种治疗时间的 PEMFs 均能使卵巢切除大鼠股骨生物力学性能维持在接近正常的水平,但 3 种治疗时间之间的差异无统计学意义。说明每日用 PEMFs 对去势大鼠治疗 20 ~ 60 min,对其骨生物力学性能的维持效果相同。

虽然对 PEMFs 的治疗效果各国学者均持肯定态度,但 PEMFs 疗法的作用机制目前尚无定论。许多学者分别从分子学水平和形态学等角度探讨了其作用机制,认为 PEMFs 能防止骨量丢失的机制可能有①促进成骨细胞的增殖;②促进骨髓间充质干细胞生长;③促进局部生长因子的合成和分泌;④促进细胞外基质合成;⑤促进钙盐沉积。正常骨由骨基质

和细胞组成,细胞包括骨细胞、成骨细胞和破骨细胞。骨基质包括有机质和无机质两类。有机质中 90% 为 I 型胶原蛋白,它是骨的结构基础,并使其具有一定的强度。无机质主要包括羟磷灰石和胶体磷酸钙,以结晶的形式沉积于胶原上,无机质与胶原相结合,使骨骼既有一定的硬度,又有一定的弹性。因此 PEMFs 通过促进成骨细胞增殖,增强成骨功能,促进细胞外基质合成和钙盐沉积,改善骨的形态和微细结构,既增加了骨骼的硬度,又增加了骨骼的韧性,从而防止了骨生物力学性能的下降。

综上所述,3 种治疗时间的 PEMFs 均能阻止大鼠在卵巢切除后的股骨生物力学性能下降,对去势大鼠的 OP 有肯定的预防作用。在电磁场强度 (3.8 mT) 和脉冲频率 (8 Hz) 相同的前提下,3 种治疗时间的 PEMFs 均能使卵巢切除大鼠股骨生物力学性能维持在接近正常的水平,但 3 种治疗时间之间的差异无统计学意义,说明每日用 PEMFs 对去势大鼠治疗 20 ~ 60 min,对其骨生物力学性能的维持效果相同。

参 考 文 献

- [1] Zhang XY, Xue Y, Zhang Y. Effects of 0.4 T rotating magnetic field exposure on density, strength, calcium and metabolism of rat thigh bones. *Bioelectromagnetics (USA)*, 2006, 27: 1-9.
- [2] Sert C, Mustafa D, Duz MZ, et al. The preventive effect on bone loss of 50-Hz, 1-mT electromagnetic field in ovariectomized rats. *J Bone Miner Metab*, 2002, 20: 345-349.
- [3] 王先平, 孙雯敏, 张秀云, 等. 脉冲电磁场对骨质疏松症患者疼痛及骨密度改善的效果分析. *现代康复*, 2001, 5: 104-105.
- [4] 高堪达, 俞永林, 蒯大禹, 等. 脉冲电磁场对原发性骨质疏松症患者疼痛的疗效分析. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26: 669-670.
- [5] Garland DE, Adkins RH, Matsuno NN. The effect of pulsed electromagnetic fields on osteoporosis at the knee in individuals with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*, 1999, 22: 239-245.
- [6] Eyres KS, Saleh M, Kanis JA. Effect of pulsed electromagnetic fields on bone formation and bone loss during limb lengthening. *Bone*, 1996, 18: 505-509.
- [7] Fini M, Cadossi R, Cane V, et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on the osteointegration of hydroxyapatite implants in cancellous bone: a morphologic and microstructural in vivo study. *J Orthop Res*, 2002, 20: 756-763.
- [8] Gonzalez-Riola J, Pamies JA, Hernandez ER, et al. Influence of electromagnetic fields on bone mass and growth in developing rats: a morphometric, densitometric, and histomorphometric study. *Calcif Tissue Int*, 1997, 60: 533-537.

(修回日期: 2007-02-13)

(本文编辑: 熊芝兰)

[1] Zhang XY, Xue Y, Zhang Y. Effects of 0.4 T rotating magnetic field

《中华物理医学与康复杂志》2007 年第 8 期 “继续教育园地”测试题

读杂志、获学分,本刊继续教育园地栏目每期推出,只要您每期阅读该栏目文章,正确填写答题卡寄回本刊编辑部,您就可获得国家 II 类继续教育学分,每期 1 分,全年可获得 12 分。

测试题(文章见本期 570 页,答题卡见本期 572 页):

- 1、青少年特发性脊柱侧凸是指:
 - A. 由遗传因素引起的脊柱侧凸
 - B. 由脊柱骨骼病变引起的脊柱侧凸
 - C. 由脊柱旁肌肉病变引起的脊柱侧凸
 - D. 由神经病变引起的脊柱侧凸
 - E. 无明确原因的脊柱侧凸
- 2、为明确诊断,青少年特发性脊柱侧凸最重要的检查是:
 - A. 脊柱的波纹照相
 - B. 站立位脊柱正侧位 X 线片
 - C. 脊柱 CT 扫描
 - D. 脊柱 MRI 检查
 - E. 碱性磷酸酶测定
- 3、评定青少年特发性脊柱侧凸严重程度最重要的指标是:
 - A. Cobb 角
 - B. Risser 征
 - C. 肋-椎角
 - D. 脊柱旋转度
 - E. 脊柱柔软度
- 4、20 ~ 40° 青少年特发性脊柱侧凸主要的治疗方法是:
 - A. 药物治疗
 - B. 运动治疗
 - C. 矫正体操
 - D. 配戴侧凸矫形器
 - E. 手术治疗
- 5、侧凸矫形器的作用原理是:
 - A. 生物力学一点或二点矫正规律
 - B. 生物力学三点或四点矫正规律
 - C. 生物力学五点或六点矫正规律
 - D. 生物力学七点或八点矫正规律
 - E. 生物力学九点或十点矫正规律