

## · 基础研究 ·

# 脉冲电磁场干预去势雌性大鼠骨代谢的强度窗效应

李志锋 李志忠 程国政 韦哲 周建 陈克明

**【摘要】目的** 研究不同强度脉冲电磁场(PEMFs)对去势雌性大鼠骨代谢的影响。**方法** 将 60 只 10 月龄雌性 Sprague-Dawley 大鼠随机分为空白组、去势组、0.14 mT 组、0.16 mT 组、0.18 mT 组和雌激素组,除空白组行假手术外,其余均切除双侧卵巢以建立骨质疏松模型。术后 1 周,将 0.14 mT 组、0.16 mT 组、0.18 mT 组大鼠暴露于相应的 PEMFs 下,每日 1 次,每次 60 min,为期 3 个月;雌激素组行雌激素皮下注射。实验期间动态测定大鼠全身骨密度(BMD),第 3 个月末处死大鼠并测定相关生化指标和局部骨密度。**结果** 与空白组相比,其余 5 组碱性磷酸酶(ALP)活性均显著上升( $P < 0.01$ ),去势组、0.14 mT 组抗酒石酸性磷酸酶 5b(TRAP5b)水平显著升高( $P < 0.01$ );干预至第 2 个月末,0.14 mT 组全身骨密度明显低于空白组( $P < 0.05$ ),第 3 个月末,去势组、0.14 mT 组全身骨密度均明显低于空白组( $P < 0.05$ ),0.16 mT 组、0.18 mT 组和雌激素组全身骨密度均明显高于去势组( $P < 0.05$ );第 3 个月末,各组腰椎骨密度变化趋势与全身骨密度变化基本一致,去势组、0.14 mT 组股骨骨密度明显低于空白组,但其余各组间比较,差异无统计学意义。**结论** 频率为 50 Hz,磁感应强度为 0.16 mT 和 0.18 mT 的 PEMFs 刺激能够促进骨形成,可作为治疗骨质疏松症的参考参数;而频率为 50 Hz,磁感应强度为 0.14 mT 的 PEMFs 可能具有刺激骨吸收的作用。PEMFs 对去势雌性大鼠骨代谢的影响存在较为明显的“强度窗”效应。

**【关键词】** 脉冲电磁场; 去势; 骨代谢; 强度

## An intensity window in the effects of pulsed electromagnetic fields on bone metabolism in ovariectomized rats

LI Zhi-feng\*, LI Zhi-zhong, CHENG Guo-zheng, WEI Zhe, ZHOU Jian, CHEN Ke-ming. \*Institute of Orthopaedics, The General Hospital of Lanzhou Military District, Lanzhou 730050, China

Corresponding author: CHEN Ke-ming, Email: chkeming@yahoo.com.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) of different intensities on bone metabolism in ovariectomized rats. **Methods** Sixty 10-month-old female Sprague-Dawley rats were randomly divided into a normal group, an ovariectomized control group, a 0.14 mT group, a 0.16 mT group, a 0.18 mT group and an estrogen group. All rats except those in the normal group were subjected to bilateral ovariectomy. Beginning one week after the operation, the rats in the 0.14 mT, 0.16 mT and 0.18 mT groups were treated with PEMFs at 50 Hz, 60 min daily for 90 days, while those in the estrogen group received estrogen instead. During the experiment, the bone mineral density (BMD) of the whole body was observed dynamically, and local BMDs and biochemical indexes were measured after 3 months of treatment. **Results** Alkaline phosphatase (ALP) activity in the normal group was significantly lower than in the other groups. Tartrate-resistant acidic phosphatase 5b (TRAP5b) activity was elevated significantly in the control and 0.14 mT groups compared with the normal group. After 2 months of treatment, whole body BMD was reduced significantly in the 0.14 mT group compared to the normal group. After 3 months of treatment, whole body BMD in the ovariectomized controls and the 0.14 mT group was reduced significantly compared to the normal group, but significantly elevated in the 0.16 mT, 0.18 mT and estrogen groups when compared to the ovariectomized control group. At the end of 3 months of treatment, the trends in lumbar vertebral BMD were similar to those of the whole body BMD, with the femoral BMD in the ovariectomized group and the 0.14 mT group significantly lower than in the normal group, though the differences among the other groups were not statistically significant. **Conclusions** PEMF treatment at 50 Hz and 0.16 mT or 0.18 mT can promote bone formation. PEMFs at 50 Hz and 0.14 mT might stimulate bone resorption. An intensity-window effect exists in the action of PEMFs on

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.11.001

基金项目:甘肃省科技计划资助项目(092NKDA025)

作者单位:730050 兰州,兰州军区总医院骨科研究所(李志锋、程国政、周建、陈克明);兰州理工大学生命科学与工程学院(李志忠);兰州军区总医院医疗工程科(韦哲)

通信作者:陈克明,Email:chkeming@yahoo.com.cn

bone metabolism in ovariectomized rats.

**[Key words]** Pulsed electromagnetic fields; Ovariectomies; Bone metabolism; Intensity

运用脉冲电磁场 (pulsed electromagnetic fields, PEMFs) 防治骨质疏松症的研究横跨电子工程、生物学和医学三大领域,其作为一种非侵入式物理疗法,现已被逐步应用于骨质疏松症的实验研究和临床治疗<sup>[1]</sup>。由于生物体对外界能量的传导有一定的自我调节能力,将不同参数组合的电磁场作用于生物体可能产生不同的生物应答反应,因此,电磁干预过程中存在着频率窗、强度窗和时间窗等作用特点<sup>[2]</sup>。然而,各研究者所用的电磁场类型、参数、实验对象及目的等均有不同,实验间缺乏可比性,导致如何配置 PEMFs 参数以尽可能提高骨质疏松症治疗效果依然是一个问题。鉴于采用磁场强度  $<0.2$  mT 的 PEMFs 干预骨质疏松大鼠骨代谢的相关研究尚不多见,本实验通过去势建立绝经后骨质疏松动物模型,研究了频率为 50 Hz,磁感应强度分别为 0.14 mT、0.16 mT 和 0.18 mT 的 PEMFs 对去势雌性大鼠骨代谢的影响,报道如下。

## 材料与方法

### 一、主要仪器与试剂

实验所用脉冲电磁场骨质疏松治疗仪由兰州军区兰州总医院医学工程中心实验室研制,治疗磁场线圈采用三线圈系统,可提供更为均匀的磁场环境<sup>[3]</sup>。经中国人民解放军兰州军区医学计量测试研究站(军队法定计量检测机构,授权证书号:[WS]军计机证字第 203 号)测定,治疗仪运行期间磁场环境均匀、精确、稳定。主要参数:脉冲频率为 1~100 Hz 连续可调,磁感应强度为 0~10 mT 连续可调,治疗时间为 1~100 min 连续可调。

双能 X 线骨密度仪 (GE Lunar-Prodigy); 高速冷冻离心机 (Biofuge Pimor Heraeus); 万分之一电子天平 (Mettler Toledo AE200); 550 型酶标仪 (Bio-RAD Microplate Reader); 全自动生化分析仪 (Beckman LX20)。雌二醇测定试剂盒 (Usclief Science and Technology Company), 批号 E0696R; 抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate resistant acid phosphatase, TRAP) 5b 测定试剂盒 (Immunodiagnostic Systems Limited), 批号 SB-TR201A; 雌二醇 (Sigma 公司), 批号 E2758; 戊巴比妥钠 (北京通县育才精细化工厂), 批号 950427。

### 二、实验动物和分组

取 60 只体重为  $(286 \pm 12)$  g 的 10 月龄雌性 Sprague-Dawley 大鼠,由甘肃中医学院 SPF 动物实验中心提供,动物质量合格证号 SCXK(甘)2004-0006-152。实验期间,大鼠按组分笼饲养于大小 300 mm ×

200 mm × 200 mm 的塑料笼内,每笼 5 只,笼盖采用通风透气的透明塑料隔板,定期清除笼内异物。标准大鼠饲料喂养,控制食量  $(20 \pm 1)$  g/d,可自由饮水和活动,定期称量体重。采用随机数字表法将实验动物分为空白组、去势组、0.14 mT 组、0.16 mT 组、0.18 mT 组和雌激素组。

### 三、造模与干预

除空白组行假手术外,其余均切除双侧卵巢以建立骨质疏松模型。术后第 1 周开始干预;空白组和去势组分别置于不通电的骨质疏松治疗仪中,每日 1 次,每次 60 min,为期 3 个月;3 个磁疗组依次暴露于 0.14 mT、0.16 mT 和 0.18 mT 的 PEMFs 下,每日 1 次,每次 60 min,为期 3 个月;雌激素组以每日 10  $\mu$ g/kg 体重剂量行雌二醇皮下注射,每 2 天注射 1 次。

### 四、标本制备与指标检测

分别在干预第 1 个月末、第 2 个月末和第 3 个月末,用 1% 戊巴比妥钠 (3 ml/kg 体重) 腹腔注射麻醉大鼠,待其处于稳定麻醉状态时,置于双能 X 线骨密度仪下,以腰椎为轴线放置,应用小动物分析软件测定全身骨密度。测量均由专人在同一地点用相同仪器操作,以保证被测对象进行多次独立测量结果的一致性。第 3 个月末时处死大鼠,处死前行股动脉穿刺采集血液标本,测定血清雌二醇、钙、磷、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 及 TRAP5b 水平。动物处死后解剖,取出第 2 腰椎和右侧股骨,剔净软组织后进行骨密度测定。

### 五、统计学方法

采用 SPSS 13.0 版统计软件进行分析,结果均以  $(\bar{x} \pm s)$  表示。首先用方差分析检验各组间差异是否有统计学意义,当差异存在统计学意义时,再用多参数  $t$  检验验证各均数间差异是否有统计学意义。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、体征观察及体重变化

干预期间,空白组大鼠活动正常,毛色光亮,活泼好动;去势组活动减少,毛色光泽度下降,精神萎靡;与去势组比较,0.16 mT 组、0.18 mT 组和雌激素组大鼠较活泼,精神状态和毛色光泽度均较好,0.14 mT 组大鼠体征状况与去势组类似。至于干预结束时,各组间体重比较,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 1。

### 二、血清雌二醇水平

如表 1 所示,空白组和雌激素组雌二醇水平均显

著高于其他各组 ( $P < 0.01$ );而去势组、0.14 mT 组、0.16 mT 组、0.18 mT 组组间比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。说明造模成功。

表 1 各组干预至第 3 个月末大鼠体重和雌二醇水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别        | 只数 | 体重 (g)         | 雌激素 (pg/ml)               |
|-----------|----|----------------|---------------------------|
| 空白组       | 10 | 310.00 ± 20.14 | 6.32 ± 0.33               |
| 去势组       | 10 | 313.23 ± 19.81 | 2.83 ± 0.28 <sup>ab</sup> |
| 0.14 mT 组 | 10 | 308.56 ± 24.32 | 2.86 ± 0.28 <sup>ab</sup> |
| 0.16 mT 组 | 10 | 309.98 ± 32.16 | 2.87 ± 0.28 <sup>ab</sup> |
| 0.18 mT 组 | 10 | 308.74 ± 36.43 | 2.84 ± 0.13 <sup>ab</sup> |
| 雌激素组      | 10 | 312.80 ± 42.57 | 6.01 ± 0.22               |

注:与空白组相比,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与雌激素组相比,<sup>b</sup> $P < 0.01$

三、全身骨密度动态变化

干预至第 1 个月末和第 2 个月末,0.14 mT 组全身骨密度明显下降,与空白组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),其余各组间比较,差异无统计学意义;第 3 个月末,去势组、0.14 mT 组全身骨密度明显低于空白组 ( $P < 0.05$ ),0.16 mT 组、0.18 mT 组和雌激素组骨密度均显著高于去势组 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 各组各观察时间点全身骨密度比较 ( $\text{g}/\text{cm}^2, \bar{x} \pm s$ )

| 组别        | 只数 | 第 1 个月末                    | 第 2 个月末                    | 第 3 个月末                    |
|-----------|----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 空白组       | 10 | 0.160 ± 0.009              | 0.162 ± 0.008              | 0.160 ± 0.007              |
| 去势组       | 10 | 0.154 ± 0.009              | 0.153 ± 0.002              | 0.151 ± 0.008 <sup>a</sup> |
| 0.14 mT 组 | 10 | 0.148 ± 0.013 <sup>a</sup> | 0.146 ± 0.007 <sup>a</sup> | 0.144 ± 0.006 <sup>a</sup> |
| 0.16 mT 组 | 10 | 0.156 ± 0.015              | 0.155 ± 0.010              | 0.160 ± 0.008 <sup>b</sup> |
| 0.18 mT 组 | 10 | 0.157 ± 0.011              | 0.158 ± 0.003              | 0.160 ± 0.004 <sup>b</sup> |
| 雌激素组      | 10 | 0.157 ± 0.005              | 0.159 ± 0.005              | 0.162 ± 0.011 <sup>b</sup> |

注:与空白组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与去势组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$

四、局部骨密度变化

与空白组相比,去势组腰椎骨密度显著下降 ( $P < 0.01$ ),0.14 mT 组也显著下降,但与去势组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),0.16 mT 组、0.18 mT 组和雌激素组腰椎骨密度均显著升高,且与去势组比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );去势组、0.14 mT 组股骨骨密度明显低于空白组,其余各组间比较差异无统计学意义,见表 3。

表 3 各组干预至第 3 个月末局部骨密度比较 ( $\text{g}/\text{cm}^2, \bar{x} \pm s$ )

| 组别        | 只数 | 腰椎骨密度                      | 股骨骨密度                      |
|-----------|----|----------------------------|----------------------------|
| 空白组       | 10 | 0.120 ± 0.007              | 0.136 ± 0.010              |
| 去势组       | 10 | 0.107 ± 0.006 <sup>a</sup> | 0.126 ± 0.006 <sup>a</sup> |
| 0.14 mT 组 | 10 | 0.098 ± 0.003 <sup>b</sup> | 0.118 ± 0.014 <sup>a</sup> |
| 0.16 mT 组 | 10 | 0.117 ± 0.011 <sup>c</sup> | 0.133 ± 0.008              |
| 0.18 mT 组 | 10 | 0.118 ± 0.004 <sup>c</sup> | 0.133 ± 0.004              |
| 雌激素组      | 10 | 0.119 ± 0.001 <sup>c</sup> | 0.135 ± 0.016              |

注:与空白组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与去势组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$

五、生化指标变化

由表 4 可见,各组间血钙、血磷水平比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );与空白组相比,各组 ALP 水平均显著上升 ( $P < 0.01$ );去势组、0.14 mT 组的 TRAP5b 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ),其余 3 组与空白组比较,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 4 各组干预至第 3 个月末生化指标结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别        | Ca (mmol/L) | P (mmol/L)  | ALP (U/L)                 | TRAP5b (U/L)               |
|-----------|-------------|-------------|---------------------------|----------------------------|
| 空白组       | 2.45 ± 0.11 | 1.77 ± 0.08 | 202.2 ± 16.2              | 0.646 ± 0.002              |
| 去势组       | 2.55 ± 0.14 | 1.80 ± 0.04 | 226.0 ± 14.2 <sup>a</sup> | 1.242 ± 0.004 <sup>a</sup> |
| 0.14 mT 组 | 2.44 ± 0.16 | 1.79 ± 0.10 | 224.5 ± 20.1 <sup>a</sup> | 1.307 ± 0.002 <sup>a</sup> |
| 0.16 mT 组 | 2.37 ± 0.10 | 1.78 ± 0.06 | 222.3 ± 21.0 <sup>a</sup> | 0.755 ± 0.003 <sup>b</sup> |
| 0.18 mT 组 | 2.40 ± 0.12 | 1.77 ± 0.04 | 229.3 ± 18.2 <sup>a</sup> | 0.744 ± 0.005 <sup>b</sup> |
| 雌激素组      | 2.46 ± 0.10 | 1.77 ± 0.06 | 241.9 ± 20.1 <sup>a</sup> | 0.676 ± 0.006 <sup>b</sup> |

注:与空白组相比,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与去势组相比,<sup>b</sup> $P < 0.01$

讨 论

本研究表明,经频率为 50 Hz,磁感应强度为 0.16 mT、0.18 mT 的 PEMFs 干预能明显提高去势大鼠骨密度,说明该参数能够有效地促进骨形成,可作为骨质疏松症治疗的参考。有一些研究者采用固定频率 50 Hz,磁感应强度为 0.4 mT、1 mT、1.5 mT、3 mT 和 7 mT 的 PEMFs 对去势大鼠进行预防性治疗,也发现所用 PEMFs 对骨质疏松症有明显的预防作用<sup>[4-6]</sup>。然而,我们用频率为 50 Hz,磁感应强度为 0.14 mT 的 PEMFs 干预时却发现,去势雌性大鼠全身、腰椎和股骨骨密度均有所下降,与去势组相比,差异无统计学意义,表明该参数 PEMFs 可能具有刺激骨吸收的作用。Gonzalez 等<sup>[7]</sup>在应用 PEMFs 干预生长发育期雌性大鼠时,也曾得出所采用的 PEMFs 可使大鼠骨形成减少,骨吸收增加的结论。

骨形成和骨吸收标志物可用来判定快速骨丢失,客观评价骨转换率。绝经后骨质疏松症的骨形成和骨吸收标志物水平升高表明骨转换加快,与骨密度快速下降明显相关。ALP 活性可反映骨形成的活跃程度<sup>[8]</sup>。本研究发现,去势大鼠 ALP 活性均显著高于空白组,说明去势在刺激骨吸收的同时,可使骨形成能力代偿性增强。TRAP5b 是骨吸收的特异性指标<sup>[8]</sup>,经频率为 50 Hz,磁感应强度为 0.14 mT 的 PEMFs 干预后,TRAP5b 水平有所上升,说明其从一定程度上刺激了骨吸收;而磁感应强度为 0.16 mT 和 0.18 mT 的 PEMFs 干预可使 TRAP5b 水平显著下降,说明二者有效抑制了骨吸收。各组血钙和血磷变化均不明显,这可能是由于机体的内稳态在发挥作用,肾脏将血中过量的钙、磷随尿液排出体外,从而使其呈现稳定状态。以上生化指标的动态变化与骨密度测定结果趋于一致。

致,可作为辅助衡量骨量变化的参考依据。

微小的磁场强度差异却能造成实验结果的巨大差异。本研究结果提示,PEMFs 治疗骨质疏松症存在较为敏感的“窗口效应”,慎重选择治疗参数对临床应用有重要的指导意义,但为什么如此小的强度差异却对疗效有这么大的影响,尚需进一步深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] 李志锋,程国政,翟远坤,等. 脉冲电磁场防治骨质疏松症的研究进展. 中国骨质疏松杂志,2009,15:158-161.
- [2] Blackman CF, Blanchard JP, Benane SG, et al. Double blind test of magnetic field effects on neurite outgrowth. Bioelectromagnetics, 1998, 19:204-209.
- [3] 韦哲,程自峰,白孟海. 骨质疏松治疗系统的研制及临床应用. 中国医疗设备,2008,3:22-24.

- [4] 申广浩,罗二平,路丽华,等. 不同强度脉冲电磁场对大鼠骨质疏松的影响. 第四军医大学学报,2007,28:2132-2134.
- [5] Sert C, Mustafa D, Duz MZ, et al. The preventive effect on bone loss of 50Hz, 1mT electromagnetic field in ovariectomized rats. J Bone Miner Metab, 2002, 20:345-349.
- [6] Zati A, Gnudi, Mongiorgi S, et al. Effects of magnetic fields in the therapy of osteoporosis induced by ovariectomy in the rat. Boll Soc Sper, 1993, 69:469-475.
- [7] 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.
- [8] 肖恩,孟萍. 骨质疏松骨代谢生化指标的研究进展. 中国骨质疏松杂志,2008,14:212-216.

(修回日期:2010-07-25)

(本文编辑:吴 倩)

## 《中华物理医学与康复杂志》第七届编辑委员会组成名单

顾 问: 许云影(加拿大) 吴宗耀 连倚南(中国台湾) 陈安民 南登崑 谭维溢

名誉总编辑: 郭正成

总 编 辑: 黄晓琳

副 总 编 辑: 吴 毅 李 玲 郭铁成 顾 新 窦祖林 燕铁斌

编 辑 委 员: (按姓氏笔画排序)

|                   |     |           |                    |           |     |           |           |
|-------------------|-----|-----------|--------------------|-----------|-----|-----------|-----------|
| 尤春景               | 尹 平 | 毛容秋       | 王 伟                | 王 刚       | 王 彤 | 王 强       | 王宁华       |
| 王冰水               | 王茂斌 | 王亭贵(中国台湾) | 王颐和(中国台湾)          | 邓复旦(中国台湾) |     |           |           |
| 冉春风               | 冯 珍 | 卢成皆(澳大利亚) | 刘宏亮                | 华桂茹       | 孙福成 | 朱珊珊       |           |
| 汤晓芙               | 牟 翔 | 纪树荣       | 许晓冬                | 闫金玉       | 何成奇 | 何成松       | 励建安       |
| 吴 华               | 吴 毅 | 宋为群       | 张长杰                | 张光宇       | 张志强 | 张继荣       | 张盘德       |
| 李 玲               | 李兴志 | 李红玲       | 李建军                | 李建华       | 李胜利 | 李晓捷       | 李常威(中国香港) |
| 朱 愈(美国)           | 杨渝珍 | 肖 农       | 陆再英                | 陈启明(中国香港) | 周士枋 |           |           |
| 周谋望               | 岳寿伟 | 林 伟       | 范建中                | 郑光新       | 恽晓平 | 洪章仁(中国台湾) |           |
| 倪国新               | 倪朝民 | 徐 军       | 徐永健                | 敖丽娟       | 袁 华 | 贾子善       | 郭钢花       |
| 郭铁成               | 顾 新 | 顾旭东       | 高晓平                | 梁 英       | 梅元武 | 黄 真       | 黄东锋       |
| 黄晓琳               | 谢 青 | 谢 荣       | 谢欲晓                | 窦祖林       | 廖维靖 | 燕铁斌       |           |
| Bryan O'Young(美国) |     |           | Sheila Purves(加拿大) |           |     |           |           |