

· 基础研究 ·

不同强度脉冲电磁场对去势大鼠股骨生物力学特性的影响

肖登 何成奇 何红晨

【摘要】目的 研究不同强度低频脉冲电磁场对骨质疏松大鼠骨生物力学指标的影响,探讨脉冲电磁场治疗骨质疏松的最适强度。**方法** 按随机分组原则将 50 只雌性 3 月龄 Sprague-Dawley 大鼠分为 5 组:假手术对照组、模型对照组、0.77 mT 组、3.82 mT 组和 9.87 mT 组,每组 10 只。除假手术对照组以外,对各组动物去势造模。0.77 mT 组、3.82 mT 组和 9.87 mT 组大鼠每天在频率为 8 Hz,磁感应强度分别为 0.77 mT、3.82 mT 和 9.87 mT 的磁场环境中干预 40 min,共 30 d。假手术对照组和模型对照组不干预。各组动物均于术后喂养 30 d 后股动脉放血处死,取右侧股骨测定生物力学特性(包括最大载荷、最大位移、最大能量吸收、最大应力、最大应变和弹性模量)。**结果** 3.82 mT 组各项生物力学指标与模型对照组和 0.77 mT 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);3.82 mT 组最大位移、最大能量吸收、最大应力、弹性模量与 9.87 mT 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 磁感应强度为 3.82 mT 的 PEMFs 能明显改善骨质疏松模型大鼠股骨生物力学特性。

【关键词】 脉冲电磁场; 磁场强度; 去势大鼠; 生物力学特性

The effect of pulsed electromagnetic fields on the biomechanical properties of the femur in ovariectomized rats XIAO Deng*, HE Cheng-qi, HE Hong-chen. * Department of Physical Medicine & Rehabilitation, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

【Abstract】 Objective To observe the effect of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) of different intensities on the biomechanical properties of the femur in ovariectomized rats so as to determine the intensity for the best therapeutic efficacy. **Methods** Fifty female Sprague-Dawley rats were randomly divided into (1) a sham-operated control group (no PEMF treatment), (2) ovariectomized control group (no PEMF treatment) (3) ovariectomized group I (PEMF treatment at 8 Hz and 0.77 mT intensity, 40 min daily for 30 days) (4) ovariectomized group II (PEMF treatment at 8 Hz and 3.82 mT intensity, 40 min daily for 30 days) and (5) ovariectomized group III (PEMF treatment at 8 Hz and 9.87 mT intensity, 40 min daily for 30 days). Except for the 10 rats of the sham-operated control group, all the others received a standard ovariectomy. Serum estradiol (E2) and the biomechanical properties of one femur (peak load, maximum displacement, maximum energy absorption, maximum stress, maximum strain and modulus of elasticity) were assessed after 30 days of PEMF treatment. **Results** In group II the biomechanical properties of the femur were significantly better than in group I or the ovariectomized control group. In groups I and III the biomechanical properties of the femur were not significantly better than in the sham-operated group. In group II the biomechanical properties of the femur were significantly better than in groups I or III. **Conclusion** PEMFs at 3.82 mT can improve the biomechanical properties of the femur significantly.

【Key words】 Pulsed electromagnetic fields; Magnetic field intensity; Ovariectomized rats; Biomechanical properties

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是指伴随着年龄的增长或者妇女绝经后发生的骨基质和矿物质由骨内丢失而导致的骨的显微结构改变,骨脆性增加,骨折危险频度增大,进而引起的以骨痛、骨密度降低、轻微外伤即易引起骨折为主要临床特征的退行性、系统性、代谢性骨病。在现代社会中,OP 已经成为

一种严重影响人们生活质量的疾病。OP 的重要特征是骨微观结构和生物力学特性的改变,它们是评估骨强度的重要指标。因此,测定骨的生物力学特性在 OP 的研究中极为重要。骨组织是由无机盐和有机质组成的双向复合材料,无机材料与骨的强度有关,有机材料与骨的柔韧性有关。骨在承受外力时,外部形态和内部结构随之改变,这种改变直接反映为骨结构力学与材料力学性能的变化^[1]。目前,临床上对于 OP 的治疗多采用药物口服或肌注治疗^[2-3],治疗时间长,且痛苦,患者不能长期坚持。而

采用脉冲电磁场 (pulsed electromagnetic fields, PEMFs) 治疗 OP 有效且无任何痛苦, 患者能够坚持, 可使其骨密度增加。已经进行的动物试验表明 PEMFs 治疗 OP 效果显著^[4-5]。但是, 由于无创检测技术的缺乏, 对于人体经 PEMFs 治疗后生物力学特性的改变尚无法测定。因此动物实验研究对探讨 PEMFs 治疗 OP 后机体生物力学特性的改变具有重要的意义。我们拟选用同一频率下低、中、高三种磁场强度对 OP 大鼠进行干预, 测定其生物力学特性的改变并探索最佳治疗强度, 现报告如下。

材料与方法

一、实验动物及分组

选择健康清洁级雌性 3 月龄 Sprague-Dawley 大鼠 50 只, 平均体重 150 ~ 180 g (许可证编号: SCXK 川 2003-06), 由四川省成都市武侯区华西实验动物服务站提供。

按随机分组原则采用随机数字表法将 50 只大鼠分为 5 组: 假手术对照组、模型对照组以及 3 个 PEMFs 组 (0.77 mT 组、3.82 mT 组和 9.87 mT 组), 每组 10 只。

二、主要仪器与试剂

Union-2000A 型骨质疏松治疗系统; 1% 戊巴比妥溶液和 5% 甲硝唑注射液; 日本产 AG-IS 型电子万能试验机。

三、OP 动物模型的建立

除假手术对照组外, 将其余各组大鼠用 1% 戊巴比妥以 3 ml/kg 体重腹腔注射麻醉, 然后俯卧位固定于手术台上, 背部常规备皮、消毒、铺巾; 经腰背侧肋脊角切口进入腹腔, 切口视野可见白色脂肪, 分离脂肪团, 便可看见粉红色的卵巢, 以止血钳夹住卵巢, 将卵巢下的输卵管 (包括脂肪) 用丝线结扎, 剪除卵巢后将输卵管送回腹腔中, 同法切除另一侧卵巢; 止血、冲洗后, 腹腔灌注 2 ml 5% 甲硝唑注射液消毒, 再逐层缝合肌肉、皮下组织和皮肤, 用 75% 酒精、碘酒消毒皮肤。

四、假手术对照组的处理

假手术对照组 10 只大鼠背部常规备皮, 用 1% 戊巴比妥以 3 ml/kg 体重腹腔注射麻醉, 然后将大鼠俯卧位固定于手术台上, 常规消毒、铺巾; 经腰背侧肋脊角切口进入腹腔, 仅切除卵巢周围部分脂肪组织, 不摘除卵巢; 止血、冲洗后, 腹腔灌注 2 ml 5% 甲硝唑注射液消毒, 再逐层缝合肌肉、皮下组织和皮肤, 用 75% 酒精、碘酒消毒皮肤。

五、干预方式

造模结束后第 5 天 3 个 PEMFs 组开始 PEMFs 干预, 脉冲频率设定为 8 Hz, 干预强度分别为 0.77 mT、

3.82 mT、9.87 mT, 每天 1 次, 每次 40 min, 治疗 30 d, 治疗结束后次日处死大鼠。各组大鼠均在同等条件下分笼饲养, 自由饮水、摄食, 动物房室温 20 ~ 26 °C, 每周称重。模型对照组切除卵巢后正常喂养, 假手术对照组假手术后正常喂养, 不予任何处理, 与 PEMFs 组同批处死。

六、检测方法

各组大鼠行股动脉放血处死后, 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, 储存于冰箱冷冻室内备测。

股骨生物力学检测: 用游标卡尺测量股骨长度、短轴宽度、长轴宽度后, 采用三点弯曲试验测定右侧股骨的力学性能, 并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, 股骨前侧向上, 两下支点距离为 14 mm, 上压头以 2 mm/min 的速率加载, 如图 1 所示。应用日本产 AG-IS 型电子万能试验机, 计算机对测力及位移自动采控, 采样频率 10 Hz。用 SLBL-1kN 力传感器 (满量程 1 kN, 误差范围小于等于 $\pm 1\%$) 施加压力, 用内置的光电编码器测定位移 (分辨率为 0.001 mm) 记录挠度 (f), 计算机采集挠度及载荷信号, 并对载荷-挠度曲线自动处理, 如图 2 所示。测试指标包括最大荷载

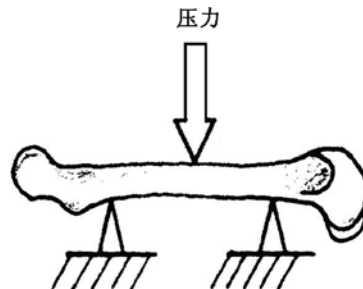


图 1 股骨抗弯测试示意图

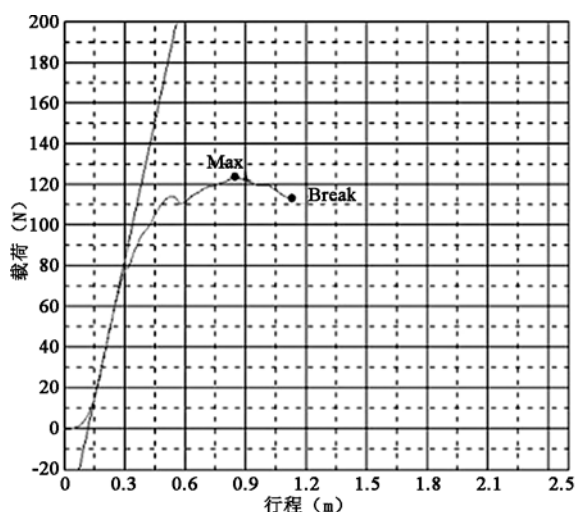


图 2 荷载-挠度曲线

(maximal loading, 单位为 N)、最大位移(maximal deflection, 单位为 mm)、最大能量吸收(maximal energy, 单位为 J)、最大应力(maximal stress, 单位为 N/mm^2)、最大应变(maximal strain, 单位为%)、弹性模量(modulus of bending elasticity, 单位为 N/mm^2)。

七、统计学分析

所有数据均以($\bar{x} \pm s$)描述,采用 SPSS 10.0 版统计软件,多组之间比较进行单因素方差分析,并用 LSD 检验进行各组间的两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

与模型对照组比较,3.82 mT 组各项检测参数以及 9.87 mT 组除弹性模量外,0.77 mT 组除最大荷载和弹性模量外各项参数差异有统计学意义($P < 0.05$)。与假手术组比较,3.82 mT 组弹性模量差异有统计学意义($P < 0.05$),0.77 mT 组最大能量吸收、弹性模量差异有统计学意义($P < 0.05$),9.87 mT 组最大位移、最大能量吸收、最大应力差异有统计学意义($P < 0.05$)。3.82 mT 组各项检测指标与 0.77 mT 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);3.82 mT 组最大位移、最大能量吸收、最大应力、弹性模量与 9.87 mT 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

讨 论

目前,一般认为骨量并不能完全反映骨强度高,骨强度除了由骨量(quantity)决定外,还与骨的内部结构(quality)有关,且“质”的因素在骨强度中更为重要。在临床实际应用时发现,骨量的变化与骨折发生率的相关性是复杂的,骨密度改变 1%,骨折率的变化可能达到约 40%;而骨密度变化达 10% 以上,相对应骨折率的变化可能仍为 40%^[6]。尽管目前 WHO 关于 OP 的诊断标准依据骨量测量即骨密度测定结果,但实践证明,仅仅依赖骨量的测量无法全面反映骨骼的内在特性。而骨质量不仅能反映骨骼的结构,还能提示骨骼内在的生物力学特性。因此治疗 OP 时,骨量的提高必须以骨质量得到有效的改善为前提,才能真正达到降低骨折发生率的目的^[7]。

发生 OP 时,骨的脆性增大^[8],尽管骨折发生的原因很多,但骨骼力学性能的改变是其中最重要的因素之一。骨的几何形态决定了骨的结构力学特性,而骨的微细结构决定了骨的材料力学性能^[9]。结构力学反映了整体骨组织的抗骨折能力;材料力学性能反映骨自身的强度和韧性,与骨骼中矿物质含量有关。而骨的微细结构变化,包括空间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)以及骨构成成分的改变(如钙盐的丢失),骨胶原空间结构的改变和性能下降等,则可导致骨材料力学性能的减弱^[10-14]。股骨干由皮质骨构成,雌激素的缺乏可导致成年大鼠股骨横截面积增大。即股骨可通过增大横截面积而使其力学性能得到一定程度的代偿^[15]。但随着 OP 的加重,这种代偿优势就会消失。

本研究结果显示,与假手术对照组比较,模型对照组的各项生物力学特性相关指标的降低具有统计学意义($P < 0.05$)。提示在去卵巢后 1 个月,大鼠股骨的结构力学、材料力学指标均显著降低。股骨的最大载荷是指股骨所能承受的最大挤压力,该参数的提高,表示股骨抗挤压和抗破坏的能力得到增强。骨的最大位移、最大能量吸收是反映骨韧性的指标,其改善提示骨的脆性减小。弹性模量、应力、应变是反映骨质内在特性的指标,主要受骨密度和骨小梁定向的影响,与骨的大小无关。

目前,对 PEMFs 治疗 OP 的效果,研究者们均持肯定态度,但 PEMFs 疗法的作用机制仍不清楚。许多研究者分别从分子学水平和形态学等角度进行了探讨,认为 PEMFs 防止骨量丢失的机制可能为:促进成骨细胞的增殖、分化和钙盐分泌,进而加速伤骨愈合、加快骨组织代谢;促进骨髓间充质干细胞生长;促进局部生长因子的合成和分泌;促进细胞外基质合成;促进钙盐沉积^[16-18]。

本研究发现,与模型对照组比较,0.77 mT 组、3.82 mT 组、9.87 mT 组的生物力学特性均有改善($P < 0.05$)。3 个 PEMFs 组组间比较发现,磁感应强度为 3.82 mT 时,大鼠生物力学特性的改善优于 0.77 mT 组和 9.87 mT 组,差异具有统计学意义。提示所用 3 种磁感应强度的 PEMFs 都能改善去势大鼠

表 1 各组股骨生物力学检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	最大荷载 (N)	最大位移 (mm)	最大能量吸收 (J)	最大应力 (N/mm^2)	最大应变 (%)	弹性模量 (N/mm^2)
模型对照组	10	94.57 ± 19.03	0.53 ± 0.12	0.04 ± 0.03	119.88 ± 32.09	5.38 ± 1.56	5217.56 ± 1731.39
假手术对照组	10	116.96 ± 9.31 ^a	0.86 ± 0.25 ^a	0.08 ± 0.03 ^a	167.60 ± 20.83 ^a	8.38 ± 2.59 ^a	6378.52 ± 919.23 ^a
0.77 mT 组	10	107.08 ± 16.69	0.67 ± 0.09 ^a	0.06 ± 0.03 ^{ab}	146.20 ± 27.62 ^a	7.89 ± 5.08 ^a	5348.64 ± 238.65 ^b
3.82 mT 组	10	125.86 ± 17.99 ^{ac}	0.84 ± 0.22 ^{ac}	0.08 ± 0.02 ^{ac}	173.85 ± 14.76 ^{ac}	8.12 ± 2.29 ^{ac}	7246.87 ± 914.01 ^{abc}
9.87 mT 组	10	122.58 ± 16.71 ^a	0.52 ± 0.06 ^{abcd}	0.04 ± 0.02 ^{abcd}	146.54 ± 19.27 ^{abcd}	5.45 ± 0.782 ^a	5689.06 ± 612.63 ^d

注:与模型对照组比较,^a $P < 0.05$;与假手术对照组比较,^b $P < 0.05$;与 0.77 mT 组比较,^c $P < 0.05$;与 3.82 mT 组比较,^d $P < 0.05$

的生物力学特性,但磁感应强度为 3.82 mT 的 PEMFs 较 0.77 mT 和 9.87 mT 的 PEMFs 对大鼠生物力学特性的影响更大。说明 PEMFs 能使去势大鼠股骨结构力学和材料力学性能显著改善,不但能增加骨量,而且能优化骨的几何结构,改善骨的微细结构、构成成分及胶原纤维性能。有研究者发现,造模成功的去卵巢大鼠与正常对照组相比,羟脯氨酸含量及骨胶原组织学检查结果比较,差异有统计学意义^[19]。但本研究受实验条件及实验时间的限制,予以 PEMFs 干预仅 1 个月,未进行组织学方面的检查,尚有待进一步的深入研究。

总之,我们发现磁感应强度为 3.82 mT 的 PEMFs 能明显改善去势大鼠的骨生物力学特性。提示中等磁场强度的 PEMFs 较高强度和低强度的 PEMFs 对骨质疏松大鼠股骨生物力学特性的改善效果更为显著。

参 考 文 献

- [1] 王以进,王介麟.骨科生物力学.北京:人民军医出版社,1989:156-157.
- [2] 赵伟业,董碧蓉,欧雪梅,等.骨质疏松药物治疗的新进展及循证证据.中国骨质疏松杂志,2003,9:80-82.
- [3] 刘丽.骨质疏松症的药物治疗进展.中国康复,2007,22:50-51.
- [4] 杨永红,何成奇,杨霖,等.不同强度脉冲电磁场对去势大鼠血清雌二醇的影响.四川大学学报(医学版),2008,39:256-258.
- [5] 何成奇,肖登,王维,等.不同强度脉冲电磁场对去势大鼠股骨骨钙含量的影响.中国康复医学杂志,2007,22:215-217.
- [6] Cummings SR, Karpf DB, Harris F, et al. Improvement in spine bone density and reduction in risk of vertebral fractures during treatment with antiresorptive drugs. Am J Med, 2002, 112:281-289.
- [7] 张剑峰,陈允震,刘海,等.骨胶原在骨质疏松大鼠中的变化及其与骨生物力学相关性实验研究.中国矫形外科杂志,2006,14:1807-1809.
- [8] Spadaro JA, Bergstrom WH. In vivo and in vitro effects of a pulsed electromagnetic field on net calcium flux in rat calvarial bone. Calcif Tissue Int, 2002, 70:496-502.
- [9] Martin RB. Determinants of the mechanical properties of bones. J Biomech, 1992, 25:1251.
- [10] 戴克戎.骨质疏松症导致骨生物力学性能下降的机理.中华骨科杂志,1997,17:405-407.
- [11] Hahn M, Vogel M, Amling M, et al. Microcallus formations of the cancellous bone; a quantitative analysis of the human spine. J Bone Miner Res, 1995, 10:1410-1416.
- [12] Mori S. Bone fracture and the healing mechanisms. Microdamage and microfracture. Clin Calcium, 2009, 19:699-703.
- [13] 陈一心,韩祖斌.雌性大鼠去势后骨矿盐的丢失.医用生物力学,1996,11:51-54.
- [14] Windahl SH, Vidal O, Anderson G, et al. Increased cortical bone mineral content but unchanged trabecular bone mineral density in female ERβ - / - mice. J Clin Invest, 1999, 104:895-901.
- [15] 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.
- [16] Gajda M, Litwin JA, Cichocki T, et al. Development of sensory innervation in rat tibia; co-localization of CGRP and substance P with growth-associated protein 43 (GAP-43). J Anat, 2005, 207:135-144.
- [17] Goto T, Nakao K, Gonjigake KK, et al. Substance P stimulate late-stage rat osteoblastic bone formation through neurokinin-1 receptors. Neuropeptides, 2007, 41:25-31.
- [18] Kojima T, Yamaguchi M, Kasai K. Substance P stimulates release of RANKL via Cox-2 expression in human dental pulp cells. Inflamm Res, 2006, 55:78-84.
- [19] 刘海春,张剑峰,陈允震.骨质疏松大鼠股骨生物力学特性与骨胶原质量变化的相关研究.山东大学学报(医学版),2009,47:42-46.

(修回日期:2010-07-19)

(本文编辑:吴倩)

· 外刊文献摘要 ·

儿童生活质量 PedsQL™ 3.0 脑瘫量表简体中文版的信度和效度分析

(Yang X, Xiao N, Yan J. The PedsQL in pediatric cerebral palsy: reliability and validity of the Chinese version pediatric quality of life inventory 4.0 generic core scales and 3.0 cerebral palsy module. Qual Life Res, 2010, 19:1239-1249)

杨雪 肖农 晏建英

【摘要】目的 研究儿童生活质量 PedsQL™ 4.0 普通适用核心量表(简称通适量表)和 3.0 脑瘫量表简体中文版的信度和效度。**方法** 儿童生活质量 PedsQL™ 4.0 通适量表简体中文版和 3.0 脑瘫量表英文版由法国 Varni 提供;按照国际通用的量表翻译改造程序,将英文版 PedsQL™ 3.0 脑瘫量表翻译成简体中文。126 名 2~12 岁脑瘫儿童参与研究,其中男性 87 例,女性 39 例,平均年龄为 4 岁 1 个月。126 名脑瘫儿童及其父母均需完成通适量表和脑瘫量表,2~12 岁脑瘫儿童父母完成父母代评量表,5 岁以上儿童(18 名)完成儿童自评量表。218 名正常儿童及其父母完成通适量表用于对照研究。**结果** PedsQL™ 4.0 通适量表总体 α 系数父母为 0.87,儿童为 0.83;PedsQL™ 3.0 脑瘫量表总体 α 系数父母为 0.96,儿童为 0.91。PedsQL™ 4.0 通适量表可区别正常儿童和脑瘫儿童。PedsQL™ 脑瘫量表和通适量表内部一致性分析和因子分析说明量表的结构效度较好。**结论** 儿童生活质量 PedsQL™ 4.0 普通适用核心量表和 3.0 脑瘫量表简体中文版具有良好的信度和效度。