

· 基础研究 ·

旋转磁场对去卵巢大鼠骨钙含量及其相关因子的影响

张宇 张小云

【摘要】目的 研究旋转磁场对去卵巢大鼠骨钙含量,以及骨碱性磷酸酶(BAP)、尿脱氧吡啶交联(DPD)的影响,并观察旋转磁场对雄性大鼠是否有同样的结果。探索治疗骨质疏松的中药是否与磁场有协同作用。**方法** 磁场处理实验组大鼠每天处理 2 h 共 15 次后,检测各组大鼠骨钙含量、BAP、DPD,并与对照组进行比较。**结果** 无论雄鼠还是去卵巢的雌鼠,凡经磁场处理后,磁场组的骨钙含量和血清 BAP 含量明显增加,同时 DPD 下降,服用中药组的实验结果对上述检测项目没有显著影响。**结论** 旋转磁场能较短时间内有效的促进 BAP 的升高和 DPD 的下降,导致去卵巢大鼠股骨的骨钙含量增加,不但再次验证了磁场能够在短时间内有效的提高去卵巢大鼠的骨密度,而且还证明旋转磁场对雄性大鼠也有同样的作用。

【关键词】 旋转磁场; 去卵巢大鼠; 骨钙含量; 骨碱性磷酸酶; 尿脱氧吡啶交联

Effects of rotary magnetic field on bone calcium content and related factor in rats with ovariectomy ZHANG Yu, ZHANG Xiao-yun. Department of Biotechnology, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

【Abstract】Objective To observe the effects of rotary magnetic to bone mineral content (BMC), bone-specific alkaline phosphatase (BAP) and deoxypyridinoline crosslinks (DPD), and to explore if there is synergistic action between the rotary magnetic field and the Chinese Medicine. **Methods** Experimental rats were exposed to the magnetic field 2 hours a day for 15 days then measured BMC, BAP and DPD then compared with that of the control rats. **Results** After rotary magnetic treatment, both female and male rats demonstrated a significant increase in BMC and BAP, and a simultaneous decrease in DPD content. Addition of Chinese medicine did not cause any significant difference of these parameters. **Conclusion** In rats with ovariectomy, rotary magnetic field can increase BAP and decrease DPD in a short time, and increase bone mineral content. These effects were similar in both female and male rats.

【Key words】 Rotary magnetic field; Rats; Ovariectomy; Bone mineral content; Bone-specific alkaline phosphatase; Deoxypyridinoline crosslinks

磁疗在中国已有千年的历史,但至今仍未得到普遍的认可,主要是因为磁疗的机理至今仍未被研究清楚。本实验室曾就磁场对细胞、止痛、以及去卵巢大鼠骨密度、骨强度、骨代谢等的影响做了一系列研究^[1-4],发现利用磁场可改善老年人骨质疏松。本文主要研究旋转磁场对去卵巢大鼠骨钙含量的影响,同时对影响骨钙沉积相关的骨碱性磷酸酶(bone-specific alkaline phosphatase, BAP)和骨钙吸收相关的尿脱氧吡啶交联(deoxypyridinoline crosslinks, DPD)进行测定,以期较全面地了解磁场导致钙与骨结合的生理基础。为探索加强磁疗效果的方法,我们试用已经明确有改善骨质疏松作用的中药方剂处理实验组大鼠,观察是否能够获得协同效应,同步观察低钙饮食对磁疗作用的影响,为今后临床

上的治疗和应用提供基础理论依据。

材料与方法

一、实验动物及分组

纯种三级 SD 大鼠 90 只(广东中医药学院动物中心提供),5 月龄,其中雌性大鼠 60 只,平均体重(259 ± 70)g;雄性大鼠 30 只,平均体重(351 ± 104)g,自由进食、饮水,动物房温度 $18 \sim 25^{\circ}\text{C}$,湿度 $50 \sim 65\%$,雌、雄分笼饲养。根据性别、饲养方式、手术和磁场处理方法的不同,将 90 只大鼠分成九组(A、B、C、D、E、F、G、H、I 组),每组 10 只大鼠。根据分组要求饲养大鼠(常钙食物:含钙量 0.26%;低钙食物:含钙量 0.10%);灌胃中药:补骨脂、黄芪、淫羊藿、肉苁蓉、煎粉剂(深圳三九药业公司提供)等量混合后以 1.08 mg/g 体重配制溶液灌胃。其中切除卵巢的雌鼠术后休息 15 d,待体内残存雌激素代谢干净后再开始接受磁场处理。各组具体情况见表 1。

表 1 实验大鼠分组情况

组别	n	性别	饲养方式	处理方法
A 组	10	雌	常钙饲养	单纯假手术
B 组	10	雌	常钙饲养	单纯去卵巢作为对照
C 组	10	雌	低钙饲养	单纯去卵巢作为对照
D 组	10	雌	低钙饲养	去卵巢 15 d 后, 磁场处理 15 d, 每日 1 次, 每次 2 h
E 组	10	雌	常钙饲养	去卵巢 15 d 后, 磁场处理 15 d, 每日 1 次, 每次 2 h
F 组	10	雌	低钙饲养	去卵巢 15 d 后, 中药灌胃联合磁场处理 15 d, 每日 1 次, 每次 2 h
G 组	10	雄	常钙饲养	不作任何处理
H 组	10	雄	低钙饲养	磁场处理 15 d, 每日 1 次, 每次 2 h
I 组	10	雄	常钙饲养	磁场处理 15 d, 每日 1 次, 每次 2 h

二、大鼠模型的建立

需切除卵巢的大鼠在乙醚麻醉后, 于无菌条件下进行手术, 切开大鼠背部正中皮肤, 分别在大鼠脊柱两侧分离肌肉进入腹腔, 暴露卵巢后完全切除。由于手术过程中出血很少, 因此不必进行结扎止血, 术后缝合皮肤。A 组(假手术组)只需切除卵巢附近一块脂肪, 然后缝合皮肤即可。

三、使用仪器及处理方法。

采用本实验室研制的 HMF-6000 旋转磁场治疗装置(中国专利号 2L93118017. 1, 美国发明号为 5. 66 7. 469)。磁场是由稀土磁钢制成的圆柱形磁体, 磁场旋转频率 8 Hz, 旋转时在磁体上方 20 cm 内形成一个直径 60 cm 的有效半球形旋转磁场(可容纳整只大鼠), 强度 $>0.4\text{ T}$ 。所有需接受磁场处理的大鼠每日置于磁场中 1 次, 每次 2 h, 连续处理 15 d。

四、测定方法

在磁场处理结束后, 继续饲养 15 d, 放血处死大鼠取其股骨, 于 105°C 下烘干至重量不再增加后称重, 再使用强酸液消化成液体后用感应耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES 法^[5])测定骨钙含量(由深圳市防疫站合作检测)。

采用 BAP 和 DPD 的 EIA 试剂盒(美国 Quidel 公司生产)测量血清中 BAP 含量和尿液中 DPD 含量。测量所得的标准曲线完全符合试剂盒说明书所附, 并由之推导出计算公式, BAP 计算公式: $\text{BAP}(\text{U/L}) = 2.1 + 1.9x + 0.2x^2$; DPD 计算公式: $\text{DPD}(\text{nmol/L}) = (120.7 - 1.1)/[1 + (x/13.6)^{2.7}] + 1.1$, x 代表吸光度。

采用磷液体试剂盒和钙液体试剂盒(北京中生生物工程高技术公司生产)测定大鼠的血钙和血磷含量, 以上测量均由 XD-811 多功能生化分析仪(上海迅达医疗仪器公司生产)完成。

五、统计学分析

所用数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较采用 t 检验。

结 果

实验结束后, 各组大鼠子宫重量、股骨干重、骨钙含量比、血钙含量、血磷含量等具体情况见表 2。

实验结束后, 各组大鼠血清 BAP 和尿中 DPD 含量见表 3。

讨 论

根据我们以前的实验结果, 旋转磁场能使大鼠骨密度显著增加, 并且能维持相当长的一段时间而不下降, 且该骨密度的升高与激素无关^[6]。本实验的设计是想了解在磁场作用下去卵巢大鼠单位骨钙含量是否有增加, 同时这个增加是否与相关的 BAP 和 DPD 有关, 即这个增加是由于成骨细胞和破骨细胞活性受磁场作用改变引起的, 还是由于磁场作用导致 Ca^{2+} 直接和骨组织结合。实验结果表明, 磁场作用导致大鼠 BAP 升高, BAP 是反映成骨的重要指标, 是成骨细胞分泌物, 成骨细胞生长越好 BAP 分泌就越多, 因此磁场作用下 BAP 即表明成骨细胞的活性增强。这点与许多国内学者研究的结果是一致的^[7-11], 即磁场能有效提高成骨细胞的生长和分裂。而 DPD 却是骨分解

表 2 各组大鼠子宫重量、股骨干重、骨钙含量比、血钙含量、血磷含量比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	子宫重量(g)	股骨干重(g)	骨钙含量比	血钙含量(mmol/L)	血磷含量(mmol/L)
A 组	10	$1.25 \pm 0.22^{**}$	$0.31 \pm 0.02^{*}$	$0.21 \pm 0.01^{*}$	$2.68 \pm 0.57^{**}$	$1.21 \pm 0.14^{*}$
B 组	10	$0.29 \pm 0.17^{\Delta\Delta}$	0.27 ± 0.03	0.20 ± 0.01	1.35 ± 0.29	1.98 ± 0.42
C 组	10	$0.29 \pm 0.14^{\Delta\Delta}$	0.33 ± 0.02	0.21 ± 0.02	1.06 ± 0.20	2.13 ± 0.23
D 组	10	$0.27 \pm 0.13^{\Delta\Delta}$	$0.31 \pm 0.02^{*}$	$0.22 \pm 0.02^{*\Delta}$	$2.71 \pm 0.32^{**}$	$1.40 \pm 0.32^{*}$
E 组	10	$0.29 \pm 0.12^{\Delta\Delta}$	$0.29 \pm 0.03^{*}$	$0.22 \pm 0.02^{*\Delta}$	$2.86 \pm 0.27^{**}$	$1.37 \pm 0.26^{*}$
F 组	10	$0.29 \pm 0.12^{\Delta\Delta}$	$0.37 \pm 0.03^{**\Delta}$	$0.23 \pm 0.02^{*\Delta}$	$2.94 \pm 0.23^{**}$	$1.36 \pm 0.16^{*}$
G 组	10	—	0.40 ± 0.02	0.20 ± 0.01	2.98 ± 0.24	1.35 ± 0.12
H 组	10	—	0.38 ± 0.02	$0.21 \pm 0.03^{*}$	$3.02 \pm 0.20^{\Delta}$	1.28 ± 0.21
I 组	10	—	0.40 ± 0.01	$0.21 \pm 0.03^{*}$	$3.14 \pm 0.17^{\Delta}$	1.27 ± 0.25

注: 与 B 组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$; 与 A 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$; 与 G 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

表 3 各组大鼠血清 BAP 和尿中 DPD 含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BAP(U/L)	DPD(nmol/L)
A 组	10	9.44 ± 2.57 **	148.69 ± 51.57 **
B 组	10	15.68 ± 3.68 $\Delta\Delta$	378.97 ± 81.64 $\Delta\Delta$
C 组	10	15.69 ± 2.11 $\Delta\Delta$	401.57 ± 79.34 $\Delta\Delta$
D 组	10	20.11 ± 2.31 * Δ	109.74 ± 20.73 ** Δ
E 组	10	20.52 ± 1.78 * Δ	98.45 ± 30.57 ** Δ
F 组	10	19.93 ± 1.96 * Δ	86.97 ± 37.19 ** Δ
G 组	10	8.53 ± 2.54	168.71 ± 53.19
H 组	10	17.69 ± 3.78 Δ	107.49 ± 40.18 Δ
I 组	10	15.54 ± 3.56 Δ	97.87 ± 31.97 Δ

注:与 B 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 A 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 G 组比较, $\Delta P < 0.05$

代谢的产物,DPD 减少表明破骨作用受到抑制,骨分解减少,DPD 也就随之减少。在 BAP 升高,而 DPD 减少的情况下,大鼠骨钙含量增加。因此本实验的结论倾向于,磁场可以促进骨钙含量的增加,是因为成骨细胞和破骨细胞对磁场的敏感程度不同,磁场促进了成骨细胞的活性,同时抑制了破骨细胞的活性。但是,我们还是不能排除由于磁场的作用, Ca^{2+} 也能直接和骨组织结合,因为在自愿患者的临床试验中,检测数据清楚地表明,直接暴露在磁场内和磁场外骨密度的增长速度不一样,直接曝磁的骨骼部位的骨密度明显大于磁场外的骨骼。因此,进一步的直接作用仍值得深入探讨。

许多文献报道了电磁场和脉冲场对骨折、脊椎融合、骨缺损、骨内生以及骨移植等的治疗作用^[12-14]。而我们的实验结果与日本东京大学医学院的 Kotani 等^[15]的观点更为接近,即:旋转磁场对骨作用的效果更好。因为磁生物效应和磁通量有关,磁通量与磁场强度和磁处理时间呈正相关关系,因此一般的低强磁场或脉冲磁场对骨作用的效果都不理想。若使磁场低频旋转加大磁通量变化,所产生的磁生物效应就会大大提高,这就是我们在实验中选用旋转磁场的理由。磁场能促进成骨细胞生长并能使 BAP 增加,抑制破骨细胞活性从而使尿中 DPD 降低,这些因素的变化均有利于骨折的愈合、骨缺损的修复、移植骨的成活、以及骨质疏松患者骨密度的增加,所以旋转磁场在骨科治疗领域中有着巨大的潜力。

实验结果表明,治疗骨质疏松有促进骨钙沉积的倾向,但是没有统计学差异。这说明中药和磁场的协同作用不明显,或是因为我们实验的例数不够多而造成的。至于常钙饮食和较低钙饮食对实验大鼠骨钙影响不明显,我们分析可能是因为较低钙的饮食含钙量

约为常钙饮食的一半,且没有超过自身的调节能力,但从另一方面也说明较低钙含量的饮食并不能明显影响骨钙的沉积。

切除卵巢的雌性大鼠是如此,那么磁场对雄鼠的影响是否有所区别? 本实验证明了雄性大鼠在旋转磁场的作用下,其股骨的钙含量增加亦是十分明显的,而且对 BAP 和 DPD 含量的影响与雌鼠是一致的。由此可得出结论,旋转磁场对雌、雄大鼠骨钙含量的增加都是有作用的,而且在短期内均有所表现。以上诸多结果均提示,利用旋转磁场改善骨质疏松症将是一条值得探索的途径,进一步的研究目前仍在进行之中。

参 考 文 献

- 张小云,薛延,苏湘鄂,等. 磁场对去卵巢大鼠骨密度、骨强度和骨代谢的影响. 基础医学与临床, 2002, 22: 550-553.
- 张小云,罗振国,张维德. 从分子水平探索旋转恒定磁场对机体作用之机理. 中国科学(C 辑), 2001, 31: 275-282.
- 张小云,罗振国,马永健,等. 磁场对血浆 β -内啡肽的影响. 中华物理医学与康复杂志, 1998, 20: 129-132.
- 张小云,张维德,卢丽. 磁场的细胞效应研究. 基础医学与临床, 1994, 14: 335-337.
- 闫立强,李国平. ICP-AES 测量指甲中 5 种微量元素. 光谱实验室, 2002, 19: 772-773.
- 郑磊. 力-电环境促进骨形成的机制-骨局部因子. 生物医学工程杂志, 2000, 17: 218-222.
- 阎启昌,富田直秀,王瑜,等. 静磁场对骨组织影响的实验研究. 中国医科大学学报, 2001, 30: 258-260.
- 林清泉,李懿,吴珊鹏,等. 结合磁场对成骨细胞的促增殖作用. 中华实验外科杂志, 2001, 18: 585-586.
- 王前,裴国献,张增坤. 电磁场促进成骨细胞体外骨发生钙离子调节机制. 暨南大学学报(自然科学版), 1997, 18: 58-62.
- 赵云山,张西正,郭勇. 电磁场对骨细胞和成骨细胞的作用. 国外医学生物医学工程分册, 2002, 25: 169-173.
- 汤青,赵南明. 低频电磁场对成骨细胞增殖及细胞周期的影响. 科学通报, 1999, 44: 2191-2194.
- 张峰,罗二平,张宏. 基于脉冲电磁场的骨折愈合刺激仪及临床应用. 生物医学工程杂志, 1997, 14: 95-98.
- Glazer PA, Heilmann MR, Lotz JC, et al. Use of electromagnetic fields in a spinal fusion. Spine, 1997, 20: 2351-2356.
- Takano-Yamamoto T, Kawakami K, Sakuda M. Effect of a pulsing electromagnetic field on demineralized bone-matrix-induced bone formation in a bone defect in the premaxilla of rats. J Dent Res, 1992, 71: 1920-1925.
- Kotani H, Kawaguchi T, Shimoaka T, et al. Strong static magnetic field stimulates bone formation to a definite orientation in vitro and in vivo. J Bone Miner Res, 2002, 17: 1814-1821.

(收稿日期: 2004-03-15)

(本文编辑: 阮仕衡)