

复合脉冲电磁场对去卵巢大鼠骨质疏松预防作用的研究

柯丽 陈璐璐 涂意辉 曹天舒 夏文芳 周慧

【摘要】 目的 观察复合脉冲电磁场(PEMFs)对去卵巢大鼠骨质疏松(OP)的预防作用,以寻求防治OP的新途径。**方法** 3月龄SD大鼠随机分为正常对照组(N)、去卵巢组(O)、去卵巢加苯甲酸雌二醇处理组(E)及去卵巢加PEMFs处理组(EM),治疗8周后测定骨生物力学、骨密度、骨形态学。**结果** 生物力学性能测定显示,经PEMFs治疗后股骨最大抗拉强度和椎骨最大抗压强度明显提高,较O组分别增加39.2%、37.9% ($P < 0.01$),并超过N组和E组 ($P < 0.01$);EM组骨密度(BMD)尽管未恢复至正常 ($P < 0.05$),但与O组相比仍有明显改善 ($P < 0.01$),且已基本达到E组水平;骨形态学分析发现EM组骨小梁增宽、致密,分布有序,结构优于O组和E组。**结论** PEMFs能够增加骨密度,改善骨生物力学性能和骨结构。鉴于其对OP的预防作用主要是通过提高骨质量来实现的,我们认为在PEMFs一定程度上优于苯甲酸雌二醇,是颇具潜力的预防骨质疏松的方法。

【关键词】 复合脉冲电磁场; 去卵巢大鼠; 骨质疏松; 雌激素; 预防

Effect of pulsing electromagnetic fields on prevention of osteoporosis in ovariectomized rats KE Li, CHEN Lulu, TU Yihui, et al. Wuhan Fourth Hospital, Wuhan 430033, China

【Abstract】 Objective To investigate if pulsing electromagnetic fields(PEMFs) can prevent osteoporosis in ovariectomized (OVX) rats. **Methods** Female adult SD rats were divided randomly in to normal control (CN), ovariectomized (O), OVX plus estrogen-treated (E), and OVX plus PEMFs-treated (EM) groups. The biomechanical characteristics, bone density and bone morphology were detected to evaluate the difference between three OVX groups and normal control group. **Results** Compared with N group, the biomechanical characteristics and BMD in O group both decreased significantly ($P < 0.01$). Treatment with PEMFs showed not only better biomechanical characteristics and significantly higher BMD than O group ($P < 0.01$), but also better biomechanical properties than N and E groups ($P < 0.01$), although BMD in EM group did not reach normal ($P < 0.05$). In addition, the trabeculae in EM group determined by bone morphology were thicker and denser than those in other groups, and the appearance and arrangement of trabeculae in EM group were regular. **Conclusion** PEMFs can reduce the bone loss, improve the biomechanical properties of the bone and prevent osteoporosis in OVX rats. Its effect seems better than estrogen, at least in bone quality.

【Key words】 Pulsing electromagnetic fields; Ovariectomized rats; Osteoporosis; Estrogen; Prevention

防治骨质丢失的方法很多,如药物、饮食、运动等都有一定的作用,但在广泛应用时存在着种种限制,尤其药物治疗不仅价格较昂贵,而且治疗周期长带来的副作用往往不易为患者所接受。因此,选用新的非药物性手段预防或延缓骨质丢失有很大实际意义。生物物理疗法以其独特的优势正越来越多地引起人们的重视并被用于实践,复合脉冲电磁场(PEMFs)就是属于生物物理干预的一种手段,本实验采用自制的复合脉冲电磁场治疗仪观测对去势大鼠骨质疏松的预防作用。

材料和方法

1. 动物模型制备及分组:清洁级三月龄SD雌性大鼠(由同济医科大学实验动物中心提供),体重210~240g,随机分为4组,每组5只:正常对照组(N)、去卵巢对照组(O)、去卵巢加雌激素组(阳性对照组,E)、去卵巢加磁疗组(EM)。所有动物在相同条件下饲养,自由摄食(饲料由同济医科大学实验动物中心提供)和饮水。E组去卵巢后次日起后腿部皮下注射苯甲酸雌二醇0.5mg/kg(上海第九制药厂,批号971108),1次/2周;其他各组肌肉注射生理盐水0.2ml,1次/2周;EM组去卵巢后次日起用自制PEMFs治疗仪行磁疗(由武汉工业大学协助研制,电

作者单位:430022 武汉市第四医院(柯丽);同济医科大学协和医院(陈璐璐、曹天舒、夏文芳、周慧);上海杨浦区中心医院(涂意辉)

磁场频率 50Hz, 强度 10~20GS, 1h/d, 磁疗中心部位为腰椎, 作用范围直径 10cm。8 周后, 1% 戊巴比妥钠 0.2ml/100g 腹腔麻醉放血处死全部大鼠, 取子宫称湿重, 取股骨和腰椎(L₂—L₄)用于以下测试。

2. 骨密度测定: 取 L₂ 切除棘突、横突等附件组织, 用 Lunar 双能 X 线骨密度仪小动物软件检测骨密度(BMD)。

3. 生物力学测定: 分离出股骨和 L₄, 去除附着组织, 股骨去除近侧端关节软骨。椎骨须进行如下处理: 仔细去除棘突、横突和关节突起(操作中避免损害椎体皮质外壳, 因后者与其生物力学特性有密切关系), 将椎骨标本制备成具有两个平行平面的圆柱体。将处理好的股骨和 L₄ 浸于生理盐水, 次日用美国 MTS 陶瓷试验系统(美国 MTS 公司)测定生物力学。股骨行三点弯曲试验(加载速率 2mm/min, 跨距 20mm), 测定最大抗拉强度; 椎骨行压缩试验(加载速率 1mm/min), 测定最大抗压强度。

4. 形态学检查: L₂ 用 4% 多聚甲醛固定一 d, 次日换为 10% EDTA 脱钙半月, 石蜡包埋制成切片, HE 染色, 显微镜下观察。

5. 统计学处理: 各参数值用均数和标准差($\bar{x} \pm s$)表示。t 检验用于组间差异的比较, $P < 0.05$ 为显著性水平。

结 果

1. 子宫湿重: 如表 1 所示, O 组子宫重量显著减轻, 应用雌激素后子宫重量明显增加, 接近正常, 而 EM 组子宫湿重与 O 组近似, 表明 PEMFs 对子宫湿重无影响。

表 1 大鼠子宫湿重($\bar{x} \pm s$)

分组	样本数	子宫湿重(g)
N	5	0.42 ± 0.05
O	5	0.16 ± 0.03 [*]
E	5	0.35 ± 0.05 ^{*△}
EM	5	0.18 ± 0.07 ^{*△}

注: 与 N 组相比较^{*} $P < 0.01$; 与 O 组相比较[△] $P < 0.01$; 与 E 组相比较[△] $P < 0.01$

2. 骨密度: EM 组骨密度较 O 组显著增加($P < 0.01$), 与 E 组比较无显著差异, 但仍不及 N 组($P < 0.05$)。结果见表 2。

3. 生物力学: 椎骨最大抗压强度测定结果显示 O 组较其他各组显著低下($P < 0.01$); 应用 PEMFs

后最大抗压强度明显增加, 优于 O 组和 E 组($P < 0.01$), 并接近正常。股骨最大抗拉强度 O 组明显下降, 经 PEMFs 治疗后抗拉强度不仅维持, 甚至略高于正常($P < 0.01$), 雌激素替代效果则不及 PEMFs($P < 0.01$)。如表 2 所示。

表 2 PEMFs 对大鼠骨密度、椎骨最大抗压强度、股骨最大抗拉强度的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	腰椎骨密度	椎骨最大抗压强度	股骨最大抗拉强度
N	5	0.239 ± 0.007 [*]	169.2 ± 4.951 [*]	98.22 ± 4.597 [*]
O	5	0.215 ± 0.002	125.3 ± 6.405	76.82 ± 3.672
E	5	0.228 ± 0.008 [△]	151.3 ± 8.279 [△]	94.5 ± 2.295 [*]
EM	5	0.229 ± 0.004 [△]	172.8 ± 7.847 ^{**}	106.94 ± 2.241 ^{△*}

注: 与 O 组相比较^{*} $P < 0.01$; 与 N 组比较[△] $P < 0.01$; ^{△△} $P < 0.05$; 与 E 组相比较^{*} $P < 0.01$

4. 骨组织形态学观察: 如图 1, 2 所示, 与 N 组相比, 去卵巢大鼠骨小梁明显减少、变细、结构紊乱, 小梁间联结减少, 游离末端增加, 骨髓腔扩大。E 组骨小梁较多、较粗、分布有序, 接近正常(图 3); EM 组骨小梁与 O 组相比明显增多、增粗且分布有序, 相互连接成网, 小梁间联结增多, 难见游离末端, 骨髓腔面积亦显著减少, 其骨小梁数目及厚度更甚于 N 组和 E 组(图 4)。

讨 论

目前绝经后 OP 防治中备受关注且疗效确切的治疗方案是雌激素替代疗法, 它能够防止绝经后骨矿进行性丢失, 减少 OP 骨折的危险性。然而雌激素替代治疗有导致乳房胀痛、阴道出血, 增加乳腺癌和子宫内膜癌的危险性, 同时雌激素的使用需维持多长时间也是有待解决的问题, 所以对其临床应用仍存疑虑。因此探索防治 OP 的新途径十分必要。

电磁技术在骨病治疗中的应用, 已经历了多年的探索。1953 年 Yasuda^[1]首次发现骨的压电效应, 即骨受到机械压力后由于胶原变形而将机械能转化为电能, 产生应力电位, 自此人们开始认识到机械力、生物电和骨细胞行为三者之间互有关联。大量研究表明, PEMFs 对延期愈合和不愈合的骨折确有疗效, 对先天性假关节病、关节固定术等骨病均有不同程度的治疗意义。1989 年, Bassett^[2]总结了半个世纪以来的研究成果, 肯定了 PEMFs 的效果, 并用 Wolff 定律归纳了其机理, 认为生物电在骨的代谢和重建中有十分重要的意义, 预言 PEMFs 将可能对 OP

产生影响。因而近年来一些国外作者将电磁信号作

用于动物模型来防止骨量丢失,但至今报道不多。



图1 正常对照组骨组织形态学观察(40倍)



图2 去卵巢组骨组织形态学观察(40倍)



图3 雌激素组骨组织形态学观察(40倍)

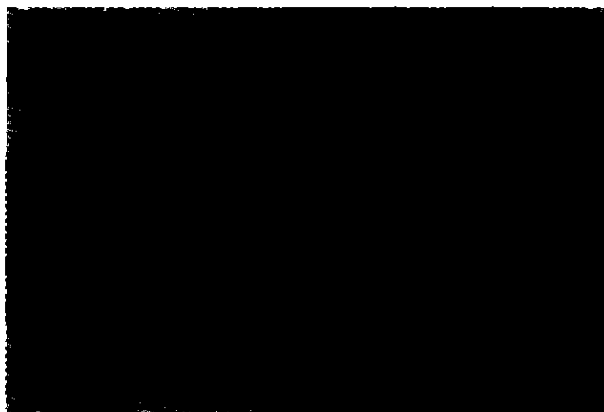


图4 磁疗组骨组织形态学观察(40倍)

本实验以去卵巢大鼠为绝经后 OP 模型,旨在探讨 PEMFs 对 OP 的预防作用,并与雌激素相比较。本研究观察到去卵巢术后 8 周,大鼠骨密度及生物力学性能均明显下降,骨组织形态学可见骨显微结构出现了病理改变,与国外文献报道一致^[3],表明造模成功,也印证了去卵巢后由于雌激素水平降低的直接和间接作用导致 OP 这一被广泛接受的理论。雌激素替代治疗使骨密度及生物力学性能均较 O 组明显提高,骨结构得到了一定程度的改善,但尚未恢复到正常水平,证实雌激素对于延缓去卵巢后 OP 的发生确有一定效果。

不同的电磁场强度和频率有不同的生物效应,如果外加电场的频率接近功能活动产生的内在电场频率,它就会产生最大的骨细胞反应,所以低频磁场能有效地预防骨丢失,促进新骨形成^[4]。Bilotta 研究发现 30GS PEMFs 能维持去势大鼠的脊椎骨密度、股骨灰重和血液生化指标,减慢骨丢失,而 70GS 预

防骨丢失能力下降^[5]。我们的结果与其类似,EM 组骨密度、椎骨最大抗压强度及股骨最大抗拉强度较 O 组显著改善。有趣的是 PEMFs 和苯甲酸雌二醇恢复骨量的能力相似,但二者在改善骨力学性能方面却存在差异——PEMFs 优于雌激素。由此可见,骨密度与骨强度的改变并不完全一致。大量动物实验和临床研究结果也证明了这一点,例如氟化物可以保持甚至增加骨量,但骨折危险度反而上升^[6]。因此,骨力学参数才是反映骨质量可靠的指标,骨力学强度下降,主要机理不仅为骨量丢失,还有骨正常结构布局合理性遭到了破坏,反之亦然。雌激素可抑制骨吸收,保持骨量,刺激去卵巢大鼠骨小梁形成,保持骨小梁体积,但对骨强度没有明显改善^[7]。而 PEMFs 之所以改善了骨生物力学性能,可能在于它优化骨结构以提高骨质量,光镜下所见 EM 组骨小梁的分布与宽度明显优于 O 组,甚至超过 N、E 组也证实了这点。从这种意义上来说,PEMFs 预防 OP

的作用优于雌激素。

值得注意的是,磁场作用部位为腰椎,但股骨生物力学的改善程度大于腰椎。椎骨含有较多松质骨,而股骨干以皮质骨为主,可能与两者的结构力学和材料力学特性不同有关,推测 PEMFs 对皮质骨的影响较大,其机制有待于进一步研究证实。

综上所述,PEMFs 能够延缓去势大鼠 OP 的发生,其作用表现在(1)椎体 BMD 测定结果表明 EM 与雌激素相仿,对去卵巢后松质骨的丢失有一定的预防作用,但不能使其达正常水平。(2)PEMFs 改善了去卵巢大鼠股骨和椎骨的生物力学性能,该作用优于雌激素。(3)形态学观察,EM 组骨小梁分布与宽度明显优于 O 组,也超过 N、E 组。与雌激素不同的是,它主要通过提高骨质量来预防 OP,且对动物子宫无刺激效应,如果将其应用于人,则生物力学的提高可能会降低骨折的危险度,因而是颇具潜力的预防骨质疏松的方法。

尚不清楚电磁信号是如何引起骨中细胞行为改变从而发挥成骨效应的,可能的解释是(1)影响生物分子的合成:Binderman^[5]发现成骨细胞(OB)暴露于 3Hz 电磁场中,其 DNA 和 cAMP 的合成同步升高;(2)影响激素和局部生长因子:PEMFs 可以增加 OB 表面胰岛样生长因子 II 受体而促进 OB 增殖^[6];(3)增加钙内流,调节胞内钙离子浓度,借钙离子的第二信使作用而改变细胞行为^[9];(4)直接促进 OB 增殖与分化^[10]。本实验结果初步证实 PEMFs 能预防去势大鼠 OP,但其机制有待进一步研究,其潜在的副

作用还需要观察。

参考文献

- 1 Yasuda I. Fundamental aspects of fracture treatment. J Kyoto Med Soc. 1953;4:395.
- 2 Bassett CAL. Fundamental and practical aspects of therapeutic uses of pulsed electromagnetic fields. CRC Crit Rev Biomed Eng, 1989, 17: 451.
- 3 Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, et al. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. Bone, 1994, 15: 523.
- 4 Binderman I, Somjen D, Shimehoni Z, et al. Stimulation of skeleton-derived cell culture by different electric field intensities is cell specific. Biochim Biophys Acta, 1985, 844: 273.
- 5 Bilotta TW, Zato A, Gaudi S, et al. Electromagnetic fields in the treatment of postmenopausal osteoporosis: an experimental study conducted by densitometric, dry ash weight and metabolic analysis of bone tissue. Chir Organi Mov, 1994, 79: 309.
- 6 Sjøgaard CH, Mosekilde L, Schwartz W, et al. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. Bone, 1995, 16: 163.
- 7 刘忠厚, 主编. 骨质疏松学. 第二版. 北京: 科学出版社, 1998: 119.
- 8 Fitzsimmons RJ, Ryaby JT, Magee FP, et al. IGF- II receptor number is increased in TE-85 osteosarcoma cells by combined magnetic fields. J Bone Miner Res, 1995, 10: 812.
- 9 Fitzsimmons RJ, Ryaby JT, Magee FP, et al. Combined magnetic fields increased net calcium flux in bone cells. Calcif Tissue Int, 1994, 55: 376.
- 10 Davidovitch Z, Finkelson MD, Steigman S, et al. Electric currents, bone remodeling and orthodontic tooth movement. The effect of electric currents on periodontal cyclic nucleotides. Am J Orthop, 1980, 77: 14.