

低强度脉冲电磁场对去卵巢大鼠不同部位骨密度的影响

李志锋 程国政 翟远坤 陈克明 韦哲 白孟海 赵红斌

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)12-0882-04

摘要:目的 探讨低强度脉冲电磁场(PEMFs)对去势雌性大鼠不同部位骨密度的影响。方法 30 只 10 月龄雌性 SD 大鼠随机分为 3 组:一组去势造模(造模组),另一组行假手术(空白组),第三组去势造模后暴露于 50 Hz、0.16 mT 的磁场环境下 60 min/d,共 90 天(磁疗组)。实验期间动态观察大鼠全身及颅骨骨密度,期满处死后测定血清雌二醇水平及骨密度。结果 ①空白组雌激素水平和子宫系数均显著高于其他两组($P < 0.01$);②至 60 天时,空白组、磁疗组的颅骨骨密度显著高于造模组($P < 0.05$),全身骨密度在 90 天时才出现统计学意义($P < 0.05$);③与空白组和磁疗组相比,造模组椎体骨密度($P < 0.01$)比腰椎骨密度($P < 0.05$)差异更显著,磁疗组股骨骨密度虽较造模组有所上升但差异未达到统计学意义。结论 全身骨密度与颅骨骨密度结合可有效评估大鼠活体骨密度动态变化;PEMFs 对因去势造成的骨密度下降有明显抑制作用,且对不同部位骨密度影响程度不同;采用去椎弓的单一椎体为骨密度衡量点能更为敏感的反映治疗效果。

关键词: 脉冲电磁场;去势大鼠;骨密度

DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2009.12.003

Effect of low intensify pulsed electromagnetic fields on bone mineral density of different anatomic region in ovariectomized rats Li Zhifeng, CHENG Guozheng, ZHAI Yuankun, et al. The Institute of Traumatology and Orthopedics, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, China

Abstract: **Objective** To explore the effect of low intensify pulsed electromagnetic fields on bone mineral density of different anatomic region in ovariectomized rats. **Methods** Thirty 10-month-old female Sprague-Dawley rats were randomly divided into three different groups: ovariectomized control group (OVX group), normal control group (SHAM group) and pulsed electromagnetic fields exposing group (PEMFs group). All rats were subjected to bilateral ovariectomy except those in SHAM group, and the PEMFs group were exposed to pulsed electromagnetic fields with frequency 50 Hz, peak magnetic induction density 0.16 mT and exposure time 60 minute per day. In the experimental period, bone mineral density (BMD) of general and cranioaural BMD were observed dynamically, eventually, the level of estradiol and the BMD were measured. **Results** ① In the SHAM group, the level of estradiol and the coefficient of uterus were significantly higher than other two groups ($P < 0.01$); ② Compared with SHAM group and PEMFs group, the cranioaural BMD of OVX group were decreased significantly on the 60th day ($P < 0.05$), while the significantly difference of general BMD was detected until the 90th day ($P < 0.05$); ③ The difference in centrum vertebrae BMD of OVX group were more markedly than in lumbar vertebrae of BMD compared with SHAM group and PEMFs group, the femoral BMD of PEMFs group rose compared with OVX group, but the distinction did not reach the statistical significance. **Conclusion** Combining general BMD with cranioaural BMD can accurately assess dynamic variation on the BMD of alive rats; This pulsed electromagnetic fields could suppress the reduction of BMD conspicuously in bilateral ovariectomized rats, at the same time, they have different effect on BMD of different anatomic region; It will reflect the changes in bone masses with good precision by measuring the pyramidal BMD.

基金项目: 甘肃省科技计划资助项目(092NKDA025)

作者单位: 730050 甘肃 兰州军区总医院骨研所

通讯作者: 陈克明, Email: chkeming@yahoo.com.cn

Key words : Pulsed electromagnetic fields ; Ovariectomized rat ; Bone mineral density

骨质疏松作为一种退行性骨骼疾病 ,已成为全球性健康问题 ,严重性仅次于心血管病^[1]。目前 ,对骨质疏松症的治疗主要包括雌激素替代疗法、双膦酸盐、活性维生素 D、降钙素、氟化物和钙剂等^[2] ,但疗效仍存在争议 ,尤其是雌激素替代疗法被发现具有增加乳腺癌的发病几率后 ,广大医患人员便致力于寻找一种更为安全、有效的骨质疏松治疗方法。

脉冲电磁场作为一种非侵入式物理疗法在治疗骨不连和促进骨愈合等骨科领域得到了广泛的研究^[3-5]。近年来 ,脉冲电磁场因其无创伤、无感染、治疗简便、副作用小等优点已被广泛应用于骨质疏松实验研究和临床治疗。由于在发生骨质疏松时 ,不同骨骼部位或骨结构不同的区域骨量丢失的时间和速度并不一致^[6] ,笔者系统研究了 50 Hz、0.16 mT 脉冲电磁场对去势雌性大鼠活体骨密度及不同部位骨密度的影响 ,以期为衡量脉冲电磁场防治骨质疏松疗效提供科学依据和方法。

1 材料与方法

1.1 脉冲电磁场发生装置

实验采用自制脉冲电磁场骨质疏松治疗系统 ,该系统采用的变异亥姆霍兹线圈 ,可提供比亥姆霍兹线圈更为均匀的磁场环境^[7]。经高斯计和示波器测得实验所用磁场为 50 Hz ,0.16 mT 的脉冲电磁场 ,治疗系统运行期间磁场环境均匀、稳定。

1.2 动物分组、造模与干预

30 只体重为(286 ± 12) g 的 10 月龄雌性 SD 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 ,控制食量(20 ± 1) g/d ,自由饮水 ,每 10 天称重 1 次。按随机分组原则分为 3 组 ,一组行双侧卵巢切除术(造模组 ,OVX) ,另一组行假手术(空白组 ,SHAM) ,第三组行双侧卵巢切除术后 3 天开始用 50 Hz、0.16 mT 的脉冲电磁场进行预防性治疗 ,60 min/d ,为期 90 天(磁疗组 ,PEMFs)。造模组和空白组也相继置于不通电的治疗系统圈体内 60 min/d ,共 90 天。

1.3 标本制备与指标检测

分别在 30、60、90 天时将大鼠用 1% 戊巴比妥钠(3 ml/kg)腹腔注射麻醉 ,待其呈稳定麻醉状态 ,置于双能 X 线骨密度仪(GE Lunar-Prodigy)下 ,以腰椎为轴线放置后 ,应用小动物分析软件测定全身骨密度 ,并以颅骨为感兴趣区观察颅骨骨密度。各次测量均

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。90 天时处死大鼠 ,处死前行股动脉穿刺采集血液标本 ,采用大鼠专用酶联免疫试剂盒(USCNLIF SCIENCE AND TECHNOLOGY COMPANY ,Catalog NO. E0696r)测定血清雌二醇水平。动物处死后 ,分离子宫并精确称重 ,计算子宫系数(子宫重量/体重)。解剖取出第二腰椎和右侧股骨 ,剔净软组织后进行骨密度测定。第二腰椎测定结束后 ,去椎弓用纱布磨成规则的长方形 ,再次测量 ,记为椎体骨密度。

1.4 统计学处理

所有统计分析均采用 SPSS 13.0 统计软件完成 ,结果均以“ 均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$)”表示。首先用方差分析来检验各组间差异是否有显著性 ,当差异存在显著性时 ,再用多参数 *t* 检验来检验各均数间差异是否有显著性。以 *P* < 0.05 为显著差异 ,*P* < 0.01 为极显著差异。

2 结果

2.1 子宫系数与血清雌二醇水平

如表 1 所示 ,空白组子宫系数、雌二醇水平显著高于造模组和磁疗组(*P* < 0.01) ,而造模组与磁疗组相比 ,子宫系数和雌二醇水平差异无统计学意义(*P* > 0.05)。表明去势造模手术成功。

表 1 预防性治疗 90 天后子宫系数与雌二醇水平测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	N	子宫系数(mg)	雌激素(pg/ml)
SHAM 组	10	5.921 ± 0.002 ^{##}	6.32 ± 0.33 ^{##}
OVX 组	10	1.345 ± 0.003 ^{**}	2.83 ± 0.28 ^{**}
PEMFs 组	10	1.387 ± 0.003 ^{**}	2.87 ± 0.28 ^{**}

注 :与 SHAM 组比较 ,* *P* < 0.05 ,** *P* < 0.01 ;与 OVX 组比较 ,# *P* < 0.05 ,## *P* < 0.01

2.2 全身骨密度

预防性治疗 30、60 天时 ,3 组间全身骨密度差异均无统计学意义 ;第 90 天测定时发现 ,造模组骨密度与磁疗组差异呈现显著性(*P* < 0.05) ,见表 2。

2.3 颅骨骨密度

表 3 显示 3 组间颅骨骨密度变化情况。在预防性治疗 30 天时差异无显著性 ,60 天时 ,造模组颅骨骨密度显著下降(*P* < 0.05) ;至第 90 天时 ,造模组颅骨骨密度再次下降 ,与磁疗组有显著性差异(*P* < 0.05)。

表 2 预防性治疗 30、60、90 天时全身骨密度结果
($\bar{x} \pm s$,g/cm²)

组别	N	全身骨密度 (30 天)	全身骨密度 (60 天)	全身骨密度 (90 天)
SHAM 组	10	0.160 ± 0.009	0.162 ± 0.008	0.160 ± 0.007 [#]
OVX 组	10	0.154 ± 0.009	0.153 ± 0.002	0.151 ± 0.008 [*]
PEMFs 组	10	0.156 ± 0.0115	0.155 ± 0.010	0.160 ± 0.008 [#]

注 与 SHAM 组比较 ,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与 OVX 组比较 ,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

表 3 预防性治疗 30、60、90 天时颅骨骨密度结果
($\bar{x} \pm s$,g/cm²)

组别	N	颅骨骨密度 (30 天)	颅骨骨密度 (60 天)	颅骨骨密度 (90 天)
SHAM 组	10	0.254 ± 0.010	0.257 ± 0.008 [#]	0.259 ± 0.007 [#]
OVX 组	10	0.247 ± 0.009	0.242 ± 0.144 [*]	0.241 ± 0.140 [*]
PEMFs 组	10	0.243 ± 0.018	0.247 ± 0.160	0.255 ± 0.125 [#]

注 与 SHAM 组比较 ,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与 OVX 组比较 ,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

2.4 局部骨密度

造模组腰椎骨密度下降显著($P < 0.01$),经磁疗后 ,腰椎骨密度显著上升($P < 0.05$);去椎弓后 ,造模组的椎体骨密度与磁疗组的差异更为显著($P < 0.01$) ,且磁疗组的椎体骨密度基本恢复到空白组水平。就股骨骨密度而言 ,空白组与造模组之间差异呈显著性 ,磁疗组虽较造模组有所上升但差异未达到统计学意义(见表 4)。

表 4 预防性治疗 90 天后局部骨密度结果($\bar{x} \pm s$,g/cm²)

组别	N	L ₂ 腰椎骨密度	L ₂ 椎体骨密度	股骨骨密度
SHAM 组	10	0.120 ± 0.007 ^{##}	0.060 ± 0.004 ^{##}	0.136 ± 0.010 [#]
OVX 组	10	0.107 ± 0.006 ^{**}	0.051 ± 0.002 ^{**}	0.126 ± 0.006 [*]
PEMFs 组	10	0.117 ± 0.011 [#]	0.059 ± 0.008 ^{##}	0.133 ± 0.008

注 与 SHAM 组比较 ,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与 OVX 组比较 ,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

3 讨论

Giordano 等^[8]发现不同强度和频率的电磁场具有不同的生物效应 ,当外加电场的频率接近机体功能活动产生的内在频率才会产生最大生物学效应。潘子昂等^[9]认为脉冲电磁场的成骨效应明显集中在 75 Hz 以下频段 40 ~ 60 Gs 时即可产生较好的治疗作用。本研究采用的 50 Hz、0.16 mT 的脉冲电磁场能显著提高去势大鼠全身及颅骨骨密度 ,有效逆转造模后椎体的骨密度下降 ,说明所采用的脉冲电磁场对因去势而造成的骨量丢失有很好疗效 ,可作为

脉冲电磁场防治骨质疏松的有效参数。

Dobrowolski 等^[10]的研究表明 ,胃切除术可导致大鼠颅骨、小梁骨及皮质骨的丢失 ,通过分析颅骨、股骨、胫骨的骨密度可有效评价胃切除术对大鼠骨量的影响。与投照面积相比 ,颅骨体积所占比例最高 ,颅骨的单位面积骨密度也就最高^[11] ,相较其他评估部位而言 ,颅骨骨密度在全身骨密度中占有很大比例 ,因此 ,尽管全身骨密度的检测可以对骨骼状况进行系统评价 ,但其对骨密度变化的敏感性可能不如颅骨骨密度。然而 ,以颅骨骨密度变化作为衡量骨质疏松程度的相关研究尚未见报道。本实验研究发现 ,用脉冲电磁场对切除卵巢大鼠行预防性治疗时 ,发现全身骨密度在治疗前期改变并不明显 ,而颅骨骨密度则先于全身骨密度发生变化。综合衡量全身骨密度和颅骨骨密度结果 ,可能在评估大鼠活体骨密度的动态变化时更为有效。另外 ,通过对局部骨密度的测定发现 ,去势后骨密度的丢失速度为腰椎大于股骨 ,且采用去椎弓的单一椎体为骨密度衡量点能更为敏感地反应治疗效果 ,此结论与邢小平等^[12]研究 DXA 测定大鼠离体骨骨密度的研究结果类似。

总之 ,笔者通过观察极低强度脉冲电磁场作用下去势雌性大鼠全身及颅骨骨密度的动态变化 ,并全面分析了其对股骨、腰椎及椎体等不同部位骨密度的影响 ,认为经脉冲电磁场进行预防性治疗可从一定程度上提高去势大鼠的骨密度 ,结合全身骨密度与颅骨骨密度结果可更有效的评估大鼠活体骨密度的动态变化 ,采用去椎弓的单一椎体为局部骨密度衡量点能更为敏感地反应治疗效果。本研究结论可为脉冲电磁场预防绝经后骨质疏松的临床应用提供参考依据。

【 参 考 文 献 】

[1] Management of osteoporosis in postmenopausal women :2006 position statement of The North American Menopause Society . Menopause , 2006 ,13 (3) 340-367 .
[2] Liu ZH . Osteoporosis . Beijing Science Press ,1998 (in Chinese) .
[3] Yasuda I ,Noguchi K ,Sata T . Mechanical callus and electrical callus . J Jpn Ort hop Assoc ,1954 ,28 :267-268 .
[4] Friedenber g ZB ,Harlow MC ,Brighton CT . Bioelectric potentials in bone . J Bone Joint Surg ,1966 ,48 (5) 915-923 .
[5] Bassett CA ,Pilla AA ,Pawluk RJ . A non-operative salvage of surgically-resistant pseudart hroses and non-unions by pulsing electromagnetic fields :A preliminary report . Clin Ort hop Relat Res , 1977 (124) :128-143 .

- [6] Lu ZY ,Liao EY , Wu XP ,et al. Effect of ovariectomy on bone mineral density in rats. Chin J Osteoporos ,2002 ,8(1) :13-15 (in Chinese).
- [7] Wei Z ,Cheng ZF ,Bai MH. Development and clinical application of osteoporosis therapy system. China Medical Equipment ,2008 ,3 :22-24 (in Chinese).
- [8] Giordano N ,Battisti E ,Geraci S ,et al. Effect of electromagnetic fields on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in osteoporosis :a single-blind ,randomized pilot study. Curr Ther Res Clin Exp ,2001 ,62(3) :187-193.
- [9] Pan ZA ,Li FG ,Liu ZH. Pulsed electromagnetic fields therapy and its application in preventing and curing osteoporosis. Chin J Osteoporos , 2005 ,11(3) :384-386 (in Chinese).
- [10] Dobrowolski PJ , Piersiak T , Surve VV , et al. Dietary alpha-ketoglutarate reduces gastrectomy-evoked loss of calvaria and trabecular bone in female rats. Scand J Gastroenterol ,2008 ,43(5) : 551-558.
- [11] Pei FX ,Liu Y. Nutritional aspects of osteoporosis. Beijing :People's Medical Publishing House ,2009 (in Chinese).
- [12] Xin XP ,Meng XW ,Cheng ZQ. Precision of rat BMD measurements by dual-energy X-ray absorptiometry *in vitro*. Acta Academiae Medicinae Sinicae ,2002 ,24(3) :302-305 (in Chinese).

(收稿日期 :2009-07-21)