

· 论 著 ·

不同强度正弦交变电磁场对大鼠骨生物力学性能的影响

高玉海 陈克明* 葛宝丰 周建 马小妮 李少锋

兰州军区兰州总医院骨科研究所,兰州 730050

中图分类号: R244, R318, R311 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014) 10-1170-05

摘要: **目的** 研究 50 Hz 不同强度正弦交变电磁场 (sinusoidal electromagnetic fields, SEMFs) 对大鼠骨生物力学性能的影响。**方法** 24 只 6 周龄雌性 SD 大鼠适应性喂养 1 w 后,随机等分为 3 组:正常对照组;0.1 mT SEMFs 组;0.6 mT SEMFs 组。除对照组外,分别给予各 SEMFs 组 3h/d 的磁场干预,8w 后双能 X 骨密度仪检测全身骨密度后处死,分离骨组织于 AG-X 系列台式电子万能试验机检测左侧股骨和椎骨生物力学指标,micro-CT 扫描并分析右侧股骨骨微结构形态改变。剥离心、肝、脾、肺、胃、肾、肾上腺和子宫称重,计算器官指数,并做常规病理学检测。**结果** 各组大鼠脏器的器官指数均无明显差异,病理学观察未见异常改变。与对照相比,50Hz 0.1mT 正弦交变电磁场组全身骨密度、股骨最大载荷、弹性模量、屈服强度、第 4 腰椎最大载荷、弹性模量以及 micro-CT 扫描股骨得出的骨形态参数中相对骨体积、骨小梁数量和厚度均有极显著增加 ($P < 0.01$),骨小梁分离度极明显低于对照组 ($P < 0.01$);50Hz 0.6mT 正弦交变电磁场组与对照相比无统计差异。**结论** 说明 50 Hz 0.1 mT 电磁场能增加 SD 大鼠骨密度,改善骨组织微结构,有效提升骨生物力学性能,降低骨质疏松骨折发生的风险。

关键词: 正弦交变电磁场;骨密度;骨生物力学;大鼠

Effect on different intensity of sinusoidal electromagnetic fields on the biomechanical properties in rats

GAO Yuhai, CHEN Keming, GE Baofeng, ZHOU Jian, MA Xiaoni, LI Shaofeng

Institute of Orthopaedics, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China

Corresponding author: CHEN Keming, Email: Chkeming@126.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of the different intensity of 50 Hz sinusoidal electromagnetic fields (SEMFs) on the biomechanical properties in rats. **Methods** Twenty-four 6-week-old female SD rats were fed for 1 week. They were randomly divided into 3 groups: normal control group, 0.1 mT SEMFs group, and 0.6 mT SEMFs group. Except to rats in the control group, rats in other groups were given SEMFs for 3h every day. After 8 weeks, bone mineral density (BMD) of the whole body was measured using dual-energy X-ray absorptiometry. Bilateral femurs and the tibia were collected. The biomechanical properties of the left femurs and the vertebrae were tested using an AG-X multifunctional detector. The microstructure of the right femurs was scanned and analyzed using μ -CT. The heart, the liver, the spleen, the lung, the stomach, the kidney, the adrenal gland, and the uterus were all collected and weighed. The organ index was calculated and the routine pathological detection was performed. **Results** The organ index of all the organs showed no significant difference, and the pathological observation also showed no abnormal changes. Comparing to those in control group, the whole body BMD, femur maximum load, elastic modulus, yield strength, the fourth lumbar maximum load, elastic modulus, and bone volume, trabecular number and thickness from micro-CT scans increased significantly in 50 Hz 0.1mT SEMFs group ($P < 0.01$). Trabecular separation in 50 Hz 0.1mT SEMFs group was significantly lower than that in control group ($P < 0.01$). No statistical difference was found between 50Hz 0.6mT SEMFs group and control group. **Conclusion** 50 Hz 0.1 mT SEMFs can effectively increase BMD, improve the bone microstructure organization and the biomechanical properties, and reduce the risk of osteoporotic fractures.

Key words: SEMFs; BMD; Biomechanics; Rats

骨质疏松是一种常见的骨骼疾病,其特征是骨量丢失和骨微结构的劣化,骨质量降低而常导致增加骨折的风险^[1,2]。生物力学是根据已经确立的力学原理来研究生物体中力学问题,将物理学及应用数学的概念和方法用到生物体中评价生命现象的学科^[3]。骨生物力学的研究不但有助于对骨质量进行评价,而且可作为评价药物作用的指标^[4]。低频电磁场作为一种生物物理疗法为 OP 预防性治疗提供了新方法,通过改变骨微结构,增加骨量,促进骨形成,从而预防骨质疏松的发生几率,并且具有操作简单,副作用小,成本低等特点越来越成为国内外广泛学者的研究热点^[5,6]。实验和临床证实,低频电磁场能防止骨量丢失,预防性的治疗 OP,但不同的磁场参数组合对骨量的增加及骨组织微结构的改变参差不齐^[7,8]。本文通过对不同磁场强度干预 SD 大鼠,检测其大鼠骨密度,通过探究其对骨生物力学性能及骨组织微结构的不同影响,进一步从生物力学性能方面探究其增加骨质量、改善骨组织微结构的作用机理,为骨质疏松的预防性研究寻找新方法。

1 材料和方法

1.1 主要仪器及药品

水合氯醛(天津大茂化学试剂公司,中国),双能 X 骨密度仪(GE 公司,美国),AG-X 系列台式电子万能试验机(岛津公司,日本),实验动物微型 CT 影像系统(西门子 Inveon,德国)。

1.2 正弦交变电磁场发生仪

由本实验组、中国近代物理研究所以及兰州理工大学信息工程学院共同研制,经中国人民解放军兰州军区医学计量测试研究站测定表明,电磁发生仪运行期间磁场环境均匀稳定,报告编号:医计磁字 ccqd. 2008-01。

1.3 实验设计

6 周龄 SPF 级 SD 雌性大鼠 24 只,体重(125 ± 10)g 购于甘肃中医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(甘)2011-0001。适应喂养 1w 后,随机等分为 3 组:正常对照组,0.1 mT SEMFs 组,0.6 mT SEMFs 组。分别给予各 SEMFs 组 50 Hz 0.1 mT 和 0.6 mT 的磁场强度,两组磁场干预时间均为 3h/d,干预时间为每天 9:00 ~ 15:00。各组大鼠均单笼饲养,自由进食标准类饲料和饮用纯净水,饲养温度 22 ± 2 °C,湿度 60% ~ 70%。动物处死后迅即剥离出心、肝、脾、肺、胃、肾、肾上腺和子宫,称重,计算器官指数,常规切片,HE 染色,由高年资深病理医师

进行病理学观察与评价。

1.4 检测项目

1.4.1 骨密度的测定:连续 8w 磁场干预后,用 10% 的水合氯醛腹腔注射,剂量为 3 mL/kg,大鼠麻醉后用双能 X 射线骨密度仪检测全身骨密度。大鼠处死后,分离骨组织,剔除软组织,左侧股骨及椎骨迅速用 0.9% 的 NaCl 浸泡过的纱布包裹保存于 -20 °C 冰箱。右侧股骨用 70% 的酒精保存于玻璃瓶中用于后期显微 CT 的分析检测,

1.4.2 三点弯曲试验:三点弯曲试验是长骨骨皮质的常用指标。试验前 1 天,将保存于 -20 °C 冰箱的股骨取出,自然解冻。将股骨置于 AG-X 系列台式电子万能试验机上进行三点弯曲试验,支点跨距 17 mm,中点为加压点,加载速度为 2 mm/min,计算机记录载荷-位移曲线,应用 C 语言编程处理载荷变形曲线得出骨生物力学指标值,包括最大载荷、弹性模量,屈服强度。

1.4.3 压缩试验:压缩试验是测量松质骨骨质量的有效方法。取大鼠 L₄ 椎去除椎体附件及两端椎间盘,砂纸磨平椎体两底面,使两面平行且与椎体垂直。将标本置于钢制平台上,保持椎体上西面水平,下表面紧贴于不锈钢,加载方向与不锈钢表面垂直,加载速度为 2 mm/min,压缩以过最大载荷为限,计算机记录载荷-位移曲线,应用 C 语言编程处理载荷变形曲线得出骨生物力学指标值,包括最大载荷、弹性模量,屈服强度。

1.4.4 micro-CT 成像分析:将右侧股骨用小动物微型 CT 影像系统成像分析,分析区域选择在骨骺线中间 1 mm 处往下 2 mm 的区域。利用显微 CT 系统软件对所选区域进行 3D 重建,并利用该软件进行骨微结构分析,得出 3D 重建效果图,最大剖面图及骨形态参数包括相对骨体积(bone volume/tissue volume, BV/TV)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb. Th)、骨小梁数量(trabecular number, Tb. N)、骨小梁分离度(trabecular spacing, Tb/Sp)。

1.5 统计学处理

统计分析均采用 SPSS16.0 软件完成,所有检测数据表示均用均数 ± 标准差,不同组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较用 LSD 检验法。 $P < 0.05$ 为显著差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同强度 SEMFs 对脏器系数及病理学的影响
电磁场组对子宫的脏器系数有平均值增加的现

象,但与对照相比并无统计学差异,其余各器官指数均无明显变化($P>0.05$);有经验的高深病理医师进行病理学观察也未见异常改变。

2.2 不同强度 SEMFs 对大鼠全身骨密度的影响

与对照相比,0.1 mT SEMFs 组全身骨密度有极显著差异($P<0.01$);0.6 mT SEMFs 组全身骨密度无统计差异性(表 1)。说明 50 Hz 0.1 mT 正弦交变电磁场能提高大鼠骨密度。

表 1 不同强度正弦交变电磁场干预 SD 大鼠对其全身骨密度的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 The effect of different-intensity of sinusoidal electromagnetic fields effect on the whole body BMD ($\bar{x}\pm s, n=8$)	
分组	全身骨密度 (g/cm ²)
对照	0.1463 ± 0.0046
0.1 mT	0.1565 ± 0.0056 **
0.6 mT	0.1491 ± 0.0074

注: ** $p<0.01$ vs control

2.3 不同强度 SEMFs 对大鼠骨生物力学参数的影响

与对照相比,大鼠股骨三点弯曲试验结果显示,50 Hz 0.1mT 正弦交变电磁场最大载荷、弹性模量、屈服强度都有极显著差异($P<0.01$);50 Hz 0.6mT 与对照相比最大载荷、弹性模量及屈服强度均无统计差异性(表 2)。大鼠第 4 腰椎压缩试验结果显示,与对照相比,50 Hz 0.1mT 最大载荷有显著差异($P<0.05$),弹性模量有极显著差异($P<0.01$);50 Hz 0.6mT 与对照相比最大载荷和弹性模量均无统计学差异(表 3),说明 50 Hz 0.1mT 磁场强度正弦交变电磁场能显著提高大鼠生物力学性能。

表 4 不同强度正弦交变电磁场对大鼠 micro-CT 骨组织形态的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 The effect of different-intensity of sinusoidal electromagnetic fields on bone histomorphometry analyzed using micro-CT ($\bar{x}\pm s, n=8$)				
分组	BV/TV (%)	Tb. Th (mm)	Tb. N (mm ⁻¹)	Tb. Sp (mm)
对照	0.399 ± 0.029	0.053 ± 0.005	5.510 ± 0.418	0.121 ± 0.020
0.1 mT	0.603 ± 0.045 **	0.090 ± 0.013 **	6.395 ± 0.302 **	0.068 ± 0.012 **
0.6 mT	0.450 ± 0.045	0.065 ± 0.009	5.866 ± 0.298	0.096 ± 0.024

注: ** $P<0.01$ vs control; BV/TV, 相对骨体积; Tb. N, 骨小梁数量; Tb. Th, 骨小梁厚度; Tb. Sp 骨小梁分离度

3 讨论

骨质疏松表现为骨量的减少和骨强度的下降,从而增加骨折的风险。在衰老过程中,骨的吸收大于骨合成,因此常出现骨量丢失的现象,在骨生物力学方面表现出骨骼弹性、韧性下降,骨脆性增加,由此造成骨折的几率大大增加,严重威胁着老人的健

表 2 各组大鼠股骨三点弯曲(左)试验的结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 The result of three-point bending of the femurs in various rat groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)			
分组	最大载荷(N)	弹性模量(mPa)	屈服强度(N)
对照	84.57 ± 7.92	1440.50 ± 270.86	32.52 ± 5.78
0.1 mT	99.34 ± 10.51 **	1795.79 ± 162.42 **	47.55 ± 8.23 **
0.6 mT	89.30 ± 6.31	1496.14 ± 251.63	39.24 ± 7.46

注: ** $P<0.01$ vs control

表 3 各组大鼠 L4 压缩试验测量结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 The result of the compression test of the L4 in various rat groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)		
分组	最大载荷(N)	弹性模量(mPa)
对照	79.98 ± 5.30	105.74 ± 19.39
0.1 mT	97.75 ± 4.76 *	142.53 ± 32.82 **
0.6 mT	84.25 ± 4.23	107.66 ± 24.85

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control

2.4 不同强度 SEMFs 对大鼠股骨 micro-CT 分析的影响

50 Hz 0.1mT 的正弦交变电磁场对大鼠相对骨体积、骨小梁厚度、骨小梁数量以及骨小梁分离度与对照相比都有极显著差异($P<0.01$),对其有显著的改善作用;50 Hz 0.6mT 正弦交变电磁场与对照相比,各项形态学参数均无统计学意义(表 4)。观察 micro-CT 分析重建得到的最大剖面图,与 A 图相比,B 图骨小梁数量致密,C 图差异不明显。说明 50 Hz 0.1mT 能显著增加大鼠骨小梁数量,进而提高骨密度(图 1)。观察 micro-CT 分析软件切割得到股骨 3D 效果图,与 A 相比,B 图的骨质较为致密,C 图差异不明显(图 2)。说明,50 Hz 0.1mT 能显著改善大鼠骨组织微结构,提高其骨质量。

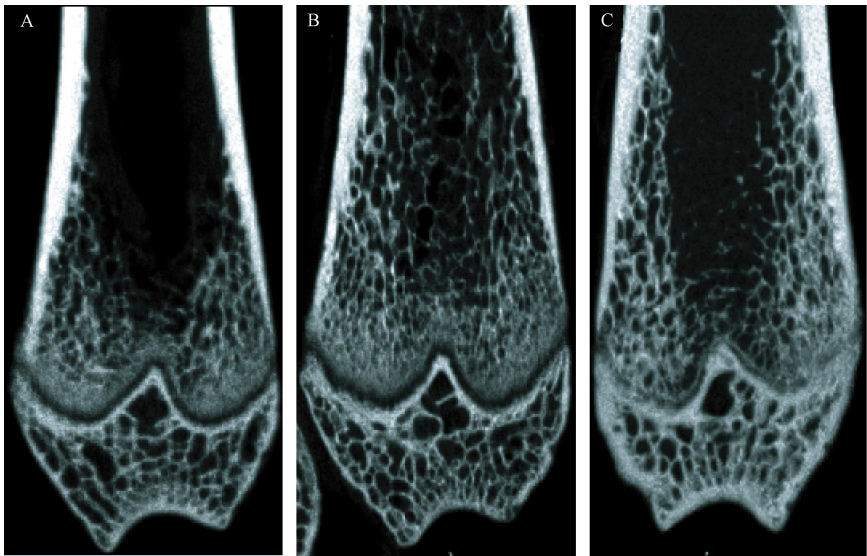


图 1 大鼠股骨 micro-CT 成像分析最大剖面图
(A): 为对照; (B): 为 0.1mT 电磁场组; (C): 为 0.6mT 电磁场

Fig. 1 Micro-CT imaging analysis of the largest cross-sectional view of rat femurs
(A) Control group; (B) 0.1mT SEMFs group; (C) 0.6mT SEMFs group

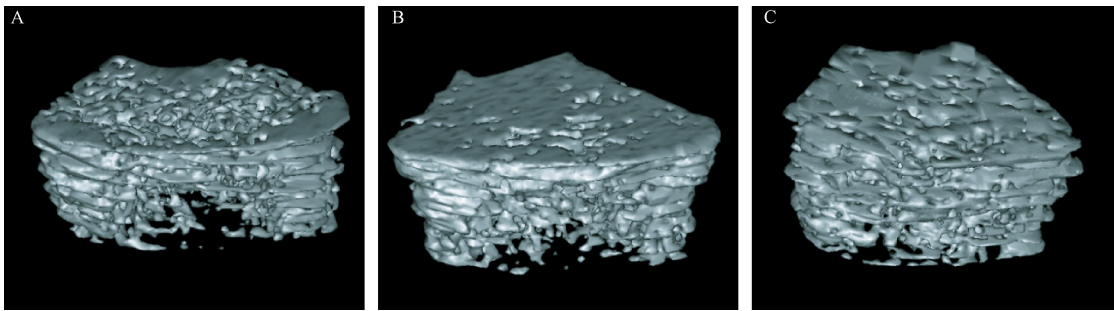


图 2 大鼠股骨 micro-CT 成像分析三维图
(A): 为对照; (B): 为 0.1mT 电磁场组; (C): 为 0.6mT 电磁场

Fig. 2 Micro-CT 3 - D imaging analysis of the rat femurs
(A) Control group; (B) 0.1mT SEMFs group; (C) 0.6mT SEMFs group

果表明 50 Hz 0.1mT 正弦交变电磁场能有效改善骨组织微结构、提高骨质量,提高生物力学的性能,这一结果与细胞实验结果不一致,说明细胞实验和动物实验存在差别。

大鼠处死后,称量心、肝、脾、肺、肾、胃、肾上腺和子宫湿重,并计算各器官系数均无明显差别,病理学观察也未见异常。表明正弦交变电磁场无损害机体的器官,是一种无明显副作用的治疗和研究骨质疏松症的新方法。骨密度是检测骨质量的黄金指标,骨密度是决定骨强度的一个重要因素,通过全身骨密度的检测可以判定骨质量和骨强度的变化^[9]。本实验全身骨密度检测结果显示,50 Hz 0.1mT 正弦交变电磁场极显著提高了大鼠全身骨密度,说明

此电磁场组合为有效电磁场参数组合,能够增加全身骨密度从而增加骨质量,提高骨强度。50 Hz 0.6mT 正弦交变电磁场无统计学差异,只是平均值有所增加,说明不同强度的磁场参数组合对大鼠骨密度的增加结果不同。

骨生物力学是以工程力学理论为基础,研究骨组织在外界作用下的力学特性和骨在受力后的生物学效应,是对骨质量进行评定的一种可靠方法^[10]。骨的整体性质是由骨的微结构、几何形态和材料力学性能决定的^[11]。同时骨的几何形态又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^[12]。骨质疏松研究领域常用的结构力学指标主要有:最大载荷等反映骨的整体抗骨折能力;

材料力学指标有:弹性模量、屈服强度等^[13]。性能不受骨形状大小的影响,反映骨的自身强度和韧性,与骨骼中矿物质含量和骨密度有关。本实验中,股骨三点弯曲试验 50 Hz 0.1mT 磁场强度的 SEMFs 干预的 SD 大鼠的最大载荷、弹性模量和屈服强度均极显著提高;而第 4 腰椎压缩试验,SD 大鼠的最大载荷和弹性模量也显著提高,表明 50 Hz 0.1mT 的 SEMFs 显著提高了大鼠提高了材料力学和结构力学的性能,进一步证明此磁场参数组合提高了大鼠骨强度。骨质主要与骨组织微结构有关,而 micro-CT 可以准确并直观的反映骨微结构和形态。本实验研究结果显示,50 Hz 0.1mT 的 SEMFs 使大鼠骨体积百分率、骨小梁数量和骨小梁厚度增加,而骨小梁分离度降低,最大剖面图和 3D 重建图也显示此磁场参数组合提高了骨小梁网状结构交联度,从而使大鼠骨质紧密,明显改善骨组织微结构。50 Hz 0.6mT 正弦交变电磁场与对照相比,生物力学与 micro-CT 结果均无统计学意义,再次说明此磁场参数组合对大鼠骨强度和骨组织微结构的提高无明显作用。

综上所述,50 Hz 0.1mT 正弦交变电磁场干预 8w 后,明显增加了 SD 大鼠的骨密度,以骨组织微结构为主要证据的骨质量明显得到了改善,其生物力学性能得以巨大的提高,即抗骨折能力显著提高,其作用机理可能是提高骨形成抑制骨吸收。本实验研究结果首次全文阐述不同强度正弦交变电磁场对生物力学性能的不同影响,此参数组合的正弦交变电磁场为临床预防骨质疏松和骨质疏松性骨折具有十分重要的意义。

【参 考 文 献】

[1] Wang SX, Zhao SL, Li HT, et al. TCM treatment of primary osteoporosis progress [J]. Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine, 2011,4; 23.

[2] Ito M. Recent progress in bone imaging for osteoporosis research [J]. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 2011,29 (2): 131-140.

[3] Xinmiao Y, Luji X, Tao L. Effect of YiGu oral solution on ovariectomized rats' bone density and biomechanics[J]. Journal of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, 2010, 2: 008.

[4] Bredarioli M, Dalio MB, Joviliano EE, et al. Effect of cilostazol and pentoxifylline on gait biomechanics in rats with ischemic left hindlimb. Journal of Vascular Surgery, 2012, 56(2): 476-481.

[5] Kesari KK, Kumar S, Behari J. Effects of radiofrequency electromagnetic wave exposure from cellular phones on the reproductive pattern in male Wistar rats [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2011,164(4): 546-559.

[6] Li S, Luo Q, Huang L, et al. Effects of pulsed electromagnetic fields on cartilage apoptosis signalling pathways in ovariectomised rats [J]. International Orthopaedics, 2011, 35 (12): 1875-1882.

[7] Jing D, Cai J, Shen G, et al. The preventive effects of pulsed electromagnetic fields on diabetic bone loss in streptozotocin-treated rats[J]. Osteoporosis International, 2011,22(6): 1885-1895.

[8] Kumar S, Kesari KK, Behari J. The therapeutic effect of a pulsed electromagnetic field on the reproductive patterns of male Wistar rats exposed to a 2.45-GHz microwave field[J]. Clinics, 2011,66(7): 1237-1245.

[9] Fu X, Ma X, Lu H, et al. Associations of fat mass and fat distribution with bone mineral density in pre-and postmenopausal Chinese women [J]. Osteoporosis International, 2011,22(1): 113-119.

[10] 陈文双, 许碧莲, 崔燎, 等. 大鼠椎骨生物力学与骨组织形态计量学的灰色关联分析[J]. 数理医药学杂志 2011,24(001): 38-41.

Chen WS, XU BL, Cui L, et al. Analysis of grey correlation between bone bio-mechanical property and histomorphometry of lumbar vertebrae body i n rats [J]. Journal of Mathematical Medicine, 2011, 24(001): 38-41.

[11] Laffosse JM, Kinkpe C, Gomez-Brouchet A, et al. Micro-computed tomography study of the subchondral bone of the vertebral endplates in a porcine model: correlations with histomorphometric parameters [J]. Surgical and Radiologic Anatomy, 2010, 32(4): 335-341.

[12] Bredella MA, Lin E, Gerweck AV, et al. Determinants of bone microarchitecture and mechanical properties in obese men[J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2012,97(11): 4115-4122.

[13] 张晓明, 秦大平, 宋敏, 等. 骨生物力学的应用与研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(009): 850-853.

Zhang XG, Qin DP, Song M, et al. Application and research progress of bone biomechanical [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2012, 18(9): 850-853.

(收稿日期: 2014-01-03; 修回日期: 2014-02-24)

不同强度正弦交变电磁场对大鼠骨生物力学性能的影响

作者：[高玉海](#)，[陈克明](#)，[葛宝丰](#)，[周建](#)，[马小妮](#)，[李少锋](#)，[GAO Yuhai](#)，[CHEN Keming](#)，[GE Baofeng](#)，[ZHOU Jian](#)，[MA Xiaoni](#)，[LI Shaofeng](#)

作者单位：[兰州军区兰州总医院骨科研究所, 兰州, 730050](#)

刊名：[中国骨质疏松杂志](#) 

英文刊名：[Chinese Journal of Osteoporosis](#)

年，卷(期)：2014(10)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201410006.aspx