文章编号:1000-5404(2006)19-1965-03

论著

仿生脉冲电磁场预防性治疗对大鼠继发性骨质疏松骨密度的影响

叶 青,谭祖键,谢先明,陈俊福 (第三军医大学西南医院骨科,全军矫形外科中心,重庆 400038)

提 要:目的 观察仿生脉冲电磁场(bionic pulsed electromagnetic fields, BEMF)对Wistar大鼠骨质疏松动物模型不同时间点的预防性治疗作用。**方法** 本实验取32只3月龄雌性Wistar大鼠,分成4组:正常对照组(A组)8只,地塞米松组(B组)8只,降钙素组(C组)8只,电磁场组(D组)8只。A组常规喂养,同时给予注射等量生理盐水,B组仅给予地塞米松注射(1 mg/kg,肌注、2次/周),C组及D组在给予地塞米松(1 mg/kg,肌注,2次/周)的同时分别给予降钙素(2 IU/kg,皮下注射,1次/d)及电磁场照射(1 h/次,1次/d)预防性治疗,以上各组均分别于第4、8、12周不同时间点在麻醉状态下测取腰椎及股骨的骨密度值,以观察各不同时间点各组大鼠骨密度的改变。**结果** BEMF预防性治疗4周各组大鼠骨密度无显著性差异($P>0.05$),8周D组较B组骨密度高($P<0.01$),12周D组较B组骨密度高($P<0.01$),D组较C组股骨骨密度亦显著增高($P<0.05$)。**结论** BEMF有预防骨密度下降的作用,并随着预防治疗时间的延长,BEMF的预防作用较降钙素有更显著的效果。

关键词:仿生脉冲电磁场;骨密度;预防性治疗
中图法分类号:R454.1;R336;R681 **文献标识码**:A

Preventive effect of bionic pulsed electromagnetic fields on bone mineral density

YE Qing, TAN Zu-jian, XIE Xian-ming, CHEN Jun-fu (Department of Orthopaedics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the short-term and long-term effect of preventive therapy of bionic pulsed electromagnetic fields (BEMF) on the osteoporosis model of Wistar rats. Methods Thirty-two 3-month-old female Wistar rats were randomly divided into 4 groups with 8 rats in each group: control group (group A), desamethasone group (group B), calcitonin group (group C) and BEMF group (group D). Rats in group A were raised normally and received normal saline. Rats in group B were injected with desamethasone only (1 mg/kg, intramuscularly, twice a week). Rats in group C were injected with calcitonin (2 IU/kg, subcutaneously, once a day) and rats in group D were irradiated with BEMF for preventive therapy, simultaneouly all rats were injected with desamethasone (1 mg/kg, intramuscularly, twice a week). The rat bone mineral density (BMD) was measured under narcosis at 4, 8, 12 weeks after starting preventive therapy. Results No significant differences in BMD were found among all groups 4 weeks later. The significant differences in BMD were observed between group D and group B 8 weeks later and lasted to 12 weeks ($P<0.01$). There was significant differences in BMD of femur between group D and group C 12 weeks later ($P<0.05$). Conclusion BEMF preventive therapy is effective in preventing the BMD decline in Wistar rats. BEMF is more effective than calcitonin as the therapy time prolongs.

Key words: bionic pulsed electromagnetic fields; bone mineral density; preventive therapy

糖皮质激素在临床使用相当广泛,但长期使用出现许多并发症,其中骨密度下降而致骨质疏松是常出现的并发症,病理性骨折的发生率比较高。研究证实特定的脉冲电磁场(bionic pulsed electromagnetic fields, BEMF)能一定程度地改善骨质疏松模型的骨微观结构、骨代谢特征、减少或防治骨量丢失,甚至能恢复骨质疏松丢失的骨量。本实验运用BEMF对3月龄雌性Wistar大鼠预防性治疗,分别于4、8、12周3个时间点观察腰椎和股骨骨密度的变化。

作者简介:叶 青(1974-),男,广西壮族自治区桂林市人,硕士研究生,主治医师,主要从事骨质疏松方面的研究,现在武警广西总队医院骨科。电话:(023)60732273
通讯作者:谭祖键,电话:139830629229
收稿日期:2005-08-31;修回日期:2005-09-14

1 材料与方法

1.1 实验动物

3月龄、雌性 Wistar 大鼠 32 只、体质量 135～170 g。由第三军医大学实验动物中心提供。

1.2 实验仪器

BEMF 骨质疏松治疗仪(大鼠型) 主要参数:尖峰衰减波形;脉冲磁场频率 8、12 Hz ;频率自动跳变周期 30 s ;最大磁场强度 11 mT ;强度自动跳变周期 60 s ;信号功率谱 0～250 Hz ;主要功率频段 2～75 Hz(由中国医学科学院生物医学工程研究所提供)。CHALLENGER 全身双能量(X 线)骨密度测定仪器由法国 GK 公司提供。

1.3 分组

将 32 只雌性 Wistar 大鼠分成 4 组:正常对照组(A 组)8 只,常规喂养,予以注射等量生理盐水;地塞米松组(B 组)8 只,予以地塞米松 1 mg/kg,肌注,2 次/周;降钙素治疗组(C 组)8 只,在肌注与 B 组等剂量地塞米松的同时予以鲑鱼降钙素 2 IU/kg,皮下注射,1 次/d;BEMF 治疗组(D 组)8 只,在肌注与 B 组等剂量地塞米松的同时予以 BEMF 照射 1 次/d,1 h/次。各组大鼠在同一间明亮、清洁、通风良好、室温 25 ℃的动物房中饲养,自由饮水摄食。动物饲料由第三军医大学实验动物中心提供。

1.4 骨密度测量

各组均分别于第 4、8、12 周不同时间点 1% 戊巴比妥 3 ml/kg腹腔注射麻醉,当大鼠呈稳定昏迷状态达到 5 min 以上时,活体放置在 CHALLENGER 全身双能量(X 线)骨密度测定仪器的探头下,应用小动物软件进行腰椎和股骨扫描,测定骨密度值。

1.5 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件对组内不同时间点骨密度值进行重复测量单因素方差分析,不同处理组之间进行单因素方差分析。

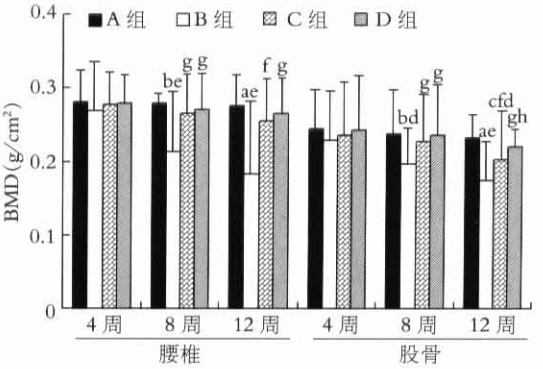
2 结果

B 组注射地塞米松后,8 周时较 4 周时腰椎及股骨骨密度值均显著下降($P<0.01$),12 周时较 8 周时腰椎及股骨骨密度值均显著下降($P<0.05$)(图 1)。

C 组 8 周时较 4 周时骨密度值无显著差异,12 周时较 8 周时骨密值度亦无显著下降,12 周时较 4 周时腰椎骨密度值无显著下降($P>0.05$),但股骨骨密度值呈显著下降($P<0.05$)(图 1)。

D 组各时间点骨密度值均无显著差异($P>0.05$)(图 1)。

各组大鼠间于第 4 周测定的骨密度值均无显著的统计学差异($P>0.05$)。第 8 周时与 A 组相比:B 组腰椎、股骨骨密度均显著性下降($P<0.01$,$P<0.05$)。与 B 组相比:C 组及 D 治疗组腰椎、股骨骨密度均呈显著性升高($P<0.01$),其他各组参数无显著性差异($P>0.05$)。第 12 周时与 A 组相比:B 组腰椎、股骨骨密度均显著性下降($P<0.01$),C 组腰椎骨密度无显著性差异,股骨骨密度显著下降($P<0.05$),D 组腰椎、股骨骨密度均无显著性差异($P>0.05$)。与 B 组相比:C 组腰椎、股骨骨密度升高($P<0.05$),D 组腰椎、股骨骨密度均显著性升高($P<0.01$)。与 C 组相比:D 组腰椎骨密度无显著性差异,股骨骨密度升高($P<0.05$)。



a: $P<0.05$, 与同组 8 周比较; b: $P<0.01$, c: $P<0.05$,与同组 4 周比较; d: $P<0.05$, e: $P<0.01$, 与同时间点 A 组比较; f: $P<0.05$, g: $P<0.01$, 与同时间点 B 组比较; h: $P<0.05$, 与同时间点 C 组比较

图 1 各时间点腰椎、股骨骨密度值变化

3 讨论

由于治疗的需要,糖皮质激素(glucocorticoid, GC)被广泛应用于临床,这类药物非特异性抗炎和免疫抑制的药理学效应发挥了肯定的治疗作用,但其不可避免的副作用又成了临床医师面临的难题。骨量丢失、骨密度下降致骨质疏松症是 GC 的主要副作用之一。运用地塞米松 1 mg/kg,肌注,2 次/周,8 周后即可形成骨质疏松动物模型[1]。本实验的结果表明地塞米松组大鼠股骨及椎骨骨密度较其他组均显著性下降($P<0.01$),所以运用地塞米松制模,正确地模拟了临床运用 GC 而致骨质疏松的特征。

本研究以骨密度值为参数指标,是因其可较直接地反映骨的强度及抗骨折能力,骨密度的改善是评定某些治疗手段有效性的主要依据。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[2]。在决定骨强度的若干因素中,骨矿物质密度(BMD) 直接反映了骨组织的量的因素,骨松质骨密度对骨强度的贡献为 58% ～70% 。骨密度与骨结构密切相关,是因为当骨密度下降时骨皮质的厚度下降,骨内的孔隙增大,骨松质内的骨小梁变稀疏,数量下降,骨强度下降,从而使骨折率增加。目前认为由于骨密度而引起的骨结构的变化是预测骨折的重要因素[3]。股骨近端(尤其是转子间区) 以及正位腰椎(尤其是正位腰椎 2)BMD 在反映骨的结构特性方面,较其他

测定部位更有优势[4]。因此，本实验以大鼠腰椎和股骨为标本是具有科学性的。

降钙素一直被认为主要是通过抑制骨吸收而产生治疗作用，是一种破骨细胞的强烈抑制剂，属于“抗骨吸收”药物[5]。其机制是通过相关受体作用于破骨细胞，可迅速抑制破骨细胞的活性，而抑制破骨细胞的增殖和减少其数量，从而抑制骨吸收，降低骨转换，可防治各种原因所致的骨量丢失。本研究中以鲑鱼降钙素为对照组，是因为鲑鱼降钙素的活性是哺乳动物的 30～50 倍，在血浆中分解缓慢，半衰期较长，在体内很可能通过影响成骨细胞的生长，对骨形成可产生积极有效的作用。鲑鱼降钙素对骨质疏松的治疗作用既往已有大量研究证实，并在临床大量运用，本实验以此设为对照组。

BEMF 是指其波型、频率、跳变周期、强度、功率谱、功率频段均与人体的相仿，它正确地模拟了人体内的生物电，其对人体生物学方面的促进作用亦与人体自身内生物电的相似。BEMF 能有效治疗绝经后妇女，或是老年性骨质疏松症以及促进骨折愈合，此前均有大量报道，但因糖皮质激素的运用而致骨密度下降的 BEMF 预防性治疗尚少见报道。其机制可能与以下 BEMF 诸多方面的促成骨作用有关：① BEMF 可通过对钙调节激素的影响而发生作用，甲状旁腺激素-2 是人体内最重要的钙调节激素，BEMF 能使人体内甲状旁腺激素-2 升高，使血钙降低，成骨增加[6]。②BEMF 亦可促进一些细胞因子的产生，如前列腺素 E_2（prostaglandin E_2，PGE_2），肝细胞生长因（hepatocyte growth factor，HGF），碱性成纤维细胞生长因子（basic fabroblast growth factor，bFGF），转化生长因子 β1（transforming growth factor-beta 1，TGFβ1），而这些因子均可促进成骨细胞活跃和骨生成[7,8]。③BEMF 亦可通过影响 DNA 和 mRAN 的表达而发挥作用，可促使人成纤维细胞内的 DNA 和 mRAN 合成[9]。BEMF 诸多方面的作用机制均可促进成骨，改善骨的形态和微细结构以及骨构成成分的改变（如钙盐的丢失）[10]，因此可预防骨密度下降。本研究通过运用 BEMF 对 32 只 Wistar 大鼠分 4、8、12 周 3 个不同时间点预防性治疗后发现 BEMF 有预防骨密度下降的作用，并随着预防治疗时间的延长 BEMF 的预防作用较降钙素有更显著的效果。于第 4 周时各组骨密度值均无显著性差异，是由于这时动物模型尚未形成，各组（包括地塞米松组）骨密度值均未出现明显下降，故这时不能看出各组间的差异。于第 8 周时，骨质疏松模型已经形成，B 组由于没有 BEMF 和鲑鱼降钙素的预防治疗，故较 4 周时出现骨密度值显著下降。这时 A、C、D 组间骨密度值未见明显差异，说明这个时段内 BEMF 和鲑鱼降钙素有预防治疗作用且作用相当。于 12 周时 B 组出现更为明显的骨密度值下降，这可能是由于地塞米松作用时间的增长和大鼠本身年龄的增大两方面原因造成；这时 C 组出现股骨骨密度值较 A、D 组明显下降（$P<0.05$），而 A、D 两组间腰椎及股骨骨密度值均无显著差异，这说明随着预防治疗时间的延长 BEMF 的预防作用较降钙素有更显著的效果，这可能与两者的作用机制有关：后者的主要作用在于抗骨吸收，随着地塞米松致骨质疏松时间和强度的增加，鲑鱼降钙素的抗骨吸收作用可能会出现下降的现象；而前者不仅可通过对钙调节激素的影响而发生作用，而且可促进一些成促骨细胞活跃和骨生成的因子的产生和通过影响 DNA 和 mRAN 的表达而发挥作用，故前者有根本性的，持久的预防作用。

综上所述，BEMF 对骨质疏松有预防性治疗作用，且随治疗时间的延长显示出较降钙素更显著的效果。

参考文献：

[1] 陆邦超，王　坚，乔　飞. 地塞米松致糖皮质激素性骨质疏松动物模型的实验研究[J]. 中国老年学杂志，2003，23(9)：605－606.

[2] 叶　青，谭祖键，刘乐斌，等. 仿生脉冲电磁场预防性治疗对大鼠骨生物力学性能变化的影响[J]. 第三军医大学学报，2005，27(10)：991－993.

[3] COMPSTON J E. Connectivity of cancellous bone：assessment and mechanical implications[J]. Bone，1994，15(9)：463－466.

[4] GENANT H K. WHO 骨质疏松症防治工作报告和防治建议-2000[C]. 北京：康辰骨质疏松医药研究奖（HOMA）暨国际骨质疏松学术研讨会专刊，2000：21－28.

[5] BRIGHTON C T，MCCLUSKEY W P. Response of cultured bone cells to a capacitively coupled electric field：inhibition of cAMP response to parathyroid hormone[J]. J Orthop Res，1988，6(4)：567－571.

[6] STEPAN J J，ZIKAN V. Calcitonin load test to assess the efficacy of salmon calcitonin[J]. Clin Chim Acta，2003，336(1－2)：49－55.

[7] SILVERMAN S L，AZRIA M. The analgesic role of calcitonin following osteoporotic fracture[J]. Osteoporos Int，2002，13(11)：858－867.

[8] 刘忠厚. 骨质疏松学[M]. 北京：科学出版社，1998：125－127.

[9] LIBOFF A R，WILLIAMS T Jr.，STRONG D M，*et al*. Time-varying magnetic fields：effect on DNA synthesis[J]. Science，1984，223(4638)：818－819.

[10] 陈一心，韩祖斌. 雌性大鼠去势后股骨生物力学变化[J]. 医用生物力学，1996，11(1)：51－53.

（编辑　陈聪连）