

·基础研究·

不同治疗时间脉冲电磁场对去势大鼠血清雌二醇及股骨骨钙含量的影响

何成奇¹ 王 维¹ 肖 登¹ 杨 霖¹ 雷中杰¹

摘要 目的:研究不同治疗时间 PEMFs 干预去势大鼠骨质疏松模型各组大鼠的血清雌二醇及股骨骨钙含量的变化,探求 PEMFs 治疗骨质疏松的最适治疗时间。方法:按随机分组原则用密闭信封法将雌性 3 月龄 SD 大鼠 50 只分为 5 组:SHAM 对照组、OVX 对照组、OVX I 组、OVX II 组、OVX III 组每组 10 只。除 SHAM 对照组以外,对所有动物按文献方法切除双侧卵巢去势造模。OVX I 组、OVX II 组和 OVX III 组三组大鼠每天在强度为 3.8mT,频率为 8Hz 的磁场环境中分别接受治疗,20、40、60min/d,共 30d。SHAM 对照组和 OVX 对照组不干预。各组动物均在满 30d 后股动脉放血处死,取血清标本做血清雌二醇测定,并取左侧股骨作骨钙含量测定。结果:SHAM 对照组大鼠的血清雌二醇水平显著高于其他四组大鼠的血清雌二醇水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$),但其他 4 组大鼠的血清雌二醇水平之间的差异无显著性($P>0.05$)。OVX 对照组大鼠股骨骨钙含量显著低于其他四组大鼠($P<0.01$),但其他四组大鼠的股骨骨钙含量之间的差异无显著性($P>0.05$)。结论:在磁场强度(3.8mT)和脉冲频率(8Hz)相同的前提下,三种治疗时间的 PEMFs 并不能提高去势大鼠血清雌二醇的水平,但均能阻止大鼠在卵巢切除后的骨钙含量下降。三种治疗时间的 PEMFs 均能使 OVX 大鼠股骨骨钙含量维持在接近正常的水平,但差异无显著性,说明每日用 PEMFs 对去势大鼠治疗 20—60min,对其骨钙含量的维持效果相同。

关键词 脉冲电磁场;去势大鼠;雌二醇;骨钙含量

中图分类号:R493,R681 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2006)-12-1078-03

Effect of pulsed electromagnetic fields of different treatment time on serum estradiol and bone calcium content of femur in ovariectomized rats/HE Chengqi,WANG Wei,XIAO Deng,et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine,2006,21(12):1078—1080

Abstract Objective: To observe the effect of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) of different treatment time on serum estradiol and bone calcium content of femur in ovariectomized rats, so as to find out the best effective treatment time. **Method:** Fifty female SD rats were randomly divided into five groups: ① SHAM control (no PEMFs treatment), ② OVX control (no PEMFs treatment), ③ OVX I (PEMFs treatment at 8Hz frequency with 3.8mT intensity, 20min daily for 30 days), ④ OVX II (PEMFs treatment at 8Hz frequency with 3.8mT intensity, 40min daily for 30 days), and ⑤ OVX III (PEMFs treatment at 8Hz frequency with 3.8mT intensity, 60min daily for 30 days). All rats were subjected to bilateral ovariectomy except those in the SHAM control group. Serum estradiol (E2) and bone calcium content of femur were assessed on the 30th days after PEMFs treatment. **Result:** The E2 values of the SHAM control group were significantly higher than that of the other 4 groups ($P<0.05$ or $P<0.01$), but the difference in E2 values was not significant among the other 4 groups ($P>0.05$). The bone calcium contents of the OVX control group were significantly lower than that of the other 4 groups ($P<0.01$), but the difference of calcium contents was not significant among the other 4 groups ($P>0.05$). **Conclusion:** Under certain intensity (3.8mT) and frequency (8Hz), PEMFs of the three different treatment time can't significantly improve serum estradiol level in ovariectomized rats. PEMFs of the three different treatment time can significantly maintain bone calcium content of femur approximately to the normal level in ovariectomized rats, but among the three groups, the difference is not significant. It shows that PEMFs have the same effect of maintaining bone calcium content with no correlation of increasing the treatment time within the range of 20—60min in ovariectomized rats.

Author's address Dept. of Rehabilitation, west China Hospital, Sichuan University, Chengdu, 610041

Key words pulsed electromagnetic fields; ovariectomized rat; estradiol; bone calcium content

脉冲电磁场 (pulsed electromagnetic fields, PEMFs) 对骨质疏松症具有肯定的治疗作用。但是, PEMFs 治疗骨质疏松症的最适治疗时间及是否通过对雌激素或通过对骨钙含量的影响产生作用尚不

¹ 四川大学华西医院康复医学科, 成都, 610041

作者简介:何成奇,男,博士,教授,博士生导师

收稿日期:2006-06-26

清楚。本文通过采用不同治疗时间 PEMFs 干预去势大鼠骨质疏松模型, 观察各组大鼠的血清雌二醇 (estradiol, E2) 及骨钙含量的变化, 以探索不同时间 PEMFs 对骨质疏松去势大鼠雌激素及骨钙含量的作用及其最适治疗时间。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雌性 3 月龄清洁级 SD 大鼠 50 只, 体重 150—180g。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组: 按随机分组原则用密闭信封法将雌性 3 月龄 SD 大鼠 50 只平均分为 5 组: SHAM 对照组 (假手术对照组)、OVX 对照组、不同磁场治疗时间组 (OVX I 组、OVX II 组、OVX III 组)。

1.2.2 动物模型的建立: 将所有动物用 1% 戊巴比妥 3ml/kg 腹腔注射麻醉, 麻醉完备后, 俯卧位固定于手术台上, 经腰背侧肋脊角切口进入腹腔, SHAM 对照组大鼠仅切除卵巢周围部分脂肪组织, 不摘卵巢, 而其余 40 只大鼠切除双侧卵巢。仔细止血, 冲洗后, 腹腔灌注 2ml 5% 甲硝唑注射液腹腔消毒, 再逐层缝合, 用 75% 酒精、碘酒消毒皮肤。

1.2.3 干预方式与处死动物时间: SHAM 对照组和 OVX 对照组大鼠不干预。OVX I 组、OVX II 组、OVX III 组大鼠再制模结束后 5d 开始干预, 脉冲频率设定为 8Hz, 磁场强度设定为 3.8mT, 治疗次数 30 次, 每天 1 次, 每次分别为 20min、40min、60min, 共 30d。治疗仪器采用 UNION-2000A 骨质疏松治疗系统 (中国医学科学院生物医学工程研究所)。不同磁场治疗时间组治疗 30d 结束后次日同批处死各组动物, SHAM 对照组和 OVX 对照组鼠也同日处死。

1.2.4 PEMFs 疗效观察指标: 各组动物在规定时间内

股动脉放血处死后, 取血清标本送检血清雌二醇水平, 应用血清雌二醇试剂药盒 (拜耳公司), 由拜耳 centaur 自动免疫仪自动测得。

各组动物在规定时间内股动脉放血处死后, 取出左侧股骨剔除肌肉后, 将大鼠左侧股骨置于洗净的小烧杯中, 测定股骨的干重和灰重。再用火焰原子吸收法测定股骨骨钙含量 (mg/g)。

1.3 统计学分析

以上各项检测指标均以均数±标准差表示, 将各组大鼠的检测指标之间进行单因素方差分析, 计算 *F* 值, 再用最小显著差法 (least significant difference, LSD 法) 进行各组间的两两比较, $P < 0.05$ 为显著差异。以上统计均在 SPSS10.0 软件下完成。

2 结果

2.1 外观变化

OVX 对照组大鼠 3 周后毛发逐渐稀疏, 活动迟缓, 精神萎靡不振, 反应较为迟钝; 而 SHAM 对照组、OVX I 组、OVX II 组、OVX III 组大鼠毛发光洁, 精神及活动正常。

2.2 不同治疗时间对大鼠血清雌二醇及股骨骨钙含量的影响

见表 1。与 SHAM 对照组相比, OVX 对照组、OVX I 组、OVX II 组、OVX III 组大鼠的血清雌二醇水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但 4 组间大鼠的血清雌二醇水平的差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。OVX 对照组大鼠的股骨骨钙含量均显著低于 SHAM 对照组、OVX I 组、OVX II 组、OVX III 组 4 组大鼠的股骨骨钙含量 ($P < 0.01$), 但四组股骨骨钙含量之间的差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.3 不同治疗时间对大鼠股骨骨钙含量的影响

见表 1。

表 1 不同治疗时间对大鼠血清雌二醇及股骨骨钙含量影响的比较

($\bar{x} \pm s$)

	SHAM 对照组	OVX 对照组	OVX I 组	OVX II 组	OVX III 组
例数	10	10	10	10	10
血清雌二醇 (pg/ml)	38.6±15.6	19.4±11.9 ^②	21.4±10.3 ^②	25.2±12.8 ^①	20.6±8.5 ^②
股骨骨钙含量 (mg/g)	210.03±10.91 ^③	194.31±8.73	209.68±9.51 ^③	209.98±11.68 ^③	210.04±10.18 ^③

与 SHAM 对照组比较, ① $P < 0.05$, ② $P < 0.01$, ③ 与 OVX 对照组比较 $P < 0.01$

3 讨论

有研究表明, PEMFs 对骨质疏松引起的疼痛、骨量减少、骨密度降低具有肯定的治疗作用^[1-4]。但不同治疗时间参数的 PEMFs 治疗骨质疏松目前仍有争议。由于所用 PEMFs 的时间参数不同, 实验结果往往差异很大, 甚至出现矛盾的结果。每天的治疗时间也是影响 PEMFs 疗效的重要因素。在体内实验中, 各家报道相差很大, 从 30min 到 24h 不等, 大部

分研究者治疗时间较长, 多在 3—12h 之间。目前有研究^[5]认为每天治疗 6h 是合适的, 而更长时间的治疗, 其疗效并不能成比例增加, Gonzalez-Riola^[6]应用 100Hz, 3mT 的 PEMFs 对生长发育期的雌性大鼠进行全天 24h, 共 30d 的治疗, 发现这种 PEMFs 使骨形成减少, 骨吸收增加。

雌激素不仅具有抑制骨吸收的作用, 同时具有促进骨生长的作用, 与骨质疏松联系十分密切。雌激

素减少后,骨代谢转换亢进,骨吸收超过骨形成,从而导致骨量减少发生骨质疏松。绝经后雌激素水平下降,致使骨吸收增加已是公认的事实。雌激素的抗骨质疏松作用主要通过抑制骨吸收率实现的^[7]。那么,不同治疗时间的 PEMFs 是否通过对雌激素的影响产生作用?

本实验在治疗 30d 后发现,SHAM 对照组大鼠的血清雌二醇水平均显著高于 OVX I 组、OVX II 组和 OVX III 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而该 4 组之间的差异无显著性($P>0.05$)。表明在磁场强度(3.8mT)和脉冲频率(8Hz)相同的前提下,三种治疗时间的 PEMFs 并不能提高去势大鼠血清雌二醇的水平。由此证明,不同治疗时间的 PEMFs 对血清雌二醇水平没有影响,PEMFs 对骨质疏松的治疗作用并不是通过提高血清雌二醇水平来实现的。

由于 PEMFs 的干预是从卵巢切除术后 5d 开始进行的,因此,本研究实际上是观察 PEMFs 对去势 SD 大鼠骨钙含量降低的预防性治疗作用。本实验证明三种治疗时间的 PEMFs 均能阻止去势 SD 大鼠的骨量丢失。在治疗 30d 后发现,OVX I 组、OVX II 组、OVX III 组大鼠的股骨骨钙含量与 SHAM 对照组之间的差异无显著性($P>0.05$),而 OVX 对照组大鼠的股骨骨钙含量均显著低于其他四组大鼠的股骨骨钙含量($P<0.01$)。在磁场强度和脉冲频率相同的前提下三种治疗时间的 PEMFs 均能使 OVX 大鼠股骨骨钙含量维持在接近正常的水平,但三种治疗时间之间的差异无显著性。说明每日用 PEMFs 对去势大鼠治疗 20—60min,对其骨钙含量便具有肯定的维持效果。

4 结论

三种不同治疗时间的 PEMFs 对大鼠血清雌二醇水平无显著影响,但均能阻止大鼠在卵巢切除后的骨钙含量下降,对去势大鼠的骨质疏松症有肯定的预防作用。在磁场强度(3.8mT)和脉冲频率(8Hz)相同的前提下三种治疗时间的 PEMFs 均能使 OVX 大鼠股骨骨钙含量维持在接近正常的水平,但三种治疗时间之间的差异无显著性。说明每日用 PEMFs 对去势大鼠治疗 20—60min,对其骨钙含量的维持具有相同的效果。

参考文献

- [1] 王先平,孙雯敏,张秀云,等.脉冲电磁场对骨质疏松症患者疼痛及骨密度改善的效果分析[J].现代康复,2001,57(B):104—105.
- [2] 高堪达,俞永林,蒯大禹,等.脉冲电磁场对原发性骨质疏松症患者疼痛的疗效分析[J].中华物理医学与康复杂志,2004,26(11):669—670.
- [3] Garland DE,Adkins RH,Matsuno NN. The effect of pulsed electromagnetic fields on osteoporosis at the knee in individuals with spinal cord injury[J]. J Spinal Cord Med,1999,22(4):239—245.
- [4] Eyres KS,Saleh M,Kanis JA. Effect of pulsed electromagnetic fields on bone formation and bone loss during limb lengthening [J]. Bone,1996,18(6):505—509.
- [5] Fini M,Cadossi R,Cane V,et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on the osteointegration of hydroxyapatite implants in cancellous bone:A morphologic and microstructural in vivo study[J]. J Orthop Res,2002,20(4):756—763.
- [6] Gonzalez-Riola J,Pamies JA,Hernandez ER,et al. Influence of electromagnetic fields on bone mass and growth in developing rats: a morphometric,densitometric,and histomorphometric study [J]. Calcif Tissue Int,1997,60 (6):533—537.
- [7] Suda T,Takahashi N,Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation[J]. Endocr Revi,1992,13(1):66—80.
- [8] 2006,17(2):206—219.
- [6] Postischemic infusion of adrenomedullin protects against ischemic stroke by inhibiting apoptosis and promoting angiogenesis[J]. Exp Neurol,2006,197(2):521—530.
- [7] 袁琼兰,李瑞祥,张光鹏,等.大鼠局灶性脑缺血神经细胞凋亡与坏死的研究[J].华西医学报,1999,30(4):401—404.
- [8] Melatonin reduces apoptosis and necrosis induced by ischemia/reperfusion injury of the pancreas [J]. J Pineal Res,2006,40(3):195—203.
- [9] Sharp FR,Bergeron M,Bernaudin M. Hypoxia-inducible factor in brain[J]. Adv Exp Med Biol,2001,502:273—291.
- [10] Ahmad S,Ahmad A,Gerasimovskaya E,et al. Hypoxia protects human lung microvascular endothelial and epithelial-like cells against oxygen toxicity: role of phosphatidylinositol 3-kinase[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2003,28:179—187.
- [11] Wick A,Wick W,Waltenberger J,et al. Neuroprotection by hypoxic preconditioning requires sequential activation of vascular endothelial growth factor receptor and Akt[J].J Neurosci,2002,22:6401—6407.
- [12] Horiguchi T,Kis B,Rajapakse N,et al. Opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels is a trigger of 3-nitropropionic acid-induced tolerance to transient focal cerebral ischemia in rats[J]. Stroke,2003,34(4):1015—1020.
- [13] Influence of propofol on neuronal damage and apoptotic factors after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats: a long-term observation [J].Anesthesiology,2004,101(4):912—917.
- [14] 方媛,魏桂荣,梅元武,等.脑缺血再灌注后 P53 基因表达与细胞凋亡间的关系[J].同济医科大学学报,2001,30:158—162.
- [15] 赵彤,于顺,丁爱石,等.低氧预适应增强大鼠海马神经元的耐缺氧能力[J].生理学报,2001,53(1):72—74.

(上接 1077 页)