

- ric Physical Therapy, 2003, 26(3):14—22.
- [12] Fregly AR, Smith MJ, Graybiel A. Revised normative standards of performance of men on a quantitative ataxia test battery[J]. Acta Otolaryngol, 1973, 75(1):10—16.
- [13] Whitney SL, Wrisley DM, Marchetti GF, et al. The effect of age on vestibular rehabilitation outcomes[J]. Laryngoscope, 2002, 112(10):1785—1790.
- [14] Wolfson L, Whipple R, Derby CA, et al. A dynamic posturography study of balance in healthy elderly[J]. Neurology, 1992, 42(11):2069—2075.
- [15] Murphy MA, Olson SL, Protas EJ, et al. Screening for falls in community dwelling elderly[J]. Journal of Aging and Physical Activity, 2003, 11:66—80.
- [16] Woollacott MH, Shumway-Cook A, Nashner LM. Aging and posture control: changes in sensory organization and muscular coordination[J]. Int J Aging Hum Dev, 1986, 23(2):97—114.
- [17] Chiu YP, Fritz SL, Light KE, et al. Use of item response analysis to investigate measurement properties and clinical validity of data for the dynamic gait index[J]. Phys Ther, 2006, 86(6):778—787.
- [18] Thieme H, Ritschel C, Zange C. Reliability and validity of the functional gait assessment (German version) in subacute stroke patients[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2009, 90(9):1565—1570.
- [19] Wrisley DM, Kumar NA. Functional gait assessment: concurrent, discriminative, and predictive validity in community-dwelling older adults[J]. Phys Ther, 2010, 90(5):761—773.
- [20] Lajoie Y, Gallagher SP. Predicting falls within the elderly community: comparison of postural sway, reaction time, the Berg balance scale and the Activities-specific Balance Confidence (ABC) scale for comparing fallers and non-fallers[J]. Arch Gerontol Geriatr, 2004, 38(1):11—26.
- [21] Bogle Thorbahn LD, Newton RA. Use of the Berg Balance Test to predict falls in elderly persons[J]. Phys Ther, 1996, 76(6):576—583; discussion 584—585.
- [22] Riddle DL, Stratford PW. Interpreting validity indexes for diagnostic tests: an illustration using the Berg balance test[J]. Phys Ther, 1999, 79(10):939—948.
- [23] Whitney SL, Hudak MT, Marchetti GF. The dynamic gait index relates to self-reported fall history in individuals with vestibular dysfunction[J]. J Vestib Res, 2000, 10(2):99—105.
- [24] Trueblood PR, Hodson-Chennault N, Mc-Cubbin A, et al. Performance and impairment-based assessments among community dwelling elderly: sensitivity and specificity[J]. Issues on Aging, 2001, 24:2—6.
- [25] Muslimovic D, Post B, Speelman JD, et al. Determinants of disability and quality of life in mild to moderate Parkinson disease[J]. Neurology, 2008, 70(23):2241—2247.
- [26] Ashburn A, Stack E, Ballinger C, et al. The circumstances of falls among people with Parkinson's disease and the use of Falls Diaries to facilitate reporting[J]. Disabil Rehabil, 2008, 30(16):1205—1212.
- [27] Tanji H, Gruber-Baldini AL, Anderson KE, et al. A comparative study of physical performance measures in Parkinson's disease[J]. Mov Disord, 2008, 23(13):1897—1905.
- [28] Steffen T, Seney M. Test-retest reliability and minimal detectable change on balance and ambulation tests, the 36-item short-form health survey, and the unified Parkinson disease rating scale in people with parkinsonism[J]. Phys Ther, 2008, 88(6):733—746.
- [29] Leddy AL, Crowner BE, Earhart GM. Functional gait assessment and balance evaluation system test: reliability, validity, sensitivity, and specificity for identifying individuals with parkinson disease who fall[J]. Phys Ther, 2011, 91(1):102—113.
- [30] Horak FB, Wrisley DM, Frank J. The Balance Evaluation Systems Test (BESTest) to differentiate balance deficits[J]. Phys Ther, 2009, 89(5):484—498.
- [31] Bloem BR, Grimbergen YA, Cramer M, et al. Prospective assessment of falls in Parkinson's disease[J]. J Neurol, 2001, 248(11):950—958.
- [32] Morris ME, Iansek R, Matyas TA, et al. Stride length regulation in Parkinson's disease: Normalization strategies and underlying mechanisms[J]. Brain, 1996, 119(pt2):551—568.
- [33] Bloem BR, Grimbergen YA, van Dijk JG, et al. The "posture second" strategy: a review of wrong priorities in Parkinson's disease[J]. J Neurol Sci, 2006, 248(1—2):196—204.

·综述·

低频脉冲电磁场治疗原发性骨质疏松症的实验研究进展

夏璐¹ 何成奇^{2,3}

骨质疏松是一种以骨量减少和骨微细结构破坏为特征,导致脆性增加和易于发生骨折的全身性代谢性骨病。2001年美国国立卫生研究院提出骨质疏松(osteoporosis, OP)是以骨强度下降,骨折风险性增加为特征的骨骼系统疾病^[1]。随着人口趋于老龄化,骨质疏松症的防治变得日

益重要。

目前对骨质疏松症的治疗主要包括双膦酸盐、降钙素、氟化物、活性维生素D和钙剂等药物治疗,但存在治疗周期长,费用较高及药物不良反应等问题^[2]。物理疗法在骨质疏松症治疗方面起重要的作用。1978年Martin等^[3]发现脉冲电

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.12.026

1 四川大学华西医院康复医学科,成都,610041; 2 康复医学四川省重点实验室; 3 通讯作者

作者简介:夏璐,女,在读硕士; 收稿日期:2011-01-19

磁场(pulsed electromagnetic fields, PEMFs)对骨质疏松的效应。1989年Bassett^[4]也预言脉冲电磁场可能对骨质疏松的治疗产生影响。低频脉冲电磁场因其操作方便,无不良反应,能快速缓解疼痛等显著优点在骨质疏松症的防治中受到重视。近年来对低频脉冲电磁场对骨质疏松症基础实验研究逐渐增多,本文综述了近5年低频脉冲电磁场对原发性骨质疏松症的治疗作用以供参考。

1 组织水平的实验研究

1.1 生物力学研究

骨生物力学研究骨组织骨力学参数在外界作用下的力学特征,以及骨在受力后的生物学效应,是对骨质量进行评价的一种可靠方法。骨力学强度下降,主要机制不仅为骨量丢失,同时骨正常结构布局合理性遭到破坏,故骨小梁结构对骨生物力学性能的影响不容忽视。

研究证实,PEMFs可以显著改善OP动物模型生物力学性能。李晨等^[5]发现强度为 $1.5 \times 10^{-5} \text{T}$ 的脉冲磁场,暴露时间为8h/d,共30d。可以提高去势大鼠股骨生物力学性能,骨组织结构得到明显改善。肖登等^[6]将大鼠暴露在强度3.8mT,频率8Hz的磁场中分别作用20min、40min、60min,共30d。结果显示去势不暴露组大鼠的股骨结构力学指标(包括最大位移、最大载荷及最大能量吸收)和材料力学指标(包括最大应力、最大应变及弹性模量)低于暴露组大鼠,但不同暴露时间大鼠的股骨生物力学指标之间的差异无显著性意义($P > 0.05$)。谢肇等^[7]发现仿生脉冲电磁场(bionics electro-magnetic fields, BEMF)在增加骨密度的同时优化了骨密度与最大载荷间的关系,不但增加了去卵巢骨质疏松大鼠的骨量,同时改善了去卵巢大鼠腰椎和股骨的生物力学性能,增强了抗骨折能力。万玉民等^[8]研究发现低频磁场可改善大鼠因去负荷引起的骨代谢和骨结构异常,减少骨丢失,提高骨生物力学性能,降低骨折危险度。申广浩^[9]观察不同强度脉冲电磁场(PEMFs)对去势后大鼠骨质疏松症的影响,将大鼠暴露于强度分别为 $4 \times 10^{-4} \text{T}$ 、 $15 \times 10^{-4} \text{T}$ 的PEMFs环境中,暴露时间为6h/d。12周后发现暴露组最大载荷及结构刚度均有增加($P < 0.05$);两个磁场组之间比较,低磁场强度组各指标优于高磁场强度组。王君峰等^[10]将去势12周后大鼠全身暴露于磁场范围内进行脉冲电磁场治疗,采用2Hz、15.3Hz、75Hz三种不同频率的交变电磁场更替使用,强度80%,40min/d。治疗12周后,取右侧股骨测定最大载荷、最大位移、最大能量吸收等结构力学指标,最大应力、最大应变、弹性模量等材料力学指标,发现均较卵巢切除组有明显改善。

1.2 骨密度的研究

骨矿密度(bone mineral density, BMD)简称骨密度,是目前诊断骨质疏松、预测脆性骨折风险和评价药物干预疗效的

最佳定量指标^[11]。

多项研究表明,PEMFs可以提高骨质疏松动物模型的骨密度,并与PEMFs治疗的时间和磁场强度有关,治疗起效时间较晚。李晨等^[5]在PEMFs对绝经后骨质疏松症的影响研究中,测定股骨总BMD、BMC和股骨干骺端骨小梁微结构[骨组织比例(BV/TV)、骨小梁连接密度(Conn.D)、结构模型指数(SMI)、骨小梁数量(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁间隙(Tb.Sp)及(Tb.Ar)],结果显示治疗组BMD、BMC、Tb.N、Tb.Th值显著增加,SMI、Tb.Sp值显著减小;BV/TV、Conn.D值有所增加。沈伟伟等^[12]观察脉冲电磁场对废用性骨质疏松(dis-use osteoporosis, DOP)大鼠骨密度影响的实验中发现,PEMFs可以使大鼠骨密度增加,并且可以使建模后8周骨密度增加程度明显优于降钙素。刘志浩等^[13]探讨PEMFs或(和)运动对维甲酸形成的骨质疏松模型大鼠的面积骨密度(aBMD)和体积骨密度(vBMD)的影响中发现,PEMFs和运动均能有效增加骨质疏松大鼠的骨密度,但PEMFs的起效时间晚于运动。申广浩^[9]观察不同强度PEMFs对去势后大鼠骨质疏松症的影响,将大鼠暴露于强度分别为 $4 \times 10^{-4} \text{T}$ 、 $15 \times 10^{-4} \text{T}$ 的PEMFs环境中,暴露时间为6h/d。12周后发现暴露组骨密度有增加;两个磁场组之间作比较,低磁场强度组各指标优于高磁场强度组。何成奇等^[14]研究发现,PEMFs虽对大鼠血清雌二醇水平无显著影响,但能阻止大鼠在卵巢切除后的骨钙含量下降,防止去势大鼠股骨骨密度降低。

1.3 生化指标的研究

血清骨钙素(bone gla protein, BGP)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和尿脱氧吡啶诺林(deoxypyridinoline, DPD)是常用的评价骨转化的生化指标。

ALP是成骨细胞的早期标志酶,在成骨过程中水解磷酸酯,为羟基磷灰石的沉积提供必要的磷酸,有利于成骨,表明成骨分化的开始^[15]。ALP测定主要反映骨形成功能,ALP来自于骨,另外主要来自肝脏。在影响肝功能因素较小的动物实验中,血清总ALP可比较确定地反映骨形成功能状态^[16]。白孟海等^[17]观察脉冲磁场对去势大鼠ALP变化规律的研究时发现,PEMFs治疗3个月的去势大鼠血清ALP与去势对照组相比,有显著性降低,提示脉冲电磁场能使去势大鼠血清ALP水平降低。

BGP是成骨细胞特异性合成并分泌的一种非胶原蛋白,在钙离子存在条件下,与羟磷灰石结合并稳定其构象,被认为是向成骨细胞分化最特征性的标志物^[18]。申广浩等^[9]观察不同强度PEMFs对去势后大鼠骨质疏松症的影响,发现PEMFs可以降低血清BGP水平,低磁场强度组降低水平优于高磁场强度组。

尿脱氧吡啶酚(DPD)仅见于细胞外I型胶原蛋白中,由于I型胶原蛋白转换的主要部位在骨,DPD几乎仅在骨中存

在。DPD作为破骨细胞降解的副产品被释放入血,并在尿中排泄。尿DPD是反映骨吸收的生化指标。李晨等^[5]在PEMFs对绝经后骨质疏松症影响的实验中测量大鼠骨转化生化指标(血清ALP、破骨细胞OC、尿脱氧吡啶诺林DPD),结果显示与假手术组比较,其余各组血清ALP、OC和尿DPD均有所下降。

1.4 细胞因子的研究

骨转换包括破骨细胞骨吸收和随后发生的成骨细胞骨形成的过程,成骨细胞与破骨细胞数量、活性和存活均受全身激素及局部因子的影响。目前有关PEMFs的研究多集中在骨形成方面,PEMFs可能通过诱导与骨形成有关的细胞因子的表达,调节骨局部因子以影响骨形成与骨吸收,对原发性骨质疏松起到治疗作用。

血清转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)对成骨细胞有刺激作用,而对破骨细胞有抑制作用。现已证实,TGF- β 1是骨吸收和骨形成之间有力的调节和偶联因子,雌激素低落引起的骨吸收—骨形成脱偶联与骨组织中TGF- β 1表达的减少密切相关^[9]。沈伟伟等^[12]观察脉冲电磁场对DOP大鼠BMD和TGF- β 1影响的实验中发现,DOP组大鼠血清TGF- β 1浓度在建模后1周时明显高于正常组,而后逐渐下降至正常水平以下;8周时PEMF组TGF- β 1浓度明显高于降钙素组、DOP组($P<0.01$)。提示TGF- β 1浓度在废用性骨质疏松骨重建过程中呈双相变化,PEMF可能通过促进TGF- β 1分泌而影响骨重建过程。谢肇等^[20]对经BEMFs治疗10周的骨质疏松骨组织TGF- β 1的蛋白质表达进行研究,发现与对照组相比,BEMFs显著增加了骨组织及成骨细胞内骨生长因子TGF- β 1蛋白的含量,表明BEMFs对失去雌激素控制的成骨细胞有明显的调控作用,使成骨细胞内TGF- β 1蛋白的含量增加。

碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)在骨代谢中具有重要调节作用,骨组织中bFGF表达减少是绝经后骨质疏松发病的重要环节^[26]。既往研究表明,bFGF具有促进成骨细胞前体细胞的分化,增加培养的骨细胞中骨Gla蛋白表达,促进骨形成的作用,同时促进破骨细胞凋亡。谢肇等^[27]观察BEMF对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织bFGF蛋白表达的影响,PEMFs组大鼠暴露于仿生脉冲电磁场治疗,治疗10周后大鼠治疗组椎体骨组织中bFGF表达显著性高于模型组。

国外有研究显示,雌激素减少可导致相应的免疫功能增强,活跃的T细胞产生的肿瘤坏死因子(TNF)增多,TNF- α 促进破骨细胞的形成、分化和活化,从而促进骨重吸收,最终发生骨质疏松^[21]。杨琼芳等^[22]将雌性未孕6月龄Wistar大鼠40只随机分成四组:低强度PEMFs治疗组,高强度PEMFs治疗组,模型组,假手术组。于术后第3周起进行4mT、8mT不同

磁场强度,脉冲频率为24Hz的治疗,1h/d。干预12周后处死各组大鼠。两治疗组TNF- α 水平较模型组有显著降低,且高强度组降低水平明显优于低强度组。

IL-6对破骨细胞具有激活作用,低浓度主要诱导破骨细胞形成,较高浓度刺激破骨细胞的溶骨活性。雌激素抑制破骨细胞分泌IL-6,雌激素减少,导致骨组织IL-6水平增加,骨吸收活性增强。因此,逆转雌激素低落引起的骨局部IL-6表达增加是治疗绝经后骨质疏松的重要环节^[23]。程自峰等^[24]将去势后大鼠置于2Hz脉冲电磁场治疗,1h/d,共治疗3个月。测定肿瘤坏死因子(TNF)和白细胞介素-6(IL-6)含量。治疗组同正常组比较TNF- α 和IL-6含量无显著性差异,而去势大鼠腰椎TNF- α 和IL-6含量显著高于治疗组和正常对照组。谢肇等^[25]研究发现PEMFs作用于大鼠骨组织10周后,骨组织中IL-6表达较模型组明显减少,提示PEMFs对IL-6具有抑制作用,PEMFs明显抑制了骨吸收和(或)促进了骨形成。

1.5 钙调激素的研究

骨吸收和骨形成过程是偶联进行的。身体中有一组内分泌激素对偶联的骨转换功能和钙的代谢起调节作用,以保证血钙稳定,称为钙调激素。甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)是人体内最重要的钙调激素,主要生理作用是刺激破骨细胞的溶骨作用,并增加肠钙吸收和肾小管对钙的重吸收。其通过骨髓、肾脏和小肠三个主要靶器官调节血钙平衡,可以直接或间接影响钙离子在细胞内外及细胞器与胞质之间的流动,从而发挥钙在各种细胞功能和代谢中的作用^[28]。

PEMFs可通过对钙调激素的影响而发生作用。杨琼芳等^[22]在脉冲电磁场对去卵巢大鼠细胞因子及激素水平的影响的研究报道,与假手术组比较,模型组PTH降低最明显,低强度治疗组(4mT),高强度治疗组(8mT)PTH水平较模型组均显著升高($P<0.05$),且高强度组明显高于低强度组($P<0.05$)。

1.6 细胞凋亡的研究

绝经后骨质疏松的发病与雌激素缺乏引起的骨细胞凋亡增加有关。因此,抑制骨细胞的异常凋亡有利于绝经后骨质疏松的治疗^[29]。

白孟海等^[30]观察脉冲电磁场对去势大鼠骨髓源性破骨细胞样细胞(OLC)形成变化及凋亡的影响。使用频率分别为1.5Hz、2Hz、75Hz的PEMFs,1次/d,每次30min,对培养的破骨细胞进行治疗2周后观察破骨细胞变化并计数。Hoechst33258染色结果显示,正常组和2Hz治疗组凋亡数明显多于模型组,提示脉冲电磁场能使大鼠骨髓体外培养破骨细胞凋亡数增加,频率为2Hz的效果最佳。Chang等^[31]研究也发现PEMFs可以促进破骨细胞凋亡。谢肇等^[32]通过透射

电镜观察到OVX组骨细胞多处于退变相,细胞器减少,细胞体积缩小,骨细胞与骨陷窝间出现大小不一间隙,间隙中含有絮状物,陷窝壁出现嗜银板层,甚至出现凋亡征象。而雌激素治疗组、BEMF治疗组及假手术组显示骨细胞功能活跃未见典型凋亡骨细胞。表明BEMF显著抑制了骨细胞凋亡。

2 细胞水平的实验研究

2.1 低频脉冲电磁场对成骨细胞增殖和分化的影响

在非OP状态下,成骨细胞和破骨细胞通过“偶联”机制保持动态平衡,维持正常的骨重建。成骨细胞不仅是骨形成的直接承担者,而且通过细胞与细胞(cell-to-cell)直接接触方式调节破骨细胞分化、增殖、生存、融合功能,所以是骨形成的关键因素。在绝经后骨质疏松状态,激活的成骨细胞和破骨细胞的数量都会增加,但单个成骨细胞形成新骨的能力下降是导致骨量和骨强度下降的根本原因^[33]。即成骨细胞的成骨活性对维持正常的骨量和骨强度有重要意义,因此也成为了目前的研究热点。

基础研究表明PEMFs可以促进骨形成,抑制骨吸收,延缓骨量丢失。PEMFs通过增加成骨细胞数量、活性和抑制成骨细胞凋亡直接促进骨形成。PEMFs对大鼠颅骨成骨细胞(ROB)的影响主要表现在促进其分化,且这种作用存在较为敏感的“强度窗”效应。李志锋等^[34]将ROB暴露于50Hz、0.14mT、0.16mT和0.18mT的PEMFs进行干预,测定细胞增殖率、ALP活性和BMP-2mRNA的表达。结果显示0.14mT的PEMFs对ROB增殖和分化均无明显影响;0.16mT、0.18mT的PEMFs可明显提高ALP活性,并上调BMP-2mRNA表达。Tsai MT等^[35]将大鼠颅骨成骨细胞分别暴露于磁场为0.13mT、0.24mT和0.32mT的PEMFs中,波宽为300Vs的矩形方波,频率7.5Hz。观察发现2h组和8h组0.13mT磁场组细胞数量在第6天和第12天增加,8h组在第18天细胞数目减少。ALP表达在第12天和第18天先减少后增加。而0.32mT组在观察时间内抑制了细胞增殖,但使ALP表达增高。结果表明PEMFs在一定的刺激强度下可以影响成骨细胞的增殖和分化。

王志平等^[36]观察脉冲电磁场对脱钙骨基质(demineralized bone matrix, DBM)诱导人骨髓间充质干细胞(human mesenchymal stem cells, hMSCs)成骨分化的影响,发现PEMFs与DBM联合对hMSCs的成骨诱导要强于PEMF或DBM的单独作用,且随着磁场应用时间的延长更加明显。另外PEMF对DBM诱导hMSCs成骨分化具有明显的协同效应,可能是通过PEMF增强hMSCs对BMPs等成骨活性因子的反应性来实现的。Tsai等^[37]使用300ms,频率7.5Hz的矩形方波刺激hMSCs,发现在磁场暴露后期阶段,磁场组观察到细胞数目更多的成骨细胞,同时有成骨细胞早期表达基因

Runx2/Cbfa1和ALP上调。方真华等^[38]观察脉冲电磁场刺激后,小鼠MSCs体外成骨分化情况。研究结果提示50Hz,正弦波形,强度1mT脉冲电磁场干预一定时间后,能够增强小鼠骨髓间充质干细胞碱性磷酸酶及I型胶原的表达,促进其分化成骨。

曹炜鹏等^[39]观察脉冲电磁场对小鼠胚胎干细胞向成骨细胞分化的影响。提示50Hz,1.1mT的PEMFs可以促进小鼠胚胎干细胞向成骨细胞分化,而且脉冲电磁场和常规化学诱导剂联合应用会产生协同效应,其成骨诱导效果优于两者单独应用。

2.2 低频脉冲电磁场对破骨细胞增殖和分化的影响

破骨细胞由血源单核前体发育成熟,骨吸收是其主要功能。破骨细胞的分化增殖受到多种激素和细胞因子的调节。其中,IL-1、IL-6和TNF- α 受到雌激素的调节,是导致绝经后骨质疏松最主要的因素^[40]。

PEMFs还可以通过抑制破骨细胞的数量和活性,加速破骨细胞凋亡间接促进骨形成。Chang K等的一系列研究发现PEMFs刺激可以抑制去势大鼠破骨细胞的数量,降低血清中与溶骨相关的细胞因子IL-1、IL-6^[41]和前列腺素PGE₂^[42]的水平来延缓去势大鼠胫骨量的丢失,增强骨强度。并表明低强度的PEMFs可以通过上调破骨细胞培养系中OPG/RANKL的比值而抑制破骨细胞的数量和骨吸收活性,而高强度的PEMFs则可以下调破骨细胞培养系中OPG/RANKL的比值,增加破骨细胞的分化和提高骨吸收的活性^[43]。Chang等^[31]发现经PEMFs每天作用8h和16h组的破骨细胞的凋亡率较对照组升高,而作用1h对破骨细胞凋亡没有显著影响。白孟海等^[30]使用频率分别为1.5Hz、2Hz、75Hz的PEMFs,1次/d,每次30min,对培养的破骨细胞进行治疗2周后观察大鼠骨髓体外培养破骨细胞形成数量减少,频率为2Hz的效果最佳。

2.3 低频脉冲电磁场对其他细胞增殖和分化的影响

适当强度的低频脉冲磁场可以促进体外软骨细胞的增殖和分化。严广斌等^[44]等使用不同强度的低频脉冲磁场对由兔MSCs诱导分化的软骨细胞进行电磁辐射。脉冲磁场的频率为2Hz,强度分别为0.5A/m、1A/m、2A/m、3A/m,波形为梯形方波,每天刺激2次,每次30min,连续7d。结果显示经过PEMFs作用的软骨细胞及硫酸葡萄糖胺聚糖含量有明显增加。细胞硫酸葡萄糖胺聚糖含量随着施加脉冲电磁场刺激强度的增加而增加,但2.0A/m与3.0A/m的刺激强度组氨基己糖多糖含量无明显改变。丁然等^[45]研究发现,采用强度为1mT、频率为50MHz的脉冲电磁场能促进前软骨干细胞向成熟软骨细胞增殖分化。

研究报道PEMFs可以诱导大鼠MSCs向心肌样细胞分化。朱淑霞等^[46]使用50Hz脉冲低频电磁场刺激5-aza诱导7d后的MSCs,根据不同的场强0.5mT、1mT、5mT分为A、B、C

组,每组又按每天不同的作用时间 10min、20min、30min、60min 分为 1、2、3、4 亚组。通过 Western 印迹法检测不同条件下心肌钙蛋白 T(cTnT)的变化。提示 50Hz 的 0.5—5mT 感应强度的 PEMFs 作用 20—30min 为促进体外 5-aza 诱导 MSCs 向心肌方向分化的有效窗口。

PEMFs 可以促进 hMSCs 细胞向多谱系分化的潜能。Sun LY 等^[47]用 PEMFs 作用 hMSCs 细胞 8h/天,脉冲磁场串刺激的时限为 4.5ms,脉冲频率为 15Hz,每串刺激含 20 个脉冲。经 PEMFs 作用 24h 后 hMSCs 细胞显著增长。尽管在指数增长期 hMSCs 的增长率并没有显著增加,但在成倍增长阶段细胞密度增加 20%—60%。PEMFs 作用 12—16h 后出现了许多新分裂的细胞。PEMFs 在适当的条件下可以诱导骨髓干细胞向软骨细胞、心肌样细胞及多项分化,但其诱导分化需要探索适当的强度和频率,并且存在有效窗口。

目前尚不清楚脉冲电磁场是如何引起骨中细胞行为的改变,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,成骨细胞暴露于磁场中,其 DNA 和 cAMP 同步升高^[47—49];②增加钙离子内流,调节胞内钙离子浓度,借钙离子的第二信使作用改变细胞行为^[50—52];③通过物理效应直接促进细胞的增殖与分化^[53—54]。

3 小结

PEMFs 已作为一种安全有效的治疗手段被人们接受,但由于在实验环境及磁场参数的选择上存在差异,影响了实验结果和可重复性,甚至出现矛盾的结果。大量研究证实,PEMFs 对骨质疏松具有治疗作用,但不同参数 PEMFs 治疗骨质疏松的疗效目前还存在争议。何成奇等^[55]采用 2Hz、8Hz、16Hz 的 PEMFs 作用于去势大鼠,发现这三种频率的 PEMFs 对大鼠骨钙含量的影响没有显著性差异。在频率为 8Hz,强度分别为 0.77mT、3.82mT 和 9.87mT 的磁场环境中治疗 40min,共 30d 的去势大鼠中,发现 3.82mT 的强度对大鼠骨钙含量增加最多^[56]。而频率为 8Hz,强度为 3.8mT 的 PEMFs 分别干预去势大鼠 20min、40min、60min 后,其骨钙含量的维持效果相同^[58]。多数研究结果表明,低能量、低频率的 PEMFs 对骨细胞有作用^[57]。目前公认的是要应用低频率、低强度的脉冲电磁场,但究竟具体应该使用多大的参数值及各参数间该如何实现最佳配置仍需一个标准。另外种属间反映的差异性也鲜有报道。

上述大量研究从动物实验和离体细胞培养的角度探讨了 PEMFs 对原发性骨质疏松及其相关因素的影响。从组织水平上看,实验证实 PEMFs 可以从细胞因子、细胞凋亡、骨生化指标、钙调激素方面影响骨形成与骨吸收,从而表现出骨生物力学和骨密度的改变。从细胞水平上看,PEMFs 可以加速成骨细胞的增殖和分化,而降低破骨细胞的增殖和分化,

影响骨代谢。随着 PEMFs 对骨质疏松机理研究的更加深入,分子生物学研究手段的进步,PEMFs 对骨质疏松相关基因表达,转录调控和蛋白质修饰等更加深入的研究将成为热点。

参考文献

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性、继发性骨质疏松症及骨质疏松性骨折和其他部分有关骨矿盐代谢病的诊疗指南[J].骨质疏松和骨矿盐疾病基础与临床,2006,5(1):1—6.
- [2] 李恩,薛延,王洪复,等.骨质疏松鉴别诊断与治疗[M].北京:人民卫生出版社,2005.87—479.
- [3] Martin RB, Cutman W. The effect of electric fields on osteoporosis of disuse[J]. Calcif Tissue Res, 1978, 25(1):23—27.
- [4] Bassett CA. Fundamental and practical aspects of therapeutic uses of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) [J]. Crit Rev Biomed Eng, 1989, 17(5):451—529.
- [5] 李晨,张蓉,刘振国,等.PEMFs 对绝经后骨质疏松症的影响[J].现代生物医学进展,2009,9(3):482—485.
- [6] 肖登,杨霖,雷中杰,等.不同治疗时间脉冲电磁场对去卵巢大鼠股骨生物力学性能的影响[J].四川大学学报(医学版),2010,41(2):296—298.
- [7] 谢肇,李起鸿,许建中,等.仿生脉冲电磁场对 OVX-OP 大鼠骨密度与生物力学相关关系的影响[J].中国骨质疏松杂志,2006,12(6):582—585.
- [8] 万玉民,马永洁,王红晖,等.低频磁场对后肢去负荷大鼠骨代谢的影响[J].中国骨质疏松杂志,2006,12(4):350—353.
- [9] 申广浩,罗二平,路丽华,等.不同强度脉冲电磁场对大鼠骨质疏松的影响[J].第四军医大学学报,2007,28(23):2132—2133.
- [10] 王君峰,刘春生,马霞.低频脉冲电磁场对去势大鼠骨与关节软骨生物力学性能的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,2(17):3368—3371.
- [11] Siris ES, Chen YT, Abbott TA, et al. Bone mineral density thresholds for pharmacological intervention to prevent fractures [J]. Arch Intern Med, 2004, 164(10):1108—1112.
- [12] 沈伟伟,赵建华.脉冲电磁场对废用性骨质疏松大鼠骨密度和血清转化生长因子 β 1 的影响[J].第三军医大学学报,2009,31(10):935—937.
- [13] 刘志浩,陈文华,余波.脉冲电磁场与运动对骨质疏松大鼠骨密度的影响[J].中国康复理论与实践,2009,15(4):333—334.
- [14] 何成奇,王维,肖登,等.不同频率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[J].中国康复医学杂志,2007,22(4):303—305.
- [15] Bodamyali T, Bhatt B, Hughes FJ, et al. Pulsed electromagnetic fields simultaneously induce osteogenesis and upregulate transcription of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in rat osteoblasts in vitro[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 250(2):458—461.
- [16] 于志锋,顾淑珠,高建军,等.去势大鼠血清 ALP 动态及骨髓细胞骨形成相关基因表达研究[J].中国骨质疏松杂志,2004,10(2):152—154.
- [17] 白孟海,葛宝丰,白洁,等.脉冲电磁场对去势大鼠血清 ALP 及体外培养骨髓破骨细胞变化的研究[J].西北国防医学杂志,2010,31(2):108—109.
- [18] Levy MM, Joyner CJ, Virdi AS, et al. Osteoprogenitor cells of mature human skeletal muscle tissue: an in vitro study[J]. Bone, 2001, 29(4):317—322.
- [19] Marie P. Growth factors and bone formation in osteoporosis: roles for IGF-I and TGF- β [J]. Rev Rhum Engl Ed, 1997, 64(1):44—53.

- [20] 谢肇,吴雪晖,许建中,等.BEMF对OVX-OP大鼠骨组织TGF- β 1表达的影响及意义[J].重庆医学,2007,36(8):726—728.
- [21] Stopińska-Głuszak U, Waligóra J, Grzela T, et al. Effect of estrogen/progesterone hormone replacement therapy on natural killer cell cytotoxicity and immunoregulatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells of postmenopausal women[J]. J Reprod Immunol, 2006, 69(1):65—75.
- [22] 杨琼芳,张力,华李颖.脉冲电磁场对去卵巢大鼠细胞因子及激素水平的影响[J].实用老年医学,2009,23(3):229—231.
- [23] Suda T, Takahashi N, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation[J]. Endocr Rev, 1992, 13(1):66—80.
- [24] 程自峰,白孟海,韦哲.脉冲电磁场对去势大鼠腰椎局部细胞因子及骨组织学影响[J].西北国防医学杂志,2009,30(3):199—201.
- [25] 谢肇,吴雪晖,许建中,等.PEMF对OVX-OP大鼠骨组织IL-6表达的影响及意义[J].重庆医学,2007,36(9):790—792.
- [26] 范宏斌,王全平,蒋尔鹏,等.原发性骨质疏松症患者中轴骨IL-6, bFGF的免疫组化[J].中国矫形外科杂志,2001,8(4):363—365.
- [27] 谢肇,李起鸿,许建中,等.BEMF对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织bFGF表达的影响及意义[J].中国骨质疏松杂志,2007,13(2):96—100.
- [28] 余雷,罗二平,申广浩,等.低强度脉冲电磁场治疗骨质疏松的作用[J].中国临床康复,2003,7(12):1801—1802.
- [29] Tomkinson A, Reeve J, Shaw RW, et al. The death of osteocytes via apoptosis accompanies estrogen withdrawal in human bone[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82(9):3128—3135.
- [30] 白孟海,葛宝丰,韦哲.脉冲电磁场对去势大鼠骨髓源细胞体外培养破骨细胞变化的影响[J].中国骨伤,2009,22(10):727—729.
- [31] Chang K, Chang WH, Tsai MT, et al. Pulsed electromagnetic fields accelerate apoptotic rate in osteoclasts[J]. Connect Tissue Res, 2006, 47(4):222—228.
- [32] 谢肇,吴雪晖,许建中,等.BEMF对OVX-OP大鼠骨细胞凋亡的影响[J].重庆医学,2007,36(7):610—615.
- [33] Lerner UH. Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis[J]. J Dent Res, 2006, 85(7):584—595.
- [34] 李志锋,程国政,陈克明,等.不同强度脉冲电磁场对大鼠颅骨成骨细胞增殖与分化的影响[J].西北国防医学杂志,2010,31(3):179—181.
- [35] Tsai MT, Chang WH, Chang K, et al. Pulsed electromagnetic fields affect osteoblast proliferation and differentiation in bone tissue engineering[J]. Bioelectromagnetics, 2007, 28(7):519—528.
- [36] 王志平,柳峰,赵建华.脉冲电磁场对脱钙骨基质诱导人骨髓干细胞成骨分化的影响[J].第三军医大学学报,2010,32(9):947—950.
- [37] Tsai MT, Li WJ, Tuan RS, et al. Modulation of osteogenesis in human mesenchymal stem cells by specific pulsed electromagnetic field stimulation[J]. J Orthop Res, 2009, 27(9):1169—1174.
- [38] 方真华,陈明,谢鸣,等.脉冲电磁场对小鼠骨髓间充质干细胞体外成骨分化的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(49):9692—9696.
- [39] 曹伟鹏,周强,徐海伟,等.脉冲电磁场诱导小鼠胚胎干细胞向成骨细胞分化[J].第三军医大学学报,2009,31(9):772—775.
- [40] Hartig M, Joos U, Wiesmann HP. Capacitively coupled electric fields accelerate proliferation of osteoblast-like primary cells and increase bone extracellular matrix formation in vitro[J]. Eur Biophys J, 2000, 29(7):499—506.
- [41] Chang K, Hong-Shong Chang W, Yu YH, et al. Pulsed electromagnetic field stimulation of bone marrow cells derived from ovariectomized rats affects osteoclast formation and local factor production[J]. Bioelectromagnetics, 2004, 25(2):134—141.
- [42] Chang K, Chang WH. Pulsed electromagnetic fields prevent osteoporosis in an ovariectomized female rat model: a prostaglandin E2-associated process[J]. Bioelectromagnetics, 2003, 24(3):189—198.
- [43] Chang K, Chang WH, Huang S, et al. Pulsed electromagnetic fields stimulation affects osteoclast formation by modulation of osteoprotegerin, RANK ligand and macrophage colony-stimulating factor[J]. Journal of Orthopaedic Research, 2005, 23(6):1308—1314.
- [44] 严广斌,钱东阳,卢永辉,等.低频脉冲磁场对兔软骨细胞生长作用的实验研究[J].中华关节外科杂志,2010,4(2):239—244.
- [45] 丁然,游洪波,李锋,等.脉冲磁场与前软骨干细胞向成熟软骨细胞的增殖与分化:与Ihh/PTHrP信号通路活性有关吗?[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(20):3615—3619.
- [46] 朱淑霞,宋治远,罗向东,等.电磁场干预大鼠骨髓间充质干细胞向心肌方向诱导分化的研究[J].武警医学院学报,2009,18(5):377—379.
- [47] Sun LY, Hsieh DK, Yu TC, et al. Effect of pulsed electromagnetic field on the proliferation and differentiation potential of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Bioelectromagnetics, 2009, 30(4):251—260.
- [48] Wei Y, Xiaolin H, Tao S. Effects of extremely low-frequency-pulsed electromagnetic field on different-derived osteoblast-like cells[J]. Electromagn Biol Med, 2008, 27(3):298—311.
- [49] Denaro V, Cittadini A, Barnaba SA, et al. Static electromagnetic fields generated by corrosion currents inhibit human osteoblast differentiation[J]. Spine, 2008, 33(9):955—959.
- [50] Schwartz Z, Simon BJ, Duran MA, et al. Pulsed electromagnetic fields enhance BMP-2 dependent osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. J Orthop Res, 2008, 26(9):1250—1255.
- [51] Schmidt-Rohlfing B, Silny J, Woodruff S, et al. Effects of pulsed and sinusoid electromagnetic fields on human chondrocytes cultivated in a collagen matrix[J]. Rheumatol Int, 2008, 28(10):971—977.
- [52] Sammons J, Ahmed N, El-Sheemy M, et al. The role of BMP-6, IL-6, and BMP-4 in mesenchymal stem cell-dependent bone development: effects on osteoblastic differentiation induced by parathyroid hormone and vitamin D(3)[J]. Stem Cells Dev, 2004, 13(3):273—280.
- [53] Callaghan MJ, Chang EI, Seiser N, et al. Pulsed electromagnetic fields accelerate normal and diabetic wound healing by increasing endogenous FGF-2 release[J]. Plast Reconstr Surg, 2008, 121(1):130—141.
- [54] Galindo FG, Vernier PT, Dejmek P, et al. Pulsed electric field reduces the permeability of potato cell wall[J]. Bioelectromagnetics, 2008, 29(4):296—301.
- [55] 何成奇,王维,肖登,等.不同频率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[J].中国康复医学杂志,2007,22(4):303—305.
- [56] 何成奇,肖登,王维,等.不同强度脉冲电磁场对去势大鼠股骨骨钙含量的影响[J].中国康复医学杂志,2007,22(3):215—217.
- [57] 何成奇,王维,肖登,等.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[J].中国康复医学杂志,2006,21(12):1078—1080.