

• 专题 •

## 仿生脉冲电磁场对去卵巢骨质疏松大鼠骨生物力学性能的影响

谢肇 李起鸿\* 孟萍 谭祖键

[摘要] 目的 观察仿生脉冲电磁场(BEMF)对去卵巢大鼠腰椎和股骨生物力学性能的影响。方法 6月龄雌性未孕 Wistar 大鼠 40 只随机分为模型组(A组)、假手术组(B组)、BEMF 治疗组(C组)、雌激素治疗组(D组)。A组、C组、D组行双侧卵巢切除术,B组行假手术。术后 8 w,D组肌肉注射苯甲酸雌二醇,0.5 mg/kg,1 次/2 w;C组暴露于 BEMF 治疗,1 h/d,1 次/d。A组、B组作为对照组。治疗 10 w 后,用 CHALLENGER 双能 X 线骨密度测定仪活体测定大鼠腰椎、股骨骨密度后处死各组实验动物,取出第 3 腰椎、右侧股骨用 INSTRON 1011 生物力学测试机测定生物力学指标。结果 BEMF 治疗后,大鼠腰椎、股骨的结构力学(最大位移、最大载荷、最大能量吸收)和材料力学(最大应力、最大应变、弹性系数)均有改善( $P < 0.05$ )。结论 BEMF 可改善去卵巢大鼠腰椎和股骨的生物力学性能,增强抗骨折能力。

[关键词] 仿生脉冲电磁场;骨质疏松;生物力学性能

Effect of bionics pulsed electromagnetic fields on the biomechanical property of ovariectomized osteoporosis rats XIE Zhao, LI Qihong, MENG Ping, et al. Department of Orthopaedics, Xinan Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

[Abstract] Objective To observe the effect of bionics pulsed electromagnetic fields (BEMF) on the biomechanical property of ovariectomized Wistar rats. Methods Forty 6-month old female Wistar rats were randomly divided into four different groups: ovariectomy group (group A), sham operation group (group B), BEMF + ovariectomized group (group C) and estrogen + ovariectomized group (group D). All rats were subjected to bilateral ovariectomy except group B. 8 weeks after operation, rats of group D were given estrogen 0.5 mg/kg/2 w. Rats of group C were exposed to BEMF, 1 h/d. Rats of group A and B were given nothing as control groups. All treatments was being kept for 10 weeks. After treatments finished, measuring the biomechanical property of femur and lumbar spine. Results There were significant differences in the biomechanical property between group D and group A, and group C and group A ( $P < 0.05$ ). Conclusion BEMF can improve the biomechanical property of ovariectomized Wistar rats significantly and increase the capability of resisting fracture significantly.

[Key words] bionics pulsed electromagnetic fields (BEMF); osteoporosis; biomechanical property

中图分类号:R681 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2004)10-0577-03

[本文著录格式] 谢肇,李起鸿,孟萍,等.仿生脉冲电磁场对去卵巢骨质疏松大鼠骨生物力学性能的影响[J].中国康复理论与实践,2004,10(10):577-579.

绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)是危害中老年女性健康的常见病,尽管药物的疗效较为肯定,但副作用大、顺从性差。愈来愈多的证据显示,生物物理疗法治疗骨质疏松具有更大的优越性,其中脉冲电磁场疗法是一重要思路<sup>[1]</sup>。本研究通过观察仿生脉冲电磁场(bionics pulsed electromagnetic fields, BEMF)对去卵巢骨质疏松大鼠腰椎、股骨生物力学的影响,初步探讨 BEMF 在绝经后骨质疏松治疗中的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物 6月龄雌性未孕 Wistar大鼠40只,

体质量(250±50)g,由第三军医大学实验动物中心提供,并按质量随机分为4组,其中3组行去势手术,1组行假去势手术。手术方法:乙醚吸入麻醉,无菌条件下做背侧切口,手术切除双侧卵巢,缝合切口。假手术大鼠步骤相同,但不切除卵巢。术后各组大鼠分笼饲养,在(24±2)℃、通风良好、湿度60%—70%条件下用标准实验室饲料喂养,自由饮水。30只去势大鼠随机分为3组:骨质疏松模型组(A组)、BEMF治疗组(C组)和雌激素治疗组(D组),每组各10只;10只假手术组(B组)大鼠作为正常对照。手术后4w、6w、8w分别测量A组、B组大鼠腰椎骨密度。8w时,两组大鼠腰椎骨密度出现显著性差异(见表1),随于术后8w进行以下干预处理:①C组暴露于BEMF治疗,动物在磁场中自由活动,磁疗中心在腰部,作用范围10cm,1h/次,1次/d;②D组采用苯甲酸雌二醇肌肉注射,0.5mg/kg,1次/2w;③A组、B组不做任何处理。干预处理后10w处死各组大鼠。

作者单位:1. 400038 重庆市,第三军医大学西南医院骨科(谢肇、李起鸿、谭祖键);2. 400038 重庆市,第三军医大学西南医院老年科(孟萍)。作者简介:谢肇(1967-),男,安徽颍上县人,博士,主治医师,主要研究方向:骨科临床及骨质疏松治疗。\*通讯作者:李起鸿(1939-),男,江苏高邮县人,教授,博士生导师。

1.2 实验仪器及药物 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 Hz、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屈承端教授提供)。苯甲酸雌二醇由上海第九制药厂生产(1995 沪准字 009004)。CHALLENGER 双能 X 线骨密度测定仪为法国 GK 公司产品,附有小动物骨密度测定软件;INSTRON 1011 型万能材料试验机由重庆大学生产。

1.3 标本采集与制备 干预处理 10 w 后,各组大鼠统一开胸放血处死。处死前各组大鼠放置于 CHALLENGER 双能 X 线骨密度仪探头下,应用小动物软件进行腰椎扫描,测定骨密度值。取出 L<sub>3</sub> 椎体剔净软组织,用剪刀小心剪下椎间盘、棘突及附件,并用细砂纸打磨成上下平面平行、与纵轴垂直的三棱柱。标本制取后用生理盐水纱布包裹,置于 -20℃低温冰箱保存。取右侧股骨剔净软组织,标本制取后用生理盐水纱布包裹,置于 -20℃低温冰箱保存。

1.4 生物力学测定 生物力学实验前取出冰箱冻存的大鼠股骨、腰椎,室温下复温。椎体压缩测试:将磨制好的椎体置于实验机上,加载速度 1 mm/min 进行测试,其结构力学参数由载荷—变形曲线获得,材料力学参数由应力—应变曲线获得。股骨生物力学测试:将股骨置于实验机上,加载速度 2 mm/min,跨距 17 mm,进行三点弯曲实验,记录其载荷—变形曲线与应力—应变曲线,生物力学参数可由上述两条曲线获得。计算机自动打印输出结果。

1.5 统计学处理 所有数据均以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用

SPSS 10.0 统计软件进行多组间单因素方差分析,双样本间 *t* 检验。

2 结果

2.1 去势后 8 w 骨密度测定 去势术后 8 周,A 组与 B 组大鼠骨密度出现显著性差异(腰椎: *P* < 0.01;股骨: *P* < 0.05),表明去势术后 8 w 造模成功,见表 1。

表 1 去势后 8 w A、B 组大鼠椎体骨密度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	腰椎 BMD(g/cm <sup>2</sup> )	股骨 BMD(g/cm <sup>2</sup> )
A 组	0.190 ± 0.011 <sup>b</sup>	0.166 ± 0.026 <sup>a</sup>
B 组	0.251 ± 0.029	0.195 ± 0.027

注:与 B 组比较,a: *P* < 0.05;b: *P* < 0.01。

2.2 治疗后 10 w 生物力学测定

2.2.1 股骨生物力学性能:①C 组大鼠股骨的结构力学(最大位移、最大载荷、最大能量吸收,下同)和材料力学(最大应力、最大应变、弹性模量,下同)均较 A 组有明显改善( *P* < 0.01),但仍未达到正常水平,其中结构力学与 A 组的差异( *P* < 0.05)小于材料力学( *P* < 0.01);②C 组大鼠股骨的结构力学优于 D 组( *P* < 0.05),材料力学与其无显著性差异( *P* > 0.05);③C 组大鼠股骨最大载荷较 A 组增加 13.3%;D 组较 A 组增加 8.3%,见表 2。

2.2.2 椎体生物力学性能:①C 组大鼠椎体的结构力学和材料力学均较 A 组有明显改善( *P* < 0.05—0.01),其中结构力学的差异大于材料力学;②与 B 组相比,C 组大鼠椎体结构力学和材料力学仍未达到正常水平,其中结构力学的差别小于于材料力学;③C 组大鼠椎体的结构力学和材料力学与 D 组无显著性差异( *P* > 0.05);④C 组大鼠椎体的最大载荷较 A 组增加 22%;D 组较 A 组增加 13.6%,见表 3。

表 2 各组大鼠的股骨生物力学参数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	最大位移 (mm)	最大载荷 (N)	最大能量吸收 (J)	最大应力 (MPa)	最大应变 (MPa)	弹性模量 (MPa)
A 组	0.663 ± 0.14 <sup>b</sup>	101.43 ± 5.63 <sup>b</sup>	75.10 ± 20.16 <sup>b</sup>	76.15 ± 6.86 <sup>b</sup>	0.076 ± 0.01 <sup>b</sup>	3139 ± 733 <sup>b</sup>
B 组	0.902 ± 0.08	116.12 ± 7.67	98.20 ± 18.12	96.71 ± 7.09	0.093 ± 0.01	4331 ± 849
C 组	0.901 ± 0.05 <sup>d</sup>	114.94 ± 3.02 <sup>d,c</sup>	90.00 ± 60.75 <sup>c</sup>	92.58 ± 6.98 <sup>d</sup>	0.0914 ± 0.006 <sup>d</sup>	4142 ± 842 <sup>b,d</sup>
D 组	0.875 ± 0.07 <sup>a,d</sup>	109.93 ± 4.08 <sup>a,d</sup>	89.30 ± 4.37 <sup>a</sup>	89.58 ± 6.99 <sup>a,d</sup>	0.0911 ± 0.006 <sup>d</sup>	4322 ± 693 <sup>b</sup>

注:与 B 组比较,a: *P* < 0.05;b: *P* < 0.01;与 A 组比较,c: *P* < 0.05;d: *P* < 0.01;与 D 组比较,e: *P* < 0.05。

表 3 各组大鼠的椎体生物力学参数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	最大位移 (mm)	最大载荷 (N)	最大能量吸收 (J)	最大应力 (MPa)	最大应变 (MPa)	弹性模量 (MPa)
A 组	0.324 ± 0.056 <sup>b</sup>	105.35 ± 4.02 <sup>b</sup>	127.39 ± 14.60 <sup>b</sup>	16.24 ± 1.63 <sup>b</sup>	1.72 ± 0.26 <sup>b</sup>	503.11 ± 190.61 <sup>b</sup>
B 组	0.408 ± 0.065	132.52 ± 15.36	156.92 ± 26.09	24.39 ± 3.69	2.68 ± 0.52	871.94 ± 156.69
C 组	0.399 ± 0.066 <sup>d</sup>	128.56 ± 15.37 <sup>d</sup>	153.28 ± 25.46 <sup>c</sup>	22.11 ± 4.29 <sup>c</sup>	2.48 ± 0.54 <sup>c</sup>	867.93 ± 270.56 <sup>d</sup>
D 组	0.383 ± 0.032 <sup>c</sup>	119.72 ± 7.55 <sup>a,d</sup>	149.45 ± 20.11 <sup>c</sup>	15.97 ± 4.01 <sup>b,c</sup>	2.30 ± 0.54 <sup>c</sup>	807.01 ± 138.26 <sup>d</sup>

注:与 B 组比较,a: *P* < 0.05;b: *P* < 0.01;与 A 组比较,c: *P* < 0.05;d: *P* < 0.01。

3 讨论

雌性大鼠卵巢切除造成骨质疏松模型正确模拟了

女性雌激素减少引起的骨质疏松的特征,是研究绝经后骨质疏松症的优秀模型<sup>[2]</sup>。本研究发现,去卵巢 8 w

后,模型组大鼠骨密度显著降低,表明大鼠骨质疏松模型建立成功。成年大鼠骨重建周期为 30—40 d<sup>[3]</sup>,为尽可能得到明显的结果,本实验将 BEMF 的治疗时间定为 10 w。

绝经后骨质疏松症导致的骨质疏松性骨折是其危害人体健康的主要原因<sup>[4]</sup>。因而增强抗骨折能力,降低骨折发生率是治疗绝经后骨质疏松的主要目的。骨生物力学参数可较直接地反映骨的抗骨折能力,骨生物力学性能的改善是评定某些治疗手段有效性的客观依据。

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,有机材料与骨的柔韧性有关。骨在承受外力时,外部形态和内部结构随之改变,这种改变直接反映为骨结构力学与材料力学性能的变化<sup>[5]</sup>。骨质疏松研究领域常用的结构力学指标主要包括:最大载荷、最大位移、最大能量吸收等,反映骨的整体抗骨折能力;材料力学指标包括:最大应力、最大应变、弹性模量等,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。

腰椎主要由松质骨构成。由于骨的各向性特点,骨小梁的纵向和横向结构不同。骨强度在不同方向上存在很大差别。考虑人体直立行走的特点,本研究采取纵向加压,目的在于研究椎体的抗压能力。研究显示,大鼠去卵巢 18 w 时,椎体的结构力学、材料力学性能显著降低。雌激素降低可影响椎体的大小和形态,而骨的微细结构包括空间微细结构的细微变化<sup>[6]</sup>或破坏<sup>[7,8]</sup>(如显微骨折、骨小梁变薄或减少,及其空间结构的改变)以及骨构成成分的改变(如钙盐的丢失)<sup>[9]</sup>、骨胶原空间结构的改变和性能下降等则导致材料力学的减弱。股骨干由皮质骨构成,雌激素缺乏可导致成年后骨外膜成骨小于骨内膜破骨,股骨横截面积增加。按照力学原理,骨分布离中心越远,骨的整体强度越大,并且与距离的平方成正比,即股骨可随其皮质的净扩大而使其力学性能得到一定程度的代偿<sup>[10]</sup>。但随着骨质疏松的加重,这种代偿优势会消失。本研究显示,大鼠去卵巢后 18 w 时,股骨的结构力学、材料力学性能显著降低。由于雌激素缺乏可引起凋亡骨细胞增加、积聚,使皮质骨内形成大量的微损伤和修复微损伤形成的亚标准骨<sup>[11]</sup>,因此,材料力学可发生显著退变。

雌激素对绝经后骨质疏松的治疗作用既往已有大量研究证实。本研究发现,BEMF 治疗 10 w 后,大鼠腰椎、股骨的结构力学、材料力学性能均有明显改善,与雌激素结果相似。

骨的几何形态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<sup>[12]</sup>。股骨、椎体的最大载荷是椎体所能承受的最大挤压力,该参数的提高表示椎体抗挤压和抗破坏的能力得到增强。骨的最大位移、最大能量吸收是反映骨韧性的指标,这些指标的改善表明骨的脆性减小,破坏前需要更多的能量。弹性模量、应力、应变是反映骨质内特性的指标,主要受骨密度和骨小梁定向影响,与骨的尺寸大小无关。结构力学、材料力学参数的改善,说明 BEMF 不但逆转了雌激素减少引起的结构变化,也改善了骨的微细结构。弹性模量、应力、应变的变化可能与骨的细微结构变化、骨的构成成分改变和骨的胶原纤维性能的改变有关。同样,这些变化也直接影响骨的综合力学强度。

综上所述,BEMF 可显著提高绝经后骨质疏松模型大鼠的生物力学性能,且结构力学、材料力学均有改善,增强了腰椎、股骨的抗骨折能力,因而是治疗绝经后骨质疏松潜在的有效方法之一。

#### [参考文献]

- [1] Bassett CA. Bone biology[J]. Science, 1987, 236(4797): 11.
- [2] 刘忠厚. 骨质疏松学[M]. 北京: 科学技术出版社, 1998. 508.
- [3] Stromsoe K, Hoiseth A, Alho A, et al. Bending strength of the femur in relation to non-invasive bone mineral assessment[J]. J Biomech, 1995, 28(7): 857—861.
- [4] Riggs BL, Melton LJ 3rd. Involutional osteoporosis[J]. N Engl J Med, 1986, 314(26): 1676—1686.
- [5] 王以进, 王介麟. 骨科生物力学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1989. 156.
- [6] 戴克戎. 骨质疏松症导致骨生物力学性能下降的机理[J]. 中华骨科杂志, 1997, 17(6): 405.
- [7] Hahn M, Vogel M, Amling M, et al. Microcallus formations of the cancellous bone: a quantitative analysis of the human spine[J]. J Bone Miner Res, 1995, 10(9): 1410—1416.
- [8] Fazzalari NL. Trabecular microfracture[J]. Calcif Tissue Int, 1993, 53(Suppl 1): S143—147.
- [9] 陈一心, 韩祖斌. 雌性大鼠去势后骨矿盐的丢失[J]. 医用生物力学, 1996, 11(1): 51.
- [10] Windahl SH, Vidal O, Andersson G, et al. Increased cortical bone mineral content but unchanged trabecular bone mineral density in female ER beta(-/-) mice[J]. J Clin Invest, 1999, 104(7): 895—901.
- [11] 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.
- [12] Martin RB. Determinants of the mechanical properties of bones[J]. J Biomech, 1991, 24(suppl 1): 79—88.

(收稿日期: 2004-03-29)