

# 50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场对生长期大鼠骨密度的影响研究

高玉海, 周延峰, 李少锋, 李文苑, 蒯慧荣, 杨芳芳, 陈克明  
(兰州军区总医院全军创伤骨科研究所, 甘肃 兰州 730050)

**【摘要】** 目的: 探讨 50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场 (sinusoidal electromagnetic fields, SEMFs) 对 SD 大鼠骨密度 (bone mineral density, BMD) 的影响。方法: 将 30 只 1 月龄体重为 (110±10) g 的 SD 大鼠随机分为正常对照组和电磁场组, 各 15 只。分别给予对照组 50 Hz 0 mT 和电磁场组 50 Hz 1.8 mT 强度正弦交变电磁场干预, 1.5 h/d, 每周称取体重 1 次, 每天监测进食量变化, 6 周后腹腔注射麻醉大鼠并用双能 X 骨密度检测全身骨密度, 处死后检测股骨骨密度及椎体骨密度; ELISA 法测定血清骨钙素 (Osteocalcin, OC) 和血清抗酒石酸性磷酸酶 5b (tartrate-resistant acid phosphatase 5b, TRACP 5b); 剥离肝、肾、子宫称重, 计算器官指数并做 HE 切片做常规病理学检测分析。结果: 与对照组相比, 电磁场组大鼠各周体重、每日进食量未见明显变化; 2、4 周后全身骨密度无明显变化, 6 周后全身骨密度及离体股骨和椎骨骨密度显著增加; 血清 OC 表达量显著增加, 血清 TRACP 5b 表达量显著降低; 子宫、肝脏、脾脏 HE 染色未见病变, 脏器指数无异常。结论: 50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场能通过提高骨形成降低骨吸收相关因子的表达, 从而提高青年大鼠的峰值骨密度, 为临床电磁场预防骨质疏松的研究奠定基础。

**【关键词】** 电磁场; 骨密度; 大鼠

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.12.008

**Effect of 50 Hz 1.8 mT sinusoidal electromagnetic fields on bone mineral density in growing rats** GAO Yu-hai, ZHOU Yan-feng, LI Shao-feng, LI Wen-yuan, XI Hui-rong, YANG Fang-fang, and CHEN Ke-ming. Institute of Orthopaedics, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu, China

**ABSTRACT** **Objective:** To study effects of 50 Hz 1.8 mT sinusoidal electromagnetic fields (SEMFs) on bone mineral density (BMD) in SD rats. **Methods:** Thirty SD rats weighted (110±10) and aged 1 month were randomly divided into control group and electromagnetic field group, 15 in each group. Normal control group of 50 Hz 0 mT density and sinusoidal electromagnetic field group of 50 Hz 1.8 mT were performed respectively with 1.5 h/d and weighted weight once a week, and observed food-intake. Rats were anesthesia by intraperitoneal injection and dual energy X-ray absorptiometry were used to detect bone density of whole body, and detected bone density of femur and vertebral body. Osteocalcin and tartrate-resistant acid phosphatase 5b were detected by ELSA; weighted liver, kidney and uterus to calculate purtenance index, then detected pathologic results by HE. **Results:** Compared with control group, there was no significant change in weight every week, food-intake every day; no obvious change of bone density of whole body at 2 and 4 weeks, however bone density of whole body, bone density of excised femur and vertebra were increased at 6 weeks. Expression of OC was increased, and TRACP 5b expression was decreased. No change of HE has been observed in liver, kidney and uterus and organic index. **Conclusion:** 50 Hz 1.8 mT sinusoidal electromagnetic fields could improve bone formation to decrease relevant factors of bone absorbs, to improve peak bone density of young rats, in further provide a basis for clinical research electromagnetic fields preventing osteoporosis foundation.

**KEYWORDS** Electromagnetic fields; Bone density; Rats

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2017, 30(12): 1113-1117 www.zggszz.com

骨质疏松症由于发病率高起病隐匿而被称为

“无声杀手”。调查显示我国骨质疏松患者约 9 000 万, 占总人口的 7% 且因此而导致骨折数量呈递增趋势, 仅 2005 年因骨质疏松导致骨折治疗费用高达 83 亿<sup>[1]</sup>。坚持用药可降低骨折发生率, 但长期服用副作用较大。目前关于此类疾病的研究大多是老龄后预防骨质流失的探讨, 而青春期是骨组织结构形成的关键时期, 因此提高青春期骨密度能够延缓和预防骨质疏松的发生。电磁场作为一种物理疗法, 具有操作简

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81270963); 国家国际科技合作专项项目 (编号: 2015DFR30940); 甘肃省空间辐射生物学重点实验室开放基金 (编号: 2016GKL002)

Fund programs: Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81270963)

通讯作者: 陈克明 E-mail: chkeming@lut.cn

Corresponding author: CHEN Ke-ming E-mail: Chkeming@lut.cn

单、无创性、无感染的特点,且能为骨质疏松的预防带来新希望,因而被越来越多的学者广泛关注<sup>[2-4]</sup>。有研究<sup>[5]</sup>表明 50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场能够促进成骨细胞分化并促进骨形成相关基因的表达。本文选用 50 Hz 1.8 mT 的正弦交变电磁场对青年大鼠进行了干预实验,检测其相关的生物学特征及骨密度的变化,为临床电磁场对骨质疏松症的预防性研究提供理论依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验材料

**1.1.1 仪器** 双能 X 骨密度仪(GE 公司,美国),酶标仪(BioTek 公司,美国),BX51 正置显微镜(奥林巴斯,日本),低速离心机(北京医用离心机厂),低频电磁场骨质疏松治疗仪(本课题组、中国近代物理研究所、兰州理工大学信息工程学院共同研制)。

**1.1.2 主要试剂** 水合氯醛(中国人民解放军第一医院),无水乙醇(天津市富宇精细化工有限公司),二甲苯(天津市巴斯夫化工有限公司)。大鼠骨钙素血清试剂盒(Osteocalcin,OC.上海研吉公司),大鼠抗酒石酸性磷酸酶 5b(tartrate-resistant phosphatase 5b, TRACP 5b 上海岩吉公司)。

#### 1.2 实验动物及方法

选取 1 月龄 SPF 级雌性 SD 大鼠 30 只(由甘肃中医学院动物实验中心提供,许可证号:SCXK(甘)2011-0001),体重(110±10)g。将两组大鼠按体重随机分为对照组和电磁场组,各 15 只。各组大鼠置于塑料饲养框内标准饲料喂养,不限制饮食,且严格按照 SPF 级饲养规格控制好温度和湿度。实验开始前驯化 1 周。分别给予两组大鼠每天 50 Hz 0 mT、50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场 90 min 的干预。

#### 1.3 检测项目与方法

**1.3.1 体重测量及进食量检测** 每周称取 1 次大鼠体重。每天给予一定量的标准饲料,第 2 日称取剩余量,以此计算每天的饮食变化。

**1.3.2 骨密度检测** 磁场干预 2、4、6 周后用 100 g 0.3 ml 的剂量腹腔注射麻醉,将麻醉后的大鼠置于双能 X 骨密度仪进行全身骨密度测定。大鼠处死后,分离左侧股骨和整个椎体骨,将软组织剔除干净后,分别置于骨密度仪下检测股骨和椎骨骨密度。

**1.3.3 血清生化指标的检测** 将大鼠麻醉后,固定并剪刀剪开胸腔,用 10 ml 针管扎入心脏取血,待血液凝固后 5 000 r/min 离心 10 min,用移液枪吸取上清液并分装于 200 μl 的 EP 管中,-80 ℃ 保存;ELISA 试剂盒测定 OC、TRACP 5B 5b。按照说明书制定标准曲线,于酶标仪 450 nm 处测定 OD 值,并计算含量。以 OC 的含量和 TRACP 5B 5b 的含量表示

骨形成的快慢。

**1.3.4 器官指数的计算及 HE 切片** 处死大鼠后将肝、肾、肺、脾、子宫取出,剥离干净周围的脂肪组织并称取各器官的重量,计算器官指数:器官指数=(器官重量/大鼠体重×100%)。后迅速用 10%的甲醛溶液固定,石蜡切片后 HE 染色,进行病理学观察,评价电磁场副作用。

#### 1.4 统计学处理

采用 SPSS 16.0 进行统计学分析,计量资料数据采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,骨密度和血清生化指标不同组间比较采用单样本 t 检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

### 2 结果

#### 2.1 大鼠体重和进食量的变化

对照组和电磁场组在实验期间大鼠体重都随着时间的增长而增长;电磁场干预 2、3 周大鼠进食量有短暂的降低后升高的现象,后恢复平稳。但整体相比体重、进食量比较差异无统计学意义(P>0.05,表 1)。

表 1 两组大鼠体重和进食量变化表( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 Changes of body weight and food intake between two groups( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	体重(g)	进食量(g)
对照组	15	180.86±33.96	15.95±2.03
电磁场组	15	182.14±35.93	16.57±1.98
F 值	-	0.005	1.979
P 值	-	>0.05	>0.05

#### 2.2 骨密度的变化

2、4 周后大鼠全身骨密检测结果与对照比较差异无统计学意义(P>0.05),6 周后比较差异有统计学意义(P<0.01)。处死大鼠检测离体骨密度发现,电磁场组股骨骨密度和椎骨骨密度均有极显著差异(P<0.01,表 2)。

#### 2.3 血清 OC 和 TRACP 5b 的变化

与对照组相比,50 Hz 1.8 mT 电磁场组大鼠血清中 OC 的含量及 TRACP 5b 的比值差异均有统计学意义(P<0.01,表 3)。

#### 2.4 器官 HE 染色及器官指数的变化

从图 1 的病理切片观察发现,对照组子宫 HE 染色,腺体呈圆形或椭圆形,上皮细胞呈柱状,细胞排列整齐;肝脏 HE 染色,细胞呈多边形、条色状,排列整齐,肝窦清晰;脾脏 HE 染色,血管丰富,细胞种类多,细胞染色清晰。电磁场组子宫 HE 染色,腺体呈圆形或椭圆形,上皮细胞呈柱状,细胞排列整齐,无病变细胞;肝脏 HE 染色,细胞呈多边形、条色状,

表 2 两组大鼠骨密度检测结果( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.2 Bone mineral densities in rats between two groups( $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数(只)	全身骨密度(g/cm <sup>2</sup> )			股骨骨密度(g/cm <sup>2</sup> )	椎骨骨密度(g/cm <sup>2</sup> )
		2 周	4 周	6 周		
对照组	15	0.140±0.003	0.143±0.003	0.150±0.003	0.135±0.004	0.140±0.002
电磁场组	15	0.142±0.003	0.145±0.004	0.158±0.003	0.140±0.002	0.152±0.004
F 值	-	2.627	3.884	51.799	15.409	104.182
P 值	-	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01

表 3 两组大鼠血清骨钙素的含量和骨保护素与大鼠核因子  $\kappa$ B 受体活化因子配基比值( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.3 Content of bone gla protein ,osteoprotegerin and nuclear factor kappa B receptor activation factor ligation ratio between two groups( $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数(只)	骨钙素 (ng/ml)	抗酒石酸酸性磷酸酶 5b(U/L)
对照组	15	363.50±5.59	679.51±12.81
电磁场组	15	473.74±21.55	18.61±4.80
F 值	-	367.544	242.118
P 值	-	<0.01	<0.01

表 4 两组大鼠器官指数比较( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.4 Changes of organic index between two groups( $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数	子宫	肝脏	脾脏
对照组	15	0.003 0±0.000 2	0.003 1±0.000 2	0.002 3±0.000 1
电磁场组	15	0.003 0±0.000 2	0.003 2±0.000 2	0.002 3±0.000 1
F 值	-	0.067	0.737	1.000
P 值	-	0.798	0.398	0.326

排列整齐,肝窦清晰,无病变;脾脏 HE 染色,血管丰富,细胞染色清晰,无病变现象。表 4 的器官指数统计结果显示电磁场组与对照组器官系数比较差异无统计学意义。

### 3 讨论

正弦交变电磁场作为一种可施加于人体的外来物理因子,在生物医学中鲜为人知。大多学者研究证实了脉冲电磁场能够改变骨质疏松患者的骨质结构,然而正弦交变电磁场动物实验少有人做。低频电磁场虽被证明能改善骨质结构,但前人报道因其参数选择不同得到的治疗效果存在很大差异,因此磁场参数的选择成为制约电磁场治疗骨质疏松的瓶颈问题<sup>[6-9]</sup>。本研究从实验室前期不同强度对成骨细胞对青年大鼠峰值骨密度的影响实验,得到了较好的效果。为临床电磁场治疗骨质疏松症患者的参数选择奠定了基础。

#### 3.1 SEMFs 对体重和进食量的影响

电磁场组大鼠在电磁场干预后的 2、3 周大鼠进食量有先降低后升高,最后逐渐恢复平稳。体重无明显变化。整体趋势与正常生长大鼠无明显差异,表明

电磁场干预不影响大鼠的体重和进食量。

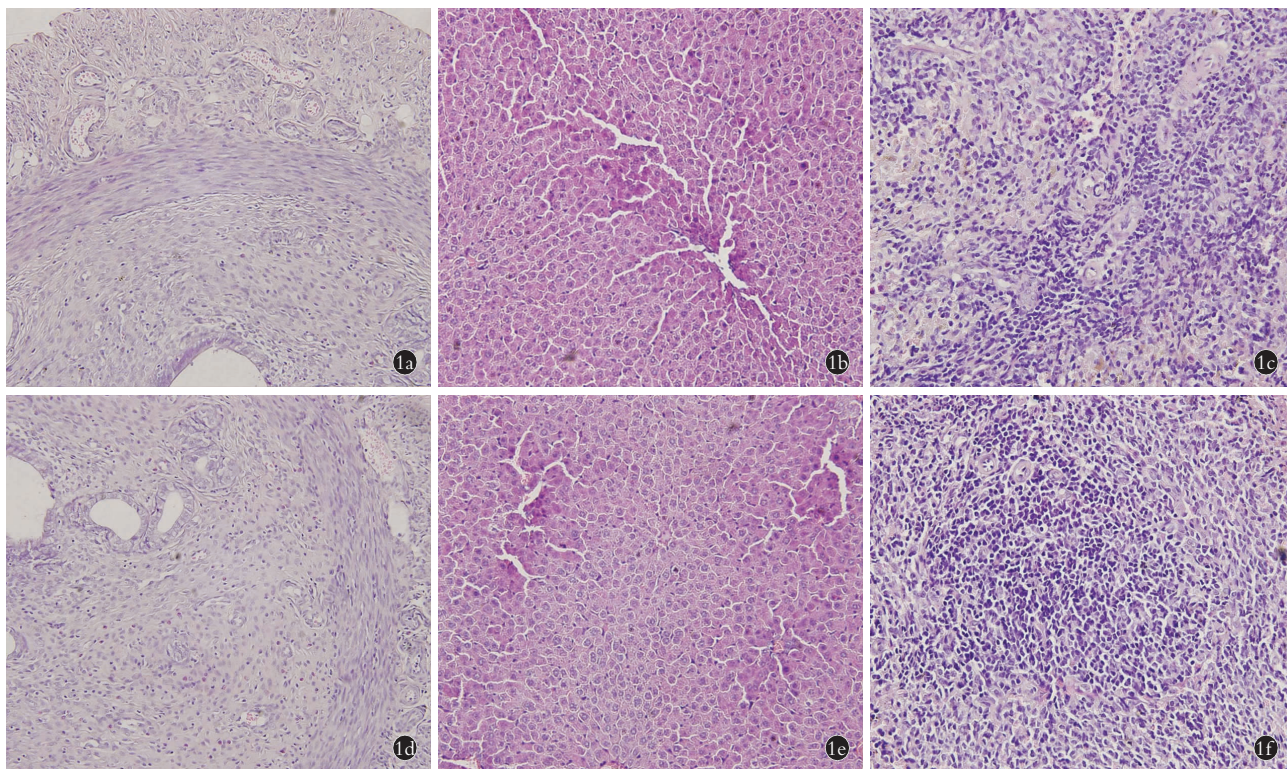
#### 3.2 SEMFs 与骨密度的影响

骨密度作为评价骨强度的指标,骨密度优劣能够准确预测骨折发生的风险,是决定骨质疏松发生的基本依据<sup>[10]</sup>。骨密度是骨代谢最重要的指标,骨密度的结果反应了骨代谢的差异。本实验第 2 周和 4 周时全身骨密度都没有增加,而 6 周后有明显增加,说明电磁场的作用具有累积效应。同时电磁场干预后离体骨密度也有显著增加,表明电磁场干预增加骨密度的作用效果不仅表现在全身性,而且对离体易发生骨丢失部位作用也极为明显。因此,电磁场的提高骨密度的作用又可能是全方位的。

#### 3.3 SEMFs 与血清生化指标的影响

OC 是血清中骨形成的相关因子,OC 的提高标志着骨形成的增加。TRACP 5b 是骨吸收的相关因子,TRACP 5b 的降低表示骨吸收的降低。本研究结果显示 OC 表达明显增高,TRACP 5b 的表达量明显降低,说明此参数组合的正弦交变电磁场促进了骨形成因子的表达,降低了骨吸收因子的表达。血清生化指标反映体内骨代谢,客观反映骨形成和骨吸收





**图 1** 大鼠处死后各器官 HE 染色(×200) **1a.**对照组子宫 HE 染色,腺体呈圆形或椭圆形,上皮细胞呈柱状,细胞排列整齐 **1b.**对照组肝脏 HE 染色,细胞呈多边形、条色状,排列整齐,肝窦清晰 **1c.**对照组脾脏 HE 染色,血管丰富,细胞种类多,细胞染色清晰 **1d.**电磁场组子宫 HE 染色,腺体呈圆形或椭圆形,上皮细胞呈柱状,细胞排列整齐,无病变细胞 **1e.**电磁场组肝脏 HE 染色,细胞呈多边形、条色状,排列整齐,肝窦清晰,无病变 **1f.**电磁场组脾脏 HE 染色,血管丰富,细胞染色清晰,无病变现象

**Fig.1** HE results of organs after sacrificed (×200) **1a.** HE staining of uterine in control group showed gland was round or oval, epithelial cells were columnar, arranged neatly **1b.** HE staining of liver in control group showed cells were polygonal, stripes, arranged neatly, sinus clear **1c.** HE staining of spleen in control group showed blood vessels rich, cell type, cell staining clear **1d.** HE staining of uterine in electromagnetic field group showed gland was round or oval, epithelial cells were columnar, cells arranged neatly, no lesions of plasma **1e.** HE staining of liver in electromagnetic field group showed cell was polygonal, striped, neatly arranged, sinus clear, no lesions **1f.** HE staining of spleen in electromagnetic field group blood vessels rich, clear cell staining, no lesions.

因子表达的高低,是继骨密度后对骨代谢生化方面评价的一个重要方面。Morgan 等<sup>[10]</sup>研究表明,50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场能够促进成骨细胞的增殖矿化,以及促进骨形成相关基因的表达,同时抑制骨吸收相关基因的表达,这一点与动物实验研究结果一致。

**3.4 SEMFs 对器官病理的影响**

本实验器官 HE 染色后请资深病理医师进行诊断,得到结果为病理切片无异常。表明电磁场干预的大鼠无明显的毒副作用,是一种安全可靠的物理疗法。电磁场预防或治疗骨质疏松有望为骨质疏松症患者带来福音。

综上所述,50 Hz 1.8 mT 正弦交变电磁场通过促进骨形成降低骨吸收从而提高了大鼠峰值骨密度,且无明显毒副作用。此结果可能实现降低骨折的发生概率,为预防和治疗骨质疏松症提供一种安全简单的选择。然而此参数组合的电磁场是否对 OVX 大鼠骨密度起到延缓丢失或提高以及临床作用于人是

否同样有效有待进一步研究。

**参考文献**

[1] Nanes MS, Kallen CB. Osteoporosis[J]. Seminars Nucl Med, 2014, 44(6):439-450.

[2] 高玉海,成魁,葛宝丰,等. 不同强度正弦交变电磁场对大鼠骨密度及骨形态计量学的影响[J]. 中国骨伤, 2014, 27(11):933-937.

GAO YH, CHENG K, GE BF, et al. Effect on different - intensity SEMFs on bone mineral density and histomorphometry in rats [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2014, 27(11):933-937. Chinese with abstract in English.

[3] Gautam AK, Bhargavan B, Tyagi AM, et al. Differential effects of formononetin and cladrin on osteoblast function, peak bone mass achievement and bioavailability in rats[J]. J Nutr Biochem, 2011, 22(4):318-327.

[4] Cheng G, Zhai Y, Chen K, et al. Sinusoidal electromagnetic field stimulates rat osteoblast differentiation and maturation via activation of NO-cGMP-PKG pathway [J]. Nitric Oxide, 2011, 25(3):316-325.

[5] Zhou J, Ming LG, Ge BF, et al. Effects of 50 Hz sinusoidal electro-

magnetic fields of different intensities on proliferation differentiation and mineralization potentials of rat osteoblasts[J]. Bone, 2011, 50(3): 1441-1446.

[6] Watts NB, Diab DL. Long-term use of bisphosphonates in osteoporosis[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 95(4): 1555-1565.

[7] Lin HY, Lin YJ. In vitro effects of low frequency electromagnetic fields on osteoblast proliferation and maturation in an inflammatory environment[J]. Bioelectromagnetics, 2011, 32(7): 552-560.

[8] Jing D, Shen G, Huang J, et al. Circadian rhythm affects the preventive role of pulsed electromagnetic fields on ovariectomy-induced osteoporosis in rats[J]. Bone, 2010, 46(2): 487-495.

[9] Golob AL, Laya MB. Osteoporosis: screening, prevention, and management[J]. Med Clin North Am, 2015, 99(3): 587-606.

[10] Morgan S, Gleason J, Chen L, et al. Association of bone mineral density and pelvic floor symptoms in women presenting for bone mineral density evaluation[J]. J Clin Densit, 2012, 15(4): 488.

(收稿日期:2017-03-17 本文编辑:李宜)

### 《中国骨伤》杂志编辑委员会名单

#### 名誉主编:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

陈可冀(中国科学院院士) 沈自尹(中国科学院院士) 吴咸中(中国工程院院士)  
 钟世镇(中国工程院院士) 王正国(中国工程院院士) 卢世璧(中国工程院院士)  
 戴尅戎(中国工程院院士) 邱贵兴(中国工程院院士)

#### 顾问:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

白人骁 陈渭良 冯天有 顾云伍 胡兴山 蒋位庄 金鸿宾 孔繁锦 黎君若  
 李同生 梁克玉 刘柏龄 沈冯君 施杞 时光达 石印玉 孙材江 赵易  
 朱惠芳 朱云龙 诸方受

#### 主编:董福慧

#### 副主编:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

敖英芳 付小兵 李为农(常务) 马信龙 吕厚山 邱勇 孙树椿 王岩  
 王满宜 卫小春 袁文 朱立国

#### 编委委员:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

敖英芳 毕大卫 陈仲强 董健 董福慧 董清平 杜宁 樊粤光 范顺武  
 付小兵 高伟阳 郭万首 郭卫 何伟 贺西京 胡良平 雷仲民 蒋青  
 蒋协远 李盛华 李为农 李无阴 刘兴炎 刘亚波 刘玉杰 刘智 刘忠军  
 刘仲前 罗从风 吕厚山 吕智 马信龙 马远征 马真胜 邱勇 阮狄克  
 沈霖 孙常太 孙树椿 孙铁铮 孙天胜 谭明生 谭远超 童培建 王岩  
 王爱民 王宸 王和鸣 王军强 王坤正 王满宜 王序全 王拥军 韦贵康  
 吴泰相 伍骥 卫小春 肖鲁伟 徐荣明 徐向阳 许硕贵 杨自权 姚共和  
 姚树源 俞光荣 余庆阳 袁文 詹红生 张俐 张保中 张春才 张功林  
 张建政 张英泽 赵平 赵建宁 赵文海 郑忠东 周卫 周跃 朱立国  
 朱振安 邹季