

对电磁方面的临床和基础研究,历来是物理因子研究中的热点,近年在治疗疑难病症方面有不少可喜的突破,但需要深入研究和解决的问题也还很多。包括电磁在内,物理因子的作用机理特别是始动机制还远远没有阐明,需要加大投入进行研究。我们康复工作者可能更注重物理因子在治疗应用方面的研究,但随着社会的发展,象手机、家用电器等一些电磁辐射源已渗入到我们生活的各个角落,电磁辐射的损害作用及安全限量也越来越受到重视,这方面的研究也还很薄弱。

参 考 文 献

- [1] 张世民,廖利民. 骶神经根电刺激与电调节治疗脊髓损伤后盆腔器官排泄功能障碍. 中国康复理论与实践, 2003, 9: 669-672.
- [2] 周丽娜,王世民. 脑深部电刺激术治疗帕金森病研究进展. 国际神经病学神经外科学杂志, 2007, 34: 150-154.
- [3] Adrian Handforth, Antonio AF, Desalles, et al. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus as adjunct treatment for refractory epilepsy. Epilepsia, 2006, 47: 1239-1241.
- [4] 金建明,周沈贤,吴雪莲,等. 双向交替牵引手法配合低频电刺激治疗椎动脉型颈椎病的疗效观察. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 181-183.
- [5] 伍少玲,燕铁斌,马超,等. 神经肌肉电刺激结合功能训练改善脑卒中后吞咽障碍的临床疗效观察. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 537-539.
- [6] 吕晓宇,郝选明. 电刺激对大鼠失用性萎缩肌肉围度及超微结构影响的实验研究. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 507-509.
- [7] Markov MS. Magnetic field therapy: a review. Electromagn Biol Med, 2007, 26: 1-23.
- [8] 何建华,黄晓琳. 旋转交变磁场对膝骨性关节炎患者疼痛和静态平衡功能的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 474-476.
- [9] 阎坚强,韩星海,徐美娟,等. 磁疗磁场分布测量及剂量表达方法. 中国临床康复, 2006, 10: 112-114.
- [10] 郭润霞. 恒定磁场生物效应与暴露安全限量. 环境与健康杂志, 2003, 20: 50-52.
- [11] 王益民,靳世久,陆一竹,等. 永磁磁场对内皮细胞的影响及其量效关系研究. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 522-524.
- [12] McKay JC, Prato FS, Thomas AW. A literature review: the effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. Bioelectromagnetics, 2007, 28: 81-98.
- [13] 李飞,程康,王海昌,等. 脉冲电磁场对原代大鼠骨髓来源内皮前体细胞生长及分化的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 514-516.
- [14] 杨勇,吴华,赵东明,等. 脉冲电磁场对骨髓间充质干细胞成骨成脂肪分化的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 517-520.
- [15] 何成奇,王维,肖登,等. 不同治疗时间的脉冲电磁场对去势大鼠股骨生物力学性能的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 510-513.
- [16] Santini MT, Ferrante A, Rainaldi G, et al. Extremely low frequency (ELF) magnetic fields and apoptosis: a review. Int J Radiat Biol, 2005, 81: 1-11.
- [17] 刘勇,王登高,余争平,等. 电磁辐射对大鼠小脑蛋白激酶 C 活性及谷氨酸受体 2 蛋白质磷酸化的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29: 525-528.

(收稿日期: 2007-07-19)

(本文编辑: 吴 倩)

· 研究简报 ·

电刺激对大鼠失用性萎缩肌肉围度及超微结构影响的实验研究

吕晓宇 郝选明

肢体因受伤等原因需要长期制动,这必然导致肌肉的失用性萎缩,而且肌萎缩的程度随着时间推进呈现逐渐加重趋势。这对伤愈后患者功能的康复造成严重的影响。如何延缓肌萎缩的进程,减轻肌萎缩的程度,加快失用性肌萎缩的康复速率,一直是康复医学研究的重点之一。

本实验通过大鼠后肢制动建立肌萎缩的动物模型,并在制动后不同时间进行电刺激,观察股四头肌的围度和线粒体数量及体积的变化,为将电刺激疗法有效地应用于失用性肌萎缩的康复提供实验依据。

材料与方法

一、材料

实验于 2003 年 9 月至 2004 年 3 月在华南师范大学运动人

体科学实验室进行。实验对象为清洁级 SD 大鼠,由中山大学动物实验中心(合格证号:粤检证字 2002A057)提供。实验环境温度为 18~25℃,湿度为 45%~65%。动物均采用固体饲料分笼喂养,自由饮水。整个实验期间实验大鼠无流失或死亡现象。

二、预试验方法及结果

该实验为正式实验前的预备性实验,目的是利用后肢制动方法建立肌肉萎缩的动物模型,并检验建模是否成功。雄性 SD 大鼠 40 只,随机分为正常对照组和建模组,每组各 20 只。实验组采用长腿石膏固定法,使大鼠膝关节制动:用 846 麻醉合剂 0.005 ml/kg 体重肌注麻醉大鼠;将纱布(4~5 层)或脱脂棉(0.5 mm 厚)垫于大鼠踝至髌关节之间,把经 35~40℃ 湿水浸透的石膏绷带均匀固定,约 10~12 层,其间加自制细钢丝网 1~2 层(防止鼠啃咬),均固定右后肢体,膝关节为 180°。

每周从各组中随机取 4 只大鼠进行股四头肌围度测定,连续观察 4 周。大鼠股四头肌围度测定麻醉法同前。以膝上

作者单位:510010 广州,解放军广州军区总医院康复理疗科(吕晓宇);华南师范大学体育科学学院(郝选明)

10 mm 处为标准点,用 Acuson B 超仪测定股四头肌横截宽度,动物取仰卧位,屈膝 90°。

实验结果(表 1)表明,大鼠在制动 1 周后即出现肌肉围度的变化,表现为肌肉围度缩小,但体重变化不明显。失用性萎缩的变化随制动时间的延长而逐渐加重,2 周后开始出现明显改变($P < 0.05$),4 周后出现非常显著性变异($P < 0.01$)。据此认为建模成功。

表 1 在失用性肌萎缩动物建模期间股四头肌围度的变化(mm, $\bar{x} \pm s$)

组别	造模前 ($n_1=4$)	第 1 周末 ($n_2=4$)	第 2 周末 ($n_3=4$)	第 3 周末 ($n_4=4$)	第 4 周末 ($n_5=4$)
对照组($n=20$)	5.0±0.8	5.1±1.1	5.3±0.9	5.5±0.7	5.7±1.0
建模组($n=20$)	5.1±0.7	4.8±0.9	4.1±1.1 ^a	3.5±0.5 ^b	2.9±0.6 ^c

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.001$

三、正式实验设计方案

4 月龄雄性 SD 大鼠 125 只,体重(230 ± 10)g,随机分为 5 组:A 组为正常对照组,B、C、D、E 4 组为实验组(均采用长腿石膏固定法,使大鼠膝关制动)。B 组为 24 h 电刺激组,在制动后 24 h 内进行电刺激治疗;C 组为 1 周电刺激组,于制动后 1 周开始进行电刺激治疗;D 组为 2 周电刺激组,于制动后 2 周进行电刺激治疗;E 组为 3 周电刺激组,于制动 3 周后开始行电刺激治疗。

电刺激采用 T90-II 电刺激肌肉力量训练器,刺激时载波频率为 2 500 Hz,调制波频率为 50 Hz,载波与调制波波形为方波,刺激电流强度为 5 mA。实验组大鼠隔天进行电刺激疗法,刺激时间为每天 10 min(分 2 次进行,每次 5 min,中间休息 5 min)。

实验共进行 4 周,共取样 5 次:包括造模前、第 1 周末、第 2 周末、第 3 周末和第 4 周末。造模前和各周末从各组中随机抽取 5 只,观察股四头肌围度和线粒体数量、体积等指标的变化。

超微结构测定:将大鼠断头处死,取股四头肌 1.5 cm × 1.0 cm × 0.8 cm,并制成光镜切片,Olympus 显微镜(日本,BX51-32FB3-E01)观察肌纤维变化及肌纤维核变化;另取 0.1 cm × 0.1 cm × 0.15 cm 制成电镜切片,电镜下(DXBI-12)观察线粒体数量及体积变化。

四、统计学分析

所有数据均用 Office Excel 进行常规统计分析,得出($\bar{x} \pm s$)。各组之间的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、肌肉围度在实验过程中的变化

从表 2 可见,正常对照组大鼠股四头肌的围度随着生长呈现不断上升趋势,但增长幅度不大,实验 4 周后的围度与实验前相比,差异无统计学意义。

实验组各组无论何时开始电刺激,肌肉围度均呈下降趋势。至第 4 周末,B、C、D、E 各组与 A 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。但比较实验各组数据可见:(1)制动后肌肉围度下降呈现加速度趋势,即制动后最初 1 周下降并不明显,但从第 2 周以后,下降趋势明显加快。(2)电刺激并不能逆转肌肉围度的降低趋势,但可以有效缓解下降的趋势。

而且,电刺激治疗实施得越早,下降幅度越小。

表 2 股四头肌围度在造模前和实验各周间的变化(mm, $\bar{x} \pm s$)

组别	造模前 ($n_1=5$)	第 1 周末 ($n_2=5$)	第 2 周末 ($n_3=5$)	第 3 周末 ($n_4=5$)	第 4 周末 ($n_5=5$)
A 组	4.9±0.7	5.1±1.1	5.4±0.9	5.7±0.7	5.8±1.0
B 组	5.0±0.6	5.0±1.0	4.7±0.6	4.4±0.8	3.9±0.8 ^a
C 组	4.9±1.0	4.9±0.5	4.4±0.8	4.0±0.4	3.5±0.3 ^b
D 组	5.1±0.5	4.9±0.7	4.2±0.5	3.7±0.6	3.2±0.4 ^b
E 组	5.1±0.8	4.8±0.9	4.0±1.1	3.5±0.5	2.8±0.6 ^b

注:与 A 组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

二、肌纤维结构在实验过程中的变化

从表 3 和表 4 可见,正常对照组大鼠肌肉线粒体的数量和体积变化不大,实验 4 周后的数值与实验前相比差异无统计学意义。这可能主要与该年龄段大鼠已经成熟有关。

表 3 线粒体数量在造模前和实验各周期间的变化(个/100u², $\bar{x} \pm s$)

组别	造模前 ($n_1=5$)	第 1 周末 ($n_2=5$)	第 2 周末 ($n_3=5$)	第 3 周末 ($n_4=5$)	第 4 周末 ($n_5=5$)
A 组	29.2±4.8	31.0±5.2	28.8±5.4	29.4±4.4	31.4±4.6
B 组	28.4±4.2	29.6±5.0	27.8±3.8	26.6±5.2	24.2±4.4 ^a
C 组	30.6±3.8	28.8±4.8	26.6±5.0	23.4±5.6	20.8±4.8 ^a
D 组	31.0±4.6	27.8±3.2	24.4±5.0	20.4±4.4	19.2±3.8 ^{ab}
E 组	30.8±5.2	28.6±4.2	25.4±3.6	21.2±5.0	17.8±4.2 ^{ab}

注:与 A 组比较,^a $P < 0.05$;与 B 组比较,^b $P < 0.05$

表 4 线粒体平均体积在造模前和实验各周期间的变化(u³, $\bar{x} \pm s$)

组别	造模前 ($n_1=5$)	第 1 周末 ($n_2=5$)	第 2 周末 ($n_3=5$)	第 3 周末 ($n_4=5$)	第 4 周末 ($n_5=5$)
A 组 ($n=25$)	0.63±0.17	0.61±0.10	0.65±0.07	0.60±0.11	0.62±0.06
B 组 ($n=25$)	0.61±0.09	0.57±0.13	0.54±0.06	0.51±0.09	0.49±0.07 ^a
C 组 ($n=25$)	0.65±0.08	0.52±0.04	0.48±0.10	0.45±0.12	0.41±0.09 ^a
D 组 ($n=25$)	0.61±0.13	0.49±0.06	0.41±0.11	0.36±0.05	0.32±0.06 ^{ab}
E 组 ($n=25$)	0.64±0.11	0.51±0.08	0.39±0.06	0.34±0.07	0.29±0.07 ^{ab}

注:与 A 组比较,^a $P < 0.05$;与 B 组比较,^b $P < 0.05$

实验组各组无论何时开始电刺激,其线粒体数量和体积均呈下降趋势(图 1 和图 2)。至第 4 周末,制动各组与对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),且 D、E 组与 B 组比较,

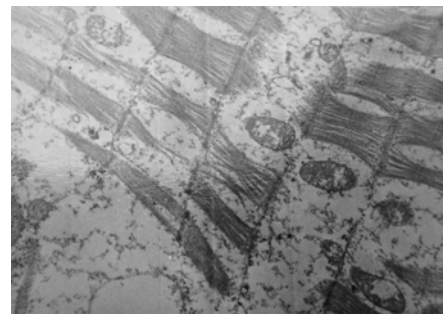


图 1 电刺激前线粒体电镜观察(×3000)

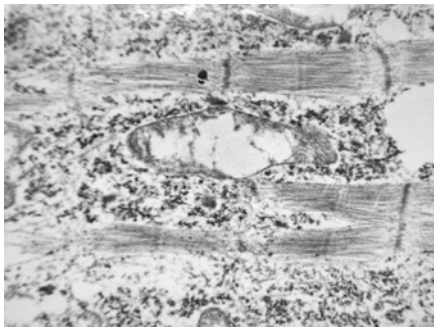


图2 电刺激4周后线粒体电镜观察(×4000)

差异也有统计学意义($P < 0.05$)。比较实验各组数据可见:(1)同制动后肌肉围度下降趋势相似,线粒体数量和体积同样呈现加速下降趋势,即下降趋势随着制动进程逐渐加快。(2)电刺激同样不能逆转线粒体数量和体积的降低趋势,但可以有效缓解下降的趋势;而且,电刺激治疗实施得越早,下降幅度越小。

讨 论

一、肌肉围度在制动期间的变化与电刺激的效果分析

1. 各组肌肉围度在制动期间的变化特点:各组肌肉围度在实验期间的变化如表2所示。大鼠后肢制动对肌肉围度有非常明显的影响。A组的肌肉围度在整个实验期间均无明显变化,而随着制动时间的延长,各个制动组的肌肉围度均逐步降低。具体分析可见,在制动1周内,下降趋势并不明显,与A组并无显著性差异。至第2周下降速度明显加快,并与A组形成显著性差异。比较制动各组变化趋势可见,虽受后肢制动影响的肌肉围度都有所降低,但应用电刺激可以明显延缓肌肉围度下降的斜率。而且,制动后,越早应用电刺激,肌肉围度降低越少。这个结果提示,制动早期应用电刺激疗法,可以有效地缓解肌肉围度的下降,对于缩短去制动后肌肉围度的恢复,加速康复速度非常有效。

2. 应用电刺激影响肌肉围度的机制:肌肉围度是衡量肌肉功能状态的一个重要指标。单位时间动员的运动单位越多,运动单位效能越好,肌肉围度就越大。但是肌肉被制动后,不可避免地发生萎缩现象,组成肌肉的蛋白质逐渐丢失,为肌细胞供能的线粒体数量逐步减少,体积也逐步变小。保证肌肉能量代谢的氧化酶和无氧酶的含量逐步减少,活性也逐步降低。这种下降在制动开始几天并不明显。随后会以加速度的方式来下降:制动时间越长,下降越明显。

应用电刺激,实质上是刺激受制动肌肉进行被动收缩,以保持肌肉的收缩功能。但由于制动的原因,尽管肌肉也在收缩,但与非制动肌肉相比,收缩的强度、幅度明显受到限制。而按照运动训练学理论,要保持现有的力量水平,每周至少需要一次最大强度的收缩。在制动情况下实施电刺激疗法,显然无法满足这一点。因此,制动情况下实施电刺激,可以延缓肌肉萎缩的速率,却无法阻止肌肉功能下降的趋势。

二、股四头肌超微结构变化与电刺激的效果分析

1. 各组股四头肌超微结构在制动期间的变化特点:各组股四头肌超微结构线粒体的数量和体积在实验期间的变化如表3和表4所示。大鼠后肢制动对线粒体的数量和体积有非常明

显的影响。A组线粒体的数量和体积在整个实验期间均无明显变化,而随着制动时间的延长,各个制动组的线粒体的数量和体积均逐步降低。同肌肉围度的变化趋势一致,在制动1周内,各制动组线粒体的数量和体积均降低但并不明显。但从第2周开始下降速度明显加快。虽然受后肢制动影响肌力都有所降低,但应用电刺激可以明显延缓肌力下降的速率。越早应用电刺激,线粒体的数量和体积降低幅度越小。这表明,制动后越早应用电刺激疗法,可以更有效地降低肌力水平的损失,加快康复速度。

2. 应用电刺激影响股四头肌线粒体的数量和体积的机制:许多文献报道,骨骼肌在失用性情况下或在制动过程会产生萎缩^[1-3],肌萎缩产生的主要原因是肌肉组织的蛋白合成率的降低和分解率增高,即机体组织养分为了肢体需要而重新分布,长期制动还将引起有氧代谢中氧化酶减少,对疾病的康复产生严重影响。应用电刺激并不能完全防止肌萎缩,但确可延迟肌萎缩的发展^[4-6]。其机制包括:(1)通过电刺激,使制动肌进行与正常体育锻炼相似的被动性的节律性收缩,以改善肌肉的血液循环和营养,保留肌肉的正常代谢,增加正常肌动脉血流。(2)受电刺激影响,肌糖原含量得以保持,并节约肌中蛋白质的消耗。肌蛋白消耗少,肌肉的消瘦即刻减轻。(3)规律性的收缩和舒张所产生的“唧筒效应”,促进静脉和淋巴回流,改善营养和代谢,降低了萎缩速率。

三、结论与建议

受制动影响,肌肉围度和线粒体数量、体积会发生显著降低现象^[4];各制动组的肌肉围度和线粒体数量、体积均呈现加速降低趋势。电刺激治疗虽然不能逆转失用性肌萎缩的总体趋势,但可以有效缓解下降的速率。在制动后电刺激治疗实施得越早,肌肉功能降低的速率越慢,降低的幅度越小^[5-8]。

实验结果表明电刺激是防治失用性肌萎缩、加速去制动后康复速率的一种有效方法,建议制动后尽早予以实施。

参 考 文 献

- [1] Kern H, Salmons S, Mayr W, et al. Recovery of long-term denervated human muscles induced by electrical stimulation. *Muscle Nerve*, 2005, 31:98-101.
- [2] 徐建广, 顾玉东, 李继峰. 肢体制动对失神经支配骨骼肌萎缩的影响. *复旦学报(医学版)*, 2003, 30:246-248.
- [3] 鄢淑燕, 岳寿伟. 失用性肌萎缩研究进展. *中国临床康复*, 2003, 7:11-14.
- [4] 洪军, 丁彦青, 肖焕才. 肌萎缩侧索硬化症肌纤维的超微结构和组织化学观察. *第一军医大学学报*, 1996, 16:124.
- [5] 徐建广, 顾玉东, 李继峰. 肢体制动对失神经支配骨骼肌萎缩的影响. *复旦学报(医学版)*, 2003, 30:246-248.
- [6] 徐建广, 顾玉东, 屠永全, 等. 被动活动对失神经支配骨骼肌萎缩的影响. *中华显微外科杂志*, 2003, 26:210-211.
- [7] 董海, 陈晓东, 周之德. 防治失神经骨骼肌萎缩的研究进展. *创伤外科杂志*, 2004, 6:385-388.
- [8] 张东, 赵斌, 张金海, 等. 经皮神经电刺激预防失神经肌萎缩的实验研究. *中国康复医学杂志*, 2003, 18:542-544.

(修回日期:2007-05-08)

(本文编辑:熊芝兰)