

低强度电刺激治疗大鼠股二头肌急性拉伤的实验研究

王大安¹ 杨世模² 李国平³

1 广州体育学院(510500) 2 香港理工大学 3 国家体育总局运动医学研究所

摘要 目的:采用低强度电刺激治疗股二头肌急性拉伤,观察其对肌肉损伤部位结构重塑的影响。方法:雄性 SD 大鼠 36 只,随机分为正常对照组和实验组,后者又依取材时间分为 D0 组、D7 组、D7-20Hz 组、D14 组和 D14-20Hz 组,每组 6 只。各实验组采用电刺激使股二头肌强直收缩,同时以角速度 $960^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$ 伸膝摆腿反向拉伸,建立股二头肌急性拉伤动物模型。造模完成后,D7-20Hz 组和 D14-20Hz 于动物造模后第 5 天开始进行 20Hz 电刺激治疗,每日 2 次,每次 30 分钟,间隔 4 小时,其余组继续喂养不做干预。正常对照组在实验开始当天,D0 组、D7 组、D7-20Hz 组、D14 组和 D14-20Hz 组分别在相应时间(实验当天,第 7、7、14、14 天)进行在体力矩测试,观测最大等长力矩值以及最优角度。然后处死动物,分离股二头肌,固定、切片、HE 染色,光镜下观察股二头肌组织形态。结果:光镜观察可见,拉伤后第 7 天 D7 组肌纤维出现修复,但不成熟,肌纤维排列不平整,大小不一。经过电刺激治疗后,同期的 D7-20Hz 组新生的肌纤维更成熟,成簇排列,结构更平整,边界更清晰。第 14 天 D14 组和 D14-20Hz 组两组肌纤维基本修复。D0 组关节最大等长力矩值下降至 $(0.246\pm 0.026)\text{Nm}$,与正常对照组 $(0.337\pm 0.025)\text{Nm}$ 比较有显著性差异($P < 0.05$);D7-20Hz 组和 D14-20Hz 组关节最大等长力矩值分别与 D7 组和 D14 组比较均无显著性差异($P > 0.05$)。D0 组最优角度为 $144.50^{\circ}\pm 3.71^{\circ}$,与正常对照组 $130.00^{\circ}\pm 3.54^{\circ}$ 比较存在显著性差异($P < 0.01$);D14 组在 $120.00^{\circ}\pm 3.53^{\circ}$,与正常对照组比较有显著性差异($P < 0.05$)。经电刺激治疗后 D14-20Hz 最优角度出现在 $125.00^{\circ}\pm 3.53^{\circ}$,与 D14 组比较存在显著性差异($P < 0.05$)。结论:股二头肌急性拉伤后早期采用低强度电刺激治疗,可有效促进损伤肌肉结构重塑,虽不能在两周内明显提高关节最大等长力矩,但可优化关节力矩-角度关系。

关键词 股二头肌急性拉伤;电刺激治疗

Experimental Study on the Therapy of Acute Biceps Femoris Strain with Low-intensity Electrical Stimulation

Wang Daan¹, Simon Yeung², Li Guoping³

1 Guangzhou Sport University, Guangzhou, China 510500

2 The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong

3 National Institute of Sports Medicine, Beijing, China 100061

Corresponding Author: Li Guoping, Email: ligp@263.net

Abstract Objective To observe the effectiveness of low-intensity electrical stimulation for rebuilding of muscle structure. **Methods** Thirty-six male SD rats were randomly divided into control group, D0 group, D7 group, D7-20Hz group, D14 group, and D14-20Hz group. All rats, except those in control group were anesthetized, and one of their limbs was chosen at random to create a partial biceps femoris

收稿日期:2011.10.03

基金项目:广东省自然科学基金项目(10451007601004461)

通信作者:李国平,Email:ligp@263.net

stretch injury through knee extending and swing at $960^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$. After injury, no interventions were given to D0 group, D7 group and D14 group. At the fifth day, the electrical stimulation protocol (square wave stimuli at 20Hz, 30 minutes each time, twice a day with a 4-hour interval) was given to D7-20Hz, and D14-20Hz groups. The isometric maximal knee torque and the optimal angle in control group at the beginning of experiment, and in D0 group, D7 group, D7-20Hz group, D14 group, and D14-20Hz group at beginning of experiment, 7th day, and 14th day were tested. The pathological changes in the injured muscles were observed. **Results** At day 7, injured muscle fibers were recovered, while not matured. At the same time, in D7-20Hz group, the new fibers became more matured, and the neat formation and clear boundary revealed. At day 14, the injured muscle fibers were matured and recovered completely. The isometric maximal knee torque of control group was 0.337 ± 0.025 Nm, significantly reducing by $73.05\pm 5.37\%$ at day 0 post-injury ($P < 0.05$). Compared to the isometric maximal torque in D7 group, no significant difference (0.312 ± 0.043 Nm) existed in D7-20Hz group ($P > 0.05$). There were no significant difference between D14 group and D14-20Hz group. The optimal angle of control group ($130.00^{\circ}\pm 3.54^{\circ}$) showed a significant right shift ($144.50^{\circ}\pm 3.71^{\circ}$) at day 0 post-injury ($P < 0.01$), and those of D14 ($120.00^{\circ}\pm 3.53^{\circ}$) were significantly different from that of control group ($P < 0.05$). After electrical stimulation, the optimal angle of D14-20Hz group was $125.00^{\circ}\pm 3.53^{\circ}$, and significantly different from that of D14 ($P < 0.05$). **Conclusions** Low intensity 20Hz electrical stimulation was useful for muscular rebuilding in the injured biceps femoris morphologically and functionally. Though it could not increase the maximal isometric torque, but it was able to improve the torque-angle relationship in injured biceps femoris after 2 weeks of injury.

Key words acute biceps femoris strain, electrical therapy

电刺激目前在临床中应用较为广泛, 虽然关于电刺激治疗肌肉拉伤的作用机制不完全清楚, 但其有效性和安全性却不断得到临床实践的证实。电刺激有很多作用, 包括电刺激镇痛、电刺激肌肉控制运动和姿势、电刺激促进慢性伤口愈合、肌电生物反馈改善随意运动以及电离子透入疗法用于药物的吸收等^[1-3]。而且, 电刺激可以兴奋神经肌肉组织, 每个脉冲都有可能引起一次运动反应。急性肌肉拉伤在运动中较为常见^[4,5]。如果假设低强度的低频电刺激能够实现一种安全有效的轻微张力刺激, 引起组织细胞内物质运动产生微细机械牵拉作用, 促使新生的肌原纤维沿着应力线的方向排列, 这将促进损伤肌肉组织的功能恢复, 对于肌肉损伤部位结构的重塑非常重要。基于上述假设, 本实验采用低强度的 20 Hz 低频电刺激治疗股二头肌急性拉伤, 观察分析电刺激治疗对肌肉损伤部位结构重塑的影响, 为临床应用提供实验支持和依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

雄性 SD 大鼠 36 只, 8~12 周龄, 体重 (340 ± 20) 克, 由香港理工大学实验动物中心提供。先按体重分层, 再用随机数字表法随机分为正常对照组和实验

组, 后者又依取材时间(实验开始当天, 第 7、7、14、14 天) 分为 D0 组、D7 组、D7-20Hz 组、D14 组和 D14-20Hz 组, 每组 6 只, 实验操作遵循实验动物保护和使用的准则。

1.2 动物模型建立方法^[6]

以每千克体重 50 毫克氯胺酮和 5 毫克赛拉嗪的麻醉混合剂, 腹腔注射麻醉大鼠。将大鼠仰卧固定于大鼠固定架上, 随机选取一侧小腿固定于固定板上, 固定板与集流环动态扭矩传感器一端连接, 传感器另一端与发动机轴连接, 保持大鼠膝关节屈伸运动轴心与发动机轴在同一水平。用生理刺激仪的针电极解剖定位并刺激坐骨神经, 使固定侧股二头肌产生强直收缩, 膝关节屈曲。同时, 发动机带动大鼠固定板, 迫使膝关节迅速做角速度为 $960^{\circ}\cdot\text{s}^{-1}$ 的伸膝运动, 范围从屈膝 70° 到完全伸直位 180° 。在此过程中, 股二头肌离心收缩, 造成急性拉伤。

1.3 电刺激治疗方案

动物造模完成后, D7-20Hz 组和 D14-20Hz 组于动物造模后第 5 天开始电刺激。肌肉刺激采用表面电极, 将表面电极通过导电胶紧贴皮肤, 贴在股二头肌远近两端。刺激频率为 20Hz, 刺激脉冲宽度为 $200\ \mu\text{s}$, 5 秒开 10 秒关, 每次 30 分钟, 每日两次, 两次电刺激之间相隔 4 小时。调整刺激强度以能够

产生肉眼可见肌肉收缩的电流强度为度。

1.4 实验指标测试

1.4.1 在体力矩测定

D0 组、D7 组、D7-20Hz 组、D14 组和 D14-20Hz 组分别于实验当天和第 7、7、14、14 天进行在体力矩测定。将麻醉后的动物仰卧固定于大鼠固定架上,小腿固定于固定板,固定板与集流环动态扭矩传感器一端连接,传感器另一端与发动机轴连接,保持大鼠膝关节屈伸运动轴心与发动机轴同一水平。通过运动控制器调整角度,测定膝关节屈伸不同角度时的力矩值。起始角度为 90°,每次测试后角度增加 5°,逐渐增至 170°。在各个角度时,用生理刺激仪的针电极刺激固定侧肢体坐骨神经,使股二头肌强直收缩,膝关节屈曲压迫固定板,通过扭矩传感器测定力矩大小,确定最大等长力矩值以及各组股二头肌的最优角度,即最大力矩值所处的角度。

1.4.2 病理组织观察

测量力矩后,处死动物分离股二头肌,液氮固定,OCT(冷冻包埋剂)包埋后,在冷冻切片机内,于肌腹中央部以及肌腱结合处选取连续切片,厚度为 6 μm,将切片进行洗涤、HE 染色、脱水、透明、封片,显微镜下观察细胞核呈蓝色,细胞浆呈粉红色或红色。

1.5 统计学分析

采用 SPSS16.0 统计软件分析实验结果。数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较,方差齐时采用方差分析,方差不齐时用秩和检验。 $P < 0.05$ 时,组间比较差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 最大等长力矩

表 1 显示,正常对照组股二头肌力矩值为(0.337±0.025)Nm。D0 组最大等长力矩下降为正常的(73.05±5.37)%,两者比较有显著性差异($P < 0.05$);D7 组最大等长力矩值与 D7-20Hz 比较无显著性差异($P > 0.05$),D14-20Hz 组与 D14 比较无显著性差异($P > 0.05$)。

2.2 力矩-角度关系

正常对照组最优角度出现在 130.00°±3.54°,D0 组关节最优角度变大为 144.50°±3.71°,与正常对照组比较有显著性差异($P < 0.01$,图 1);D14 组最优角度变小为 120.00°±3.53°,与正常对照组比较有显著性差异($P < 0.05$,图 2);经电刺激治疗后 D14-20Hz 最优角度出现在 125.00°±3.53°,与 D14 组比较存在显著性差异($P < 0.05$,图 3)。

表 1 股二头肌拉伤不同时刻最大等长力矩测量结果

组别	最大等长力矩 (Nm)
正常对照组	0.337±0.025 [△]
D0 组	0.246±0.026 [*]
D7 组	0.303±0.024 ^{*△}
D7-20Hz 组	0.312±0.043 [△]
D14 组	0.337±0.036 [△]
D14-20Hz 组	0.335±0.028 [△]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与 D0 组比较,[△] $P < 0.05$ 。

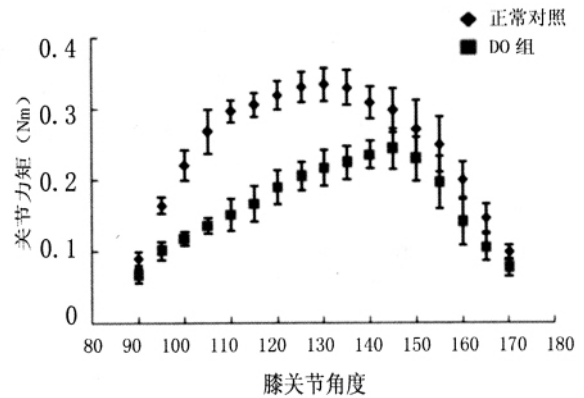


图 1 D0 组股二头肌力矩-角度关系变化

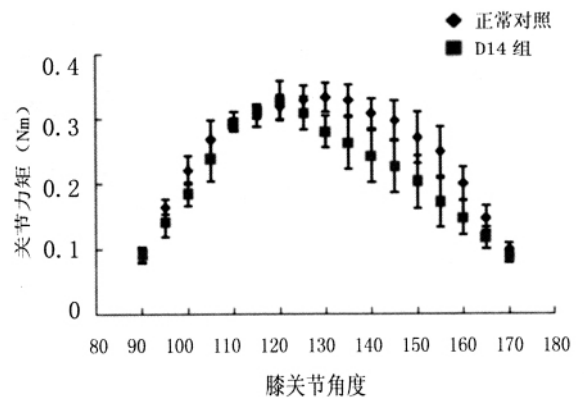


图 2 D14 组股二头肌力矩-角度关系变化

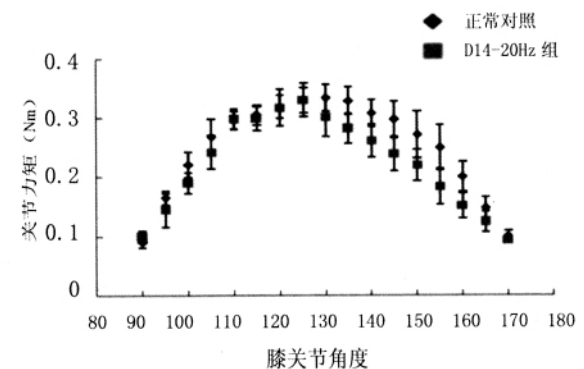


图 3 D14-20Hz 组股二头肌力矩-角度关系变化

2.3 光镜观察结果

光镜下观察可见，正常对照组股二头肌横切面肌纤维呈多角形，核位于外周，肌间隙以及肌浆内未见炎细胞浸润，肌浆染色均匀，间隙内无出血，肌纤维无坏死(图 4A)。D0 组可见肌纤维内有肌纤维崩解、坏死，肌肉组织结构紊乱，肌纤维水肿变性，肌肉间隙大小不一，部分肌纤维间隙明显加大，可见血管扩张充血(图 4B)。D7 组肌纤维出现修复，但肌纤维

形态表现不成熟，明显可见肌纤维完全分裂，或见小肌纤维成簇状紧贴于成熟肌纤维外周，肌肉组织结构紊乱，肌肉间隙大小不一。肌纤维具有中央核或近中央核。肌纤维成簇分布，圆形，体积小(图 4C)；D7-20Hz 组肌纤维出现修复，较成熟，新生肌纤维排列严整，肌纤维边界清晰(图 D)。第 14 天 D14 组(图 4E)和 D14-20Hz 组肌纤维基本修复(图 4F)。

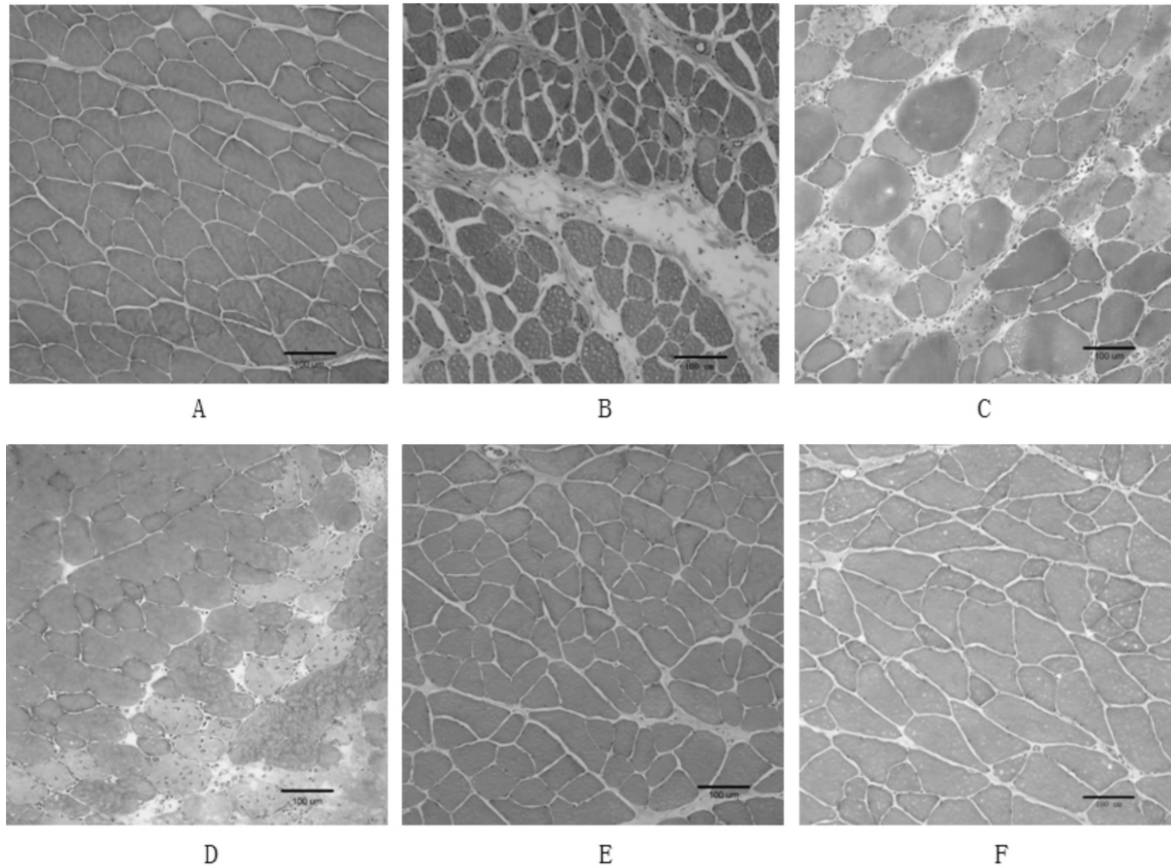


图 4 各组股二头肌组织学观察

注：A：正常对照组；B：D0 组；C：D7 组；D：D7-20Hz 组；E：D14 组；F：D14-20Hz 组；标尺为：100 μm。

3 讨论

3.1 电刺激对于损伤肌肉组织形态的影响

早期轻微的张力刺激对于肌肉损伤部位结构的重塑非常必要，轻微的张力刺激可促使新生肌原纤维沿着应力线方向排列，对损伤肌肉组织的功能恢复至关重要。目前临床治疗中，低频电刺激的应用实现了安全有效的轻微张力刺激。低频电刺激可以兴奋神经肌肉组织，每个脉冲都可能引起一次运动反应。低强度低频电刺激作用于伤部，肌肉振动产生微细机械牵拉作用，引起组织细胞内物质运动，这对于早期肌纤维修复过程中卫星细胞的激活、增殖和分

化都有重要的意义。有实验证实，电刺激可以影响肌纤维的组织形态，电刺激疗法能促进肌肉损伤后的修复，同时组织切片显示，电刺激治疗组肌纤维排列整齐，肌节清晰，新生的肌纤维更加成熟^[7]。电刺激不仅保持肌细胞固有的收缩和舒张特性，还使肌纤维得到充分的伸展，具有促进细胞新陈代谢和减轻麻痹肌肉瘀血和淋巴液淤积的功能^[8]。作用于机体的电刺激可加强机体抗过氧化能力，减少自由基的积累，使线粒体膜得到一定的保护^[9]。另外，脉冲电刺激可能是促进血管再生的有效手段。对骨骼肌的电刺激研究发现，频率为 10 Hz 的电刺激可使骨骼肌血管内皮生长因子 (VEGF)mRNA 及蛋白表达增

加,在培养的骨骼肌中发放阈下电刺激,发现 5 Hz 频率的电刺激可使骨骼肌细胞中 VEGF mRNA 及蛋白表达增加^[10]。由此可见,电刺激对于损伤组织结构重塑起积极作用。肌肉拉伤后给予电刺激治疗,对肌纤维组织形态的修复有积极作用。本实验研究结果也充分说明,早期低强度的 20Hz 电刺激可有效地促进损伤后肌肉结构的重塑,有助于胶原纤维沿着应力线进行修复,两者所不同的是给予电刺激的刺激强度和ación有所差异。

3.2 电刺激对损伤肌肉力学指标的影响

在骨骼肌肉系统中,肌肉收缩产生力矩使关节产生活动。因此,力矩是评价肌肉功能的常用指标,在临床和研究均被广泛应用^[11-13]。电刺激在发展肌力、负荷练习后工作肌群恢复和治疗肌肉损伤等方面被认为是一种有效手段。王保成等^[14]采用专门的可导致肌肉收缩的脉冲电流随意控制肌肉的收缩时间和收缩强度,通过肌肉收缩达到治疗目的。通过数千人次的实验观察,认为电刺激疗法在促进训练后局部肌肉的放松与恢复、高水平运动员肌肉软组织损伤的治疗和康复方面均有显著疗效,并可显著提高肌肉力量。本实验结果显示,肌肉损伤早期采用低强度 20Hz 低频电刺激进行治疗,并不能在两周内有效增加肌纤维大小和提高最大等长力矩。第 7 天, D7-20Hz 组最大等长力矩与 D7 组比较无显著性差异,第 14 天, D14-20Hz 组最大等长力矩值与 D14 组以及正常对照组比较无显著性差异。根据以往的研究,高强度电刺激引起肌纤维增大的效果更明显,并且需要较长的刺激时间才可以引起肌纤维增大^[15,16]。黄力平等观察了不同时间电刺激对肌肉组织损伤与修复的作用,结果证实电刺激增长肌肉力量至少应持续 3 周,并且提示适时递增负荷可能是增加更大力量所需要的^[17]。本实验使用了低频电刺激,且强度低、时间短,这可能是未显著提高最大等长力矩的原因。

力量-长度关系曲线是评价肌肉损伤程度的指标之一,右移越大则肌肉损伤程度越重,反之,则肌肉损伤程度轻^[18]。力量-长度关系曲线在关节角度测量方面的意义则等同于力矩-角度关系曲线^[19],因此力矩-角度关系变化被用来评定肌肉的损伤情况^[18,20]。本研究结果也证实了肌肉损伤后,力矩-角度关系曲线右偏移和力矩值下降。本研究中,正常对照组最优角度出现在 $130.00^{\circ}\pm 3.54^{\circ}$,肌肉拉伤后即刻关节最优角度右移为 $144.50^{\circ}\pm 3.71^{\circ}$,与正常对照组比较有显著性差异;D14 组关节最大等长力矩左移,

最优角度出现在 $120.00^{\circ}\pm 3.53^{\circ}$,与正常对照组比较有显著性差异。经电刺激治疗后,关节最优角度左移, D14-20Hz 最优角度为 $125.00^{\circ}\pm 3.53^{\circ}$,与 D14 组比较有显著性差异。这说明股二头肌急性拉伤后早期采用低强度 20Hz 的电刺激,可优化力矩-角度关系。

综上,股二头肌急性拉伤后早期采用低强度电刺激治疗,可有效促进损伤后肌肉结构的重塑,有利于损伤后肌肉组织功能结构的恢复;虽不能在 2 周内明显提高关节最大等长力矩,但可优化关节力矩-角度关系。目前,对于电刺激不同强度的应用疗效仍有待进一步探讨。

4 参考文献

- [1] Johnston TE, Modlesky CM, Betz RR, et al. Muscle changes following cycling and/or electrical stimulation in pediatric spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil*, 2011, 92(12): 1937-1943.
- [2] Schuhfried O, Crevenna R, Fialka-Moser V, et al. Non-invasive neuromuscular electrical stimulation in patients with central nervous system lesions: An educational review. *J Rehabil Med*, 2012, 44(2): 99-105.
- [3] Coghlan S, Crowe L, McCarthypersson U, et al. Neuromuscular electrical stimulation training results in enhanced activation of spinal stabilizing muscles during spinal loading and improvements in pain ratings. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2011, 7622-7625.
- [4] Sole G, Milosavljevic S, Nicholson HD, et al. Selective strength loss and decreased muscle activity in hamstring injury. *J Orthop Sports Phys Ther*, 2011, 1(5): 354-363.
- [5] Lee MJ, Reid SL, Elliott BC, et al. Running biomechanics and lower limb strength associated with prior hamstring injury. *Med Sci Sports Exerc*, 2009, 41(10): 1942-1951.
- [6] 刘明燕, 王大安. 股二头肌急性拉伤动物模型的建立. *中国运动医学杂志*, 2012, 31(1): 48-52.
- [7] 陈德松, 满富强. 电刺激与被动活动对小鼠失神经支配肌肉萎缩的影响. *中华实验外科杂志*, 1991, 8(2): 90.
- [8] 罗磊, 许晓瑾. 电针对力竭游泳大鼠肾脏线粒体自由基代谢和线粒体功能的影响. *中国针灸*, 2001, 21(6): 366-368.
- [9] Watson T. The role of electrotherapy in contemporary physiotherapy practice. *Manual Ther*, 2000, 5(3): 132-141.
- [10] She Q, Chen YZ. The study of angiogenesis is induced by

(下转第 442 页)

[8] 李晓霞,胡扬,田中,等. 高住低训对运动员身体成分的影响. 沈阳体育学院学报,2004,23(3):424-425.

[9] 路瑛丽,张漓,冯连世,等. 高住高练和高住低练对大鼠血脂及腓肠肌脂脂肪酸氧化的影响. 中国运动医学杂志,2010,29(2):137-140.

[10] 孙志,张中成,刘志诚. 营养性肥胖动物模型的实验研究. 中国药理学通报,2002,18(4):466-467.

[11] 崔明霞,高珩,闵光宁,等. 造模持续时间对大鼠高营养性肥胖模型制备的影响. 中国药理学通报,2008,24(3):412-416.

[12] 竺玉玺,王天云,董卫华,等. 高脂饲料诱发大鼠肥胖模型的实验研究. 现代预防医学,2008,35(16):3131-3132.

[13] 章涛,张潜,薛黔,等. SD 大鼠肥胖动物模型的建立. 遵义医学院学报,2007,30(3):240-242.

[14] 王舒然,麻微微,赵丹,等. 高脂饮食诱导肥胖与肥胖抵抗动物模型建立. 中国公共卫生,2007,23(7):774-775.

[15] 连军,马琪,霍新慧,等. 高脂饮食快速建立营养性肥胖动物模型的研究. 新疆医科大学学报,2008,31(10):1444-1445.

[16] 汤锦花,严海东. 营养性肥胖大鼠模型的建立与评价. 同济大学学报(医学版),2010,31(1):32-34.

[17] 田方,金红星,成文玉. 小鼠营养性肥胖模型的建立. 安徽农业科学,2008,36(36):15963-15964,15976.



(上接第 437 页)

electrical stimulation below contraction threshold in ischemic myocardium. J CQMU,2003,28(3):296-299.

[11] Keen J,Nyland J,Kocabay Y,Malkani A. Shoulder and elbow function 2 years following long head triceps interposition flap transfer for massive rotator cuff tear reconstruction. Arch Orthop Trauma Surg,2006,126(7):471-479.

[12] Ellenbecker TS,Elmore E,Bailie DS. Descriptive report of shoulder range of motion and rotational strength 6 and 12 weeks following rotator cuff repair using a mini-open deltoid splitting technique. J Orthop Sports Phys Ther,2006,36(5):326-335.

[13] Cools AM,Declercq GA,Cambier DC,et al. Trapezius activity and intramuscular balance during isokinetic exercise in overhead athletes with impingement symptoms. Scand J Med Sci Sports,2007,17(1):25-33.

[14] 王保成,杨胜利. 电刺激法治疗运动训练中肌肉软组织损伤的应用研究. 北京体育师范学院学报,1994,6(2):35-37.

[15] 鲁建清,常永玲,黎冬. 电刺激增强肌肉力量的机制及应用. 湘南学院学报,2011,32(2):116-118.

[16] Morris MG, Dawes H, Howells K, et al. Alterations in peripheral muscle contractile characteristics following high and low intensity bouts of exercise. Eur J Appl Physiol,2012,112(1):337-343.

[17] 黄力平,曹龙军,周石,等. 不同时间电刺激训练对大鼠骨骼肌 IGF-1 不同拼接体 mRNA 表达的时序性影响. 中国康复医学杂志,2007,22(5):399-403.

[18] Ullrich B,Kleinöder H,Brüggemann GP. Influence of length-restricted strength training on athlete's power-load curves of knee extensors and flexors. J Strength Cond Res,2010,24(3):668-678.

[19] Butterfield TA,Herzog W. Effect of altering starting length and activation timing of muscle on fiber strain and muscle damage. J Appl Physiol,2006,100:1489-1498.

[20] Hahn D,Olvermann M,Richtberg J,et al. Knee and ankle joint torque-angle relationships of multi-joint leg extension. J Biomech,2011,44(11):2059-2065.