

·基础研究·

不同时间与负荷训练对兔股骨压缩性能的影响*

宋雅伟¹ 张曦元¹

摘要

目的:通过对不同负荷下兔股骨的压缩性能的对比研究,验证在不同负荷下(电刺激与缺血),兔股骨相同部位表现出的抗载荷能力及对应力松弛反映的影响。

方法:制作对照组,电刺激组和结扎缺血模型组的兔股骨标本,分别置于 Instron 材料力学试验机中进行压缩加载及压缩应力松弛实验。

结果:压缩加载实验得出了分别经2周、4周和7周电刺激和缺血训练的兔股骨屈服及断裂的载荷和能量等力学性能指标:对照组模量2697MPa,4周电刺激组模量4051MPa,7周电刺激组模量2818MPa,4周缺血组模量1783MPa,7周缺血组模量1412MPa。压缩应力松弛实验示应力松弛曲线有下降趋势,依次为对照组<7周电刺激组<4周电刺激组<4周缺血组<7周缺血组。

结论:短期缺血引起的骨有机质的缺失没有发生质的改变,长期缺血则会使骨质发生严重退变,导致骨脆性增加。适量的电刺激训练可以有效改善这种退变,过量的电刺激则会影响骨内部的基础环境。

关键词 电刺激;缺血;兔股骨;载荷;应力松弛

中图分类号:R681.8, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2011)-08-0746-04

The influence of different load trainings of different length of time on compression properties of rabbit femur/SONG Yawei, ZHANG Xiyuan//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2011, 26(8): 746—749

Abstract

Objective: To compare the compression properties of rabbit femur under different loads, to verify the capacity of antagonizing load and the impact of reflecting stress relaxation on the same part of rabbit femur under different loads (electrical stimulation and ischemia).

Method: The standard sample of rabbit femur were made for the control group, the electrical stimulation group and the ligation ischemia model group, and the standard parts were placed in the Instron material-mechanics testing machine for compression loading and compression stress relaxation experiments.

Result: The compression loading experiments showed the mechanical property indexes as the load and energy of yield and fracture of rabbit femur were obtained after 2 weeks', 4 weeks' and 7 weeks' trainings with electrical stimulation and ischemia: modulus control group was 2697MPa, modulus of electrical stimulation group for 4 weeks and 7 weeks were 4051MPa and 2818MPa respectively, modulus of ischemia group for 4 weeks and 7 weeks were 1783MPa and 1412MPa respectively. The compression stress relaxation experiments showed the compression stress relaxation curves had decline trends and the order of decline trend of stress relaxation were (control group<7 weeks' electrical stimulation group<4 weeks' electrical stimulation group<4 weeks' ischemia group<7 weeks' ischemia group).

Conclusion: The loss of bone organic substances caused by short-term ischemia was not a qualitative change, but long-term ischemia would cause serious bone degeneration, increase the bone fragility. Appropriate amount of electrical stimulation could effectively improve bone degeneration, but excessive stimulation would influence the in-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.08.012

*基金项目:江苏省自然科学基金(08KJB180007)

¹ 南京体育学院运动健康科学系,江苏南京,210014

作者简介:宋雅伟,男,博士,副教授;收稿日期:2010-10-09

746 www.rehab.com.cn

side basic environment of bone.

Author's address Department of Sport and Health Science, Nanjing Institute of Physical Education, Nanjing, 210014

Key word electrical stimulation; ischemia; rabbit femur; load; stress relaxation

肢体受伤后长期卧床的患者,由于长时间缺血引发骨的愈合缓慢加以恢复后缺乏训练而导致骨质疏松。因此研究骨基质的丢失与卧床时间的关系,以及长期卧床的患者应采用怎样的训练机制来预防骨质疏松,成为骨健康研究的热点。

国内外研究主要集中在:骨组织在外力作用下的力学特性和骨受力后的生物效应,对骨组织进行评定等。De-breceni等^[1]报道经皮电刺激(transcutaneous electrical stimulation, TES)可以改善下肢缺血,且疗效优于药物治疗,然而其机制并不清楚。对卧床患者进行电刺激的被动训练对其骨基质的减少是否有影响,有多大影响,同样是当下研究的热点^[2]。本实验采用动物模型,对骨进行不同时间不同负荷的训练,旨在通过相关数据的对比分析,探讨电刺激这种方法对骨基质的影响程度,为临床康复提供理论基础。

1 对象与方法

1.1 实验对象

将在相同环境下饲养的新西兰兔30只随机分为对照组与实验组,每组各15只。在饲养过程中对实验组兔的右后肢的股动脉进行结扎,造成持续缺血模型^[3-4],然后将其分为三个小组,每组5只。对各小组兔的左后肢体分别进行为期2周、4周和7周的电刺激训练(刺激电流为最大收缩强度的40%,持续刺激4min,休息10min,2次/日,每周5d)。7周后,将其处死并取出股骨,剔除剩余软组织,取骨质较均匀处(即股骨中段),在满足标件长度>2倍标件外直径的前提下,经3次测量取其平均值用于试验。

1.2 方法

1.2.1 标件制作与测量:用游标卡尺准确测量出各标件的内直径、外直径、壁厚和长度(即压间距),并分类记录。用游标卡尺测量的标件原始尺寸:压缩组长16.4—16.5mm,壁厚1.1—1.2mm;应力松弛组长13.5—13.6mm,壁厚1.2—1.4mm。最后贴标签于各标件上。

1.2.2 压缩实验:将标件依次放于Instron材料力学

试验机的台面上,打开与Instron材料力学试验机相连的计算机上的相应软件,输入与试验标件相应的各项原始尺寸数据。设置数据率为50点/s,横梁速度为10mm/min,满量程载荷为30kN。温度22.78℃,湿度50%。

骨组织的黏弹性主要来自熵的改变,因而不存在唯一状态。这样组织会随加载—卸载循环次数的变化而变化,要多次重复才能达到稳定状态^[5]。因此对标件进行预压至200Pa达4次,从而使曲线平稳。预压实验后将软件位移与应力计数归零,再进行加压载荷实验,实验结束后计算机自动生成数据。

1.2.3 应力松弛实验:实验前需分别对每个标件反复加卸载120Pa达4次,从而使曲线达到平稳。由于试样横截面积不一致,应力松弛实验不宜在同一恒应变下进行。为使各组试样实验数据具有可比性,实验设计在同一应力水平下,即零时刻的应力基本一致^[6-8]。调整试验机后,对标件进行沿标件长度方向加载至400Pa左右,在计算机中设定此时为时间 t (0)计时开始并采集数据,随后每5s采集一个数据,共采集1min。

1.3 统计学分析

实验采用Excel软件进行实验数据的处理和图表的制作。

2 结果

2.1 压缩力学实验

通过对相同训练时间组力学性能参数的对比,可以看出模量、断裂载荷、屈服能量、断裂能量、屈服载荷和最大应力的数据,经过电刺激训练得出的数值比持续缺血得出的数值有增大的趋势。

通过对相同训练方式组力学性能参数的对比,可以看出模量、屈服载荷和屈服能量及最大应力的数值,随训练时间的延长数值有逐渐减小的趋势;断裂载荷、断裂能量和最大应变的数据,随训练时间的延长经电刺激训练的数值有增大趋势,而缺血的数值有减小趋势^[9]。见表1。

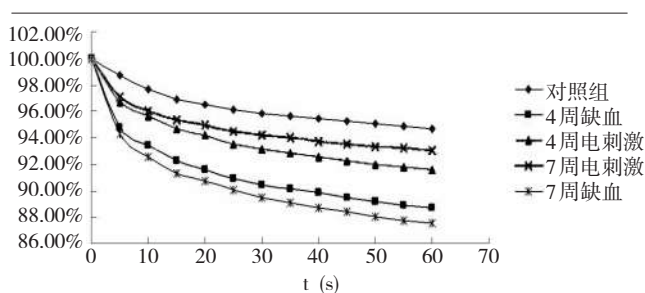
2.2 应力松弛实验

表1 不同试验阶段压缩力学性能参数

($\bar{x} \pm s$)

组别	模量(MPa)	屈服载荷(KN)	断裂载荷(KN)	屈服能量(J)	断裂能量(J)	最大应力(MPa)	最大应变(Mm/mm)
对照组	2697 ± 105	1.387 ± 0.233	0.4888 ± 0.022	0.4109 ± 0.037	1.247 ± 0.069	104.9 ± 11.5	0.0322 ± 0.008
4周电刺激组	4051 ± 152	1.785 ± 0.219	1.261 ± 0.056	0.6881 ± 0.121	1.957 ± 0.085	151.1 ± 13.9	0.0516 ± 0.012
4周缺血组	1783 ± 89	1.296 ± 0.353	0.9748 ± 0.029	0.6272 ± 0.089	0.85 ± 0.041	99.1 ± 10.8	0.0115 ± 0.002
7周电刺激组	2812 ± 131	1.074 ± 0.501	1.378 ± 0.098	0.2211 ± 0.039	2.526 ± 1.326	119.1 ± 18.2	0.0796 ± 0.005
7周缺血组	1412 ± 144	0.164 ± 0.020	0.1152 ± 0.031	0.0125 ± 0.038	0.03 ± 0.005	15.4 ± 1.52	0.0188 ± 0.003

图1 归一化应力松弛曲线



进行应力松弛实验,加压至最大400MPa,各组数据归一化处理,得出归一化应力松弛曲线。

如图1所示,从最上面起,第一条曲线是对照组,与其他组相比下降趋势最为平稳;中间的两条依次为7周和4周电刺激组,最下面两条依次为4周和7周缺血组。对照组与电刺激组之间的差距比与缺血组的差距更小。

松弛曲线是以对数关系变化的,运用Excel软件对所得值进行统计分析,各组的归一化曲线对数方程及可决系数,见表2。

标件在最初10s应力松弛变化最快,之后应力缓慢下降,应变缓慢上升,逐渐呈平稳趋势发展^[10]。对照组变化趋势最弱,其次是4周缺血与7周电刺激组,而4周电刺激与7周缺血组的变化趋势最明显。

表2 各组归一化曲线对数方程及可决系数

组别	归一化方程	可决系数
对照组	$y = -6.4565 \ln(x) + 405.38$	$R^2 = 0.9996$
7周电刺激	$y = -6.6512 \ln(x) + 399.45$	$R^2 = 0.9992$
4周电刺激	$y = -8.5085 \ln(x) + 401.49$	$R^2 = 0.9958$
4周缺血	$y = -9.9554 \ln(x) + 395.87$	$R^2 = 0.9977$
7周缺血	$y = -10.997 \ln(x) + 395.33$	$R^2 = 0.9994$

3 讨论

3.1 压缩试验

7周缺血组的各项参数与对照组及4周缺血组相比明显减小,说明此标件的骨力学性质发生了显著退化。4周缺血组的载荷一位移曲线虽有波动,

但4周缺血组各项力学指标整体低于对照组水平。缺血会影响骨细胞的合成,进而影响胶原骨蛋白的生成、转化及活性。骨胶原纤维的排列方向及结构与力学性能之间的相关性研究进一步提示,骨胶原纤维是一个影响骨力学性能极为重要的因素^[11-12]。骨胶原可以构造蛋白质,促进钙、磷等无机物在骨上的沉积,因而能起到修复骨组织、改善骨质疏松症状的作用^[13]。

骨在结构上主要分为皮质骨和松质骨,其中松质骨构成80%的骨表面。松质骨的骨密度低于皮质骨,因而富有弹性能够抵抗压力。皮质骨的抗应力作用强于松质骨,松质骨的抗应变作用强于皮质骨。4周电刺激组的应变大于对照组,说明电刺激加强了兔股骨松质骨的密度,能更有效的抵抗压力,承受更大的负荷。7周电刺激组由于刺激时间较长,产生了与4周组相反的效果^[14-15]。

骨的应变主要和骨小梁的密度有关,骨小梁由骨胶原纤维构成,缺血组由于长期缺血导致骨胶原纤维缺失,而引起骨小梁排列方向与结构失常,从而加速骨质疏松,导致钙等无机物的大量流失。而应力主要与皮质骨的密度有关,皮质骨的密度则取决于无机物,从而缺血组的整体应力过低,无法承受正常载荷,易发生屈服进而断裂^[16]。

电刺激组的曲线显示,电刺激组可承受比对照组更大的加载,尤其是4周电刺激组,它的屈服点与断裂点均高于对照组。而7周电刺激组在与对照组持平的情况下,略低于对照组。4周电刺激组各参数整体数值高于对照组水平,而7周组则相对低于对照组。骨小梁的排列及分布可直接影响松质骨的弹性模量、极限强度等各项异性力学特性^[17-18]。而电刺激正是加速了额外应力促进了骨小梁的加粗,使模量等力学特性得以增强,4周电刺激组才表现出超过正常对照组的刚性。4周电刺激主要处于促进骨小梁增粗的阶段,而电刺激7周后,骨细胞大量

的增殖,引起了基础环境的改变,阻碍了骨小梁的增粗,降低了骨密度,使电刺激的效果大打折扣^[19-20]。

3.2 应力松弛试验

骨胶原组织主要由三种纤维组成,即弹性纤维、胶原纤维和网状纤维,胶原纤维使胶原组织具有一定的强度和刚度。过高的应力使弹性纤维、胶原纤维、网状纤维遭到破坏,使松质骨和皮质骨的骨密度降低,应变变化增大,所以其应力松弛量减少,松弛速度变慢^[21]。

电刺激组进行的电刺激训练加速了额外的应力,促进了骨小梁的加粗,从而可以承受较大的应力,同时正常血流使电刺激组的骨胶原组织维持了一定的强度和刚度。当以上两种反应结合到一起,即发生了高应力下骨胶原组织中各种纤维的破坏,引起松弛量减少,松弛速度变慢,应力松弛曲线则表现出下降趋势缓慢^[22-23]。缺血组由于胶原纤维和钙等无机物的大量缺失,导致强度和刚度大大降低,不能承受较大应力加载,而在低应力环境下会加速骨小梁的吸收,骨小梁的减少会导致加载后应变变化增大,应力松弛量增大,松弛速度加快,松弛曲线表现为下降趋势过快。由于生命体时刻处于力学环境中,因而应力对骨的生长、重建和成形起着重要的调节作用。然而骨也有一个最适应的应力范围,过低或过高都会使骨逐渐萎缩,甚至破坏。骨处于所能承受的应力区域内会增加其密度和硬度,而处于没有力学刺激的区域则会弱化密度乃至失去钙化特征^[24-25]。所以我们从图1中可以看出,无论是电刺激还是缺血的训练,造成的应力高低对骨都产生了一定的影响,所有曲线的下降趋势都比对照组显著。短期缺血引起的骨有机物缺失没有发生质的改变,长期缺血则会使骨质发生严重退变,主要表现为以低骨量和骨组织微结构被破坏为特征,导致骨脆性增加。而适量的电刺激训练可以有效改善这种退变,但过量的电刺激会影响骨内部的基础环境,起到相反的作用,这一点值得注意。

临床上对于受伤后卧床的患者要注意避免卧床过久,这里就可采用电刺激手段加以改善,但不能单一的依赖,需进行其他辅助治疗。

参考文献

[1] Debreceni L, Gyulai M, Debreceni A, et al. Results of trans-

- cutaneous electrical stimulation (TES) in cure of lower extremity arterial disease[J]. *Angiology*, 1995, 46(7):613—618.
- [2] 林强,吴毅,胡永善,等.电刺激对2型糖尿病大鼠骨骼肌细胞胰岛素信号通路的影响[J].*中国康复医学杂志*, 2008, 23(11):972—975.
- [3] 马焕芝,曾炳芳,李晓林,等.能震波对兔缺血性坏死股骨头血管内皮生长因子表达的影响[J].*中国康复医学杂志*, 2010, 25(1):13—18.
- [4] 李剑锋,闫金玉,张旭,等.肌电生物反馈配合经皮神经电刺激治疗髋臼骨折、髋关节脱位所致坐骨神经损伤的临床研究[J].*中国康复医学杂志*, 2010, 25(6):561—564.
- [5] Lin, Dan-Jae. Bone formation at the surface of low modulus Ti-7.5Mo implants in rabbit femur[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(16):2582—2589.
- [6] Wang Hao-Hao. Fossa trochanterica of the proximal femur in rabbits: An anatomic structure for potential misinterpretation on magnetic resonance images[J]. *Acta Radiologica*, 2009, 50(2):212—216.
- [7] Haidukewych GJ, Berry DJ. Salvage of failed treatment of hip fractures[J]. *J Am Acad Orthop Surg*, 2005, 13(2):101—109.
- [8] Yang, Shuo; Burden, Robert L. In vivo micro-CT scanning of a rabbit distal femur: Repeatability and reproducibility[J]. *Journal of Biomechanics*, 2008, 41(1):186—193.
- [9] Haidukewych GJ, Berry DJ. Salvage of failed treatment of hip fractures[J]. *J Am Acad Orthop Surg*, 2005, 13(2):101—109.
- [10] Trejo, Cynthia G.. The osteoinductive properties of mesoporous silicate coated with osteostatin in a rabbit femur cavity defect model[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(33):8564—8573.
- [11] 程杰平,马洪顺,褚怀德.股骨颈松质骨拉伸应力松弛实验研究[J].*医用生物力学*, 2004, 19(3):157—159.
- [12] 钟林,蔡端,余波,等.电刺激改善下肢缺血及促进骨骼肌血管生成的实验研究[J].*中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25(3):129—132.
- [13] 李军汉,黄雷.被动运动和电刺激预防废用性骨质疏松的骨代谢指标研究[J].*北京体育大学学报*, 2009, 32(8):54—56.
- [14] 孙树东,赵长福,马洪顺.老年股骨头坏死松质骨对骨应力松弛力学性质影响研究[J].*中国老年学杂志*, 2007, 27(21):2125—2126.
- [15] 唐丽灵,潘君.骨的应力集中效应医用生物力学[J].*医用生物力学*, 2002, 14(3):189—192.
- [16] 曹娟,贾天明,李文霞,等.电刺激对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织血管内皮细胞生长因子及其受体表达的影响[J].*实用儿科临床杂志*, 2010, 21(1):46—48.
- [17] 李春慧,阙玉梅.脑电仿生电刺激仪治疗缺血性脑卒中临床观察[J].*四川医学*, 2010, 44(1):90—91.
- [18] 赵丽妹,李晓红,王栋.电刺激对脑梗死大鼠运动功能及骨形成蛋白表达的影响[J].*细胞与分子免疫学杂志*, 2010, 23(2):169—171.
- [19] 李小红,王治伦,刘福德等.整肤与体表神经电刺激治疗成人大骨节病的对比研究[J].*中国地方病防治杂志*, 2010, 1(1):1—3.
- [20] 李军汉,黄雷.被动运动和电刺激对失神经大鼠股骨生物力学性能影响的研究[J].*山东体育学院学报*, 2007, 23(3):68—70.
- [21] 房冬梅,周道华,周凤林.不同应力水平的持续运动对生长期大鼠骨矿含量和力学特性的影响[J].*北京体育大学学报*, 2007, 30(4):501—503.
- [22] 黎小坚, Harold M Frost, 朱邵舜,等.基础骨生物学新观[J].*中国骨质疏松杂志*, 2001, 7(3):253—261.
- [23] 李明,刘植珊.中频电流预防废用性骨质疏松症的实验观察[J].*中华理疗杂志*, 1991, 14(4):195—196.
- [24] Huang TH, Lin SC, Chang FL, et al. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone[J]. *J Appl Physiol*, 2003, 95(1):300—307.
- [25] 田振军,马德媛, Hiroki Yokota, 等.不同方式刺激与运动训练的成骨作用机理研究[J].*中国体育科技*, 2009, 45(1):115—120.