

文章编号:1004-7220(2012)01-0046-06

## 基于原子力显微镜技术研究不同激活态下肌节超微结构与压弹性

朱杰<sup>1,2</sup>, 郭连红<sup>1a,3</sup>

- (1. 西北农林科技大学 a. 理学院 生物物理研究所, 心血管再生研究组; b. 动物医学院, 杨凌 712100;  
2. 吉林大学 超分子结构与材料国家重点实验室, 长春 130012; 3. 中南大学 公共卫生学院, 长沙 410078)

**摘要:** 目的 搭建研究不同激活态下昆虫飞行肌纤维的超微结构与力学特性的系统, 并以此开展近生理环境下的心肌生物力学研究, 进而推动对心肌结构、力学特征和生理功能间关系的认识, 为心肌病的基础研究和临床治疗提供更多的线索。方法 采用轻敲模式的原子力显微镜技术研究僵直态、松弛态和活化态下昆虫飞行肌肌原纤维的超微精细结构; 采用纳米压痕技术研究不同生理状态下肌纤维的定点弹性特性。结果 肌原纤维在僵直态、松弛态和3种活化态的肌节长度分别为:  $(2.10 \pm 0.05)$ 、 $(3.10 \pm 0.10)$ 、 $(2.50 \pm 0.15) \mu\text{m}$  ( $2 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$ ),  $(2.60 \pm 0.25) \mu\text{m}$  ( $5 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$ ) 和  $(2.55 \pm 0.15) \mu\text{m}$  ( $10 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$ ), A带长度始终保持在  $1.50 \mu\text{m}$  左右, 而I带的长度则有较大的变化 ( $0.7 \sim 1.6 \mu\text{m}$ ); 力学实验发现, 在同一生理状态, 肌原纤维的弹性参数的大小满足 Z线 > M线 > 重叠区 > I带; 在不同活化状态下, 钙离子浓度变化对Z线、M线和I带的压弹性影响的程度很接近。结论  $5 \text{ mmol/L}$  的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度是合适的肌纤维活化浓度, 肌节长度的分布符合肌动蛋白与肌球蛋白在重叠区相对滑移的力学和空间结构模型; AFM是肌纤维超微结构与力学特性高分辨研究的潜力工具。

**关键词:** 肌节; 超微结构; 压弹性; 原子力显微镜; 力学特性; 生物力学

中图分类号: Q 66 文献标志码: A

## Ultrastructure and compression elasticity of sarcomere in different activated states using atomic force microscopy

ZHU Jie<sup>1,2</sup>, GUO Lian-hong<sup>1a,3</sup> (1. a. Cardiovascular Regeneration Group, Institute of Biophysics, College of Science; b. College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. State Key Laboratory of Supramolecular Structure and Materials, Jilin University, Changchun 130012, China; 3. School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China)

**Abstract: Objective** To construct a system for studying the ultrastructure and mechanical properties of insect flight muscle fiber in different activated states so as to carry out cardiac biomechanics study in physiological environment, and further promote understanding of the relationship between cardiac structure, mechanical properties and physiological function, and provide more clues for the basic and clinical research on cardiac diseases. **Methods** The ultrastructure of insect flight muscle fibrils in rigor, relaxed and activated state was investigated using the tapping mode of atomic force microscopy (AFM), and the elasticity of muscle fibers in different physiological states was studied using the nanoindentation. **Results** Sarcomere lengths of insect flight muscle fiber in rigor, relaxed and activated state were  $(2.10 \pm 0.05)$ ,  $(3.10 \pm 0.10)$ ,  $(2.50 \pm 0.15) \mu\text{m}$  ( $2 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$ ),  $(2.60 \pm 0.25) \mu\text{m}$  ( $5 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$ ) and  $(2.55 \pm 0.15) \mu\text{m}$  ( $10 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$ ), respectively, while the A-band length

收稿日期:2011-07-06; 修回日期:2011-07-27

基金项目:中国博士后科学基金(20100481372), 国家留学基金委项目(2007103068), 超分子结构与材料国家重点实验室开放课题(SKLSM201127), 西北农林科技大学留学归国人员科研启动费(Z111020906), 中央高校基本科研业务费专项资金项目(QN2011123)。

通讯作者:朱杰, Tel: (029) 87092226; E-mail: cardioclabs@gmail.com。

maintained at 1.50  $\mu\text{m}$  and I-band changed from 0.7 ~ 1.6  $\mu\text{m}$ . Mechanical test found that the elasticity of different bands or lines in the same physiological state varied in the order of Z-line > M-line > overlap > I-band. **Conclusions**

Critical  $\text{Ca}^{2+}$  concentration for muscle fiber activation was 5 mmol/L, and sarcomere length distributions were in line with the relative slip theory and structure model, and AFM was the potential tool for the high-resolution study on ultrastructure and mechanical properties of the muscle fibers.

**Key words:** Sarcomere; Ultrastructure; Compression elasticity; Atomic force microscopy (AFM); Mechanical properties; Biomechanics

昆虫高速飞行时,其飞行肌高频的收缩和工作能力与心肌纤维具有很高的相似性。鉴于飞行肌具有比心肌更加规整的外观和内部结构,飞行肌通常被用作研究心肌收缩力学机制的理想模型。肌动蛋白和肌球蛋白之间周期性的滑移导致了肌节周期性的收缩和舒张,然后经由胞外基质和近邻的肌原纤维将这种原初滑移逐渐传递到整个纤维<sup>[1-3]</sup>。而钙离子浓度的变化主要起着触发肌原纤维内蛋白纤维原初滑移的关键作用<sup>[4]</sup>。目前,由于肌纤维在纵向尺度容易拓展到宏观层面,在肌纤维的离体研究中,通常结合钙离子激活和外界纵向力学刺激(拽拉)研究肌纤维的纵向弹性,从而了解肌纤维对外界离子信号诱导和力学信号刺激的反应。但肌纤维在横向应对环境刺激的研究则相对滞后,目前常用的方法只能得到一些平均的横向力学信息,无法实现定点实时测量<sup>[5-7]</sup>。原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)具有纳米级的高分辨率和优秀的力学测量能力,是研究肌纤维表面纳米结构和超微力学特性的理想工具<sup>[8-9]</sup>。本研究主要采用轻敲式AFM和纳米压痕技术研究不同激活态下昆虫飞行肌纤维的表面结构和压弹性。

## 1 材料与方法

### 1.1 飞行肌纤维的制备

昆虫背部飞行纵肌粗纤维和肌原纤维按照 Linari M 的方法<sup>[10]</sup>,经改进后从田鳖(*lethocerus indicus*)直接解剖得来,再用松弛溶液(含 5 mmol/L ATP, 5 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 5 mmol/L  $\text{NaN}_3$ , 5 mmol/L EGTA 和 20 mmol/L MOPS, pH 6.8)冲洗 3 次。再将肌原纤维的松弛溶液滴加到新鲜解理的多个云母片上,置于培养皿中防尘并于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱过夜固定,用去离子水冲洗 3 次晾干。然后将松弛溶液、僵直溶液(含 5 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 5 mmol/L  $\text{NaN}_3$ , 5 mmol/L EGTA 和 20 mmol/L MOPS, pH = 6.8)和 3 种不同钙

离子浓度(2,5 和 10 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ )的活化溶液(含 5 mmol/L ATP, 4 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 5 mmol/L  $\text{NaN}_3$ , 5 mmol/L EGTA 和 20 mmol/L MOPS, pH = 6.8)分别滴加到不同的云母片上,制作 5 组样品(每组 2 个备份),共 15 个样品。将样品直接置于 AFM 上进行表面成像或力学检测。

### 1.2 飞行肌纤维的超微结构测量

飞行肌纤维表面结构的所有测量均在相应的溶液环境中直接进行,成像环境温度为(19  $\pm$  1)  $^{\circ}\text{C}$ 。研究采用 PicoScan-3000 型 AFM (MI Co., 美国)。悬臂长约 125  $\mu\text{m}$ ,弹性系数为 42 N/m,共振频率为 330 kHz,针尖曲率半径小于 10 nm 的轻敲式探针被用来进行 AFM 成像实验(Nanosensor, 瑞士)。扫描器在 Y 方向的工作频率为 0.5 Hz。离线分析软件 PicoScan V5.3.3 (MI Co., 美国)用来分析高度图像中的样品的粗糙度、颗粒度、剖面曲线等,重点分析肌纤维随溶液的变化。

### 1.3 飞行肌纤维的压弹性测量

采用 PicoScan-3000 型 AFM 系统记录探针压痕过程的力-距曲线(F-D curves),由此通过赫兹公式<sup>[11]</sup>便可计算飞行肌纤维的压弹性参量如弹性系数和弹性模量<sup>[12]</sup>。首先在接触模式下用金刚石探针(悬臂长约 450  $\mu\text{m}$ ,弹性系数为 0.2 N/m,针尖曲率半径约 100 nm, Nanosensor Co.)扫描飞行肌纤维,得到肌纤维完整的 AFM 高度图像,然后选择 Z 线、M 线、I 带和重叠区(overlap) 4 个区域作为研究位点,在力调制模式(force modulation)下进行单点(或连续单点)力学测量,记录完整的力-距曲线,最后用这些力-距曲线计算对应位点的弹性参数。试验中使用的最大压缩力约为 10 nN。具体来讲,当探针开始接触并压缩样品时,探针悬臂将会逐渐向上弯曲<sup>[8]</sup>,施加在样品上的压缩力  $F_c$  等于悬臂的形变量  $D_c$  和悬臂弹性系数  $K_c$  的乘积;而样品的形变

量  $D_s$  则等于扫描器的伸长量  $L_p$  减去悬臂的形变量  $D_c$  [13-14]。样品压缩弹性系数  $K_c$  和弹性模量  $E_c$  的计算如下:

$$K_s = \frac{F_c}{D_s} = \frac{K_c D_c}{L_p - D_c} \quad (1)$$

$$E_s = \frac{3(1 - \mu^2) F_c}{4R^{1/2} D_s^{3/2}} = \frac{3(1 - \mu^2) K_c D_c}{4R^{1/2} D_s^{3/2}} \quad (2)$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 钙离子浓度对肌节超微结构的影响

图1(a)~(c)显示了处于3种不同生理溶液的单根肌纤维的AFM高度图像,其中松弛溶液的钙离子浓度为5 mmol/L,其他溶液的组成和浓度如上文所述。3个图像右下角的内置图为各图对应的大尺度AFM图像。这3个图像都显示了典型的沿纤维轴向延伸的肌节单元的重复结构,并可见Z线(I

带)、M线(H区)、A带和重叠区(overlap)等结构细节,其中Z线相邻肌节的界限,在透射电子显微镜(TEM)下表现为一系列暗色线条,Z线两边是明带(I带),明带两边是暗带(A带),暗带中有一个较明亮的H区,H区中间有一条细M线。肌动蛋白是I带的主要成分且部分伸入暗带。肌动蛋白具有两个头部且贯穿A带。肌动蛋白丝由M线连接。大分子蛋白肌联蛋白连接Z线和M线。整体上,根据周期结构的明暗分布,在AFM图像中可将每个肌节分成亮区和暗区两大区域(分别对应样品表面位置的高与低),分别对应的是肌节的I带和A带,这和光学显微镜或TEM结果的明暗表述不太一样。这一结果的表述与Huxley等[15]在2004年发表的家兔腰肌纤维的相衬干涉光学显微镜和TEM结果符合得很好,也和Tiribilli等[16]的小鼠骨骼肌的AFM结果表述保持一致。

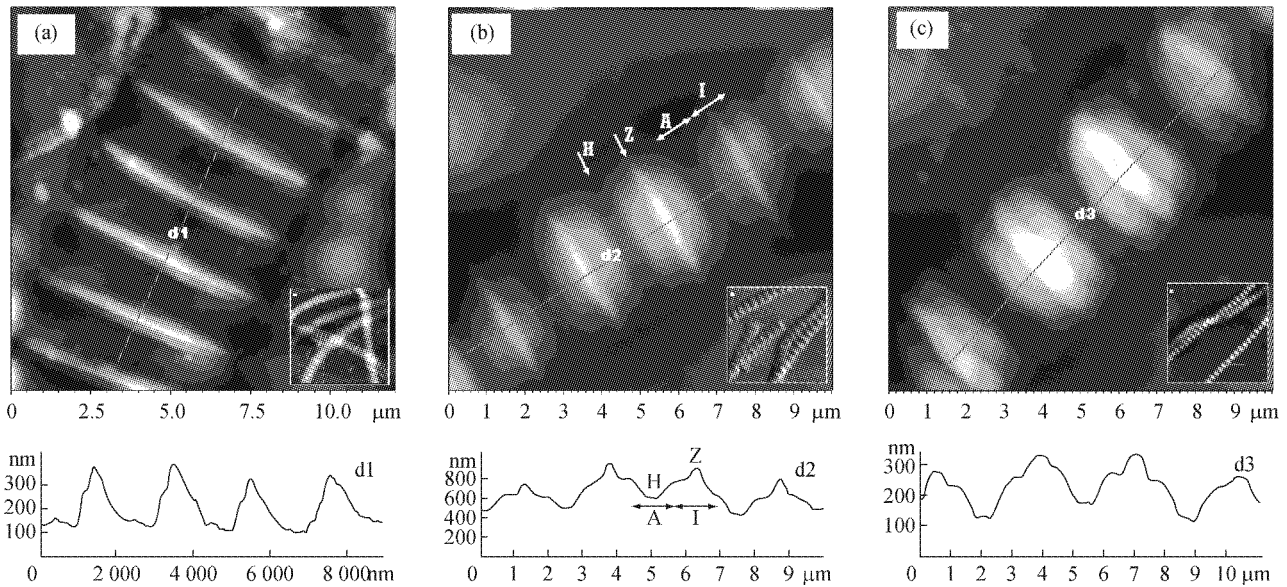


图1 飞行肌纤维在僵直态(a)、活化态(b)和松弛态(c)的AFM高度图与表面结构分析(d)

Fig.1 AFM height images of insect flight myofibril in rigor (a), activated (b), and relaxed state(c), respectively, and the section profile analysis (d)

根据AFM图像的明暗确定I带和A带后,结合透射电子显微镜和生物化学技术确定的各细节结构的相对位置,就可以确定它们在AFM图上的具体位置。这样,确定Z线和M线(H区)则分别处于I带和A带的正中央,且分别相对于I带和A带有一定的高度(亮度)上升;并由此可进行AFM高度图像的剖面曲线分析。

对图1(a)~(c)上所示纤维沿轴向的剖面分析结果如图1(d)所示,剖面曲线d1~d3分别来自图1(a)~(c)上所画的3条线段d1~d3。3种不同生理状态肌纤维的剖面分析结果显示,僵直态的肌节长度为  $(2.10 \pm 0.05) \mu\text{m}$  ( $n=25$ );松弛态为  $(3.10 \pm 0.10) \mu\text{m}$  ( $n=25$ ),相对于僵直态有47.6%的增长;而活化态(含5 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ )的肌节长度则为

( $2.60 \pm 0.25$ )  $\mu\text{m}$  ( $n = 25$ ), 比僵直态增长约 23.8%, 比松弛态的肌节则短了 16.1%。但进一步的研究发现, 随着钙离子浓度的变化, 由于肌节的伸缩, 活化态的肌节长度有一定的波动, 但始终未超出僵直态和松弛态的肌节长度范围。当钙离子浓度为 2 和 10 mmol/L 时, 肌节长度分别为 ( $2.50 \pm 0.15$ ) 和 ( $2.55 \pm 0.15$ )  $\mu\text{m}$  ( $n = 25$ ), 与 5 mmol/L 钙离子浓度活化态的肌节长度很接近。但随着钙离子浓度的变化, 肌节可伸缩的范围变小, 说明低浓度和高浓度的钙离子都会对肌纤维的信号激活与力学反馈有抑制作用, 这与 Reedy 等的生化研究结果及 Huxley 等的透射电镜结果保持一致。由此可见, 5 mmol/L 的钙离子浓度是合适的肌纤维活化浓度。

另外, AFM 图像的剖面分析结果显示, A : I : H 的长度比分别为 1.45 : 0.7 : 0.2 (僵直态), 1.54 : 1.0 : 0.26 (活化态, 含 5 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ ) 和 1.46 : 1.6 : 0.37 (松弛态), 对比各细化结构的长度发现, 不论飞行肌纤维处于什么生理状态, A 带的长度始终保持在 1.50  $\mu\text{m}$  左右, 而 I 带的长度则有较大的变化 ( $\sim 0.9 \mu\text{m}$ ), 僵直态最短 (0.7  $\mu\text{m}$ ), 松弛态最长 (1.6  $\mu\text{m}$ ); 这也符合肌动蛋白与肌球蛋白在重叠区相对滑移的力学和空间结构模型。但较难理解的是 H 区长度的增大, 这可能是纤维伸长过程中重叠区的减小导致靠近 H 区肌动蛋白纤维形变以及 AFM 探针的扩展效应造成的成像误差<sup>[17]</sup>。

## 2.2 钙离子浓度对肌节弹性系数和弹性模量的影响

为了研究肌原纤维在单肌节上的压弹性, 实验采用纳米压痕技术采集了不同生理状态的 Z 线、I 带、重叠区和 M 线 (H 区) 等肌节部位的力-距曲线。研究不同的力-距曲线发现, 几乎所有的曲线在 60 ~ 140 nm 的压痕深度有较好的线性相关性以及较大的斜率, 这意味着力学测量在这一压痕深度区间具有更高的精确度和敏感性。而在压痕深度小于 60 nm 或大于 140 nm 时, 则都有可能非弹性测量。当压痕深度小于 60 nm 时, 由于小曲率半径探针可能导致随机的刺穿过程, 是非常不稳定和非线性的; 而当压痕深度大于 140 nm 时, 由于探针所施加的压缩力和纤维形变量的逐渐增大将会导致肌纤维的形变逐渐超出弹性形变范围, 因而这两个区间都不宜作为进一步计算的依据。基于这样的分析,

实验中将进一步采用 60 ~ 140 nm 压痕深度区间的力-距曲线来计算肌纤维的弹性系数和弹性模量<sup>[18-19]</sup>。

根据式 (1) 和 (2), 代入相关系数可得肌纤维的  $K_s$  和  $E_s$ :

$$K_s = \frac{F_c}{D_s} = \frac{K_c D_c}{D_s} \quad (3)$$

$$E_s = \frac{9 \sqrt{10} K_s}{16 D_s^{1/2}} \text{ (kPa)} \quad (4)$$

其中,  $D_c$ 、 $K_c$  和  $D_s$  分别为悬臂形变量、弹性系数和纤维形变量。

结合上文关于力-距曲线合理计算区间的分析, 可以计算不同生理状态的肌原纤维在不同肌节位置的横向弹性系数  $K_s$  和弹性模量  $E_s$  (见图 2)。

图 2 给出了僵直、活化和松弛态 3 个不同生理状态下同一肌原纤维不同肌节位点的压弹性参数。其中, 在 Z 线、I 带、重叠区和 M 线 4 个肌节位点的弹性系数分别为 ( $n = 5$ ): ( $24.5 \pm 4.5$ ), ( $8.7 \pm 1.6$ ), ( $10.6 \pm 1.9$ ), ( $17.8 \pm 3.2$ ) kN/m (僵直态); ( $19.6 \pm 3.9$ ), ( $5.5 \pm 1.1$ ), ( $8.4 \pm 1.7$ ), ( $15.2 \pm 3.0$ ) kN/m (活化态, 5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ ); ( $9.7 \pm 1.2$ ), ( $2.6 \pm 0.3$ ), ( $6.9 \pm 0.8$ ), ( $7.1 \pm 0.9$ ) kN/m (松弛态)。在 4 个肌节位点对应的弹性模量分别为 ( $n = 5$ ): ( $137.8 \pm 24.8$ ), ( $48.9 \pm 8.8$ ), ( $59.6 \pm 10.7$ ), ( $100.1 \pm 18$ ) kPa (僵直态); ( $110.3 \pm 22.1$ ), ( $30.9 \pm 6.2$ ), ( $47.3 \pm 9.5$ ), ( $85.5 \pm 17.1$ ) kPa (活化态, 5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ ); ( $54.6 \pm 6.5$ ), ( $14.6 \pm 1.8$ ), ( $38.8 \pm 4.7$ ), ( $39.9 \pm 4.8$ ) kPa (松弛态)。

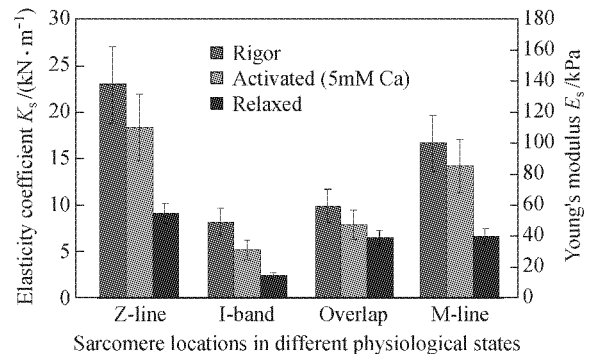


图 2 不同生理状态下肌原纤维不同肌节位点的压弹性参数  
 Fig. 2 Compression elasticity of sarcomere in different physiological states (柱状图的左、右两侧的纵向坐标分别为肌原纤维的弹性系数和弹性模量, 横坐标标定了 Z 线、I 带、重叠区和 M 线等 4 个肌节位置, 每个位置对应僵直、活化和松弛等 3 个状态)

总体来看,在同一肌节位置,肌原纤维的弹性系数和弹性模量的大小关系是一致的,满足僵直态 > 活化态(5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ ) > 松弛态;在同一生理状态,肌原纤维的弹性参数的大小关系也是确定的,满足 Z 线 > M 线 > 重叠区 > I 带。相对于僵直态的纤维弹性,活化态和松弛态的纤维分别软了 20% 和 60.4% (Z 线)、36.8% 和 70.1% (I 带)、20.8% 和 34.9% (重叠区)、14.6% 和 60.1% (M 线)。由此可见,重叠区随生理状态变化的幅度较小;I 带随生理状态变化的幅度最大,受生理状态变化的影响最大;Z 线和 M 线的变化规律很接近。说明 I 带是肌节单元中最不稳定的部位,可能与肌纤维在收缩过程中的 I 带的动态变化有关。本文首次对飞行肌肌节超微结构与力学特性进行了描述,与骨骼肌的研究结果有一定的相似性<sup>[16]</sup>;但本文重点突出了肌节超微结构和力学参数的周期统一性,有助于建立与超微形态相应的力学图谱。

### 3 结论

本文采用 AFM 研究了飞行肌肌原纤维在 5 种不同状态的肌节长度分别为 ( $n = 25$ ): (2.10 ± 0.05)  $\mu\text{m}$  (僵直态), (3.10 ± 0.10)  $\mu\text{m}$  (松弛态), (2.50 ± 0.15)  $\mu\text{m}$  (活化态, 2 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ ), (2.60 ± 0.25)  $\mu\text{m}$  (活化态, 5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ ), (2.55 ± 0.15)  $\mu\text{m}$  (活化态, 10 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ ), 得到 5 mmol/L 的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度为合适的肌纤维活化浓度。AFM 剖面分析结果发现,不论飞行肌纤维处于什么生理状态, A 带的长度始终保持在 1.50  $\mu\text{m}$  左右,而 I 带的长度则有较大的变化(0.7 ~ 1.6  $\mu\text{m}$ ),符合肌动蛋白与肌球蛋白在重叠区相对滑移的力学和空间结构模型。另外,力学实验发现,同一状态下肌纤维的弹性参数满足 Z 线 > M 线 > 重叠区 > I 带;而在不同活化状态下,钙离子浓度对 Z 线、M 线和 I 带压弹性的影响很接近。源于 AFM 研究的肌纤维结构和弹性参数可推动人们对生物结构、生物力学和生理功能间关系的认识,为心肌病的基础研究和临床治疗提供更多的线索<sup>[19-20]</sup>。

目前采用 AFM 研究肌纤维的超微结构和力学性能还存在一定局限。肌纤维并非理想的线性弹性体,肌动蛋白和肌球蛋白构成的周期横桥并不具有稳定的弹性表征,而是随着肌节位置、生理状态以及

基纤维的来源而改变。另外,纳米级的 AFM 探针挤压微米级的纤维表面本质上不是理想的线性过程。因此,尖锐探针的压痕过程可能会在初始阶段明显影响纤维的力学反馈,针尖的几何形貌也会干扰力学测量。可以预见,随着探针环境力学理论和高速 AFM 的发展,AFM 在力学测量中的作用将会得到充分体现<sup>[21]</sup>。

**致谢:**美国 Argonne 国家实验室 Irving 教授、Pritzker 研究所 Orgel 教授、杜克大学 Reedy 教授、Bekyarova 博士、华盛顿大学 Daniel 教授在昆虫飞行肌实验中的样品支持与科学探讨;吉林大学张文科教授在 AFM 力学测量中的交流与探讨,在此一并感谢。

### 参考文献:

- [1] Huxley HE. The mechanism of muscular contraction [J]. *Science*, 1969, 164(886): 1356-1366.
- [2] Squire JM. Architecture and function in the muscle sarcomere [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 1997, 7(2): 247-257.
- [3] Farman GP, Allen EJ, Gore D, *et al.* Interfilament spacing is preserved during sarcomere length isometric contractions in rat cardiac trabeculae [J]. *Biophys J*, 2007, 92(9): L73-75.
- [4] Millman BM. The filament lattice of striated muscle [J]. *Physiol Rev*, 1998, 78(2): 359-391.
- [5] Irving TC, Konhilas JP, Perry D, *et al.* Myofilament lattice spacing as a function of sarcomere length in isolated rat myocardium [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 279(5): 2568-2573.
- [6] Fukuda N, Wu YM, Farman G, *et al.* Titin isoform variance and length dependence of activation in skinned bovine cardiac muscle [J]. *J Physiol*, 2003, 553(Pt 1): 147-154.
- [7] Farman GP, Walker JS, De Tombe PP, *et al.* Impact of osmotic compression on sarcomere structure and myofilament calcium sensitivity of isolated rat myocardium [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291(4): 1847-1855.
- [8] Zhu J, Guo L, Zhang B, *et al.* Microscale biomechanics measurements with atomic force microscopy and the concerned techniques [J]. *Life Sci Instrum*, 2007, 5(12): 3-9.
- [9] Marchetti S, Sbrana F, Raccis R, *et al.* Dynamic light scattering and atomic force microscopy imaging on fragments of beta-connectin from human cardiac muscle [J]. *Phys Rev E Nonlin Soft Matter Phys*, 2008, 77(2 Pt 1): 021910-3.

(下转第 76 页)

文章编号:1004-7220(2012)01-0051-07

## 基于非线性时间序列法研究人体步行稳定性

胡飞<sup>1</sup>, 顾冬云<sup>1,2</sup>, 戴尅戎<sup>1,2</sup>, 安丙辰<sup>2</sup>, 陈金灵<sup>1</sup>, 吴昱<sup>1</sup>

(1. 上海交通大学生物医学工程学院, 数字医学临床转化教育部工程研究中心, 上海 200030;

2. 上海市骨科内植物重点实验室 上海交通大学医学院附属第九人民医院, 骨科, 上海 200011)

**摘要:** **目的** 应用非线性时间序列分析方法, 研究健康老年与青年志愿者的步行稳定性, 为更全面评估人体的动态平衡、预测跌倒风险提供重要依据。 **方法** 应用 VICON 运动捕捉系统, 采集肌骨系统健康志愿者 (7 名老年和 10 名青年) 在不同步速 (80%、100%、120% 自然步速) 下的运动学数据, 提取志愿者在 30 个连续步态周期中, 第 7 颈椎和第 10 胸椎在前后和左右方向上的位移, 以及下肢各关节屈曲伸展和外展内收运动角度, 计算位移和运动角度变化的最大 Lyapunov 指数, 比较分析老年与青年组之间步行稳定性差异, 以及步速对人体步行稳定性影响。 **结果** 青年组步行稳定性优于老年组, 并在某些运动节段呈现显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 老年和青年的步行稳定性随步速增加而降低 ( $P < 0.05$ )。 **结论** 应用非线性时间序列分析方法中的最大 Lyapunov 指数, 能有效并定量地评测人体步行中各运动节段的稳定性。

**关键词:** 非线性时间序列; 步态分析; 稳定性; 跌倒; 步速; 运动学

中图分类号: R 3 文献标志码: A

## Nonlinear time series analysis of gait stability during walking

HU Fei<sup>1</sup>, GU Dong-yun<sup>1,2</sup>, DAI Ke-rong<sup>1,2</sup>, AN Bing-chen<sup>2</sup>, CHEN Jin-ling<sup>1</sup>, WU Yu<sup>1</sup>

(1. School of Biomedical Engineering, Shanghai Jiaotong University, Engineering Research Center of Clinical Translational Digital Medicine, Ministry of Education, Shanghai 200030, China; 2. Shanghai Key Laboratory of Orthopaedic Implant, Department of Orthopaedics, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

**Abstract: Objective** To investigate the gait stability of healthy old and young adult volunteers during walking using the nonlinear time series analysis method so as to comprehensively assess the dynamic balance of human and provide important references for the prediction of fall risk. **Methods** The Vicon motion capture system was used to collect three-dimensional kinematic data of healthy volunteers (seven old subjects and ten young subjects) at different walking speed (80%, 100%, 120% of the natural walking speed). The anterior-posterior and medio-lateral motions of the seventh cervical and tenth thoracic vertebrae, as well as the flexion-extension and abduction-adduction angles of the lower extremity joints, were obtained from 30 consecutive gait cycles to calculate the largest Lyapunov exponents and analyze the difference of gait stability between the old and young group and the influence of walking speed on gait stability. **Results** The gait stability in the young group was better than that in the old group, and there were significant differences in certain motion segments ( $P < 0.01$ ). The gait stability in both groups were reduced with the increase of speed ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The largest Lyapunov exponent based on nonlinear time series analysis method can be used to effectively and quantitatively analyze the gait stability of each motion segment in human during walking.

**Key words:** Nonlinear time series; Gait analysis; Stability; Falls; Walking speed; Kinematics

收稿日期:2011-07-08; 修回日期:2011-08-31

基金项目:科技部国际合作项目(2009DFA32500), 国家科技支撑项目(2009BAI71B06), 上海教委重点学科建设基金(J50206)。

通讯作者:顾冬云, Tel: (021)62932392; E-mail: dongyungu@gmail.com。