

手法对兔颈椎间盘退变模型骨骼肌超微结构的影响

井夫杰¹, 詹红生², 张静¹, 应航³, 陈立³

(1. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011; 2. 上海中医药大学曙光医院; 3. 浙江中医学院)

摘要 目的: 观察手法干预对实验性兔颈椎间盘退变模型骨骼肌超微结构的影响。方法: 建立兔颈椎间盘退变模型, 25 只成年新西兰大白兔随机分为正常对照组、模型组、手法预防组、手法治疗组, 应用透射电镜观察手法干预对兔颈后部骨骼肌超微结构的影响。结果: 模型组兔颈后部骨骼肌表现出肌原纤维萎缩, 粗细不均, 肌原纤维间隙增宽, 明、暗带消失, 肌节不清晰, 大量线粒体肿胀等病变。手法干预能不同程度地阻止骨骼肌的上述病变, 并且手法早期干预的效果优于晚期干预。结论: 通过阻止骨骼肌损害恢复颈椎动力平衡可能是手法防治椎间盘退变的主要途径之一。

关键词 椎间盘退变; 手法; 骨骼肌; 超微结构

Effects of manipulation on the ultrastructure of skeletal muscle in the model of cervical disc degeneration on rabbits JING Fu-jie*, ZHAN Hong-sheng, ZHANG Jing, YING Hang, CHEN Li.* *The Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Shandong Jinan, 250011, China*

Abstract Objective: To observe the effects of manipulative intervention on the ultrastructure of skeletal muscle in the experimental model of degenerative cervical disc on rabbits. **Methods:** By using the rabbit model of cervical disc degeneration induced by changing the normal stress distribution of the cervical spine, twenty-five adult rabbits were divided into four groups: normal control group, model group, manipulative prevention group, manipulative treatment group, and observed the effects of manipulative intervention on the ultrastructure of cervical skeletal muscle with transmission electron microscopy. **Results:** Skeletal muscle in the model group showed different histological damage, and manipulative intervention prevented the damage of skeletal muscle in the different degree. The earlier the manipulations were intervened, the better the effects were produced. **Conclusion:** Restoring dynamic equilibrium of cervical spine by the good effects of manipulation on skeletal muscle may be one of channels by which manipulation can retard cervical disc degeneration.

Key words Intervertebral disc degeneration; Manipulation; Skeletal muscle; Ultrastructure

研究表明, 异常应力是引起或加速椎间盘退变的主要因素之一。临床所见颈椎病早期患者常表现出项背部肌肉劳损, 后伸肌力减弱, 引起颈椎动力失衡, 改变了椎间盘最佳应力平衡状态, 导致椎间盘退变、颈椎病的发生。前期研究表明, 手法干预能不同程度地延缓退变兔颈椎间盘中蛋白多糖、胶原、软骨终板的退变, 但手法能否通过阻止骨骼肌损害, 恢复颈椎动力平衡, 进而改善椎间盘营养代谢来延缓椎间盘退变, 目前尚不清楚。为此, 本实验从超微结构水平观察手法干预对实验性兔颈椎间盘退变模型颈后部骨骼肌超微结构的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及处理 25 只健康成年新西兰家兔, 雌雄各半, 体重(2.20±0.13) kg。按体重大小排序, 用配伍组设计随机分为 4 组。模型组(n=5): 把家兔放于特制的固定架上, 用捆绑带固定胸腰部, 然后屈颈固定, 每次制动 5 h, 每日 1 次, 然后松开任其自然在笼中活动。持续固定 3 个月后处死动物。正常对照组(n=5): 把家兔放于特制的固定架上, 胸腰部固定方式、时间及次数同模型组, 颈部不予固定, 可自由活动, 3 个月后处死动物。手法预防组(n=5): 造模与手法干预同时进行, 固定方式、时间及次数同模型组。于造模开始就给予手法干预, 3 个月后处死动物。手法治疗组(n=10): 固定方式、时间及

次数同模型组。于造模 1、2 个月分别给予手法干预, 3 个月处死动物, 分别为治疗 2 个月组(5 只)及治疗 1 个月组(5 只)。

1.2 手法治疗 手法: 扶持一指禅推法、三指拿法、按揉法。穴位: 风池、天柱、肩井、颈部夹脊穴。手法刺激以中等量刺激。操作: 用扶持一指禅推法循督脉和足太阳膀胱经操作 5 min, 然后用三指拿法在项部两侧肌肉及肩井穴操作 2~3 min, 最后按揉上述穴位, 每只家兔每次治疗 8 min, 每日 1 次。

1.3 常规组织学检查 3 个月后, 耳缘静脉空气栓塞处死动物, 迅速剪取 C_{3,4} 棘突旁深层肌肉(此部位取材定位比较准确, 保证各组的可比性), 放入 4% 多聚甲醛缓冲液(pH 值为 7.4)中固定 24 h, 常规石蜡包埋, 切片(厚度为 7 μm), HE 染色, 光镜下进行观察。

1.4 透射电镜标本制作及观察^[1] 在常规组织学检查取材部位(C_{3,4} 棘突旁深层肌肉), 用锐利刀片割取 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小的组织块, 迅速投入 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液(4 ℃)固定 2 h, 0.1 M PBS 清洗(4 ℃), 1% 锇酸固定 2 h(4 ℃), 0.1 M PBS 漂洗(4 ℃), 丙酮梯度脱水, Epon 812 环氧树脂浸透、包埋(4 ℃), 纵向超薄切片, H-500 透射电镜观察。

2 结果

2.1 常规组织学检查 光镜下, 各组骨骼肌组织形态结构未见明显差异。

2.2 透射电镜观察 正常对照组 3 个月: 肌原纤维排列规则, 粗细均匀, 肌丝排列正常, 明、暗带清晰, Z 线显示正常结构, 肌节清晰, 肌节宽度一致, 线粒体无肿胀, 肌核膜完整。模型组 3 个月: 肌原纤维萎缩, 粗细不均, 肌原纤维间隙增宽, 明、暗带消失, 大量 Z 线结构异常, 肌节不清晰, 肌节宽窄不等, 大量线粒体肿胀、嵴断裂, 甚至破坏消失。手法预防组 3 个月: 肌原纤维排列基本规则, 粗细均匀, 肌丝排列基本正常, 明、暗带清晰, Z 线结构基本正常, 有少数线粒体肿胀, 比模型组 3 个月病变轻。手法治疗 2 个月组: 肌原纤维排列基本规则, 粗细均匀, 肌丝排列基本正常, 偶见紊乱, 明、暗带尚清晰, 有少量 Z 线结构异常, 线粒体肿胀数目增多, 比预防组 3 个月病变重, 但比模型组 3 个月病变轻。手法治疗 1 个月组: 肌原纤维排列欠规则, 粗细不均, 较多肌丝排列紊乱, 明、暗带不太清晰, 有大量 Z 线结构异常, 肌节宽窄不等, 线粒体肿胀数目明显增多, 比模型组 3 个月

病变稍轻, 但比治疗组 2 个月病变重。

总之, 手法干预能不同程度地阻止兔颈部骨骼肌的损害, 并且手法早期干预效果最好。

3 讨论

3.1 动力性平衡失调是引起椎间盘退变的主要原因之一 我们所用的动物模型是模仿颈椎病最常见的诱因(颈椎屈曲位姿势)而建立的。骨骼肌在维持颈椎动力平衡起着非常重要的作用, 在颈椎屈曲过程中, 一方面通过改变椎间盘上的应力分布或增加椎间盘内压, 影响椎间盘的营养代谢引起椎间盘退变; 最重要的一方面是引起项背伸肌群损伤(肌肉僵硬、粘连、钙化等), 破坏动力平衡, 加剧椎间盘退变, 导致颈椎病发生。Jackson 等^[2]用猫科动物研究了静力性屈曲对腰背侧肌肉组织的影响。结果发现, 屈曲 20 min 后可引起肌肉组织的蠕变、反射活动的降低及肌痉挛, 经过 7 h 的休息后, 肌肉组织的蠕变、反射活动未能完全恢复正常。作者认为, 肌肉组织反射功能完全恢复正常可能需要 24 h 左右, 由于反射功能未能完全恢复, 导致肌肉的保护功能下降, 使椎间盘处于不稳状态, 受到异常应力刺激, 引起椎间盘的退变。我们的实验结果亦表明, 模型组表现出项部肌肉的僵硬、挛缩等病理表现; 超微结构上表现出肌原纤维萎缩, 粗细不均, 肌原纤维间隙增宽, 明、暗带消失, 肌节不清晰, 大量线粒体肿胀等病变。

3.2 手法干预对退变兔颈椎间盘模型骨骼肌的影响及机制探讨 手法具有改善局部微循环、调节颈椎力学失衡的作用已被临床和实验所证实。王济纬等^[3]研究发现, 手法治疗后, 患肢及局部血流量明显增加, 微循环明显改善。因此, 手法通过改善微循环, 解除肌痉挛, 恢复肌肉的结构和功能, 进而维持颈椎动力性平衡, 延缓椎间盘退变, 预防颈椎病的发生。本实验结果表明, 手法干预能不同程度地抑制退变兔颈椎间盘模型骨骼肌损害, 手法早期干预的防治效果最好, 提示手法通过抑制骨骼肌损害, 进而纠正颈椎动力平衡失调可能是延缓椎间盘退变, 防止颈椎病发生的主要途径之一。

参考文献

- 席越, 王戈平, 黄啸原, 等. 骨组织病理解剖学技术. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 52-54.
- Jackson M, Solomonow M, Zhou B, et al. Multifidus EMG and tensor relaxation recovery after prolonged static lumbar flexion. Spine, 2001, 26(7): 715-723.
- 王济纬, 杜宁, 符诗聪, 等. 手法治疗实验性骨关节炎研究. 上海第二医科大学学报, 1996, 16: 417-419.