

·基础研究·

大鼠椎骨错缝模型不同时间节点全血黏度变化的实验研究

陈博, 林勋, 庞坚, 孔令军, 詹红生, 程英武, 石印玉

(上海中医药大学附属曙光医院石氏伤科医学中心 上海市中医药研究院骨伤科研究所, 上海 201203)

【摘要】 目的:通过检测大鼠腰椎椎骨错缝模型不同时间点全血黏度的变化,研究石氏伤科气血理论及骨错缝、筋出槽学说,揭示慢性脊柱病损的病理生理学特征。**方法:**将 36 只 350~450 g 的 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为旋转固定组(RF 组)、单纯固定组(SF 组)和假手术组(Sham 组),每组 12 只。RF 组和 SF 组大鼠腰椎 L₄-L₆ 节段植入椎体外部连接固定装置,RF 组大鼠使 L₅ 棘突向右侧旋转,造成 L₅ 棘突与 L₄ 和 L₆ 棘突的不共线;SF 组大鼠单纯植入椎体外部连接固定装置不进行旋转。分别于固定后 1、4、8 和 12 周时,检测各组大鼠的全血黏度变化。**结果:**固定 4、8 周之后,RF 组和 SF 组大鼠在高切(150/s)、中切(60/s)和低切变速率(10/s)下的全血黏度皆高于 Sham 组大鼠 ($P<0.05$)。固定 1、12 周后各组大鼠全血黏度比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论:**椎体骨错缝、筋出槽可导致大鼠全血黏度升高,增加血脉瘀阻的程度,从而进一步诱发或加重脊柱病损的发生。

【关键词】 腰椎; 椎骨; 血液黏度; 血瘀

DOI:10.3969/j.issn.1003-0034.2014.12.021

Experimental research on whole blood viscosity changes at different time points in rats model with lumbar vertebrae semidislocation CHEN Bo, LIN Xun, PANG Jian, KONG Ling-jun, ZHAN Hong-sheng, CHENG Ying-wu, and SHI Yin-yu. Shi's Center of Orthopaedics and Traumatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Institute of Orthopaedics and Traumatology, Shanghai Academy of TCM, Shanghai 201203, China

ABSTRACT Objective: To investigate whole blood viscosity changes at different time points in rats model with lumbar vertebrae semidislocation, study Shi's theory of qi and blood and "Gucuo Feng and Jinchucao" (骨错缝、筋出槽), also reveal pathological physiology characteristics of spinal disorder. **Methods:** Thirty-six SPF male rats weighted 350 to 450 g were randomly divided into rotatory fixation group (RF group), simple fixation group (SF group) and Sham group (Sham group), 12 rats in each group. Exterior vertebrae implanted through L₄-L₆ segments of lumbar vertebrae in RF and SF group were connected fixed device. In RF group, L₅ spinous process were rotated to right, and caused L₅ spinous process was non collinear with L₄ and L₆; In SF group, external fixed device were simple connected without rotation. At 1, 4, 8 and 12 weeks after fixation, whole blood viscosity changes were tested. **Results:** At 4 and 8 weeks after fixation, high (150/s), medium (60/s) and lower (10/s) shear rate in RF and SF group were higher than that of Sham group ($P<0.05$). At 1 and 12 weeks, there was no significant differences among three groups in whole blood viscosity ($P>0.05$). **Conclusion:** "Gucuo Feng and Jinchucao" (骨错缝、筋出槽) vertebrae could raise whole blood viscosity, increase degree of blood stasis and induce or aggravate spinal disorder in further.

KEYWORDS Lumbar vertebrae; Spine; Blood viscosity; Blood stasis

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2014, 27(12): 1012-1014 www.zggszz.com

以颈椎病和腰背痛为代表的慢性脊柱病损是临

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(编号:81202707);高等学校博士学科点专项科研基金(编号:新教师类)(编号:20123107120006)上海高校青年教师培养资助计划(编号:ZZszy13024);“海派中医流派传承研究基地”(编号:ZYSNXD-CC-HPGC-JD-001);上海高校创新团队建设项目(编号:2009-26)

Fund program: Youth Projects of National Natural Science Foundation of China (No. 81202707)

通讯作者:詹红生 E-mail:shgsyjs@139.com

Corresponding author: ZHAN Hong-sheng E-mail:shgsyjs@139.com

床上的常见病和多发病。随着人们生活和工作方式的改变,以及人口老龄化的加快,慢性脊柱病损的发病率呈逐年升高的趋势,但其确切的病理机制仍不明确,远期临床疗效欠佳。石氏伤科在长期临床实践和实验研究的基础上,提出了骨错缝、筋出槽学说^[1],即骨关节正常的间隙或相对位置以及筋的形态结构、空间位置发生了细微的异常改变,并引起相应关节活动范围受限的一种病理状态。并认为颈腰椎的椎骨错缝与慢性脊柱病损的发病密切相关^[2]。为此,在该学说的指导下,采用雄性 SD 大鼠腰椎

L₄-L₆ 节段建立椎体外部连接固定模型(即椎骨错缝模型),研究其血液流变学的变化,为进一步验证石氏伤科气血理论及骨错缝、筋出槽学说,揭示慢性脊柱病损的生理病理学特征服务。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器及试剂 仪器:LBV-N6K 型自清洗血流变仪(北京普利生仪器有限公司);JA10002 电子天平(上海精天电子仪器有限公司);Legend T 台式离心机(美国 SORVALL 公司);DK-S26 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)。试剂:戊巴比妥钠(国药集团化学试剂有限公司,批号:No. WS20051129);硫酸庆大霉素注射液(上海中西制药有限公司,批号:070504);复方对乙酰氨基酚片(商品名:散利痛,拜耳医药保健,批号:1008013);肝素钠注射液(上海第一生化药业有限公司,批号:090102)。

1.2 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只,体重 350~450 g,由上海中医药大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(沪)2008-0016。大鼠饲养室温度为 22~26℃,每只单笼饲养,自由进水,常规饲料。

1.3 椎骨错缝模型分组及造模方法 36 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为旋转固定组(RF 组)、单纯固定组(SF 组)和假手术组(Sham 组),每组 12 只,RF 组和 SF 组大鼠在其腰椎 L₄-L₆ 节段植入椎体外部连接固定装置^[3],RF 组大鼠在连接钢板和棘突钢板之间放置金属垫片,以使 L₅ 棘突向右侧旋转,造成 L₅ 棘突与 L₄ 和 L₆ 棘突的不共线,以最大程度模拟“骨错缝、筋出槽”的生理病理学特征;SF 组大鼠腰椎 L₄-L₆ 节段植入的椎体外部连接固定装置不进行旋转,只进行单纯的椎体固定。Sham 组大鼠不植入椎体外部连接固定装置,只切开后缝合。术后 3 d 肌注庆大霉素控制感染,大鼠水瓶中加入复方对乙酰氨基酚片(散利痛)缓解手术疼痛。

1.4 采血的时间点及采血方式 经过 1 周的术后观察期后(该时间不计入固定观察时段内),分别于固定后 1、4、8 和 12 周时行目内眦采血。采血时先将大鼠腹腔 3%戊巴比妥钠溶液注射麻醉(30 mg/kg)采取眼球前静脉取血的方式,以左手拇指、食指从背部紧握住大鼠颈部,轻轻压迫大鼠颈部两侧,使眶后静脉丛充血。用乙醇擦拭大鼠眼内眦后,取长 2~3 cm、内径 0.5~1.0 mm 消毒备用的毛细玻璃管,将毛细玻璃管浸入 120 U/ml 的肝素钠溶液后取出,使毛细玻璃管与鼠面成 45°的夹角,由目内眦刺入,刺入深度约 4~5 mm。当感到有阻力时停止推进,轻轻旋转毛细玻璃管,血液便能自然流入毛细玻璃管中。通常弃去第 1 滴血,从第 2 滴血开始收集,当得到所需

的血量后(每次每只大鼠约采血 3 ml),即除去加于颈部的压力,同时,将毛细玻璃管拔出,用消毒棉球按压穿刺处止血。

1.5 检测项目与方法 全血黏度检测方法:将取得的血液放入抗凝管内密封保存,室温保持在 20~25℃,静置 20 min 后开始测量,同时血流变仪应预热 10~15 min,待机器温度值到达 37℃时开始检测,所有检测工作在 2 h 内完成。取肝素抗凝全血 1 ml,放入全自动血流变仪内进行检测,观察各组大鼠血液在高切变率(150/s)、中切变率(60/s)和低切变率(10/s)下的全血黏度变化。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,对各组大鼠所测数据采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,计量资料比较用方差分析,各组间的两两比较用 *q* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

固定 1 周时,各组大鼠全血黏度在高(150/s)、中(60/s)、低切变速率(10/s)下,比较差异无统计学意义(*P*<0.05)。4 周时,在高(150/s)、中(60/s)、低切变速率(10/s)下,SF 组和 RF 组的全血黏度均高于 Sham 组大鼠。固定 8 周时,在高(150/s)、中(60/s)、低切变速率(10/s)下,SF 组和 RF 组的全血黏度均高于 Sham 组大鼠(*P*<0.05)。固定 12 周时,在低切变速率(10/s)下,SF 组的全血黏度高于 Sham 组大鼠(*P*<0.05)。结果见表 1。

3 讨论

3.1 石氏伤科气血兼顾的理伤观 石氏伤科主张内治诸法皆从气血立论,“以气为主、以血为先”,即气血兼顾之理伤观^[4]。对于骨伤科临床上极为常见的慢性脊柱病损,石氏伤科认为其发病的基本病机无外乎“骨错缝、筋出槽”之后,筋伤、气损、血溢,继而气血不通,筋骨失和,反之气血不通、筋骨失和又进一步加重骨错缝、筋出槽,形成恶性循环,使慢性脊柱病损愈加沉重^[5]。但如何客观准确地评价气损、血虚及气血不通的程度是研究的盲点,也成为制约中医治伤理论进一步深入发展的桎梏。而利用血液流变学技术可在一定程度上反映机体血液淤滞的程度,为进一步深入研究骨错缝、筋出槽之后血液运行、输布的变化及整体气血的充盛状态提供了一个可资借鉴的工具。

3.2 骨错缝、筋出槽与血脉瘀阻的关系 血管内血液的运行输布情况对于慢性脊柱病损的发病及预后而言是至关重要的。研究表明^[6],颈椎病患者椎动脉走行及管径异常的发生率高达 81.13%,且椎动脉走行及管径异常改变形式较为复杂和多样化,其中以局部迂回狭窄最为常见,而局部迂回狭窄因素以椎

表 1 不同剪切速率下不同固定时间各组大鼠全血黏度比较($\bar{x}\pm s, \text{mPa}\cdot\text{s}$)

Tab.1 Whole blood viscosity changes with different shear rates at different points($\bar{x}\pm s, \text{mPa}\cdot\text{s}$)

组别	鼠数	10/s				60/s				150/s			
		1 周	4 周	8 周	12 周	1 周	4 周	8 周	12 周	1 周	4 周	8 周	12 周
SF 组	12	13.26±	17.95±	21.08±	22.45±	5.40±	8.03±	9.83±	8.88±	4.38±	6.63±	7.98±	7.11±
		4.79	2.94 ^{a1}	5.63 ^{b1}	6.76 ^{c1}	2.00	1.08 ^{a2}	2.54 ^{b2}	2.52	1.75	0.92 ^{a3}	1.82 ^{b3}	2.05
RF 组	12	12.27±	17.68±	22.03±	18.27±	5.54±	7.52±	9.47±	7.87±	4.61±	6.46±	8.23±	6.18±
		3.17	3.56 ^{a4}	7.52 ^{b4}	5.29	1.40	1.21 ^{a5}	3.03 ^{b5}	3.29	1.16	1.07 ^{a6}	2.09 ^{b6}	2.53
Sham 组	12	11.72±	13.17±	13.20±	13.62±	5.48±	5.56±	6.22±	6.17±	4.61±	4.59±	5.12±	5.14±
		3.54	3.94	2.01	4.61	1.61	2.01	1.29	2.00	1.35	1.62	1.27	1.65

注:与固定 4 周 Sham 组相比,^{a1} $q=2.72$,^{a2} $q=3.30$,^{a3} $q=3.28$,^{a4} $q=2.57$,^{a5} $q=2.62$,^{a6} $q=3.00$, $P<0.05$;与固定 8 周 Sham 组相比,^{b1} $q=2.84$,^{b2} $q=3.01$,^{b3} $q=3.25$,^{b4} $q=3.19$,^{b5} $q=2.71$,^{b6} $q=3.53$, $P<0.05$;与固定 12 周 Sham 组相比,^{c1} $q=3.06$, $P<0.05$

Note:Compared with Sham group at 4 weeks after fixation,^{a1} $q=2.72$,^{a2} $q=3.30$,^{a3} $q=3.28$,^{a4} $q=2.57$,^{a5} $q=2.62$,^{a6} $q=3.00$, $P<0.05$;Compared with Sham group at 8 weeks after fixation,^{b1} $q=2.84$,^{b2} $q=3.01$,^{b3} $q=3.25$,^{b4} $q=3.19$,^{b5} $q=2.71$,^{b6} $q=3.53$, $P<0.05$;Compared with Sham group at 12 weeks after fixation,^{c1} $q=3.06$, $P<0.05$

间关节错缝为主。因此,骨错缝、筋出槽与椎旁血管的走行及管径的异常改变密切相关。但进一步血液的运行情况等流体力学参数仍未得到明确的阐明。

本实验中可以看出,经过椎骨错缝 4 周和 8 周之后,其血液在高切、中切和低切变速率下的全血黏度皆高于假手术组大鼠,表明了脊椎关节错缝会导致血液黏度的升高。而血液黏度的升高会导致血液运行速度的减慢,最终导致血液输布的异常,引起血脉瘀阻的产生,这在一定程度上解释了椎骨错缝与颈椎病等脊柱慢性病损发病之间的联系。同时,这一实验结果也阐释了中医整复错缝类手法在纠正椎骨错缝后能取得较好临床疗效的生理病理学机制,对于有生理曲度异常或椎体偏歪的颈椎病患者,中医推拿手法是一种比较安全有效的治疗手段。

而椎骨错缝 12 周之后的大鼠,只有 SF 组大鼠的全血黏度升高,而 RF 组大鼠与 Sham 组比较无明显差异,结合影像学检查结果,可能是随着时间的延长,RF 组大鼠固定的腰椎节段长出了大量的骨赘,有的还形成了骨桥,从而建立了新的平衡和侧枝循环,机体血流又达到一个新的平衡,所以致使血黏度下降,但其中更深层次的原因还有待进一步研究。

参考文献

[1] 张明才,詹红生,石印玉,等.基于“骨错缝、筋出槽”诊治椎间盘病症[J].中国骨伤,2008,21(6):441-443.
Zhang MC,Zhan HS,Shi YY,et al. Diagnosis and treatment of intervertebral disc disease based on the theory of "Gucuo feng and Jinchuao"[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma,2008,21(6):441-443. Chinese with abstract in English.

[2] 张明才,吕思哲,程英武,等.基于有限元模型研究椎骨错缝对

颈椎病患者关节应力的影响[J].中国骨伤,2011,24(2):128-131.

Zhang MC,Lü SZ,Cheng YW,et al. Study on the effect of vertebrae semi-dislocation on the stress distribution in facet joint and intervertebral disc of patients with cervical syndrome based on the three dimensional finite element model[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma,2011,24(2):128-131. Chinese with abstract in English.

[3] 陈博,詹红生,石印玉,等.“骨错缝、筋出槽”病机学说及其动物模型的建立[J].上海中医药大学学报,2010,24(5):68-71.
Chen B,Zhan HS,Shi YY,et al. Pathogenesis theory of "Joint Semidislocation and Sinews Off-Position" and the establishment of animal model[J]. Shang Hai Zhong Yi Yao Da Xue Xue Bao,2010,24(5):68-71. Chinese.

[4] 曹月龙,石瑛,庞坚,等.浅谈“以气为主、以血为先”在伤科临床中的应用[J].上海中医药杂志,2010,44(10):54-55.
Cao YL,Shi Y,Pang J,et al. Clinical application of qi-blood theory in traumatology[J]. Shang Hai Zhong Yi Yao Za Zhi,2010,44(10):54-55. Chinese.

[5] 张明才,石印玉,黄仕荣,等.“骨错缝、筋出槽”与颈椎病发病关系的临床研究[J].中国骨伤,2013,26(7):557-560.
Zhang MC,Shi YY,Huang SR,et al. Study on the correlation between "Gucuo feng and Jinchuao" and cervical spondylosis[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma,2013,26(7):557-560. Chinese with abstract in English.

[6] 张明才,石印玉,陈东煜,等.椎动脉磁共振血管成像对临床手法诊治椎动脉型颈椎病的价值研究[J].中国骨伤,2013,26(11):18-23.
Zhang MC,Shi YY,Chen DY,et al. Clinical significance of vertebral artery MRA to vertebral artery type of cervical spondylosis diagnosis and treatment[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma,2013,26(11):18-23. Chinese with abstract in English.

(收稿日期:2014-04-21 本文编辑:李宜)