

实验研究

针刀干预对膝骨关节炎家兔模型内侧副韧带拉伸特性的影响

付达尔丽¹ 郭长青¹ 金晓飞²

(1 北京中医药大学针灸推拿学院, 北京, 100029; 2 山西中医学院针灸推拿系, 太原, 030024)

摘要 目的:探讨针刀治疗膝骨关节炎可能的生物力学机制。方法:将6个月龄新西兰兔随机分为正常组、模型组、针刀组和针刺组,采用左后肢伸直位固定制动法建立 KOA 家兔模型。造模后对针刀组与针刺组分别进行治疗干预。各组动物于治疗结束1周后取材,在 Bose Electro Force 3300 疲劳试验机上对4组试样进行拉伸试验,计算机自动记录数据。结果:模型组的最大应力、最大应变、最大位移和弹性模量与正常组相比均减小($P < 0.05$);针刀组最大应力、最大应变、弹性模量均大于模型组($P < 0.05$),最大位移与模型组、空白组之间差异均无统计学意义($P > 0.05$);针刀组最大应力、弹性模量均大于针刺组($P < 0.05$, $P < 0.01$),针刀组最大位移显著小于针刺组($P < 0.01$),针刀组最大应变与针刺组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:针刀干预能有效恢复内侧副韧带部分拉伸力学特性,这可能是针刀治疗膝骨关节炎的机制之一。

关键词 针刀;膝骨关节炎;内侧副韧带;拉伸

Effect of Acupotomy Treatment on Tensile Mechanical Properties of Medial Collateral Ligaments in a Rabbit Model of Knee Osteoarthritis

Fu Daerli¹, Guo Changqing¹, Jin Xiaofei²

(1 School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2 Department of Acupuncture and Moxibustion, Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

Abstract Objective: To explore the possible biomechanical mechanism of acupotomy treating knee osteoarthritis (KOA). **Methods:** Six-months-old New Zealand rabbits were randomly divided into four groups: normal control group, model group, acupotomy group and acupuncture group. The rabbit models of KOA were established by immobilizing the left hind limb in extension position. After modeling, acupotomy and acupuncture were applied to treat rabbits in acupotomy group and acupuncture group respectively. Specimens were acquired one week after treatment. Tensile testing was conducted on Bose Electro Force 3300 protracted test machine and the data was recorded by computer automatically. **Results:** The maximum stress, maximum strain, maximal displacement and modulus of the model group all decreased compared with normal control group ($P < 0.05$). The maximum stress, maximum strain and modulus of acupotomy group were greater than model group ($P < 0.05$). There was no difference between acupotomy group and model group and normal control group in terms of the maximal displacement ($P > 0.05$). The maximum stress and modulus of acupotomy group were greater than those of the acupuncture group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The maximum displacement of acupotomy group was significantly less than that of the acupuncture group ($P < 0.01$). There was no significant difference of maximum strain between the acupuncture group and acupuncture group. **Conclusion:** Acupotomy intervention can effectively recover part of the tensile mechanical properties of medial collateral ligament, which may be one of the mechanisms of treating knee osteoarthritis with acupotomy.

Key Words Acupotomy; Knee osteoarthritis; Medial collateral ligament; Tension

中图分类号:R245 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.07.024

膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)是一种常见的以关节软骨的破坏为主的退行性关节疾病,其病因与发病机制目前尚不清楚。前期实验研究显示,在膝骨关节炎家兔模型中韧带的最大位移、最大应力、最

大应变和弹性模量与正常对照组相比存在统计学意义^[1],提示在 KOA 的实验研究中不仅要注重软骨退化的研究,而且要注意韧带生物力学特性改变和软骨基质之间的相互作用。作为一种新的中医微创技术,针

刀疗法近些年在治疗 KOA 方面取得了满意的临床疗效^[2],传统针刺治疗亦是治疗 KOA 的常用方法之一。本实验以膝关节炎家兔为研究对象,观察针刀与相同直径的毫针分别干预后,内侧副韧带(Medial Collateral Ligament, MCL)拉伸特性的改变情况,进一步研究针刀治疗本病的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 健康清洁级 6 个月龄新西兰兔 24 只,雌雄各半,体重(2.25 ± 0.25) kg。由北京市昌平区金牧阳实验动物养殖有限责任公司提供,合格证号:SCXK(京)2010-0001,在北京中医药大学基础医学院实验动物中心动物室喂养。实验动物适应 3 d 后,随机分为正常组、模型组、针刀组和针刺组,每组 6 只,实验过程中对动物的处置符合动物伦理学要求。

1.2 主要试剂与仪器 3% 戊巴比妥钠:天津药业焦作有限公司;碘伏消毒剂:武汉同济美迪生科技有限公司;义齿基托树脂(II 型):上海新世纪齿科材料有限公司;义齿基托树脂液剂(II 型):上海新世纪齿科材料有限公司。固宝牌树脂绷带(15 cm × 180 cm,海丽珠医用生物材料有限公司);针刀:汉章牌一次性针刀,规格:0.40 mm × 40 mm,北京华夏针刀医疗器械厂;毫针:环球牌一次性无菌针灸针,规格:0.40 mm × 40 mm,苏州针灸医疗器材有限公司;力学试验机:Bose Electro Force 3300 疲劳试验机,美国 BOSE 公司。

1.3 造模方法 左后肢伸直位固定制动法建立 KOA 家兔模型^[3]:造模前动物禁食 10~16 h,以 3% 戊巴比妥钠溶液按 30 mg/kg 剂量耳缘静脉注射麻醉,剪去左后肢踝关节以上兔毛,牵拉使其处于完全伸直位,树脂绷带经 65~85 °C 热水浸泡软化后,从腹股沟到趾头固定(膝关节伸直 180 度,踝关节背屈 60 度),树脂外以矫形石膏绷带固定好,留出足趾观察血供,石膏外以透明胶纸封好,以防兔撕咬,共制动 6 周。如足趾有坏死倾向,立刻拆除石膏,待肿胀消退后再重新石膏固定。若石膏松动或脱落及时重新固定。制动满 6 周时,将所有动物石膏外固定拆除。

1.4 治疗方法 正常组:同期正常饲养,不做任何干预处理。模型组:造模后不做任何干预治疗,与其他各组同期正常饲养。针刀组:造模成功 1 周后进行针刀干预。具体方法为:将新西兰兔固定于治疗台上,选择内侧副韧带、外侧副韧带和髌韧带中点为针刀进针点,记号笔标记,常规备皮、消毒,然后刺入针刀,刀口线与韧带方向平行,刀体与皮肤切面垂直,刺入约 0.5 cm,达韧带深层,向韧带起、止点方向分别纵切 2 刀,并辅以横向剥离操作,出针刀并用棉球按压 3 min 止血。

针刀干预 1 次/周,共 3 次。针刺组:造模成功 1 周后进行针刺干预。具体方法为:将新西兰兔固定于治疗台上,同样选择内侧副韧带、外侧副韧带和髌韧带中点为针刺进针点,记号笔标记,常规备皮、消毒,毫针刺入约 0.5 cm,达韧带深层,向韧带起、止点方向分别行提插手 5 次,然后出针并用棉球按压片刻止血。针刺干预 1 次/周,共 3 次。

1.5 取材方法 各组动物于治疗结束 1 周后,以空气栓塞法处死进行取材。在膝关节上端距髌骨上缘 4 cm 处钳断,下端距髌韧带下缘 4 cm 处钳断。剔除周围肌肉、韧带等软组织,各组仅保留由内侧副韧带连接的股骨-韧带-胫骨样本,以生理盐水浸湿的纱布包裹试样,装入塑料袋中,置于 -20 °C 冰箱内保存,以备力学测试。

1.6 检测方法 试样拉伸试验:测试前 1 d 将骨-韧带-骨的样本由 -20 °C 冷冻柜中转移至 5 °C 冷藏柜中解冻。测试当天采用游标卡尺测量韧带的长度、宽度,采用激光测厚仪测量韧带的厚度,每条韧带的长度、宽度、厚度均测量 3 次,取平均值。将标本的股骨与胫骨外部用牙托粉包埋后,用特制防滑脱夹具安装在 Bose Electro Force 3300 疲劳试验机的夹头内,标本外部以生理盐水润湿的纱布包裹。以 5 mm/min 的速度施加应力,达到最大载荷,直至将试件拉断,实验结束后计算出试样的最大位移、最大应力、弹性模量、最大应变等。

1.7 统计学处理 以 SPSS 17.0 统计软件进行分析,实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用随机分组设计的单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验数据的获得 实验前测得每条内侧副韧带的初长度 L_0 、宽度 W 、厚度 T ,算得韧带横截面积 $S = W \times T$,计算机记录下每条韧带每 0.1 s 的载荷 F 、位移 D ,可算出每一时刻的应力(Stress) $\delta = F/S$ 、应变(Strain) $\varepsilon = D/L_0$,将所有 δ 、 ε 数值输入 OriginPro 8.1 数据分析软件进行数据分析,得出每个试样的应力-应变曲线,见图 1。分析找出所得曲线的最高点,即对应最大应变 $\varepsilon_{\max}$ 和最大应力 $\delta_{\max}$,则最大位移 $D_{\max} = L_0 \times \varepsilon_{\max}$,再根据应力-应变曲线直线段图(见图 2),拟合后得到弹性模量。数据均用($\bar{x} \pm s$)表示。

2.2 4 组试样拉伸试验结果 结果经统计分析(见表 1、图 3、图 4),4 组最大应力、最大应变、最大位移和弹性模量都有统计学意义($P < 0.05$)。1)最大应力:与正常组相比,模型组、针刀组与针刺组均显著小于正常

表 1 内侧副韧带拉伸试验数据统计结果($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	最大应力/mpa	最大应变/%	最大位移/mm	弹性模量/mpa
正常组	53.104 ± 13.748	11.272 ± 2.570	2.722 ± 0.568	652.898 ± 62.022
模型组	15.910 ± 4.664 **	8.229 ± 0.210 *	2.054 ± 0.140 *	300.997 ± 102.011 **
针刀组	29.624 ± 5.850 ** $\Delta\Delta$	10.892 ± 2.146 Δ	2.332 ± 0.299	413.361 ± 57.213 ** Δ
针刺组	15.916 ± 5.402 ** $\blacktriangle$	12.100 ± 2.811 $\Delta\Delta$	3.012 ± 0.799 $\Delta\Delta\blacktriangle$	286.126 ± 38.676 ** $\blacktriangle\blacktriangle$

注:与正常组比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与针刀组比, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ 。

组($P < 0.01$);针刀组显著大于模型组($P < 0.01$);针刺组小于针刀组($P < 0.05$),与模型组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。2)最大应变:,模型组小于正常组($P < 0.05$),针刀组、针刺组与正常组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);与模型组相比,针刀组大于模型组($P < 0.05$),针刺组显著大于模型组($P < 0.01$),针刀组与针刺组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。3)最大位移:模型组小于正常组($P < 0.05$),针刀组、针刺组与正常组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);针刺组显著大于模型组($P < 0.01$),且大于针刀组($P < 0.05$)。4)弹性模量:与正常组相比,模型组、针刀组与针刺组均显著小于正常组($P < 0.01$);针刀组大于模型组($P < 0.05$),针刺组显著小于针刀组($P < 0.05$),与模型组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

0.05)外,针刀组其他各项拉伸力学指标均大于模型组($P < 0.05, P < 0.01$);针刀组最大应力、弹性模量均大于针刺组($P < 0.05, P < 0.01$),针刀组最大位移显著小于针刺组($P < 0.01$),针刀组最大应变与针刺组之间差异无统计学意义($P > 0.05$);针刺组的最大应力、弹性模量与模型组相比差异无统计学意义($P > 0.05$),最大应变、最大位移显著大于模型组($P < 0.01$)。

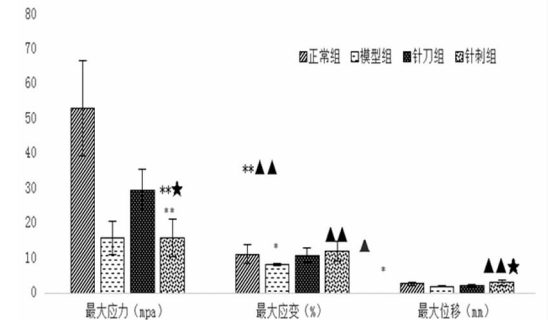


图 3 内侧副韧带最大应力、最大应变和最大位移比较

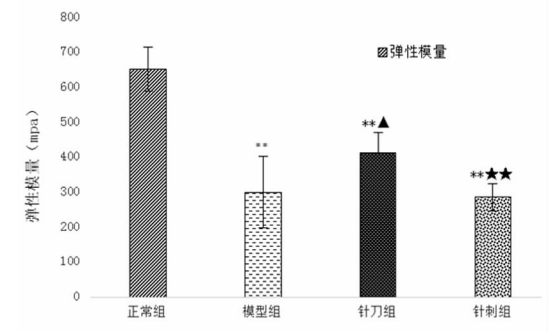


图 4 内侧副韧带弹性模量比较

3 讨论

在膝关节的运动过程中韧带和肌肉主要承受张力,而韧带作为力的承受和传递组织,其应力和应变的改变对膝关节的作用正日益受到广大学者的关注。从针刀治疗 KOA 的临床研究来看,多选用韧带周边的压痛点和条索状物作为进针点,通过局部松解而恢复关节力学平衡,所以韧带在 KOA 的治疗和发病中起着非常重要的作用^[4]。在韧带损伤与 KOA 的关系中,Weiss JA、陈游、王健等^[5-7]发现韧带断裂后软骨损伤发生率明显增高,损伤程度随病程延长而加重,而韧带的修复可减缓软骨的退变,并减少软骨细胞的凋亡。

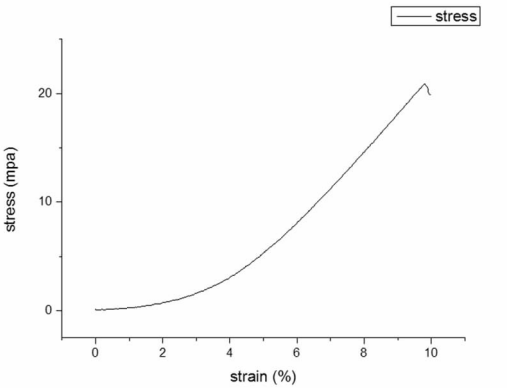


图 1 内侧副韧带应力-应变曲线

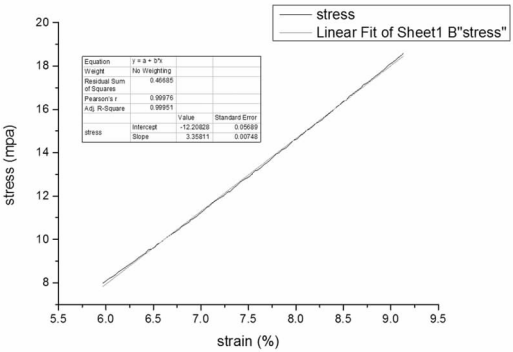


图 2 内侧副韧带应力-应变曲线直线段

从结果不难看出,模型组各组数据均小于正常组($P < 0.05, P < 0.01$);除却最大位移变化不明显($P >$

膝关节韧带数量多,解剖结构复杂,其中内侧副韧带是膝关节中最重要的韧带之一,它可以限制膝关节外翻以及胫骨外旋和前移^[8]。据统计,MCL 合并膝关节其他结构损伤的发生率约为 73%^[9]。本实验选择观测 MCL 的拉伸特性以研究针刀与毫针干预分别对 KOA 的影响,且在针刀和毫针针具的选择上,均采用 0.40 mm×40 mm 规格,在操作方法上对 2 组 KOA 模型家兔均采用不留针、每周治疗 1 次共治疗 3 周的方法,更能直观对比出针刀与同等直径的毫针干预对 KOA 模型家兔治疗效果的不同,从而研究“针刀”与“针”的差别。

本实验结果显示,在膝骨关节炎家兔模型组内侧副韧带的最大应力、最大应变、最大位移和弹性模量与正常组相比均存在差异,与金晓飞等^[1]在对膝骨关节炎模型内侧副韧带的生物力学特性研究以及朴成东等^[10]在对大鼠骨性关节炎外侧副韧带的研究中的结论大体相同。这种力学改变必然造成骨关节的应力改变,从而使关节的力学轴线也随之发生变化,最终导致软骨基质的退变^[11]。实验结果还显示,针刀组最大应力、最大应变、弹性模量大于模型组,最大应变、最大位移与正常组之间无差异,可见,针刀干预有效恢复了 MCL 的部分拉伸力学特性。在最大应力和弹性模量方面,针刺组与模型组之间无差异,针刺组的最大位移、最大应变与正常组之间无差异,可见在改善最大应力与弹性模量方面,针刀组优于针刺组,在改善最大位移与最大应变方面,针刺组优于针刀组,因此,针刺干预对 MCL 拉伸力学的作用仍有待进一步研究探讨。

针刀医学是在中医理论指导下,借鉴西医外科手术原理,用针刀治疗为主要治疗手段的医学新学科,关节周围软组织痉挛、挛缩长期得不到纠正,造成的膝关节力学平衡失调与 KOA 的发病有关^[12-14]。近年的临床研究发现,针刀和电针均可减轻 KOA 患者膝关节周围的压痛,但针刀的远期疗效优于电针;实验研究中也发现在软骨、外周血生化和中枢镇痛物质等方面,针刀与电针干预并无优势,但从不同时期的痛阈变化来看,针刀的痛阈提高幅度优于电针^[15]。由以上实验结果分析,通过针刀对膝关节周围软组织的松解,有效调整了关节韧带的生物力学特性,使膝关节力学平衡得

以恢复,这可能就是针刀治疗 KOA 的远期疗效和镇痛提高优于电针的原因所在。

参考文献

- [1] 金晓飞,郭长青,蒋昭霞,等. 膝骨关节炎模型内侧副韧带的生物力学特性[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(43):8046-8049.
- [2] 顾钧青,郭艳明,梁永瑛,等. 近 5 年针刀治疗膝骨关节炎研究概况[J]. 陕西中医,2013,34(8):1101-1104.
- [3] Videman T. Experimental osteoarthritis in the rabbit: comparison of different periods of repeated immobilization[J]. Acta Orthop Scand,1982,53(3):339-347.
- [4] 金晓飞,郭长青,刘福水. 针刀治疗膝骨关节炎力学信号传导机制探讨[J]. 中国中医基础医学杂志,2011,17(12):1363-1364,1370.
- [5] Weiss JA, Maakestad BJ. Permeability of human medial collateral ligament in compression transverse to the collagen fiber direction[J]. Journal of Biomechanics,2006,39(2):276-283.
- [6] 陈游,冯颜杰,张春雷,等. 兔膝关节内侧副韧带重度损伤后重建手术对关节软骨保护作用的研究[J]. 中国现代医学杂志,2010,20(21):3226-3229,3235.
- [7] 王健,敖英芳. 后交叉韧带断裂和重建对兔膝关节软骨退变的影响[J]. 中华外科杂志,2005,43(24):1598-1601.
- [8] 王海鹏,王友. 膝内侧副韧带功能解剖和生物力学特性的研究进展[J]. 医用生物力学,2007,22(4):412-416.
- [9] Rubin DA, Kettering JM, Towers JD, et al. MR imaging of knees having isolated and combined ligament injuries[J]. American Journal of Roentgenology,1998,170(5):1207-1213.
- [10] 朴成东,张维蛟,刘月莹. 骨性关节炎动物模型外侧副韧带的拉伸力学性质[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(46):9097-9100.
- [11] 臧虎,朴成东,高峰,等. 实验动物骨性关节炎内侧副韧带力学特性[J]. 医学研究杂志,2010,39(2):72-75.
- [12] 朱汉章. 针刀医学[M]. 北京:中国中医药出版社,2004:539.
- [13] 秦谊,李峰,刘清国,等. 针刀松解法治疗膝骨性关节炎的机理[J]. 中国康复理论与实践,2010,16(4):397-398.
- [14] 王常海,李峰,施延昭,等. 步态分析在膝骨性关节炎针刀治疗中的应用思路[J]. 辽宁中医杂志,2007,34(3):287-288.
- [15] 郭长青,张秀芬,司同,等. 针刀松解法对膝骨关节炎关节周围压痛影响的效果评价[J]. 成都中医药大学学报,2010,33(3):3-5.

(2014-03-16 收稿 责任编辑:王明)