

红外线及磁场对兔膝关节炎滑膜损伤的影响

孙嘉利, 范建中, 邱玲, 薛大团

[摘要] 目的 探讨红外线及磁场对兔膝关节骨性关节炎所造成的滑膜炎的治疗效果。方法 24 只健康雄性新西兰成年白兔采用管型石膏伸直位固定右后肢法复制膝关节炎模型, 6 周后解除石膏固定并随机分为模型组、红外线治疗组(红外组)、磁疗组及红外线和磁场联合治疗组(联合组), 每组 6 只。解除石膏后即开始行物理因子治疗(模型组不作任何处理), 分别于治疗开始后 1、2、3 周每组各处死 2 只动物, 观察关节周围滑膜组织的大体改变, 并切取造模肢体关节腔内滑膜组织行组织病理学检测。结果 联合组动物的滑膜病变及增生程度减轻, 与红外组和磁疗组有显著性差异($P < 0.05$), 而红外组与磁疗组之间无显著性差异($P > 0.05$)。结论 联合应用红外线和磁场能有效抑制骨关节炎的滑膜炎症, 减轻组织破坏。

[关键词] 骨性关节炎; 红外线; 磁场; 组织病理学; 滑膜炎

Effect of Infrared Radiation and Magnetic Fields on Synovitis of Rabbit with Knee Osteoarthritis SUN Jia-li, FAN Jian-zhong, QIU Ling, et al. The Department of Rehabilitation Medicine of Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of infrared radiation and magnetic fields on the synovitis of rabbit with experimental knee osteoarthritis (OA). **Methods** Twenty-four New Zealand grown rabbits were duplicated for OA model of the knee by extended fixation technique, and after 6 weeks, all rabbits were unchained from fixation. The rabbits were randomly divided into four groups: control group (no treatment), infrared group (treated with infrared radiation), magnet-therapy group (treated with magnetic fields) and the combined therapy group (treated with infrared radiation and magnetic fields). At the ends of the first, second and third week after treatment, 2 rabbits in each group were taken to measure the general change and histopathology of their synovium. **Results** Compared with other groups, the severity of synovitis (include the synovium line cells proliferation, the invading of granulation and blood vessels in the underlayer of synovium, the infiltration of inflammatory cells) declined significantly in combined therapy group. Scores of Ayrals index of combined group were significantly lower than other groups ($P < 0.05$), and there was no significant difference between infrared group and magnet-therapy group ($P > 0.05$). **Conclusion** The combination of infrared radiation and magnetic fields can efficiently suppress the synovitis of OA and alleviate the tissues destructions.

Key words: osteoarthritis; infrared radiation; magnetic fields; histopathology; synovitis

[中图分类号] R686.7 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)10-0858-03

[本文著录格式] 孙嘉利, 范建中, 邱玲, 等. 红外线及磁场对兔膝关节炎滑膜损伤的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(10): 858-860.

物理治疗是指应用各种物理因子(如力、电、光、声、磁、热等)预防和治疗疾病。理疗的目的是消炎、镇静镇痛、缓解痉挛和增强保护性抑制、消除大脑皮层中的病理兴奋灶, 增进受损关节肌肉的强度。本研究主要观察单纯性磁疗、红外线治疗与综合应用磁疗和红外线治疗对兔实验性膝关节骨性关节炎(osteoarthritis, OA)所造成的滑膜炎的疗效, 旨在探讨综合治疗是否有缩短病程、提高疗效的作用, 为今后物理因子在临床上的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性新西兰大白兔 24 只(由南方医院实验动物中心提供), 体重 2.5~3 kg, 6~8 个月龄。采用管型石膏伸直位固定右后肢法复制膝关节 OA 模

型^[1]。造模后采用 1 笼 1 兔喂养, 每日检查石膏固定情况, 并及时进行修复。6 周后将 24 只兔全部解除石膏固定, 并随机分为模型组、红外组、磁疗组及联合组, 每组 6 只。

1.2 治疗设备 红外线治疗选用 YSHD-1 型远红外线治疗仪(上海跃进医用光学器械厂制造), 输出功率 600 W, 电源 220 V, 50 Hz; 磁疗选用 GMC-B 型脉冲磁疗仪(解放军总医院研制), 脉冲频率 20~80 次/min, 励磁脉冲电流宽度 < 10 ms, 脉冲磁场强度 0~15000 GS。

1.3 治疗方法 红外线治疗、磁疗以及综合应用红外线与磁疗治疗均按照处方要求, 给予合适的剂量。红外线治疗灯距 30 cm, 20 min/次, 每日 1 次; 磁疗选用场强 150 mT, 脉冲频率 50 次/min, 20 min/次, 每日 1 次; 综合治疗则采用红外线配合磁疗, 治疗参数同上, 每日 1 次。

1.4 疗效观察

基金项目: 广东省科技厅攻关项目(No. 10720)

作者单位: 南方医科大学南方医院康复医学科, 广东广州市 510515。作者简介: 孙嘉利(1977-), 男, 山东济南市人, 医师, 博士研究生, 主要研究方向: 临床应用解剖学在康复医学中的应用。

1.4.1 肉眼观察 分别于治疗后第 1、2、3 周末以空气栓塞法处死模型兔(每周每组处死 2 只),切断髌骨下缘的髌韧带打开膝关节,肉眼观察并记录膝关节腔内滑膜组织的表面情况。

1.4.2 标本处理 将动物处死后迅速切取膝关节前正中部分的滑膜组织于 1 min 内置于 4%多聚甲醛中固定过夜,常规脱水,二甲苯透明,浸蜡 2~3 h,石蜡包埋,切片机连续切片,厚度 4 μm,分别用苏木素和伊红(HE)染色,进行普通光学显微镜观察和滑膜组织增殖性细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)免疫组织化学检测。

1.4.3 滑膜组织大体病理关节镜评价 采用 Ayral 关节镜膝滑膜炎评分法^[2],先对膝关节前滑膜腔 9 个区域的滑膜异常程度进行分类及评价。正常滑膜为 0 分,关节镜下表现为极少数细长的半透明绒毛,伴纤细且清晰可见的血管网;反应性滑膜为 0.5 分,有数量增多的不透明绒毛(形态可正常/增厚/矮胖),血管网不可见;炎症性滑膜为 1 分,表现为过度血管生成和/或肥大充血的绒毛增生。再结合各滑膜区域所占前滑膜腔的比例,髌上囊:后壁(X₁)占 20%,前内侧壁(X₂)占 10%,前外侧壁(X₃)占 10%,髌下脂肪垫(X₄)占 25%;股骨槽沟:内侧(X₅)占 10%,外侧(X₆)占 10%;半月板附近区域:内侧(X₇)占 5%,外侧(X₈)占 5%;髌间切迹(X₉)占 5%。按公式: Ayral 滑膜炎评分 = 20X₁ + 10X₂ + 10X₃ + 25X₄ + 10X₅ + 10X₆ + 5X₇ + 5X₈ + 5X₉ 进行计算,得出膝关节 Ayral 滑膜炎积分,分值范围 0~100,积分越高表示炎症越严重。

1.4.4 免疫组织化学检测 PCNA 单克隆抗体购自基因生物工程有限公司,链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶(streptaridin peroxidase, SP)免疫组织化学染色试剂盒购自迈新生物技术开发公司。采用 SP 免疫组织化学检测方法,载玻片用多聚赖氨酸进行防脱片处理,石蜡切片用复合蛋白酶 37℃消化 30 min 修复抗原,一抗(PCNA)4℃过夜孵育,二抗 37℃孵育 30 min,二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)显色,苏木素复染。PBS 代替一抗作为两种抗体的阴性对照。

表 2 各组动物的滑膜组织病理积分(̄x±s)

分组	n	滑膜衬底层			滑膜下层		
		衬底细胞增生	衬底细胞肥大	炎性细胞浸润	肉芽组织增生	血管浸入	炎性细胞浸润
模型组	6	3.50±1.05	2.53±0.34	2.33±0.50	2.38±0.31	2.83±0.75	5.83±1.60
红外组	6	2.67±0.82 ^b	2.17±0.28 ^b	1.90±0.45 ^b	1.68±0.35 ^b	1.83±0.68 ^b	3.51±1.38 ^b
磁疗组	6	2.33±0.52	2.15±0.36	1.97±0.46	1.78±0.32	1.50±1.05	3.97±1.46
联合组	6	1.50±0.55 ^a	1.52±0.67 ^a	1.00±0.62 ^a	1.20±0.61 ^a	0.83±0.62 ^a	2.00±1.41 ^a

注:a.与模型组比较, P<0.05;b.与磁疗组比较, P>0.05。

2.4 免疫组化检测 PCNA 阳性细胞为核着黄或棕黄色,主要位于滑膜浅表层,各层均见分布(见封三图

光镜下选择细胞分布较均匀的高倍视野计数 1000 个以上细胞,计算滑膜 PCNA 组织免疫组化增殖指数(proliferating index, PI)。PI = PCNA 标记阳性细胞数/软骨细胞数×100%。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 10.0 统计软件对数据进行方差分析,两两比较采用 LSD 检验。

2 结果

2.1 肉眼观察 模型组兔滑膜均存在不同程度增生、粘连,关节液量增多,呈泡沫状,浑浊,可见明显出血灶;红外组滑膜轻度增生,绒毛形态增厚或矮胖,关节液量稍多;磁疗组肉眼观与红外组相似,可见数量增多的不透明的绒毛,血管网不可见,滑膜炎性表现也较模型组轻;联合组兔可见极少细长的半透明绒毛,伴纤细且清晰可见的血管网,无出血及粘连。

2.2 滑膜组织大体病理变化程度的关节镜评价 联合组的膝关节 Ayral 滑膜炎积分与其他三组有显著性差异(P<0.05),尤其在第 3 周末时分值最低(见表 1)。

表 1 各组的膝关节 Ayral 滑膜炎评分(̄x±s)

组别	第 1 周末	第 2 周末	第 3 周末
模型组	89.58±0.71	84.09±4.23	78.52±2.13
红外组	87.10±1.46	74.55±0.76	60.00±1.48
磁疗组	84.18±2.80	71.22±1.43	59.35±1.44
联合组	73.24±4.21 ^a	56.08±2.82 ^a	38.18±2.80 ^a

注:a.与其他三组比较, P<0.05。

2.3 光镜观察 模型组: HE 染色示滑膜下毛细血管增生,间质水肿,有少量淋巴细胞、浆细胞浸润,有散在出血(见封三图 3.1);红外组:滑膜上皮少许增生肥大,间质水肿,有少量淋巴细胞浸润(见封三图 3.2);磁疗组:滑膜上皮轻度增生,间质有水肿,毛细血管增生,伴有少量淋巴细胞浸润(见封三图 3.3);联合组:滑膜细胞呈单层排列,上皮无增生,间质无水肿,有少量毛细血管增生(见封三图 3.4)。联合组滑膜组织的病理积分低于其他三组(P<0.05),而红外组与磁疗组之间无显著性差异(P>0.05),见表 2。

3.5~图 3.8)。各组的滑膜 PCNA 组织免疫组化 PI 显示,模型组与联合组(F=43.36)有非常显著性差

异($P < 0.01$),而红外组($F = 1.60$)与磁疗组($F = 3.44$)之间无显著性差异($P > 0.05$),见表 3。

表 3 各组动物滑膜 PCNA 组织免疫组化 PI 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周
模型组	6.42 ± 1.21	6.55 ± 1.10	7.16 ± 0.11
红外组	7.32 ± 0.54 ^b	8.01 ± 0.02 ^b	9.50 ± 0.27 ^b
磁疗组	7.31 ± 0.73	8.33 ± 0.15	9.86 ± 0.24
联合组	10.30 ± 0.44 ^a	12.01 ± 0.13 ^a	13.31 ± 0.12 ^a

注:a.与模型组比较, $P < 0.01$; b.与磁疗组比较, $P > 0.05$ 。

3 讨论

3.1 动物模型制作 本实验采用管型石膏伸直位制动的方法,将兔右膝关节长腿石膏管型固定于伸直位,固定范围自腹股沟以下 1.5 cm 至踝关节下 3 cm(趾端),踝关节背屈 30° ~ 60°,制动时间 5 ~ 6 周,是较好的 OA 动物模型制作方法之一^[3]。研究表明,兔膝关节伸直位制动 OA 模型能较好地模拟 OA 的发病过程^[4],与药物注射和手术类 OA 模型相比,可避免人为损伤,更接近自然过程。因此,这种造模方法基本符合临床 OA 的发生机理。本实验的造模结果也证明了这一点,不仅证实了制动可引起软骨退变的论点,也从组织形态学证明本课题制作的模型的病理学特征与 OA 的病理学改变相符的。

3.2 滑膜炎症对 OA 的影响 OA 的病理生理特点是负重部位不规则软骨丧失与软骨下骨硬化、囊性变、边缘骨赘、干骺端血流增多以及不同程度的滑膜炎症,有时伴有关节积液。Ayrol 等利用关节镜对 506 例疼痛性膝关节 OA 的滑膜炎等相关病变进行评价和随访,发现滑膜炎是疼痛性膝关节 OA 的普遍特征并可预测远期的软骨丧失程度^[5]。

滑膜炎症在 OA 的关节软骨退变方面起着重要的作用。炎性滑膜分泌的细胞激活因子(白细胞介素-1 和纤溶酶原/纤溶酶原激活酶)、蛋白酶及前列腺素等物质直接参与关节软骨的退变过程,尤以白细胞介素-1 和纤溶酶原/纤溶酶原激活物的作用最为重要。研究表明,白细胞介素-1 可干扰及抑制软骨细胞代谢,促进软骨的降解。纤溶酶原/纤溶酶原激活物同样可促进软骨降解。在 OA 关节中,软骨及滑膜中的纤溶酶原/纤溶酶原激活物活性明显升高,而且滑膜中的浓度是软骨的 60 倍,肌肉注射纤溶酶原激活物抑制剂(tranexanic acid)后关节软骨退变明显减缓^[6],表明滑膜中纤溶酶原/纤溶酶原激活物对软骨降解的重要作用。由于软骨降解,其分解的碎屑释放进入滑液中,刺激滑膜产生炎症反应;而滑膜的炎症反应又导致分泌大量以上提到的各种介质,间接或直接导致软骨降解,形成恶性循环。

3.3 物理因子对 PCNA 生成的影响 PCNA 是从 G1

后半期到 S 前半期在细胞核内急剧增多的、与细胞周期相关的一种 36 KD 的核蛋白,是 DNA 聚合酶的附蛋白,在 S 期参与 DNA 的复制,目前认为其表达是衡量细胞增殖的重要标记物^[7]。经过物理因子的治疗,可以加速 PCNA 的表达,抑制关节液中的细胞因子,减轻炎症反应^[8],起到促进新生滑膜和软骨细胞增殖的作用,从而在宏观上有利于炎症损伤的修复及新骨的生成。

3.4 单因子治疗与联合治疗 本实验结果显示,联合组动物关节囊周边的滑膜组织修复加快,炎症反应减轻,关节液量也趋向正常,无浑浊;模型组滑膜组织始终存在炎性细胞浸润,细胞排列杂乱无章,可见多个出血点及毛细血管增生,间质有水肿,表明联合组关节腔内滑膜组织经过治疗后呈现逐渐好转的迹象,而模型组则始终有骨关节炎的滑膜炎表现。但两个单因子治疗组即红外线组与磁疗组的滑膜组织无显著性差异。

OA 常伴有滑膜炎症,可使关节内压力升高,阻碍滑膜静脉的血液循环,造成氧分压下降^[9]。物理疗法既可改善局部的血液循环,促进滑膜炎症吸收、消散,缓解肌肉痉挛,降低骨内高压,提高氧分压,又可加快关节软骨的新陈代谢。因此,应用物理因子治疗 OA 是一种方便有效的治疗途径。

[参考文献]

- [1] 陈崇伟,卫小春,杨自权,等. 伸膝制动骨关节炎动物模型软骨内胶原变化的观察[J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(6): 332—337.
- [2] Ayral X, Mayoux-Benhamou A, Dougados M. Propose scoring system for assessing synovial membrane abnormalities at arthroscopy in knee osteoarthritis[J]. Br J Rheumatol, 1996, 35(suppl 3): 14—17.
- [3] Videman T. Experimental osteoarthritis in the rabbit: comparison of different periods of repeated immobilization[J]. Acta Orthop Scand, 1982, 53(3): 339.
- [4] 孙嘉利,范建中. 兔膝关节骨性关节炎的模型制作及组织病理学[J]. 中国康复, 2005, 20(2): 78—80.
- [5] Ayrol X, Pickering EH, Woodworth TG, et al. Synovitis predicts arthroscopic progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2001, 44(suppl): S101.
- [6] Pelletier JP. Imbalance between the mechanisms of activation and inhibition of metalloproteinases in the early lesions of experimental osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 1990, 33: 364—372.
- [7] Prelich G, Tan CK, Kostura M, et al. Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and DNA polymerase auxiliary protein[J]. Nature, 1987, 326: 517.
- [8] 卫荣,迪丽娜·马合木提,卡哈尔·库尔班,等. 维吾尔医沙疗对兔膝关节炎细胞因子的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(5): 340—342.
- [9] Takahashi S, Inoue T, Higaki M, et al. Cyclooxygenase inhibitors enhance the production of tissue inhibitor-1 β of metalloproteinases (TIMP-1) and pro-matrix metalloproteinase-1 (proMMP-1) in human rheumatoid synovial fibroblasts[J]. Inflamm Res, 1997, 46(8): 320—323.

(收稿日期: 2005-12-19)

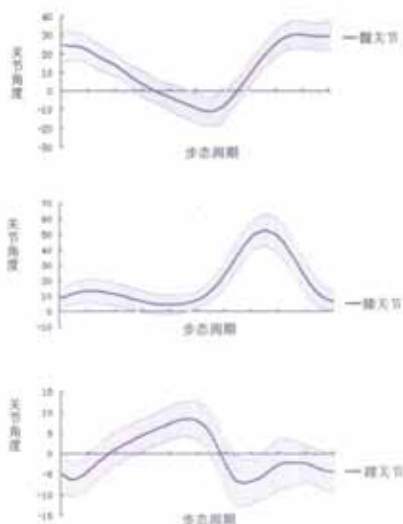


图 2.3 正常人 60~70 岁组关节运动学曲线



图 3.1 HE 染色: 光镜下见模型组滑膜表层上皮细胞增生, 排列紊乱, 淋巴细胞及浆细胞浸润, 有多处出血灶 (200 ×)

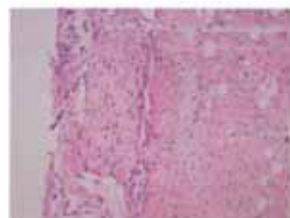


图 3.2 HE 染色: 光镜下见红外组滑膜上皮轻度增生肥大, 少量肉芽组织, 毛细血管增生, 散在出血点 (200 ×)

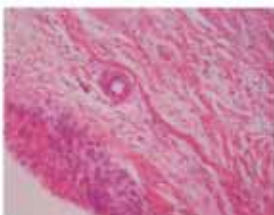


图 3.3 HE 染色: 光镜下见磁疗组滑膜衬底细胞轻度增生, 间质有水肿, 伴有少量淋巴细胞和浆细胞浸润 (200 ×)



图 3.4 HE 染色: 光镜下见联合组滑膜细胞呈单层排列, 较齐整, 间质无水肿, 有少量毛细血管增生 (100 ×)



图 3.5 免疫组化染色: 模型组各层细胞排列紊乱, 炎性细胞浸润, 极少见 PCNA 阳性细胞表达 (200 ×)



图 3.6 免疫组化染色: 红外组滑膜上皮细胞增生, 少量散在 PCNA 阳性细胞表达, 以浅表层居多 (100 ×)



图 3.7 免疫组化染色: 磁疗组滑膜细胞排列较紊乱, PCNA 阳性细胞为核着黄或棕黄色, 各层均有散在分布 (200 ×)

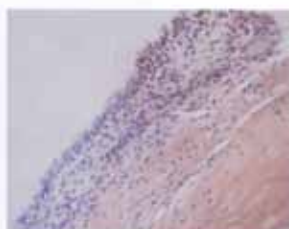


图 3.8 免疫组化染色: 联合组滑膜细胞排列整齐, PCNA 阳性细胞表达较好, 主要位于滑膜浅表层, 各层均见分布 (100 ×)

图 1.1—图 1.2 正文见 P829—830

图 2.1—图 2.3 正文见 P855—857

图 3.1—图 3.8 正文见 P858—860