

# “筋出槽”大鼠模型骨骼肌形态学和功能特征性变化

杨宗睿<sup>1,2</sup>, 葛海雅<sup>1,2</sup>, 石金玉<sup>1,2</sup>, 汪正明<sup>1,2</sup>, 王媛媛<sup>1,2</sup>, 李正言<sup>1,2</sup>, 杜国庆<sup>1,2</sup>, 詹红生<sup>1,2</sup>

https://doi.org/10.12307/2024.422

投稿日期: 2023-05-23

采用日期: 2023-07-17

修回日期: 2023-08-10

在线日期: 2023-08-23

中图分类号:

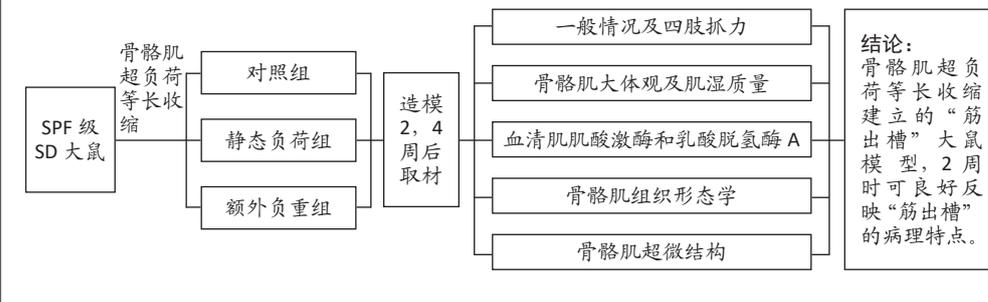
R459.9; R318; R274

文章编号:

2095-4344(2024)26-04170-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 基于中医病因学构建可模拟“筋出槽”临床特征和病理特点的大鼠模型



## 文题释义:

“筋出槽”: 指因慢性劳损或外力损伤, 导致局部气血瘀滞, 脉络瘀阻, 筋脉失于濡养, 筋失柔, 离常道, 而发为此病。最新版《ICD-11》将其明确定义: 因间接暴力或慢性积累性外力作用下引起筋的形态结构、功能状态和位置关系发生异常所致; 临床以患处局部疼痛、活动不利, 触诊发现筋的张力增高, 可触及结节、条索样改变, 伴见明显压痛等为特征的伤筋病。  
中医证候动物模型: 基于现代实验动物学理论, 将中医证候形成的病因施加于实验动物, 使其模拟出具有某一证候临床特征的动物模型, 从而用于中医证候相关研究。

## 摘要

背景: “筋出槽”是被《国际疾病分类第十一次修订本》收录的疾病名称, 也是手法、针刺等治疗的临床指征, 但其具体的效应机制尚不明确, 亟待建立一种可以反映其临床特征和病理特点的动物模型, 以便深入研究其临床治疗方法的作用机制。

目的: 基于骨骼肌等长收缩建立大鼠“筋出槽”疾病动物模型, 探究“筋出槽”后大鼠骨骼肌形态学和功能特征性变化。

方法: 60只大鼠随机分为对照组、静态负荷组和额外负重组, 每组20只。对照组大鼠正常饲养, 不做处理; 后两组采用作者课题组设计的静态负荷悬挂造模装置固定大鼠, 通过施加静态负荷(以大鼠自身体质量作为静态负荷)使大鼠上肢肌肉持续的等长收缩, 建立“筋出槽”损伤模型; 额外负重组在静态负荷组的基础上于大鼠踝关节处额外施加体质量50%的质量。分别于造模2, 4周后取材, 测试大鼠四肢抓力、骨骼肌湿质量、血清肌酸激酶和乳酸脱氢酶A水平的改变情况, 观察大鼠骨骼肌组织形态学和超微结构的变化。

结果与结论: ①2周时, 模型组(静态负荷组和额外负重组)大鼠抓力显著降低, 骨骼肌湿质量显著下降, 血清肌酸激酶和乳酸脱氢酶A水平显著上升, 肌纤维形态结构异常, 伴有大量胶原纤维沉积, 电镜结果显示肌原纤维结构紊乱, Z线扭曲, 明暗界限模糊; ②4周时, 模型组大鼠抓力较2周有所上升, 血清肌酸激酶和乳酸脱氢酶A水平下降, 肌纤维形态和超微结构的改变均有不同程度恢复; ③提示基于骨骼肌持续等长收缩建立的大鼠骨骼肌损伤模型, 2周时可良好反映“筋出槽”的病理特点, 可用于进行针刺、手法等治疗“筋出槽”的效应机制研究。

关键词: “筋出槽”; 中医证候; 骨骼肌; 等长收缩; 肌酸激酶; 乳酸脱氢酶; 动物模型

## Characteristic changes in morphology and function of skeletal muscles in a rat model of “tendon off-position”

Yang Zongrui<sup>1,2</sup>, Ge Haiya<sup>1,2</sup>, Shi Jinyu<sup>1,2</sup>, Wang Zhengming<sup>1,2</sup>, Wang Yuanyuan<sup>1,2</sup>, Li Zhengyan<sup>1,2</sup>, Du Guoqing<sup>1,2</sup>, Zhan Hongsheng<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Shi's Center of Orthopedics and Traumatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

<sup>2</sup>Institute of Traumatology & Orthopedics, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Yang Zongrui, Master candidate, Shi's Center of Orthopedics and Traumatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; Institute of Traumatology & Orthopedics, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Corresponding author: Zhan Hongsheng, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Shi's Center of Orthopedics and Traumatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; Institute of Traumatology & Orthopedics, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

<sup>1</sup>上海中医药大学附属曙光医院石氏伤科医学中心, 上海市 201203; <sup>2</sup>上海市中医药研究院骨伤科研究所, 上海市 201203

第一作者: 杨宗睿, 男, 1996年生, 甘肃省平凉市人, 汉族, 上海中医药大学在读硕士, 主要从事慢性筋骨病损的防治研究。

通讯作者: 詹红生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 上海中医药大学附属曙光医院石氏伤科医学中心, 上海市 201203; 上海市中医药研究院骨伤科研究所, 上海市 201203

https://orcid.org/0009-0002-5643-8311(杨宗睿)

基金资助: 国家自然科学基金项目(82074466), 项目负责人: 詹红生; 詹红生全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教函[2022]75号), 项目负责人: 詹红生; 上海市慢性筋骨病临床医学研究中心(20MC1920600), 项目负责人: 詹红生; 上海市临床重点专科“中医骨伤科”(shslczdk03901), 项目负责人: 詹红生; 上海高水平地方高校“慢性筋骨病损研究与转化”创新团队(沪教委人[2022]3号), 项目负责人: 詹红生

引用本文: 杨宗睿, 葛海雅, 石金玉, 汪正明, 王媛媛, 李正言, 杜国庆, 詹红生. “筋出槽”大鼠模型骨骼肌形态学和功能特征性变化[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(26):4170-4177.



## Abstract

**BACKGROUND:** "Tendon off-position" is a disease name included in the International Classification of Diseases 11<sup>th</sup> Revision, and also a clinical indication of manipulation, acupuncture and other treatments. However, its specific mechanism is still unclear. It is urgent to establish an animal model that can reflect the clinical and pathological characteristics of "tendon off-position," so as to further study the mechanism of effective clinical treatments.

**OBJECTIVE:** To establish an animal model of "tendon off-position" in rats based on isometric contraction of skeletal muscles, and to explore the changes of skeletal muscle function and morphological phenotype after "tendon off-position."

**METHODS:** Sixty rats were randomly divided into control group, static-loading group and extra loading group, with twenty rats in each group. Rats in the control group were kept normally without treatment. In the latter two groups, the rats were fixed by the self-made static-loading modeling device and a static-loading (the body mass of each rats was applied as the static-loading) was applied to cause sustained isometric contraction of the upper limb muscles. Then, animal models of "tendon off-position" were successfully established. In the extra loading group, 50% of the body mass was added to the ankle joint after modeling. The skeletal muscle samples were harvested at 2 and 4 weeks after modeling. The changes of limb grip strength, wet mass of skeletal muscle, and serum levels of creatine kinase-muscle and lactate dehydrogenase A were measured, and the changes of skeletal muscle histomorphology and ultrastructure were observed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** At 2 weeks after modeling, the rats in the static-loading group and extra loading group showed significantly decreased grip strength and wet muscle mass, significantly increased serum levels of creatine kinase-muscle and lactate dehydrogenase A, and abnormal muscle fiber morphology and structure accompanied by a large number of deposited collagen fibers. Electron microscopy results showed that the structure of myofibrils was disordered, the Z-line was distorted, and the light and dark boundaries were blurred. At 4 weeks after modeling, the grip strength of the model rats was increased compared with that at 2 weeks, the serum creatine kinase-muscle and lactate dehydrogenase A levels were decreased, and the changes of muscle fiber morphology and ultrastructure were recovered to varying degrees. It is suggested that the rat skeletal muscle injury model based on continuous isometric contraction of skeletal muscle can well reflect the pathological characteristics of "tendon off-position" at 2 weeks, and can be used to study the mechanism of acupuncture and manipulation in the treatment of "tendon off-position."

**Key words:** "tendon off-position"; TCM syndrome; skeletal muscle; isometric contraction; creatine kinase; lactate dehydrogenase; animal model

**Funding:** National Natural Science Foundation of China, No. 82074466 (to ZHS); Zhan Hongsheng National Famous Elderly Chinese Medicine Experts Inheritance Workshop Construction Project, No. [2022]75 (to ZHS); Shanghai Clinical Research Center of Chronic Musculoskeletal Disease, No. 20MC1920600 (to ZHS); Shanghai Clinical Key Specialty "Chinese Medicine and Orthopedics", No. shslczdzk03901 (to ZHS); Shanghai High-level Local Universities Innovation Team for "Chronic Muscle and Bone Disease Impairment Research and Transformation, No. [2022]3 (to ZHS)

**How to cite this article:** YANG ZR, GE HY, SHI JY, WANG ZM, WANG YY, LI ZY, DU GQ, ZHAN HS. Characteristic changes in morphology and function of skeletal muscles in a rat model of "tendon off-position". *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(26):4170-4177.

## 0 引言 Introduction

“筋出槽”是中医骨伤科学的特有名词，既是病名，又是对筋伤病机的高度概括。海派中医石氏伤科认为：“劳伤者，劳损之渐也。虽无伤损之因，由累积太过之劳，延久使然”。詹红生教授依据石氏伤科学术思想并结合临床经验，提出该病发生的根本原因是慢性劳损或外力损伤，导致局部气血瘀滞，脉络瘀阻，筋脉失于濡养，筋失柔，离常道，而发为此病。历代医家对于“筋出槽”后筋的形态论述颇为详尽，如《伤科汇纂》“筋离出位”；《医宗金鉴·正骨心法要旨》中“筋之弛、纵、卷、挛、翻、转、离、合”等。筋的形态结构、功能状态和位置关系发生改变，则出现疼痛、僵硬及功能障碍等一系列临床症状。近年来，“筋出槽”已被《中医病证分类与代码》和《中医临床诊疗术语·疾病部分》收录。最新版《ICD-11》定义“筋出槽”是因间接暴力或慢性积累性外力作用下引起筋的形态结构、功能状态和位置关系发生异常所致<sup>[1]</sup>。临床以患处局部疼痛，活动不利，触诊发现筋的张力增高，可触及结节、条索样改变，伴见明显压痛等为特征的伤筋病<sup>[1]</sup>。

针刺、手法等作为“筋出槽”的有效治疗手段，在历代医籍中已有体现。《灵枢·经筋》：“治在燔针劫刺，以知为数，以痛为输”；《医宗金鉴》：“若跌打损伤……若欲仰卧、侧卧，皆不能也，疼痛难忍，腰筋僵硬，宜手法”。近现代研究也肯定了针刺、手法对“筋出槽”的疗效<sup>[2-4]</sup>，并经过大量随机对照试验进一步的验证<sup>[5-10]</sup>，已成为相关指南的推荐疗法<sup>[11-13]</sup>。然而，针刺、手法的具体效应机制仍不清楚，在对其具体效应机制研究之前，面临着一个十分严峻的问题：缺乏一种能够反映“筋出槽”临床特征和病理特点的动物模型。

筋，是指具有生物力学性能的纤维组织<sup>[14]</sup>，其中骨骼肌最具代表性。骨骼肌的基本功能单位为肌原纤维，由肌球

蛋白和肌动蛋白组成的，二者交互嵌插、互相为槽，是肌纤维伸缩的结构基础，肌原纤维滑移的协调性和同步性也是肌肉整体力量的来源和保证。异常外力引起筋伤时，上述肌原纤维的结构遭到破坏，无法在原来的槽中正常滑移，而引起疼痛和功能障碍。在临床中，“筋出槽”的产生主要是由慢性劳损和异常外力所致，而随着生活和工作习惯的改变，缺乏锻炼以及长时间久坐的工作方式使得劳损导致的“筋出槽”发病率持续上升。以伏案久坐为例，该状态下腰背部骨骼肌处于等长收缩的状态，持续的等长收缩超过机体负荷，则发生“筋出槽”。因而，此次实验从病因学角度出发，通过骨骼肌超负荷等长收缩来构建“筋出槽”大鼠模型，探究“筋出槽”后骨骼肌病理学形态的改变情况，旨在建立一种能够反映“筋出槽”临床特征及生理病理特点的大鼠模型，为针刺和手法的效应机制分析奠定实验动物基础，从而更好地指导并服务于临床。

## 1 材料和方法 Materials and methods

- 1.1 设计 随机对照动物实验，组间比较采用单因素方差分析。
- 1.2 时间及地点 实验于2021年12月至2022年2月在上海中医药大学及其附属曙光医院骨伤科研究所完成。
- 1.3 材料
  - 1.3.1 实验动物 60只雄性6周龄SPF级SD(Sprague-Dawley)大鼠，体质量180~200g，购自上海中医药大学实验动物中心，许可证号码：SCXF(沪)2022-0004。大鼠饲养于上海中医药大学实验动物中心小动物专用饲养室，室温(22±2)℃，湿度(50±5)%，室内环境通风，光照12h明暗交替，采用SPF级纯水和大鼠专用饲料喂养，每笼5只，自由饮水、进食。动物实验由上海中医药大学实验动物伦理委员会批准执行，伦理批号：PZSHTCM211129021。实验过程遵循了国际兽医学

编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。

### 1.3.2 实验设备与仪器

(1) 造模装置：采用作者课题组设计的静态负荷悬挂造模装置（专利号：ZL202221663065.0）固定大鼠，通过施加静态负荷（以大鼠自身体质量作为静态负荷）使大鼠上肢肌肉持续等长收缩，建立损伤模型。

(2) 主要设备和仪器：抓力仪（众实迪创，DS2-20N），光学显微镜（Olympus，1X71），组织脱水机（LEICA，TPI020），石蜡包埋机（LEICA，1150C），切片机（LEICA，RM2165），酶标仪（BIOTEK，ELX800），4℃离心机（Thermo，Sorvall Legend Mach），台式低速离心机（赛特湘仪，TDZ4-WS），临界点干燥机（LEICA，EM CPD300），离子溅射涂布机（LEICA，EM ACE600），扫描电子显微镜（Qanta，FEG250），超低温冰箱（Eppendorf，U570-86），制冰机（Scotsman，AF100AS-E）等。

(3) 主要试剂：大鼠肌酸激酶（creatine kinase-muscle，CKM）酶联免疫吸附检测（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（ELK Biotech，ELK2529），大鼠乳酸脱氢酶 A（lactate Dehydrogenase A，LDHA）酶联免疫吸附检测试剂盒（ELK Biotech，ELK7572），苏木精-伊红染色试剂盒（Solarbio，G1120），MASSON 染色试剂盒（Solarbio，G1346），25% 戊二醛溶液（沃凯，30092581）。

### 1.4 实验方法

1.4.1 大鼠“筋出槽”模型制备方案 60 只 SD 大鼠按随机数字表法随机分为对照组、静态负荷组和额外负重组，每组 20 只，分别于造模 2，4 周后取材，对肱三头肌、肱二头肌和腓肠肌进行研究。对照组大鼠正常饲养，不做处理。静态负荷通过对大鼠上肢进行悬挂固定来实现，该过程由 2 名研究者合作完成，一名研究者抓取固定大鼠，另一名研究者将大鼠上肢固定于悬挂装置上。简单来说，将医用棉球展开缠绕于大鼠上肢前臂部位，用一端系有棉绳的弹力扎带缠绕前臂处的棉球覆盖部位，另一端绳子系于造模支架上。对额外负重组大鼠下肢踝关节处施加约体质量 50% 质量的砝码作为额外负重，静态负荷组不施加额外负重。分别于造模 2，4 周后取材，对肱二头肌、肱三头肌和腓肠肌进行研究。造模持续 4 周，具体时间及方案见表 1。

表 1 | “筋出槽”大鼠模型的构建方案

Table 1 | The protocol for establishing a “tendon off-position” rat model

时间	方案
第 1 周	每天悬挂 60 min，每周悬挂 6 d；
第 2 周	每天悬挂 60 min，每周悬挂 6 d；
第 3 周	每天悬挂 90 min，隔天 1 次；
第 4 周	每天悬挂 90 min，隔天 1 次。

1.4.2 大鼠“筋出槽”目标骨骼肌的选取 模拟人伏案久坐时腰背部肌肉等长收缩的状态，在大鼠身上寻找适合造模的骨骼肌。刘晔<sup>[15]</sup>报道了一种静力性骨骼肌损伤的造模方法，对该方法造模时大鼠身上所有可能参与收缩的骨骼肌逐个进行受力分析，发现上肢的肱三头肌、肱二头肌和下肢腓肠肌、

### 组织工程实验动物造模过程中的相关问题

造模目的 构建“筋出槽”大鼠模型，探究其病理学改变，为“筋出槽”的进一步研究及其治疗的效应机制研究提供一个良好的动物模型

选择动物的条件 雄性 SD 大鼠，6 周龄，体质量 180–200 g

模型与所研究疾病的关系 建立一种能够反映“筋出槽”病理状态及其临床特征的大鼠模型，探究其“筋”的形态学和功能特征性变化，以便深入研究其临床治疗手段的作用机制

动物来源及品系 SPF 级雄性 SD 大鼠，由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供

造模技术描述 一名研究者抓取固定大鼠，另一名研究者将大鼠上肢固定于悬挂装置上，通过悬挂固定对上肢肌肉施加静态负荷。简单来说，将医用棉球展开缠绕于大鼠上肢前臂部位，用一端系有棉绳的弹力扎带缠绕前臂处的棉球覆盖部位，另一端绳子系于造模支架上。对额外负重组大鼠下肢踝关节处施加约体质量 50% 质量的砝码作为额外负重，静态负荷组不施加额外负重

动物数量及分组方法 60 只大鼠随机分为对照组、静态负荷组和静态负荷+额外负重组，每组 20 只，于造模 2，4 周后分别进行研究

造模成功评价指标 一般状态、抓力、血清 CKM 与 LDHA 水平

造模后观察指标 组织病理学形态以及超微结构改变情况

造模后动物处理 造模结束，动物麻醉后进行腹主动脉取血与骨骼肌取材，所有动物尸体移交至上海中医药大学实验动物中心统一处理

伦理委员会批准 实验获上海中医药大学实验动物伦理委员会批准执行，伦理批号：PZSHTCM211129021

比目鱼肌、股四头肌等骨骼肌的收缩方式更符合等长收缩的方式，考虑到模型制作的可控性和稳定性，因此，选择上肢肱三头肌和肱二头肌这对拮抗肌作为主要的目标骨骼肌，腓肠肌作为次要目标骨骼肌进行研究。

1.4.3 抓力测试 大鼠的四肢抓力测试分别于造模后 2，4 周时进行。将小动物抓力仪置于水平台面上，轻轻抓住大鼠的尾巴并举起来，放置在抓力仪的抓力测试网上，使其四肢均抓住测试网，然后匀速后拉大鼠尾巴，直到四肢松开测试网，记录抓力仪表盘的读数。每只大鼠进行 5 次独立地测量，取均值进行分析。

1.4.4 动物取材 动物取材于造模后 2，4 周进行。

(1) 腹主动脉取血：将 SD 大鼠以 50 mg/kg 舒泰 50（杭州硕业科技发展有限公司）腹腔注射麻醉后置于小动物手术台上，打开腹腔，将腹腔组织拨向一侧，用纱布分离腹主动脉血管周围组织，充分暴露腹主动脉（可将 10 mL 采血管置于大鼠腰部提高暴露效果），将采血针针尖朝下进行采血，使用促凝管收集动脉血。轻轻晃动采血管，随后置于试管架上室温静置 2 h，离心机 3 000 r/min×10 min 离心，收集上层血清分装并保存于 -80℃ 冰箱待测。

(2) 肌肉获取：腹主动脉取血后，立即分离双侧肱二头肌、肱三头肌和腓肠肌。切开大鼠上肢或下肢皮肤，钝性分离筋膜，尽可能完整地暴露目标肌肉的形态，寻找肌肉起止点端的肌腱，离断。将所获肌肉立即拍照，称质量，随后置于冰上将肌肉分为 4 部分，分别用于电镜检测、石蜡切片、冰冻切片和分子相关检测，按需保存。

1.4.5 酶联免疫吸附剂检测（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）法检测血清损伤相关指标 采用 ELISA 试剂盒检测大鼠血清 CKM、LDHA 水平的变化，具体步骤如下：采用

稀释液配置标准品和待测样品，按倍比稀释，随后取 100  $\mu\text{L}$  标准品和样品加样至待测抗体包被的酶标板中，37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 80 min；弃去孔内液体，滴加 200  $\mu\text{L}$  洗涤液，浸泡 2 min，洗板 3 次，随后滴加生物素抗体工作液 100  $\mu\text{L}$ ，37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 50 min；弃液洗板 3 次，滴加酶结合物工作液 100  $\mu\text{L}$ ，37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 50 min；弃液洗板 3 次，滴加 TMB 显色底物溶液 90  $\mu\text{L}$ ，37  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 20 min，标准孔出现明显梯度蓝色时，加入终止液 50  $\mu\text{L}$  终止反应，使用酶标仪测量各孔吸光度 (A) 值，绘制标曲，计算待测样品浓度。

**1.4.6 石蜡切片** 在冰上将所获的肌肉组织垂直于肌纤维走行方向 (横向) 切为厚度为 3–5 mm 的组织块，取近肌腹部位于 40 g/L 多聚甲醛中固定，室温静置 24 h，随后流水冲洗一两小时，转入体积分数 75% 的乙醇 4  $^{\circ}\text{C}$  静置 48 h。次日使用自动脱水机梯度脱水，脱水完成后手动包埋组织，待蜡块冷却后储存于 4  $^{\circ}\text{C}$  备用。将组织的石蜡包埋块置于切片机，设置切片厚度为 3  $\mu\text{m}$ ，连续切片，摊片后置于载玻片上，晾干后收集切片以备后续染色。

**1.4.7 苏木精-伊红染色** 待染色组织切片烤片 30 min。常规脱蜡入水后，苏木精 5 min，水洗 30 s，盐酸乙醇分化液 1 s，水洗 10 min，伊红 2 min，水洗 30 s，依次浸入体积分数 75% 乙醇和二甲苯中各 1 min，晾干切片上残余液体，中性树胶封固，待干燥后显微镜下采集图片。

**1.4.8 MASSON 染色** 常规脱蜡入水后，媒染液媒染 (60  $^{\circ}\text{C}$ ) 1 h，水洗 10 min，天青石蓝染液 2 min，水洗 15 s $\times$ 2 次，Mayer 苏木精染液 2 min，水洗 15 s $\times$ 2 次，酸性乙醇分化液 3 s，蒸馏水洗 10 min，丽春品红染液 1 min，水洗 15 s $\times$ 2 次，磷钼酸溶液 1 min，苯胺蓝染液 5 min，弱酸溶液 30 s，水洗 30 s，常规中性树胶封固，干燥后显微镜下采集图片。

**1.4.9 透射电子显微镜观察** 将离体肌肉切至 1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 1 mm 大小的组织块，置于 2.5% 戊二醛中，4  $^{\circ}\text{C}$  避光固定 24 h，PBS 20 min $\times$ 3，1% 锇酸固定 (4  $^{\circ}\text{C}$ ) 2 h，体积分数 30% 乙醇 15 min，50% 乙醇 15 min，70% 乙醇 15 min，90% 乙醇 15 min，100% 乙醇 15 min，100% 丙酮 20 min $\times$ 3，丙酮与包埋液 (1 : 1) 包埋后室温过夜，随后固化，37  $^{\circ}\text{C}$  过夜，超薄切片机切片，3% 醋酸双氧铀-柠檬酸铅双染法染色，染色结束后在透射电子显微镜下观察样品。

**1.5 主要观察指标** ①大鼠的一般情况观察；②大鼠的抓力表现；③大鼠骨骼肌大体观及肌湿质量；④大鼠血清 CKM 和 LDHA 水平；⑤骨骼肌的组织病理形态学改变；⑥骨骼肌的超微结构变化。相关检测于造模 2，4 周后分别进行。

**1.6 统计学分析** 所有数据采用均数  $\pm$  标准误的形式表示，使用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析，多组数据之间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)，组间两两比较采用 LSD 法分析；若方差不齐，则采用 Welch's ANOVA 法分析，组间两两比较采用 Games-Howell 法分析。 $P < 0.05$  时表示差异有显著性意义。文章统计学方法已经通过上海中医药大学生物医学统计学专家审核。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 60 只 SD 大鼠随机分为 3 个实验组，并且设置 2 个时间点，每个时间点每组 10 只大鼠。抓力分析去除极值后纳入 8 只大鼠进行分析；4 只大鼠用于骨骼肌超微结构及组织形态学检测，6 只用于其他检测。

**2.2 “筋出槽”大鼠造模图示及其状态** 大鼠造模情况如图 1 所示。每日开始造模时，大鼠挣扎剧烈，1–3 min 后逐渐适应悬挂姿态，挣扎减少，状态趋于稳定。造模结束后，模型组 (静态负荷组和额外负重组) 大鼠活动减少，有匍匐行走或瘫坐现象，触碰上肢时反应警觉，易躲闪，伴有烦躁。

**2.3 “筋出槽”模型大鼠四肢抓力表现** 大鼠四肢抓力如表 2 所示，对照组大鼠抓力呈现随时间递增的趋势；与对照组相比，2 周时模型组 (静态负荷组和额外负重组) 抓力显著下降 ( $P < 0.001$ )，4 周时模型组抓力显著下降 ( $P < 0.01$ ) 但较 2 周明显增长，静态负荷组和额外负重组组间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 2 | “筋出槽”大鼠四肢抓力变化 (均数  $\pm$  标准误,  $n=8$ , N/kg)  
Table 2 | Changes in grip strength of the extremities of “tendon off-position” rats

时间	对照组	静态负荷组	额外负重组
Baseline	16.879 $\pm$ 0.725	16.999 $\pm$ 0.730	16.901 $\pm$ 0.672
2 周	18.045 $\pm$ 1.335	11.352 $\pm$ 0.432 <sup>a</sup>	11.129 $\pm$ 0.565 <sup>b</sup>
4 周	19.122 $\pm$ 1.558	15.646 $\pm$ 0.765 <sup>a</sup>	15.473 $\pm$ 0.685 <sup>a</sup>

表注：与对照组相比，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ，<sup>b</sup> $P < 0.001$ 。

**2.4 “筋出槽”模型大鼠骨骼肌大体形态及肌湿质量表现** 骨骼肌大体观如图 2 所示。4 周时，对照组可见肱三头肌、肱二头肌、腓肠肌圆润饱满，表面光滑，色泽佳；造模后，模型组 (静态负荷组和额外负重组) 大鼠肱三头肌、肱二头肌和腓肠肌大体形态可见明显萎缩，色泽变暗，光滑度下降，肱三头肌和肱二头肌纵向明显增长。

骨骼肌湿质量结果如表 3 所示。与对照组相比，2 周时模型组肱三头肌、肱二头肌和腓肠肌湿质量均显著降低 ( $P < 0.05$ ， $P < 0.001$ ， $P < 0.01$ )，4 周时模型组肱三头肌、肱二头肌和腓肠肌湿质量均显著降低 ( $P < 0.05$ ， $P < 0.001$ ， $P < 0.001$ )，静态负荷组和额外负重组组间各肌肉湿质量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 3 | “筋出槽”大鼠肱二头肌、肱三头肌和腓肠肌湿质量变化 (均数  $\pm$  标准误,  $n=6$ , g)  
Table 3 | Wet mass changes in the biceps, triceps and gastrocnemius muscles of “tendon off-position” rats

骨骼肌	2 周		
	对照组	静态负荷组	额外负重组
肱三头肌	1.805 $\pm$ 0.04	1.103 $\pm$ 0.044 <sup>c</sup>	1.063 $\pm$ 0.056 <sup>c</sup>
肱二头肌	0.291 $\pm$ 0.01	0.249 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup>	0.253 $\pm$ 0.010 <sup>a</sup>
腓肠肌	2.562 $\pm$ 0.03	2.328 $\pm$ 0.041 <sup>b</sup>	2.254 $\pm$ 0.048 <sup>c</sup>

骨骼肌	4 周		
	对照组	静态负荷组	额外负重组
肱三头肌	2.197 $\pm$ 0.04	1.449 $\pm$ 0.095 <sup>c</sup>	1.275 $\pm$ 0.062 <sup>c</sup>
肱二头肌	0.342 $\pm$ 0.012	0.261 $\pm$ 0.019 <sup>a</sup>	0.251 $\pm$ 0.028 <sup>b</sup>
腓肠肌	3.007 $\pm$ 0.089	2.498 $\pm$ 0.031 <sup>c</sup>	2.376 $\pm$ 0.061 <sup>c</sup>

表注：与对照组相比，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ，<sup>b</sup> $P < 0.01$ ，<sup>c</sup> $P < 0.001$ 。



图 1 | “筋出槽”大鼠造模图示

Figure 1 | Schematic diagram of establishing a “tendon off-position” rat model

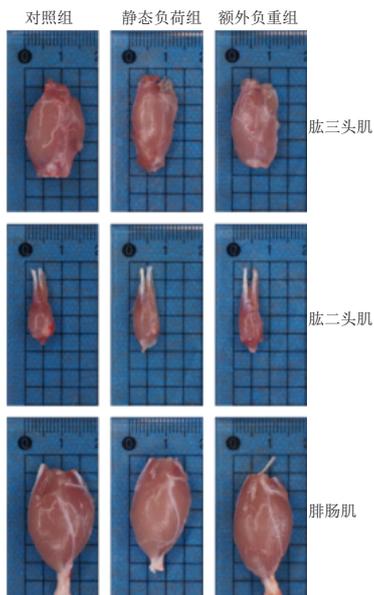


图 2 | “筋出槽”大鼠肱三头肌、肱二头肌和腓肠肌的大体形态

Figure 2 | Gross view of skeletal muscle of “tendon off-position” rats

2.5 “筋出槽”模型大鼠血清 CKM、LDHA 水平变化 采用 ELISA 法检测大鼠血清 CKM、LDHA 水平，结果如表 4 所示。与对照组相比，2 周时模型组（静态负荷组和额外负重组）血清 CKM 和 LDHA 水平均显著上升 ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ )，静态负荷组和额外负重组组间无显著差异 ( $P > 0.05$ )；4 周时模型组血清 LDHA 水平显著上升 ( $P < 0.05$ )，但较 2 周时下降；4 周时模型组血清 CKM 水平有升高趋势但无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 4 | “筋出槽”大鼠血清 CKM、LDHA 水平的变化 (均数 ± 标准误,  $n=6$ , ng/mL)

Table 4 | The changes of serum creatine kinase-muscle and lactate dehydrogenase A levels in “tendon off-position” rats

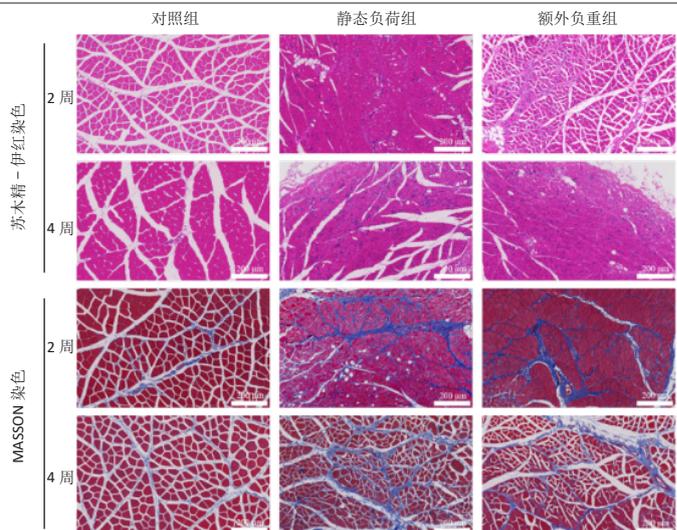
时间	CKM		
	对照组	静态负荷组	额外负重组
2 周	51.695±2.597	92.617±6.893 <sup>b</sup>	96.032±5.784 <sup>b</sup>
4 周	53.265±3.637	63.505±4.094	63.820±5.289

时间	LDHA		
	对照组	静态负荷组	额外负重组
2 周	3.574±0.177	6.101±0.269 <sup>b</sup>	6.445±0.310 <sup>b</sup>
4 周	4.032±0.097	4.874±0.247 <sup>a</sup>	4.864±0.236 <sup>a</sup>

表注：CKM 为肌肌酸激酶，LDHA 为乳酸脱氢酶 A。与对照组相比，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ，<sup>b</sup> $P < 0.01$ 。

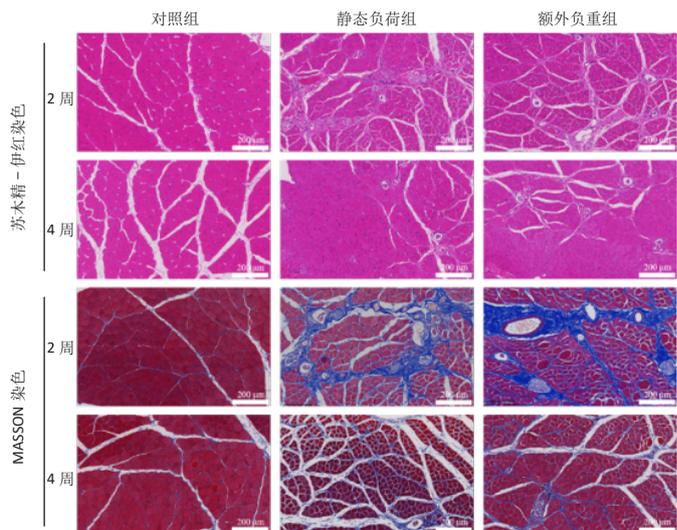
2.6 “筋出槽”模型大鼠骨骼肌形态学表现 苏木精-伊红染色和 MASSON 染色结果如图 3、4 所示。2 周时，模型组（静态负荷组和额外负重组）肱三头肌、肱二头肌肌纤维结构散乱，伴有不同程度萎缩，大小不等；间质内血管增生，可见



图注：2 周时模型组（静态负荷组和额外负重组）肌纤维结构散乱，不同程度萎缩；间质增生，可见炎细胞浸润和成纤维细胞等，伴有胶原纤维沉积；4 周时病理改变较 2 周时有所改善。Bar=200 μm。

图 3 | “筋出槽”大鼠肱三头肌形态学表现 (苏木精-伊红染色和 MASSON 染色)

Figure 3 | Morphological manifestations of triceps brachii muscles of “tendon off-position” rats (hematoxylin-eosin staining and Masson staining)



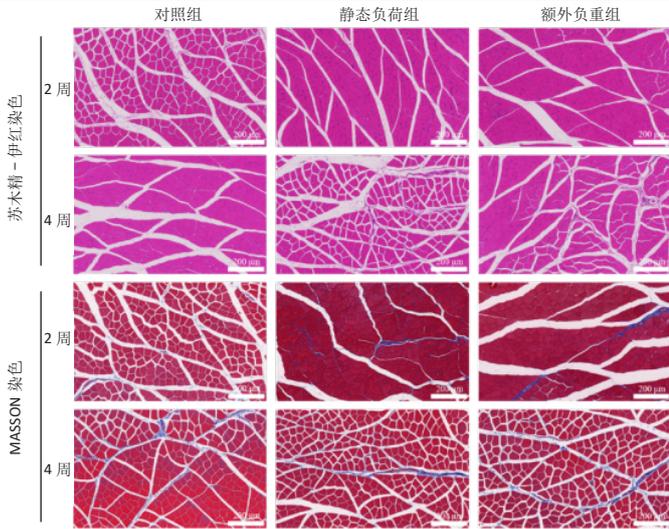
图注：模型组（静态负荷组和额外负重组）肱二头肌病理改变与肱三头肌相似，但损伤程度较后者轻。Bar=200 μm。

图 4 | “筋出槽”大鼠肱二头肌形态学表现 (苏木精-伊红染色和 MASSON 染色)

Figure 4 | Morphological manifestations of biceps brachii muscles of “tendon off-position” rats (hematoxylin-eosin staining and Masson staining)

炎细胞浸润和成纤维细胞，伴有大量胶原纤维沉积。4 周时，模型组肌纤维形态结构较 2 周时稍有改善，仍有不同程度的萎缩；局部可见少量深染肌纤维，细胞核圆，浓染，肌梭增多。间质内血管增生和炎细胞浸润减少，间质纤维化减少。静态负荷组和额外负重组组间形态结构改变相似。

然而，腓肠肌的形态结构改变程度较轻，如图 5 所示。2 周和 4 周时模型组（静态负荷组和额外负重组）肌纤维稍有萎缩；4 周时，模型组间质内少量胶原纤维沉积，静态负荷组和额外负重组组间形态结构改变相似。

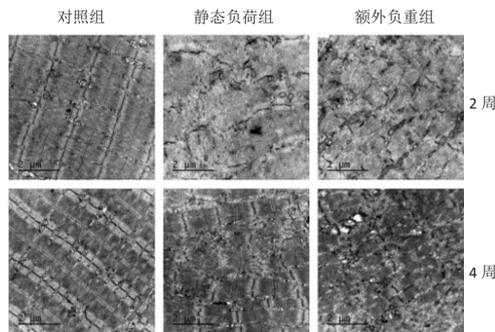


图注: 2周和4周时模型组(静态负荷组和额外负重组)肌纤维稍有萎缩, 4周时间质内少量胶原纤维沉积。Bar=200 μm。

图5 | “筋出槽”大鼠腓肠肌形态学表现(苏木精-伊红染色和MASSON染色)

Figure 5 | Morphological manifestations of gastrocnemius muscles of “tendon off-position” rats (hematoxylin-eosin staining and Masson staining)

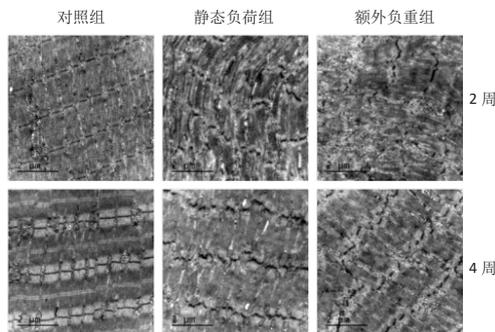
2.7 “筋出槽”模型大鼠骨骼肌超微结构表现 采用透射电子显微镜观察肱三头肌、肱二头肌超微结构, 电镜结果如图6, 7所示。



图注: 2周时模型组(静态负荷组和额外负重组)肌原纤维形态结构紊乱, Z线扭曲、断裂, 明暗带对比度下降, 界限模糊, 线粒体肿胀, 可见空泡化; 4周时肌原纤维形态结构部分恢复。Bar=2 μm。

图6 | “筋出槽”大鼠肱三头肌超微结构表现(×8 000)

Figure 6 | Ultrastructure of triceps brachii muscles of “tendon off-position” rats (×8 000)



图注: 模型组(静态负荷组和额外负重组)大鼠肱二头肌肌原纤维形态结构改变, 但损伤程度较肱三头肌轻。Bar=2 μm。

图7 | “筋出槽”大鼠肱二头肌超微结构表现(×8 000)

Figure 7 | Ultrastructure of biceps brachii muscles of “tendon off-position” rats (×8 000)

对照组肌小结排列规律, 形态完整, Z线连续, M线、H带结构清晰, 明暗带界限区域明确, Z线左右可见规律排列的椭圆形线粒体; 2周时, 模型组(静态负荷组和额外负重组)肌原纤维形态结构紊乱, Z线扭曲、断裂, 明暗带对比度下降, 界限模糊, 线粒体肿胀, 可见空泡化; 4周时, 肌原纤维形态结构部分恢复, 仍有紊乱, 紊乱部分Z线扭曲、断裂, 明暗带界限模糊不清。线粒体肿胀明显, 可见空泡状。静态负荷组和额外负重组间结构形态变化相似, 无明显差异, 但肱三头肌的损伤程度明显较肱二头肌严重。

### 3 讨论 Discussion

病因造模法是中医证候动物模型构建的经典思路<sup>[16]</sup>。基于中医学病因与发病理论, 模拟“证”的致病因素并作用于实验动物, 使其呈现特定的证候特点。既往关于中医证候的动物模型研究中, 采用病因造模法居多, 通过对动物施加致病因素建立了特定的证候动物模型, 已取得学术界广泛的认可。王常松等<sup>[17]</sup>采用寒湿环境、寒凉饮食、高脂饮食三因素相结合的方法建立了大鼠寒湿困脾证模型; 张丹等<sup>[18]</sup>采用游泳力竭以及动情期雌鼠同笼的方法制备雄性小鼠肾虚证模型; 沈雪等<sup>[19]</sup>以“风寒湿致痹”理论为指导, 对大鼠进行改良Hulth法造模后置于人工气候箱模拟风寒湿环境构建了风寒湿型膝关节炎。在众多中医证候动物模型的构建中, 其所遵循的“临床证候-病因-模拟病因-动物证候”的思路, 也为“筋出槽”动物模型的构建提供了方向。而关于“筋出槽”的病因, 最早可追溯到《素问·宣明五气篇》中记载的“五劳所伤”, 即久视伤血、久卧伤气、久坐伤肉、久立伤骨、久行伤筋。《海派中医·石氏伤科》认为: “劳伤者, 劳损之渐也。虽无伤损之因, 由累积太过之劳, 延久使然”<sup>[20]</sup>。这表明劳损是“筋出槽”的重要病因, 是其发生的关键因素。此外, 创伤暴力亦可导致“筋出槽”, 总的来说, “筋出槽”的发生离不开异常应力的作用。

筋, 是指具有生物力学性能的纤维组织, 结合现代解剖学知识, 其外延涉及肌肉、肌束、肌纤维、肌原纤维、肌丝、肌节和肌腱、筋膜、韧带、关节囊等结构中的一部分膜样组织<sup>[14]</sup>, 其中骨骼肌系统是“筋”结构与功能部分的主体, 因此, 从骨骼肌损伤的角度来构建“筋出槽”动物模型是合理且可行的。长时间伏案久坐是近年来腰背部“筋出槽”发病的主要原因, 该状态下腰背部骨骼肌处于持续的等长收缩状态, 据此, 作者设计了一种造模装置, 将大鼠固定其中后可使其上肢骨骼肌等长收缩持续一定时间产生损伤, 从而模拟“筋出槽”的病理状态及其临床特征<sup>[21]</sup>。此次研究中, 通过上肢悬挂的方式固定大鼠, 以其自身体质量作为静态负荷, 使大鼠上肢肌肉持续地等长收缩60-90 min, 建立损伤模型。开始造模时, 大鼠挣扎剧烈, 后逐渐适应悬挂姿态, 状态趋于稳定。造模结束后, 大鼠活动减少, 有匍匐行走或瘫坐现象, 触碰上肢时反应警觉, 易躲闪, 伴有烦躁。

肌肉的损伤主要表现为肌肉质量下降、功能减退和形态

学结构的改变,对于小动物而言,骨骼肌湿质量<sup>[22]</sup>、抓力<sup>[23]</sup>、耐力和组织学形态等可对肌肉状态进行判断<sup>[24-25]</sup>。此次研究结果显示,“筋出槽”模型组(静态负荷组和额外负重组)大鼠肱三头肌、肱二头肌和腓肠肌大体观改变,肌湿质量明显下降(图2、表3);通过对模型组大鼠四肢抓力的测试,发现2周和4周时模型组抓力明显降低,这表明超负荷等长收缩使得骨骼肌产生损伤,肌肉功能受损。在损伤因素持续作用于骨骼肌时,损伤刺激信号和促炎细胞因子等可激活处于静息态的肌卫星细胞,使其重回细胞周期,通过介导成肌分化来修复受损的肌纤维<sup>[26-27]</sup>。此次实验发现,4周时大鼠的四肢抓力较2周时抓力有所提高,说明4周时受损肌肉组织中再生修复程序已经启动,因此抓力部分恢复,这与之前的研究结果一致<sup>[28]</sup>。与此同时,慢性炎症介导的纤维化修复可能也参与了骨骼肌的损伤修复<sup>[29-30]</sup>。此外,血液CK和LDH的水平亦可反映肌肉损伤的情况。CK和LDH是细胞内与能量代谢有关的酶,主要存在于骨骼肌、心肌等组织中,当肌细胞膜发生损伤时,细胞膜破裂,胞质中的大量CK、LDH迅速进入血液,血液中的CK、LDH含量立即升高,因此血液CK、LDH被作为临床上判断肌肉损伤的标志物<sup>[31-33]</sup>。CKM和LDHA分别为CK的同工酶和LDH5的主要亚基,主要表达在骨骼肌中<sup>[34-37]</sup>,可特异性判断骨骼肌损伤。此次研究中,2周时模型组血清CKM和LDHA水平显著升高,这证明了大鼠骨骼肌的损伤情况;然而4周时血清LDHA水平较对照组仍显著升高但较2周明显下降,血清CKM与对照组有升高趋势但无明显差异。对于慢性损伤而言,先前的研究者有不同的观点<sup>[38-39]</sup>,因此血清CK和LDH水平的变化是否可以作为肌肉慢性损伤的特异性标志物仍有待进一步研究。

目前,临床中对于“筋出槽”的诊断主要通过体格检查来判断,即“手摸心会”<sup>[40-41]</sup>,但在大鼠肱三头肌、肱二头肌和腓肠肌中没有触摸到硬结或条索状物,作者猜测这可能是因为动物的肌肉体积较小,其中的硬结或条索状物不在手指触摸的感受范围之内。

骨骼肌功能的维持有赖于其形态学结构的正常。组织病理学染色是观察组织形态结构的重要方法<sup>[25]</sup>。此次研究结果显示,在模型组中,肱三头肌和肱二头肌的肌纤维形态结构表现出不同程度的萎缩,细胞核变圆、增多,间质内可观察到炎性细胞浸润与胶原纤维沉积,以及成纤维细胞和周围血管的增生,局部可见少量深染肌纤维,细胞核圆,浓染,肌梭增多(图3,4);4周时肱三头肌和肱二头肌的肌纤维形态结构损伤程度较2周时有所减轻;腓肠肌的染色结果显示肌纤维稍有萎缩(图5),但没有观察到先前研究所描述的病理改变<sup>[45]</sup>。随后采用电子显微镜对肱三头肌、肱二头肌超微结构进行观察,发现模型组肌原纤维结构紊乱,肌球蛋白与肌动蛋白交互嵌插、互相为槽的正常结构不复存在,具体表现为Z线扭曲、断裂;肌小结长短不一,可见Z线流;明暗带界限模糊,线粒体肿胀,可见空泡化。组织形态学结果表明了大鼠骨骼肌的损伤情况,这说明该模型的造模是成功的,

采用等长收缩建立“筋出槽”大鼠模型亦是可行的。

此次研究中设置了2个时间点对“筋出槽”大鼠模型进行探究与评估,然而组织损伤后组织内的代谢处于不断的变化之中,因此需要更多的时间节点来对“筋出槽”模型进行更为详细的研究。此外,该模型成模后,在不施加人为干预的情况下,多久后损伤可恢复到正常状态?一系列问题仍有待进一步探究。

此次研究从“筋出槽”的病因出发,以骨骼肌持续等长收缩为基础,通过不断重复和摸索,克服了造模过程中的诸多困难,最终成功建立“筋出槽”的大鼠疾病动物模型,并通过损伤形态学表型的鉴定验证了模型的成功,且在亚显微结构层面探索了“筋出槽”的超微结构形态。研究结果表明,2周时大鼠骨骼肌可良好反映出“筋出槽”临床特征和病理特点,因此作者建议以2周作为模型的造模时间。该模型的建立反映了“筋出槽”的基本理论学说,极大地模拟了临床中慢性筋骨病患者“筋出槽”的骨骼肌损伤表型,并且为后续针刺、手法等治疗“筋出槽”的效应机制探究提供了切实的基础保障,也完善和发展了中医骨伤科学“筋出槽,骨错缝”的理论学说。

**致谢:**感谢上海中医药大学实验动物中心和科技实验中心全体老师对本研究实验动物造模、电镜实验部分提供的技术支持与帮助,特此感谢。

**作者贡献:**实验设计由通讯作者和第一作者完成,实验实施由全体作者完成,第一作者撰写论文及处理数据,论文审核由通讯作者负责。

**利益冲突:**文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**开放获取声明:**这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

**版权转让:**文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

**出版规范:**该文章撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

## 4 参考文献 References

- [1] 国家中医药管理局 国家卫生健康委员会关于印发《中医病证分类与代码》和《中医临床诊疗术语》的通知\_国务院部门文件\_中国政府网 [EB/OL]. [2023-5-22]. [http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-11/24/content\\_5563703.htm](http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-11/24/content_5563703.htm).
- [2] 卢鼎厚,张志廉.斜刺对骨骼肌损伤的治疗作用[J].中国针灸,1989(6):1-4.
- [3] 卢鼎厚,张志廉,段昌平,等.阿是穴斜刺治疗肌肉损伤的研究[J].上海针灸杂志,2000(S1):65-67.
- [4] 叶衍庆.对祖国医学伤科手法的体会[J].天津医药杂志,1962(5):255-263.
- [5] BARTH J, MUFF S, KERN A, et al. Effect of Briefing on Acupuncture Treatment Outcome Expectations, Pain, and Adverse Side Effects Among Patients With Chronic Low Back Pain: A Randomized Clinical Trial. JAMA Netw Open. 2021;4(9):e2121418.

- [6] TORRES SF, DE MACEDO A, SAKAI RY, et al. Effect of Different Frequencies of Electroacupuncture on Chronic Low Back Pain in Older Adults: A Triple-blind, Placebo-controlled, Randomized Clinical Trial. *Pain Physician*. 2023;26(2):161-173.
- [7] LUCHESI G, DA SA, AMARAL O, et al. Effects of osteopathic manipulative treatment associated with pain education and clinical hypnosis in individuals with chronic low back pain: study protocol for a randomized sham-controlled clinical trial. *Trials*. 2022;23(1):1066.
- [8] BOFF TA, PASINATO F, BEN ÂJ, et al. Effectiveness of spinal manipulation and myofascial release compared with spinal manipulation alone on health-related outcomes in individuals with non-specific low back pain: randomized controlled trial. *Physiotherapy*. 2020;107:71-80.
- [9] 林星星, 刘继东, 董宝强, 等. 经筋刺法治疗非特异性腰痛的多中心随机对照研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2021,36(10):6230-6233.
- [10] 郑尉, 孙立冰, 郝传萍, 等. 脊柱手法治疗对慢性非特异性颈痛干预效果的 Meta 分析 [J]. *中国康复理论与实践*, 2022,28(2):150-164.
- [11] QASEEM A, WILT TJ, MCLEAN RM, et al. Noninvasive Treatments for Acute, Subacute, and Chronic Low Back Pain: A Clinical Practice Guideline From the American College of Physicians. *Ann Intern Med*. 2017;166(7):514-530.
- [12] CHEN HY, YEUNG WF, YANG MX, et al. Guideline Acupuncture for low back pain: a clinical practice guideline from the Hong Kong taskforce of standardized acupuncture practice. *J Tradit Chin Med*. 2022;42(1):140-147.
- [13] HAWK C, WHALEN W, FARABAUGH RJ, et al. Best Practices for Chiropractic Management of Patients with Chronic Musculoskeletal Pain: A Clinical Practice Guideline. *J Altern Complement Med*. 2020;26(10):884-901.
- [14] 詹红生, 杨凤云. *中医骨伤科学* [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2021.
- [15] 刘晔. 负重站立法建立骨骼肌静力性损伤动物模型的实验研究 [J]. *北京体育大学学报*, 2012,35(10):51-55.
- [16] 钟森杰, 李琳, 胡思远, 等. 中医病型证候模型建立的思考 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022,28(2):310-314.
- [17] 王常松, 吴同玉, 陈学习, 等. 寒湿困脾证动物模型的建立和评价 [J]. *上海中医药大学学报*, 2011,25(5):75-78.
- [18] 张丹, 李哲, 朱庆均, 等. “劳倦过度、房室不节” 肾虚小鼠模型的建立及评价 [J]. *实验动物科学*, 2008(4):9-11.
- [19] 沈雪, 薛艳, 陈龔, 等. “风寒湿致痹” 理论指导下体内外骨关节炎模型建立与评价研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021,27(11):1721-1724.
- [20] 詹红生. *海派中医石氏伤科* [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2016.
- [21] 元唯安, 詹红生, 杜国庆. 论“筋主骨从” 观念在慢性筋骨病损诊疗中的临床意义 [J]. *上海中医药杂志*, 2019,53(9):12-15.
- [22] MAÑAS-GARCÍA L, DENHARD C, MATEU J, et al. Beneficial Effects of Resveratrol in Mouse Gastrocnemius: A Hint to Muscle Phenotype and Proteolysis. *Cells*. 2021;10(9):2436.
- [23] KIM J, CHOI J, KIM J, et al. An Evaluation of Muscle Repair Techniques: Implications in Musculoskeletal Healing and Corollaries in Oral-Facial Clefting. *J Clin Med*. 2021;10(21):4803.
- [24] SONG H, TIAN X, LIU D, et al. CREG1 improves the capacity of the skeletal muscle response to exercise endurance via modulation of mitophagy. *Autophagy*. 2021;17(12):4102-4118.
- [25] 野中征哉著. *临床肌肉病理学* [M]. 第 3 版修订版. 北京: 人民军医出版社, 2007.
- [26] YIN H, PRICE F, RUDNICKI MA. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev*. 2013;93(1):23-67.
- [27] PANG KT, LOO L, CHIA S, et al. Insight into muscle stem cell regeneration and mechanobiology. *Stem Cell Res Ther*. 2023;14(1):129.
- [28] WOSCZYNA MN, RANDO TA. A Muscle Stem Cell Support Group: Coordinated Cellular Responses in Muscle Regeneration. *Dev Cell*. 2018;46(2):135-143.
- [29] PHILIPPOU A, MARIDAKI M, THEOS A, et al. Cytokines in muscle damage. *Adv Clin Chem*. 2012;58:49-87.
- [30] GEROSA L, MALVANDI AM, MALAVOLTA M, et al. Exploring cellular senescence in the musculoskeletal system: Any insights for biomarkers discovery? *Ageing Res Rev*. 2023;88:101943.
- [31] CHRISTENSON RH, AZZAZY HM. Biochemical markers of the acute coronary syndromes. *Clin Chem*. 1998;44(8 Pt 2):1855-1864.
- [32] MASUDA T, SATO K, YAMAMOTO S, et al. Sympathetic nervous activity and myocardial damage immediately after subarachnoid hemorrhage in a unique animal model. *Stroke*. 2002;33(6):1671-1676.
- [33] HOSSEIN-NIA M, KALLIS P, BROWN PA, et al. Creatine kinase MB isoforms: sensitive markers of ischemic myocardial damage. *Clin Chem*. 1994;40(7 Pt 1):1265-1271.
- [34] SCHNEIDER CM, DENNEHY CA, RODEARMEL SJ, et al. Effects of physical activity on creatine phosphokinase and the isoenzyme creatine kinase-MB. *Ann Emerg Med*. 1995;25(4):520-524.
- [35] ARENAS J, DIAZ V, LIRAS G, et al. Activities of creatine kinase and its isoenzymes in serum in various skeletal muscle disorders. *Clin Chem*. 1988;34(12):2460-2462.
- [36] GÓRCEKA A. [Behavior of lactic dehydrogenase (LDH) isoenzymes in skeletal muscle. LDH isoenzymes in fetal muscle]. *Neurol Neurochir Pol*. 1974;8(5):697-702.
- [37] BABA N, SHARMA HM. Histochemistry of lactic dehydrogenase in heart and pectoralis muscles of rat. *J Cell Biol*. 1971;51(3):621-635.
- [38] BRANACCIO P, LIPPI G, MAFFULLI N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(6):757-767.
- [39] KHAN FY. Rhabdomyolysis: a review of the literature. *Neth J Med*. 2009;67(9):272-283.
- [40] 陈元川, 庞坚, 詹红生. 石氏伤科运用通络法治疗慢性腰腿痛的经验 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2021,29(1):82-84.
- [41] 胡零三, 雷腾飞, 桑晓文, 等. 詹红生教授“四以相和” 论治腰椎间盘突出症 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017,25(11):73-74.

(责任编辑: YJ, GD, ZN, WL)