

# 低频电刺激股四头肌和髂外展肌群 治疗膝关节炎的实验研究

刘文洁, 李辉, 张玲玲, 陆永莉, 海博涵, 王文彪

(新乡医学院第一附属医院, 河南 卫辉 453100)

**摘要** **目的:**观察低频电刺激股四头肌和髂外展肌群治疗膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)的疗效,并探讨其可能的作用机制。**方法:**将 40 只 2 月龄 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组,每组 10 只。除正常对照组外,其余 3 组均分别于造模开始后第 1 天、第 4 天、第 7 天在大鼠右膝关节腔内注射 0.15 mL 的 4% 木瓜蛋白酶溶液和浓度为  $0.03 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 L-半胱氨酸溶液(2:1)的混合液。造模成功后,电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组分别于大鼠右股四头肌和股四头肌与髂外展肌群(尤其是臀中肌)进行低频电刺激,隔天干预 1 次,每次 20 min,共 28 d;模型组和正常对照组不做任何干预。干预结束后第 2 天,抽取各组大鼠 2 mL 下腔静脉血,采用酶联免疫吸附法检测大鼠血清中白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-13 的含量;采血后处死大鼠,切取各组大鼠膝关节股骨远端软骨组织,分别进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色、甲苯胺蓝染色和改良番红 O-固绿染色,并采用 Mankin 评分评估关节软骨损伤情况;采用免疫组织化学染色法检测大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 的表达量。**结果:**①大鼠膝关节软骨组织病理学观察结果。与正常对照组相比,模型组软骨细胞排列紊乱、数量减少,软骨基质减少、染色明显不均,软骨层变薄,潮线模糊不清。电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组软骨细胞排列整齐、数目增多,软骨基质染色均一,软骨层增厚,潮线清晰可见,其中联合电刺激股四头肌组表现更为明显。②大鼠膝关节软骨 Mankin 评分结果。正常对照组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分低于模型组、电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ),电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分低于模型组( $P=0.000, P=0.000$ ),联合电刺激股四头肌组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分低于电刺激股四头肌组( $P=0.000$ )。③大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 和 MMP-13 含量检测结果。正常对照组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量均低于模型组、电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组( $P=0.000, P=0.000, P=0.000; P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ),电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量均低于模型组( $P=0.000, P=0.000; P=0.000, P=0.000$ ),联合电刺激股四头肌组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量均低于电刺激股四头肌组( $P=0.000, P=0.000$ )。④大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 表达量检测结果。正常对照组大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 阳性细胞占比低于模型组、电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ),电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 阳性细胞占比均低于模型组( $P=0.000, P=0.000$ ),联合电刺激股四头肌组大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 阳性细胞占比低于电刺激股四头肌组( $P=0.000$ )。**结论:**低频电刺激股四头肌和髂外展肌群能促进大鼠膝关节软骨损伤的修复,其作用机制可能与其能降低 KOA 大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 的含量,抑制膝关节软骨中 MMP-13 的表达有关。

**关键词** 骨关节炎;膝;电刺激;股四头肌;髂外展肌群;臀中肌;大鼠;白细胞介素 IL-1 $\beta$ ;基质金属蛋白酶 13;动物实验

## Low-frequency electrical stimulation of quadriceps femoris and hip abductor muscle group against knee osteoarthritis: an experimental study

LIU Wenjie, LI Hui, ZHANG Lingling, LU Yongli, HAI Bohan, WANG Wenbiao

The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan, China

**ABSTRACT** **Objective:** To observe the outcomes of low-frequency electrical stimulation (LFES) of quadriceps femoris (QF) and hip abductor muscle group against knee osteoarthritis (KOA) in rats, and to explore its underlying mechanism. **Methods:** Forty 2-month-old Sprague-Dawley (SD) rats were randomized into normal control group, model group, QF LFES group and combined QF LFES group, 10 ones in

基金项目:河南省医学科技攻关项目(LHGJ20190464)

通讯作者:王文彪 E-mail:13639635206@163.com

each group. All rats but the ones in normal control group were intervened by knee intra-articular injection of a mixture of 4% papain solution and 0.03 mol/L L-cysteine solution in a ratio of 2:1 (0.15 mL) into the right knees on day 1, 4 and 7 after the beginning of the modeling for inducing KOA. After successful modeling, the rats in QF LFES group and combined QF LFES group received LFES on the right QF as well as QF and hip abductor muscle group (especially the gluteus medius), respectively, once every other day, 20 minutes at a time for consecutive 28 days; while the ones in model group and normal control group were not given any intervention. On day 2 after the end of intervention, the blood (2 mL) was drawn from the inferior vena cava (IVC) of rats in each group, and the serum levels of interleukin (IL)-1 $\beta$  and matrix metalloproteinase (MMP)-13 were detected by using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). After phlebotomizing, the rats were sacrificed, and their distal femoral cartilage tissues were harvested and stained with hematoxylin-eosin (HE), toluidine blue and modified safranin O-fast green (SO-FG) for observing the histopathological changes; meanwhile, the knee articular cartilage injury was evaluated by using Mankin score. Furthermore, the expression level of MMP-13 in the knee cartilage tissues were detected by using immunohistochemical staining. **Results:** ① Compared with that of normal control group, the histopathological changes, manifesting as decreased and disordered arranged chondrocytes, reduced cartilage matrix with obviously uneven staining, thinned cartilage layer, and the unclear tidal line, were observed in the knee cartilage tissues of rats in model group; while, the rats in QF LFES group and combined QF LFES group presented with increased and neatly arranged chondrocytes, uniformly stained cartilage matrix, thickened cartilage layer and clear tidal lines, with combined QF LFES group performed more pronounced. ② The Mankin score of the knee cartilage was higher in model group, QF LFES group and combined QF LFES group compared to normal control group ( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ), and was higher in model group and QF LFES group compared to combined QF LFES group ( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ), and was highest in model group ( $P=0.000$ ). ③ The serum levels of IL-1 $\beta$  and MMP-13 were higher in model group, QF LFES group and combined QF LFES group compared to normal control group ( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ;  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ), and was higher in model group and QF LFES group compared to combined QF LFES group ( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ;  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ), and was highest in model group ( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ). ④ The MMP-13-positive cells accounted for a higher proportion in the knee cartilage tissues of rats in model group, QF LFES group and combined QF LFES group compared to normal control group ( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ), and a higher proportion in model group and QF LFES group compared to combined QF LFES group ( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ), and a highest proportion in model group ( $P=0.000$ ). **Conclusion:** LFES of QF and hip abductor muscle group can promote the repair of knee cartilage injury in KOA rats. It may exert the effects by reducing the serum levels of IL-1 $\beta$  and MMP-13 and inhibiting the expression of MMP-13 in knee cartilage of KOA rats.

**Keywords** osteoarthritis; knee; electric stimulation; quadriceps femoris; hip abductor muscle group; gluteus medius muscle; rats; interleukin-1 $\beta$ ; matrix metalloproteinase 13; animal experimentation

膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 的发病率和致残率较高, 严重影响患者的日常活动和生活质量, 是临床上亟待解决的难题<sup>[1-2]</sup>。目前研究<sup>[3]</sup>已证实, 股四头肌肌力减弱与 KOA 的发生、发展关系密切。因此, 加强股四头肌的锻炼是治疗 KOA 的重要手段之一。锻炼股四头肌能够缓解 KOA 患者疼痛症状和改善膝关节功能<sup>[3]</sup>。Segal 等<sup>[4]</sup>研究发现, 锻炼髌关节周围肌群, 尤其是臀中肌, 能有效缓解 KOA 患者的疼痛症状和减缓 KOA 病情进展。对于 KOA 患者, 同时锻炼股四头肌和髌外展肌群较单纯锻炼股四头肌, 能获得更好的临床疗效<sup>[5-7]</sup>。

低频电刺激具有安全无创、操作简便、费用低廉等优点<sup>[8]</sup>, 在临床上应用广泛。低频电刺激股四头肌有助于增强股四头肌的肌力、延缓或预防肌肉萎缩的发生<sup>[9]</sup>。但是, 目前关于低频电刺激股四头肌和髌外展肌群治疗 KOA 的疗效及其机制的研究相对较少。

为了明确低频电刺激股四头肌和髌外展肌群治疗 KOA 的疗效和可能的作用机制, 本研究通过动物实验进行了观察, 现总结报告如下。

## 1 材料和仪器

### 1.1 实验动物

2 月龄健康雌性 SD 大鼠 40 只, 体质量 (190  $\pm$  10) g, 实验动物合格证号: SCXK (辽) 2020-0001。大鼠在新乡医学院第一附属医院生命科学研究中心饲养, 自由饮水、进食, 饲养环境温度 (23  $\pm$  2)  $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 50% ~ 65%, 人工光照 12 h  $\cdot$  d<sup>-1</sup>, 室内气流速度  $\leq$  0.2 m  $\cdot$  s<sup>-1</sup>。实验方案经新乡医学院动物实验伦理委员会审查通过, 伦理批件号: EC-022-136。

### 1.2 实验试剂及仪器

4% 木瓜蛋白酶、L-半胱氨酸、异氟烷、苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色试剂盒、甲苯胺蓝染色试剂盒、改良番红 O-固绿染色试剂盒、曲拉通 Triton

X-100、牛血清白蛋白(北京索莱宝科技有限公司),白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 检测试剂盒、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-13检测试剂盒、免疫显色试剂盒、单克隆兔抗体(Proteintech 中国公司),抗兔二抗 HRP(Bioworld 公司),乙二胺四乙酸二钠(北京索莱宝科技有限公司),多功能酶标仪(赛默飞世尔科技公司),显微镜(Nikon 公司)。

## 2 方 法

### 2.1 分组与造模方法

所有大鼠适应性喂养 1 周后,将 40 只大鼠称重,按体质量排序后每 4 只分为 1 个区组,共 10 个区组,然后依次分别将每个区组中的 4 只大鼠随机分到正常对照组、模型组、电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组,每组 10 只。

采用 4% 木瓜蛋白酶关节腔注射法<sup>[10]</sup>建立大鼠 KOA 模型:在无菌条件下用生理盐水配制 4% 木瓜蛋白酶溶液和浓度为 0.03 mol · L<sup>-1</sup> 的 L-半胱氨酸溶液,储存于 4 ℃ 冰箱备用。于实验前 4 h 取出置于室温环境,注射前 30 min 将上述木瓜蛋白酶溶液和 L-半胱氨酸溶液按 2:1 的比例混匀。将模型组、电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组大鼠吸入异氟烷气体麻醉,麻醉成功后于大鼠右膝关节备皮、消毒。将大鼠膝关节屈曲约 45°,从大鼠髌骨下缘前内侧向髌间窝方向进针,待有明显落空感、针尖抵达股骨内侧髌后,将针头回撤 2 mm,注射 0.15 mL 的混合溶液至大鼠右膝关节腔。注射后按压进针处 1 min,并屈伸膝关节 5 次使药液充盈关节腔。分别于造模开始后第 1 天、第 4 天、第 7 天各注射 1 次<sup>[11]</sup>,待注射完成后,再在标准条件下饲养大鼠 28 d,分别于各组随机抽取 2 只大鼠处死,鉴定造模是否成功。

### 2.2 模型鉴定方法

造模后,观察各组大鼠饮食、精神状态、毛色光泽度及活动情况。将各组随机抽取的 2 只大鼠处死后,沿膝关节正中纵行切开,剔除膝关节周围肌肉及韧带组织,充分暴露大鼠右膝关节,观察各组大鼠膝关节软骨表面是否光滑、有无骨质暴露等。

### 2.3 干预方法

造模成功后,电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组分别于大鼠右股四头肌和股四头肌与髌外展肌群(尤其是臀中肌)进行低频电刺激,强度 3 ~ 4 mA,频率 3 ~ 4 Hz,相应肌肉轻微颤动即可,隔天治

疗 1 次,每次 20 min,持续 28 d;模型组和正常对照组不做任何干预。

### 2.4 实验指标检测方法

**2.4.1 大鼠血清中 IL-1 $\beta$  和 MMP-13 含量检测** 干预结束后第 2 天,于大鼠腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠进行麻醉后,切开大鼠腹腔,抽取各组大鼠 2 mL 的下腔静脉血,室温静置 1 h,于 4 ℃ 下以 3500 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min(离心半径 5.5 cm),取上清液,做好标记后置于 -80 ℃ 冰箱备用。严格按照 IL-1 $\beta$  和 MMP-13 试剂盒说明书操作,采用酶联免疫吸附法检测血清 IL-1 $\beta$  和 MMP-13 的含量。

**2.4.2 大鼠膝关节软骨组织病理学观察** 在采血后采用腹腔注射过量麻醉药物的方法处死大鼠,剔除大鼠右膝关节周围软组织,切取各组大鼠膝关节股骨远端软骨组织,浸入 4% 中性甲醛中固定 24 h,改换乙二胺四乙酸二钠脱钙液浸泡,3 ~ 4 d 换 1 次脱钙液,直至针刺骨组织无阻力或无颗粒感表示脱钙完成,脱钙时长约 8 周。常规梯度乙醇脱水、石蜡包埋、切片备用。随机选取各组大鼠部分膝关节切片,分别进行 HE 染色、甲苯胺蓝染色和改良番红-O 固绿染色,在光学显微镜下观察并采集图像。采用 Mankin 评分<sup>[12]</sup>评估关节软骨损伤情况。

**2.4.3 大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 表达量检测** 随机选取各组大鼠部分膝关节软骨组织切片,进行免疫组织化学染色:经常规脱蜡、水化后,使用胰蛋白酶抗原修复;经 PBS 溶液浸洗,滴加适量 0.3% 过氧化物酶阻断剂避光 10 min;PBS 浸洗,滴加 0.2% 曲拉通通透;PBS 浸洗,滴加 10% 牛血清蛋白进行封闭后弃液,滴加单克隆兔抗 MMP13 抗体(1:200),置于 4 ℃ 冰箱中孵育过夜;次日取出后经 PBS 浸洗,滴加抗兔 HRP 标记的二抗,37 ℃ 孵育 30 min;PBS 浸洗,采用二氨基联苯胺显色及苏木素染核;酒精脱水、二甲苯透明、中性树脂封片。在显微镜下观察并采集图像。采用 Image J 软件对图像进行分析,测定 MMP-13 阳性细胞占比(阳性细胞数占细胞总数的百分比)。

### 2.5 数据统计方法

采用 GraphPad Prism6.0 统计软件对所得数据进行统计学分析。大鼠膝关节软骨 Mankin 评分、血清中 IL-1 $\beta$  和 MMP-13 的含量,以及膝关节软骨中 MMP-13 阳性细胞占比的组间比较均采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD - *t* 检验,检验水准  $\alpha =$

0.05。

### 3 结果

#### 3.1 模型鉴定结果

正常对照组大鼠体重稳定增加,饮食、活动量未见明显改变,步幅正常[图 1(1)];右膝关节软骨呈灰

白色,色泽光亮,软骨表面光滑平整,无关节面破损(图 2)。造模的 3 组大鼠饮食及活动量减少,毛色偏暗,体重减轻,右侧膝关节肿胀明显,后肢不愿着地,明显跛行,步幅变小[图 1(2)];软骨色泽暗淡,软骨表面粗糙、部分剥脱,软骨下骨质暴露(图 2)。

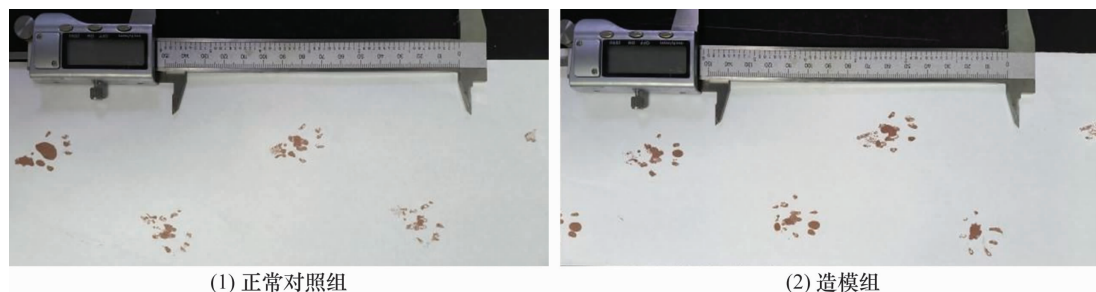


图 1 大鼠步幅测量图



左侧为造模组大鼠膝关节,右侧为正常对照组大鼠膝关节。

图 2 大鼠右膝关节大体外观图

#### 3.2 大鼠膝关节软骨组织病理学观察结果

HE 染色结果显示,正常对照组大鼠软骨细胞排列规则,层次清晰;模型组大鼠关节软骨细胞排列紊乱、数量减少,出现大量软骨陷窝、空泡较多,软骨层

变薄甚至破损;电刺激股四头肌组大鼠软骨细胞隐约成柱状排列、数量增多,偶有空泡;联合电刺激股四头肌组软骨细胞排列整齐、数目明显增多(图 3)。

甲苯胺蓝染色结果显示,正常对照组软骨基质染色较深且均匀,软骨各层清晰可辨;模型组软骨基质减少且染色明显不均,软骨层较薄,细胞成簇状排列;电刺激股四头肌组软骨基质染色较为均一,软骨厚度稍薄;联合电刺激股四头肌组软骨基质染色加深且均匀,软骨层增厚(图 4)。

改良番红 O-固绿染色结果显示,正常对照组潮线连续完整;模型组潮线模糊不清,无法辨识;电刺激股四头肌组潮线较清,大致连续完整;联合电刺激股四头肌组潮线清晰且连续完整,接近于正常对照组(图 5)。

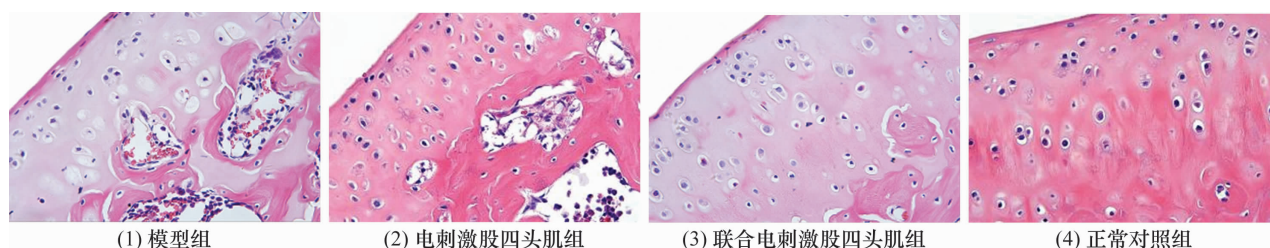


图 3 干预后各组大鼠膝关节软骨组织苏木精-伊红染色结果(×400)

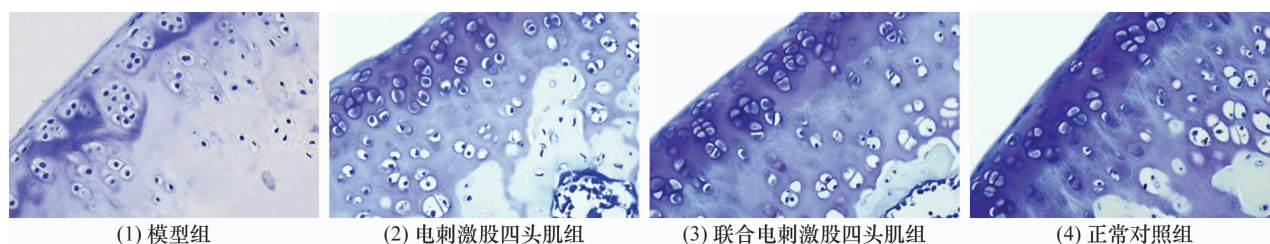


图 4 干预后各组大鼠膝关节软骨组织甲苯胺蓝染色结果(×400)



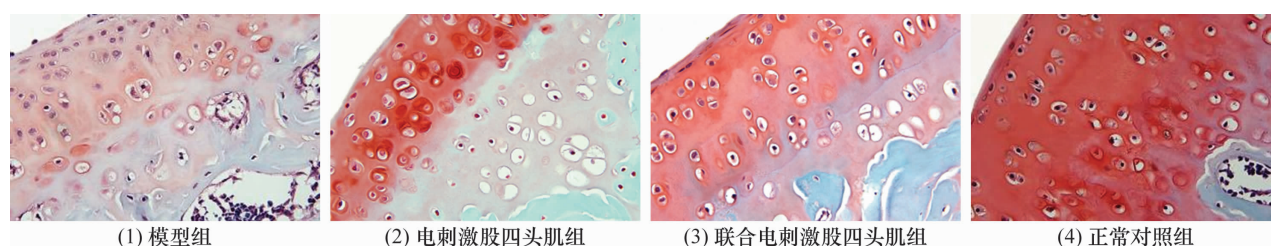


图 5 干预后各组大鼠膝关节软骨组织改良番红 O-固绿染色结果 (×400)

### 3.3 大鼠膝关节软骨 Mankin 评分结果

各组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分比较,差异有统计学意义;正常对照组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分低于模型组、电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组 ( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ),电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分均低于模型组 ( $P=0.000, P=0.000$ ),联合电刺激股四头肌组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分低于电刺激股四头肌组 ( $P=0.000$ )。见表 1。

表 1 干预后各组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分

组别	样本量/只	Mankin 评分/ ( $\bar{x} \pm s$ , 分)
正常对照组	8	1.000 ± 0.756
模型组	8	13.125 ± 0.835
电刺激股四头肌组	8	7.000 ± 0.756
联合电刺激股四头肌组	8	3.750 ± 0.707
<i>F</i> 值		358.200
<i>P</i> 值		0.000

### 3.4 大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 和 MMP-13 含量检测结果

各组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量比较,组间差异均有统计学意义;正常对照组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量均低于模型组、电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组 ( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ;  $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ),电刺激股四头肌组、联合电刺激股四头肌组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量均低于模型组 ( $P=0.000, P=0.000$ ;  $P=0.000, P=0.000$ ),联合电刺激股四头肌组血清中

IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量均低于电刺激股四头肌组 ( $P=0.000, P=0.000$ )。见表 2。

### 3.5 大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 表达量检测结果

干预后 MMP-13 免疫组织化学染色结果显示:模型组大鼠 MMP-13 阳性细胞呈棕黄色,且数量较多;与模型组相比,正常对照组、电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组大鼠 MMP-13 阳性细胞数明显减少(图 6)。各组大鼠 MMP-13 阳性细胞占比比较,差异有统计学意义;正常对照组大鼠 MMP-13 阳性细胞占比均低于模型组、电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组 ( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ),电刺激股四头肌组和联合电刺激股四头肌组大鼠 MMP-13 阳性细胞占比均低于模型组 ( $P=0.000, P=0.000$ ),联合电刺激股四头肌组大鼠 MMP-13 阳性细胞占比低于电刺激股四头肌组 ( $P=0.000$ )。见图 7、表 3。

## 4 讨论

随着全球人口老龄化和肥胖的加剧,KOA 的患病率不断增加<sup>[13]</sup>。KOA 的主要临床表现之一是膝关节疼痛。随着疾病的进展,持续的炎症刺激和局部组织的进行性损伤,如滑膜炎症和软骨退变,可能导致患者对疼痛的敏感性增加<sup>[14]</sup>。促炎细胞因子和炎症介质在骨关节炎的发病机制中发挥着重要作用。研究<sup>[15-16]</sup>认为,在 KOA 中 IL-1 $\beta$  和 MMP-13 共同表达会导致软骨退化。IL-1 $\beta$  是一种关键的调节因子,对先天性宿主免疫反应至关重要,并且还是参与骨关节

表 2 干预后各组大鼠血清中 IL-1 $\beta$  和 MMP-13 含量

组别	样本量/只	血清 IL-1 $\beta$ <sup>1)</sup> 含量/ ( $\bar{x} \pm s$ , pg · mL <sup>-1</sup> )	血清 MMP-13 <sup>2)</sup> 含量/ ( $\bar{x} \pm s$ , pg · mL <sup>-1</sup> )
正常对照组	8	10.603 ± 1.096	134.463 ± 6.843
模型组	8	40.598 ± 2.929	289.481 ± 6.591
电刺激股四头肌组	8	28.862 ± 3.557	219.999 ± 18.377
联合电刺激股四头肌组	8	15.717 ± 2.065	166.185 ± 15.611
<i>F</i> 值		218.700	192.000
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:1) 白细胞介素-1 $\beta$ ;2) 基质金属蛋白酶-13。

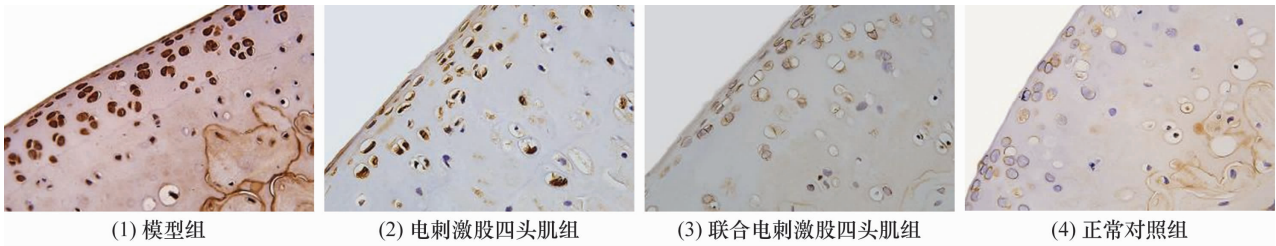
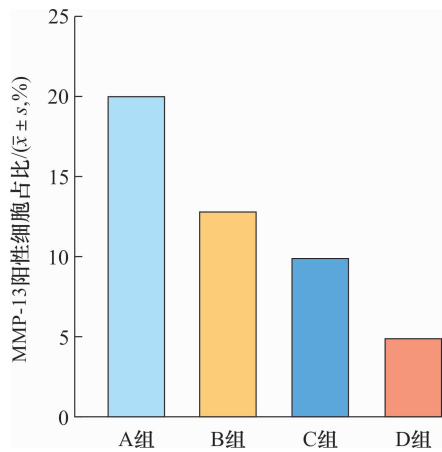


图 6 干预后各组大鼠膝关节软骨组织免疫组织化学染色结果 (×400)



MMP-13 为基质金属蛋白酶-13, A 组为模型组, B 组为电刺激股四头肌组, C 组为联合电刺激股四头肌组, D 组为正常对照组。

图 7 干预后各组大鼠膝关节软骨组织中 MMP-13 阳性细胞占比柱状图

表 3 干预后各组大鼠右膝关节软骨组织中 MMP-13 阳性细胞占比

组别	样本量/只	MMP-13 <sup>1)</sup> 阳性细胞占比/ ( $\bar{x} \pm s, \%$ )
正常对照组	8	4.979 ± 0.659
模型组	8	20.117 ± 1.032
电刺激股四头肌组	8	12.987 ± 1.015
联合电刺激股四头肌组	8	10.033 ± 0.866
F 值		390.600
P 值		0.000

注:1) 基质金属蛋白酶-13。

炎关节退变的最重要的细胞因子之一;MMP-13 主要负责关节软骨的降解和细胞外基质的重塑,KOA 的损伤程度与 MMP-13 的表达水平密切相关。IL-1 $\beta$  作为关键的促炎因子,能够诱导 MMP-13 的产生,进而引起 II 型胶原蛋白和聚集蛋白聚糖的表达下降,并促进软骨细胞介导的细胞外基质成分的降解<sup>[17]</sup>。当持续的炎症和软骨磨损远远大于软骨细胞的修复能力时,骨关节炎就会产生并逐渐加重<sup>[18]</sup>。

目前治疗 KOA 的方法主要包括药物治疗(如口服改善症状的药物和关节腔内注射药物)、非药物治

疗(如运动、手法、针灸等)和手术治疗<sup>[19]</sup>。药物治疗可能会引起较大的不良反应,因此不宜长期使用。手术治疗主要适用于晚期患者,但由于创伤大、费用高,限制了其广泛应用。非药物治疗,如运动和手法,因其操作简便、无创而受到患者的广泛欢迎。然而,在 KOA 早期进行主动运动训练,可能会诱发膝关节疼痛,这严重影响了患者的依从性。被动运动是指依赖外力帮助完成的运动,在其治疗过程中以治疗者为主导,需耗费人力<sup>[20]</sup>。低频电刺激作为一种非侵入性治疗手段,具备安全、无创、操作简便和费用低廉等优点。它通过电极对特定部位施加刺激,能够促进血液循环,引发肌肉收缩,促进肌肉功能的恢复,从而达到被动锻炼肌肉的效果。因此,低频电刺激在临床治疗 KOA 中的应用越来越广泛。有研究<sup>[21]</sup>显示,低频电刺激可以阻止肌肉萎缩,其作用机制可能是通过维持线粒体的数量和酶活性,从而抑制肌肉蛋白质的降解过程。研究<sup>[22]</sup>表明,在膝关节周围的相关肌肉上施加电刺激可以调整软骨基质降解与合成之间的稳态平衡,从而促进损伤软骨的修复。研究<sup>[23]</sup>表明,电刺激通过下调 IL-1 $\beta$  的表达和上调转化生长因子  $\beta$  的表达来促进软骨合成,进而导致聚集蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白的增加,以及软骨基质中的蛋白多糖含量的提升和软骨细胞增殖的增强。

股四头肌的功能状态与 KOA 的发生、发展密切相关,加强股四头肌的训练有助于减轻疼痛并延缓 KOA 的病程<sup>[24]</sup>。本研究的结果显示,经低频电刺激股四头肌干预后,大鼠膝关节软骨细胞明显增多、排列较整齐,软骨基质染色加深,软骨层增厚,潮线较清楚。其机制可能是低频电刺激股四头肌,能够改善局部血液循环,降低血清 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 含量,从而起到治疗 KOA 的作用。此外,髌-膝-踝关节是一条完整的生物力学运动链<sup>[25-26]</sup>。Iversen 等<sup>[27]</sup>研究发现, KOA 患者通常伴随着髌部肌肉力量的下降。安丙辰等<sup>[28]</sup>研究发现,同时锻炼股四头肌和臀中肌比单纯锻炼股四头肌能取得更满意的临床疗效。本研究的

结果显示,联合电刺激股四头肌组大鼠血清 IL-1 $\beta$  和 MMP-13 含量、MMP-13 阳性细胞占比和 Mankin 评分均低于电刺激股四头肌组。

本研究的结果显示,低频电刺激股四头肌和髌外展肌群能促进关节软骨损伤的修复,其作用机制可能与其能降低 KOA 大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 的含量,抑制膝关节软骨中 MMP-13 的表达有关。但是,本实验未对股四头肌和髌外展肌群的肌力及横截面积的变化进行研究,未来的研究应通过观察肌电图或监测相关肌肉横截面积的变化来进一步验证低频电刺激对肌肉功能的影响。

### 参考文献

- [1] HUNTER D J, BIERMA-ZEINSTRAS S. Osteoarthritis[J]. Lancet, 2019, 393(10182): 1745–1759.
- [2] CONAGHAN P G, COOK A D, HAMILTON J A, et al. Therapeutic options for targeting inflammatory osteoarthritis pain[J]. Nat Rev Rheumatol, 2019, 15(6): 355–363.
- [3] ALNAHDI A H, ZENI J A, SNYDER-MACKLER L. Muscle impairments in patients with knee osteoarthritis[J]. Sports Health, 2012, 4(4): 284–292.
- [4] SEGAL N A, TORNER J C, FELSON D, et al. Effect of thigh strength on incident radiographic and symptomatic knee osteoarthritis in a longitudinal cohort[J]. Arthritis Rheum, 2009, 61(9): 1210–1207.
- [5] KHAYAMBASHI K, FALLAH A, MOVAHEDI A, et al. Posterolateral hip muscle strengthening versus quadriceps strengthening for patellofemoral pain: a comparative control trial[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2014, 95(5): 900–907.
- [6] CROSSLEY K M, VICENZINO B, PANDY M G, et al. Targeted physiotherapy for patellofemoral joint osteoarthritis: a protocol for a randomised, single-blind controlled trial[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2008, 9: 122.
- [7] DOLAK K L, SILKMAN C, MEDINA M J, et al. Hip strengthening prior to functional exercises reduces pain sooner than quadriceps strengthening in females with patellofemoral pain syndrome: a randomized clinical trial[J]. J Orthop Sports Phys Ther, 2011, 41(8): 560–570.
- [8] PECKHAM P H, KNUTSON J S. Functional electrical stimulation for neuromuscular applications[J]. Annu Rev Biomed Eng, 2005, 7: 327–360.
- [9] 房昊煌, 刘鑫, 冯丽晓. 全膝关节置换术后用早期低频电刺激股四头肌[J]. 中国继续医学教育, 2019, 11(33): 154–157.
- [10] 何强, 尹宏, 代凤雷, 等. 早期膝骨性关节炎模型大鼠的建立与验证[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(27): 4338–4343.
- [11] 王明喜, 张丽霞, 王长平. 马钱子总生物碱修复膝关节炎大鼠软骨损伤的效果观察及作用机制研究[J]. 中医正骨, 2021, 33(5): 11–18.
- [12] MANKIN H J, DORFMAN H, LIPPIELLO L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data[J]. J Bone Joint Surg Am, 1971, 53(3): 523–537.
- [13] SHARMA L. Osteoarthritis of the Knee[J]. N Engl J Med, 2021, 384(1): 51–59.
- [14] 李岩, 赵伟光. 膝关节炎症疼痛机制及相关影响因素的研究进展[J]. 中医正骨, 2022, 34(9): 52–56.
- [15] 安帅, 白荣闯, 李格格, 等. 茯苓丸加减方对兔膝关节炎症模型 MMP-3、MMP-13 及 TIMP-1 表达水平的影响[J]. 上海中医药杂志, 2021, 55(7): 64–67.
- [16] 王述娜, 刘璐, 赵洛鹏, 等. 膝关节炎症因子及信号通路的研究进展[J]. 中国骨伤, 2020, 33(4): 388–392.
- [17] ZHOU Z, CUI J, WU S, et al. Silk fibroin-based biomaterials for cartilage/osteochondral repair[J]. Theranostics, 2022, 12(11): 5103–5124.
- [18] HILIGSMANN M, COOPER C, ARDEN N, et al. Health economics in the field of osteoarthritis: an expert's consensus paper from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO)[J]. Semin Arthritis Rheum, 2013, 43(3): 303–313.
- [19] 中华中医药学会. 膝关节炎中西医结合诊疗指南(2023 年版)[J]. 中医正骨, 2023, 35(6): 1–10.
- [20] 陆永莉, 李辉, 王文彪. 被动运动对 KOA 大鼠关节软骨 IL-1 $\beta$ 、MMP-13 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(19): 4786–4790.
- [21] UNO H, KAMIYA S, AKIMOTO R, et al. Low-frequency electrical stimulation of bilateral hind legs by belt electrodes is effective for preventing denervation-induced atrophies in multiple skeletal muscle groups in rats[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 21275.
- [22] SCHMIDT-ROHLFING B, SILNY J, WOODRUFF S, et al. Effects of pulsed and sinusoid electromagnetic fields on human chondrocytes cultivated in a collagen matrix[J]. Rheumatol Int, 2008, 28(10): 971–977.
- [23] WANG W, WANG Z, ZHANG G, et al. Up-regulation of chondrocyte matrix genes and products by electric fields[J]. Clin Orthop Relat Res, 2004(427 Suppl): S163–S173.

(下转第 31 页)

tematic review and meta-analysis[J]. Front Surg, 2022, 9: 911914.

- [20] MA X, LI W, GAO S, et al. Comparison of unilateral biportal endoscopic discectomy versus percutaneous endoscopic lumbar discectomy for the treatment of lumbar disc herniation: a systematic review and meta-analysis[J]. Medicine ( Balti-

more), 2022, 101(39): e30412.

- [21] ZHANG Y, FENG B, HU P, et al. One-hole split endoscopy technique versus unilateral biportal endoscopy technique for L<sub>5</sub> - S<sub>1</sub> lumbar disk herniation: analysis of clinical and radiologic outcomes[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 668.

(收稿日期: 2024-01-21 本文编辑: 吕宁)

(上接第 15 页)

- [11] SINGH S, PATHAK N, FATIMA E, et al. Plant isoquinoline alkaloids: advances in the chemistry and biology of berberine[J]. Eur J Med Chem, 2021, 226: 113839.
- [12] OCH A, PODGÓRSKI R, NOWAK R. Biological activity of berberine—a summary update[J]. Toxins ( Basel ), 2020, 12(11): 713.
- [13] VAN DER LINDEN S, VALKENBURG H A, CATS A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria[J]. Arthritis Rheum, 1984, 27(4): 361 - 368.
- [14] TSUKAZAKI H, KAITO T. The role of the IL-23/IL-17 pathway in the pathogenesis of spondyloarthritis[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17): 6401.
- [15] HAONAN L, ZEHANG S, JIACONG H, et al. Interleukin-23 mediates the reduction of GADD45a expression to attenuate oxidative stress-induced cellular senescence in human fibroblasts[J]. Mech Ageing Dev, 2023, 212: 111808.
- [16] DING M, CHENG Y, XU Z, et al. Hypoxia inhibits osteogenesis and promotes adipogenesis of fibroblast-like synoviocytes via upregulation of leptin in patients with rheumatoid arthritis[J]. J Immunol Res, 2022(1): 1431399.
- [17] WEI L, ZHANG X, YAO Y, et al. LncRNA HOTTIP impacts the proliferation and differentiation of fibroblast-like synoviocytes in ankylosing spondylitis through the microRNA-30b-3p/PGK1 axis[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 237.
- [18] NYGAARD G, FIRESTEIN G S. Restoring synovial homeostasis in rheumatoid arthritis by targeting fibroblast-like synoviocytes[J]. Nat Rev Rheumatol, 2020, 16(6): 316 - 333.
- [19] 叶倩仪, 牟兴, 吴歆, 等. 成纤维细胞在自身免疫性疾病

中作用的研究进展[J]. 现代免疫学, 2022, 42(5): 421 - 426.

- [20] YU Y, CAI W, ZHOU J, et al. Anti-arthritis effect of berberine associated with regulating energy metabolism of macrophages through AMPK/HIF-1 $\alpha$  pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 87: 106830.
- [21] DINESH P, RASOOL M. Berberine mitigates IL-21/IL-21R mediated autophagic influx in fibroblast-like synoviocytes and regulates Th17/Treg imbalance in rheumatoid arthritis[J]. Apoptosis, 2019, 24(7/8): 644 - 661.
- [22] BIEDRON G, CZEPIEL M, SIEDLAR M, et al. Serum concentration of dickkopf-related protein 1 ( DKK1 ) in psoriatic arthritis in the context of bone remodelling[J]. Rheumatol Int, 2023, 43(12): 2175 - 2183.
- [23] CHEN S, LI Z, CHEN D, et al. Piezo1-mediated mechanotransduction promotes enthesal pathological new bone formation in ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2023, 82(4): 533 - 545.
- [24] UCIECHOWSKI P, DEMPKE W. Interleukin-6: a master-player in the cytokine network[J]. Oncology, 2020, 98(3): 131 - 137.
- [25] WANG Q, LIU Y, WU J, et al. Potential significance of changes in serum levels of IL-17, TNF- $\alpha$  and DKK-1 in the progression of the rheumatoid arthritis[J]. Autoimmunity, 2023, 56(1): 2276068.
- [26] ZHANG L, OUYANG H, XIE Z, et al. Serum DKK-1 level in the development of ankylosing spondylitis and rheumatic arthritis: a meta-analysis[J]. Exp Mol Med, 2016, 48(4): e228.

(收稿日期: 2023-12-29 本文编辑: 李晓乐)

(上接第 22 页)

- [24] 美国物理治疗协会骨科分会.《国际功能、残疾和健康分类·髋膝关节疼痛》临床实践指南(一)[J]. 康复学报, 2021, 31(2): 89 - 111.
- [25] 刘伟, 于功昌, 王从安, 等. 基于生物力学的膝骨关节炎运动疗法与疗效评价的研究进展[J]. 中医正骨, 2023, 35(2): 46 - 50.
- [26] 王盛, 杨智为, 赵阳. 髌膝区域依赖理论指导下膝关节疾

病防治的研究进展[J]. 中医正骨, 2022, 34(3): 52 - 55.

- [27] IVERSEN M D, PRICE L L, VON HEIDEKEN J, et al. Physical examination findings and their relationship with performance-based function in adults with knee osteoarthritis[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2016, 17: 273.
- [28] 安丙辰, 戴尅戎. 影响膝骨关节炎发病及进展的生物力学因素[J]. 国际骨科学杂志, 2012, 33(3): 153 - 156.

(收稿日期: 2024-02-04 本文编辑: 时红磊)