

硕士学位论文



过度运动对肱二头肌长头肌腱组织形态学和生物力学
及其周围组织神经分布影响的实验研究

硕士研究生 张大伟

导 师 朱庆生 副教授

专 业 外科学（骨外）

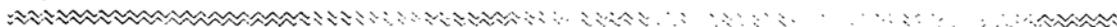
第四军医大学西京医院

全军骨科研究所

2001.6 西安

目 录

中文摘要	1
英文摘要	3
前 言	5
第一部分 文献回顾	
1.1 肩关节疾病的研究历史及现状	6
1.2 肱二头肌长头肌腱周围解剖结构及其炎症研究的历史及现状	7
1.3 过度运动对肌腱疾病的影响	10
1.4 肱二头肌长头肌腱神经末梢分布的研究	11
1.5 肌腱细胞外基质的研究	14
1.6 肌腱的生物力学特性的研究	16
1.7 P 物质和肩关节疼痛及炎症的关系的研究	19
第二部分 过度运动对肱二头肌长头肌腱及其腱鞘组织形态学影响	
2.1 材料和方法	24
2.2 结果	25
2.3 讨论	26
第三部分 过度运动对肱二头肌长头肌腱生物力学特性的影响	
3.1 材料和方法	28
3.2 结果	29
3.3 讨论	30
第四部分 过度运动对肱二头肌长头肌腱及腱周组织神经分布的影响	
4.1 材料和方法	32
4.2 结果	33
4.3 讨论	34
结 论	36
致 谢	37
参考文献	38
附 图	48
附 录	57



过度运动对肱二头肌长头肌腱组织形态学和生物力学及其周围组织神经分布影响的实验研究

中文摘要

目的：研究肩关节过度运动对肱二头肌长头肌腱组织形态学和生物力学及其周围组织神经分布的影响，探讨肩关节疾病的发病机理，为预防、诊断和治疗肩关节疾病提供理论依据。

方法：建立 SD 大鼠双侧肩关节过度运动模型，分别于过度运动后 4 周、8 周后处死动物，取材。以 HE 和 Alcian blue 染色，观测肱二头肌长头肌腱组织形态学及细胞外基质的变化；通过改良银染法和免疫组织化学的方法，研究肱二头肌长头肌腱周围组织神经末梢分布情况以及 P 物质免疫阳性神经纤维的变化；将完整肱二头肌长头肌腱连肩胛骨取下，在室温下以 4mm/min 的速度，在拉伸仪上做轴向拉伸实验，在 4 次加载-卸载预调后，拉伸肌腱至断裂，记录肌腱所能承受的最大载荷，计算肌腱所能耐受的最大应力，比较对照组和实验各组肌腱所能耐受的最大载荷和最大应力。对以上结果进行统计学分析。

结果：正常和异常肱二头肌长头肌腱在肉眼观察下未见有明显差异，肌腱色泽均匀，呈亮白色，和周围组织无粘连。正常肱二头肌长头肌腱纵切面可见规则平行排列的胶原纤维和呈梭形的腱细胞。过度运动后在肱二头肌长头肌腱对应小结节的部位胶原纤维丧失了正常的排列结构，腱细胞的形态呈软骨样改变，形成纤维软骨样结构。肌腱的横截面积在过度运动 8 周后明显变小；过度运动后肌腱所能耐受的最大载荷和最大应力均有显著的减低。通过改良银染以及免疫组织化学方法的检测，结果发现肱二头肌长头肌腱本身并没有神经分布，但在其周围组织上则有部分神经末梢的分布。在过度运动前后腱鞘上神经末梢数量无明显改变，但 P 物质免疫反应阳性神经末梢数量

明显增加。

结论：由于结节间沟的特殊形态结构，在肩关节过度运动时会对肱二头肌长头肌腱组织学及生物力学特性产生影响。在肌腱和肱骨接触最多的部位产生纤维软骨样结构，同时该部位细胞外基质也发生改变，氨基己糖多糖含量明显增加，同时肌腱对抗张应力的能力下降，使肌腱更容易受损伤。大鼠肱二头肌长头肌腱本身并无神经的分布，但其腱鞘却有神经末梢分布，并有少数神经纤维存在。腱鞘在过度运动后在组织形态学上无明显的改变，无炎症细胞出现，神经末梢的数量也无明显改变，但 P 物质免疫反应阳性神经末梢数量明显增加，而 P 物质正是传导和调控疼痛并介导局部炎症的神经肽。以上这些研究说明过度运动增高了肱二头肌长头肌腱及其周围组织发生撕裂和炎症的风险性，会导致肩关节疼痛，是肩关节疾病的重要诱发因素。

关键词： 肩关节；肱二头肌长头肌腱；过度运动；胶原纤维；神经末梢；生物力学；纤维软骨；免疫组织化学；S-100 蛋白；P 物质；氨基己糖多糖

Experimental study on the influence of overuse activity to the long head of biceps tendon and paratendon tissue in a rat model: a histological and biomechanical study and the nerve distribution investigation

Abstract

Objective: To study the influence of overuse activity on the shoulder joint disease by morphology, biomechanics and nerve distribution of the long head of biceps tendon and paratendon tissue in rat models, so as to investigate the etiology of the shoulder disease and provide a theory basis for prevention, diagnosis and therapy for the shoulder disease. **Methods:** Overuse animal model was established in Sprague-Dawley rats. 24 Sprague-Dawley rats was randomly divided into two groups, and experienced 4 weeks and 8 weeks overuse respectively with bilateral shoulder joints, and then killed them to achieve the long head of biceps tendons and paratendon tissues. The tendon samples were studied by HE and Alcian blue stain to investigate the changes of the histology and the extracellular matrix. The nerve distribution of tendons and paratendon tissues were investigated by modified silver and immunohistochemistry stain and the substance P-immunoreactive nerve endings were detected. The long head of biceps tendons were got with the scapulae integratedly and then were clamped to the tensile device at room temperature with the constant tensile rate of 4mm/min. After 4 load-download tests, the tendons were loaded until ruptured. The maximum loads were recorded, and the maximum stresses were calculated, and the maximum loads and the maximum stresses were compared between the experiment groups and the controls. **Result:** There had no obviously difference between the normal and the overused tendons to the naked eye. They appeared glistening white and had no adhesion with the surrounding tissues. Under microscopy, regular parallel bundles of collagen

fibres and spindle shaped tendon cells were found in the longitudinal section of the normal tendons. After overuse activity, the tendon lost their normal structure at the site where the tendon faced the lesser tubercle and showed some structural features of fibrous cartilage. The ovoid chondrocyte-like cells in the tendon were also found, and in this area glycosaminoglycans were increased obviously. After 8 weeks of overuse, the area of the tendons' cross section apparently declined ($p<0.01$) and the maximum load and the maximum stress decreased significantly ($p<0.01$) compared with the normals. Through modified silver and immunohistochemistry stain, we found no nerve distribution in the tendon themselves, but found that there had some nerve endings in the paratendon tissues. There had no obviously difference on the mounts of the nerve endings between the normal and the overused tendons, but the mounts of the substance P-immunoreactive nerve endings increased significantly. **Conclusion:** Because of the special structure of the intertubercular sulcus, there will have some effect on the histology and the biomechanics of the long head of biceps tendons when shoulder joints have overuse activities. In order to adapt to the pressure and shearing force, The parts facing the humerus show some changes of fibrocartilage with the increase of glycosaminoglycans. This changes decline the capability of against tensile force of the tendons, so the tendons became easier to be damaged. The mounts of the substance P-immunoreactive nerve endings increase significantly after overuse activity and that substance P is a neuropeptide which can not only transmit and control pain, but also mediate local inflammation. These researches show that overuse activity can increase the risk of trauma and inflammation of the long head of biceps tendons and the paratendon tissues and is an important factor to shoulder joints diseases. These maybe provide some theory basis for prevention, diagnosis and therapy for the shoulder joint diseases.

Key words: shoulder joint the long head of biceps tendon overuse collagen fibres nerve ending immunohistochemistry fibrocartilage biomechanics S-100 protein substance P(SP) glycosaminoglycans (GAG)

前 言

肩关节是疾病的好发部位，肩关节疾病引起的疼痛发生率仅次于头痛和腰腿痛居第三位。对肩关节疾病的研究具有悠久的历史，并发现肩峰下滑囊、肩袖和肱二头肌长头肌腱是疾病的好发部位。但由于缺乏合适的动物模型，人们对这些疾病的认识仍停留在组织尸检或活检以及手术治疗方面。对其病因学研究的缺乏，使我们不能有效的预防疾病的发生，也不能预测疾病的发展和转归。对肱二头肌长头肌腱及其周围组织疾病病因学的研究，将在临床上预防肩关节疾病的发生具有重要指导意义。

过度运动常被认为可以引起软组织疾病。有研究认为过度运动可以诱发肌腱炎和肌肉损伤。目前的研究主要集中在它对软组织组织学及生物力学的研究方面。关于它和肩关节疾病之间的关系，也有少量报道，但目前还没发现关于它和肱二头肌长头肌腱及其周围组织疾病关系的报道。

本研究通过对过度运动前后肱二头肌长头肌腱及其周围组织形态学、生物力学及神经分布的研究，来了解过度运动和肱二头肌长头肌腱炎、腱鞘炎的关系。这些研究将为预防治疗肩关节疾病起重要指导作用。

本研究包括：

1. 观察过度运动前后肱二头肌长头肌腱及其周围组织形态学的改变，以及肌腱内 GAG 含量的改变。
2. 观察过度运动前后肱二头肌长头肌腱生物力学特性的改变。
3. 观察过度运动前后肱二头肌长头肌腱及其周围组织神经分布的改变以及 P 物质免疫阳性纤维的改变。

第一部分 文献回顾

1.1 肩关节疾病的研究历史及现状

肩部是上肢与躯干的连接部位，也称肩胛带，是上肢功能活动的基础。与胸骨上端、肩胛骨、锁骨及肱骨上端分别连接并组成胸锁关节、肩锁关节、肩肱关节和肩胛胸壁等四个关节，由坚韧而富有弹性的韧带、关节囊和强有力的肌肉互相连接。肩部是人体中活动范围最大的部位，以肩关节为中心，上肢能在三个平面内运动，使手可以达到同侧球形空间的大部。

肩关节是疾病好发的部位，肩关节疾病引起的疼痛的发生率仅次于头痛、腰背痛而处于第三位。很久以前就有对肩关节疾病的研究。古希腊著名医学家希波克拉底（公元前 460—377 年）所著的《Corpus Hippocrates》一书中就有所描述，他整复肩关节前脱位的方法流传至今。但多年来，对肩关节疾病的研究并没有太大的进展，而且主要集中在对肩关节脱位的探讨上。直到 19、20 世纪，肩部的解剖学、生理学、生物力学、诊断治疗学才有了长足的进展。1867 年 Jarjavay 报告了肩峰下滑囊的外伤性炎症引起肩关节疼痛和运动障碍。1872 年 Duplay 通过对外伤性肩关节脱位病例关节周围组织的病理观察，发现肩峰下滑囊的炎症、变性、粘连等变化，从而认为盂肱关节外组织的病理变化是肩关节疼痛的活动受限的病因，并首次提出“肩关节周围炎”（Periarthritis Scapulohumerale）的诊断，并形成了以滑囊炎为基础的“肩关节周围炎”学说。20 世纪初随着 X 线技术的引入，观察到了肩周软组织的钙化及钙盐沉积现象，并报导了钙化斑块的手术摘除临床结果，认为钙盐沉积是肩关节周围组织变性的的重要因素。1910 年 Bera 提出了肱二头肌长头肌腱病变的见解，之后 Bera、Meyer 等人通过对肱二头肌长头肌腱及其周围组织的解剖学研究及病理观察发现肱二头肌长头肌腱及其腱鞘的磨损和炎症是长头肌腱断裂和腱鞘炎的主要原因^[1,2,3,4]。Lippmann（1943 年）、Hitchcoch^[5]等人的研究也证实了这种观点。1933 年 Fowler 在 340 例尸体肩关节探察中发现其中 19%有肩

袖断裂，因此认为肩袖断裂是肩疼痛的原因。1934年美国著名科学家 E.A.Codman 写成了经典名著《the Shoulder》。他认为不明原因的肩痛伴有肩关节功能障碍者，其病理表现包括：①肩峰下滑囊的炎症、变性、粘连；②肩袖肌腱炎，可伴有钙盐沉积；③肱二头肌长头肌腱及其腱鞘的炎症。对这些疼痛性僵硬性肩关节疾病命名为“冻结肩”^[6]。自20世纪60年代以来，骨科学得到了飞速的发展，解剖学、病理形态学、生物化学、免疫学、生物力学等学科的发展为研究肩关节疾病奠定了基础，使我们对肩关节疾病有了更进一步的认识。随着特殊角度 X 线、CT、MRI、肩关节造影及关节镜技术的发展，使我们在肩关节疾病的诊断治疗方面有了很大进展，但由于缺乏合适的动物模型，对肩关节疾病发病机理的研究进展比较缓慢，对肩关节疾病的病因的研究主要还停留在对肩峰下滑囊、冈上肌腱、肱二头肌长头腱及腱鞘、肩肱关节囊等疾病方面^[7]。到目前为止，对肩关节周围炎的研究从不同的角度观察，发现了不同的病理变化，提出了众多的病因学说。“肩关节周围炎”是一种表现为肩痛及运动功能障碍的症候群，总的来说，按不同的发病部位及病理变化，可以分为四大类^[8]：

（一）肩关节周围滑囊病变

包括滑囊的渗出性炎症、粘连、闭塞及钙质沉积等病理变化。

（二）盂肱关节腔病变

多种病因引起的关节腔内的纤维素样渗出，晚期出现关节腔粘连、容量缩小。

（三）肌腱、腱鞘的退行性病变

肱二头肌长头肌腱及其腱鞘的炎症、肩袖断裂、岗上肌腱炎、钙化性肌腱炎、撞击综合症（Impingement Syndrome）

（四）其它肩关节周围疾病

喙突炎、肩锁关节疾病等。

1.2 肱二头肌长头肌腱周围解剖结构及其炎症研究的历史及现状

1.2.1 肱二头肌长头肌腱周围解剖结构的研究

肱二头肌是强有力的前臂旋后肌，几乎参与肩部所有的活动。解剖上肱

二头肌长头肌腱起自肩胛骨孟上结节及关节孟唇的后部^[9]，经结节间沟出关节囊，在结节间沟内被腱鞘滑囊包裹，后者和肩关节囊相连，是肩关节滑膜向外突出形成的。从它的起点至肌腱肌肉移行处总长约 9 cm，在关节孟起点处宽约 8.5-7.8mm，往下逐渐变窄，到了肌腱肌肉移行处宽约 4.5-2.6mm^[10]。肌腱全长分为三个部分：关节内部分，由孟上结节至结节间沟上界；鞘管部分，即为滑膜包围部分；关节外部分，由结节间沟下界到肌腱肌肉移行处。结节间沟内侧壁为小结节，外侧壁为大结节，上有肱骨横韧带连接，可防止肱二头肌长头肌腱向外脱位。当肱骨外旋时，肱二头肌长头肌腱呈近 90 度横跨在肱骨头上部，是肱骨头的良好悬挂韧带。当肩关节从下垂位作外展与上举活动时，肱二头肌不起重要作用，只有在上臂外展使肱二头肌处于直线位时，才会产生外展和上举的肌力。当前臂旋后及屈肘时，其紧张度增加，借助于肌腱帽及喙肩韧带，此肌腱可防止肱骨头向外向上移位。肩肱关节内旋时，肱二头肌长头肌腱和结节间沟的内侧壁紧贴；当肩肱关节外旋时，肱二头肌长头肌腱位于肱骨头顶及中心，并位于结节间沟的底部，此位置有利于肌腱发挥作用，可向下压肱骨头，并使上臂外展。在结节间沟处有 60%的内侧壁存在结节上嵴，向上延伸至肱骨头的关节面，其大小和形状均有不同，有时伴有骨刺形成，少数结节上嵴基底很宽延续到外壁，使结节间沟变浅，这种解剖变异容易使肱二头肌长头肌腱遭受磨损^[8]。

1.2.2 肱二头肌长头肌腱及其腱鞘炎症研究的历史及现状

肱二头肌长头肌腱及其腱鞘的病变在肩关节周围炎中占有很重要的地位。在本世纪 20 年代 Meyer 首先对肱二头肌长头肌腱及其结节间沟的解剖和病理情况进行了描述^[1,2,3,4]。Schrager 于 1938 年首先报导了肱二头肌长头肌腱鞘炎^[11]，Hitchcock 和 Bechtol 的研究确认了肱二头肌长头肌腱炎是引起肩关节疼痛的主要原因之一，并提倡用肌腱固定术治疗该病^[5]。后来 Depalma 和 Callery 研究认为肱二头肌长头肌腱炎是引起肩关节疼痛和冻结肩的最主要原因^[12]，并推广了由 Gilcreest 首先提出的肌腱固定术^[13]。1972 年 Neer 的研究认为撞击综合症是肩关节疼痛的原发病，肱二头肌长头肌腱炎继发于撞击综合

症^[14]，Burkhead 在他的书中更是强调了肱二头肌长头肌腱炎常常继发于撞击综合症，是引起肩关节疼痛的主要原因之一^[15]。所有这些结论的得出都对肱二头肌长头肌腱及其周围结构进行了研究，认为肱骨上端的特殊解剖结构是肌腱好发炎症改变的基础并根据临床经验认为结节间沟是其好发部位。多年来，人们对肱骨头和结节间沟的解剖结构做了大量的研究，发现它和肱二头肌长头肌腱疾病之间关系密切。早一些的研究主要集中在肩关节脱位、半脱位和结节间沟之间的关系上。1948年 Hitchcock 和 Bechtol 引入了肱二头肌沟内侧壁角的概念^[5]，认为脱位、半脱位和内侧壁角变小有关^[5,16]。Cone 等人对结节间沟内侧壁角作了认真的测量后，得出内侧壁角的正常范围为 40° — 70° ，并认为内侧壁角小于 20° 时，脱位、半脱位的发生率会明显增加^[17]。后来又有研究表明肱二头肌肌腱沟发育不良易造成内侧脱位，此时结节间沟内侧壁角变小，沟的宽度增大，深度变小^[18]。这些研究说明肱二头肌肌腱沟的解剖形态和肌腱的脱位、半脱位之间存在一定的关系。近年来人们逐渐开始研究解剖结构和肱二头肌长头肌腱腱鞘炎之间的关系。结节间沟内侧壁和底部经常可以发现骨刺，以前被认为和腱鞘炎的慢性炎症有关^[5,16,19,20]，但 Cone 认为只有底部的骨刺和慢性腱鞘炎相关，内侧骨刺是由于肱骨横韧带在肱二头肌长头肌腱的压力下对附着骨壁牵拉造成的^[17]。Ueberham 等人对 100 例干骨做了深入的研究，测量了结节间沟的长度、角度和不同部位的宽度、深度，对肱骨头的变异和骨质的异常变化（钙化、变性、骨赘）。作了统计分析后，认为结节间沟是个“危险区”，结节间沟的宽度、深度，对肌腱稳定有重要影响。骨质的变性是肱二头肌长头肌腱损伤加重或旋转袖在附着点处损伤加重的表现^[21]。结节上嵴可以使肱二头肌长头肌腱向前移位并导致脱位^[20]，肱二头肌长头肌腱频繁移位可诱发腱鞘炎，并最终导致肌腱断裂^[22]。肌腱的疾病可能导致骨刺的形成，骨刺的形成最终导致结节间沟形态发生变化，从而进一步损伤肌腱^[21]。

1.2.3 肱二头肌长头肌腱纤维软骨区和肌腱疾病的关系

近来的研究发现肌腱包裹滑车处有纤维软骨样结构^[23,24]。Kolts-I 在 1994

年利用光镜、电子显微镜、免疫组化、动脉注射等方法发现肱二头肌长头肌腱靠近肱骨侧具有纤维软骨的超微结构特点，并发现有卵圆形纤维软骨样细胞存在于基质中^[25]。这些区域没有血管存在，是肌腱撕裂的好发部位。远离肱骨侧的肌腱则无此超微结构特点，结节间沟内覆盖着纤维软骨细胞^[26]。同时有研究结果表明肱二头肌肌腱完全撕裂后，肌腱从结节间沟内脱出，结节间沟内覆盖的纤维软骨结构退化、消失^[27]。更进一步的研究认为，当肌腱和韧带受到压力时会产生纤维软骨，这种现象主要在两个部位发生：肌腱包裹骨性、纤维性滑车处和肌腱附着点处。在滑车处肌腱和骨头接触时，肌腱变宽，来减少单位面积的受力。纤维软骨明显的肌腱受力较大，这种肌腱通常始终包裹在滑车上。肌腱中的纤维软骨在用手术改变其正常滑行路径后可以消失。这些研究结果表明纤维软骨细胞是为了适应肌腱和骨之间的相互摩擦、挤压而产生的，当受力环境改变后纤维软骨结构也将随之发生改变。在这些部位的胶原纤维呈交织状，可以防止肌腱在压力的作用散开，在受力较大的肌腱受力面中可能还会出现Ⅱ型胶原纤维^[28]。在肩关节运动的时候，肱二头肌长头肌腱固定，肱骨头在肌腱上滑动，滑动距离约3.8cm^[2]。在滑动过程中，肌腱和肱骨之间会产生磨擦，腱鞘分泌的滑液和肱二头肌肌腱沟表面的纤维软骨可以减少肌腱和肱骨间的摩擦力。但是当肩关节出现超常范围的转肩活动（如吊环中的转肩）时、肱二头肌肌腱受到突然牵拉或肱二头肌肌腱有慢性劳损时，经常会诱发肱二头肌长头肌腱疾病，主要包括肌腱脱位或半脱位、腱鞘炎和肌腱撕裂。40岁以上的中年人，长期磨损致变性者，更易发生肱二头肌长头肌腱疾病。正常肌腱肉眼看起来发亮，显微镜下显示平行的胶原纤维束紧密排列成分层结构，对偏振光有特异的反射率；而异常的肌腱肉眼看起来发灰，显微镜下胶原纤维不连续、排列紊乱，对偏振光没有特异的反射率^[29]。以前的研究认为Ⅲ型胶原纤维和肌腱损伤后的修复、重建密切相关。慢性旋转袖肌腱炎变性的肌腱中，Ⅲ型胶原纤维的含量和正常组相比有增加，而在一些尸体中也发现Ⅲ型胶原纤维的含量有明显增加。这些研究表明肌腱可能经常会发生一些微小的损伤使肌腱始终处于一种修复状态。但当机体自

我修复能力弱时，如局部缺血、缺氧或蛋白合成能力弱时，这些微损伤可能得不到及时修复，从而导致肌腱炎的发生。

1.3 过度运动对肌腱疾病的影响

过度运动经常会诱发肌腱炎、腱鞘炎及肌腱部分撕裂，因此它被认为是引起肌腱、韧带损伤的重要因素之一。过度运动最常累及的部位包括跟腱、髌韧带、侧副韧带和岗上肌腱^[30]。尽管过度运动经常引起肌腱的损伤，但由于缺乏合适的动物模型，到目前为止人们对过度运动和肌腱疾病之间的认识还不够全面。现在人们对过度运动对肌腱疾病的影响的研究主要集中在以下两个方面。

1.3.1 过度运动对肌腱及其周围组织形态的影响

过度运动常引起肌腱组织形态发生改变，从而诱发肌腱炎。由于动物模型建立的方法不同，所发现的结果也不尽相同。有研究证明过度运动后肌腱周围组织中毛细血管的数量增多，并有炎症细胞和纤维母细胞的浸润^[31,32]。有人用大鼠做为研究对象发现，过度运动可导致肌肉拉伤或跟腱断裂^[33,34]。最近有研究发现，过度运动后肌腱内腱细胞数量增多，细胞形态由长梭型变为卵圆型。胶原纤维的排列由平行于长轴的规则排列变为杂乱无序的排列^[30]。虽然这些研究发现的结果不相同，但有一点可以肯定，过度运动会使肌腱组织形态产生不利的影响，从而使肌腱容易受到损伤。

1.3.2 过度运动对肌腱生物力学特性的影响

过度运动对肌腱生物力学特性的影响也有不同的结果。有些研究认为过度运动可提高肌腱的生物力学特性^[35]，也有些研究认为过度运动会降低肌腱的生物力学特性^[36]。这是由于动物实验时采用的不同的参数导致的。另外过度运动对肌腱组织学的不同影响也可导致其对肌腱生物力学特性不同的影响。

1.4 肱二头肌长头肌腱神经末梢分布的研究

1.4.1 神经末梢的定义和分类

1.4.1.1 神经末梢的定义

神经末梢一般是指周围神经纤维轴突的终末，它分布于全身各种组织和器官中。神经末梢包括接受体表和内脏感觉传入的感觉神经末梢以及支配肌肉或腺体等效应器官的运动神经末梢。在生物进化过程中，机体适应外界不同刺激，分化形成多种多样的感觉神经末梢。感觉神经末梢将接受的刺激转化为电信号或神经冲动，通过传入纤维传至中枢。低等的单细胞生物（如水螅）对各种刺激可直接发生反应或引起整个身体的反应。但高等动物和人则具有专门的感受某种特定刺激的各种神经末梢，它们的形态结构也各有特点，感受器结构的复杂程度有很大差别，这在一定程度上反映了生物进化的痕迹。

1.4.1.2 感觉神经末梢的分类

按照感觉神经末梢的分布位置及功能，大致可分为 3 类：①外感受器：包括分布在皮肤的各种感受器，感受各种机械性刺激如触、压及温度刺激等；也包括眼、耳、鼻等特殊感觉器官。②本体感受器：分布于肌肉、关节与肌腱内，感受肌肉和肌腱的张力变化和关节的运动位置。③内脏感受器：分布于血管和内脏感受来自内脏的刺激。另外还可根据感受器所接受刺激的性质，将其分为机械感受器，化学感受器和光感受器。

各种感受器的形态结构不同，种类甚多，可归结为游离的神经末梢和有被囊的神经末梢两种。

1. 游离神经末梢：构成游离神经末梢的多是 A δ 类及 C 类神经纤维。真皮内的神经纤维于不同深度反复分支，并失去髓鞘，形成裸露的轴突末梢，分布在表皮细胞之间，几乎抵达角质层。每个末梢分布于表皮 1 至数毫米范围，彼此重叠交错，使皮肤具有很高的敏感性。筋膜、韧带、骨膜、脑膜、肌腱、关节囊等处也有游离神经末梢，一般认为它们大都是伤害感受器，各种不同性质的刺激达到一定强度，就成为伤害性刺激，都能引起痛觉。目前研究认为，这种与伤害刺激有关的游离神经末梢即痛觉感受器。痛觉感受器在很多情况下是一种化学感受器，当组织受到损伤时，感受器周围微环境的化学性质发生改变，例如损伤组织释放出组胺、5-羟色胺、缓激肽、前列腺素和钾离子等各种致痛物质，作用于游离神经末梢，达到伤害性刺激的程度，

从而引起传入冲动，进入中枢神经系统，引起痛觉。也有一些伤害感受器接受高阈值的机械刺激。游离神经末梢还分布于心脏、血管和内脏，包括消化道、呼吸道、和泌尿生殖道中，具有不同的生理功能。

2. 有被囊神经末梢：包以结缔组织成分组成被囊，种类很多，大小不一。它们大都有快适应的特点。目前研究比较多的有环层小体、触觉小体、Ruffini小体和肌梭等。环层小体感受压觉和震动觉，触觉小体感受触觉，Ruffini小体是一种机械感受器，而肌梭的功能则主要和肌肉活动相关。但未发现这些感受器和疼痛有太大关系。

1.4.1.3 游离神经末梢的检测

在常规 HE 染色中我们可以观测到神经元及神经纤维的全貌，但却很难观察到游离神经末梢，对游离神经末梢的观察还要借助特殊的检测方法。目前我们常用银染以及免疫组化的方法检测游离神经末梢。

1.4.1.3.1 镀银染色检测游离神经末梢

游离神经末梢是对于多种类侵害性刺激反应的侵害性刺激感受器，与痛觉有关的是 A δ 有髓鞘神经纤维和 C 无髓鞘神经纤维。镀银染色法的基本原理是把固定后的组织或切片浸于银溶液中，再用还原剂处理，使银颗粒沉积于轴突的轴浆中，使之呈现深棕色或黑色。这种方法比较经典，经过多年的改良，操作简单，灵敏度高，所需试剂少，是神经末梢染色的可靠方法，目前仍在广泛应用神经染色^[37]。铃木镀银染色应用于临床已有五十余年，其染色清晰，稳定可靠；Klüver-Barrera 染色可以染色神经轴索，区别有髓鞘神经纤维和无髓神经纤维；铃木镀银染色和 Klüver-Barrera 染色的双重染色可以将有髓鞘神经纤维的髓鞘和轴索染色于一张切片，有利于观察。

由于游离神经末梢形态多样，变化较大，因此在作其定量性研究时有两点值得注意，一是切片制作，必须制作连续切片，只有在连续切片上，才能够连续地追踪观察游离神经末梢的走向，形态及直径的变化；当神经纤维的直径逐渐减小，其末梢与周围组织无特殊连续而终止时，才能可判定其为游

离神经末梢；如果单凭一张切片可能造成重复计数或漏计的结果，只有在连续切片上，才能够准确报告其数量分布。另外游离神经末梢形态变化较大，其定量性研究往往有很多困难，可采用了宏微结合的方法既首先在整张切片上仔细观察，选中游离神经末梢数量最多处在连续切片上的单位体积内认真计数，得出准确结果。

1.4.1.3.2 免疫组化方法检测游离神经末梢

随着 Boon 等^[38]用 S-100 蛋白免疫组化法研究神经纤维的报道问世以来，免疫组织化学方法研究神经纤维被公认为是最先进的方法。许多抗体被用于诊断神经系统疾病，特别是中枢或周围神经系统肿瘤。S-100 蛋白首先是由 Moore 于 1965 年在牛脑中分离出来，因为它在饱和硫酸铵溶液中 100%溶解而被命名 S-100 蛋白^[39]。它是一种高度酸性钙结合蛋白，富含苯丙氨酸，分子量 21KD，沉淀系数 2.0，Ph 值 4.1，经肾脏代谢，生物半衰期 2.2h。S-100 有二种亚型（ α 、 β ），且至少由三种成分混合而成（ $\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 、 $\alpha\beta$ ），其中 S-100 $\alpha\alpha$ 主要存在于神经胶质细胞中，S-100 $\beta\beta$ 主要存在于神经胶质细胞和雪旺氏细胞中，S-100 $\alpha\beta$ 主要存在于如软骨细胞、骨骼肌、横纹肌和肾脏组织中^[40]。多克隆 S-100 蛋白抗体被认为在神经组织中有独特的染色效果，其免疫反应主要集中在神经元，尤其是雪旺氏细胞和轴索中。虽然 S-100 蛋白也与其它组织（软骨细胞、脂肪组织和骨骼肌等）发生免疫反应，但这些组织均可以通过形态学与周围神经纤维区分开来，镜下观察，神经纤维染色与背景染色有明显的特异性。神经特异性稀醇酶是一种酸性物质，这种物质可作为中枢和周围神经的标志物。但随着神经组织学研究逐渐展开，多克隆 S-100 蛋白免疫组化法已被多项实验证实为研究神经最行之有效的方法^[41]，它比改良式金氯化物法更敏感、更有特异性和可重复性。

1.4.2 肱二头肌长头肌腱神经末梢分布的研究

肩关节的感觉神经末梢的分布情况在肩关节疼痛的研究中占有重要地位，多年来，人们对肩关节的神经分布作了大量的研究^[42,43,44,45]。但对肱二头肌长头肌腱神经末梢分布情况的研究却不多。Hashimoto T 的研究表明在肱二

头肌长头肌腱中央有较粗的神经纤维分布,说明肱二头肌长头肌腱可能通过传入反馈机制起到对肩关节的稳定作用^[41]。没有见到有关游离神经末梢在肱二头肌长头肌腱及其腱鞘中分布情况的文献报道。

1.5 肌腱细胞外基质的研究

1.5.1 细胞外基质的定义、分类及其功能

细胞外基质是一种没有形态结构的物质,是细胞间质的重要组成部分。它本身主要成自一些生物大分子,其中也包含水、无机盐、葡萄糖、维生素和激素等一些水溶性的小分子。这些小分子虽然也很重要,但多带有流动性,相对不稳定。大分子主要是蛋白多糖,是蛋白和多糖分子结合成的复合物。其中的蛋白部分是一些糖蛋白,构成蛋白多糖的核心骨架,其侧面以共价键的方式结合许多多糖侧链,共同构成一个亚单位。在一条蛋白核心骨架上可结合不止一种的 GAG 侧链。目前已知的糖蛋白主要有纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、制动素、着位素等,这些糖蛋白的生物作用非常复杂,是目前正在开发的生物学新领域。

其中的多糖部分以前常称为粘多糖,现在则称为氨基己糖多糖(GAG)。在活体,GAG 的大量阴离子能和无机盐的阳离子以及极性的水分子结合,当和水分子结合时形成结合水,保持水作为溶剂的性质,并由此对局部的水盐代谢与运输起一定的调节作用,进而影响组织液的渗透性和渗透压等。在调节水盐代谢与运输的过程中,GAG 同时亦发挥离子交换剂的作用。GAG 的网格式结构又能增加基质的粘稠度,产生润滑作用以减轻摩擦。透明质酸由于其分子特大,而且是基质 GAG 的主要成分,故其作用更大。此外,在细胞外,GAG 可能对胶原纤维形成的动力学产生影响,诸如改变胶原蛋白聚合成原纤维时的横纹周期,或影响胶原蛋白分子的聚合过程和原纤维的粗细。在形态发生上,它还可以影响细胞的增殖、分化、迁移及衰老死亡^[46,47]。总的来说,GAG 是机体内环境稳定因素之一,为细胞和纤维建立一个稳定的内环境^[48]。

1.5.2 氨基己糖多糖的检测

GAG 有好几个类别,但基本上都是以双糖为基本单位聚合起来的多聚长链化合物,而且这些多糖基本上都含有硫酸酯,都是酸性多糖,透明质酸是糖胺聚糖中唯一不含硫酸酯的成分。对于糖胺聚糖的检测,有组织化学和免疫组织化学两种方法。

1.5.2.1 组织化学方法

由于糖胺聚糖含有许多硫酸根而带阴电荷,所以它们易为碱性染料着色,带阳电荷的特殊染色剂如铜翠蓝,对其尤显特别强的亲和力,因而较为常用。具体而言,铜翠蓝是一种含有铜离子的酚花青苷,其与组织中的多价阴离子的作用可为染液中的无机盐浓度所控制。而严格的无机盐浓度有赖于染液中铜翠蓝浓度、pH 值和电解质的类型。Scott 等提供了标准化的染液条件,将 50mg 的铜翠蓝溶于 pH5.8 的 100ml 的醋酸缓冲液中,其 $MgCl_2$ 浓度分别为 0.06M,0.3M,0.5M,0.7M,0.9M。不同的 $MgCl_2$ 浓度可区分硫酸化和非硫酸化的糖胺聚糖成分,低浓度时,羧酸化和硫酸化的成分皆可着色,0.3M 以上只有硫酸化的成分着色^[49]。

1.5.2.2 免疫组织化学方法

组织化学的染色方法使糖胺聚糖作为一个完整的单位而着色,对于其具体各个成分的检测,则需要免疫组织化学的方法,也就是利用标记物标记的抗体与组织中的抗原的结合反应而显示组织内的抗原。其标记物除传统的荧光素和酶外,近年来又应用的有亲和素-生物素、铁蛋白和胶体金,后两者主要用于免疫电镜技术;而针对糖胺聚糖的各成分的核心蛋白的单克隆抗体的制备,也为糖胺聚糖各成分的检测奠定了基础。如 Lee 等^[50]以抗蛋白多糖核心蛋白的单克隆抗体 5D5 检测与透明质酸结合的大分子蛋白多糖;Yang 等^[51]利用阳离子胶体金 (PH1.0) 检测酸性糖胺聚糖。此外,还有针对各成分的 McAb,如 2B6,3B3,1B5, and 5D4,分别抗 4-硫酸软骨素和硫酸角质素,6-硫酸软骨素和非硫酸软骨素,非硫酸软骨素及硫酸角质素^[52]。

1.6 肌腱的生物力学特性的研究

1.6.1 肌腱的粘弹性

同其它的生物软组织一样，肌腱为粘弹性体，具有明显的应力-应变曲线滞后(hysteresis)，应力松弛(load relaxation)和蠕变(creep)三个特点。

1.6.1.1 应力-应变曲线滞后

在同样载荷下，卸载曲线的伸长比，要比加载过程中的大，只有在卸掉较多载荷的情况下，才能恢复到原有载荷下的变形。加载和卸载曲线间的面积（滞后环）为加卸载过程中能量的消耗。在第二、三次加载循环间组织的刚度的增高，也就是说，达到同样产生相同变形所需的负荷增加；而且，第二、三次加载循环间的增加幅度较第一、二次间的为高，特称此现象为应力增强状态（Strain-hardened state）^[53,54]。

1.6.1.2 应力松弛

指将材料突然固定于一定的变形下，其内部的应力随时间的延长而逐渐减小，而后逐渐稳定于一定的残留应力水平，后迅速降低^[55]。而且，在经过足够的恢复时间后，其粘弹性行为可恢复。以上的应力增强，也即维持相同应变所需负荷的增加，表明肌腱在等长条件下的收缩或粘性的增加。至于其机制尚待阐明。

1.6.1.3 蠕变

指将材料突然加载于一定的载荷下，材料的变形随时间的延长而逐渐增加，变形随时间而变的曲线为蠕变曲线。Cohen 等^[56]研究了蠕变行为，同样表明未给予充分恢复时间的连续蠕变实验将有不同的变形。

1.6.2 肌腱特有的力学特性

肌腱作为一种特殊的粘弹性体，具有特殊的力学特性。它的刚性很强，很小的应变就会引起很高的应力。在拉伸实验中，肌腱于开始稍有伸长，但随着载荷增加，其强度迅速增大直至到达屈服点，其后就发生非弹性变形。正常情况下，肌腱的变形范围为 6%~8%，破坏时的最大应变也只有 10%~15%，可见，胶原纤维韧性大，抗张力强^[57]。各型胶原蛋白与胶原纤维力学特性的关系尚无报道。

1.6.3 力学性质的测量

为了确定肌腱的应力-应变关系,横截面面积测量要准确,合适的试验条件和夹紧技术都很重要。在单轴拉伸实验中,拉伸载荷用张力传感器测定,一般用视频维度分析仪系统确定应变,其在应变计长度标记内可准确测出组织应变^[58]。

1.6.3.1 单轴拉伸实验

在肌腱的单轴拉伸实验中,拉伸方向应为肌腱在生理条件下负荷的方向,也就是其纤维排列的方向^[59]。通过单轴拉伸实验而得到载荷-位移曲线,目前有不少关于筋膜、肌肉的研究^[60,61],同时也有部分关于肌腱的研究^[30,62,63,64]。

1.6.3.2 预调

软组织每次加载循环下的载荷-变形曲线都不相同,随着循环次数的增加,加载与卸载曲线之间的差别越来越小,两次循环间的差距也越来越小,因此应对稳定后的载荷-变形规律进行研究,就需要多次重复加载,使两次循环间曲线接近重叠为止,此过程为预调^[58]。每个软组织试件都要进行预调,才能达到一个稳定状态,取得重复性好的数据^[65]。分析其力学性质的常用方法为使标本在恒定拉伸速度下观察拉张形变,延伸组织,直至破裂,绘成负荷-变形曲线和/或应力-应变曲线,以描述组织行为的特征。

1.6.4 影响力学性质的因素

概括说来,影响肌腱力学性质的因素有组织内部和外部环境两方面。

1.6.4.1 肌腱的组织学结构

组织的力学性质取决于组织的形态学结构,即组织中细胞外基质中的胶原纤维的组织形式、构成比和方向一致性以及糖胺聚糖的含量及各成分的构成比决定着组织的力学行为^[59],其中的胶原纤维其决定作用。胶原纤维的力学特性以其正常结构为物质基础。形成胶原纤维的任一环节发生改变都可引起胶原合成减少或结构变异,从而引起胶原纤维的力学特性发生异常。形成胶原蛋白的三股螺旋要保证 α 链具有重复的Cly-X-Y序列和足够的脯氨酸和羟脯氨酸,共价交联稳定三股螺旋结构并加强胶原蛋白的聚合。而形成共价交联

要有赖氨酸、羟赖氨酸以及赖氨酰氧化酶的催化。因此,除营养不良,基因突变外,辅助因子和酶的缺乏都会导致胶原蛋白合成不足或结构异常。V、VI、VII 型埃—当综合征(Ehlers Danlos Syndrom)就是因为赖氨酰氧化酶,赖氨酰羟化酶和 N 末端肽内切酶不足而导致交联、聚合障碍而出现皮肤脆弱,关节松弛,骨骼变形等生物力学改变。反之,随着年龄的增长,胶原蛋白的分子内和分子间交联增加,使胶原纤维变得硬而脆,改变了肌腱、韧带、软骨的机械性能。非酶糖化(nonenzymaticgly cosylation)促使胶原纤维合成增多,交联增强,降解减少而出现糖尿病并发血管硬化^[66]。

1.6.4.2 肌腱力学性质实验时的外部环境因素

也就是实验因素,其标本的应变检测手段对结果的影响已在前面阐述。需要注意的是,实验中肌腱所处的环境的影响。肌腱在干燥状态(在空气中干燥 45min)和完全湿润的状态(将肌腱在盐溶液中浸泡后取出进行实验)下,两者的弹性模量有很大差异^[67],干燥状态的筋膜的弹性模量较湿润状态的显著增高。筋膜在有与无溶液的环境下其性质不同。而且在不同的溶液的环境中,其力学性质亦有很大差异,如肌腱在 DMEM 溶液和 Ringer 溶液中的应力松弛实验,其曲线明显不同,表明离子状态影响其力学性质。在 4 °C 的条件下进行肌腱的实验,其应力松弛曲线呈明显的上升,而非通常室温下的应力松弛曲线随时间而下降,充分说明了温度的影响^[59]。而在较高温度下,如在 60°C 或更高的条件下,等长固定的组织及其胶原纤维会出现热萎缩^[68]。

此外,实验中所取组织标本的宽度对其力学性质亦有影响,标本宽度的增加会引起拉伸强度的等比例的增加^[69]。

1.7 P 物质和肩关节疼痛及炎症关系的研究

1.7.1 P 物质的来源及分布

P 物质是 1931 年 Von Euler 和 Gaddum 在马脑和肠的提取液中发现的一种神经肽,提粗时为白色粉末状物质因此被称为 Substance power,后被命名为 Substance P,简称 SP。它与 NKA、NKB 共同组成哺乳动物速激肽家族,广泛分布于周边及中枢神经系统中,是一种具有双重分布的脑肠肽(brain-gut

peptide)。在脊髓，SP 免疫反应阳性神经元细胞体位于背角、外侧脊核和部分侧角；阳性纤维以背角浅层最为密集，向深层逐渐减少，在腹侧呈散在分布。电镜观察发现 SP 免疫反应物主要分布于终板内，可能分布在 60~80 nm 圆形突触囊泡周边部分。在周围神经系统，在脊神经节内也有含 SP 的神经元，以小细胞为主，约占 20%。此外，SP 阳性纤维广泛分布于角膜、皮下组织、真皮的小血管、毛囊和汗腺周围及表皮内。

1.7.2 P 物质分子生物学研究进展

1.7.2.1 P 物质分子结构特点

1971 年 Leeman 首先对 P 物质进行了测序，提出了 11 肽的肽链序列，即 Arg-Pro-Lyr-Pro-Glu-Phe-Phe-Gly-Lue-Met-NH₂^[70]。Tregear 等首先用化学方法成功的合成了该肽^[71]。后来的研究发现 P 物质 C 端的 6 个氨基酸是其生物活性部分。Duplla 等用相应的 D 型氨基酸分别取代 P 物质的各个氨基酸残基后进行生物活性及受体结合分析，发现第 6、7、8、9、11 位的氨基酸残基被 D 型氨基酸取代后，受体结合能力几乎完全丧失，因此认为这几个氨基酸可能形成特殊的构象，与受体结合而发挥其生理作用。P 物质酶解去除 C 端四个肽后失去了痛觉传导作用，但生成的 N 端七肽显示出了一种新的构象，在神经系统中具有镇痛作用，与先前的作用相反^[72]。有人认为它可能通过一种特殊的 P 物质 N 端受体起作用。1990 年 Igwe 等在鼠脑中发现了一种专一的 P 物质 N 端七肽结合位点，同时在脊髓中也发现了两种亲和力不同的结合位点^[73]。

1.7.2.2 P 物质合成、释放及灭活

哺乳动物细胞内编码含 P 物质的前速激肽原 (PPT) 的基因转录出一种 hnRNA，包含 7 个外显子和 6 个内含子，其中第三个外显子编码 P 物质肽段。PPT 由核糖体边合成边进入粗面内质网，然后被切除信号肽。进入高尔基体后经胰蛋白酶样蛋白酶切割出只含 P 物质的肽段。

在细胞内合成的 P 物质肽段，通过轴浆流作用，到达神经末梢。在轴浆运输过程中经羧肽酶、氨肽酶、氧化酰氨化酶的作用最后生成 P 物质。P 物

质释放前贮存于突触小体内的囊泡中，神经冲动传来时，引起离子通道开放，外钙内流，促使囊泡与前膜融合而释放 P 物质。小的初级感觉神经元内含有 P 物质，高钾可引起培养的初级感觉神经元的 Ca^{2+} 依赖性的 P 物质释放。近来用抗体微电极技术可精确定位痛觉刺激和辣椒素引起的 P 物质在脊髓前角的释放^[74,75]。在初级传入神经元中 P 物质的释放可被阿片肽和去甲肾上腺素所抑制。

P 物质释放后，一方面与后膜的 P 物质受体结合而作用于突触后神经元，另一方面被神经元或胶质细胞膜上内肽酶 EP-24、11 酶切失活^[76]。P 物质在 Phe7 和 Phe8 之间被酶切时不仅丧失了痛觉传导功能，而且产生了镇痛的 P 物质 N 端七肽^[72]。因此在神经药理学研究中出现了这样一种剂量效应：在痛觉相关部位给较高剂量的 P 物质时能致痛，而给低剂量 P 物质时反而能镇痛^[77,78]。这可能是因为 EP-24、11 将低剂量的 P 物质迅速酶解，并产生了少量 P 物质 N 端七肽的缘故。P 物质与神经元膜上的 NK-1 受体结合，通过第二信使系统引起膜电位的变化，从而达到改变神经元活动的目的。

1.7.3 P 物质生理功能研究进展

P 物质广泛分布于神经系统中，具有多种生理功能，目前的研究主要集中在其痛觉传导调控作用及其免疫调控方面。

1.7.3.1 P 物质在中枢的痛觉调控作用。

P 物质是伤害性信息初级传入的神经递质。受到伤害性刺激产生延迟兴奋性突触后慢电位的背角神经元与富含 P 物质的神经纤维构成突触，而非伤害感受神经元却几乎没有这种突触联系^[79]。在脊髓水平，P 物质不仅传递伤害性信息，也有镇痛作用。吗啡腹腔注射或给鼠爪底部皮下注射 5% 甲醛溶液，均可引起脊髓内 P 物质样免疫活性物质增加，但前者提高痛域，后者却加强痛反应，提示脊髓内 P 物质既是一种痛兴奋递质，又能发挥镇痛作用^[80]。同样在脑中，P 物质对痛觉也起双重调控作用，这种作用有剂量依赖性。小剂量的 P 物质有镇痛作用，大剂量的 P 物质传递疼痛，并致痛觉过敏。这种双重作用的机理已经在前面的叙述中做了解释。

1.7.3.2 P 物质和免疫系统之间的相互影响

P 物质能促进单核-巨噬细胞的吞噬和趋化、游走性^[81]，又可刺激此类细胞的氧化爆发反应及释放多种免疫活性因子，如 IL-1、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 等，从而参与免疫反应及炎症反应的发生和发展^[82,83]。离体培养条件下，B 淋巴细胞经 P 物质刺激后，IgA 的合成会有显著的增加，说明 P 物质能影响局部淋巴组织对抗原刺激的抗体分泌反应^[84]。生理浓度的 P 物质可显著加强由 C5a 等所致的中性粒细胞趋化、游走及吞噬杀菌作用，达到药理剂量后，可激活中性粒细胞，导致氧耗量上升、H₂O₂ 生成增加及嗜天青颗粒分泌。这些提示 P 物质可能是以协同的方式影响中性粒细胞的功能^[85]。P 物质刺激肥大细胞释放组胺的效应已经先后在大鼠、小鼠及人的肥大细胞上得到证实^[86,87]。P 物质还可以促进大鼠肥大细胞释放 5-HT^[86]，释放过程十分迅速，30 秒内可释放出最大分泌量的 90%，并依赖于糖酵解和氧化磷酸化过程。另外还有研究认为 P 物质有促进 T 细胞增生的作用^[88]。

反过来，免疫系统对 SP-LI 神经纤维及 P 物质合成和释放也有一定影响。IL-1 β 对颈上神经节中 PPTmRNA 的转录和 P 物质的合成的调节就是一个例子^[89]。免疫细胞产生的组胺和 PGE₂ 还能易化初级传入纤维释放 P 物质，导致痛觉过敏。

另外，P 物质还参与唾液分泌、胃肠活动、心血管活动、呼吸及神经营养等活动的调节，具体的调节机制还有待进一步的研究。

1.7.3.3 P 物质在局部组织内的表达

P 物质广泛分布于神经系统和周围组织中，用免疫组织化学的方法可以检测到 P 物质的表达。生理浓度的 P 物质不会引起炎症反应及疼痛，但高浓度的 P 物质和疼痛密切相关。一方面它可作为感受伤害性刺激的递质，在痛觉的传导和调控方面发挥重要作用；另一方面它又和免疫系统之间相互作用，调节局部免疫反应或炎症反应，起到神经源性致炎因子的作用。从初级传入神经末梢释放的 P 物质可通过触发肥大细胞释放组织胺、前列腺素、缓激肽及 5-HT 等炎症介质，引起组织的神经炎症反应，这是疼痛的重要发病机制之

一。有研究发现在头痛和偏头痛的病人的脑脊膜上 P 物质含量明显升高^[90,91]，临床实验证明，通过用辣椒素耗竭鼻粘膜的 P 物质或高压氧疗减少外周 P 物质的水平，能减轻密集型头痛和偏头痛的发作^[92,93]。目前有大量的研究证明 P 物质免疫阳性神经纤维数量的增加和关节炎及软组织损伤后引起的疼痛密切相关^[94,95,96,97,98,99,100]。在 Masafumi 等人的研究中发现，肩袖不同程度的撕裂可以引起 P 物质不同浓度的释放，说明 P 物质在局部组织中的浓度和疼痛的程度相关^[45]。另外在某些胃肠道疾病中，如消化性溃疡病人的胃粘膜上也有 P 物质的聚集^[101]。它可加重炎症反应并引起疼痛。

1.7.5 P 物质受体拮抗剂的临床应用前景

应用 P 物质受体拮抗剂阻断 P 物质的效应可产生多种治疗作用。目前 P 物质的受体拮抗剂主要有 sendide, spantide, CP-96345, CP99994 等。临床的多种疾病都伴随着 P 物质含量和合成的改变，P 物质在他们的发病中期重要作用。因此 P 物质受体拮抗剂通过阻断其效应可产生镇痛、止泻、解痉、抗炎和抗伤害等多种作用。在临床上有一定应用前景，但由于拮抗剂还存在神经毒性、释放和拮抗其他递质等副作用，因此其应用目前还受到一定的限制，有待进一步的研究。

第二部分 过度运动对肱二头肌长头肌腱及其腱鞘组织形态学影响

本部分以组织化学的方法研究过度运动对肱二头肌长头肌腱及其腱鞘组织形态及细胞外基质的影响。

2.1 材料和方法

2.1.1 动物模型的建立

健康成年雄性大鼠共 24 只，用随机分组的方法分为两组，建立双侧肩关节过度运动模型。首先，利用处死的大鼠制作合适的石膏模具，将大鼠用绷带将其身体固定于石膏模具内，露出其四肢。用绷带将其双侧前腿固定于被动活动仪上，使其肩关节按 30 次/min 的频率做屈伸被动活动。活动范围约 150°，每次活动 1.5 小时，每天活动两次，每天共活动 5400 次。被动活动仪由作者和西京医院器材科共同制作。为了使大鼠肩关节在被动活动时保持一定的力量，可使用电刺激仪以 10 次/min 的频率刺激大鼠的尾巴，使大鼠始终处于一种烦躁状态，不断挣扎，从而使肩关节保持一定的张力。活动间歇期和对照组大鼠一起普通笼养。

2.1.2 标本制备

两组实验组大鼠分别于过度运动 4、8 周后用麻药过量处死，处死时体重分别为 $545.9166 \pm 17.6195\text{g}$ 和 $540.9166 \pm 17.8501\text{g}$ ，解剖其双侧肩关节，暴露肱二头肌长头肌腱。取其中任意一侧从关节盂起点处至肌腱肌肉结合处的肌腱，用 4% 中性福尔马林溶液固定 48 小时，在冰冻切片机下切成厚度为 7 μm 的切片，用来做组织学检测；将另一侧上方连肩胛骨取下，下方取至肱二头肌的肌腹，剔除附丽在肩胛骨上的其它软组织，放入 -22℃ 冰箱冻存，备生物力学检测用；以结节间沟为中心，向上下各 2.5mm 取包裹在肌腱周围的软组织，用 4% 中性福尔马林溶液固定，用来做组织学检测。用同样的方法处死对照组大鼠（体重 $548.4166 \pm 22.3137\text{g}$ ），获得对照组肌腱及其周围组织。

2.1.3 组织化学染色

2.1.3.1 试剂

- 苏木精液
- 伊红液
- Alcian blue 8GX (铜翠蓝)
- 中性红

2.1.3.2 实验方法

2.1.3.2.1 HE 染色 普通组织形态观察

a.染液配制 常规 HE 染色液由实验室配制。

b.染色步骤: 切片水洗^{1分钟}苏木精浸染^{10分钟}水洗^{1分钟}1%盐酸酒精分化^{动作要迅速,分化时间要短}水洗^{1分钟}10%氨水^{1分钟}水洗^{1分钟}95%酒精^{1分钟}伊红液浸染^{30秒}水洗^{1分钟}按80%—85%—90%—95%—无水酒精 I、II 的顺序脱水^{各1分钟}二甲苯 I、II、III透明^{各2分钟}用中性树脂胶封片。

2.1.3.2.2 Alcian blue (铜翠蓝) 染色 观察肌腱组织细胞外基质中 GAG 含量的变化。

a.染液配制

染液 1: Alcian blue 8GX 10g+蒸馏水 100ml

染液 2: 中性红 10g+蒸馏水 100ml

染液 3: 染液 1 (5ml)+染液 2 (5ml)

b.染色步骤: 切片水洗^{5分钟}染液 1 染色^{48小时}水洗^{2分钟}染液 3 染色^{4小时}水洗^{2分钟}无水酒精 I、II 脱水^{各1分钟}二甲苯 I、II、III透明^{各2分钟}用中性树脂胶封片。

2.2 结果

2.2.1 HE 染色结果

正常肱二头肌长头肌腱在光镜下胶原纤维呈平行排列,染色均匀,腱细胞的胞核长而着色深,顺胶原纤维的的长轴成行排列,均匀分布于胶原纤维中间。过度运动 4 周后,发现肌腱结节间沟内段靠近肱骨一侧部分胶原纤维

排列紊乱，细胞变为圆形，数量明显增加；过度运动 8 周后，肌腱结节间沟内段靠近肱骨一侧部分胶原纤维正常排列结构完全消失，染色不均一，偶有胶原纤维断裂。细胞数量总数减少，分布紊乱，靠近肌腱边缘处分布密集，细胞数量明显增加，其余部位细胞数量明显减少。细胞大小不均匀，出现很多软骨样细胞，形成纤维软骨样结构。肌腱周围组织形态学无改变。

2.2.2 Alcian blue (铜翠蓝) 染色

正常肌腱染色后，细胞核呈红色，胶原纤维基本不着色，胶原纤维束之间存在有少量着色的 GAG。过度运动 8 周后的肌腱染色后可见 GAG 的含量明显增加，广泛分布于胶原纤维束之间，尤其在纤维软骨样结构中，软骨样细胞胞浆内及细胞周围蓝色着色较深。

2.3 讨论

肌腱在新鲜状态下，肉眼观呈白色，甚有光泽。它作为一种典型的致密结缔组织，胶原纤维是其细胞间质的主要成分。胶原纤维一般呈集束状排列，纤维之间借少量无定形基质相连接。这些无定形基质主要是蛋白多糖，它是蛋白和多糖分子结合成的复合物，其中的多糖部分为 GAG。肌腱内的 GAG 主要由硫酸软骨素、硫酸角质素、硫酸肝素和透明质酸等成分构成。它们一方面起支架作用，另一方面起维护机体内环境稳定的作用。胶原纤维和 GAG 的改变都能对肌腱的性质产生重大影响。对研究它们的将对了解肌腱疾病的病因、发病机理和疾病的发生、发展和转归起重要作用。

本实验通过 HE 染色和 Alcian blue 染色方法分别研究了过度运动对肱二头肌长头肌腱一般组织形态学及 GAG 的影响。实验中发现正常肱二头肌长头肌腱无纤维软骨样结构。过度运动后，在肱二头肌长头肌腱靠近小结节部位的胶原纤维丧失了正常的排列结构，偶发撕裂。腱细胞的形态呈软骨样改变，形成纤维软骨样区域。前人研究认为，在正常人的肩关节运动的时候，肱二头肌长头肌腱固定，肱骨头在肌腱上滑动，两者之间产生一定的压力和剪切力。为了与之适应，肱二头肌长头肌腱和肱骨头接触的部位以及其在结节间沟内靠近肱骨的一侧会产生纤维软骨样结构。一方面由于该部位血管分布贫

乏,不利于组织修复^[25],另一方面由于结节间沟的特殊结构^[102],该区域常发生肌腱变性,胶原纤维排列紊乱,大量粘液样物质沉积,并常有一些微撕裂,是肌腱炎的好发部位^[103]。因为人和大鼠的差异,在对照组大鼠肱二头肌长头肌腱中无纤维软骨样结构,但在过度运动后肌腱上出现了纤维软骨样结构,并有部分胶原纤维断裂,这说明过度运动是纤维软骨样结构产生的原因之一,并可能导致肌腱出现微损伤。过度运动 8 周后的肌腱可见 GAG 的含量明显增加,可能有两个作用。第一, GAG 网格状结构可以增加基质的粘稠度,产生润滑作用以减轻摩擦。过度运动的肌腱为了适应所承受的压力和剪切力,而产生纤维软骨样结构。软骨样细胞分泌 GAG 较多,从而达到减轻摩擦的目的。第二,有研究证明慢性肌腱炎时 GAG 总含量升高^[104],另有研究也发现在肺和肝的纤维化过程中 GAG 总含量也变高^[105,106],认为 GAG 的升高和纤维母细胞合成胶原纤维相伴随。过度运动的肌腱有微损伤的发生, GAG 的升高可能是肌腱自我修复过程中的一种反应。

本实验中过度运动对肌腱组织学的影响结果和有些文献报道的不一致,可能是因为动物模型建立的方法不同引起的。到目前为止,无论国外,还是国内,都没有确定的肩关节疾病的动物模型。采用不同的设计方法,可以得出不同的结果。在本实验动物模型建立的过程中,参考前人的经验使肩关节做大范围过度运动,以模仿游泳、投掷等运动。在实验过程中,使大鼠的前臂尽量外展、外旋,从而增加肱二头肌长头肌腱和结节间沟的接触。另外,在每一次屈伸运动时都会有两次屈肘运动,这也有利于肱二头肌长头肌腱发挥作用。过度运动的次数主要参照前人有关肌腱损伤的模型而制定^[30]。由于是使用被动活动,所以运动的次数比较容易控制和重复。但在实验中由于要每天将上肢固定在活动仪上,大鼠的足部易发生缺血,所以在固定时要注意绷带的松紧度,同时在实验时要尽量避免用暴力造成肩关节软组织的撕裂。在实验中由于条件的限制,我们没能检测 GAG 中各种成分的变化以及过度运动对胶原纤维各种成分的影响,关于这方面的研究还需进一步进行。

第三部分 过度运动对肱二头肌长头肌腱生物力学特性的影响

本部分通过对肌腱最大张应力的检测, 研究过度运动对肱二头肌长头肌腱生物力学特性的影响。

3.1 材料和方法

3.1.1 动物模型的建立和标本的制备同第二部分。

3.1.1.1 仪器 本实验采用拉伸仪为微机控制电子万能测试机 WDW-100 型 长春试验机厂生产。

3.1.2 张应力检测

由以上制得各组共计 36 条肱二头肌长头肌腱标本进行单轴拉伸实验, 测量肌腱对抗张应力的能力。进行实验时, 室温下 (约 10℃), 采用拉伸仪 (西安交通大学力学实验室提供), 用两个特制夹具, 分别夹住肩胛骨和肌腱肌肉结合处, 使肌腱长轴和加载力线重合。拉伸过程中不断用生理盐水滴注, 以保持标本湿润, 防止因为肌腱干燥而引起的生物力学特性的改变。在实验过程中, 用同步记录仪记载肌腱载荷—位移变化曲线以及肌腱所能承受的最大载荷。

3.1.2.1 标本的预调

对每个标本进行四次加载—卸载预拉伸, 以使其力学性质处于稳定状态, 此过程称为预调。对软组织来说, 预调是检测其生物力学特性时必不可少的一步。在此过程中, 加载—卸载的速度为 4mm/min。加载的最大值根据一个正常肌腱所能承受的最大载荷制定, 加载的最大值应小于此最大载荷。

3.1.2.2 单轴拉伸实验

经四次加载—卸载预调后, 加载—卸载曲线已接近重叠, 此时进行单轴拉伸实验, 直至肌腱断裂为止, 记录其载荷—位移曲线及最大载荷; 记录肌腱断裂的位置, 根据该部位的横截面积, 计算出其最大应力。

3.1.2.3 肌腱横截面积的测定

在对肌腱进行生物力学实验之前，对每一个肌腱用尚未完全冷却的石蜡进行迅速塑形。在生物力学实验中，根据肌腱断裂的位置，在石蜡模具上找到相应部位，用锋利的刀片垂直于模具的长轴切割获得其横截面，并将其印在玻璃片上，在显微镜下用 Leica 摄像头采集图象，用 Leica 图象分析系统计算其横截面积。

3.2 结果

3.2.1 组织横截面积的计算机分析

用 Leica 图象分析系统计算肌腱的横截面积，结果见表 1。正常对照组、过度运动 4 周后及 8 周后肌腱横截面积分别为 $0.5111 \pm 0.057 \text{ mm}^2$ 、 $0.5169 \pm 0.028 \text{ mm}^2$ 和 $0.4418 \pm 0.051 \text{ mm}^2$ 。过度运动 4 周后肌腱横截面积和对照组比较，变化不大($p > 0.01$)，无统计学意义；过度运动 8 周后，肌腱横截面积和对照组比较，变化明显 ($p < 0.01$)，有统计学意义。

表 1 过度运动对肌腱横截面积的影响

组别	例数	面积平均(mm^2)	标准差
对照	12	0.5111 ^c	0.057
4 周后	12	0.5169 ^a	0.028
8 周后	12	0.4418 ^b	0.051
总计	36	0.4899	0.051

c: 对照组, a: 运动 4 周后, b: 运动 8 周后。和对照组比较, ^a $P > 0.01$, ^b $P < 0.01$ 。

3.2.2 张应力检测结果

用轴向拉伸仪测量肱二头肌长头肌腱的最大载荷，并计算出其最大应力，结果见表 2。正常对照组、过度运动 4 周后及 8 周后最大载荷分别为 $32.3206 \pm 1.6066 \text{ N}$ 、 $28.9019 \pm 1.7164 \text{ N}$ 、 $23.4416 \pm 1.5631 \text{ N}$ ，最大应力分别为 $63.9871 \pm 8.3570 \text{ MPa}$ 、 $55.9603 \pm 2.8374 \text{ MPa}$ 、 $53.5966 \pm 2.6433 \text{ MPa}$ 。无论过度运动 4 周后还是 8 周后，肌腱最大载荷和最大应力均有明显降低 ($p < 0.01$)，统计学差异显著；过度运动 8 周后和过度运动 4 周后比较，最大

载荷有显著降低 ($p<0.01$), 最大应力也有降低, 但变化不明显($p>0.01$)。

表 2 过度运动对肌腱最大载荷及最大应力的影响

组别	例数	最大载荷(N)	最大应力(MPa)
对照	12	32.3206±1.6066 ^c	63.9871 ± 8.3570 ^c
4 周后	12	28.9019±1.7164 ^a	55.9603 ± 2.8374 ^a
8 周后	12	23.4416±1.5631 ^b	53.5966± 2.6433 ^b

c: 对照组, a: 运动4周后, b: 运动8周后。和对照组比较, 最大载荷^a $P<0.001$, ^b $P<0.001$; 最大应力^a $P<0.01$, ^b $P<0.01$ 。过度运动8周后和过度运动4周后比较, 最大载荷^a $P<0.01$, 最大应力^a $P>0.01$

3.3 讨论

肌腱在组织学上属于规则致密结缔组织, 它的细胞间质主要成自致密而平行排列的胶原纤维束, 纤维间借少量的无定形基质相连接, 因此肌腱的生物力学特性由胶原纤维的力学特性所决定。它具有非线性、粘弹性和各向异性等特点。本实验对肩关节过度运动前后的肱二头肌长头肌腱进行单轴拉伸实验, 研究过度运动对肱二头肌长头肌腱生物力学特性的影响, 目前国内外未见报道。

在本实验中, 一端夹具固定的部位是肌腱肌肉结合处。肌肉的变形能力远远大于肌腱, 在实验中所测量的应力-应变曲线不能完全反映出肌腱生物力学特性, 因此我们记录了肌腱断裂时所能承受的最大载荷。

肱二头肌长头肌腱结节间沟段是拉伸实验中发生断裂的部位。该部位在横截面积测量中发现, 过度运动 8 周后的肌腱在横截面积上要明显小于对照组及过度运动 4 周后的肌腱($P<0.01$), 同时, 肌腱所能承受的极限载荷及极限应力随过度运动时间的延长而有显著的降低($p<0.01$)。横截面积测量结果和某些实验结果不一致, 极限载荷及极限应力的改变趋势和文献报道相一致。Soslowsky^[30]等人的研究发现过度运动后岗上肌腱的横截面积和对照组相比有明显变大, 认为过度运动导致肌腱发生无菌性炎症, 使腱细胞增生及细胞外基质合成增加, 从而使肌腱横截面积变大, 但却使胶原纤维的排列结构变的紊乱, 使肌腱对抗张应力的能力降低。而在本实验中则发现肱二头肌长头肌

腱结节间沟段肌腱局部并没有发生无菌性炎症，也无细胞的增生，相反细胞数量明显减少，从而使该部位肌腱横截面积降低。另外肌腱小结节侧有软骨化趋势，形成纤维软骨样结构，最大载荷和最大应力降低。究其原因，肌腱的组织学特点决定了其抗拉强度取决于胶原纤维的结构。形成胶原纤维的任一环节发生改变都可引起胶原合成减少或结构变异，从而引起胶原纤维的力学特性发生异常。Soslowky^[30]等人的研究发现胶原纤维结构排列紊乱会使肌腱最大应力降低。在本实验中，由于肌腱为了适应和肱骨结节间沟的摩擦而产生纤维软骨样结构，前人的研究发现肌腱内纤维软骨样结构内部胶原纤维成分、排列结构和正常肌腱有所不同，其中Ⅱ型胶原纤维数量明显增多，同时细胞外基质的成分也发生变化^[28]。这种结构的产生更利于肌腱承受压力及降低两者之间的剪切力，但它却同时降低了该区域肌腱的抗拉能力，从而降低结节间沟处整个肌腱的抗拉能力，使肌腱容易发生撕裂，这和前面的研究发现的过度运动后的肌腱结节间沟处有部分胶原纤维发生撕裂的现象符合。

以上研究说明，在过度运动对肱二头肌长头肌腱是一种伤害因素，使肌腱容易发生损伤。该部位血管分布贫乏，肌腱主要从腱鞘分泌的滑液中获得营养。微损伤发生以后，表层因为滑液的作用可获得修复，但深层肌腱发生的微撕裂则得不到良好的修复，并更容易发生微撕裂，从而导致肌腱更严重的损伤，诱发肌腱炎、肌腱撕裂。

在实验中，采用恒定环境以尽量来减少人为因素造成的误差。实验在一天内完成，温度为室温（约 10℃）。实验前 30 分钟将肌腱从冰箱中取出，在生理盐水纱布包裹下复温。拉伸过程中，用生理盐水滴注，保持其湿润。以 4mm/min 的速度拉伸，以特制夹具夹紧肌腱，防止其滑动。

总之，肱二头肌长头肌腱在过度运动后，因其内部结构的变化，而引起其生物力学特性发生了变化。肱二头肌长头肌腱在肩关节的稳定及疼痛中占有很重要的地位，本实验从生物力学角度研究了过度运动和肱二头肌长头肌腱疾病之间的关系，而针对肌腱这些改变的病理生理基础，包括纤维软骨样结构形成的机制以及细胞外基质的改变对肌腱疾病的影响，都是非常有意义的问题，还需要进一步的研究。

第四部分 过度运动对肱二头肌长头肌腱及 腱周组织神经分布的影响

本部分通过改良银染以及免疫组织化学的方法研究过度运动对肱二头肌长头肌腱及腱周组织神经分布的影响和对 SP 能神经元的影响。

4.1 材料和方法

4.1.1 动物模型的建立和标本的制备同第二部分

4.1.2 肌腱及腱鞘内神经分布的检测

4.1.2.1 改良银染法

4.1.2.1.1 试剂及配方

- 20%硝酸银溶液
- 100ml 吡啶溶液（50%无水酒精 100ml 中加入吡啶 30 滴）
- 1%、5%、10%的福尔马林溶液各 100ml
- 氨银液 20ml
- 5%海波定影液 20ml

4.1.2.1.2 实验步骤

流水冲洗^{3分钟} 蒸馏水洗^{3次} 吡啶溶液^{37℃,3小时} 20%硝酸银溶液^{37℃,20分钟} 蒸馏水洗^{3次} 10%的福尔马林溶液洗涤^{5次} 5%的福尔马林溶液洗涤^{5次} 1%的福尔马林溶液洗涤^{1次} 氨银液洗涤^{2次} 1%的福尔马林溶液洗涤^{数次至切片呈黄褐色} 流水冲洗^{1分钟} 5%海波定影液 20ml^{5分钟} 水洗、脱水、透明、封片。

4.1.2.2 S-100 蛋白多克隆抗体免疫组化染色

4.1.2.2.1 试剂及配方

- 一抗（S-100 蛋白多克隆抗体 DAKO 公司购买）用稀释的羊血清按 1:100 比例稀释
- 二抗（DAKO 公司，骨科研究所提供）
- DAB 显色液：DAB 显色剂（华美公司，骨科研究所提供）2ug，PBS 缓

冲液 4ml, 3%双氧水 50ul

- 羊血清 (博士得公司, 骨科研究所提供)
- PBS 缓冲液: NaCl 8.5g, Na_2HPO_4 3.58g, KH_2PO_4 1.34g 加蒸馏水稀释至 1000ml。

4.1.2.2.2 实验步骤

自来水冲洗 $\frac{3\text{分钟}}$ PBS 缓冲液漂洗 $\frac{5\text{分钟}\times 2\text{次}}$ PBS 缓冲液+3%双氧水 (1:1) 漂洗 $\frac{10\text{分钟}}$ PBS 缓冲液漂洗 $\frac{5\text{分钟}\times 3\text{次}}$ 胰酶消化 $\frac{10\text{分钟}}$ PBS 缓冲液漂洗 $\frac{5\text{分钟}\times 3\text{次}}$ 羊血清封闭 $\frac{10\text{分钟}}$ PBS 缓冲液漂洗 $\frac{5\text{分钟}\times 3\text{次}}$ 甩掉余液, 加一抗 $\frac{4\text{C}, \text{过夜}}$ 复温 $\frac{37\text{C}, 30\text{分钟}}$ PBS 缓冲液漂洗 $\frac{5\text{分钟}\times 3\text{次}}$ 加二抗 $\frac{37\text{C}, 30\text{分钟}}$ PBS 缓冲液漂洗 $\frac{5\text{分钟}\times 3\text{次}}$ DAB 显色液显色——水洗终止显色。

4.1.2.3 P 物质抗体免疫组化染色

4.1.2.3.1 试剂及配方

P 物质抗体为即用型, 购于博士得公司。其余试剂及配方同 S-100 蛋白多克隆抗体免疫组化染色。

4.1.2.3.2 实验步骤同上。

4.1.3 统计分析

在连续切片上统计神经末梢的数量, 用 SPSS 软件中的 ANOVA 方法进行统计分析。

4.2 结果

在实验过程中无论用改良银染的方法还是用免疫组织化学的方法均未能在肌腱中发现神经纤维及神经末梢的存在。在肌腱周围组织中 (相当于人的腱鞘) 改良银染及 S-100 多克隆抗体免疫组织化学染色都能见到神经末梢。改良银染切片中神经组织呈黑色, 背景纤维组织呈棕黄色; S-100 多克隆抗体免疫组织化学染色切片中神经纤维呈深棕黄色, 背景组织呈浅黄色。组织连续断层切片用 Leica 计算机图像分析系统进行分析, 可以得到每个标本上所含的神经末梢数 (见表 3)。经过统计学分析后发现过度运动前后神经末梢的数量无明显差异 ($P>0.01$)。在正常肌腱周围组织中仅有少数的 P 物质免疫阳

性神经末梢，在过度运动后，可见 P 物质免疫阳性神经末梢数量明显增加 (P<0.01) (见表 3)。

表 3 过度运动前后神经末梢数量统计分析

检测方法	每个标本神经纤维平均数 (n=24)	
	对照组	运动 8 周后
改良银染法	6.71±1.07 ^a	6.54±0.85 ^a
S-100 阳性纤维	7.03±0.91 ^b	7.75±1.34 ^b
SP 阳性纤维	2.36±0.43 ^c	4.72±0.64 ^c

a: 改良银染法, b: S-100 阳性纤维, b: SP 阳性纤维。对照组和运动 8 周后比较, ^aP>0.01, ^bP>0.01, ^cP<0.01.

4.3 讨论

神经末梢一般是指周围神经纤维轴突的终末，它分布于全身各种组织和器官中。分运动神经末梢和感觉神经末梢两类。感觉神经末梢按照各种感受器的形态结构不同，又可归结为游离的神经末梢和有被囊的神经末梢两种。有被囊神经末梢主要感受触觉、压觉和振动觉等本体感觉。游离神经末梢可感受冷、热、轻触和痛的刺激。各种不同性质的刺激达到一定强度，就成为伤害性刺激，都能引起痛觉。目前研究认为，这种与伤害刺激有关的游离神经末梢即痛觉感受器。痛觉感受器在很多情况下是一种化学感受器，当组织受到损伤时，感受器周围微环境的化学性质发生改变，例如损伤组织释放出组胺，5-羟色胺，缓激肽、前列腺素和钾离子等各种致痛物质，作用于游离神经末梢，达到伤害性刺激的程度，从而引起传入冲动，进入中枢神经系统，引起痛觉。也有一些伤害感受器接受高阈值的机械刺激。有研究认为局部神经末梢的增生和疼痛相关^[107]。

另有研究发现在头痛和偏头痛的病人的脑脊膜上 P 物质含量明显升高^[90,91]。目前有大量的研究证明 P 物质免疫阳性神经纤维数量的增加和关节炎及软组织损伤后引起的疼痛密切相关^[94,95,96,97,98,99,100]。Beaman 等人在有脊柱疾患的患者腰椎小关节中发现关节面不规则、纤维化，软骨下骨和钙化软骨中含

SP 反应阳性神经纤维的侵蚀管延伸至关节软骨中, 认为可能是腰背疼痛的原因^[108]。Bohy 观察到兔腰椎小关节有小神经纤维和末梢的广泛分布, 神经纤维中含有 SP 免疫反应物^[109]。Brown 等发现严重腰背疼痛和椎间盘高度显著减低者的椎间盘终板下松质骨中血管和相伴的神经纤维增生, 且大多为 SP 反应阳性神经纤维^[110]。在 Masafumi 等人的研究中发现, 肩袖不同程度的撕裂可以引起 P 物质不同程度的释放, 说明 P 物质能神经纤维在局部组织中的数量和疼痛的程度相关^[45]。在本实验中, 我们通过对游离神经末梢以及 P 物质免疫阳性神经纤维数量的研究, 来评估过度运动在肩关节疾病中的地位。实验中发现, 肌腱本身无神经末梢的分布, 这和人关于人肌腱的研究不一致^[45], 这和种属差异有关。在人的肌腱外面包着一层很薄的疏松结缔组织, 并深入肌腱内, 穿插包裹肌腱束, 同时引进神经和血管。在大鼠中, 肱二头肌长头肌腱本身很细, 无疏松结缔组织深入其内, 也无神经和血管分布。在包裹在肌腱周围的类似腱鞘的组织中发现了丰富的游离神经末梢。在过度运动前后游离神经末梢的数量未见明显的差异, 但 P 物质免疫反应阳性纤维的数量有明显增加。这种现象说明, 过度运动时肌腱和腱周组织之间不可避免的要产生挤压和摩擦等刺激, 对包裹在肌腱周围的类似腱鞘的组织来说可能是一种伤害性刺激。由于肌腱和腱鞘都有一定的活动空间, 这种伤害性刺激的强度相对较弱, 不足以引起组织学上的改变, 也无神经末梢的增生。但它却足以引起伤害感受器产生信号经初级传入纤维传到初级感觉神经元, 引起 P 物质的释放增加, 从而对疼痛进行传导和调控。同时 P 物质经轴浆流的作用到达神经末梢, 引起周围组织中 P 物质免疫阳性神经末梢数量的增加。

以上研究说明, 过度运动对肩关节来说是一种伤害性的刺激, 它有可能引起肩关节的疼痛。P 物质具有多种生物效应, 它的释放可能是机体的一种自我保护方式。关于 P 物质在组织局部释放后到底发挥何种生理作用, 还有待做进一步的研究。由于条件的限制, 实验没能对过度运动的强度和 P 物质在局部具体释放量之间进行研究。关于这些方面的研究将对临床预防肩关节疼痛具有重要的指导意义。

结 论

通过对过度运动对肱二头肌长头肌腱组织学、生物力学及神经分布影响的研究,得出以下结论:

- ◆ 过度运动会对肱二头肌长头肌腱组织学产生影响:在肌腱和肱骨接触最多的部位产生纤维软骨样结构,同时该部位细胞外基质也发生改变,GAG含量明显增加,胶原纤维有部分断裂。
- ◆ 过度运动会对肱二头肌长头肌腱生物力学特性产生影响:肱二头肌长头肌腱结节间沟段是拉伸实验中发生断裂的部位。该部位在横截面积测量中发现,过度运动8周后的肌腱在横截面积上要明显小于对照组及过度运动4周后的肌腱($P<0.01$),同时,肌腱所能承受的极限载荷及极限应力随过度运动时间的延长而有显著的降低($p<0.01$)。
- ◆ 过度运动会对肱二头肌长头肌腱周围组织神经分布的影响:肌腱中无神经纤维及神经末梢的存在。在肌腱周围组织中(相当于人的腱鞘)改良银染及S-100多克隆抗体免疫组织化学染色都能见到神经末梢。过度运动前后神经末梢的数量无明显差异,但P物质免疫阳性神经末梢数量明显增加。

致 谢

本实验自始至终都是在导师朱庆生副教授的关怀和指导下完成的，在此深表谢意。导师那严谨的工作作风，认真的科研态度和渊博的知识，使我受益匪浅。

在本实验过程中，本实验室吕荣副主任技师给予了莫大的关怀和支持，在此我向他表示衷心的感谢。同时感谢王军高级工程师、朱锦宇主治医师、袁志主治医师、徐新智主管技师、于会东硕士、白建萍老师、杨柳硕士、崔庚硕士及吴洁女士和李静女士等实验室人员对我的大力支持和帮助。

西安交通大学的侯德门教授、丁春华硕士和西京医院器材科田越技术员在本实验完成过程中都给予了我不少帮助和支持，在这里向他们表示衷心的感谢。另外我还要特别感谢在临床期间金格勒博士对我的指导和教诲，这将使我终身难忘。

参考文献

1. Meyer AW. Spolia anatomica:Absence of the tendon of the long head of the biceps. J Anat. 1913-1914,48:133-135
2. Meyer AW. Spontaneous dislocation and destruction of the tendon of the long head of the biceps brachii. Arch Surg. 1928,17:493-506
3. Meyer AW. Spontaneous dislocation of the tendon of the long head of the biceps brachii. Arch Surg .1926,13:109-119
4. Meyer AW. Unrecognized occupation destruction of the tendon of the long head of the biceps brachii. Arch Surg. 1921,2:130-144
5. Hitchcock HK,Bechtol CO. Painful shoulder:Observations on the role of the tendon of the long head of the biceps brachii in its causation. J Bone Joint Surg [Am] .1948,30:262-273
6. Codman EA.The Shoulder.Boston,Thomas Todd,1934
7. 黄公怡.肩关节周围炎的解剖学基础及临床特点.临床医学杂志.1989;5(5):233
8. 冯传汉等.肩关节外科学.天津科学技术出版社.1996
9. Pal G.P, Bhatt R.H., Patel V.S.(1991) Relationship between the tendon of the long head of biceps brachii and the glenoidal labrum in humans The Anatomical Record .1991,229:278-280
10. Burkhead WZ:The biceps tendon.In Rockwood CA Jr,Matsen FA III (eds):The Shoulder. Philadelphia,WB Saunders,1990,p791
11. Schragar VL Tenosynovitis of the long head of the biceps humeri Surg Gynecol Obstet. 1938, 66:785-790
12. Depalma AF, Callery GE:Bicipital tenosynovitis Clin Orthop. 1954,3:69-85
13. Gilcreest EL. The common syndrome of rupture,dislocation and elongation of

- the long head of the biceps brachii: An analysis of one hundred cases. *Surg Gynecol Obstet.* 1934,58:322-339
14. Neer CS II: Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder. *J Bone Joint Surg.* 1972,54(A):41-50
 15. Murthi AM, Vosburgh CL, Neviaser TJ. The incidence of pathologic changes of the long head of the biceps tendon. *J Shoulder Elbow Surg.* 2000 Sep-Oct,9(5):382-5
 16. DePalma AF. Surgical anatomy of the rotator cuff and the natural history of degenerative periarthritis. *Surg Clin North Am.* 1963,43:1507-1520
 17. Cone R.O. The Bicipital Groove: Radiographic, Anatomic, and Pathologic Study. *AJR.* 1983,141:781-788
 18. Levinsohn EM. Bicipital groove dysplasia and medial dislocation of the biceps brachii tendon. *Skeletal Radiol.* 1991,20:419-423
 19. Nevaiser RJ Lesion of the musculotendinous cuff of the shoulder :diagnosis and management. In: A.A.O.S. instructional course lectures. St. Louis: Mosby, 1981,239-257
 20. Nevaiser RJ Lesions of the biceps and tendinitis of the shoulder. *Orthop Clin North Am.* 1980,11:343-348
 21. Ueberham C. Intertubercular sulcus of the humerus: biometry and morphology of 100 dry bones. *Surgical and Radiologic Anatomy.* 1998;20:351-354
 22. Curtis AS. Evaluation and treatment of biceps tendon pathology. *Orthop Clin North Am.* 1993,24:33-44
 23. Ralphs JR. Cell and matrix biology of the suprapatella in the rat: a structural and immunocytochemical study of fibrocartilage in a tendon subject to compression. *Anatomical Record.* 1991,231:167-177
 24. Malaviya P, Butler DL, Boivin GP, et al. An in vivo model for load-modulated remodeling in the rabbit flexor tendon. *J Orthop Res.* 2000 Jan,18(1):116-25

25. Kolts I. Structure and vascularization of the biceps brachii long head tendon. *Anat-Anz.* 1994,176(1):75-80
26. Tillmann B. Functional adaptation processes of gliding tendons. *Sportverletz-Sportschaden.* 1995,9(2):44-50
27. Benjamin M. Loss of the fibrocartilaginous lining of the intertubercular sulcus associated with rupture of the tendon of the long head of biceps brachii. *J Anat.* 1993,182(Pt2) :281-285
28. Benjamin-M; Ralphs-JR Fibrocartilage in tendons and ligaments--an adaptation to compressive load. *J Anat.* 1998 Nov,193(Pt4):481-94
29. Khan KM,Cook JL,Bonar F,Harcourt P, Astrom M. Histopathology of common tendinopathies. Update and implications for clinical management. *Sports-Med.* 1999 Jun,27(6): 393-408
30. Soslowky LJ, Thomopoulos S, Tun S. Overuse activity injures supraspinatus tendon in an animal model :a histologic and biomechanical study. *J Shoulder Elbow Surg.* 2000 Mar-Apr,9(2):79-84
31. Jarvinen M, Jozsa L, Kannus P,et al. Histopathological findings in chronic tendon disorders. *Scand J Med Sci Sports.* 1997 Apr, 7(2):86-95
32. Wirth CJ, Carls J. Pathology of acute and chronic tendon injuries. *Orthopade.* 2000 Mar,29(3):174-81
33. O'Neil BA, Forsythe ME, Stanish WD,et al. Chronic occupational repetitive strain injury. *Can Fam Physician.* 2001 Feb,47:311-6
34. Jarvinen TA, Kannus P, Paavola M,et,al. Achilles tendon injuries. *Curr Opin Rheumatol.* 2001 Mar,13(2):150-5
35. Archambault JM, Wiley JP, Bray RC. Exercise loading of tendons and the development of overuse injuries. A review of current literature. *Sports Med.* 1995 Aug,20(2):77-89
36. Carpenter JE, Flanagan CL, Thomopoulos S,et,al. The effects of overuse

- combined with intrinsic or extrinsic alterations in an animal model of rotator cuff tendinosis. *Am J Sports Med.* 1998 Nov-Dec,26(6):801-7
37. 龚志锦等. 病理组织制片和染色技术.上海科学技术出版社. 1994.
 38. Boon Ap, Hubscher SG, Lee JA, Hines JE, Burt AD: Hepatic reinnervation following orthotopic liver transplantation in man. *J Pathol.* 1992, 167:217
 39. Buttner T, Weyers S, Postert T, et al. S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infraction. *Stroke.* 1997,28(10): 1961-1965
 40. Fano G, Biocca S, Fulle S, et al. The S-100: a protein family in search of a function. *Prog Neurobiol.* 1995,46(1):71-82.
 41. Takashi H, Tetsuo H, Yasuyuki S et al. Immunohistochemical Approach for the Investigation of nerve distribution in the shoulder joint capsule. *Clin Orthop.* 1994;(305):273-282
 42. Yoshida N, Nishiyama K, Tonosaki Y, et al. Sympathetic and sensory innervation of the rat shoulder joint: A WGA-HRP tracing and CGRP immunohistochemical study *Anat. Embryol,* 1995: 191: 465-469
 43. Ide K, Shirai Y, Ito H. Sensory nerve supply in the human subacromial bursa. *J Shoulder Elbow Surg.* 1996,5:371-382
 44. Backenkohler U, Strassmann TJ, Halata Z. Topography of mechanoreceptors in the shoulder joint region--a computer-aided 3D reconstruction in the laboratory mouse *Anat-Rec.* 1997 Jul, 248(3): 433-41
 45. Masafumi G, Kazutoshi H et al. Increase substance P in subacromial bursa and shoulder pain in rotator cuff diseases. *J Orthop Res.* 1998 Sep,16(5)618-621
 46. Oehm A, Behrmann I, Falk W, et al. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Sequence identity with the Fas antigen. *J Biol Chem.* 1992 May 25;267(15):10709-15.

47. Miyawaki T, Uehara T, Nibu R, et al. Differential expression of apoptosis-related Fas antigen on lymphocyte subpopulations in human peripheral blood. *J Immunol*. 1992 Dec 1;149(11):3753-8.
48. Kobayashi A, Yoshida N and Tonosaki Y et al Origin of the calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerve fibers in the rat shoulder joint. *Anat Embryol(Berl)*. 1995 May, 191(5): 471 -476
49. 成令忠.组织学.人民卫生出版社.1993.
50. Scott JE, Dorling J. Differential stain of acid glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) by alcian blue in salt solution. *Histochemie* .1965,5:221-233
51. Lee I, Ono y, Lee A, et al. Immunocytochemical localization and biochemical characterization of large proteoglycans in developing rat bone. *J Oral Sci*. 1998 Jun, 40(2):77-87
52. Yang DH, Tsuyama S, Ohmori J. Sulfated glycosaminoglycans in guinea pig basophils studied means of cationic colloidal gold. *Histochem Cell Biol* .1998 Mar, 109(3)189-194
53. Yahia LH, Pigeon P, DesRosiers EA. Viscoelastic properties of the human lumbodorsal fascia. *J Biomed Eng*. 1993 Sep, 15(5):425-9
54. Yahia LH, Pigeon P, DesRosiers EA. Viscoelastic properties of the human lumbodorsal fascia. *J Biomed Eng* ,1993 Sep, 15(5):425-9
55. 吴卫华 严晟 宋建良等.鼻骨骨膜与鼻背深筋膜的生物力学特性研究. *中华医学美容杂志*. 2000 Jun, 6(3):116-8
56. Lakes RS, Vanderby R. Interrelation of creep and relaxation: a modeling approach for ligaments. *J Biomech Eng*. 1999 Dec, 121(6):612-5
57. Rider CC. Analysis of glycosaminoglycans and proteoglycans. *Methods Mol Biol*, 1998, 76:131-143
58. 冯元桢.生物力学(第一版). 北京科学出版社.1983;127

59. 孟和,顾志华.骨伤科生物力学.人民卫生出版社.1991
60. Carlson RE, Fleming LL, Hutton WC. The biomechanical relationship between the tendoachilles, plantar fascia and metatarsophalangeal joint dorsiflexion angle. *Foot Ankle Int.* 2000 Jan,21(1):18-25
61. Ishikura T. Biomechanical analysis of weight bearing force and muscle activation levels in the lower extremities during gait with a walker. *Acta Med Okayama.* 2001 Apr,55(2):73-82
62. Carpenter JE, Thomopoulos S,Flanagan CL. Rotator cuff defect healing: a biomechanical and histologic analysis in an animal model. *J Shoulder Elbow Surg.* 1998 Nov-Dec; 7(6): 599-605
63. 董峰 邱小杉 王春等 家兔跟腱张力特性的研究 湖北医科大学学报.1998Jul,19(3):203-204
64. Soslowky-LJ; Carpenter-JE; Bucchieri-JS. Biomechanics of the rotator cuff. *Orthop Clin North Am.* 1997 Jan; 28(1): 17-30
65. Nagarkatti DG, McKeon BP, Donahue BS,et,al. Mechanical evaluation of a soft tissue interference screw in free tendon anterior cruciate ligament graft fixation. *Am J Sports Med.* 2001 Jan-Feb,29(1):67-71
66. Brownlee M, Cerami A,Vlassara H Advanced glycosylation end production in tissue and the biochemical basis of diabetic complication. *N Engl J Med.*1988,318(20):1315
67. Wormald PJ, Alun-Jones T. Anatomy of the temporalis fascia. *J Laryngol Otol.*1991 Jul,105(7):522-4
68. Arnold VG,Huhn P,Schwinger G. Thermomechanical experiments on collagenous fibre bundles. *Anat Anz Jena.* 1989,168:17-26
69. Thomas OL, Morrison C, Howard L,et al.The biomechanical properties of fascia lata grafts: a preliminary study..*Injury.*1998 Apr,29(3):227-8
70. Chang MM, Leeman SE, Niall HD.Amino-acid sequence of substance P.*Nat*

- New Biol. 1971 Jul 21;232(29):86-7
71. Tregear GW, Niall HD, Potts JT Jr. Synthesis of substance P. *Nat New Biol.* 1971 Jul 21;232(29):87-9
72. Duplla H, Chassaing G, Lavielle S, et al. Influence of the replacement of amino acid by its D-enantiomer in the sequence of substance P.1. Binding and pharmacological data. *Neuropeptides.* 1992,19:251-75
73. Igwe OJ, Kim DC, Seybold, VS, et al. Specific bonding of substance P aminoterminal heptapeptide[SP(1-7)] to mouse brain and spinal cord membranes. *J Neurosci.* 1990,10:3653-63
74. Dugga A, Hendry IA, Green JL, et al. The preparation and use of antibody microprobes. *J Neurosci Meth.* 1990,23:241-243
75. Zhao ZQ, Yang HQ, Zhang KM, et al. Release and depletion of substance P by capsaicin in substantia gelatinosa studied with the antidody microprobe technique and immunohistochemistry. *Neuropeptides.* 1992, 23:161-167
76. Chen JJ, Barber LA, Dymshitz J. Peptidase inhibitors improve recovery of substance P and calcitonin gene-related peptide release from rat spinal cord slices. *Peptides.* 1996,17(1):31-7
77. Kream RM, Kato T, Shimonaka H, Marchand JE, Wurm WH. Substance P markedly potentiates the antinociceptive effects of morphine sulfate administered at the spinal level. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Apr 15;90(8):3564-8
78. 浦波, 胡侦明. 腰背疼痛与神经肽 P 物质. *中国脊柱脊髓杂志.* 2000,10(4):245-6
79. De Koninck Y, Ribeiro-da-Silva A, Henry JL, Cuello AC. Spinal neurons exhibiting a specific nociceptive response receive abundant substance P-containing synaptic contacts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Jun 1;89(11):5073-7

80. 朱丽霞, 黎春元, 吉长福. P 物质在脊髓水平痛觉传递与痛觉调制中的双重作用. 中国科学 (B 辑), 1986, 12: 1285-1294
81. Gallai V, Sarchielli P, Trequattrini A, Paciaroni M. Monocyte chemotactic and phagocytic responses in migraine and tension-type headache patients. *Ital J Neurol Sci.* 1993 Mar,14(2):153-64
82. Blum AM, Elliott DE, Metwali A, Li J. Substance P regulates somatostatin expression in inflammation. *J Immunol.* 1998 Dec 1,161(11):6316-22
83. Schaffer M, Beiter T, Becker HD, Hunt TK. Neuropeptides: mediators of inflammation and tissue repair? *Arch Surg.* 1998 Oct, 133(10):1107-16
84. Stanisz AM, Befus D, Bienenstock J. Differential effects of vasoactive intestinal peptide, substance P, and somatostatin on immunoglobulin synthesis and proliferations by lymphocytes from Peyer's patches, mesenteric lymph nodes, and spleen. *J Immunol.* 1986 Jan;136(1):152-6
85. Kahler CM, Pischel A, Kaufmann G, Wiedermann CJ. Influence of neuropeptides on neutrophil adhesion and transmigration through a lung fibroblast barrier in vitro. *Exp Lung Res.* 2001 Jan – Feb,27(1):25-46
86. Lau AH, Chow SS, Ng YS. Immunologically induced histamine release from rat peritoneal mast cells is enhanced by low levels of substance P. *Eur J Pharmacol.* 2001 Mar 2,414(2-3):295-303
87. Matsuda H, Kawakita K, Kiso Y. Substance P induces granulocyte infiltration through degranulation of mast cells. *J Immunol.* 1989 Feb 1;142(3):927-31
88. Levite M. Nerve-driven immunity. The direct effects of neurotransmitters on T-cell function. *Ann N Y Acad Sci.* 2000, 917:307-21
89. Shadiack AM, Carlson CD, Ding M. Lipopolysaccharide induces substance P in sympathetic ganglia via ganglionic interleukin-1 production. *J Neuroimmunol.* 1994 Jan; 49(1-2): 51-8
90. Limmroth V, Cutrer FM, Moskowitz MA. Neurotransmitters and neuropeptides

- in headache. *Curr pin Neurol*. 1996 Jun, 9(3): 206-10
91. Marukawa H, Shimomura T, Takahashi K. Salivary substance P, 5-hydroxytryptamine, and gamma-aminobutyric acid levels in migraine and tension-type headache. *Headache*. 1996 Feb, 36(2): 100-04
92. DiSabato F, Giacobazzo M, Cristalli G, et al. Effect of hyperbaric oxygen on the immunoreactivity to substance P in the nasal mucosa of cluster headache patients. *Headache*. 1996 Apr; 36 (4):221-3
93. Fusco BM, Fiore G, Gallo F, et al. "Capsaicin-sensitive" sensory neurons in cluster headache: pathophysiological aspects and therapeutic indication. *Headache*. 1994 Mar,34(3):132-7
94. Ahmed M, Bjurholm A, Schultzberg M, et al. Increased levels of substance P and calcitonin gene-related peptide in rat adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum*. 1995, 38:699-709
95. Fortier LA, Nixon AJ: Distributional changes in substance P nociceptive fiber patterns in naturally osteoarthritic articulations. *J Rheumatol*. 1997,24:524-530
96. Heppelmann B, Pawlak M: Sensitisation of articular afferents in normal and inflamed knee joints by substance P in the rat. *Neurosci Lett*. 1997,223:97-100
97. Ide K, Shirai Y, Ito H, Ito H. Sensory nerve supply in the human subacromial bursa. *J Shoulder Elbow Surg*. 1996,5:371-382
98. McDougall JJ, Bray RC, Sharkey KA: Morphological and immunohistochemical examination of nerves in normal and injured collateral ligaments of rat, rabbit, and human knee joints. *Anat Rec*. 1997,248:29-39
99. Santavirta S, Konttinen YT, Antti-Poika I, et al. Inflammation of the subacromial bursa in chronic shoulder pain. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1992,111:336-340
100. Tomita Y, Ozaki J, Sakurai G, et al. Neurohistory of the subacromial bursa in rotator cuff tear. *J Orthop Sci*. 1997,2:295-300

- 101.Kaneko H, Mitsuma T, Uchida K,et al. Immunoreactive- somatostatin, substance P, and calcitonin gene-related peptide concentrations of the human gastric mucosa in patients with nonulcer dyspepsia and peptic ulcer disease. *Am J Gastroenterol* .1993 Jun, 88(6):898-904
- 102.Pfahler M, Branner S, Refior HJ. The role of the bicipital groove in tendopathy of the long bicepss tendon. *J Shoulder Elbow Surg*. 1999 Sep-Oct, 8(5): 419-24
- 103.Refor HJ, Sowa D. Long tendon of the bicepss brachii: sites of predilection for degenerative lesions. *J Shoulder Elbow Surg*. 1995 Nov-Dec,4(6):436-40
- 104.Riley GP, Harrall RL, Constant CR. Glycosaminoglycans of human rotator cuff tendons: changes with age and in chronic rotator cuff tendinitis. *Ann Rheum Dis*. 1994 Jun, 53(6): 367-76
- 105.Li BY. The effect of glycosaminoglycans in the pulmonary interstitial fibrosis development. *Chung Hua Chieh Ho Ho Hu His Tsa Chih*. 1992 Aug, 15(4): 204-6, 253-4
- 106.Szende B, Lapis K, Kovalszky I. Role of the modified (glycosaminoglycan producing) perisinusoidal fibroblasts in the CCl4-induced fibrosis of the rat liver. *In-Vivo*. 1992 Jul-Aug, 6(4): 355-61
- 107.Freemont AJ, Peacock TE, Goupille P. Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. *Lancet*. 1997 Jul 19,350 (9072):178-81
- 108.Beaman DN,Graziano GP,Glover RA,et al.Substance P innervation of lumbar spine facet joints. *Spine*.1993,18(8):1044-1049.
- 109.Bohy A,Cavanaugh JM,Getchell ML,et al.Localization of substance P and neurofilament immunoreactive fibers in the lumbar facet joint capsule and supraspinous ligament of the rabbit. *Brain Res*.1988,20,460(2):379-382.
110. Brown MF,Hukkanen MV,McCarthy ID,et al.Sensory and sympathetic innervation of the vertebral endplate in patients with degenerative disc disease.*J Bone Joint Surg Br*.1997,79(1): 147-153.

附 图

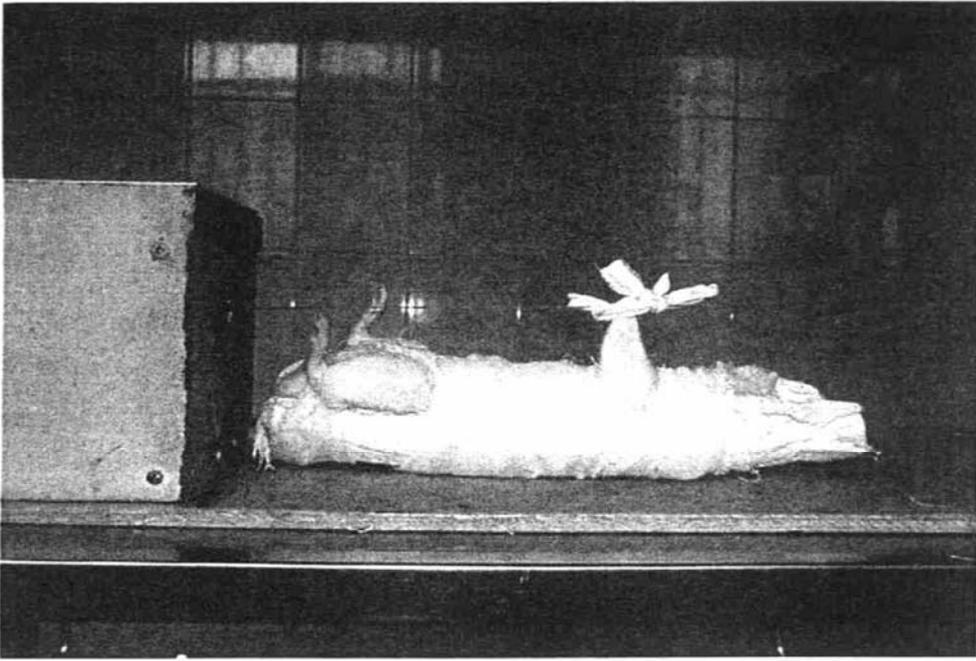


图 1 肩关节过度运动模型

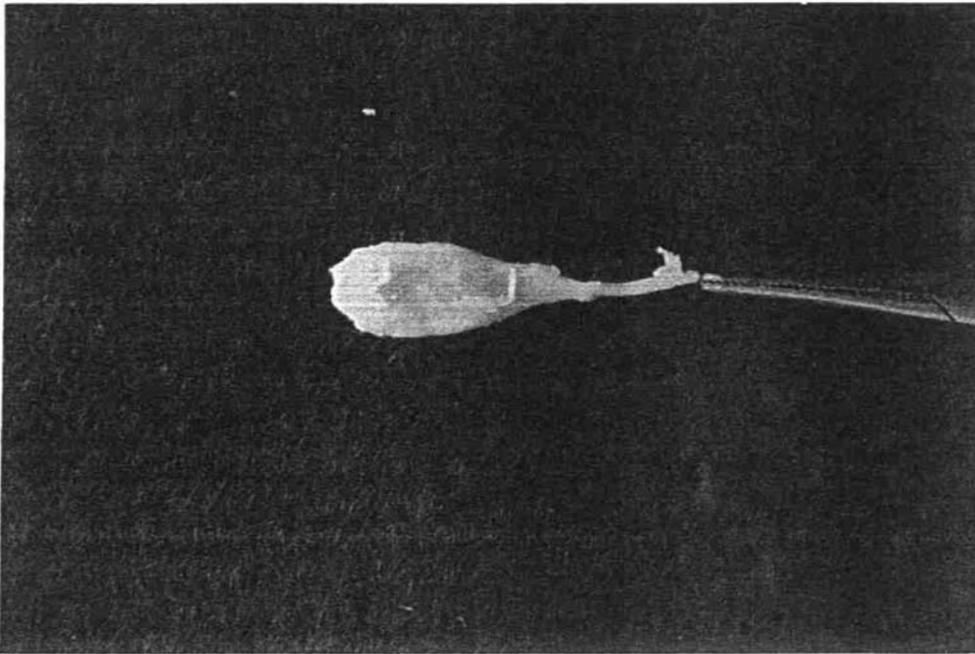


图 2 大鼠肱二头肌长头肌腱（肉眼观）



图 3 正常肱二头肌长头肌腱 HE 染色, 10×10



图 4 正常肱二头肌长头肌腱 HE 染色, 40×10

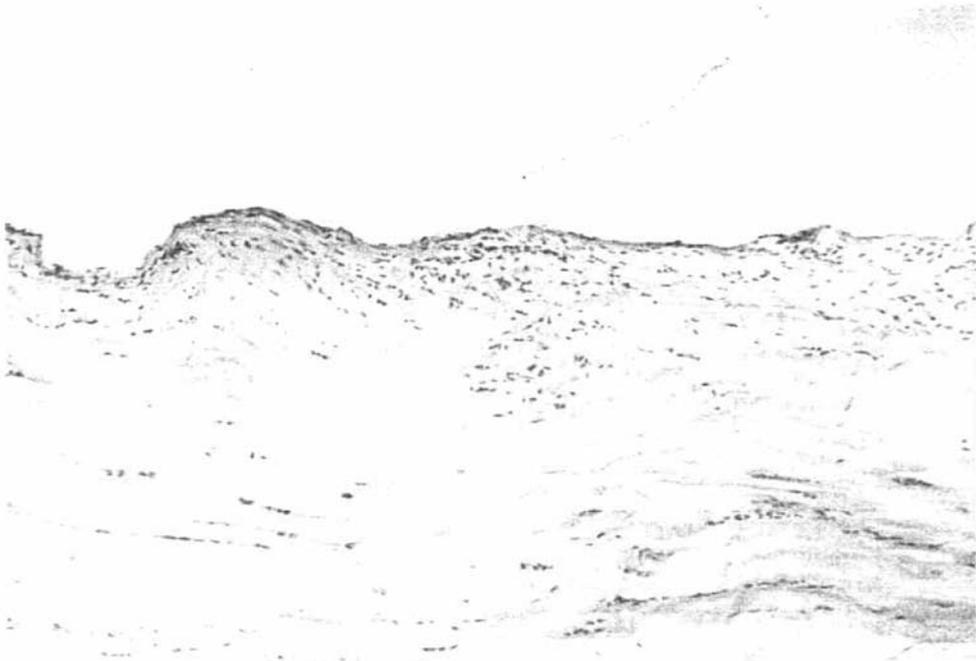


图 5 过度运动 4 周后肱二头肌长头肌腱 HE 染色，10×10



图 6 过度运动 4 周后肱二头肌长头肌腱 HE 染色，40×10



图 7 过度运动 8 周后肱二头肌长头肌腱 HE 染色, 10×10

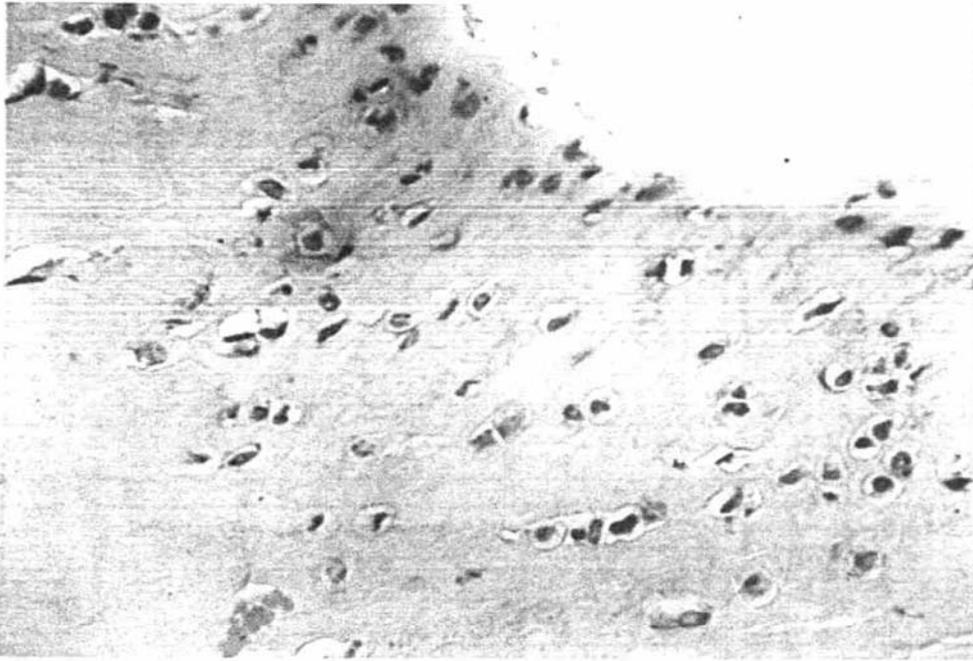


图 8 过度运动 8 周后肱二头肌长头肌腱 HE 染色, 40×10

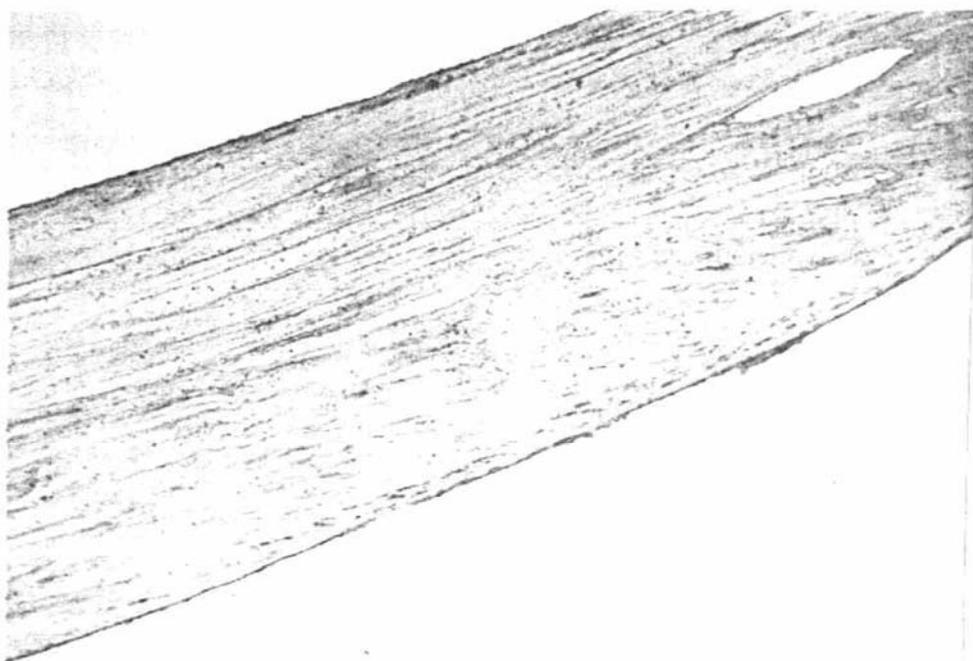


图9 正常肱二头肌长头肌腱 Alcian blue 染色, 10×10

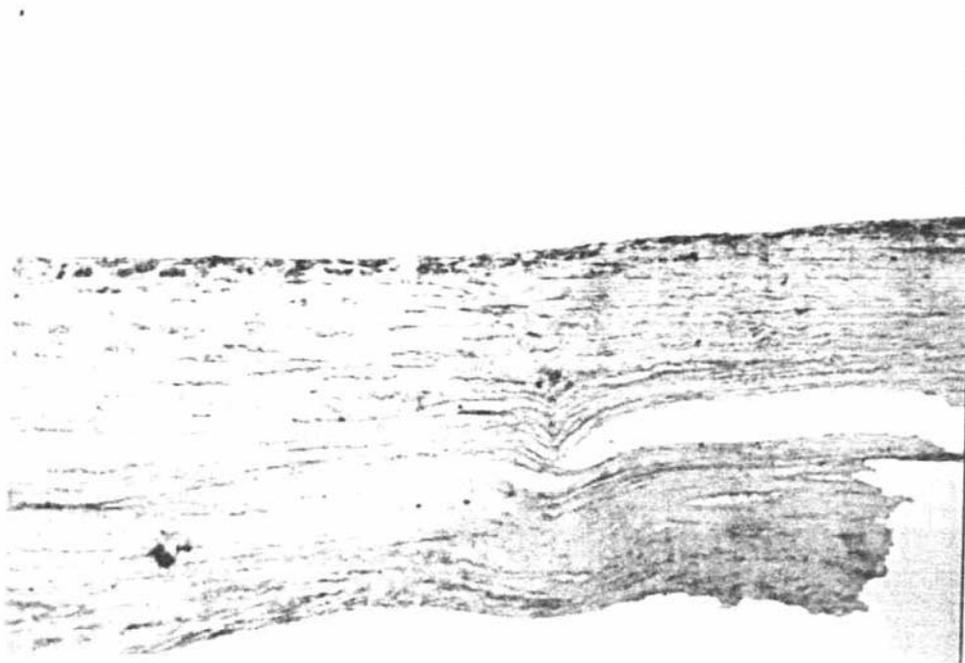


图10 异常肱二头肌长头肌腱 Alcian blue 染色, 10×10



图 11 异常肱二头肌长头肌腱 Alcian blue 染色, 40×10

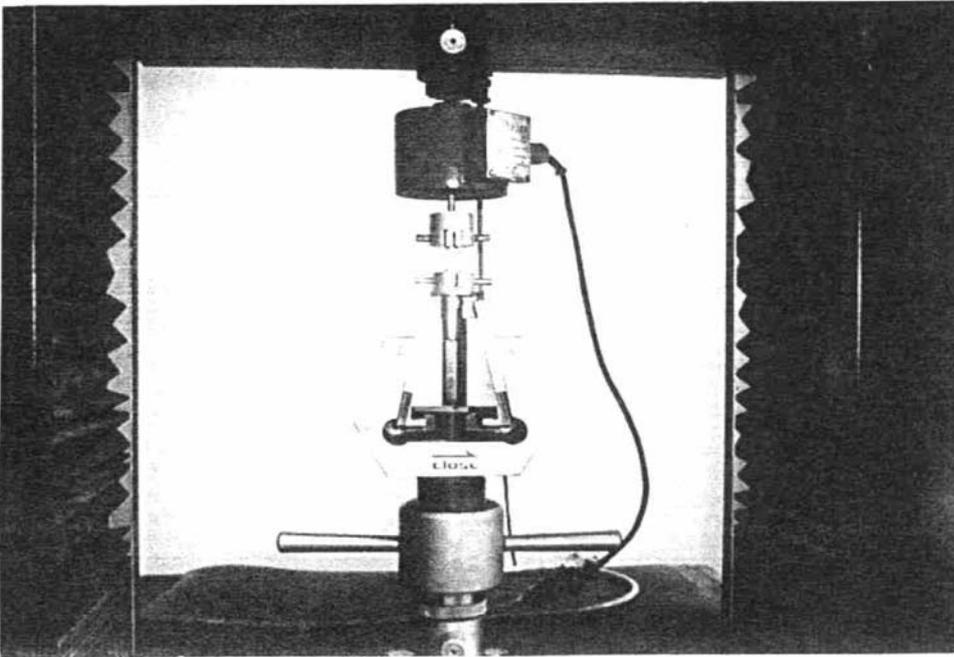


图 12 微机控制电子万能测试机 WDW-100 型

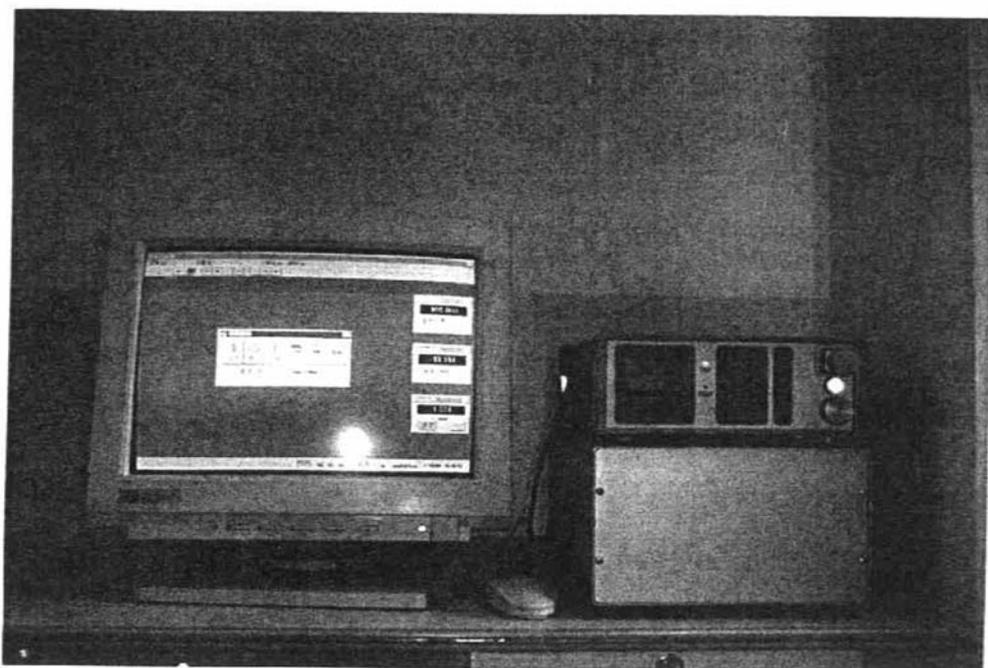


图 13 拉伸仪电脑控制系统

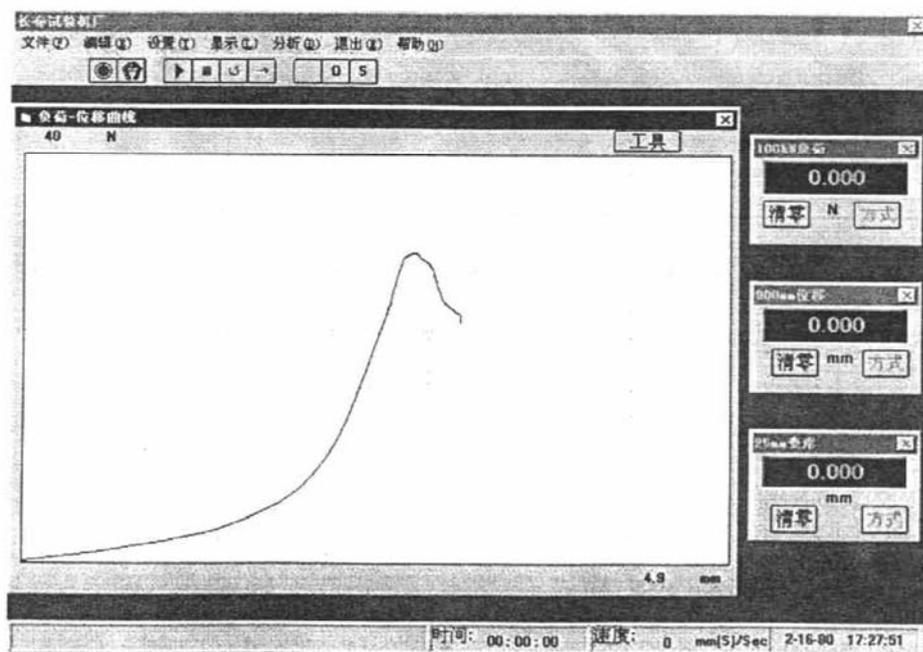


图 14 肌腱载荷-位移曲线



图 15 肌腱周围组织内的游离神经末梢（银染法）40×10

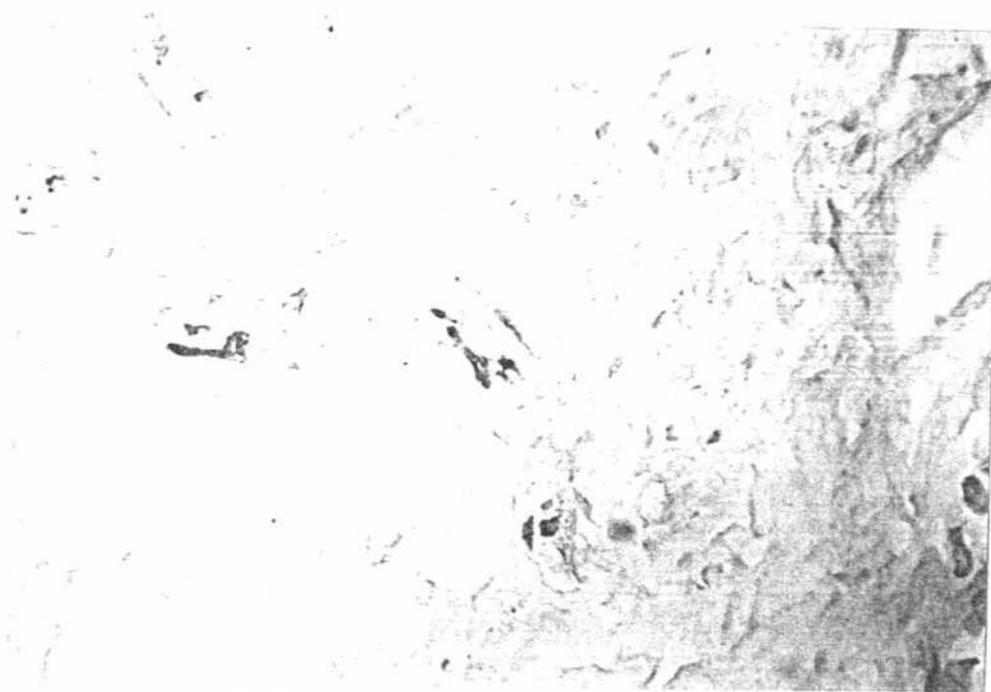


图 16 肌腱周围组织内的游离神经末梢（S-100 染色）40×10

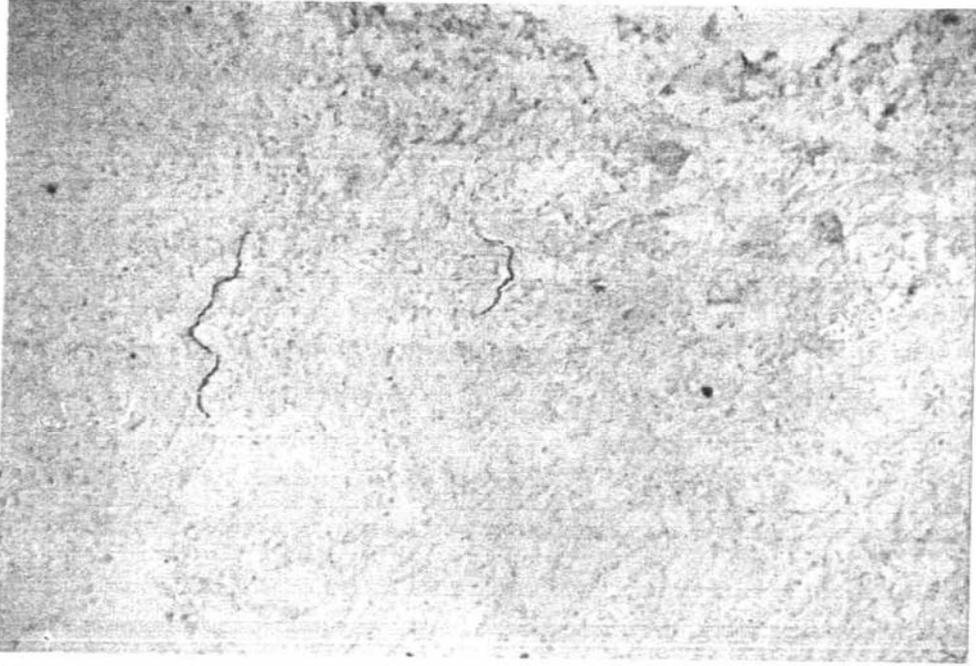


图 17 肌腱周围组织内的 P 物质免疫反应阳性游离神经末梢 10×10

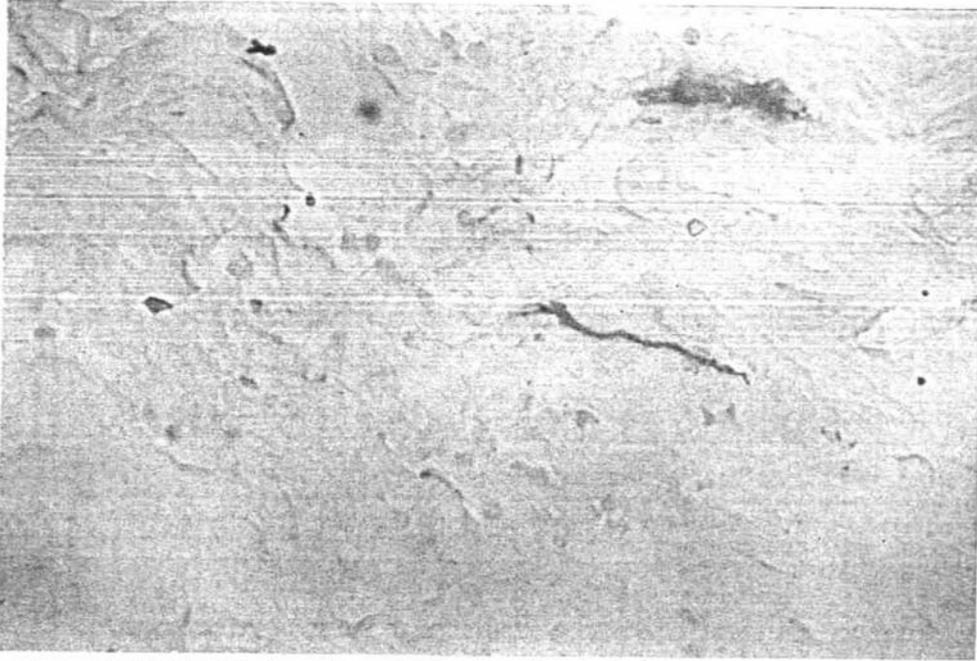


图 18 肌腱周围组织内的 P 物质免疫反应阳性游离神经末梢 40×10

附 录

主要仪器设备

Milli-Q Biocel 超纯水系统, 美国 Millipore 公司

AEG-120 电子分析天平, 日本岛津公司

QL-901 旋涡混合器, 江苏海门其林医用仪器厂

手提式压力蒸汽消毒器, 江阴滨江医疗设备厂

自动纯水蒸馏器(石英管加热式), 上海玻璃仪器一厂

766-口型远红外快速干燥箱, 江苏省南通县金余电器配件厂

SHANDON-2LE 组织脱水处理机, 英国 SHANDON 公司

Leica 冰冻组织切片机, 德国 Leica 公司

紫外线杀菌灯车, 北京空后高温复合材料厂

EM-2 水浴生物组织包埋机

电热恒温水浴锅, 北京化玻联医疗器械有限公司

Olympus-BHT 光学显微镜, 日本 Olympus 公司

Leica 解剖显微镜, 德国 Leica 公司

Leica 全自动显微照相机, 德国 Leica 公司

Leica550 图像分析仪, 德国 Leica 公司

LeicaDM 倒置显微镜, 德国徕卡公司

Olympus 倒置显微镜, 日本奥林巴斯公司