

本文引用: 穆盼盼, 陈亦民, 段苗苗, 黄博, 阮磊, 彭亮. 基于 PI3K/Akt 信号通路探究推拿对骨骼肌过劳性损伤大鼠的修复机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(8): 1476-1481.

基于 PI3K/Akt 信号通路探究推拿对骨骼肌过劳性损伤大鼠的修复机制

穆盼盼, 陈亦民, 段苗苗, 黄博, 阮磊, 彭亮*

湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南长沙 410208

[摘要] **目的** 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨推拿修复大鼠骨骼肌过劳性损伤的作用机制。**方法** 将 32 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为空白组(8 只)和造模组(24 只)。造模组大鼠通过下坡跑进行 4 周离心收缩运动, 诱导骨骼肌过劳性损伤模型, 将造模成功的大鼠再随机分为模型组、推拿组和药物组, 每组 8 只。造模完成 24 h 后, 对各组大鼠均进行黑色棉布包裹头面部及涂抹医用凡士林处理, 推拿组使用自制实验动物按法仪治疗, 药物组使用扶他林(1%双氯芬酸二乙胺乳胶剂)治疗, 每天 2 次, 连续治疗 3 d。干预前后, 采用平衡木测试评估大鼠行为学。干预结束后, HE 染色观察大鼠腓肠肌组织的形态学变化; ELISA 检测血浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)以及白细胞介素-8(IL-8)的含量; Western blot 检测腓肠肌组织中磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)及磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)蛋白的表达。**结果** 与治疗前比较, 推拿组、药物组大鼠治疗后平衡木行走时间均缩短、滑爪次数均减少($P<0.01$)。治疗后, 与空白组比较, 模型组大鼠平衡木行走时间延长、滑爪次数增加($P<0.01$), 腓肠肌炎症细胞浸润明显, TNF- α 、IL-1 β 及 IL-8 含量升高($P<0.01$), PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达量升高($P<0.01$)。与模型组比较, 推拿组、药物组大鼠平衡木行走时间缩短、滑爪次数减少($P<0.01$), 腓肠肌炎症细胞减少, 推拿组、药物组 IL-1 β 、IL-8 含量降低($P<0.05$, $P<0.01$), 推拿组 PI3K、Akt 蛋白表达量升高($P<0.05$, $P<0.01$), 药物组 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达量升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与推拿组相比, 药物组 IL-8 含量升高($P<0.05$)。**结论** 推拿可改善慢性骨骼肌过劳性损伤, 其作用机制可能是通过激活 PI3K/Akt 信号通路, 调节相关炎症因子及 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达, 进而改善骨骼肌组织结构, 抑制骨骼肌慢性炎症水平, 以促进骨骼肌修复。

[关键词] 骨骼肌过劳性损伤; 推拿推拿; 扶他林; PI3K/Akt 信号通路; 炎症反应

[中图分类号] R244.1

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.08.011

Mechanism of tuina on repairing skeletal muscle overuse injury in rats via PI3K/Akt signaling pathway

MU Panpan, CHEN Yimin, DUAN Miaomiao, HUANG Bo, RUAN Lei, PENG Liang*

School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine,

Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of action of tuina manipulation in repairing skeletal muscle overuse injury in rats via the PI3K/Akt signaling pathway. **Methods** Thirty-two male SD rats were randomly divided into a blank group (8 rats) and a modeling group (24 rats) using a random number table. Rats in the modeling group underwent 4 weeks of downhill running-induced eccentric contraction exercise to establish skeletal muscle overuse injury models. Successfully modeled rats were then randomly subdivided into a model group, a tuina group, and a drug group, with 8 rats in each group. At 24 hours post-modeling, all groups of rats were subjected to head and facial wrapping with black cotton cloth and treated with medical vaseline application. The tuina group was treated using a self-made experimental animal pressing manipulation apparatus, while the drug

[收稿日期] 2024-11-12

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82174521)。

[通信作者] * 彭亮, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: pengliangleo@foxmail.com。

group received Voltaren (1% diclofenac diethylamine emulgel) twice daily for 3 consecutive days. Before and after the intervention, behavioral assessment of the rats was conducted using the balance beam test. After the intervention, HE staining was used to observe morphological changes in gastrocnemius muscle tissue, ELISA was used to quantify plasma levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), and interleukin-8 (IL-8), and Western blot was used to determine protein expressions of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), and phosphorylated Akt (p-Akt) in gastrocnemius tissue. **Results** Compared with pre-treatment values, both the tuina and drug groups showed significantly shortened balance beam walking time and reduced paw slips post-treatment ($P<0.01$). After treatment, the model group rats, compared with the blank group, had prolonged balance beam walking time and increased paw slips ($P<0.01$), marked inflammatory cell infiltration in the gastrocnemius muscle, and increased content of TNF- α , IL-1 β , and IL-8 ($P<0.01$), as well as elevated protein expressions of PI3K, Akt, and p-Akt ($P<0.01$). Compared with the model group, both the tuina and drug groups had shortened beam walking time and reduced paw slips ($P<0.01$), decreased inflammatory cell infiltration in the gastrocnemius muscle, and reduced contents of IL-1 β and IL-8 ($P<0.05$, $P<0.01$). The tuina group showed increased protein expressions of PI3K and Akt ($P<0.05$, $P<0.01$), while the drug group had increased protein expressions of PI3K, Akt, and p-Akt ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the tuina group, the drug group had increased IL-8 content ($P<0.05$). **Conclusion** Tuina manipulation can ameliorate chronic overuse-induced skeletal muscle injury. Its mechanism of action may involve activation of the PI3K/Akt signaling pathway and modulation of relevant inflammatory factors and protein expressions of PI3K, Akt, and p-Akt, thereby improving skeletal muscle architecture, suppressing chronic inflammation, and promoting muscle repair.

[Keywords] skeletal muscle overuse injury; tuina manipulation; Voltaren; PI3K/Akt signaling pathway; inflammatory response

骨骼肌过劳性损伤又称运动性肌肉劳损或慢性肌肉损伤,是由于长期重复性机械负荷超过肌肉适应能力而导致的渐进性病理改变,常见于运动员、体力劳动者及健身人群,在运动损伤中占 10%~55%^[1]。其典型症状表现为局部疼痛、肌肉僵硬、力量下降及运动功能障碍,如不及时治疗将严重影响患者的生活质量。骨骼肌损伤后会经历 3 个关键阶段,分别是急性炎症反应初期、肌卫星细胞的活化与增殖再生阶段、再生纤维的成熟与重塑期^[2]。在肌肉损伤后的修复过程中,炎症反应的持续性与严重性不仅对肌卫星细胞的正常功能及肌肉的再生潜力造成阻碍,还常常诱发组织内水肿和修复性纤维化瘢痕形成。这种病理状态严重削弱骨骼肌的收缩效能,使骨骼肌的形态和功能恢复缓慢,肌肉再次受伤的风险增加。研究发现,慢性骨骼肌损伤发生后,易导致肌肉痉挛、萎缩以及凝血功能异常,这些症状可进一步诱发炎症反应^[3]。肌肉的再生过程与损伤后的炎症反应紧密相连^[4]。因此,应重点研究骨骼肌损伤与修复过程的炎症变化。磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase, PKB, Akt)构成的信号通路是骨骼肌损伤修复的重要途径之一^[5]。降低炎症反应的程度,对肌肉组织损伤后的恢复具有积极影响^[6]。因此,调控 PI3K/Akt 信号通路以及控制炎症反应,是促进骨骼肌损伤修复的有效途径之一。近年来,推法广泛应用于伤科疾

病,在疼痛的局部施用推法,起到舒筋、理筋、整复的作用,达到行气活血、疏经通络的目的^[7]。本研究通过构建骨骼肌过劳性损伤大鼠模型,观察 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白水平和炎症因子的变化,探讨推法对骨骼肌过劳性损伤的修复效果及效应机制。扶他林具有显著的抗炎、镇痛作用,常用于治疗急慢性肌肉损伤^[8],故本实验选用扶他林作为药物对照。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择 SPF 级健康成年雄性 SD 大鼠 32 只,7~8 周龄,体质量 220~250 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004。饲养于湖南中医药大学动物实验中心,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2019-2009。所有实验大鼠均遵循标准化的饲养流程,饲养环境温度 20~25 °C,湿度 50%~70%,自由进食进水,12 h/12 h 明暗循环。本研究严格遵守伦理准则,已通过湖南中医药大学实验动物伦理委员会审查批准,批准编号:SLBH-202312200001。

1.2 主要仪器和试剂

1.2.1 主要仪器 小动物实验跑步机(北京众实迪创科技发展有限责任公司,型号:ZS-PT-III);自制实验动物按法仪(专利号:ZL202320894776.7);智能

推拿手法参数测定系统(上海中宏科教设备有限公司,型号:ZTC-II);电子节拍器(杭州艺钛乐器有限公司,型号:AM-705);宠物脱毛剃毛器(奥克斯集团有限公司,型号:AUX-C5);凝胶电泳成像仪(上海伯乐生命医学产品有限公司,型号:BG-subMIDI);化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司,型号:ChemiScope6100)。

1.2.2 主要试剂 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)、白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)试剂盒(厦门仑昌硕生物科技有限公司,批号:ED-31063、ED-30206、JM-01582R2);异氟烷(山东安特牧业科技有限公司,批号:2023101602);扶他林乳胶剂(北京诺华制药有限公司,批号:H20181225);蛋白提取液、蛋白酶抑制剂、羊抗兔 IgG-HRP(北京百奥思科生物技术有限公司,批号:MDL91201、MD912893、MD912565);Actin 抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号:AF7018);PI3K 抗体、Akt 抗体、p-Akt 抗体(上海贝博生物科技有限公司,批号:A19805、A10447、A10442);医疗用凡士林(英科医疗科技股份有限公司,批号:ACQ038-2023)。

1.3 动物分组与造模

1.3.1 动物分组 采用随机数字表法将 32 只雄性 SD 大鼠分为空白组(8 只)和造模组(24 只)。造模完成后,再将造模组大鼠按照随机数字表法分成模型组、推法组和药物组,每组 8 只。

1.3.2 造模方法 造模组大鼠参照 Armstong 离心运动^[9],使用小动物实验跑步机采取下坡跑离心运动制作骨骼肌过劳性损伤模型大鼠,具体操作如下。先让大鼠适应性运动 5 d:第 1、2 天,以 16 m/min 的速度在 0°的角度行走,持续 10 min;第 3、4 天,同样的速度下,倾斜度调整为-5°,行走时间延长至 15 min;第 5 天,倾斜度增加到-10°,速度保持不变,行走时间延长至 30 min,每天 1 次。适应性运动 5 d 后休息 2 d,开始进行为期 4 周的离心运动(6 d/周)。第 1 周:倾斜度-16°,60 min,16 m/min;第 2 周:倾斜度-16°,60 min,20 m/min;第 3、4 周:倾斜度-16°,90 min,20 m/min。造模完成 24 h 后进行平衡木测试,观察大鼠通过平衡木时间延长、滑爪次数增加,表明造模成功^[10-12]。

1.4 干预方法

造模完成 24 h 后,对推法组和药物组进行相应治疗。推法组和药物组治疗过程中,用黑色透气棉布包裹大鼠头面部,防止大鼠在治疗过程中挣扎。

推法组大鼠露出右后肢腓肠肌及相邻肌肉部位,进行剃毛处理并均匀涂抹医用凡士林。为解决动物实验中徒手推法难以规范化和量化的问题,使用本团队设计的自制实验动物按法仪,并配合电子节拍器控制操作时间及频率^[13]。干预前,使用按法仪在智能推拿手法参数测定系统测试 3 次以上,以保证操作规范。故使用自制实验动物按法仪将硅胶接触头置于大鼠右后肢腓肠肌部位,并通过按法仪力度定位销控制下压力度,随后朝大鼠右后肢腓肠肌近心端方向,施以单方向直线推动,推法下压力度约为 2 N^[14-15],为达到深度按摩效果,频率为 80 次/min^[16],3 min/次,每天上午、下午各干预 1 次,共持续 3 d。药物组给予适量扶他林乳胶剂均匀涂抹于大鼠右后肢腓肠肌部位,治疗时间为上午 9:00 和下午 4:00,共持续 3 d。空白组和模型组仅进行头面部包裹及涂抹医用凡士林处理,以确保实验协同性。

1.5 取材

分别于造模结束 24 h 后和干预结束 24 h 后,采用平衡木测试评估大鼠骨骼肌损伤后的运动协调性。平衡木测试结束后,使用 2%异氟烷对大鼠进行呼吸麻醉。进行腹腔采血,全血样本室温静置 1 h,4 °C、3 000 r/min(离心半径 7 cm)离心 10 min,分离血浆冻存于-80 °C冰箱备用。剥离大鼠右后肢腓肠肌组织,分为 3 份,1 份采用 4%多聚甲醛浸泡固定,另外 2 份冻存于-80 °C冰箱,用于后续 ELISA 检测和 Western blot 检测。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 平衡木测试大鼠穿过木梁所需行走时间及滑爪次数 将木梁(2 cm×120 cm)放置在距地面 120 cm 的高度,暗箱位于木梁一端,使大鼠从木梁另一端走进暗箱,记录大鼠穿过木梁后到达暗箱所需行走时间和滑爪次数,记录 3 次测试结果并计算平均值。每次测试后,用 75%乙醇擦拭木梁和暗箱。

1.6.2 HE 染色观察大鼠腓肠肌组织形态 取大鼠右后肢腓肠肌组织,将其浸泡于 4%多聚甲醛中过夜,依次脱水、包埋、切片、染色、脱水、封装,用显微镜观察并采集图像。

1.6.3 ELISA 检测血浆中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 含量 设置孔位,加入标准液,放入待测大鼠腓肠肌组织样本,加入抗体,密封孵育,加入底物孵育,添加终止液,测量 OD 值。

1.6.4 Western blot 检测腓肠肌组织中 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达 将腓肠肌组织匀浆后,加入裂解液,4 °C、12 000 r/min(离心半径 7 cm)离心 15 min,收集上清液;BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度;电

泳、转膜、封闭;PI3K、Akt、p-Akt 抗体(均 1:1 000), β -actin 抗体(1:3 000),4 °C 孵育过夜;洗涤后加入二抗(1:300),室温孵育 1 h;化学发光成像系统获取蛋白条带,ImageJ 软件分析。

1.7 统计学方法

本研究采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析。计量资料服从正态分布以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 *LSD-t* 检验,方差不齐则采用 *Tamhan's T2* 检验。均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠治疗前后平衡木行走时间及滑爪次数比较

与治疗前比较,推法组、药物组大鼠治疗后平衡木行走时间均缩短、滑爪次数均减少($P<0.01$)。治疗后,与空白组比较,模型组大鼠平衡木行走时间延长、滑爪次数增加($P<0.01$);与模型组比较,推法组、药物组大鼠平衡木行走时间缩短、滑爪次数减少($P<0.01$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠治疗前后平衡木行走时间及滑爪次数比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Comparison of balance beam walking time and paw slips among different groups of rats before and after treatment ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	平衡木时间/s		滑爪次数/次	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
空白组	4.50±1.16	4.75±1.03	1.00±0.53	1.16±0.64
模型组	10.50±1.20**	9.50±1.78**	3.00±0.76**	2.75±1.03**
推法组	11.13±1.36**	5.50±0.93 ^{##}	3.38±0.74**	1.63±1.06 ^{###}
药物组	11.00±1.60**	5.87±1.13 ^{##}	3.35±0.76**	1.38±0.52 ^{###}

注:与治疗前比较,^{##} $P<0.01$;与空白组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,^{###} $P<0.01$ 。

2.2 各组大鼠腓肠肌组织形态学结果

空白组大鼠腓肠肌的肌纤维排列紧密有序,肌束完好,横纹分明;模型组腓肠肌可见明显的炎症

细胞浸润;推法组腓肠肌炎症细胞明显减少;药物组可见腓肠肌炎症细胞浸润,但与模型组相比较少,与推法组相比较多。详见图 1。

2.3 各组大鼠血浆中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 含量比较

与空白组相比,模型组 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-8 含量升高($P<0.01$);与模型组相比,推法组、药物组 IL-1 β 、IL-8 含量降低($P<0.05, P<0.01$);与推法组相比,药物组 IL-8 含量升高($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠血浆中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 含量比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Comparison of content of TNF- α , IL-1 β , and IL-8 in plasma among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	TNF- α /(pg/g)	IL-1 β /(pg/g)	IL-8/(pg/g)
空白组	149.08±31.74	21.60±1.87	172.23±3.41
模型组	217.90±44.90**	43.52±2.79**	276.40±20.24**
推法组	199.14±26.06**	29.97±4.60 ^{##}	210.90±17.96 ^{###}
药物组	185.81±32.31**	27.27±2.56 ^{###}	233.90±25.72 ^{###} [△]

注:与空白组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05, \sup{##} $P<0.01$;与推法组比较,[△] $P<0.05$ 。$

2.4 各组大鼠腓肠肌组织中 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达量比较

与空白组相比,模型组 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达量升高($P<0.01$);与模型组相比,推法组 PI3K、Akt 蛋白表达量升高($P<0.05, P<0.01$),药物组 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达量升高($P<0.05, P<0.01$)。详见表 3、图 2。

表 3 各组大鼠腓肠肌组织中 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达量比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Comparison of protein expression levels of PI3K, Akt, and p-Akt in the gastrocnemius muscle tissue among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	PI3K	Akt	p-Akt
空白组	0.39±0.07	0.47±0.03	0.48±0.08
模型组	0.51±0.02**	0.54±0.01**	0.59±0.03**
推法组	0.67±0.04 ^{###}	0.66±0.04 ^{##}	0.67±0.05**
药物组	0.68±0.02 ^{###}	0.65±0.02 ^{##}	0.64±0.04 ^{##}

注:与空白组比较,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05, \sup{##} $P<0.01$ 。$

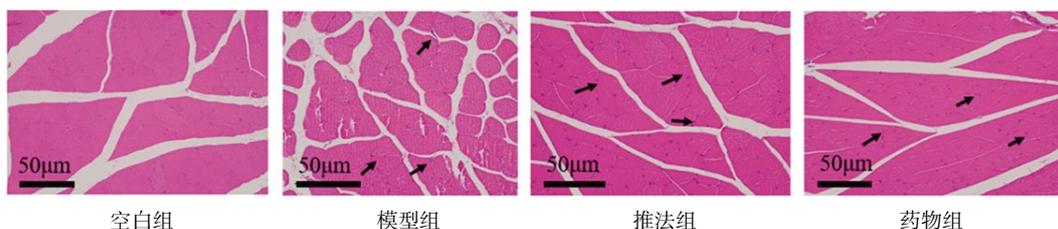


图 1 大鼠骨骼肌组织形态变化(HE, $\times 200$)

Fig.1 Morphological changes in rat skeletal muscle (HE, $\times 200$)

注:黑色箭头所指为炎症细胞。

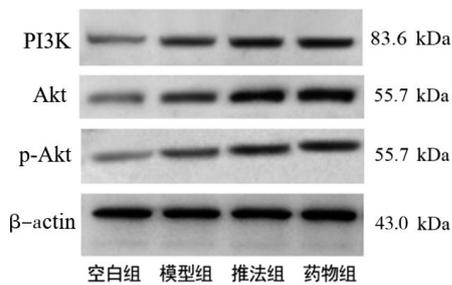


图2 各组大鼠腓肠肌组织中 PI3K/Akt 信号通路蛋白磷酸化电泳条带图

Fig.2 Phosphoprotein electrophoretic bands of PI3K/Akt signaling pathway in gastrocnemius muscle tissue among different groups of rats

3 讨论

骨骼肌过劳性损伤是指因长期、反复或过度使用骨骼肌,超出其自我修复能力,导致肌肉组织微损伤累积,引发的结构或功能异常。中医学将骨骼肌过劳性损伤归属于“筋伤”或“痹病”等范畴,核心病机为局部气血运行不畅、筋脉失养、经筋受损、经络阻塞等。此类损伤会引发炎症,导致肌肉痉挛、萎缩,形成瘢痕甚至粘连,这些病理改变可能阻碍局部的血液流动,造成肌肉组织血液供应不足、缺氧,从而引发肌肉组织的疼痛、麻木、无力等症状^[17]。骨骼肌过劳性损伤后,多种炎症因子参与的炎症反应在修复过程中发挥重要作用。

TNF- α 是评估受损部位炎症严重程度的一个重要指标,由活化的巨噬细胞释放,是介导炎症反应的关键炎症因子^[18]。在损伤早期阶段,炎症级联反应主要源自肌纤维的坏死与水肿,激活肥大细胞和巨噬细胞,异常分泌 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子,加剧炎症反应^[19]。因此,修复骨骼肌损伤首先要降低 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子的表达水平。在炎症反应发生过程中,PI3K/Akt/mTOR 信号通路会被激活,该通路对中性粒细胞和巨噬细胞在细胞外基质外的黏附、迁移功能具有关键调控作用^[20]。中性粒细胞发生凋亡,随后由巨噬细胞介导吞噬作用,是炎症发生过程中必不可少的组成部分^[21]。已有研究证实, I 型 PI3K 可能通过调控 Akt 磷酸化水平,影响细胞因子依赖的中性粒细胞存活周期,而 PI3K/Akt 通路的活化对骨骼肌修复与再生具有显著正向效应^[22]。PI3K 家族成员(如 PI3K α 、PI3K β 等)还能通过调节树突状细胞的 CD80/CD86 共刺激分子表达,进一步影响 IL-6 等炎症因子的分泌,优化免疫细胞功能^[20]。相关研究显示,在 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)介导的炎症反应中,对 PI3K 信号的抑制能够降低巨噬细胞和树突状细胞分泌促炎

因子,并促进抗炎细胞因子 IL-10 的分泌^[23]。I 型 PI3K 被揭示可能通过精细调控 Akt 的活化状态,间接影响细胞因子所介导的中性粒细胞存活状态,可以推断 PI3K/Akt 信号通路在骨骼肌的再生机制中发挥调控功能^[22]。本研究据此推测,推拿可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路,来调节大鼠受损骨骼肌的炎症水平,从而对骨骼肌过劳性损伤后的修复过程产生积极作用。

推拿作为传统的医疗技术,是临床常用的理筋手法之一。运用推拿作用于病变组织、经筋或穴位,具有疏通经络、活血化瘀、缓解肌肉粘连等功效^[24-25],从而促进疾病临床症状的改善和治愈。其创伤性低、不良反应少,临床用于各类伤科疾病中疗效明确^[26],对软组织慢性劳损改善效果显著,故骨骼肌过劳性损伤时运用推拿可促进其修复。本研究造模后行平衡木测试发现,与空白组比较,造模组大鼠平衡木行走时间延长、滑爪次数增加,表明造模成功。

扶他林乳胶剂的主要成分为双氯芬酸二乙胺,是一种外用非甾体抗炎药,主要作用机制是通过抑制环氧酶的活性,阻断花生四烯酸转化为前列腺素^[8]。前列腺素是炎症介质,能引起疼痛、肿胀和发热,减少其合成可有效缓解局部炎症反应,作为临床较为常用的抗炎药,适用于肌肉拉伤、关节扭伤、肌腱炎、滑膜炎等软组织损伤,以及骨关节炎、类风湿性关节炎等慢性炎症性疾病。推拿和扶他林药物两种治疗方式都是通过调控炎症因子水平,抑制炎症反应,达到修复骨骼肌的目的,故本实验选用扶他林乳胶剂作为阳性对照药物^[27]。相较于口服非甾体抗炎药,扶他林乳胶剂在透皮吸收性上得到了较好的保证,采用局部外用给药方式,能够直接作用于患处,减少全身性毒副作用(如胃肠道刺激、肝肾负担等),安全性较高。使用时,取适量扶他林乳胶剂涂抹于疼痛或炎症部位,轻轻按摩促进吸收,从而达到较好的镇痛、抗炎等作用,相对非甾体抗炎药其用药局限性较小,可通过调控相关炎症因子的表达,有效促进组织修复。病理染色结果显示,与空白组比较,其他各组的骨骼肌都有不同程度的炎症细胞浸润;与模型组比较,推拿组和药物组治疗后炎症细胞浸润程度皆有所改善。

本研究通过参照 Armstrong 造模方案^[9]构建骨骼肌过劳性损伤大鼠模型,推拿作为干预手段,参照相关治疗参数,结果显示,推拿对骨骼肌过劳性损伤后修复具有促进作用。PI3K/Akt 信号通路中,生理状态下的细胞内 PI3K 表达水平很低,损伤后活化、表达水平快速增高^[28];Akt 则需经双磷酸化机制激活,

其二次磷酸化位点 p-Akt(Ser473)将充分发挥 Akt 的生物功能活性,促进细胞存活^[29]。本研究结果显示,推法治疗可缩短骨骼肌过劳性损伤大鼠平衡木行走时间,减少滑爪次数,减轻炎症细胞浸润程度,改善慢性骨骼肌损伤和运动功能,其作用机制可能是通过激活 PI3K/Akt 信号通路,调节相关炎症因子及 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达,进而改善肌肉组织结构,显著抑制骨骼肌炎症水平,促进骨骼肌修复。但本研究存在一定局限性,实验治疗时间较短,未对各个时间段的治疗情况进行对比,通路中蛋白与蛋白之间的调控联系有待进一步探索。

综上所述,骨骼肌过劳性损伤在推法干预下具有显著的修复效果,其作用机制可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路,并调控相关炎症因子及蛋白表达,发挥修复作用,为临床应用推法治疗骨骼肌过劳性损伤提供了理论基础和新思路。

参考文献

- [1] D'AMICO A, CAVARRETTA E, FOSSATI C, et al. Platelet activation favours NOX2-mediated muscle damage in elite athletes: The role of cocoa-derived polyphenols[J]. *Nutrients*, 2022, 14(8): 1558.
- [2] LAUMONIER T, MENETREY J. Muscle injuries and strategies for improving their repair[J]. *Journal of Experimental Orthopaedics*, 2016, 3(1): 15.
- [3] 张志杰, 李亚鹏, 冯亚男, 等. 深层振动刺激承山穴对健康人腓肠肌内外侧头及跟腱硬度的研究[J]. *中国康复医学杂志*, 2019, 34(11): 1365-1368.
- [4] DUCHESNE E, DUFRESNE S S, DUMONT N A. Impact of inflammation and anti-inflammatory modalities on skeletal muscle healing: From fundamental research to the clinic[J]. *Physical Therapy*, 2017, 97(8): 807-817.
- [5] FU Y Y, LI S, TONG H L, et al. WDR13 promotes the differentiation of bovine skeletal muscle-derived satellite cells by affecting PI3K/AKT signaling[J]. *Cell Biology International*, 2019, 43(7): 799-808.
- [6] 陈玄, 叶笑然, 黄晓卿. 电针对大鼠失神经支配骨骼肌萎缩及 IGF-1/PI3K/AKT 表达的影响[J]. *中国针灸*, 2018, 38(12): 1311-1317.
- [7] 卢国明, 贾安琪, 杨欣玥, 等. 崔述生教授通经推法应用探析[J]. *环球中医药*, 2024, 17(3): 457-460.
- [8] 张宇翔. 自制痹痛方膏剂对急性期肩周炎患者的临床疗效观察[D]. 泸州: 西南医科大学, 2023.
- [9] LIU Q S, JIN S L, LI L Y, et al. Massage protects skeletal muscle from injury during long-term heavy-duty exercise via integrin β 1 and laminin 2 channels of basement membrane[J]. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2023, 23(1): 266.
- [10] 黄博, 阮磊, 王兰兰, 等. 推拿技袞法介导机械敏感性离子通道 Piezo1 对骨骼肌损伤模型大鼠细胞凋亡的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(12): 2249-2255.
- [11] PABLOS A, CECA D, JORDA A, et al. Protective effects of foam rolling against inflammation and notexin induced muscle damage in rats[J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2020, 17(1): 71-81.
- [12] LIU M X, LI Y, ZHONG J, et al. The effect of IL-6/Piezo2 on the trigeminal neuropathic pain[J]. *Aging*, 2021, 13(10): 13615-13625.
- [13] 陈亦民, 穆盼盼, 段苗苗, 等. 基于 MAPK 信号通路探究推拿对骨骼肌过劳性损伤大鼠的影响研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2024, 47(12): 1769-1776.
- [14] 梅荣军, 肖显坤, 李旗, 等. 机械振动推拿对大鼠臂丛神经损伤恢复作用机理研究[J]. *针灸临床杂志*, 2007, 23(12): 33-35.
- [15] 杨丽秋, 夏惠明, 龙鑫, 等. 名医夏惠明教授平推法干预慢性腰肌损伤兔模型的研究[J]. *云南中医中药杂志*, 2021, 42(7): 76-79.
- [16] 孙武权, 严隽陶. 推拿手法频率的理论探讨与实验研究[J]. *按摩与导引*, 2002(5): 2-4.
- [17] 梁丹丹, 蒋璟玮, 罗东, 等. 低强度聚焦超声促进 SD 大鼠慢性骨骼肌损伤修复[J]. *重庆医科大学学报*, 2019, 44(9): 1140-1143.
- [18] 王玮, 张雪非. 爆炸伤创面 IL-1、IL-6、TNF- α 、CRP 的测定[J]. *中国矫形外科杂志*, 2007, 15(18): 1418-1420.
- [19] WARREN G L, SUMMAN M, GAO X, et al. Mechanisms of skeletal muscle injury and repair revealed by gene expression studies in mouse models[J]. *The Journal of Physiology*, 2007, 582(2): 825-841.
- [20] 吕欣, 周达岸. PI3K/AKT 信号通路对骨骼肌再生的影响研究进展[J]. *中国运动医学杂志*, 2020, 39(11): 908-912.
- [21] 朱思洵, 姚昶, 杨静, 等. 基于 APLN/PI3K/Akt 信号通路探讨柴胡疏肝散加减对三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移与侵袭的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2025, 45(2): 228-238.
- [22] 嵇莹莹, 龚国清. PI3K/Akt/mTOR 通路在炎症相关疾病中分子机制研究进展[J]. *药学研究*, 2018, 37(4): 226-229.
- [23] 孙一丹, 王慧敏, 吴逸, 等. 基于 PI3K/AKT 信号通路探讨石芦清金颗粒对脂多糖致小鼠急性肺损伤的保护作用机制[J]. *陕西中医*, 2025, 46(6): 751-755, 781.
- [24] 罗翱, 唐成林, 黄思琴, 等. 推拿对骨骼肌急性钝挫伤模型大鼠炎症、氧化应激及细胞自噬相关因子的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2018, 40(6): 407-413.
- [25] 黄世标, 吕赞. 推拿按摩对于运动损伤的作用研究[J]. *当代体育科技*, 2021, 11(28): 31-33.
- [26] 薛惠天, 王兰兰, 孙梦龙, 等. 推拿手法对骨骼肌损伤修复炎症因子的影响综述[J]. *亚太传统医药*, 2023, 19(4): 247-251.
- [27] 宋亦祺, 张彪, 陈阳, 等. 扭伤散治疗大鼠急性软组织损伤的效果及作用机制研究[J]. *中医正骨*, 2025, 37(2): 13-20, 27.
- [28] COULTHARD L R, WHITE D E, JONES D L, et al. p38 (MAPK): Stress responses from molecular mechanisms to therapeutics[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2009, 15(8): 369-379.
- [29] ROSKOSKI R. Targeting ERK1/2 protein-serine/threonine kinases in human cancers[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 142: 151-168.