DOI:10.16016/j.2097-0927.202307074

模拟直升机低频振动致大鼠腰痛模型的建立与鉴定

刘红珍[1],徐洋杰[1],赵 秦[1],齐光辉[2],王海燕[3],李 森[3],刘 媛[3],谭波涛[1],殷 樱[1],杨 策[3] 400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院康复医学科[1];362100 福建 泉州,73159 部队 91 分队[2];400042 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)大坪医院特殊环境战伤防治研究室,创伤与化学中毒全国重点实验室[3]

[摘要] **目的** 通过模拟直升机低频振动建立急性腰痛(acute low back pain, ALBP)模型,探讨陆军飞行人员急性腰痛的成因,为其发生机制和防护提供可靠的动物模型与评估手段。**方法** 选取 48 只 8 周龄雄性 SD 大鼠[体质量(200±20) g],采用随机数字表法分为造模 A(振动 1 h)、B(振动 3 h)、C(振动 6 h)组和 D(空白对照)组,每组 12 只。连续 5 d 将大鼠分别暴露于 10 Hz 的六自由度振动台 1、3 和 6 h。在造模前和造模后第 1、4、7 和 14 天行 von Frey 测试、旷场实验、转棒疲劳实验、步态分析、24 h 摄食量等行为学检测;光学显微镜观察多裂肌组织学变化。**结果** 行为学结果显示,持续性低频振动暴露大鼠缩足反射阈值降低($P<0.01$)、24 h 摄食量减少($P<0.01$)、直立次数减少($P<0.05$)、转棒跌落速度降低($P<0.05$)、支撑时比较缩短($P<0.05$)、足印面积减小($P<0.05$)、步行速度降低($P<0.05$)。多裂肌组织学显示细胞水肿,肌细胞形态紊乱且大小不一,排列不均,肌间隙细胞核增多,伴有大量炎性细胞浸润、聚集。**结论** 持续低频振动环境暴露会导致大鼠腰痛相关行为学和腰部多裂肌组织学病变。

[关键词] 低频振动;急性腰痛;动物模型;疼痛相关行为学;多裂肌
[中图法分类号] R-332; R277.7; R852.25 [文献标志码] A

Establishment and identification of a rat model of low back pain induced by simulated helicopter low-frequency vibration

LIU Hongzhen[1], XU Yangjie[1], ZHAO Qin[1], QI Guanghui[2], WANG Haiyan[3], LI Sen[3], LIU Yuan[3], TAN Botao[1], YIN Ying[1], YANG Ce[3] [1]Department of Rehabilitation Medicine, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010; [2]Unit 91 of Troop 73159, Quanzhou, Fujian Province, 362100; [3]State Key Laboratory of Trauma and Chemical Poisoning, Department of Special War Wound, Daping Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To establish an acute low back pain (ALBP) model by simulating low-frequency vibration of helicopters and explore the causes of ALBP in army aviation pilots in order to provide a reliable animal model and evaluation method for its pathogenesis and protection. **Methods** Forty-eight male SD rats (8 weeks old, weighing 200±20 g) were selected and randomly divided into groups A, B and C, with vibration for 1, 3 and 6 h, respectively, and group D as blank control, with 12 rats in each group. The rats were fixed in sitting posture on a vibrating table (10 Hz, with 6 degree vibration) for corresponding durations during 5 consecutive days. Animal behavioral tests were performed before and on days 1, 4, 7 and 14 after modelling, including paw withdrawal threshold, open field test, rotarod fatigue test, gait analysis, and 24-hour food intake assessment. Finally, light microscopy was used to observe the morphological structure of the multifidus muscle. **Results** Behavioral examinations revealed that persistent low-frequency vibration

[基金项目] 院士牵头科技创新引导专项(2022YSZX-JCX0015CSTB);陆军特色医学中心人才创新能力培养计划(ZXZYTSYS11)
[通信作者] 殷 樱,E-mail: 300735@cqmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

resulted in decreased foot-contraction reflex thresholds ($P<0.01$), amount of 24-hour food consumption ($P<0.01$), count of upright standing ($P<0.05$), rotarod velocity at rat falling off ($P<0.05$), duty cycle ($P<0.05$), footprint surface area ($P<0.05$), and walking speed ($P<0.05$). Histological observation for the multifidus muscle demonstrated cellular edema and myocyte disorganization accompanied by inflammatory cell infiltration and aggregation. **Conclusion** Continuous exposure to a low-frequency vibration leads to significant low back pain-related behaviors and histological changes in the lumbar multifidus muscle of rats.

[**Key words**] low-frequency vibration; acute low back pain; animal model; pain-related behaviors; multifidus muscle

Supported by the Special Project of Academician-Leaded Scientific and Technological Innovation Guidance Program (2022YSZX-JCX0015CSTB) and the Project of Talent Innovation Capacity Training of Army Medical Center of PLA (ZXZYTSYS11). Corresponding author: YIN Ying, E-mail: 300735@cqmu.edu.cn

职业性全身振动是直升机飞行人员急性腰痛(acute low back pain,ALBP)的重要原因之一[1]。急性发作时腰部疼痛可延伸至下肢,呈腰部压痛明显,活动受限。研究表明,直升机飞行员一年内腰痛患病率为48.1%。既往其腰背痛的高发生率多数归因于飞行人员的低频振动暴露[2],但许多ALBP发病机制不明、防治效果差、容易复发、难以根治。严重时可导致飞行人员停飞,直接影响飞行作业能力和飞行计划的实施[3-4]。因此,亟待建立相应的ALBP模型以探索ALBP成因及改善与防护措施,降低腰痛持续、脊柱退化和腰椎间盘突出症等康复风险。

直升机振动持续时间占整个飞行时间的90%~98%,以低频振动(6~20 Hz或10~30 Hz)为主,振幅多间于1.5~9 mm,其中脊柱共振频率为8~12 Hz[1,5]。近年有研究者用兔[6]、狗[7]、绵羊[8]、牛[9]、恒河猴[10]和大鼠[11]做椎间盘穿刺退变腰痛模型,与低频振动致ALBP在成因上存在显著差别。既往研究表明大鼠椎骨与人类椎骨的宽度与深度轴向长宽比非常相近,因此大鼠脊柱可以作为模拟人类脊柱轴向和剪切载荷的合适替代物[12]。既往虽有大鼠单独肢体或全身振动后疼痛诱导和维持评价[13-15],但其振动反应及其与损伤关系尚不明确。BAIG等[14]将大鼠在麻醉维持并俯卧位下进行15 Hz的振动暴露,发现前爪和后爪即时和瞬时行为敏感性增加,重复暴露会产生持续性痛阈改变,并增强后续振动或炎症诱导的肌肉痛觉过敏[16],提示全身振动是一种潜在的致痛原因。但其研究无法模拟飞行人员坐姿环境,且腰部肌肉在麻醉松弛状态下对腰椎应力性稳固作用受损。对此,本研究采用10 Hz频率的三维六度振动对坐姿清醒大鼠进行环境暴露,模拟直升机振动后腰痛。考虑到既往多数研究关注腰椎小关节等结构性病变而非急性损伤反应,且腰痛的综合评估方法研究甚少,本研究以冯弗雷测试(von Frey)量化痛觉评估[17-18],结合动物步态分析系统(CatWalk XT)[19-21]和转棒疲劳实验[22]、旷场实验和摄食量[23]综合评估低频振动暴露大鼠ALBP的身心反应,并通过腰部多裂肌形态学变化予以验证[16,24],旨在模拟直升机低频振动环境,探讨低频振动诱导坐姿大鼠腰痛发生特点,为无创性ALBP研究提供新的视角。

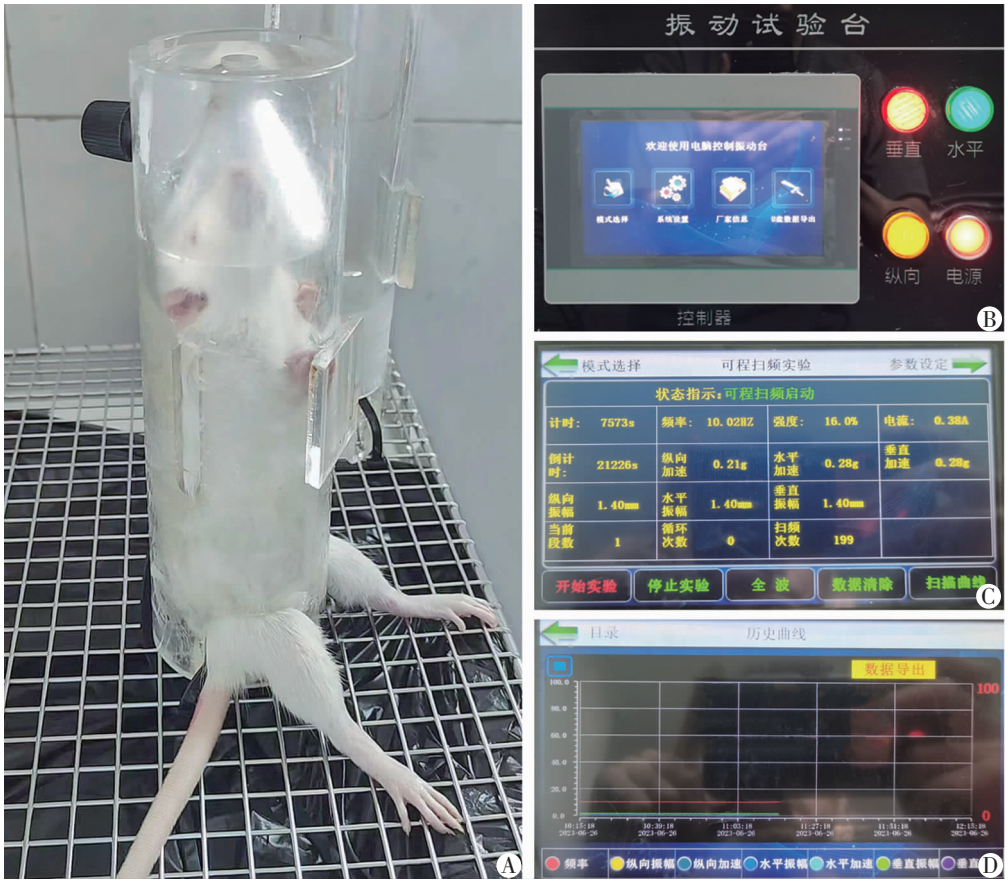
1 材料与方法

1.1 直升机飞行员腰痛作业环境的构设

根据直升机飞行环境的要求以及成年大鼠腰椎解剖特点,将大鼠置于圆柱形固定器内,筒身直立固定于振动平台上,模拟直升机飞行人员空中三轴低频振动环境(图1)。大鼠固定器由河南智科弘润环保科技有限公司制造,采用透明亚克力材质制成,规格为19.5 cm×6 cm,内径为5 cm。振动仪(深圳洪钐仪器科技有限公司)参数根据直升机振动参数(振动频率:10 Hz,重力加速度:0.2~0.3 g,振幅:1.55~9 mm)和脊柱共振频率(振动频率:8~12 Hz)的振动参数设置如下:振动频率:9.90~10.10 Hz;振动强度:20%;重力加速度:0.27 g;振幅:1.5~1.7 mm。本实验条件基本符合直升机六度振动范围,该频率范围可与脊柱形成共振,对探究直升机振动致腰痛有潜在重要价值。

1.2 实验动物及分组

清洁级8周龄雄性SD大鼠48只,体质量为200~250 g,由陆军军医大学大坪医院实验动物中心提供[动物生产许可证号:SCXK(渝)2022-0004;动物使用许可证号:SYXK(渝)2022-0003]。参照国际实验动物护理评估和认证协会推荐的条件进行饲养,光照/黑暗周期为12/12 h,环境丰富,可自由获取食物和水。采用随机数字表法将48只大鼠分为模型A(振动1 h)、B(振动3 h)、C(振动6 h)组和D(空白对照)组,每组12只。



A:坐姿清醒大鼠模型;B:振动实验台操作界面;C:瞬时振动参数;D:振动参数动态曲线

图 1 大鼠低频振动模型的建立

1.3 动物模型制备

采取持续低频振动暴露方法,实验组大鼠分别暴露于每天 1、3、6 h,连续 5 d 的坐姿振动环境。在造模前,大鼠乙醚麻醉后即刻置入固定器中并固定于振动平台,待大鼠清醒后开机造模。空白组每天给予除不做振动处理外与实验组处理方法一致,同法喂养并同步取材。

1.4 动物行为学检测

1.4.1 机械刺激缩足反射阈值测量 分别于造模前和造模后 1、4、7、14 d 进行机械刺激缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)测量。通过系列压力 von Frey 纤毛机械刺激测试针(上海玉研科学仪器有限公司)测量 MWT,以此反映实验大鼠的痛觉敏感性。置大鼠于透明的亚克力箱,底部为铁丝网,实验前使之适应 15 min,取一系列 Von Frey 纤维丝(如 0.6、1.0、1.4、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、15.0 g,共 9 根),从 4.0 g 开始按照 up-down method 垂直刺向大鼠后肢足底中央部,避开肉垫,纤维丝弯曲至“C”或“S”型并维持 6~8 s。如果大鼠在刺激时间内或移开 von Frey 纤毛机械刺激针时出现快速缩足反应,则标记为阳性,在其他时间出现的缩足反应或非缩足样反应,均标记为阴性。每轮之间至少有 10 min 的休息时间,在出现“骑跨”反应后连续刺激 5 次,左右两后足都测,取均值。最后用 UpDown Reader 软件计算[25],动物 50%缩足阈值(g)= $10^{Xf+k\delta}$/10 000,其中 Xf 为最终使用的冯弗雷灯丝的值(以对数单位为单位),δ 为刺激之间的平均差(以对数单位为单位),在此约等于 0.224,k 为根据测量获得的“X”、“O”序列[26]查表后获得的系数值;取左右后肢平均数并剔除无效数据进行分析。

1.4.2 步态分析 分别于造模前和造模后 1、4、7 d 进行步态分析。借助于 CatWalk XT 10.5 步态分析系统,分析大鼠的步态特点,由此反映大鼠的疼痛行为学改变。正式实验测试前,各组大鼠进行适应性测试训练 2 d,在没有食物、饮水、气味等外部刺激和任何强迫措施的条件下,连续通过 CatWalk 步行台,从而获取大鼠的自然步态。正式实验时,每只大鼠至少记录 3 次顺利通过步行台的过程,每次至少记录到 5 个步态。

所有步态细节由高速摄像机捕获记录并传输至计算机。本实验采用 CatWalk XT 10.5 步态分析系统进行数据处理,获取大量步态参数,选取右后肢体的 3 个指标进行比较分析:足印面积(print area)、支撑时比较(duty cycle)和步行平均速度(average speed)。

1.4.3　转棒疲劳实验　　分别于造模前和造模后 1、4、7 d 进行步态分析。使用大鼠转棒疲劳仪进行步态与协调评估实验,各组大鼠在造模前进行预训练 2 d。旋转杆(半径 4.5 cm)从静止状态开始,在 5 min 内从 4 r/min 加速到 40 r/min。当大鼠从旋转杆上摔下来时,记录最大结束速度。每组大鼠进行 3 次实验,每轮实验之间间隔 20 min。

1.4.4　旷场实验　　分别于造模前和造模后 1、4、7 d 进行旷场实验评估大鼠自发行为。将大鼠轻轻放入旷场实验区进行自由活动,记录时间为 5 min。测试期间由红外探测记录大鼠在实验区的移动情况,包括在实验中心区与边缘区时间,总移动距离,同时摄像头记录的离线视频可以记录大鼠非移动期间内的探索与直立行为,不同大鼠旷场实验后用 75%乙醇溶液擦拭后,再进行下一次实验,以减少不同大鼠气味带来的嗅觉干扰。

1.4.5　摄食量评估　　在造模后连续 3 d 测量每组大鼠 24 h 摄食量,造模后 2 d 禁食 12 h,每只大鼠单笼饲养,登记第 1 天所喂的食物重量;24 h 后,称量剩余食物,重新调整为充足食量,供次日测量。当日摄食量=前一日给食量-(当日剩余食量+溢出的食物残渣量)。按照单位时间饲料减少量分析。

1.4.6　组织形态学观察　　将实验组和对照组大鼠在造模后第 1 天同步取材,以过量 1%戊巴比妥钠麻醉,灌注 PBS 后,暴露腰背部肌群,后入路取出多裂肌,定位大鼠 L4、L5 椎体,依次剥离竖脊肌、最长肌以及髂肋肌等肌肉,暴露多裂肌后锐性切取 L4 和 L5 节段两侧的多裂肌,统一将各大鼠左侧的多裂肌放入 40 g/L 多聚甲醛溶液中,待浸泡固定后制片,右侧多裂肌取出后放在冻存管后置于液氮中,冷却后存入-80 ℃待用。HE 染色步骤包括石蜡包埋、切片,脱蜡至水,染色,脱水,透明,封片,光学显微镜下观察其形态结构。

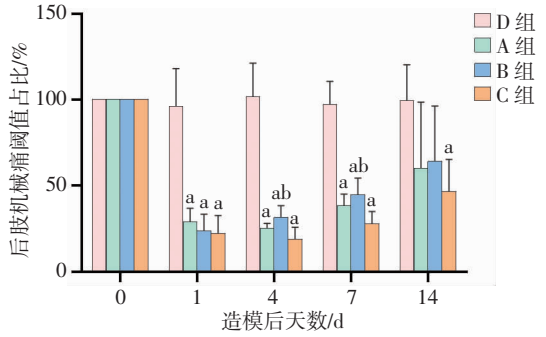
1.5　统计学方法

数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,本研究中 von Frey 收缩阈值、CatWalk 参数(步行速度)、转棒跌落速度和大鼠直立次数计算为相应造模前值的百分比。每只动物都作自身对照。Von Frey 收缩阈值以对数方式转换,以便获得强度随纤维丝尺寸增加而增加的线性比例。所有计量资料统计数据使用 GraphPad 软件进行统计学处理,为比较每个参数随时间差异,行单因素方差分析和配对 t 检验(与术前值进行比较)。$P<0.05$ 视为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　机械刺激缩足反射阈值测量

在造模后第 1 天,与 D 组比较,A、B、C 组的后爪收缩阈值大幅下降,差异具有统计学意义($P<0.01$);在造模后第 4、7 天 A、B、C 组与 D 组比较后爪收缩阈值大幅下降,差异具有统计学意义($P<0.01$),而与 C 组比较,B 组大鼠后爪收缩阈值升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);第 14 天 C 组较 D 组后爪收缩阈值仍然下降,差异具有统计学意义($P<0.01$,图 2)。

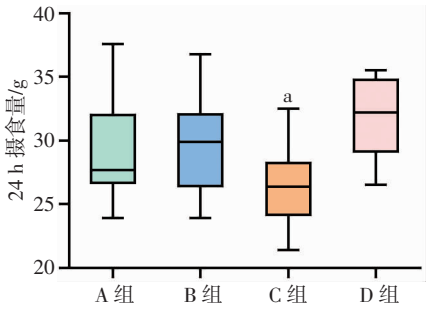


a:$P<0.01$,与 D 组比较;b:$P<0.01$,与 C 组比较

图 2　低频振动大鼠模型机械收缩阈值($n=8\sim12$,$\bar{x}\pm s$)

2.2　造模后大鼠 24 h 摄食量比较

造模后 24 h A、B、C 组与 D 组大鼠比较摄食量都下降;C 组的摄食量明显低于 D 组,差异具有统计学意义($P<0.01$,图 3)。

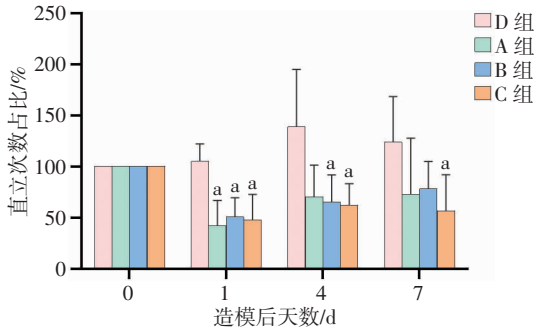


a:$P<0.01$,与 D 组比较

图 3　低频振动大鼠模型 24 h 摄食量($n=8\sim12$,$\bar{x}\pm s$)

2.3　大鼠直立次数比较

造模后第 1 天 A、B、C 组与 D 组比较直立次数大幅下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);第 4 天 B、C 组与 D 组比较,直立次数仍然下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);第 7 天,C 组与 D 组比较直立次数下降,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 4)。

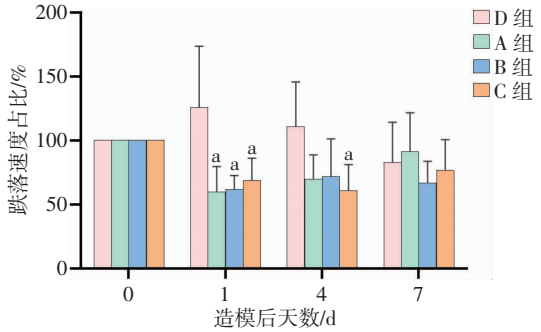


a：$P<0.05$，与 D 组比较

图 4 低频振动大鼠模型直立次数（$n=7\sim9$，$\bar{x}\pm s$）

2.4 转棒跌落速度比较

造模后第 1 天，A、B、C 组与 D 组比较转棒跌落速度，大幅下降，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；造模后第 4 天，C 组与 D 组比较转棒跌落速度下降，差异有统计学意义（$P<0.05$，图 5）。



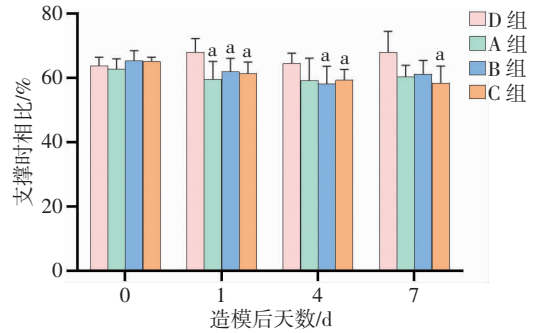
a：$P<0.05$，与 D 组比较

图 5 低频振动大鼠模型转棒跌落速度（$n=8\sim10$，$\bar{x}\pm s$）

2.5 步态分析结果比较

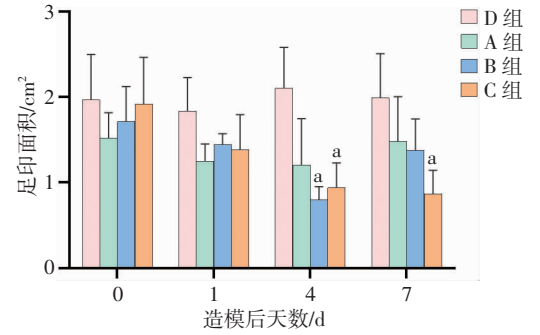
2.5.1 支撑时比较 4 组大鼠基线支撑时比较无显著差异，说明造模前所有大鼠的足底支撑能力处于同一水平。造模后第 1 天 A、B、C 组与 D 组比较支撑时比较大幅下降，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。第 4 天 B、C 组与 D 组比较支撑时比较大幅下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）。第 7 天 C 组与 D 组比较支撑时比较，仍大幅下降，差异仍有统计学意义（$P<0.05$，图 6）。

2.5.2 足印面积 4 组大鼠基线足印面积无显著差异，说明造模前所有大鼠的足印面积处于同一水平。造模后第 4 天，B、C 与 D 组比较足印面积大幅下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）。第 7 天 C 组与 D 组比较足印面积仍大幅下降，差异有统计学意义（$P<0.05$，图 7）。



a：$P<0.05$，与 D 组比较

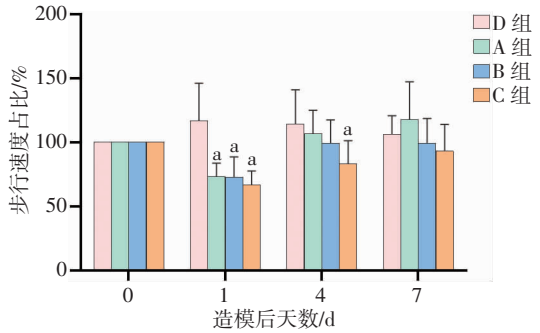
图 6 低频振动大鼠模型支撑时比较（$n=7\sim11$，$\bar{x}\pm s$）



a：$P<0.05$，与 D 组比较

图 7 低频振动大鼠模型足印面积（$n=5\sim6$，$\bar{x}\pm s$）

2.5.3 步行速度 4 组大鼠基线步行速度无显著差异，说明造模前所有大鼠的步行速度处于同一基线。造模后第 1 天，A、B、C 组与 D 组比较，步行速度下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）。第 4 天 C 组与 D 组比较步行速度下降，差异有统计学意义（$P<0.05$，图 8）。



a：$P<0.05$，与 D 组比较

图 8 低频振动大鼠模型步行速度（$n=7\sim10$，$\bar{x}\pm s$）

2.6 各组大鼠腰多裂肌 HE 染色结果

D 组：纵切面，肌纤维匀称紧密，间距适中，细胞核数量正常，平均分布于肌纤维膜下；横切面，肌细胞呈规则多边形，大小相似，边缘可见规则分布的肌细胞核。A 组：纵切面，肌间隙大小各异，且细胞核数量略有

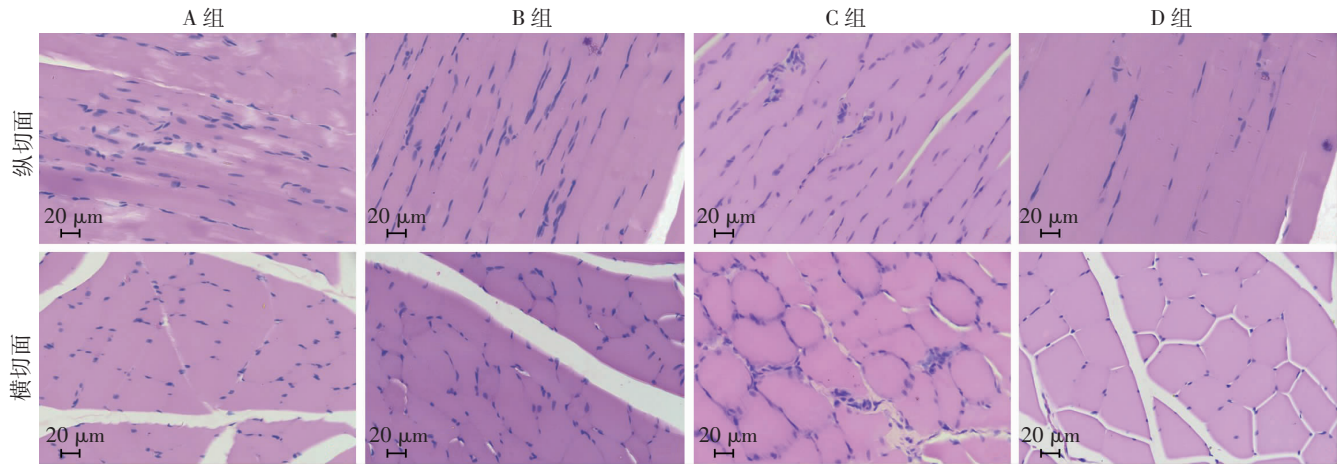


图 9 HE 染色观察低频振动大鼠腰多裂肌组织病理学变化

增加;横切面,可见肌细胞形态开始转变,多边形逐渐变为圆形,少量炎性细胞浸润,核数量增多。B 组:纵切面,肌纤维粗细不定,细胞核数量增多且核内移现象明显;横切面,肌细胞边缘模糊,大小不一,炎性细胞持续增加。C 组:纵切面,肌纤维排列杂乱,粗细不等,细胞核数量众多且核内移严重,伴有单核巨噬细胞增生;横切面,肌细胞大小不均,肿胀明显,细胞间隙消失,形态失常,大量炎性细胞浸润,单核巨噬细胞增生,聚集,鲜见正常细胞(图 9)。

3 讨论

3.1 模拟直升机低频振动致大鼠腰痛模型成功建立

随着新一代战机列装以及高强度实战化训练的稳步推进,直升机飞行人员作训效能的维护和提升业已成为“机动作战、立体攻防”战术的关键环节。迄今,直升机低频振动仍然是飞行人员突出存在的作业损伤因素[27-28]。腰痛作为常见的症状与直升机振动密切相关,且多在飞行中发生,其发生率可能与飞行时间延长、飞行强度增加存在关联[29-30]。为此,参照陆军飞行人员常规训练模式,构建直升机振动致腰痛模型,对于开展直升机振动损伤研究,探索直升机飞行人员腰痛的发生机制与防护措施具有重要价值。本研究在脊柱共振频率范围内,模拟 10 Hz 三轴六自由度低频振动的直升机作业环境,建立了一种能够客观表征低频振动致 ALBP 大鼠模型,通过动物行为学和组织学证实,该模型具有疼痛症状典型、痛觉消失周期长、制备条件稳定且便于标准化批量复制的优点,为开展直升机低频振动致腰痛病因学及防护研究奠定了适宜的模型基础。

3.2 模拟直升机低频振动致大鼠腰痛模型鉴定

研究结果显示,清醒大鼠在坐姿条件下,每日低频振动暴露 1 h 并连续 5 d 后,即可出现后肢痛觉敏感性增加、痛阈下降。在本实验条件下,随着暴露时间延长,后肢痛觉阈值有进一步下降趋势。而且,在振动暴露后 14 d 观察时限中,低频振动大鼠后肢痛阈始终低于对照组大鼠,对于振动 6 h 大鼠,在损伤后 14 d 痛阈仍显著低于对照组,强烈提示,直升机低频振动作为 ALBP 的独立危险因素证据确凿。同时,为进一步评价该模型的稳定性,本研究通过 24 h 摄食量、旷场中直立次数、转棒跌落速度及步态分析,发现在观察时限内延长振动暴露时间引起大鼠摄食量和直立次数减少,提示疼痛引起的抑郁情绪,表征大鼠运动耐力的转棒跌落速度在暴露后第 4 天仍显著低于对照组。而且,振动暴露大鼠在自由活动状态下,足部支撑时相、足印面积和步行速度较对照组减少或降低,在本实验中至少能够维持 4~7 d,提示大鼠步态改变。因此,通过大鼠行为学综合评价,低频振动致 ALBP 具有良好的可重复性和稳定性。

同时,为进一步探究低频振动致 ALBP 的组织学依据,本研究选取参与稳定腰椎,维持脊柱动力性稳定且与腰痛密切关联的多裂肌。既往证实,腰部多裂肌与腰椎紧密相连,对 L4/5 节段稳定性的贡献高达 2/3[31-32]。通过组织学观察发现,随着低频振动时间和强度的增加,肌纤维出现典型的炎性病变,肌细胞形态、肌细胞核数量和分布、炎性细胞浸润,甚至肌纤维的粗细和肌间隙均呈现渐进性病变,其中,单核-巨噬细胞系统和肌卫星细胞可能在多裂肌结构重塑中发挥了重要作用。

综合以上发现,本研究认为,采用清醒大鼠低频振动模型,能够通过组织学和行为学模拟直升机振动致 ALBP 的病理学过程。鉴于本研究模型的稳定性、可

重复性和标准性,可作为动态观察低频振动致腰痛成因、机制和防护效果较为理想的选择。而且,本模型急性病变进一步提示:首先,有效降低振动强度、拮抗振源传播对于改善直升机振动损伤至关重要;其次,科学安排飞行时间有助于减缓低频振动的累积性损伤效应;再次,针对飞行人员 ALBP,采用以运动康复、保健药物和物理因素干预为代表的综合性防护措施对于增强飞行人员腰痛的可逆性值得关注[33-34]。此外,鉴于直升机振动频率范围(2~250 Hz)及载荷飞行时振动强度的变化,在后续研究中,进一步构建直升机变频振动模型,将为深入研究直升机飞行人员腰痛的发生机制、探寻新的减振技术和防护措施拓展新的空间。

参考文献:

[1] BURSTRÖM L, NILSSON T, WAHLSTRÖM J. Whole-body vibration and the risk of low back pain and sciatica: a systematic review and meta-analysis[J]. Int Arch Occup Environ Health, 2015, 88(4): 403-418. DOI: 10.1007/s00420-014-0971-4.

[2] MARCHESINI M, IPPOLITO C, AMBROSINI L, *et al*. Prevalence of low back and cervical back pain in military helicopter crews: an underestimated Italian problem[J]. J Spec Oper Med, 2021, 21(2): 67-71. DOI: 10.55460/MQZT-YXMK.

[3] HOLTERMANN A, ROELEVELD K, MORK P J, *et al*. Selective activation of neuromuscular compartments within the human trapezius muscle[J]. J Electromyogr Kinesiol, 2009, 19(5): 896-902. DOI: 10.1016/j.jelekin.2008.04.016.

[4] POSCH M, SCHRANZ A, LENER M, *et al*. Prevalence and potential risk factors of flight-related neck, shoulder and low back pain among helicopter pilots and crewmembers: a questionnaire-based study[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2019, 20(1): 44. DOI: 10.1186/s12891-019-2421-7.

[5] 孙喜庆, 肖海峰. 陆军航空医学[M]. 西安: 第四军医大学出版社, 2012: 1-6.
SUN X Q, XIAO H F. Army aviation medicine[M]. Xi'an: Fourth Military Medical University Press, 2012: 1-6.

[6] MASUDA K, AOTA Y, MUEHLEMAN C, *et al*. A novel rabbit model of mild, reproducible disc degeneration by an anulus needle puncture: correlation between the degree of disc injury and radiological and histological appearances of disc degeneration[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2005, 30(1): 5-14. DOI: 10.1097/01.brs.0000148152.04401.20.

[7] TELLEGEN A R, RUDNIK-JANSEN I, BEUKERS M, *et al*. Intradiscal delivery of celecoxib-loaded microspheres restores intervertebral disc integrity in a preclinical canine model[J]. J Control Release, 2018, 286: 439-450. DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.08.019.

[8] VADALÀ G, RUSSO F, PATTAPPA G, *et al*. The transpedicular approach as an alternative route for intervertebral disc regeneration[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2013, 38(6): E319-E324. DOI: 10.1097/BRS.0b013e318285bc4a.

[9] YANG J J, LI F, HUNG K C, *et al*. Intervertebral disc needle puncture injury can be repaired using a gelatin-poly(γ-glutamic acid) hydrogel: an *in vitro* bovine biomechanical validation[J]. Eur Spine J, 2018, 27(10): 2631-2638. DOI: 10.1007/s00586-018-5727-5.

[10] XI Y M, KONG J, LIU Y, *et al*. Minimally invasive induction of an early lumbar disc degeneration model in rhesus monkeys[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2013, 38(10): E579-E586. DOI: 10.1097/BRS.0b013e31828b695b.

[11] PARK E H, MOON S W, SUH H R, *et al*. Disc degeneration induces a mechano-sensitization of disc afferent nerve fibers that associates with low back pain[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2019, 27(11): 1608-1617. DOI: 10.1016/j.joca.2019.07.010.

[12] JAUMARD N V, LEUNG J, GOKHALE A J, *et al*. Relevant anatomic and morphological measurements of the rat spine: considerations for rodent models of human spine trauma[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2015, 40(20): E1084-E1092. DOI: 10.1097/BRS.0000000000001021.

[13] ALVAREZ P, CHEN X J, BOGEN O, *et al*. IB4(+) nociceptors mediate persistent muscle pain induced by GDNF[J]. J Neurophysiol, 2012, 108(9): 2545-2553. DOI: 10.1152/jn.00576.2012.

[14] BAIG H A, GUARINO B B, LIPSCHUTZ D, *et al*. Whole body vibration induces forepaw and hind paw behavioral sensitivity in the rat[J]. J Orthop Res, 2013, 31(11): 1739-1744. DOI: 10.1002/jor.22432.

[15] CHEN X J, GREEN P G, LEVINE J D. Neuropathic pain-like alterations in muscle nociceptor function associated with vibration-induced muscle pain[J]. Pain, 151(2), 460-466. PMID: 20800357.

[16] DINA O A, JOSEPH E K, LEVINE J D, *et al*. Mechanisms mediating vibration-induced chronic musculoskeletal pain analyzed in the rat[J]. J Pain, 2010, 11(4): 369-377. DOI: 10.1016/j.jpain.2009.08.007.

[17] REITZ M C, HRNCIC D, TREEDE R D, *et al*. A comparative behavioural study of mechanical hypersensitivity in 2 pain models in rats and humans[J]. Pain, 2016, 157(6): 1248-1258. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000000515.

[18] SINGARAVELU S K, HOHEISEL U, MENSE S, *et al*. Rat

dorsal horn neurons primed by stress develop a long-lasting manifest sensitization after a short-lasting nociceptive low back input[J]. Pain Rep, 2021, 6(1): e904. DOI: 10.1097/PR9.0000000000000904.

[19] ZHENG G L, ZHANG H, TAIL M, *et al*. Assessment of hindlimb motor recovery after severe thoracic spinal cord injury in rats: classification of CatWalk XT © gait analysis parameters[J]. Neural Regen Res, 2023, 18(5): 1084-1089. DOI: 10.4103/1673-5374.355763.

[20] YAM M F, LOH Y C, OO C W, *et al*. Overview of neurological mechanism of pain profile used for animal "pain-like" behavioral study with proposed analgesic pathways[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4355. DOI: 10.3390/ijms21124355.

[21] XU Y, TIAN N X, BAI Q Y, et al. Gait assessment of pain and analgesics: comparison of the DigiGait™ and CatWalk™ gait imaging systems[J]. Neurosci Bull, 2019, 35(3): 401-418. DOI: 10.1007/s12264-018-00331-y.

[22] LAI A, MOON A, PURMESSUR D, *et al*. Assessment of functional and behavioral changes sensitive to painful disc degeneration[J]. J Orthop Res, 2015, 33(5): 755-764. DOI: 10.1002/jor.22833.

[23] CAI L, HE Q C, LU Y J, *et al*. Comorbidity of pain and depression in a lumbar disc herniation model: biochemical alterations and the effects of fluoxetine[J]. Front Neurol, 2019, 10: 1022. DOI: 10.3389/fneur.2019.01022.

[24] RUSSO M, DECKERS K, ELDABE S, *et al*. Muscle control and non-specific chronic low back pain[J]. Neuromodulation, 2018, 21(1): 1-9. DOI: 10.1111/ner.12738.

[25] GONZALEZ-CANO R, BOIVIN B, BULLOCK D, *et al*. Up-down reader: an open source program for efficiently processing 50% von Frey thresholds[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 433. DOI: 10.3389/fphar.2018.00433.

[26] CHAPLAN S R, BACH F W, POGREL J W, *et al*. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1): 55-63. DOI: 10.1016/0165-0270(94)90144-9.

[27] KÅSIN J I, MANSFIELD N, WAGSTAFF A. Whole body vibration in helicopters: risk assessment in relation to low back pain[J]. Aviat Space Environ Med, 2011, 82(8): 790-796. DOI: 10.3357/asem.2982.2011.

[28] PATTERSON F, MIRALAMI R, TANSEY K E, *et al*. Deleterious effects of whole-body vibration on the spine: a review of *in vivo*, *ex vivo*, and *in vitro* models[J]. Animal Model Exp Med, 2021, 4(2): 77-86. DOI: 10.1002/ame2.12163.

[29] LIS A M, BLACK K M, KORN H, *et al*. Association between sitting and occupational LBP[J]. Eur Spine J, 2007, 16(2): 283-298. DOI: 10.1007/s00586-006-0143-7.

[30] BONGERS P M, HULSHOF C T, DIJKSTRA L, *et al*. Back pain and exposure to whole body vibration in helicopter pilots[J]. Ergonomics, 1990, 33(8): 1007-1026. DOI: 10.1080/00140139008925309.

[31] WILKE H J, WOLF S, CLAES L E, *et al*. Stability increase of the lumbar spine with different muscle groups. A biomechanical in vitro study[J]. Spine (Phila Pa 1976), 1995, 20(2): 192-198. DOI: 10.1097/00007632-199501150-00011.

[32] WARD S R, TOMIYA A, REGEV G J, *et al*. Passive mechanical properties of the lumbar multifidus muscle support its role as a stabilizer[J]. J Biomech, 2009, 42(10): 1384-1389. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2008.09.042.

[33] WALSH J B, MCGLYNN A F, HARDY C L, *et al*. Stretching and self-myofascial release in helicopter aircrew to reduce neck and back pain (phase 1)[J]. Mil Med, 2023: usad015. DOI: 10.1093/milmed/usad015.

[34] ANDERSEN K, BAARDSEN R, DALEN I, *et al*. Impact of exercise programs among helicopter pilots with transient LBP[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2017, 18(1): 269. DOI: 10.1186/s12891-017-1631-0.

(收稿:2023-07-14;修回:2023-10-30)

(编辑 栾 嘉)