

低功率激光修复末端病大鼠跟腱早期愈合中转化生长因子 $\beta 1$ 的表达

史晓伟¹, 龙丽娟¹, 沈勇伟², 王智鹏³ (¹海南师范大学体育学院, 海南省海口市 571158; ²苏州大学体育学院, 江苏省苏州市 215021; ³核工业北京化工冶金研究院, 北京市 101149)

文章亮点:

1 本实验研究了转化生长因子 $\beta 1$ 在低功率激光修复末端病大鼠跟腱早期愈合中的表达, 发现低功率激光照射可修复跟腱, 维持转化生长因子 $\beta 1$ 浓度在一定范围内, 促进跟腱的早期愈合。

2 文章探讨了转化生长因子 $\beta 1$ 在跟腱末端病早期修复中的表达情况, 之后的表达还需进一步研究。实验主要探讨低功率激光对末端病大鼠跟腱转化生长因子 $\beta 1$ mRNA 的表达、转化生长因子 $\beta 1$ 蛋白含量动态变化的影响, 实验结果证明应用低功率激光修复末端病大鼠跟腱, 是一种安全、有效、无创的治疗方式, 同时不引起组织温度上升。

关键词:

组织构建; 软骨组织工程; 低功率激光; 末端病; 跟腱; 转化生长因子 $\beta 1$; mRNA 表达; 大鼠; 细胞外基质; 运动医学

主题词:

激光; 跟腱; 肌腱病; 转化生长因子 β ; 细胞外基质

基金资助:

江苏省社会发展项目(BS2006020): 运动训练预防跟腱损伤的研究

摘要

背景: 低功率激光是一种治疗性激光, 其在运动医学领域内应用价值潜力很大。

目的: 观察低功率激光照射后, 末端病大鼠跟腱转化生长因子 $\beta 1$ 表达的变化, 探讨低功率激光修复末端病大鼠跟腱的机制。

方法: 4 周龄雄性 Wistar 大鼠 96 只, 随机分为空白对照组($n=8$)、造模组($n=88$), 造模组又分为造模对照组($n=48$)和不同时间的激光照射组: 激光照射 1, 2, 3, 7, 14 d 组($n=8$)。造模组大鼠进行 5 周的电刺激跳跃之后, 对激光照射组的大鼠跟腱按要求进行激光照射。用实时定量 PCR 方法测定跟腱内转化生长因子 $\beta 1$ mRNA 的表达; 双抗体夹心 ABC-ELISA 法测试转化生长因子 $\beta 1$ 的蛋白含量。

结果与结论: 造模即刻, 与空白对照组比较, 造模对照组大鼠跟腱转化生长因子 $\beta 1$ 明显升高($P < 0.05$)。随着时间的推移, 转化生长因子 $\beta 1$ 逐渐下降, 与激光照射组比较, 造模对照组大鼠跟腱转化生长因子 $\beta 1$ 在第 7, 14 天时明显下降($P < 0.05$)。低功率激光对末端病大鼠跟腱早期愈合有一定的促进作用: 可延缓末端病大鼠跟腱转化生长因子 $\beta 1$ 的浓度下降, 使转化生长因子 $\beta 1$ 在 7-14 d 内保持较高水平, 对细胞外基质起着重要的调节作用。

史晓伟, 龙丽娟, 沈勇伟, 王智鹏. 低功率激光修复末端病大鼠跟腱早期愈合中转化生长因子 $\beta 1$ 的表达[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(24):3808-3813.

Transforming growth factor-beta 1 expression in early enthesiopathy of Achilles tendon in rats after low-level laser therapy

Shi Xiao-wei¹, Long Li-juan¹, Shen Yong-wei², Wang Zhi-peng³ (¹School of Physical Education, Hainan Normal University, Haikou 571158, Hainan Province, China; ²School of Physical Education, Soochow University, Suzhou 215021, Jiangsu Province, China; ³Beijing Research Institute of Chemical Engineering and Metallurgy, CNNC, Beijing 101149, China)

Abstract

BACKGROUND: Low-level laser is a kind of therapeutic laser and has great potential application value in the field of sports medicine.

OBJECTIVE: To discuss the repairing mechanism of low-level laser therapy in early enthesiopathy of achilles tendon in rats through observing the change of transforming growth factor- $\beta 1$ expression after low-level laser therapy.

METHODS: A total of 96 male Wistar rats aged 4 weeks were randomly divided into control group ($n=8$) and model group ($n=88$). Then model group was assigned randomly into two subgroups: model control group ($n=48$) and laser groups ($n=40$). The laser group was further allocated to 1, 2, 3, 7, 14 days of laser radiation, with eight rats in each. The rats of model group were trained by electrical stimulation for 5 weeks, and the rats of laser groups received laser radiation. The expression of transforming growth factor- $\beta 1$ mRNA level in Achilles tendon was analyzed by real-time quantitative PCR. The transforming growth factor- $\beta 1$ content was tested by double

史晓伟, 男, 1984 年生, 陕西省宝鸡市人, 实验师, 硕士, 主要从事运动生物化学研究。

通讯作者: 沈勇伟, 博士, 副教授, 苏州大学体育学院, 江苏省苏州市 215021

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.24.007
[http://www.crter.org]

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)24-03808-06

稿件接受: 2014-03-15

Shi Xiao-wei, Master, Experimentalist, School of Physical Education, Hainan Normal University, Haikou 571158, Hainan Province, China

Corresponding author: Shen Yong-wei, M.D., Associate professor, School of Physical Education, Soochow University, Suzhou 215021, Jiangsu Province, China

Accepted: 2014-03-15

antibody ABC-ELISA.

RESULTS AND CONCLUSION: The transforming growth factor- $\beta 1$ in model control group was increased significantly compared with control group immediately after modeling ($P < 0.05$). Then, transforming growth factor- $\beta 1$ was gradually decreasing as the time prolonged. Compared with laser groups, transforming growth factor- $\beta 1$ in model control group was decreased significantly at 7 and 14 days ($P < 0.05$). Low-level laser therapy promotes the early healing of achilles tendon enthesiopathy in rats, delays the decrease of transforming growth factor- $\beta 1$ content, and maintains high level of transforming growth factor- $\beta 1$ at 7–14 days. Low-level laser therapy plays an important role in regulating extracellular matrix.

Subject headings: laser; Achilles tendon; tendinopathy; transforming growth factor beta; extracellular matrix
Funding: the Social Development Project of Jiangsu Province, No. BS2006020

Shi XW, Long LJ, Shen YW, Wang ZP. Transforming growth factor-beta 1 expression in early enthesiopathy of Achilles tendon in rats after low-level laser therapy. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(24):3808-3813.

0 引言 Introduction

跟腱的作用是将小腿三头肌和跟骨联系起来, 传递肌肉收缩产生的力至骨, 保证运动系统的正常运转。意大利人Lacava于1952年第1次明确提出了末端病这个概念^[1], 跟腱等末端区发生的劳损性变性疾患叫做跟腱末端病, 该病好发于跨栏、篮球、足球等强度较大的跑跳运动当中, 一旦不重视此病的治疗, 轻则跟腱钙化断裂, 重则影响职业生涯^[2]。跟腱末端区包括跟腱、纤维软骨区、潮线、钙化软骨区和跟骨5个主要部分, 其中跟腱的病变是末端区的主要病变。

低功率激光不仅是常见的治疗性激光, 而且能对生物体产生特定的光生物调节作用和生物学效应, 不引起温度上升^[3-5], 其输出功率较低, 不会使组织细胞产生损伤, 且穿透力较强^[6-7], 完全可以到达“病区”, 改善病区的血液循环, 常用于运动医学领域^[8-9], 包括对骨骼愈合的治疗^[10-14]、骨骼肌损伤的治疗^[15-19]、肌腱损伤的治疗及其他创伤的治疗等^[20-26]。因此, 将低功率激光应用于跟腱末端病早期修复当中是有积极意义的。作者前期实验应用低功率激光照射治疗末端病模型大鼠, 观察模型大鼠跟腱组织中羟脯氨酸含量与I型胶原水平, 结果发现经低功率激光照射治疗后, 末端病模型大鼠跟腱的羟脯氨酸含量增加, I型胶原合成在转录水平上的表达升高, 且这种作用在造模7 d后开始出现, 14 d时效果明显, 表明低功率激光可以提高末端病模型大鼠羟脯氨酸合成量, 促进胶原的代谢, 在跟腱早期愈合中有一定的促进作用^[27]。

转化生长因子 β 是一种常见的生长因子, 来源极其广泛, 所有的细胞当中几乎都有它的身影, 对细胞的增殖和分化起着重要的作用。转化生长因子 β 至少包含5个亚型, 人体及哺乳动物中常见转化生长因子 $\beta 1$ 、转化生长因子 $\beta 2$ 、转化生长因子 $\beta 3$ 这3种异构体, 这3种结构的同源率为80%^[28-29], 其中转化生长因子 $\beta 1$ 的研究较为广泛, 同时转化生长因子 β 受体及其信号转导通路也是研究的热点, 转化生长因子 β 可以双向调节细胞的增殖、分化和凋亡, 这种调节是以自分泌、旁分泌和内分泌的方式进行, 并且依赖于活化的转化生长因子 β 与相应的受体T β R- I、II结合, 在Smad家族的作用下, 进行跨膜信号转导^[30-31]。

目前转化生长因子 $\beta 1$ 在肌腱的损伤与修复中的作用已有相当多的报道^[32-37], 这些报道均证实了转化生长因子 $\beta 1$ 能刺激I型胶原纤维基因和蛋白表达的升高, 并能显著增加I、II、III型胶原组织产生。另有学者研究指出, 转化生长因子 $\beta 1$ 能显著促进蛋白多糖的分泌, 由此可以将生长因子基因导入肌腱细胞以促进肌腱修复, 同时对肌腱愈合后的粘连有一定的作用^[38-39]。

实验主要探讨低功率激光对末端病大鼠跟腱转化生长因子 $\beta 1$ mRNA的表达、转化生长因子 $\beta 1$ 蛋白含量动态变化的影响, 以期对跟腱末端病的治疗和恢复提供理论上的依据。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 动物对比实验。

时间及地点: 2010年2月至12月在苏州大学运动人体科学实验室完成。

材料:

实验动物: 健康4周龄雄性Wistar大鼠96只, 体质量(108.0 \pm 7.8) g, 购于苏州大学动物实验中心。所有大鼠均自由饮水和摄食, 饲料按照国家啮齿类动物标准进行供给, 动物房温度18–24 °C, 湿度45%–55%。

在实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

大鼠在适应性喂养7 d后, 随机分为空白对照组($n=8$)和造模组($n=88$), 造模组造模后分为造模对照组($n=48$)及不同时间的激光照射组: 激光照射1, 2, 3, 7, 14 d组($n=8$)。

低功率激光修复末端病大鼠跟腱早期愈合实验的主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
荧光定量PCR试剂SYBR Green I	上海欧比特仪器有限公司
荧光定量PCR仪(Rotor-Gene RG-300A)	澳大利亚
酶标仪(DENLEY DRAGON Wellscan MK3)	芬兰
微量电动组织匀浆器(KIMBLE)	美国

方法:

动物造模及激光照射方法:

电刺激跳跃法造模^[40]: 在自制的电刺激装置中, 造模组的大鼠每15 s通电1次, 共持续20 min, 休息10 min, 再持续20 min, 1次/d, 6次/周, 持续5周。

激光照射方法: 照射所用仪器为半导体低功率激光器, 波长635 nm, 功率15 mW, 照射面积1.2 cm², 照射时间10 min, 1次/d, 在电刺激跳跃法造模结束后, 对激光照射组的大鼠使用该激光照射方法。

取材: 保证自然愈合组(造模对照组)和激光照射组的大鼠在同一时间点取材: 用10%的水合氯醛溶液注射大鼠腹腔进行麻醉(3 mL/kg)。取后肢跟腱, 去除腱围, 得到跟腱样品, 在低温下迅速操作。取大鼠跟腱, 除去腱围及相连肌肉, 迅速放入冷冻管中, 然后置-80 °C冰箱储存待测转化生长因子β1蛋白及转化生长因子β1 mRNA。

采用实时荧光定量聚合酶反应(real-time quantitative PCR)技术测定转化生长因子β1 mRNA表达水平: 用Trizol提取跟腱样品总RNA, 测纯度后进行反转录。基因引物序列根据Primer5.0进行设计, 引物由上海生物工程公司合成提供。

所用引物序列为: ①GAPDH上游引物: 5'-AGG TGA CCG CAT CTT CTT GTG-3'下游引物: 5'-CGT GGG TAGA GTC ATA CTG GAA C-3' GeneID: 24383。②转化生长因子β1上游引物: 5'-TGC GCC TGC AGA GAT TCA AG-3'; 下游引物: 5'-AGG TAA CGC AGG AAT TGT TGC TA-3' GeneID:171045。

用Rotor-Gene Real-Time Analysis Software 6.1 (Build 71)分析软件进行结果分析, 结果分析采用2^{-ΔΔCT}法, ΔΔCT=(目的基因的CT值-内参基因的CT值)实验组-(目的基因的CT值-内参基因的CT值)对照组。最终得到的值为样品实验组的目的基因相对于对照组的目的基因含量。

采用双抗体夹心ABC-ELISA法测试转化生长因子β1蛋白水平: 用抗大鼠转化生长因子β1单抗包被于酶标板上, 标准品和样品中的转化生长因子β1与单抗结合, 加入生物素化的抗大鼠转化生长因子β1, 形成免疫复合物连接在板上, 辣根过氧化物酶标记的Streptavidin与生物素结合, 加入底物工作液显蓝色, 最后加终止液硫酸, 在450 nm处测A值, 转化生长因子β1浓度与A值成正比, 可通过绘制标准曲线求出标本中转化生长因子β1水平。

主要观察指标: 低功率激光修复末端病大鼠跟腱过程中转化生长因子β1 mRNA表达及转化生长因子β1蛋白含量的变化。

统计学分析: 实验所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 17.0统计软件进行数据处理, 转化生长因子β1 mRNA及其蛋白的组间比较及不同时间点的比较采用方差分析, 显著水准为0.05。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 纳入Wistar大鼠96只, 分为空白对照组8只、造模对照组48只激光照射组40只, 所有大鼠均进入结果分析, 实验过程中动物无脱失。

2.2 空白对照组和造模对照组大鼠跟腱转化生长因子β1的测试结果

mRNA表达: 空白对照组转化生长因子β1 mRNA (2^{-ΔΔCT})为1, 而造模对照组为5.99±1.84, 与空白对照组比较, 造模对照组转化生长因子β1 mRNA的表达升高, 差异有显著性意义(P < 0.05)。

蛋白含量: 空白对照组转化生长因子β1蛋白含量为(15.76±0.83) mg/g, 造模对照组为(17.85±1.97) mg/g, 造模对照组的转化生长因子β1蛋白含量显著高于空白对照组(P < 0.05)。

2.3 激光照射组和自然愈合组大鼠跟腱转化生长因子β1的测试结果 随着时间的增加, 转化生长因子β1 mRNA的表达和转化生长因子β1蛋白表达均降低, 激光照射组转化生长因子β1 mRNA的表达和转化生长因子β1蛋白表达下降幅度较慢, 造模对照组转化生长因子β1 mRNA及蛋白表达下降迅速(表1)。

第1-3天时, 激光照射组与造模对照组比较, 大鼠跟腱转化生长因子β1 mRNA及蛋白表达差异无显著性意义(P > 0.05), 见图1, 2。

第7天时, 与激光照射组比较, 造模对照组大鼠跟腱转化生长因子β1 mRNA及蛋白表达均显著降低, 差异有显著性意义(P < 0.05), 见图1, 2。

第14天时, 造模对照组大鼠跟腱转化生长因子β1 mRNA的表达低于激光照射组, 差异有非常显著性意义(P < 0.01), 造模对照组大鼠跟腱转化生长因子β1蛋白表达也明显低于激光照射组, 差异有显著性意义(P < 0.05), 见图1, 2。

表1 激光照射后不同时间末端病大鼠跟腱转化生长因子β1 mRNA及蛋白表达的比较

Table 1 Comparison of transforming growth factor-β1 mRNA and protein expression in rats at different time points after low-level laser therapy (x±s)

激光照射时间	转化生长因子 β1 mRNA		转化生长因子 β1 蛋白含量	
	激光照射组	造模对照组	激光照射组	造模对照组
1 d	6.08±2.17	5.86±1.68	17.59±1.03	17.62±1.95
2 d	5.89±2.06	5.59±1.88	17.22±0.61	17.04±0.32
3 d	5.40±2.05	4.95±2.00	17.07±0.65	16.41±0.61
7 d	5.09±1.73	1.81±0.71 ^a	16.82±1.21	15.92±0.82 ^a
14 d	4.93±2.19	0.54±0.20 ^b	16.24±1.06	15.83±0.35 ^a

表注: 低功率激光照射第7-14天时两组转化生长因子β1 mRNA的表达和转化生长因子β1蛋白含量均显著降低, 但激光照射组高于造模对照组, 说明在跟腱愈合的早期, 低功率激光照射能延缓转化生长因子β1表达的降低。与激光照射组比较, ^aP < 0.05, ^bP < 0.01。

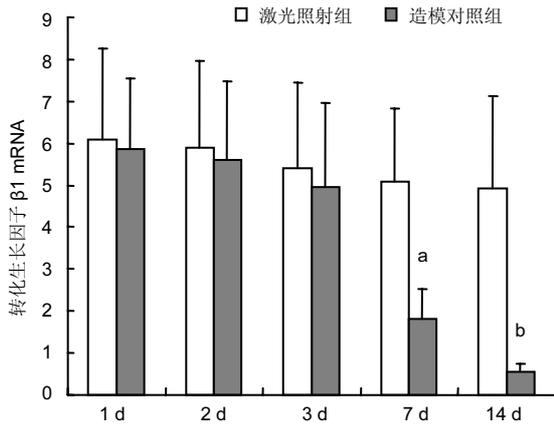


图1 激光照射后不同时间末端病大鼠跟腱转化生长因子β1 mRNA表达

Figure 1 Comparison of transforming growth factor-β1 mRNA expression in rats at different time points after low-level laser therapy

图注: 激光照射第7-14天时两组转化生长因子β1 mRNA的表达均显著降低, 但激光照射组高于造模对照组。与激光照射组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

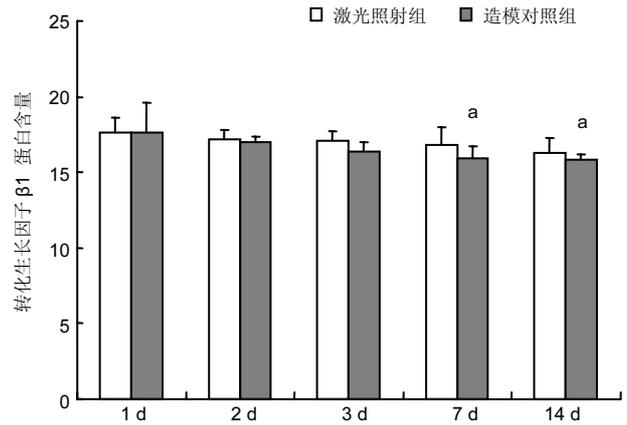


图2 激光照射后不同时间末端病大鼠跟腱转化生长因子β1蛋白表达

Figure 2 Comparison of transforming growth factor-β1 protein expression in rats at different time points after low-level laser therapy

图注: 激光照射第7-14天时两组转化生长因子β1蛋白的表达均显著降低, 但激光照射组高于造模对照组。与激光照射组比较, ^a $P < 0.05$ 。

3 讨论 Discussion

转化生长因子β具有多重生物学效应, 它参与细胞的增殖、分化、凋亡以及一些生理及病理过程的调节, 在维持肌腱的形成、生长及修复过程中起着重要的作用^[41-43]。转化生长因子β1已被证明是受损跟腱恢复的最重要的生长因子之一^[34], 很多文献报道了它在跟腱中的作用^[35, 38, 44]。首先可以使腱细胞增殖, 主要是增加DNA合成期的腱细胞比例, 同时增强腱细胞分裂期的活性。其次, 转化生长因子β1调节细胞外基质, 可以促进胶原和蛋白多糖的合成与分泌, 这也是跟腱愈合的内源性机制。转化生长因子β1的基因表达主要通过Smad信号转导通路来调控, 同时与自身受体TβR-I、II有很大的关系。研究表明, 在受损肌腱中转化生长因子β1及其受体表达上调, 并促进胶原、蛋白多糖等细胞外基质成分的合成。

3.1 末端病大鼠跟腱转化生长因子β1 mRNA和蛋白变化正常组织中均能产生转化生长因子β1, 在末端病发生时, 转化生长因子β1 mRNA表达升高, 这与以往文献的报道一致^[45]。

本实验研究结果发现, 末端病发生后, 大鼠跟腱中转化生长因子β1的基因表达及蛋白含量迅速升高($P < 0.05$), 表明转化生长因子β1可能在跟腱受到损伤时被激活, 这种应激反应可能与加快跟腱的修复有关。有人发现, 在保持转化生长因子β1一定的浓度下, 它刺激胶原分泌和合成的能力才会得以体现^[37], 可能由于跟腱修复是通过转化生长因子β1调节胶原的分泌产生的重塑作用实现的, 目前已有胶原合成修复大鼠跟腱方面的报道^[27]。但实验又发现转化生长因子β1在肌腱愈合中有双向调节机制, 既可以使腱细胞增殖、刺激胶原并调节细胞外基质, 又可以促使肌腱纤维

化、产生瘢痕, 研究发现, 腱体和腱鞘及腱周组织的转化生长因子β1在损伤后肌腱中的表达不同^[33]。更重要的是, 肌腱作为一种致密的结缔组织, 一旦损伤后, 愈合需要很长的时间, 短则数周, 长达数月, 肌腱愈合过程分为几个不同的阶段, 重塑之后才是瘢痕形成阶段。那么在愈合早期, 转化生长因子β1所起的肌腱重塑作用是不可磨灭的。因此, 转化生长因子β1在肌腱早期愈合中的重塑作用对修复损伤肌腱尤为重要。如何在空间和时间上研究这种具有双向作用的生长因子, 在特定的阶段和部位选择调节其表达, 充分发挥该生长因子的优点, 相信这样的研究一定有其现实意义的。

3.2 低功率激光照射对末端病大鼠跟腱转化生长因子β1 mRNA和蛋白的影响 实验中, 随着时间的增加, 转化生长因子β1 mRNA的表达和转化生长因子β1蛋白含量均降低, 激光照射组转化生长因子β1 mRNA的表达和转化生长因子β1蛋白含量下降幅度较慢, 造模对照组转化生长因子β1 mRNA的表达和转化生长因子β1蛋白含量下降迅速。提示转化生长因子β1水平在下降, 所起的作用在逐步削弱。当第1, 2, 3天时, 激光照射组与造模对照组比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 说明这段时间转化生长因子β1浓度保持在较高水平, 刺激胶原分泌和合成来进行跟腱重塑和修复。

第7天时, 与激光照射组比较, 造模对照组转化生长因子β1 mRNA的表达和转化生长因子β1蛋白含量均显著降低($P < 0.05$), 低功率激光的作用开始突显。进行到第14天时, 造模对照组转化生长因子β1 mRNA的表达低于激光照射组, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 造模对照组转化生长因子β1蛋白含量明显低于激光照射组($P < 0.05$)。由

此看来低功率激光能减缓转化生长因子 $\beta 1$ 表达的下降, 保持转化生长因子 $\beta 1$ 含量在一定的范围内, 对促进肌腱恢复具有积极意义。

从实验结果来看, 低功率激光照射后前3 d, 转化生长因子 $\beta 1$ mRNA的表达和转化生长因子 $\beta 1$ 蛋白含量与造模对照组比没有出现显著性变化; 从第7天开始, 转化生长因子 $\beta 1$ 蛋白含量及转化生长因子 $\beta 1$ mRNA的表达出现差异 ($P < 0.05$), 此时已表现出治疗效应, 第14天开始, 治疗效应更加明显, 说明低功率激光可延缓转化生长因子 $\beta 1$ 表达的降低。

低功率激光延缓转化生长因子 $\beta 1$ 表达降低的可能机制是: ①低功率激光的生物学效应保持了转化生长因子 β /Smad这种信号转导途径通畅, 维持了转化生长因子 $\beta 1$ mRNA的表达, 增加转化生长因子 $\beta 1$ 的合成。②跟腱被低功率激光照射后, 腱体内的血液微循环加快, 进而为腱细胞提供了更好的营养弥散作用, 腱细胞数量增多而且活性增强, 一些与细胞信号转导有关的酶的活性也增强, 受体增多, 有利于转化生长因子 $\beta 1$ 的表达。③低功率激光照射可能引起了一系列复杂的网络效应, 如其他生长因子的协同作用、一些相关的酶和受体活性加强、其他的信号转导通路相互作用等也在更进一步加强。

实验证实了低功率激光对转化生长因子 $\beta 1$ 浓度保持具有一定作用。当转化生长因子 $\beta 1$ 浓度高时, 既可增强腱细胞的活性修复肌腱, 又能对细胞外基质调节起着重要作用。已有人运用转化生长因子 $\beta 1$ 基因治疗损伤的跟腱, 发现胶原 I、胶原 III 产生加快, 胶原数量和质量均有提高, 跟腱抗外力能力增强^[35]。也有资料表明, 低功率激光照射治疗依靠的是一种积累效应^[22], 当低功率激光的治疗剂量增加时是否会引起这种积累过度, 导致转化生长因子 $\beta 1$ 表达过多, 转化生长因子 $\beta 1$ 浓度上升过高, 进而对肌腱的修复产生不良的影响, 这一系列的问题都有待于进行大量的实验研究。

另外, 本实验只对末端病大鼠的受损跟腱进行了14 d 的低功率激光治疗, 属于跟腱愈合的早期阶段, 而末端病大鼠受损跟腱愈合的后期转化生长因子 $\beta 1$ 表达的变化特点和规律有待进一步研究。

致谢: 感谢苏州大学运动人体科学实验室的老师为本实验提供技术上的大力支持。

作者贡献: 第一作者构思并进行实施实验, 第一作者设计文章, 所有作者共同起草, 经通讯作者审校并提出建议, 第一作者对文章负责。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》中相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 末端病-肌肉、肌腱、韧带起止点部位, 由于损伤, 引起局部肌肉、肌腱、韧带的撕裂或劳损而引起的组织变

性改变。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] 于长隆. 末端病[J]. 中国运动医学杂志, 1984, 3(3): 180-186.
- [2] 史晓伟, 岳秀飞. 浅谈跟腱末端病[J]. 科技信息, 2010, 26(30): 362.
- [3] Mulcahy D, McCormack D, McElwain J, et al. Low level laser therapy: a prospective double blind trial of its use in an orthopaedic population. Injury. 1995; 26(5): 315-317.
- [4] Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Joensen J, et al. A systematic review with procedural assessments and meta-analysis of low level laser therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow). BMC Musculoskelet Disord. 2008; 9: 75.
- [5] Gur A, Sarac AJ, Cevik R, et al. Efficacy of 904 nm gallium arsenide low level laser therapy in the management of chronic myofascial pain in the neck: a double-blind and randomize-controlled trial. Lasers Surg Med. 2004; 35(3): 229-235.
- [6] Gur A, Cosut A, Sarac AJ, et al. Efficacy of different therapy regimes of low-power laser in painful osteoarthritis of the knee: a double-blind and randomized-controlled trial. Lasers Surg Med. 2003; 33(5): 330-338.
- [7] 许松井. 激光技术与医学应用[M]. 人民卫生出版社, 1989: 308-313.
- [8] Morimoto Y, Saito A, Tokuhashi Y. Low level laser therapy for sports injuries. Laser Ther. 2013; 22(1): 17-20.
- [9] Zwerver J, Bredeweg SW, van den Akker-Scheek I. Prevalence of Jumper's knee among nonelite athletes from different sports: a cross-sectional survey. Am J Sports Med. 2011; 39(9): 1984-1988.
- [10] de Souza Merli LA, de Medeiros VP, Toma L, et al. The low level laser therapy effect on the remodeling of bone extracellular matrix. Photochem Photobiol. 2012; 88(5): 1293-1301.
- [11] Lian OB, Engebretsen L, Bahr R. Prevalence of jumper's knee among elite athletes from different sports: a cross-sectional study. Am J Sports Med. 2005; 33(4): 561-567.
- [12] Fávoro-Pípi E, Ribeiro DA, Ribeiro JU, et al. Low-level laser therapy induces differential expression of osteogenic genes during bone repair in rats. Photomed Laser Surg. 2011; 29(5): 311-317.
- [13] Fávoro-Pípi E, Bossini P, de Oliveira P. Low-intensity pulsed ultrasound produced an increase of osteogenic genes expression during the process of bone healing in rats. Ultrasound Med Biol. 2010; 36(12): 2057-2064.
- [14] Barbosa D, de Souza RA, Xavier M, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on bone repair in rats: optical densitometry analysis. Lasers Med Sci. 2013; 28(2): 651-656.
- [15] de Almeida P, Lopes-Martins RÁ, Tomazoni SS, et al. Low-level laser therapy improves skeletal muscle performance, decreases skeletal muscle damage and modulates mRNA expression of COX-1 and COX-2 in a dose-dependent manner. Photochem Photobiol. 2011; 87(5): 1159-1163.
- [16] Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, de Almeida P, et al. Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. Eur J Appl Physiol. 2010; 108(6): 1083-1088.

- [17] Rodrigues NC, Assis L, Fernandes KR, et al. Effects of 660 nm low-level laser therapy on muscle healing process after cryolesion. *J Rehabil Res Dev.* 2013;50(7):985-996.
- [18] Assis L, Moretti AI, Abrahão TB, et al. Low-level laser therapy (808 nm) contributes to muscle regeneration and prevents fibrosis in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. *Lasers Med Sci.* 2013;28(3):947-955.
- [19] Patrocínio T, Sardim AC, Assis L, et al. Effect of low-level laser therapy (808 nm) in skeletal muscle after resistance exercise training in rats. *Photomed Laser Surg.* 2013;31(10):492-498.
- [20] Fillipin LI, Mauriz JL, Vedovelli K, et al. Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg Med.* 2005; 37(4):293-300.
- [21] Rizzi CF, Mauriz JL, Freitas Corrêa DS, et al. Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)- κ B signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med.* 2006;38(7):704-713.
- [22] Joensen J, Gjerdet NR, Hummelsund S, et al. An experimental study of low-level laser therapy in rat Achilles tendon injury. *Lasers Med Sci.* 2012;27(1):103-111.
- [23] Laraia EM, Silva IS, Pereira DM, et al. Effect of low-level laser therapy (660 nm) on acute inflammation induced by tenotomy of Achilles tendon in rats. *Photochem Photobiol.* 2012;88(6):1546-1550.
- [24] Oliveira FS, Pinfildi CE, Parizoto NA, et al. Effect of low level laser therapy (830 nm) with different therapy regimes on the process of tissue repair in partial lesion calcaneus tendon. *Lasers Surg Med.* 2009;41(4):271-276.
- [25] Kajagar BM, Godhi AS, Pandit A, et al. Efficacy of low level laser therapy on wound healing in patients with chronic diabetic foot ulcers-a randomised control trial. *Indian J Surg.* 2012;74(5):359-363.
- [26] Colombo F, Neto Ade A, Sousa AP, et al. Effect of Low-Level Laser Therapy (λ 660 nm) on Angiogenesis in Wound Healing: A Immunohistochemical Study in a Rodent Model. *Braz Dent J.* 2013;24(4):308-312.
- [27] 沈勇伟, 史晓伟. 低功率激光修复末端病大鼠跟腱胶原[J]. *中国组织工程研究.* 2012,16(28):5165-5169.
- [28] de Sousa AP, de Aguiar Valença Neto Ade A, Marchionni AM, et al. Effect of LED phototherapy (λ 700 \pm 20 nm) on TGF- β expression during wound healing: an immunohistochemical study in a rodent model. *Photomed Laser Surg.* 2011;29(9):605-611.
- [29] 药立波, 冯作化, 周春燕. 医学分子生物学[M]. 人民卫生出版社, 2004,8(2):122-125.
- [30] Massagué J. TGF- β signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 1998(67):753-791.
- [31] Ikedo H, Tamaki K, Ueda S, et al. Smad protein and TGF- β signaling in vascular smooth muscle cells. *Int J Mol Med.* 2003; 11(5):645-650.
- [32] Robbins JR, Evanko SP, Vogel KG. Mechanical loading and TGF- β regulate proteoglycan synthesis in tendon. *Arch Biochem Biophys.* 1997;342(2):203-211.
- [33] 夏长所, 洪光祥, 杨选影, 等. 转化生长因子- $\beta 1$ 对肌腱腱鞘、腱外膜和腱内膜细胞增殖和胶原产生的影响[J]. *中华实验外科杂志.* 2006;23(9):1109-1111.
- [34] Hou Y, Mao Z, Wei X, et al. The roles of TGF- $\beta 1$ gene transfer on collagen formation during Achilles tendon healing. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;383(2):235-239.
- [35] Heinemeier K, Langberg H, Olesen JL, et al. Role of TGF- $\beta 1$ in relation to exercise-induced type I collagen synthesis in human tendinous tissue. *J Appl Physiol.* 2003; 95(6):2390-2397.
- [36] 王尉, 何恢绪, 彭心昭, 等. 转化生长因子- $\beta 1$ 对肌腱细胞DNA及胶原合成的影响[J]. *中华创伤杂志.* 2001,17(10):618-619.
- [37] Tsubone T, Moran SL, Subramaniam M, et al. Effect of TGF- β inducible early gene deficiency on flexor tendon healing. *J Orthop Res.* 2006;24(3):569-575.
- [38] 王尉, 马晓东. 基因治疗在组织修复的应用[J]. *医学综述.* 2000, 6(10):433-435.
- [39] 熊雁, 张正治. 核心蛋白聚糖在肌腱愈合中的作用研究进展[J]. *国外医学·骨科学分册.* 2005,26(3):185-187.
- [40] 扈盛, 欧高志, 滕宇等. 末端病造模方法的研究[J]. *武汉体育学院学报.* 2006, 40(4):79-81.
- [41] D'Souza D, Patel K. Involvement of long and short range signaling during early tendon development. *Anat Embryol.* 1999;200(4):367-375.
- [42] Cromack DT, Porras-Reyes B, Purdy JA, et al. Acceleration of tissue repair by transforming growth factor beta 1: identification of in vivo mechanism of action with radiotherapy-induced specific healing deficits. *Surgery.* 1993; 113(1):36-42.
- [43] Ngo M, Pham H, Longaker MT, et al. Differential expression of transforming growth factor- β receptors in a rabbit zone II flexor tendon wound healing model. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108(5):1260-1267.
- [44] 王尉, 朴英杰, 何恢绪. 转化生长因子- $\beta 1$ 对肌腱细胞增殖的调控作用[J]. *中华手外科杂志.* 2001,17(3):163-165.
- [45] Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med.* 2003;33(5):381-394.