

光生物调节治疗骨关节炎的抗氧化机制及应用研究进展

李旭冉^{1,2} 郭尚春^{1,2,3} 陶诗聪^{1,2}

¹上海交通大学医学院附属第六人民医院骨科, 上海 200233; ²上海市四肢显微外科研究所, 上海 200233; ³上海交通大学医学院六院临床医学院外科教研室, 上海 200233

通信作者: 陶诗聪, Email: sctao@shsmu.edu.cn

【摘要】 骨关节炎是一种常见的退行性疾病, 发病机制与活性氧(ROS)积累相关, 目前缺少较好的临床治疗及疾病管理方案。光生物调节(PBM)治疗是一种新兴的康复治疗技术, 可以提高线粒体膜电位, 减少 ROS 积累, 调节细胞代谢稳态, 在骨关节炎康复治疗中已有广泛研究。PBM 具有无创、便捷等优点, 有着广泛的临床应用前景, 但现阶段 PBM 治疗缺少较为统一的治疗方案, 其中一些关键参数的设定仍缺少标准。本文回顾了软骨细胞 ROS 的积累机制, 阐述了 PBM 治疗通过改善线粒体功能, 减轻 ROS 积累而产生的治疗作用, 并汇总了 PBM 治疗在骨关节炎治疗中的临床研究进展, 以期 PBM 在骨关节炎中的应用提供参考。

【关键词】 骨关节炎; 光生物调节; 活性氧; 康复治疗

基金项目: 国家自然科学基金(81802226, 81871834, 82072530); 上海市浦江人才计划(2019PJD038); 上海市第六人民医院优秀人才培养项目(ynyq202101); 上海交通大学医学院双百人项目(2022-017)

Funding: National Natural Science Foundation of China(81802226, 81871834, 82072530); Shanghai Pujiang Program(2019PJD038); Shanghai Sixth People's Hospital Funding(ynyq202101); Shanghai Jiaotong University School of Medicine "Two-Hundred Talent" Program(2022-017)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2023.07.019

骨关节炎是一种常见的退行性疾病, 可累及多关节, 典型的临床表现为关节疼痛及活动受限, 最终可导致关节畸形, 严重影响患者的日常生活。骨关节炎的危险因素包括高龄、创伤史、肥胖及长期负重活动等, 其中高龄是主要的危险因素。随着人口老龄化程度提高, 骨关节炎患病率也在逐渐增加^[1-2]。骨关节炎发病机制尚未完全明确, 目前研究表明软骨细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累与骨关节炎的发病密切相关, 也是潜在的治疗靶点^[3]。在缺氧、应力负荷及慢性炎症等因素刺激下, 软骨细胞线粒体中产生大量 ROS, 引起氧化应激, 导致核酸、蛋白质和脂质等结构破坏, 可造成线粒体功能障碍, 软骨细胞代谢紊乱甚至细胞凋亡。此外, ROS 积累可导致炎症因子、趋化因子及基质金属蛋白酶等表达升高, 从而促进软骨基质降解, 破坏软骨稳态^[4,5]。

骨关节炎的物理康复治疗是骨关节炎康复治疗的常用方法^[6-9]。光生物调节(photobiomodulation, PBM)治疗是一种非侵入性、较为安全的物理康复治疗方法, 多采用可见光或近红外光, 光谱范围通常在 470~1200 nm, 光源装置包括激光器与发光二极管, 根据功率的不同可分为低强度激光治疗和高强度激光治疗。近年来研究发现, PBM 通过减少 ROS 产生、降低炎症因子水平以减弱局部组织炎症反应及疼痛, 已被用于骨关节炎患者的康复研究^[10]。本文回顾了骨关节炎中 ROS 的积累研究、PBM 的抗氧化机制及在骨关节炎临床应用中的研究进展, 以期对 PBM 在骨关节炎中的应用提供参考。

骨关节炎中 ROS 的积累机制

细胞中的 ROS 主要通过线粒体产生, 多种因素均可导致软骨细胞中 ROS 积累: ①炎症因子——Ma 等^[11]研究表明肿瘤坏

死因子 α 可激活双链 RNA 依赖性蛋白激酶信号通路, 促使软骨细胞线粒体产生 ROS 增多; Wang 等^[12]研究证明, 白介素 1 β 可通过激活丝裂原活化蛋白激酶信号通路, 促进线粒体功能障碍并促进线粒体中 ROS 积累; 而白介素 1 β 可降低自噬标志物的表达, 抑制线粒体自噬, 促进软骨细胞内 ROS 积累^[13]; ②应力负荷——机械应力负荷过高时软骨细胞中线粒体嵴减少, 形态发生改变, ROS 生成增加^[14]; ③缺氧——当软骨细胞处于缺氧状态时, 钠离子进入线粒体基质与磷脂相互作用, 导致线粒体内膜流动性降低, 辅酶功能受到抑制, 导致线粒体中 ROS 产生过多^[15]; ④衰老——衰老软骨细胞中线粒体结构及功能受损, 抗氧化酶活性降低, ROS 产生增加, 消除减少^[16]。

线粒体 ROS 积累可破坏线粒体结构, 导致蛋白表达异常, 造成代谢稳态失衡, 促使软骨细胞凋亡^[17-18]。ROS 积累也会导致软骨细胞分解代谢基因表达水平较高, 环氧合酶、基质金属蛋白酶等蛋白表达显著增加, 促使软骨降解, 软骨变性、破坏^[19]。

PBM 的抗氧化机制研究

PBM 的治疗效果与光源、功率密度、波长及时间等参数均有关。作为一种新兴治疗方法, PBM 治疗的具体机制仍在探索, 目前认为 PBM 主要通过直接减少 ROS 的合成或提高细胞中抗氧化酶的含量而抑制细胞中 ROS 积累, 减轻细胞氧化应激损伤而发挥治疗作用。

一、减少 ROS 合成

PBM 可以通过直接减少 ROS 的合成而发挥治疗作用。线粒体是 PBM 治疗机制的主要位点, 线粒体中的细胞色素 C 氧化酶可以吸收光子, 促进一氧化氮的解离并激活离子通道, 线粒体膜电位增加从而提高了呼吸链电子传递效率。

PBM 直接减少 ROS 合成的主要因素有:①细胞状态——810 nm 激光在能量密度为 3~30 J/cm² 范围内可以提高正常细胞中线粒体膜电位及腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate,ATP)合成,且不伴随 ROS 的积累;在 3 J/cm² 以下或 30 J/cm² 以上时则伴随着 ROS 的增加,即 PBM 的双相剂量反应;对于处于氧化应激状态的细胞,使用激光照射会提高 ATP 的合成且减少 ROS 积累^[20]。Heo 等^[21]使用 20 mW/cm² 660 nm 激光照射处于应激状态的细胞,结果发现细胞中的 ROS 显著减少,细胞形态及相对活力更好;②光源能量密度——Pan 等^[22]研究发现,830 nm 激光在能量密度为 2.5 J/cm² 时会降低线粒体膜电位且减少 ROS;5 J/cm² 时细胞中线粒体膜电位及 ROS 均增高;10 J/cm² 时细胞中线粒体膜电位提高,但 ROS 降低;③光源波长——不同光源发挥抗氧化作用所需的能量密度或功率密度并不相同。Ferreira 等^[23]研究发现,照射后 3 d 内,使用 4 J/cm² 658 nm 红光可以减少细胞中的 ROS;而使用 18 J/cm² 658 nm 红光则会增加细胞中的 ROS;与之相对应的是,4 J/cm² 470 nm 和 18 J/cm² 470 nm 蓝光均可以减少细胞中 ROS 的生成,且凋亡细胞减少。这一现象可能与细胞色素 C 氧化酶对不同光谱的吸收能力不同相关。

ROS 在细胞中是有多效性的氧化还原信号分子,PBM 在降低 ROS 的过程中会激活多种信号通路,从而恢复细胞稳态及功能。45 J/cm² 980 nm 近红外光可以激活细胞中磷脂酰肌醇-3-激酶相关信号通路,增强细胞增殖及成骨分化能力^[24]。Bozhokin 等^[25]研究发现,低强度的 632.8 nm 激光可以上调骨髓间充质干细胞中软骨合成相关基因的表达,增强软骨生成能力。

二、提高抗氧化酶活性

PBM 可以通过提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶及谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶的表达而发挥治疗作用。Yamada 等^[26]利用 6 J/cm² 904 nm 激光及 18 J/cm² 904 nm 激光治疗骨关节炎模型大鼠,经 18 d 的治疗后,膝关节组织中的 SOD 等抗氧化酶增加、脂质过氧化水平及羰基含量明显降低,且关节灌洗液中白介素 1 β 等炎症因子减少;故认为 PBM 可以提高细胞中抗氧化酶的表达,减少细胞中 ROS 积累从而减轻了氧化应激损伤,进而减少细胞凋亡,减轻局部组织的炎症反应;PBM 对大鼠的机械性痛觉及自主性痛觉没有影响^[26]。但在其另一项研究中,Yamada 等^[27]使用 18 J/cm² 904 nm 激光可明显提高骨关节炎模型大鼠组织中 SOD 等抗氧化酶水平,降低血清亚硝酸盐或硝酸盐水平,并减轻了大鼠的机械性痛觉及自主性痛觉感受。

PBM 抑制 ROS 积累的机制现已得到公认,且对处于应激状态的细胞有着一定的治疗作用。但目前尚未完全清楚 PBM 的其它作用蛋白及激活的相关信号通路,且受波长、功率及时间等的影响,PBM 激活的蛋白或细胞器可能不同,对细胞的作用也会发生变化。因此,仍需进一步研究 PBM 对细胞的作用机制,从而阐明 PBM 的治疗机制。

PBM 在骨关节炎中的应用研究

PBM 治疗是一种新兴的骨关节炎康复治疗方法,根据功率大小可分为低强度激光治疗和高强度激光治疗。低强度激光治疗的功率多在 500 mW 以下,波长多在 470~1200 nm。高强度激光治疗常用光源为脉冲激光器,使用的激光峰值功率多在

3~3000 W。目前在骨关节炎临床康复研究中常探究 PBM 与其它康复治疗方法(运动治疗、药物治疗及超声治疗等)的联合治疗效果。

一、低强度激光治疗

低强度激光治疗是骨关节炎康复治疗研究中应用广泛的 PBM 治疗方式,单独使用低强度激光治疗骨关节炎患者时也有一定的临床疗效。Zhao 等^[28]进行了一项多中心双盲随机对照实验,纳入了 392 例骨关节炎患者,结合中医理论选取了 2 个穴位进行 4 周的激光治疗,使用 10.6 μ m 波长的激光,功率在 160~180 mW,结果发现低强度激光治疗可降低患者血清中软骨寡聚基质蛋白水平,且患者疼痛减轻,功能改善。Fakhari 等^[29]研究比较了低强度激光治疗与关节腔臭氧注射治疗效果,结果发现两者均可改善骨关节炎患者的关节活动范围,减轻疼痛。Robbins 等^[30]进行了一项低强度激光与拉伸运动的随机对照试验,纳入 215 例骨关节炎患者,结果表明低强度激光可有效减轻患者疼痛,改善患者膝关节功能。

目前,临床研究常将低强度激光治疗与其它治疗方法联合并探究对骨关节炎的治疗效果。Braghin 等^[31]的一项临床随机对照实验,以低强度激光与肌力训练联合治疗骨关节炎患者(实验包括了分级为 1~3 级的骨关节炎患者),其使用的激光为 808 nm 200 J/cm²,输出功率为 100 mW;经过 2 个月的治疗,结果发现联合治疗相比单纯肌力训练治疗可以更明显地改善患者步态及下肢功能。一项仅包含女性骨关节炎患者的临床实验中,研究者探究了低强度激光与运动训练的联合疗效,该项目使用了 808 nm 激光,治疗周期为 8 周;结果发现联合治疗相比单纯运动治疗可以更有效地减轻疼痛并改善关节活动范围,但在肌力及行走测试中并没有明显差异^[32]。Paolillo 等^[33]研究对比了低强度激光联合超声的治疗效果,实验使用了 808 nm 激光并纳入了 35 例女性骨关节炎患者,结果表明低强度激光联合超声治疗方法有效改善了患者肢体功能并提高了疼痛阈值。Yanik 等^[34]进行的一项低强度激光与关节穿刺术的联合治疗研究,纳入了 36 例颞下颌骨关节炎患者,结果表明联合治疗可减轻患者疼痛,改善下颌运动功能,且效果优于单独治疗。Stausholm 等^[35]探究低强度激光与运动联合治疗骨关节炎的效果,纳入了 50 例患者,在第 52 周随访时发现联合治疗可以提高患者膝关节功能,并能减轻止痛药的使用。Alfredo 等^[36]评估了低强度激光治疗的长期效果,使用 904 nm 激光并纳入 40 例骨关节炎患者,进行了 6 个月的随访周期,结果发现低强度激光联合运动治疗可以显著缓解骨关节炎患者疼痛,改善肢体功能。

二、高强度激光治疗

高强度激光治疗与低强度激光治疗相比,其穿透能力更强,可作用于深层组织且不会对组织造成损害。近年来研究表明,高强度激光治疗在减轻骨关节炎患者疼痛方面优于低强度激光治疗^[37]。Angelova 等^[38]将 72 例骨关节炎患者随机分为实验组和对照组,实验组使用 1064 nm,峰值功率 12 W 的激光进行治疗,通过对比发现高强度激光治疗可以有效减轻患者疼痛,改善患者运动功能,且随访发现减轻疼痛的效果在治疗结束后维持了 3 个月。Nazari 等^[39]对比了高强度激光治疗与运动治疗、经皮电刺激及超声治疗的有效性,纳入了 93 例骨关节炎患者并随机分为高强度激光治疗组、运动治疗组和传统物理

方法治疗组,使用的激光波长为 1064 nm,峰值功率为 5 W;经治疗 12 周后,结果发现高强度激光治疗在减轻患者疼痛、改善关节活动范围等方面显著优于运动治疗和传统物理治疗。Cantero-Téllez 等^[40]研究纳入 43 例骨关节炎患者进行高强度激光治疗的随机对照试验,使用了 800 nm 及 970 nm 激光,峰值功率为 3 W,结果表明高强度激光治疗可有效减少患者疼痛,改善患者拇指及腕关节功能,但 12 周后治疗效果下降。

临床研究发现,高强度激光治疗与其它方法的联合治疗效果优于单独治疗的效果。Alayat 等^[41]探究高强度激光联合药物及运动的治疗效果,使用了 1064 nm,峰值功率 3 kW 的激光,并纳入 67 例男性骨关节炎患者;经 6 周治疗及 3 个月随访周期,结果显示,高强度激光与药物及运动的联合治疗相比药物及运动治疗,在减轻患者疼痛、改善肢体功能及降低滑膜厚度方面更有疗效。

Gomes 等^[42]的临床随机对照实验中使用的光源包括 1 个 905 nm 8.5 W 功率的激光器,4 个 640 nm 15 mW 功率的激光器,4 个 875 nm 17.5 mW 功率的激光器;纳入 2~3 级的骨关节炎患者;治疗 5 周后,联合治疗组的疼痛阈值、肌力及关节活动范围等均较运动治疗组有更好的临床效果。Akaltun 等^[43]探究高强度激光与运动的联合治疗效果,研究纳入了 40 例骨关节炎患者随机分为两组,结果发现高强度激光与运动联合治疗明显改善了患者关节活动范围,增加了患者软骨厚度。

小结与展望

PBM 作为一种新兴的骨关节炎康复治疗方式,其抗氧化治疗机制目前已得到初步阐明,无论是单独应用还是联合应用,PBM 均取得了较好的疗效。但目前相关临床研究样本量较少,纳入的骨关节炎患者及次要结局定义不完全一致,故而可信度还较低。此外,PBM 治疗效果受到波长、功率、时间、作用方式等参数的影响,尚无较为统一的治疗方案,这也限制了 PBM 的临床推广应用。

PBM 有着无创、方便等优点,现阶段仍需开展多中心、大样本的临床研究以进一步确定其疗效、确定各种治疗方式包含的波长、功率、频率及时间等因素的最佳参数、制订标准的治疗方案并加以推广。相信随着研究的开展,PBM 治疗最终可成为一种成熟的康复治疗方法应用于临床,以其安全、经济、有效的优点造福骨关节炎患者。

参 考 文 献

- [1] Zhang L, Lin C, Liu Q, et al. Incidence and related risk factors of radiographic knee osteoarthritis: a population-based longitudinal study in China[J]. J Orthop Surg Res, 2021, 16(1): 474. DOI: 10.1186/s13018-021-02577-1.
- [2] Iidaka T, Muraki S, Oka H, et al. Incidence rate and risk factors for radiographic hip osteoarthritis in Japanese men and women: a 10-year follow-up of the ROAD study[J]. Osteoarthr Cartil, 2020, 28(2): 182-188. DOI: 10.1016/j.joca.2019.09.006.
- [3] Arra M, Swarnkar G, Ke K, et al. LDHA-mediated ROS generation in chondrocytes is a potential therapeutic target for osteoarthritis[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 3427. DOI: 10.1038/s41467-020-17242-0.
- [4] Feng K, Chen Z, Pengcheng L, et al. Quercetin attenuates oxidative stress-induced apoptosis via SIRT1/AMPK-mediated inhibition of ER

stress in rat chondrocytes and prevents the progression of osteoarthritis in a rat model[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10): 18192-18205. DOI: 10.1002/jcp.28452.

- [5] Hui W, Young DA, Rowan AD, et al. Oxidative changes and signalling pathways are pivotal in initiating age-related changes in articular cartilage[J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75(2): 449-458. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206295.
- [6] Chen AF, Khalouf F, Zora K, et al. Cooled radiofrequency ablation provides extended clinical utility in the management of knee osteoarthritis: 12-month results from a prospective, multi-center, randomized, cross-over trial comparing cooled radiofrequency ablation to a single hyaluronic acid injection[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2020, 21(1): 363. DOI: 10.1186/s12891-020-03380-5.
- [7] Kim ED, Won YH, Park SH, et al. Efficacy and safety of a stimulator using low-intensity pulsed ultrasound combined with transcutaneous electrical nerve stimulation in patients with painful knee osteoarthritis[J]. Pain Res Manag, 2019, 2019: 7964897. DOI: 10.1155/2019/7964897.
- [8] Ho KKW, Kwok AWL, Chau WW, et al. A randomized controlled trial on the effect of focal thermal therapy at acupressure points treating osteoarthritis of the knee[J]. J Orthop Surg Res, 2021, 16(1): 282. DOI: 10.1186/s13018-021-02398-2.
- [9] Liu Y, Dzidor G, Le TT, et al. Exercise-induced piezoelectric stimulation for cartilage regeneration in rabbits[J]. Sci Transl Med, 2022, 14(627): eabi7282. DOI: 10.1126/scitranslmed.abi7282.
- [10] Sakata S, Kunitatsu R, Tsuka Y, et al. High-frequency near-infrared diode laser irradiation suppresses IL-1 β -induced inflammatory cytokine expression and NF- κ B signaling pathways in human primary chondrocytes[J]. Lasers Med Sci, 2022, 37(2): 1193-1201. DOI: 10.1007/s10103-021-03371-5.
- [11] Ma CH, Wu CH, Jou IM, et al. PKR promotes oxidative stress and apoptosis of human articular chondrocytes by causing mitochondrial dysfunction through p38 MAPK activation-PKR activation causes apoptosis in human chondrocytes[J]. Antioxidants, 2019, 8(9): 370. DOI: 10.3390/antiox8090370.
- [12] Wang B, Shao Z, Gu M, et al. Hydrogen sulfide protects against IL-1 β -induced inflammation and mitochondrial dysfunction-related apoptosis in chondrocytes and ameliorates osteoarthritis[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(6): 4369-4386. DOI: 10.1002/jcp.30154.
- [13] Wang FS, Kuo CW, Ko JY, et al. Irisin mitigates oxidative stress, chondrocyte dysfunction and osteoarthritis development through regulating mitochondrial integrity and autophagy[J]. Antioxidants, 2020, 9(9): 810. DOI: 10.3390/antiox9090810.
- [14] Bartell LR, Fortier LA, Bonassar LJ, et al. Mitoprotective therapy prevents rapid, strain-dependent mitochondrial dysfunction after articular cartilage injury[J]. J Orthop Res, 2020, 38(6): 1257-1267. DOI: 10.1002/jor.24567.
- [15] Hermansanz-Agustín P, Choya-Foces C, Carregal-Romero S, et al. Na⁺ controls hypoxic signalling by the mitochondrial respiratory chain[J]. Nature, 2020, 586(7828): 287-291. DOI: 10.1038/s41586-020-2551-y.
- [16] Tan Q, Wang Q, Kuang L, et al. TGF- β /Alk5 signaling prevents osteoarthritis initiation via regulating the senescence of articular cartilage stem cells[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(7): 5278-5292. DOI: 10.1002/jcp.30231.
- [17] Tang Q, Zheng G, Feng Z, et al. Trehalose ameliorates oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction and ER stress via selective autophagy stimulation and autophagic flux restoration in osteoarthritis development[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(10): e3081. DOI: 10.1038/cddis.2017.453.

- [18] Li Q, Chen H, Li Z, et al. Glucocorticoid caused lactic acid accumulation and damage in human chondrocytes via ROS-mediated inhibition of monocarboxylate transporter 4[J]. *Bone*, 2022, 155: 116299. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116299.
- [19] Ansari MY, Ahmad N, Voleti S, et al. Mitochondrial dysfunction triggers a catabolic response in chondrocytes via ROS-mediated activation of the JNK/AP1 pathway[J]. *J Cell Sci*, 2020, 133(22): jcs247353. DOI: 10.1242/jcs.247353.
- [20] Hamblin MR. Mechanisms and mitochondrial redox signaling in photobiomodulation[J]. *Photochem Photobiol*, 2018, 94(2): 199-212. DOI: 10.1111/php.12864.
- [21] Heo JC, Park JA, Kim DK, et al. Photobiomodulation (660 nm) therapy reduces oxidative stress and induces BDNF expression in the hippocampus[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 10114. DOI: 10.1038/s41598-019-46490-4.
- [22] Pan LC, Hang NLT, Colley MMS, et al. Single cell effects of photobiomodulation on mitochondrial membrane potential and Reactive Oxygen Species production in human adipose mesenchymal stem cells[J]. *Cells*, 2022, 11(6): 972. DOI: 10.3390/cells11060972.
- [23] dos Santos Ferreira F, Cadoná FC, Aurélio AR, et al. Photobiomodulation-blue and red LED; protection or cellular toxicity? In vitro study with human fibroblasts[J]. *Lasers Med Sci*, 2022, 37(1): 523-530. DOI: 10.1007/s10103-021-03290-5.
- [24] Agas D, Hanna R, Benedicenti S, et al. Photobiomodulation by near-infrared 980-nm wavelengths regulates preosteoblast proliferation and viability through the PI3K/Akt/Bcl-2 pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7586. DOI: 10.3390/ijms22147586.
- [25] Bozhokin MS, Vcherashnii DB, Yastrebov SG, et al. Low-intensity photobiomodulation at 632.8nm increases *tgfβ3*, *col2a1*, and *sox9* gene expression in rat bone marrow mesenchymal stem cells in vitro[J]. *Lasers Med Sci*, 2022, 37(1): 435-441. DOI: 10.1007/s10103-021-03279-0.
- [26] Yamada EF, Bobinski F, Martins DF, et al. Photobiomodulation therapy in knee osteoarthritis reduces oxidative stress and inflammatory cytokines in rats[J]. *J Biophotonics*, 2020, 13(1): e201900204. DOI: 10.1002/jbio.201900204.
- [27] Yamada EF, dos Santos Stein C, Moresco RN, et al. Photobiomodulation and Sida tuberculata combination declines the inflammation's markers in knee-induced osteoarthritis[J]. *Lasers Med Sci*, 2022, 37(1): 193-204. DOI: 10.1007/s10103-020-03207-8.
- [28] Zhao L, Cheng K, Wu F, et al. Effect of laser moxibustion for knee osteoarthritis: a multisite, double-blind randomized controlled trial[J]. *J Rheumatol*, 2021, 48(6): 924-932. DOI: 10.3899/jrheum.200217.
- [29] Fakhari S, Pishghahi A, Pourfathi H, et al. A comparison between low-level laser therapy and intra-articular ozone injection in knee osteoarthritis treatment: a randomized clinical trial[J]. *J Lasers Med Sci*, 2021, 12: e44. DOI: 10.34172/jlms.2021.44.
- [30] Robbins SR, Alfredo PP, Junior WS, et al. Low-level laser therapy and static stretching exercises for patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial[J]. *Clin Rehabil*, 2022, 36(2): 204-213. DOI: 10.1177/02692155211047017.
- [31] de Matos Brunelli Braghin R, Libardi EC, Junqueira C, et al. The effect of low-level laser therapy and physical exercise on pain, stiffness, function, and spatiotemporal gait variables in subjects with bilateral knee osteoarthritis: a blind randomized clinical trial[J]. *Disabil Rehabil*, 2019, 41(26): 3165-3172. DOI: 10.1080/09638288.2018.1493160.
- [32] Vassão PG, de Souza MC, Silva BA, et al. Photobiomodulation via a cluster device associated with a physical exercise program in the level of pain and muscle strength in middle-aged and older women with knee osteoarthritis: a randomized placebo-controlled trial[J]. *Lasers Med Sci*, 2020, 35(1): 139-148. DOI: 10.1007/s10103-019-02807-3.
- [33] Paolillo FR, Paolillo AR, João JP, et al. Ultrasound plus low-level laser therapy for knee osteoarthritis rehabilitation: a randomized, placebo-controlled trial[J]. *Rheumatol Int*, 2018, 38(5): 785-793. DOI: 10.1007/s00296-018-4000-x.
- [34] Yanik S, Polat ME, Polat M. Effects of arthrocentesis and low-level laser therapy on patients with osteoarthritis of the temporomandibular joint[J]. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 2021, 59(3): 347-352. DOI: 10.1016/j.bjoms.2020.08.110.
- [35] Stausholm MB, Naterstad IF, Alfredo PP, et al. Short- and long-term effectiveness of low-level laser therapy combined with strength training in knee osteoarthritis: a randomized placebo-controlled trial[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(12): 3446. DOI: 10.3390/jcm11123446.
- [36] Alfredo PP, Bjordal JM, Junior WS, et al. Long-term results of a randomized, controlled, double-blind study of low-level laser therapy before exercises in knee osteoarthritis: laser and exercises in knee osteoarthritis[J]. *Clin Rehabil*, 2018, 32(2): 173-178. DOI: 10.1177/0269215517723162.
- [37] Kheshie AR, Alayat MSM, Ali MME. High-intensity versus low-level laser therapy in the treatment of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial[J]. *Lasers Med Sci*, 2014, 29(4): 1371-1376. DOI: 10.1007/s10103-014-1529-0.
- [38] Angelova A, Ilieva EM. Effectiveness of high intensity laser therapy for reduction of pain in knee osteoarthritis[J]. *Pain Res Manag*, 2016, 2016: 9163618. DOI: 10.1155/2016/9163618.
- [39] Nazari A, Moezy A, Nejati P, et al. Efficacy of high-intensity laser therapy in comparison with conventional physiotherapy and exercise therapy on pain and function of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial with 12-week follow up[J]. *Lasers Med Sci*, 2019, 34(3): 505-516. DOI: 10.1007/s10103-018-2624-4.
- [40] Cantero-Téllez R, Villafañe JH, Valdes K, et al. Effects of High-Intensity laser therapy on pain sensitivity and motor performance in patients with thumb carpometacarpal joint osteoarthritis: a randomized controlled trial[J]. *Pain Med*, 2019, 21(10): 2357-2365. DOI: 10.1093/pm/pnz297.
- [41] Alayat MSM, Aly THA, Elsayed AEM, et al. Efficacy of pulsed Nd: YAG laser in the treatment of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial[J]. *Lasers Med Sci*, 2017, 32(3): 503-511. DOI: 10.1007/s10103-017-2141-x.
- [42] de Paula Gomes CAF, Leal-Junior ECP, Dibai-Filho AV, et al. Incorporation of photobiomodulation therapy into a therapeutic exercise program for knee osteoarthritis: a placebo-controlled, randomized, clinical trial[J]. *Lasers Surg Med*, 2018, 50(8): 819-828. DOI: 10.1002/lsm.22939.
- [43] Akaltun MS, Altindag O, Turan N, et al. Efficacy of high intensity laser therapy in knee osteoarthritis: a double-blind controlled randomized study[J]. *Clin Rheumatol*, 2021, 40(5): 1989-1995. DOI: 10.1007/s10067-020-05469-7.