

- production in TGF- α 1-treated normal and keloid fibroblasts via inhibition of the p38/Smad3 pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85 (11):1594-1602.
- [7] Moura Júnior MD, Arisawa EA, Martin AA, et al. Effects of low-power LED and therapeutic ultrasound in the tissue healing and inflammation in a tendinitis experimental model in rats [J/OL]. *Lasers Med Sci*, 2013;E1 [2013-05-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. [Epub ahead of print May 10, 2013].
- [8] Enwemeka CS, Rodriguez O, Mendosa S. The biomechanical effects of low-intensity ultrasound on healing tendons [J]. *Ultrasound Med Biol*, 1990, 16(8):801-807.
- [9] Morrisette DC, Brown D, Saladin ME. Temperature change in lumbar periticular with continuous ultrasound [J]. *J Orthop Sports Phys Ther*, 2004, 34(12):754-760.
- [10] Tsai CL, Chang WH, Liu TK. Preliminary studies of duration and intensity of ultrasonic treatments on fracture repair [J]. *Chin J Physiol*, 1992, 35(1):21-26.

(修回日期:2013-10-26)

(本文编辑:汪 玲)

激光照射治疗大鼠内侧副韧带损伤的疗效观察

闫海莲

【摘要】目的 观察激光照射治疗大鼠内侧副韧带急性损伤的疗效。**方法** 将 40 只 Wistar 大鼠制成内侧副韧带急性损伤动物模型,采用随机数字表法将其分为观察组及对照组,每组 20 只。观察组大鼠于制模 1 周后给予患处 650 nm 激光照射,每次照射 25 min,每天照射 2 次,共持续照射 4 周;对照组大鼠制模后未给予特殊处理。于激光照射 4 周后将 2 组大鼠愈合处韧带制成标本,分别进行愈合处肌腱组织学检查及生物力学检测。**结果** 经 4 周激光照射后,发现观察组大鼠愈合处韧带 I 型胶原含量 $[(40.21 \pm 3.16)\%]$ 及生物力学特性[极限负荷及拉伸刚度分别为 (2.75 ± 0.34) N 和 (5.42 ± 0.51) N/mm]均明显优于对照组水平,组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 650 nm 激光照射能促进大鼠韧带急性损伤修复,并提高其生物力学特性,且该疗法无毒、副作用,值得临床进一步研究、应用。

【关键词】 激光疗法; 内侧副韧带损伤; 大鼠

剧烈体育运动容易造成膝关节韧带急性损伤,尤其以内侧副韧带(medial collateral ligament, MCL)受暴力导致撕裂伤较多见。轻度 MCL 损伤不需要外科处置,患者多可自行愈合,而较严重的 MCL 撕裂或断裂伤愈合时间较长或难以自行愈合,对患者日常生活及运动锻炼均造成严重影响。近年来激光在临床中的应用逐渐受到关注,目前激光已广泛应用于治疗心脑血管疾病、糖尿病、肿瘤甚至精神科疾病,且均获得一定疗效^[1];但采用激光治疗韧带损伤则鲜见报道。为探讨激光照射对韧带急性损伤是否具有疗效,本研究通过制作 MCL 急性损伤大鼠模型并对其进行激光治疗,从而观察激光照射对韧带损伤的治疗作用。现报道如下。

材料与方法

一、实验材料

共选取清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 40 只备用,均购自郑州大学医学院动物饲养中心,体重 (160 ± 14) g,8~10 周龄;主要实验试剂为 I 型胶原单克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司产);主要实验设备包括 IZ010 型万能材料测试机(德国 Zwick/Roell 公司产)、862 型中频激光治疗仪(郑州医科实业有限公司产)等。

二、MCL 急性损伤模型制作

制模前标记每只大鼠体重及周龄,然后将大鼠固定于手术台上,按每千克体重 40 mg 腹腔注射戊巴比妥钠(1%)麻醉,在右膝内侧作 1 cm 长纵形切口,充分暴露大鼠 MCL,用手术刀在胫骨结节处部分横断 MCL,横断伤口处可见约 2 mm 宽缝隙,手术后采用 5-0 号可吸收线缝合皮肤,并将手术肢体用夹板固定,重新投入各自笼内饲养 1 周。术后第 7 天采用随机数字表法将上述 MCL 急性损伤大鼠分为对照组及观察组,每组 20 只。2 组大鼠均由专人统一饲养料理,保持饲养环境通风,室温控制在 24℃ 左右,每日对大鼠消毒 2 次,以避免伤口感染,每 8 小时喂食 1 次。

三、制模后干预

观察组大鼠于制模后第 7 天去除夹板后给予激光照射,治疗时将大鼠头部、躯干捆绑固定并保持俯卧位,选用 862 型激光治疗仪,该治疗仪发出的激光波长为 650 nm,输出功率为 0~3000 mW 且连续可调,设定照射功率为 1000 mW,将激光探头对准韧带损伤部位,探头距离患处皮肤约 3 cm,调整光斑直径为 10 mm,每次治疗 25 min,每天早、晚各治疗 1 次,共持续治疗 4 周。对照组大鼠制模后未给予特殊处理。

四、标本取样

于制模后第 6 周时 2 组各随机取 10 只大鼠用乙醚麻醉,切开右后肢缝合处皮肤显露 MCL,仔细剔除韧带周围组织,将愈合处韧带取下进行 I 型胶原表达检测;另取 2 组剩余大鼠右后肢股骨-MCL-胫骨复合体组织,对愈合处韧带进行生物力学测定。

五、I 型胶原表达检测

2 组大鼠愈合处 MCL 标本经石蜡包埋后行连续切片,片厚

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.01.019

基金项目:河南省 2011 年度科学研究科技攻关计划项目(112102310180)

作者单位:454000 焦作,河南理工大学万方科技学院

5 μm , 经酒精逐级脱水及磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 水化, 通过逐步滴加 1:100 兔抗胶原 I 型单克隆抗体和生物素标记的二抗后, 室温下孵育 10 min, 经 PBS 液冲洗后然后滴加 1:100 的链酶亲和素-生物素-过氧化物酶复合物 (streptavidin biotin-peroxidase complex, SABC), 在室温下孵育 10 min, 经 PBS 液冲洗后采用苏木素染色, 经常规脱水封固后置于显微镜下观察, 每张切片随机选取 5 个视野, 采用 Tiger920G 型图像分析软件计算阳性标记面积占测量面积的比值, 进而得出 I 型胶原相对表达量。

六、MCL 生物力学检测

于生物力学检测前, 首先取出 2 组大鼠右后肢股骨-MCL-胫骨复合体标本在常温下解冻, 将复合体两端骨性部分用夹具固定在 IZ010 型万能材料测试机上, 分别测试 2 组大鼠 MCL 愈合处的极限负荷及拉伸刚度。整个测试过程采用生理盐水保持 MCL 湿润, 拉伸速度设定为 10 mm/min, 直至韧带断裂停止拉伸。

七、统计学分析

本研所得计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 13.0 版统计学软件包进行数据处理, 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、2 组大鼠 MCL 愈合处 I 型胶原表达情况比较

实验期间 2 组均无大鼠死亡, 分别经 4 周干预后, 发现观察组大鼠 MCL 愈合处 I 型胶原含量为 $(40.21 \pm 3.16)\%$; 而对照组大鼠 I 型胶原含量为 $(28.53 \pm 2.74)\%$, 经统计学比较发现, 观察组 I 型胶原含量明显高于对照组水平, 组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

二、2 组大鼠 MCL 愈合处生物力学检测结果比较

经 4 周激光照射后, 分别对 2 组大鼠右后肢股骨-MCL-胫骨复合体进行生物力学检测, 发现观察组 MCL 愈合处极限负荷及拉伸刚度分别为 $(2.75 \pm 0.34) \text{ N}$ 和 $(5.42 \pm 0.51) \text{ N/mm}$; 对照组 MCL 愈合处极限负荷及拉伸刚度分别为 $(1.19 \pm 0.26) \text{ N}$ 和 $(3.60 \pm 0.42) \text{ N/mm}$; 经统计学比较发现, 观察组 MCL 愈合处极限负荷及拉伸刚度均明显优于对照组水平, 组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

讨 论

韧带损伤后由于韧带完整性遭到破坏且韧带缺少血管滋养, 其愈合周期通常较长甚至很难康复^[2]。相关研究也指出, 韧带愈合处其组织学及生物力学特性均发生改变, 愈合后很难恢复正常韧带的强度及弹性, 受牵拉后容易再次断裂^[3]。由此可见, 如何促进韧带损伤区愈合及提高愈合质量具有重要的临床意义。

目前研究发现, 韧带是由规则、致密的胶原结缔组织形成, 其损伤修复过程一般分为出血期、炎症期、增殖及塑形期、成熟期 4 个阶段, 其中 I 型胶原是韧带的重要基质成份, 占韧带干重的 70% ~ 80%, 主要发挥韧带抗拉伸功能, 同时亦是韧带愈合过程中增殖及塑形阶段的重要标志物之一^[4], 故临床在观察韧带及肌腱愈合时, 多通过测定 I 型胶原表达来了解韧带愈合情况。另外杨晓等^[5]研究指出, 韧带愈合过程主要是在损伤处

形成瘢痕组织, 与一般的结缔组织相似, 而不是真正意义上的韧带组织再生, 所以检测韧带生物力学性能是衡量韧带愈合质量的重要依据, 而不能仅看愈合伤口外在表现。基于上述情况, 本研究采用激光对 MCL 急性损伤大鼠进行治疗, 并通过检测观察组及对照组愈合韧带的 I 型胶原含量及愈合处韧带生物力学特性, 从而比较 2 组大鼠韧带愈合情况。结果发现观察组大鼠愈合韧带的 I 型胶原含量及极限负荷、拉伸刚度均明显优于对照组水平 ($P < 0.05$), 表明观察组韧带愈合质量显著优于对照组, 其治疗机制可能包括以下方面: ①本研所用 650 nm 激光在血液中具有极强的穿透性, 容易被组织吸收并产生能量效应和生物学效应, 其产生的热能及化学能较小, 通常不会对机体组织造成伤害^[1]; ②激光照射可改善局部微循环, 增加毛细血管血流量, 抑制血栓形成, 提高组织渗透性, 清除血液中毒素及自由基, 减少水肿及血肿; 如李猛等^[6]通过实验发现, 特定功率激光照射对结肠炎大鼠具有治疗作用, 可显著减轻大鼠病理炎症反应, 以患部黏膜下层水肿改善情况尤为显著; ③激光照射产生的生物学效应可改变血液流变学性质, 并促进 ATP 酶生成, 有助于降低全血黏度及血小板凝集能力, 增加红细胞变形能力及流动性, 同时还可以提高红细胞携氧能力并增强组织对氧的利用率, 进而促进机体新陈代谢水平提高^[7-8]; ④激光照射产生的生物刺激效应能增强体内超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性, 从而调节机体免疫功能并促进细胞再生^[9]。

综上所述, 本研究结果表明, 采用 650 nm 激光治疗 MCL 急性损伤大鼠具有显著疗效, 能明显改善大鼠受损韧带生物力学特性, 加速功能恢复; 至于激光照射治疗韧带损伤的确切机制目前尚未明确, 还有待进一步深入探讨。

参 考 文 献

- [1] 范晓红, 李正佳, 朱长虹. 低能量激光应用与医学治疗的机理研究进展[J]. 激光杂志, 2002, 23(5): 78-79.
- [2] 梁华伟. 肌腱损伤的治疗进展[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2010, 32(9): 715-717.
- [3] 姜大朋, 李昭铸, 张玉波, 等. 钬酸盐促进大鼠内侧副韧带损伤愈合的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2010, 18(8): 663-665.
- [4] Liang R, Woo SL, Takakura Y, et al. Long-term effects of porcine small intestine submucosa on the healing of medial collateral ligament: a functional tissue engineering study[J]. J Orthop Res, 2006, 24(4): 811-819.
- [5] 杨晓, 李箭. 韧带损伤及愈合机制[J]. 中国修复重建外科杂志, 2005, 19(10): 835-838.
- [6] 李猛, 杜金刚, 黄力平, 等. 不同强度激光照射对溃疡性结肠炎大鼠炎症反应的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2012, 34(10): 737-741.
- [7] 杜丽, 雷飏. 半导体激光合并运动疗法治疗偏瘫肩痛临床研究[J]. 激光杂志, 2012, 33(3): 48-49.
- [8] 马长升, 尹勇, 李海涛, 等. 半导体激光照射对家兔皮肤伤口愈合的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2010, 32(5): 321-323.
- [9] 李秋实, 周延民, 曲世华, 等. 不同方式的低能量激光照射对 MG-63 细胞周期和细胞凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(4): 509-510.

(修回日期: 2013-10-13)

(本文编辑: 易 浩)