



跟腱末端病大鼠低功率激光治疗前后蛋白多糖含量的变化

沈勇伟, 张 林

摘要: 以末端病大鼠为实验对象, 通过低功率激光照射其跟腱, 观察低功率激光对末端病大鼠跟腱组织中蛋白多糖含量的动态变化, 探讨低功率激光对末端病跟腱损伤后恢复的影响及其机制, 结果表明: 低功率激光照射促进蛋白多糖的合成, 调节细胞外基质, 减少疤痕形成, 蛋白多糖与胶原共同促进跟腱愈合, 提高跟腱修复质量。

关键词: 低功率激光; 末端病; 跟腱; 蛋白多糖

中图分类号: G804.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-1207(2013)02-0042-03

Changes of Proteoglycan Content before and after Treatment with Low-power Laser to Rats with Achilles Tendon Enthesiopathy

SHEN Yong-wei, ZHANG Lin

(School of Physical Education, Soochow University, Suzhou 215021, China)

Abstract: Taking the rats with enthesiopathy as the subjects and using a low-power laser irradiation on their Achilles tendon, the author observed the dynamic changes of the proteoglycan content in the Achilles tendon tissues of the rats with enthesiopathy so as to find out the effect and mechanism of low-power laser on the recovery of Achilles tendon enthesiopathy. The result shows that low-power laser irradiation improves synthesis of proteoglycan, regulates extracellular matrix and reduces tendon healing scar. Proteoglycan and collagen promote tendon healing and improve the quality of tendon repair.

Key words: low-power laser; enthesiopathy; Achilles tendon; proteoglycan

目前, 由运动引起的肌腱损伤越来越多, 其中跟腱末端病的发病率呈现高发趋势。由于跟腱解剖生理特点决定了末端病的复杂性及其病变的多样性, 使得人们对末端病的发病机制尚无统一认识。肌腱是乏细胞和乏血管的组织, 代谢慢, 愈合也较慢, 而且通常是疤痕愈合, 因此损伤的肌腱可能不能恢复到健康和正常的肌腱功能水平。目前对于末端病治疗方法的研究只是停留在药物治疗、理疗和手术治疗阶段, 因存在其疗效和应用的方便性等原因, 在肌腱损伤治疗上没有表现出显著的优势。低功率激光疗法作为一种常见的物理疗法, 其本身就是一种治疗性激光, 能对生物体产生特定的刺激作用, 一般不引起温度上升, 能引起某些生物学效应^[1], 因此, 探讨低功率激光治疗跟腱, 对末端病所起的作用和影响, 探索跟腱末端病的发病机制, 筛选一些与跟腱损伤和修复有关并且有效的指标, 探寻一种治疗跟腱末端病科学、合理的方法显得十分必要和急需。

1 材料与方

1.1 实验材料

4 周龄健康清洁级雄性 Wistar 大鼠 96 只 (由苏州大学动物实验中心提供), 体重为 (108 ± 7.8) g, 适应性喂养一周后随机分为空白对照组 (N=8) 和跟腱末端病模型制备组 (N=88)。

Wistar 大鼠每笼 4 只进行饲养, 自由进食与饮水, 用国家标准啮齿类动物饲料进行喂养。保持动物房温度为 18~24℃、相对湿度为 45%~55%, 充足的自然光照。

1.2 研究方法

1.2.1 动物模型

用电刺激跳跃法制备跟腱末端病动物模型。Wistar 大鼠 88 只, 分别将大鼠放入造模装置, 每 15 s 通电一次, 持续 20 min, 休息 10 min, 再持续 20 min。每天造模 1 次, 每周 6 次, 持续 5 周。通电电压由小逐步加大, 直到大鼠出现有效跳跃为止, 一般在 50 V 左右, 个别情况下达到 80~100 V。

剔除造模过程中不符合要求的大鼠, 将造模大鼠随机分为造模对照组 (N=6); 按取材时间点不同分为造模自然愈合 1 d 组、2 d 组、3 d 组、7 d 组、14 d 组, 每组 6 只; 造模激光治疗 1 d 组、2 d 组、3 d 组、7 d 组、14 d 组, 每组 6 只 (表 1)。

1.2.2 激光照射方法

采用苏州大学信息光学工程研究所制造的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, 每日 1 次。

1.2.3 指标测试方法

ELISA 法测定跟腱内蛋白多糖的含量。

收稿日期: 2013-03-10

基金项目: 江苏省社会发展项目 (BS2006020)

第一作者简介: 沈勇伟, 男, 副教授, 博士, 硕士生导师. 主要研究方向: 运动与肌腱研究。

作者单位: 苏州大学 体育学院, 江苏 苏州 215021



表1 实验动物分组
Table I Groups of the Rats for Experiment

组别	N	1d	2d	3d	7d	14d
造模对照组	6					
造模自然愈合组		6	6	6	6	6
造模激光治疗组		6	6	6	6	6

1.2.4 统计分析

结果采用平均数±标准差 (X ± SD) 表示, 所有数据用 SPSS17.0 统计软件包处理, 采用方差分析, 显著性水准为 0.05。

2 研究结果

2.1 正常对照组与造模对照组大鼠跟腱蛋白多糖含量的测试结果

对照组间比较, 造模组大鼠跟腱中蛋白多糖含量明显下降, 与正常对照组比较具有统计学显著性意义 (P < 0.05), 结果如表2。

表2 正常对照组与造模对照组蛋白多糖含量的比较 (N=6)
Table II Comparison between the Proteoglycan Content of the Control Group and that of the Model Group (N=6)

	蛋白多糖 / (μg · mg ⁻¹ 湿重)
空白对照组	370.87 ± 9.24
造模对照组	219.72 ± 10.86*

注: 对照组间比较, * 表示 P < 0.05

2.2 激光治疗组和自然愈合组大鼠跟腱蛋白多糖含量的测试结果

实验结果表明, 随着恢复时间的增加, 自然愈合组和激光治疗组跟腱中蛋白多糖的含量均逐渐增加 (见表3)。

表3 造模后各组蛋白多糖含量的比较 (N=6)

Table III Comparison between the Proteoglycan Content of the Different Groups after the Model was Formed (N=6)

组别	激光照射组	自然愈合组
	/ (μg · mg ⁻¹ 湿重)	/ (μg · mg ⁻¹ 湿重)
造模对照组	219.72 ± 10.86	219.72 ± 10.86
造模后1d组	222.71 ± 10.23	220.40 ± 10.03
造模后2d组	233.61 ± 7.64	232.76 ± 3.33
造模后3d组	249.85 ± 13.48	235.59 ± 12.51
造模后7d组	313.26 ± 18.08**	239.50 ± 13.48*
造模后14d组	379.52 ± 16.00***	266.20 ± 19.95**

注: 与造模对照组比较, * 表示 P < 0.05; 与自然愈合组同一取材点比较, # 表示 P < 0.05

自然愈合组的蛋白多糖含量, 在前7 d中缓慢增加, 与造模对照组比较无显著性变化 (P > 0.05), 直至第14 d时出现了显著性差异 (P < 0.05)。

激光治疗组蛋白多糖含量的变化的特点为: 第1 d、2 d、3 d逐渐增加, 与造模对照组相比差异不明显 (P > 0.05), 第7 d时开始出现显著性差异 (P < 0.05), 14 d时差异非常明显 (P < 0.01)。

激光治疗组与自然愈合组比较, 在造模后的第7 d出现了显著性差异 (P < 0.05), 第14 d时这种差异仍明显存在 (P < 0.05)。

3 讨论

蛋白多糖是肌腱细胞外基质的主要成分, 它对肌腱胶原修复的作用主要是通过 TGF 的调节和抑制胶原纤维的形成等机制来实现的。有关它在肌腱修复中的作用及其机制的研究已有相关报道, 艾进伟等^[2]在探讨肌腱基质中的胶原纤维和蛋白多糖之间的结构关系时发现: 胶原纤维和蛋白多糖之间存在复杂的编织排列可能就是肌腱的功能、结构基础。Redaelli^[3]的研究证明蛋白多糖参与到力的传递中, 而且与组织的粘弹性有关。这些研究表明, 蛋白多糖在维持肌腱的结构和功能起着至关重要的作用。艾进伟等^[4]还对制动条件下豚鼠跟腱胶原及蛋白多糖的变化进行了研究, 发现制动后 III 型胶原含量相对明显增加, 并且成纤维细胞及蛋白多糖也增多, 得出结论制动加速肌腱基质的分解。提示运动载荷通过加快 III 型胶原和蛋白多糖的降解, 加速肌腱基质的分解, 制动可激活 III 型胶原和蛋白多糖的合成。

3.1 末端病大鼠跟腱蛋白多糖含量的变化

目前虽然对末端病大鼠跟腱有相关研究, 但对其跟腱蛋白多糖的分析未见报道。本研究结果显示, 末端病大鼠跟腱中蛋白多糖含量与正常对照组比, 具有显著性差异 (P < 0.05), 提示造模后蛋白多糖明显降低, 随着恢复时间的增加, 跟腱中蛋白多糖的含量逐渐增加, 与艾进伟的结果相吻合^[2]。

本研究表明, 运动载荷可加快肌腱蛋白多糖分解。不适宜的载荷会导致蛋白多糖降解更快, 加速肌腱基质分解, 造成损伤, 运动后随着载荷的取消, 蛋白多糖分解代谢被抑制, 同时合成代谢被激活, 蛋白多糖的含量逐渐增加。

3.2 低功率激光治疗对末端病大鼠跟腱蛋白多糖含量的影响

有关低功率激光治疗对肌腱损伤修复中蛋白多糖影响的研究尚未见报道。本研究显示, 末端病大鼠在恢复阶段, 激光治疗组蛋白多糖的含量的变化与自然愈合组一样, 是随时间增加而逐渐升高, 但增加幅度要大于自然愈合组, 并在第7 d就出现了显著性差异, 表明低功率激光照射能促进末端病大鼠跟腱蛋白多糖的合成, 加快跟腱细胞外基质成分的恢复, 有利于受损跟腱的修复。分析其原因, 作者认为, 低功率激光对蛋白多糖合成的调节作用, 一方面可能是低功率激光激活了蛋白多糖合成相关酶的活性, 调控了蛋白多糖的合成代谢, 从而增加蛋白多糖的含量; 另一方面可能是受细胞因子的调控, 特别是 TGF-β 的负性调节的影响^[5], 本研究发现低功率激光能延缓 TGF-β 的下降, 使 TGF-β 保持在一个比较高的水平, 但 TGF-β 的高表达会使肌腱形成疤痕组织, 影响肌腱恢复效果, 因此通过蛋白多糖合成的增加, 与 TGF-β 受体竞争性结合, 起到抗纤维化作用, 本研究中 TGF-β 的高水平可能是诱导蛋白多糖合成增加的一个重要因素。

本研究还显示, 低功率激光在增加蛋白多糖的合成同时也促进了胶原的生成, 这有利于在胶原纤维与蛋白多糖之间形成适合于发挥肌腱性能的复杂的编织排列, 从而改变肌腱的构型, 增强肌腱的功能, 促进肌腱的修复。



4 结论

4.1 低功率激光治疗在末端病大鼠跟腱早期愈合中有一定的促进作用, 这种作用在 7 d 后开始出现。

4.2 低功率激光治疗能通过对蛋白多糖酶活性和细胞因子的调控, 促进蛋白多糖的合成, 调节细胞外基质, 减少疤痕形成。

4.3 低功率激光在增加蛋白多糖的合成同时也促进了胶原的生成, 共同促进跟腱愈合, 提高跟腱修复质量。

参考文献:

[1] 罗丽, 张林. 低功率激光对运动损伤的修复效应[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12 (35): 6907-6910.

- [2] 艾进伟, 黄昌林, 任强. 兔跟腱基质中胶原纤维和蛋白多糖结构的原子力显微镜观察[J]. 中国临床康复, 2005 (06): 45-48.
- [3] Redaelli A, Vesentini S, Soncini M, et al. (2003). Possible role of decorin glycosaminoglycans in fibril to fibril force transfer in relative mature tendons—a computational study from molecular to microstructural level [J]. *Biomech*, 36(10):1555-1569.
- [4] 艾进伟, 黄昌林, 吕荣, 等. 制动对豚鼠跟腱基质的影响[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2005 (05): 123-126.
- [5] Yamaguchi Y, Mann DM, Ruoslahti E. (1990). Negative regulation of transforming growth factor-beta by the proteoglycan decorin [J]. *Nature*, 346 (6281):281-284.

(责任编辑: 何聪)

(上接第 37 页)

趋势。造模后大鼠跟腱胶原 III mRNA 表达迅速上调, 胶原 III 的合成量也增加, 两者与对照组相比都具有显著性的差异 ($P < 0.05$), 第 1 d、2 d、3 d, 胶原 III mRNA 表达和胶原 III 的含量逐渐增加, 与对照组相比, 差异非常显著 ($P < 0.01$), 此后胶原 III mRNA 表达开始迅速增加, 并在第 7 d 达到峰值 ($P < 0.01$), 之后开始下降, 但在第 14 d 仍高于对照组 ($P < 0.05$), 而胶原 III 的合成仍显著增加 ($P < 0.05$), 至 14 d 增加还是明显 ($P < 0.05$)。这种变化也说明胶原 III 在跟腱修复的早期阶段起着十分重要的作用, 与上述相关研究的结果和观点相一致。

4 结论

4.1 在末端病大鼠跟腱早期修复过程中胶原 I 的表达被抑制。

4.2 在末端病大鼠跟腱修复的早期阶段胶原 III 起着十分重要的作用, 这种作用在修复的前 7 d 效果非常明显。

4.3 末端病大鼠跟腱修复初期胶原 III 能代偿被抑制合成的胶原 I, 积极参与肌腱的再生, 直至胶原 I 代谢被激活后, 两者共同促进肌腱的修复。

参考文献:

- [1] Olesen JL, Heinemeier KM, Haddad F, et al. (2006). Expression of insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, and collagen mRNA in mechanically loaded plantaris tendon. [J]. *Appl Physiol*, 101(1):183-188.
- [2] 李敏. 跑台运动对大鼠跟腱的及其机制研究[D]. 中国学位论文全文数据库. 2008
- [3] Eriksen HA, Plajala A, Leppilahti J, et al. (2002). Increased content of type III Collagen at the rupture site of human Achilles tendon [J]. *J Orthop Res*, 20(6):1352-1357
- [4] 艾进伟. 强化训练队跟腱塑形改建影响的动物实验和人群干预研究[D]. 中国学位论文全文数据库. 2005
- [5] 任洪峰. 不同训练方式对大鼠跟腱改建影响的实验研究[D]. 中国学位论文全文数据库. 2005
- [6] 艾进伟, 黄昌林, 吕荣, 等. 制动对豚鼠跟腱基质的影响[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2005, (05): 123-126.

(责任编辑: 何聪)