



大强度跳跃负荷下 p38MAPK 对兔髌腱起止点微细结构影响

陈一言¹,陆阿明¹,齐亚楠²,王琳^{2*},刘云逸²

摘要:目的:使用电刺激定量跳跃装置使兔完成一次大强度跳跃运动,通过注射 p38MAPK 抑制剂来研究 p38MAPK 的活化作用在此种负荷下对兔髌骨髌腱结合部(PPTJ)与胫骨髌腱结合部(TPTJ)的产生的影响有何不同,是否会使组织结构分层相同的 2 个结合部之间产生差异。方法:14 只 18 周龄雌性新西兰大白兔,随机分为对照组(CON, N=4)、跳跃组(J1, N=5)、跳跃后注射 p38 抑制剂组(J1P, N=5)。每天 150 次定量跳跃,训练结束 24 h 后处死取样,进行 H&E 与免疫组化处理,取样部位为 PPTJ 与 TPTJ。结果:(1)J1P 组 PPTJ 的 IL-6 含量明显大于 CON 组;(2)J1 与 J1P 组 PPTJ 与 TPTJ 均有微细结构损伤,J1P 组中 2 个部位之间的软骨带厚度有显著性差异;(3)CON 组 2 个部位间 IL-1 β 、IL-6 有显著性差异,J1 组 PPTJ 与 TPTJ 之间 IL-1 β 、IL-6、TGF- β 1 有显著性差异,J1P 组 PPTJ 与 TPTJ 之间 IL-1 β 有显著性差异。结论:(1)一次大强度跳跃负荷会引起 PPTJ 与 TPTJ 微细结构变化(TPTJ 的微细结构变化优于 PPTJ)并使 PPTJ 与 TPTJ 之间 TGF- β 1 差值显著增大,p38MAPK 被抑制后结局相反;(2)一次大强度跳跃负荷下,p38MAPK 的活化会维持 PPTJ 中 IL-6 含量的稳定,p38MAPK 被抑制使 PPTJ 与 TPTJ 之间 IL-6 含量显著性差异消失。

关键词:大强度跳跃负荷;髌腱两端结合部;p38MAPK

中图分类号:G804 文献标志码:A 文章编号:1006-1207(2021)06-0086-07

DOI:10.12064/ssr.20210611

The Effect of p38MAPK on the Microstructure of Rabbits Bone-Patellar Tendon Junctions under High-Intensity Jumping Load

CHEN Yiyang¹, LU Aming¹, QI Yanan², WANG Lin^{2*}, LIU Yunyi²

(1. Institute of Physical Education, Soochow University, Suzhou 215021, China; 2. Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

Abstract: Objective: Using electrical stimulation quantitative jumping device for rabbits to complete a high-intensity jump training, injecting p38MAPK inhibitor to study the different activation of p38MAPK in rabbit patella patellar tendon junction (PPTJ) and tibial patellar tendon junction (TPTJ) under such load, and whether there will be a difference between two joints with the same hierarchical structure. Experimental methods: 14 18-week-old female New Zealand rabbits were randomly divided into control group (CON, N=4), jumping group (J1, N=5), and p38 inhibitor injection group after jumping (J1P, N=5). 24 hours after the training, the rabbits were sacrificed and sampled for H&E and immunohistochemical treatment. The sampling sites were patella patellar tendon junction (PPTJ) and tibial patellar tendon junction (TPTJ). Results: (1)The content of IL-6 in PPTJ of J1P group was significantly higher than that of con group; (2)Both PPTJ and TPTJ in J1 and J1P groups had microstructural damage, and there was significant difference in the thickness of cartilage zone between the two parts in J1P group; (3) There were significant differences in IL-1 β and IL-6 between the two parts of con group; there were significant differences in IL-1 β , IL-6, TGF- β 1 between PPTJ and TPTJ, and IL-1 β between

收稿日期:2020-11-30

基金项目:江苏省产学研合作项目(BY2019022);江苏省体育局重大体育科研课题(ST192101)。

第一作者简介:陈一言,女,在读博士研究生。主要研究方向:运动医学、运动生物力学。E-mail:670399071@qq.com。

*通信作者简介:王琳,男,博士,教授,博士生导师。主要研究方向:运动医学。E-mail:waley@bsu.edu.cn。

作者单位:1.苏州大学体育学院,江苏苏州 215021;2.北京体育大学,北京 100084。



PPTJ and TPTJ in J1P group. Conclusion: (1) A high-intensity jump load can cause the microstructural changes of PPTJ and TPTJ (the microstructural change of TPTJ is better than that of PPTJ), and the difference of TGF- β 1 between PPTJ and TPTJ is significantly increased, and the result is opposite after p38MAPK is inhibited; (2) The activation of p38MAPK can maintain the stability of IL-6 content in PPTJ, and the inhibition of p38MAPK makes significant difference in IL-6 content between PPTJ and TPTJ disappeared.

Keywords: high-intensity jumping load; bone-patellar tendon junction; p38MAPK

髌腱病是髌腱反复承受不合理的负荷导致的进行性变,在篮、足、排等需要反复跳跃的项目中患病率可达34%^[1]。目前还没有针对髌腱病的完善有效的预防或治疗措施出现,这种现状与对其发生机制不了解有关,因此,完善髌腱病的发病机制非常重要。

肌腱部位的代谢决定了其对外力负荷的病理和生理适应之间的均衡^[2-4],信号通路则在此时承担桥梁的作用。p38 促分裂原活化蛋白激酶(Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) 信号通路是细胞内信息传递的主要信号通路之一,外力负荷下 p38MAPK 信号传导通路把外部刺激传至细胞内部,从而调节生理生化反应^[5-7],应力刺激会影响 p38MAPK 在肌细胞、腱细胞、骨与软骨中的活跃程度^[8]。

髌腱起于髌尖,止于胫骨结节,髌腱病患者触诊最痛点为腱起止点^[9-10],大多数针对髌腱与骨结合部的研究只涉及髌骨髌腱结合部(PPTJ)。即使在相同的干预条件下,髌腱中不同部位的变化也不尽相同^[11],缺乏胫骨髌腱结合部(TPTJ)的研究则无法全面了解腱病中腱止点的发病机制。虽然肌腱附着点的损伤是由于持续收缩的肌肉不断牵拉附着点而引起的一种慢性损伤,但是一次不适宜运动引起的急性损伤有可能成为腱病的起始原因^[12-13]。本文通过电刺激定量跳跃装置使兔进行一次大强度跳跃负荷,研究在 p38MAPK 信号通路被抑制前后兔 PPTJ 与 TPTJ 的适应性变化有何不同,是否会组织结构分层相同的两结合部之间产生差异。该研究旨在了解 p38MAPK 在腱病发展中的作用,丰富和完善髌腱发病机制,为运动中腱病预防提供理论指导。

1 研究方法

该方案经北京体育大学运动科学实验伦理委员会批准(批准号:2016013),实验动物均在麻醉下进行所有手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

1.1 实验对象与分组

14只18周龄雌性新西兰大白兔(购买于北京

兴隆实验动物养殖中心),随机分为对照组(CON, N=4)、跳跃组(J1, N=5)、跳跃后注射 p38 抑制剂组(J1P, N=5)。温度 20~22℃,湿度 55%~65%。常规饲养 1 周后进行实验。

1.2 动物训练方法

本研究采用的动物模型为在北京体育大学运动医学实验室建立的新西兰大白兔大强度定量跳跃模型,该模型需要用到的仪器为:电刺激动物跳台(DSTT-1)、激光发射接收器(ZL-QTJS002)^[14]。牵引绳将兔前肢套起,跳跃前训练人员提起绳索使兔前肢呈悬空姿态,后肢位于电刺激器上,与地面呈 60°保持预备姿势,兔腾空及落地过程中牵引绳处于不受力状态。电压 15 V,电流 1 min 通 5 次,电刺激引发兔向前上方跳跃且每次跳跃后迅速将兔重置并重复这一过程。激光发射接收器固定跳台 2 侧,实时反馈跳跃高度。合格跳跃定义为兔以预备姿势在电刺激的电流刺激下向正前方主动跳跃,高度不低于 15 cm(该模型的大强度由兔的最低跳跃高度得出)^[14]。实验前所有训练人员接受培训。适应性训练 3 d,每天跳跃次数依次增加,分别为 50 次、100 次、150 次。训练时安抚兔情绪。正式实验:每日 1 次,每次 150 个合格跳跃。分 10 组完成,每组 15 次。组间休息 3 min,为了控制跳跃质量,第 4 组与第 8 组结束后,休息 6 min。此举是为了控制跳跃质量,若不延长休息时间将无法完成后续训练。CON 组不训练, J1P 组于每次训练后腹腔注射 SB203580 (0.5 mg/kg)。关于 p38 抑制剂的研究已比较完善,大量文献证明, p38 抑制剂 SB203580 在注射进实验动物体内可产生抑制效应^[15]。

1.3 样品处理

完成相应训练 24 h 后 25%戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射,兔固定在解剖台上,沿兔后肢长轴剪开兔膝关节皮肤,取兔髌腱连同髌腱末端区附着的骨和软骨,手术刀切分为 PPTJ 与 TPTJ, 10%福尔马林溶液固定 24 h, 70%酒精保存。保存后的组织常规脱水



(LeicaASP200S,德国)后石蜡包埋(Leica,德国),每一部位按横截面一分为二待测,冷却后冰箱 4℃ 保存。随后进行石蜡切片(LeicaRM2235,德国),切片厚度 7 μm。每个蜡块保证组织完整的 15 张切片,烤箱 60℃ 烘烤 2 h。

1.4 组织染色

使用常规 H&E 染色(苏木素与伊红染色液 G1140,G1110,购于 Solarbio)与免疫组化(一抗比例 1:100,bs-0812R,bs-6312R,bs-0086R,Bioss;试剂盒 SP-0022,SP-0023,Bioss)处理。

1.5 图像采集

使用光学显微图像采集系统(50i,日本尼康)进行图像采集。H&E 在 20 倍、40 倍视野下各拍摄 1 张,100 倍 3 张,偏振光模式拍摄要求同上。免疫组化 20 倍视野 1 张,100 倍 3 张,400 倍 5 张。拍摄标准统一,PPTJ 髌尖朝左下方 45°,100 倍视野下骨区占画面的三分之一;TPTJ 髌腱与胫骨结合位置的长条形空隙一致横向置于画面中线并与上下底边平行。存为 TIF 格式。

1.6 测试指标

采用定性描述和相对定量分析 2 种方式。定性分析腱止点细胞的形态、胶原排列、潮线变化等组织学表现;定量(MetaMorph 7.7)分析纤维软骨带厚度、细胞密度与免疫组化阳性指标数(选取与 p38 及腱病联系密切的相关因子,分别为 IL-6、IL-1β、TGF-β1)。软骨带厚度与细胞密度在 100 倍视野下

的 3 张照片测定后取平均值。免疫组化阳性指标在 400 倍下测定 5 张后取平均值。在肌腱对负荷的适应性过程中,炎性因子与纤维化因子是影响这一进程的两大重要因素^[16]。有研究认为白细胞介素(IL)是腱病的初始致病因子,也有实验通过对急性运动后的组织活检发现 IL 对腱病的上调作用被夸大^[17]。转化生长因子-β(TGF-β1)是调节损伤愈合中纤维化进程的核心因子^[18],它可以调节胶原的生成并促进瘢痕形成与组织连续^[19]。p38MAPK 可以影响 IL 等炎性因子的产生,并能够在 TGF-β 激活的蛋白激酶 1 结合蛋白(TAB1)的帮助下完成自身磷酸化过程^[20]。

1.7 统计学处理

测试结果用平均数±标准差($\bar{X} \pm SD$)描述。将干预手段(对照、跳跃、跳跃加抑制剂)作为自变量,使用单因素方差分析法分别对 PPTJ 和 TPTJ 进行定量指标分析,后续两两比较采用 LSD 方法;相同干预条件下的 PPTJ 与 TPTJ 2 个不同部位之间进行配对 T 检验。显著性差异定义为 $P < 0.05$ 。指标包括:细胞密度、软骨带厚度、免疫组化 IL-6、IL-1β、TGF-β1 阳性计数。

2 结果

2.1 PPTJ 与 TPTJ 的组织形态学定性描述

图 1 所示,CON-P 为对照组 PPTJ 的 H&E 图像,CON-P' 是 CON-P 偏振光图像,CON-T 是对照组 TPTJ 的 H&E 图像,CON-T' 是 CON-T 偏振光图像,以此类推。

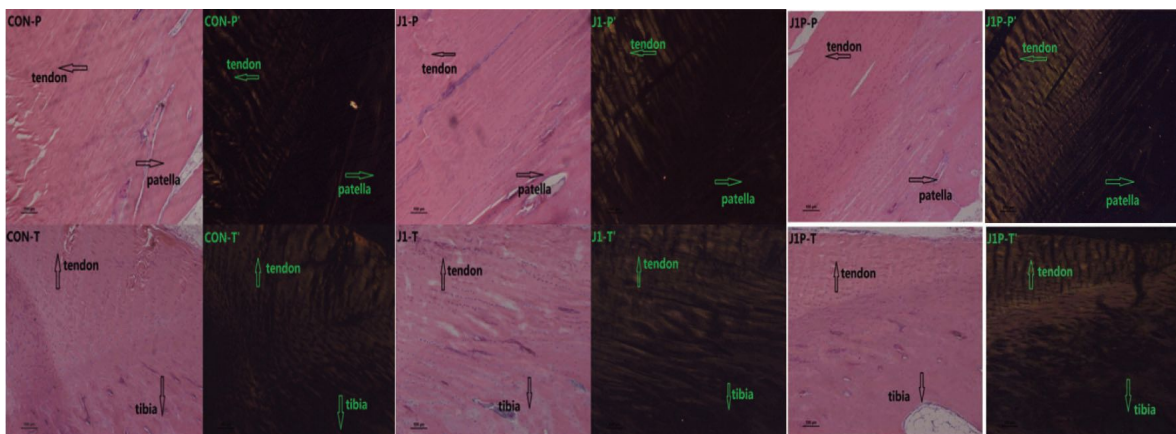


图 1 H&E 染色显微成像图(放大倍数 100×)

Figure1 H&E staining microscopic image(magnification 100×)

PPTJ 与 TPTJ 的 CON 组结果:肌腱细胞核均呈梭形,软骨细胞核呈圆形,均无细胞核聚集现象,肌腱的胶原纤维整齐排列,纤维软骨区靠近肌腱部位

的软骨细胞呈扁圆形,在靠近软骨中央的地方细胞体积逐渐增大变为卵圆形,骨区多椭圆形空腔,非钙化的纤维软骨、钙化软骨与骨之间分层清晰。TPTJ



纤维软骨区与钙化的软骨区之间可见一条清晰、平滑的圆弧形潮线,PPTJ 未见潮线;TPTJ 肌腱与软骨细胞比 PPTJ 的肌腱与软骨细胞排列更加紧凑,且 TPTJ 的卵圆形细胞核的面积略大于 PPTJ,即 TPTJ 的软骨区域比 PPTJ 多;偏振光图像显示,TPTJ 比 PPTJ 胶原排列更致密。

J1 组:以 CON 组为参照,PPTJ 与 TPTJ 均产生了小范围的细胞聚集现象,PPTJ 细胞聚集情况的改变更明显;PPTJ 出现潮线,TPTJ 潮线与 CON 组无明显改变;此时二者潮线相比,TPTJ 潮线更加清晰平滑;偏振光图像显示,2 个部位未产生明显的胶原形态改变。

J1P 组:以 J1 组为参照,TPTJ 潮线边缘模糊且清晰度低于 PPTJ 潮线。

2.2 指标定量分析

如表 1 所示,干预手段只对 PPTJ 的 IL-6 有显著性影响($P=0.045$),所以对该指标进行两两比较。

表 1 干预手段对 PPTJ 与 TPTJ 指标单因素方差结果($\bar{X}\pm SD$)

Table1 The results of single-factor variance of PPTJ and TPTJ indicators by intervention methods ($\bar{X}\pm SD$)

指标	PPTJ	显著性	TPTJ	显著性
细胞密度(个/ $10^4\mu m^2$)	9.02±1.20	0.90	10.12±1.87	0.277
软骨带厚度(um)	324.63±79.64	0.145	403.77±55.19	0.061
IL-1 β (个/ mm^2)	8.27±8.21	0.769	24.84±9.79	0.546
IL-6(个/ mm^2)	13.54±9.07	0.045	24.00±6.32	0.245
TGF-1 β (个/ mm^2)	6.09±6.34	0.401	10.04±6.91	0.943

图 2 结果显示,J1P 组 PPTJ 的 IL-6 含量明显大于 CON 组($P=0.015$)。

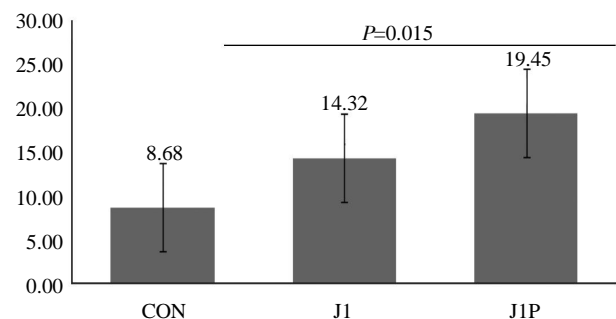


图 2 干预手段对 PPTJ 的 IL-6 影响两两比较结果(个/ mm^2)

Figure2 Pairwise comparison of the intervention effects on IL-6 of PPTJ (pieces/ mm^2)

由表 2 可知,软骨带厚度在 J1P 组 PPTJ 明显小于 TPTJ($P<0.05$),其他时间点均无显著性差异。

表 2 PPTJ 与 TPTJ 细胞密度与软骨带厚度的相对值比较($\bar{X}\pm SD$)

Table2 Comparison of cell density and cartilage zone thickness between pptj and tptj($\bar{X}\pm SD$)

组别	部位	细胞密度	软骨带厚度
CON	PPTJ	9.17±1.24	314.7±59.77
	TPTJ	10.48±1.41	381.98±34.09
J1	PPTJ	8.99±1.34	361.26±90.3
	TPTJ	10.55±2.32	391.38±52.43
J1P	PPTJ	8.89±1.11	288.78±71.38
	TPTJ	9.23±1.50	441.05±61.90*

注:*表示同组内 PPTJ 与 TPTJ 软骨带厚度之间比较 $P<0.05$ 。

由表 3 可知,CON 组中,PPTJ 的 IL-1 β 与 IL-6 明显少于 TPTJ($P<0.05$);J1 组 PPTJ 的 IL-1 β 、TGF- β 1、IL-6 明显少于 TPTJ($P<0.05$);J1P 组中,PPTJ 的 IL-1 β 含量明显少于 TPTJ($P<0.05$)。

表 3 PPTJ 与 TPTJ 免疫组化指标的相对值比较($\bar{X}\pm SD$)

Table3 Comparison of immunohistochemical indexes between PPTJ and TPTJ($\bar{X}\pm SD$)

组	部位	IL-1 β	IL-6	TGF- β 1
CON	PPTJ	6.95±4.56	8.68±4.71	6.63±6.63
	TPTJ	27.63±8.49*	24.41±6.51#	10.18±7.05
J1	PPTJ	8.04±9.80	14.32±5.42	3.67±4.88
	TPTJ	24.79±11.41*	26.6±5.35#	10.47±5.22 Δ
J1P	PPTJ	10.68±9.16	19.45±11.31	8.05±7.27
	TPTJ	22.19±8.51*	20.51±5.18	9.48±8.85

注:*表示同组内 PPTJ 与 TPTJ 之间 IL-1 β 比较 $P<0.05$;

#表示同组内 PPTJ 与 TPTJ 之间 IL-6 比较 $P<0.05$;

Δ 表示同组内 PPTJ 与 TPTJ 之间 TGF- β 1 比较 $P<0.05$ 。

3 讨论

3.1 大强度跳跃负荷下 p38MAPK 对兔髌腱起止点组织学影响

组织学上的“潮线”指的是未钙化软骨与钙化软骨的分界线,健康骨髓结合部的潮线通常呈现圆弧形,边缘清晰,这种结构可以帮助减少软骨损伤^[1]。在 J1 组中,一次大强度跳跃负荷使肌腱受应力刺激,细胞内胶原和基质的合成增加,新陈代谢增加,对 PPTJ 造成细胞核聚集、潮线形态改变、边缘模糊与上涨等情况,对 TPTJ 仅造成细胞聚集的情况,由此可见,在一次性的大强度跳跃负荷下,PPTJ 比 TPTJ 更脆弱,这可能与二者在健康情况下的组织学结构有关,从 CON 组的实验结果来看,健康情况下的 TPTJ 比 PPTJ 结构更加致密。肌腱的波浪状纤维结构在受到外力刺激时,可以有效利用结构优势进行



缓冲,这种机制在一定程度上可以避免肌腱因受力过大而产生损伤^[21],J1 组偏振光结果显示,PPTJ 与 TPTJ 的胶原排列均无明显变化,说明在这一点上二者均可以良好地适应。通过文献检索未发现一次运动与骨腱结合部相关的研究成果出现,因此本文将结合与肌腱或长期运动相关的研究成果进行讨论。李敏等^[22]研究发现一次性中等强度跑台运动会使鼠跟腱的胶原间隙增大、局部排列错乱,与本文结果不一致,原因可能是部位不同或取材时间不同,李敏等^[22]的研究取材时间为训练后即刻,而本文的取材时间为训练后 24 h,或许可以说明一次急性运动后发生的微细结构损伤可以在 24 h 内逐渐恢复。

申晋波等^[23]发现急性力竭运动使大鼠跟腱胶原排列紊乱、间隙增大,与本实验结果不同,原因可能是取材部位的不同和其干预手段为力竭运动。在 J1P 组中,注射 p38MAPK 抑制剂使 PPTJ 的潮线更清晰,原本潮线更加清晰的 TPTJ 部位适应性能力降低。p38MAPK 在运动过程中将力学因素传递到细胞内,从而使相关细胞对该刺激进行生理生化调节反应,关于 p38MAPK 的研究表明:p38MAPK 信号通路的抑制使得许多病理变化得到抑制,如细胞凋亡、炎性因子的产生及基质分解酶的分解作用等^[24]。本实验结果提示,一次大强度跳跃负荷下,p38MAPK 在 2 个结合部表达被激活且对 PPTJ 潮线表现有消极影响,对 TPTJ 潮线表现有积极影响。汤婷婷^[25]研究发现 2 周与 6 周跳跃会使大鼠跟腱止点中 p38 表达显著增加,与本研究结果类似。在损伤修复的早期,相关因子在修复的过程中会通过瘢痕形成来促进组织的连续性,同时也会激活软骨细胞的增殖分化,导致细胞数量增多。只有持续不断的负荷有效地激活了以上进程,才会使腱止点的细胞密度增加,这是组织在损伤早期对应力负荷导致细微损伤所做出的适应性反应^[26]。本实验条件下未对细胞密度产生统计学影响,可见在一次大强度跳跃刺激下,p38MAPK 激活与否对髌腱起止点细胞的增殖分化未起明显作用。腱止点的纤维软骨带厚度常常被用来评价该部位的损伤愈合与恢复情况。纤维软骨带厚度的增加往往是因为此处受到反复的应力刺激导致纤维软骨细胞增多,骨与肌腱之间接触面更大,使应力有所分散,且随着跳跃负荷的积累和训练时间的延长,活跃的软骨细胞会合成更多的基质,增强抗拉力^[27]。

本研究结果显示,实验干预手段未使 PPTJ 或 TPTJ 各自的软骨带厚度产生明显变化。梁孝天等^[28]发现 4 周的跳跃训练会使兔 PPTJ 细胞密度与软骨带厚度显著增加,与本文结果不符,这可能是由于本

实验干预时间短。虽然本实验干预未使 2 个结合部各自的软骨带厚度明显增加,但使二者之间的软骨带厚度差值发生了显著变化。健康的 PPTJ 与 TPTJ 之间软骨带厚度不存在显著性差异,一次大强度跳跃负荷也未明显地使二者软骨带厚度产生显著性差异,p38MAPK 表达被抑制后,TPTJ 的软骨带厚度显著大于 PPTJ。该结果提示,一次大强度跳跃负荷下,p38MAPK 信号通路被激活并影响 PPTJ 与 TPTJ 软骨带厚度差异,使二者的抗拉能力拉开差距。

3.2 大强度跳跃负荷下 p38MAPK 对兔髌腱起止点相关因子含量影响

在腱病发展过程中,早期是否存在炎症反应及其作用尚不清楚,炎性病变更否被认为是腱病的原因目前尚无定论。IL-1 β 常被认为是炎症反应的核心,它影响细胞外基质降解,调节炎性介质 IL-6、COX-2、PGE2 的生成,调控胶原生成并促进弹性蛋白生成,改变肌腱细胞的网架结构^[29]。TGF- β 1 则是纤维化反应的核心因子,它与肌腱的力学性能息息相关。在本实验中,只有 PPTJ 的 IL-6 含量在其适应性进程中有显著改变,J1P 组明显大于 CON 组。Astill 等^[30]发现急性抗阻运动后 3~4 h 肌腱中 IL-6 含量显著上升,与本文结果不符的原因可能是测定时间不同,或许说明一次急性运动后 IL-6 的变化可以逐渐恢复。申晋波等^[23]发现急性力竭运动过程中大鼠跟腱 TGF- β 1 表达过高,与本研究结果不符,可能是由于其实验条件为力竭运动。CON 组结果说明在健康的 PPTJ 与 TPTJ 中,PPTJ 中的 IL-1 β 、IL-6 含量明显少于 TPTJ,而 TGF- β 1 的含量无明显差异,即这 2 个部位相关的炎症反应能力存在差异,而纤维化性能在健康状态下并没有存在明显差距。跳跃与抑制并没有改变 2 个结合部中 IL-1 β 含量的差异,但改变了其他 2 个细胞因子的结果。J1 组,2 个部位 TGF- β 1 含量开始有明显差值,具体表现为 PPTJ 的 TGF- β 1 含量明显少于 TPTJ,可知一次大强度跳跃负荷使 PPTJ 与 TPTJ 之间 TGF- β 1 含量差值显著增加。注射抑制剂后 2 个部位 TGF- β 1 与 IL-6 含量的显著性差异消失,该种现象提示 p38MAPK 在一次大强度跳跃负荷下会对 PPTJ 与 TPTJ 之间 TGF- β 1、IL-6 含量的差异产生影响^[31]。

3.3 大强度跳跃负荷下 p38MAPK 与兔髌腱起止点适应性反应的关系

通过本实验中的结果可知,在一次大强度跳跃负荷下,PPTJ 的适应性能力弱于 TPTJ,这可能是健



康情况下的 PPTJ 无论从细胞密度还是胶原纤维的排列紧密程度都低于 TPTJ, 并且 IL-1 β 、IL-6 这 2 个炎症因子在 2 个部位中的原始表达量有较大差异, 导致炎症反应机能有一定差异。将组织学表现与细胞因子结果结合分析, J1 组大强度跳跃负荷对 2 个结合部均造成微细结构紊乱现象, TPTJ 紊乱程度低于 PPTJ, 与此同时, 2 个部位的 TGF- β 1 含量开始产生差异, TPTJ 明显大于 PPTJ, 意味着此时这 2 个部位的纤维化进程已经产生差距^[32], 可以认为 TPTJ 此时的高 TGF- β 1 表达对其适应性进程有积极作用。注射抑制剂后 PPTJ 中 IL-6 相比 CON 组显著提高, 2 个部位中 TGF- β 1、IL-6 含量差异消失, 软骨带厚度差值明显增大, 且此时原本适应能力更强的 TPTJ 在组织学上的表现差于 PPTJ。软骨带厚度增加有时被看作是一种正面的适应性反应, 但在本实验 J1P 组中, 组织学上 TPTJ 表现更差, 推测在 J1P 组中, TPTJ 软骨带厚度明显大于 PPTJ 并不能被认为是 PPTJ 正面的适应性反应, 反而会减弱整个骨腱结合部区域的组织柔韧性与肌腱的抗牵拉能力^[33-34]。该结果提示, 一次大强度跳跃负荷下, 抑制 p38MAPK 会使原本 TPTJ 优于 PPTJ 的现象扭转。

一次大强度跳跃负荷下, p38MAPK 会对 PPTJ 与 TPTJ 的适应性反应产生影响, 抑制前 TPTJ 优于 PPTJ, 抑制后情况发生反转。本研究结果显示, p38 在腱病发展过程中的作用值得进一步研究, 以形成成熟的研究成果运用于实际运动中。使用 p38 抑制剂在特定时间段对特定部位进行干预, 从而降低腱病发展的可能性或推迟腱病发展过程中的时间节点。

4 结论

4.1 一次大强度跳跃负荷会引起 PPTJ 与 TPTJ 微细结构变化(TPTJ 的微细结构变化优于 PPTJ)并使 PPTJ 与 TPTJ 之间 TGF- β 1 差值显著增大, p38MAPK 被抑制后结局相反。

4.2 一次大强度跳跃负荷下, p38MAPK 的活化会维持 PPTJ 中 IL-6 含量的稳定, p38MAPK 被抑制使 PPTJ 与 TPTJ 之间 IL-6 含量显著性差异消失。

参考文献:

[1] HUTCHISON M K, HOUCK J, CUDDEFORD T, et al. Prevalence of patellar tendinopathy and patellar tendon abnormality in male collegiate basketball players: A cross-sectional study[J]. *Journal of Athletic Training*, 2019, 54(9):953-958.

[2] 刘春雨, 韩小燕, 王琳. 腱病相关概念与机制的争论[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(2):282-288.

[3] 陈晓蓝, 梁孝天, 张宁, 等. 腱止点过度使用性损伤形成过程中细胞外基质的调节机制[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(20):3174-3179.

[4] 申晋波, 沈勇伟, 张林. 低功率激光对一次性离心力竭运动大鼠跟腱蛋白多糖含量的影响[J]. *体育科研*, 2013, 34(2):38-41.

[5] ZHOU R X, QU Y, HUANG Q, et al. Recombinant CC16 regulates inflammation, oxidative stress, apoptosis and autophagy via the inhibition of the p38MAPK signaling pathway in the brain of neonatal rats with sepsis[J]. *Brain Research*, 2019, 1725:146473.

[6] EWENDT F, FÖLLER M. p38MAPK controls fibroblast growth factor 23 (FGF23) synthesis in UMR106-osteoblast-like cells and in IDG-SW3 osteocytes[J]. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2019, 42(12):1477-1483.

[7] CHEN Z X, LIU Q L, ZHU Z W, et al. Toll-like receptor 4 contributes to uterine activation by upregulating pro-inflammatory cytokine and CAP expression via the NF- κ B/P38MAPK signaling pathway during pregnancy[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(1):513-525.

[8] LEE K, SEO I, CHOI M, et al. Roles of mitogen-activated protein kinases in osteoclast biology[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(10):3004.

[9] BENJAMIN M, TOUMI H, RALPHS J R, et al. Where tendons and ligaments meet bone: Attachment sites ('entheses') in relation to exercise and/or mechanical load[J]. *Journal of Anatomy*, 2006, 208(4):471-490.

[10] 曲绵域, 于长隆. 实用运动医学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2003.

[11] 刘春雨, 韩小燕, 王琳. 腱病相关基础研究: 微观生物力学与应力屏蔽[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(5):766-772.

[12] KJAER M, HEINEMEIER K M. Eccentric exercise: Acute and chronic effects on healthy and diseased tendons[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2014, 116(11):1435-1438.

[13] WANG L, XIONG K Y, WANG B, et al. Effects of time to start training after acute patellar tendon enthesis injuries on healing of the injury in a rabbit model[J]. *The American Journal of Sports Medicine*, 2017, 45(10):2405-2410.

[14] LIU H T, GAO F, LIANG X T, et al. Pathogenesis and development of patellar tendon fibrosis in a rabbit overuse model[J]. *The American Journal of Sports Medicine*, 2020, 48(5):1141-1150.

[15] 肖云, 方浩. 小分子 p38 MAPK 抑制剂的研究进展[J]. *中国药物化学杂志*, 2015, 25(4):306-312.

[16] 宫凤艳. 维拉帕米通过 TGF- β 1/smad3/P38/ERK1/2 信



- 号通路缓解大鼠跟腱损伤修复后的纤维化粘连[D].吉林:吉林大学,2019.
- [17] MAEDA E, KUROYANAGI K, ANDO Y, et al. Effects of substrate stiffness on morphology and MMP-1 gene expression in tenocytes stimulated with interleukin-1 β [J]. *Journal of Orthopaedic Research*, 2020, 38(1):150-159.
- [18] PARK G S, AN M K, YOON J H, et al. Botulinum toxin type A suppresses pro-fibrotic effects via the JNK signaling pathway in hypertrophic scar fibroblasts [J]. *Archives of Dermatological Research*, 2019, 311(10):807-814.
- [19] HARRISON P, DIDEMBOURG M, WOOD A, et al. Characteristics of L-PRP preparations for treating Achilles tendon rupture within the PATH-2 study [J]. *Platelets*, 2021, 32(2):273-279.
- [20] CHENG M, GENG Y, CHEN Y T, et al. Delta-opioid receptor activation ameliorates lipopolysaccharide-induced inflammation and apoptosis by inhibiting the MAPK/caspase-3 pathway in BV2 microglial cells[J]. *Experimental Brain Research*, 2021, 239(2):401-412.
- [21] CHEN G Y, ZHANG W Q, ZHANG K, et al. Hypoxia-induced mesenchymal stem cells exhibit stronger tenogenic differentiation capacities and promote patellar tendon repair in rabbits[J]. *Stem Cells International*, 2020, 2020:8822609.
- [22] 李敏,张林.跑台运动对大鼠跟腱形态结构和生物力学性能的影响[J].*体育科学*,2009,29(1):72-76.
- [23] 申晋波,张林.急性力竭运动导致大鼠跟腱微损伤的超微结构变化及机制[J].*中国组织工程研究*,2021,25(8):1190-1195.
- [24] RODRÍGUEZ-CARBALLO E, GÁMEZ B, VENTURA F. p38 MAPK signaling in osteoblast differentiation [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2016, 4:40.
- [25] 汤婷婷.p38MAPK 在大鼠跟腱末端病模型中的表达情况研究[D].苏州:苏州大学,2015.
- [26] FAN L X, XU B, LIU N, et al. Histopathological changes in patellar tendon enthesis of rabbit induced by electrical stimulation intensity[J]. *Journal of Orthopaedic Science*, 2020, 25(2):344-348.
- [27] LI M Z, TANG Y F, CHEN C, et al. Comparison of bone surface and trough fixation on bone-tendon healing in a rabbit patella-patellar tendon injury model[J]. *Journal of Orthopaedic Translation*, 2020, 21:49-56.
- [28] 梁孝天,曾晓辉,王博,等.腱止点过度使用性损伤组织:形态学及生长因子的变化[J].*中国组织工程研究*,2017, 21(8):1251-1256.
- [29] MCCLELLAN A, EVANS R, SZE C, et al. A novel mechanism for the protection of embryonic stem cell derived tenocytes from inflammatory cytokine interleukin 1 beta[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):2755.
- [30] ASTILL B D, KATSMA M S, CAUTHON D J, et al. Sex-based difference in Achilles peritendinous levels of matrix metalloproteinases and growth factors after acute resistance exercise[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2017, 122(2):361-367.
- [31] MOLKENTIN J D, BUGG D, GHEARING N, et al. Fibroblast-specific genetic manipulation of p38 mitogen-activated protein kinase in vivo reveals its central regulatory role in fibrosis[J]. *Circulation*, 2017, 136(6):549-561.
- [32] 刘海涛.跳跃负荷致髌骨髌腱结合部和髌腱纤维化机制及冷水浴干预影响[D].北京:北京体育大学,2017.
- [33] JIANG N, ZHANG Z, SHAO X H, et al. Blockade of thrombospondin-1 ameliorates high glucose-induced peritoneal fibrosis through downregulation of TGF- β 1/Smad3 signaling pathway [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(1):364-379.
- [34] NONG X L, RAJBANSHI G, CHEN L, et al. Effect of artesunate and relation with TGF- β 1 and SMAD3 signaling on experimental hypertrophic scar model in rabbit ear[J]. *Archives of Dermatological Research*, 2019, 311(10):761-772.

(责任编辑:刘畅)