

文章编号: 0258-7025(2010)02-0599-06

3 种剂量弱激光对大鼠皮肤创伤愈合的影响

潘振华¹ 李迎新¹ 王 兴² 陈洪丽¹ 肖全芝¹

(¹ 天津医科大学生物医学工程系激光医学实验室, 天津 300070)
² 天津医科大学口腔医院, 天津 300070)

摘要 保持功率密度为 10 mW/cm² 不变, 用 3 种剂量(1.2, 2.4 和 3.6 J/cm²) 的 630 nm 连续输出型弱激光对 Wistar 大鼠背部皮肤开放型切除创口进行照射, 通过测量创口面积和组织病理学分析观察 1~4 J/cm² 能量密度范围内, 不同剂量的弱激光对创口愈合的影响。创口面积的方差分析(ANOVA)结果表明, 空白对照组与各照射剂量组之间不存在统计学差异。而组织病理学分析结果表明, 弱激光照射组较空白对照组有以下特点: 炎性期持续时间短, 肉芽组织出现早, 在同一时期, 肉芽组织成熟、胶原数量多且其中成熟胶原所占比重较大、表皮新生速度快, 并且, 这种优势随着所用剂量的增加而更加明显。可以认为功率密度为 10 mW/cm², 1~4 J/cm² 能量密度范围内的 630 nm 弱激光对创伤愈合具有一定的局部促进作用, 效果随剂量增加而更好。

关键词 生物光学; 弱激光; 不同剂量; Wistar 大鼠; 皮肤创伤愈合

中图分类号 R318.51 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20103702.0599

Effects of Low-Level Laser Therapy on Cutaneous Wound Healings with Three Doses

Pan Zhenhua¹ Li Yingxin¹ Wang Xing² Chen Hongli¹ Xiao Quanzhi¹

(¹ Laser Medicine Laboratory, Biomedical Engineering Department, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)
² Stomatological Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract To observe the influences of different daily doses between 1~4 J/cm² of low-level laser therapy (LLLT) on wound healings, the dorsal cutaneous excisional wounds of Wistar rats were irradiated with 630 nm at three daily doses of 1.2 J/cm², 2.4 J/cm² and 3.6 J/cm² under a constant power density of 10 mW/cm². The analysis of variance (ANOVA) of areas of the wounds indicates that there were no statistical differences among the control group and the other three different doses groups. However, microscopic observations, both hematoxylin and eosin staining and Masson staining, could tell evidently better results of LLLT groups when compared to the control group, including the shorter period of inflammation, the greater development of granulations and collagens, and better epithelialization. The microscopic evaluations also suggest that larger dose brings better wound healing results within the 1~4 J/cm² range.

Key words biotechnology; low level laser therapy; different daily doses; Wistar rats; cutaneous wound healings

1 引 言

自 20 世纪 60 年代末至今, 弱激光疗法的研究已经持续了 40 余年, 虽然弱激光疗法的发展仍然受到疗效不确定和作用机制不明确两大瓶颈的困扰, 研究者们已经陆续观察到了其作用过程中可能存在的一些规律, 特别是参数依赖性^[1~3]。Lynda 等^[4]

于 2004 年发表了关于激光治疗创伤愈合的 Meta 分析结果, 提出能量密度(或剂量)是具有剂量-疗效关系可预计性的光学参数。

根据光化学中的 Grotthus-Draper 定律, 在弱激光治疗的若干参数中, 波长的选择根据不同的治疗目的具有特征选择性。用于治疗皮肤创伤的弱激

收稿日期: 2009-04-01; 收到修改稿日期: 2009-05-18

作者简介: 潘振华(1983—), 女, 硕士研究生, 主要从事弱激光的应用和光动力的研究。

E-mail: panzhenhua710@yahoo.com.cn

导师简介: 李迎新(1959—), 男, 博士, 教授, 主要从事激光医学方面的研究。

E-mail: yingxinli@tjmu.edu.cn(通信联系人)

光波长应主要集中在红光(600~700 nm)与近红外(700~950 nm)波段^[3]。又由于激光辐射波长与光子能量的反比关系,优先考虑使用与 He-Ne 激光波长(632.8 nm)接近的630 nm波长参数。

弱激光疗法的主要先驱 E. Mester 等最早开始发现并提出的具有软组织创伤愈合促进作用的弱激光能量范围在 1~4 J/cm²,因此在这个范围内随机选取 1.2, 2.4 和 3.6 J/cm² 这 3 个剂量值进行对比观察^[1,2,5]。在 2008 年 Peter Gál 等^[6]的一篇报道中,第一次将不同的处理组分落于同一只 Wistar 鼠背上,提出了 635 nm 波长下,剂量相同,不同功率密度的作用产生了局部反应差异。

本文在假设弱激光对创伤愈合的作用为局部效应,且各圆形创口间圆心距 2.5 cm 为足够远,即不会相互影响的前提下,探讨采用 630 nm 弱激光照射,功率密度不变(10 mW/cm²),3 种不同剂量 1.2, 2.4 和 3.6 J/cm² 对同一只 Wistar 大鼠背部皮肤开放型创伤愈合的影响。其中对创伤面积的计量采用了 ImageJ 图像处理软件,增加了数据的客观和准确度。

2 材料与方法

2.1 材料

实验对象为清洁级健康 Wistar 大鼠 48 只,雄性,(250±20) g,北京市维通利华实验动物技术有限公司提供[合格证号:SCXK(京 2007-0001)],分笼饲养,正常供给食物和水。630 nm 光源采用实验室自行开发研制的半导体激光器,输出功率为 7.85 mW(连续输出),调节光纤输出端与照射面的垂直距离使光斑直径为 1 cm,功率密度为 10 mW/cm²;输出光功率由加拿大 Gentec-eo 公司生产的 SOLO PE 功率计测得。HE 染色使用北京中杉金桥生物技术有限公司提供的常规试剂;Masson 染色使用广州市佰科贸易有限公司提供的 Masson 3 色染色试剂盒。

2.2 方法

大鼠用体积分数为 10%的水合氯醛腹腔麻醉(300 mg/kg)后,刮净背部毛,碘酒、乙醇常规消毒手术野,用手术剪在背部以脊柱为对称轴,左右对称各造两个直径为 1 cm 的圆形皮肤全层创口,各创口与相邻(平行或垂直脊柱方向)创口之间圆心距为 2.5 cm,整个实验过程中创口保持自然暴露态。

按照完全随机设计方法,对每只大鼠背部的 4 个创口进行编号(A, B, C, D),所有的 A 号创口设

为空白对照组,B 号创口每天接受 1.2 J/cm² 剂量(2 min)的弱激光照射,C 号创口每天接受 2.4 J/cm² 剂量(4 min)的弱激光照射,D 号创口每天接受 3.6 J/cm² 剂量(6 min)的弱激光照射,连续照射 7 天,照射时,光斑的中心对准创面的中心,被照射创口以外的部位严格避光。

将 48 只大鼠随机分到 6 个时间组,分别在第 12, 24, 48, 72, 120 和 168 h 于对应时间组(1~6 组)随机抽取两只大鼠,以过量麻醉处死,沿创口边缘取大小为 1.5 cm×1.5 cm(长度×宽度)的全层皮肤组织块,浸泡于体积分数为 25%的甲醛液中定型,石蜡切片,编号,做常规 HE 染色;对第 5, 6 组的组织样本,除 HE 染色外,还进行 Masson 特染,以观察胶原纤维的分布与排列。病理组织切片由一名病理专家在普通光镜下进行组织学评价,对该人员施行盲法。

对于第 6 组,在每次照射前(第一次除外)用无菌薄膜沿创口边缘描记创面面积,用 ImageJ 图像处理软件^[7]计算创面面积,对创伤面积做单因素重复测量数据的方差分析。

3 结 果

3.1 创伤面积

对创伤面积进行方差分析,得到表 1,其中上标 a 表示表中所给数值是通过 ImageJ 软件描记创面边缘得到的总像素点数,表征面积值;b 表示方差分析结果,显示各组之间的面积值无统计学差异。结果显示在 $\alpha=0.10$ 水平下各处理组之间差异无统计学意义,即对同一只健康雄性 Wistar 大鼠背部皮肤的切割型创伤,用波长为 630 nm,功率密度为 10 mW/cm² 的弱激光照射,剂量分别为 1.2, 2.4 和 3.6 J/cm² 以及空白对照组之间,创伤面积收缩速度没有明显差异。

3.2 组织病理学观察

前 3 天组织样本的苏木素伊红(HE)染色结果在炎性渗出、充血和间质水肿方面没有显著差异,而第 5 天开始,可以明显看出当空白对照组样本中还存在炎性渗出和水肿区(图 1 中 a 区),两边的肉芽组织在继续往中间迁移时,3.6 J/cm² 弱激光照射组样本中整个创伤部位已经完全由健康的肉芽组织(图 1 中 b 区)填补。从图 1 中能够清晰地看到, B 组的 a 区较 A 组要窄得多, C 组的 a 区已基本被肉芽组织替代,但中央的肉芽组织还稍显稚嫩,而 D 组已经完全进入了肉芽组织增生和修复期。同时,

表 1 各组 Wistar 大鼠背部皮肤创伤面积值^{a,b}($\bar{x} \pm S$)
Table 1 Skin wound areas of Wistar rats^{a,b} (Mean \pm SD)

	Control	1.2 J/cm ²	2.4 J/cm ²	3.6 J/cm ²
Day 1	39505 \pm 8341	40298 \pm 8810	35790 \pm 10382	39869 \pm 8071
Day 2	31491 \pm 5814	31863 \pm 7718	31882 \pm 10633	31310 \pm 4690
Day 3	28831 \pm 4994	28319 \pm 4409	28856 \pm 11788	26200 \pm 6327
Day 4	27567 \pm 4697	26974 \pm 7130	25635 \pm 6539	26265 \pm 6992
Day 5	22924 \pm 7011	21864 \pm 6868	19718 \pm 7353	20708 \pm 5389
Day 6	17454 \pm 10705	14557 \pm 4197	15002 \pm 10491	14482 \pm 5433
Day 7	11532 \pm 7268	10313 \pm 2969	11486 \pm 8500	10432 \pm 5080

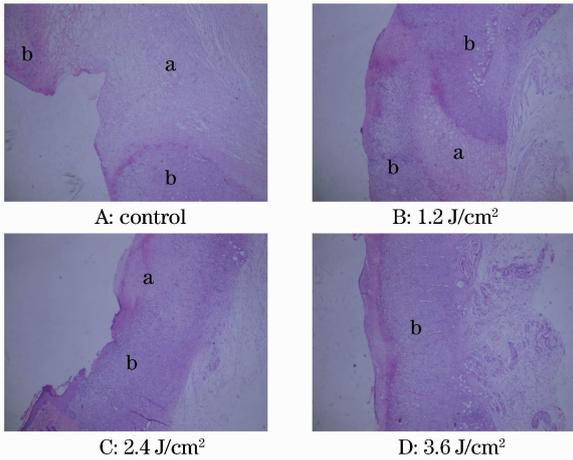


图 1 第 5 天各组创口组织病理学表现(HE 染色, 4 \times)
Fig. 1 Histopathology of wounds on the 5th day
(HE staining, 4 \times)

HE 染色结果还表明,在第 5 天的样本组织中,C,D 组较 A,B 组的血管内皮细胞和成纤维细胞增生旺盛、分化成熟、新生血管多,并且已经看到了肉芽组织上覆盖的基底细胞层。

第 5 天和第 7 天组织样本的 Masson 特染结果表明:1) 弱激光照射组的创伤样本组织中胶原沉积较丰富,颜色深度与正常组织中的胶原沉积更为接近,即胶原组成更为成熟。从图 2 中可以明显看出,A 组中的胶原(图 2 中 a 区)很少,分布靠下(A 组右下角);B 组中的胶原数量明显较 A 组多,且遍布整个创伤部位,包括表皮区,但颜色还是靠下部位比较深;C,D 中的胶原分布更多,同时靠近表皮区的胶原组成更加成熟,特别是 D 组,表皮(图 2 中 b 区)下能见深染的胶原沉积,颜色与正常组织中的胶原沉积接近。不过,直到第 7 天,观察到的所有组中的胶原方向都还是以垂直创面为主,排列均比较紊乱,组间不见明显差异。2) 弱激光照射组的创伤样本组织其表皮增生较旺盛。由图 2 可见,A 组基本不见表皮结构,B,C 组则已经出现了清晰边缘的表皮层,其中 C 组较 B 组表皮层厚,而 D 组不但表皮层

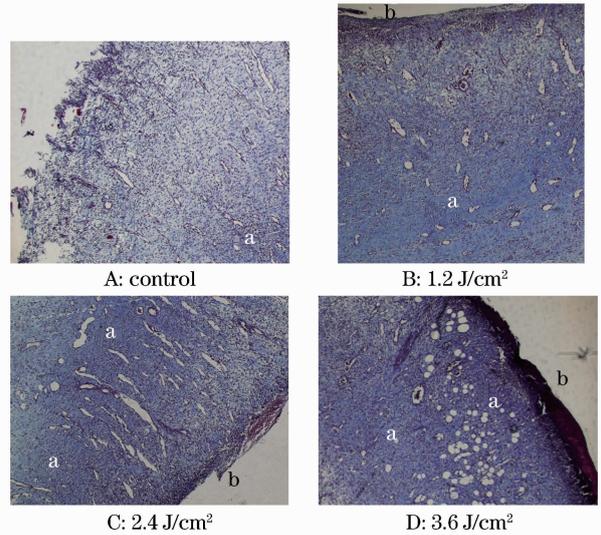


图 2 第 7 天各组创口组织病理学表现
(Masson 染色, 10 \times)
Fig. 2 Histopathology of wounds on the 7th day
(Masson staining, 10 \times)

更厚,并且已经出现了角化(b 区的深染部分)。

4 讨 论

从创伤面积的数据统计结果看,空白对照组与各激光照射组之间的差异不具有统计学意义。如果认为本实验中所讨论的创伤面积是指示创口收缩速度的重要指标,那么该结果与以往的大量文献报道结果相悖^[6,8~10]。但 1997 年美国哥伦比亚大学的 John D. F. Allendorf 等^[11]在研究 3 种不同剂量(1,2,4 J/cm²)的 He-Ne 激光(632.8 nm)对 SD 大鼠背部创伤(1.5 cm 直径的圆形开放型创口)的作用时,对创伤面积测量也同样得到了无明显差异的结果。

那么究竟 1~4 J/cm² 剂量范围的弱激光照射对创伤收缩速度是不是没有影响呢? 以下几个问题或许值得我们去思考:1) 本实验和以往文献中所讨论的创伤面积作为对创口收缩速度的评价是否科学。上述对创面面积的描记,是沿创伤处结的痂皮

边缘描记。伤口中的血液和渗出液中的纤维蛋白原凝固形成凝块,凝块表面干燥形成痂皮^[12],这样,实际上描记的是所结痂皮的大小。目前还没有文献讨论过痂皮脱落的时间范围和影响因素。伤口边缘的基底细胞是在凝块的下面向伤口中心迁移,形成单层上皮,继而增生、分化成为鳞状上皮的^[12],因此,至少在增生期(3~5 d)^[13~16]痂皮一般还不会脱落。痂皮的脱落与什么因素有关,已成为决定沿痂皮边缘测量创面面积能否直接指示创口收缩速度的关键。2) 创口的收缩速度不能等同于创伤的愈合速度。正常的创伤愈合主要包括炎症期、增生期、修复期和重建期,这一过程涉及到大量的细胞和细胞因子等^[15~17]。而创口的收缩主要是受到创口边缘新生的肌成纤维细胞牵拉作用的影响^[9,12,16], Alena R. A. P. 等^[9]的报道通过电镜观察方法,证实了弱激光对于肌成纤维细胞的增殖和分化具有促进作用,结合本实验的结果进行分析,除了前面讨论到的痂皮问题,也不排除包括该剂量弱激光对于肌原纤维的作用是系统效应,以致局部观察体现不出差别在内的其他可能。3) 以往文献中对创面面积的测量方法得到的结果是否可信。已经提到,有大量的文献报道^[6,8,18]对创面面积的描记结果显示了弱激光照射对创伤愈合速度有明显促进作用,这些文献中记载的对创面面积的描记,无论是用的哪种测量工具,都是通过测量创口的直径,根据圆的面积公式计算面积。通过多次实验观察发现,第一,手工造创很难得到完全平整、精确的圆形创口;第二,在创伤的收缩过程中,也不可能沿圆心呈圆形均匀收缩。因此,这样的面积测量方法存在很大的误差。

从组织病理学观察结果中发现,1~4 J/cm²剂量范围的弱激光照射能够缩短创伤部位的炎症期时间^[8,18],促进成纤维细胞^[19,20]、血管内皮细胞^[21,22]等的代谢和胶原的分泌与成熟^[23,24],加快肉芽组织增殖和修复进程以及表皮的形成^[8~11],并且随着照射剂量的增加,这种优势更加明显。这些发现与过去40年内的大量细胞实验和动物实验中的组织病理学观察结果相吻合,进一步证实了该剂量范围内的630 nm弱激光照射对于创伤愈合起到了积极的辅助效果。同时,也证实了本实验的前提条件在一定程度上成立,即当各圆形创口间圆心距2.5 cm时,弱激光在创伤愈合中的作用发挥出了局部效应,这对于临床实验在同一患者施行不同处理组的观察提出了肯定的建议。

本实验的对象是健康 Wistar 大鼠背部皮肤模

型,在排除了外界因素干扰的情况下,该模型的创伤愈合过程属于正常范围。创伤的愈合好坏主要依赖于创伤的类型,包括造成创伤的原因、创伤发生的体位、创伤部位的营养条件、机体的体质特征等,比如糖尿病体质、瘢痕体质的机体其创伤就很难正常愈合^[24,25],重度烧伤的创伤较普通表皮外伤难愈合^[26,27],关节部位、臀部的创伤经常反复^[28~30]。正常的创伤愈合有其自然的时间规律,过快或者过慢都可能造成不健康愈合。而弱激光的生物刺激作用关键被认为是调节,让人感兴趣的问题在于:1) 弱激光辅助下的创伤愈合是否存在愈合时间的阈值,即对于正常愈合的创伤,其辅助作用虽然能促进愈合进程,但是否始终存在一个无法逾越的时间上限;2) 对于非正常愈合的创伤,借助不同光学参数弱激光照射的辅助,是否能够将该愈合进程推动到健康愈合时间上限。Sylvia 等^[10,23,24]比较了弱激光作用于正常 Wistar 大鼠背部皮肤创伤和诱导了糖尿病的 Wistar 大鼠背部皮肤创伤的效果,发现与各自未接受照射的空白对照组(正常鼠或糖尿病鼠)相比,糖尿病鼠的弱激光辅助创伤愈合作用更加明显,该结果很好地支持了前述假设。

到目前为止,文献中最经常被引用的关于弱激光生物作用机制是 Karu 等提出的基于对光受体分子发生电子激励的假说,包括对氧化还原性质的改变和电子转移的加速、单态氧的形成、过氧化物(如 O₂⁻)的形成和由于短暂的局部发热引起的生物化学活动等^[3,30]。Yu. A. Vladimirov 等^[30]于2004年提出了更新的假说,认为光的生物刺激作用主要基于以下3种反应:1) 作用于细胞的细胞膜,增加细胞内的钙离子浓度,从而对细胞产生刺激;2) 光能激活 Cu-Zn 超氧化物歧化酶;3) 对一氧化氮(NO)金属络合物光解,释放具有血管扩张作用的 NO。

无论是 Karu 还是 Vladimirov 的机制假说,都意味着这种生物刺激作用很可能是一个通用的反应方程式,即其作用的靶点很可能在一个环境中的多种细胞、细胞因子或者蛋白等分子中都存在。这与本实验发现弱激光作用于创伤愈合过程促进了成纤维细胞、血管内皮细胞和基底细胞等的代谢相吻合,也得到了大量的细胞和动物实验发现弱激光能促进肌成纤维细胞、多形核白细胞和巨噬细胞等的增殖或迁移现象的支持。然而,上述机制仍然只是假说,究竟弱激光照射在创伤愈合过程中是直接作用于多靶点,还是作用于一种或几种拥有特殊结构的细胞因子或酶分子,从而间接对多细胞产生刺激效应?

如果是前者,那么弱激光的这种作用是否具有正常/异常细胞、因子等的辨识性?在 Peter Gál 等的报道中^[6]指出,弱激光的照射虽然对正常大鼠的背部皮肤创伤愈合过程中多细胞的代谢具有促进作用,但是当外加了皮质类固醇时,弱激光的辅助愈合效果被抑制,这种结果也可能是因为弱激光在促进创伤部位正常细胞、细胞因子代谢的同时,也强化了皮质类固醇分子的不良反应。这些问题都还需要进一步的实验去讨论和验证。

对弱激光在创伤愈合过程中的生物作用机制进行深入探讨非常重要,既能直接揭示弱激光的作用效果,推广弱激光疗法的应用,又有利于人们在临床上更好地理解 and 掌握。随着分子生物学技术的不断发展和对生物体创伤愈合机制的不断挖掘,弱激光在创伤愈合方面的作用机制必然将得到释疑,但是,这还需要一段很长的科研路程。现阶段的关键任务,是要建立足够的证据以确信一定参数下的弱激光对创伤愈合的确具有显著的辅助和促进作用,并且不断地去摸索弱激光疗法中的规律,以更好地指导临床和日常社区、家庭护理的应用。

5 结 论

实验结果表明,虽然创口面积的方差分析结果显示各组之间不存在统计学差异,但从病理组织学观察结果可以看出功率密度为 10 mW/cm^2 , 剂量分别为 $1.2, 2.4$ 和 3.6 J/cm^2 的 630 nm 弱激光照射能够产生创伤部位局部效应,促进 Wistar 大鼠背部皮肤开放型创伤的愈合过程,并且随着剂量的增加,创伤愈合效果越好。

参 考 文 献

- Li Cheng, Li Yingxin. Effect of low-level laser biostimulation in wound healing [J]. *Chinese Medical Equipment Journal*, 2007, **28**(10):26~28
李 成,李迎新. 弱激光生物刺激效应在创伤治疗中的作用 [J]. *医疗卫生装备*, 2007, **28**(10):26~28
- Xu Chaoyang, Tan Shici, Xing Da. Effect of He-Ne laser irradiation on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and immunocompetence in macrophages [J]. *Chinese J. Lasers*, 2004, **31**(2):253~256
徐朝阳,谭石慈,邢 达. He-Ne 激光照射巨噬细胞对胞内钙浓度及其免疫活性的影响 [J]. *中国激光*, 2004, **31**(2):253~256
- Ethne L. Nussbaum, G. David Baxter, Lothar Lilge. A review of laser technology and light-tissue interactions as a background to therapeutic applications of low intensity lasers and other light sources [J]. *Physical Therapy Reviews*, 2003, **8**:31~44
- Lynda D. Woodruff, Julie M. Bounkeo, Windy M. Brannon et al.. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2004, **22**(3):241~247
- E. Mester, T. Spiray, B. Szende et al.. Effect of laser rays on wound healing [J]. *Am. J. Surg.*, 1971, **122**:532~535
- Peter Gál, Michal Mokry, Boris Vidinsky et al.. Effect of equal daily doses achieved by different power densities of low-level laser therapy at 635 nm on open skin wound healing in normal and corticosteroid-treated rats [J]. *Lasers Med. Sci.*, 2009, **24**(4):539~547
- Wang Yan, Liu Guanjian, Yuan Nanbing et al.. A comparison of digital planimetry and transparency tracing based methods for measuring diabetic cutaneous ulcer surface area [J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2008, **22**(5):563~566
王 艳,刘关键,袁南兵等. 数码照相结合 ImageJ 医学图像分析软件法与无菌薄膜勾边法测量糖尿病皮肤溃疡面积的可靠性比较 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2008, **22**(5):563~566
- Tatiana N. Demidova-Rice, Elena V. Salomatina, Anna N. Yaroslavsky et al.. Low-level light stimulates excisional wound healing in mice [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2007, **39**:706~715
- Alena R. A. P. Medrado, Lívia S. Pugliese, Silvia Rdgina A. Reis et al.. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myfibroblasts [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2003, **32**:239~244
- Sylvia Bicalho Rabelo, Antonio Balbin Villaverde, Renata Amadei Nicolau et al.. Comparison between wound healing in induced diabetic and nondiabetic rats after low-level laser therapy [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2006, **24**(4):474~479
- John D. F. Allendorf, Marc Bessler, James Huang et al.. Helium-Neon laser irradiation at fluences of 1, 2, and 4 J/cm^2 failed to accelerate wound healing as assessed by both wound contracture rate and tensile strength [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1997, **20**:340~345
- Chen Jie, Li Gandi. Pathology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006. 57~58
陈 杰,李甘地. 病理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006. 57~58
- B. Vidinsky, P. Gál, T. Toporcer et al.. Histological study of the first seven days of skin wound healing in rats [J]. *Acta Vet. BRNO*, 2006, **75**:197~202
- Peter Gál, Boris Vidinsky, Tomáš Toporcer et al.. Histological assessment of the effect of laser irradiation on skin wound healing in rats [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2006, **24**(4):480~488
- H. Peter Lorenz, Michael T. Longaker. Wounds: biology, pathology, and management [J]. *Essential Practice of Surgery*, 2003, **1**:77~88
- Christian L. Baum, Christopher J. Arpey. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events [J]. *Dermatol. Surg.*, 2005, **31**:674~686
- Adam J. Singer, Richard A. F. Clark. Cutaneous wound healing [J]. *The New England Journal of Medicine*, 1999, **341**(10):738~746
- Silvia R. A. Reis, Alena P. Medrado, Antônio T. Marchionni et al.. Effect of 670-nm laser therapy and dexamethasone on tissue repair: a histological and ultrastructural study [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2008, **4**:305~311
- Li Yan, Jiao Jianling, Liu Chengyi et al.. Effects of ketamine in combination with 468.7 mJ/cm^2 He-Ne laser irradiation on proliferation in human skin fibroblasts [J]. *Chinese J. Lasers*, 2004, **31**(4):509~512
李 燕,角建瓴,刘承宜等. 氯胺酮对 He-Ne 激光照射促人正常皮肤成纤维细胞增殖作用的影响 [J]. *中国激光*, 2004, **31**(4):509~512
- Denise Hawkins, M. Biomed, Heidi Abrahamse. Effect of multiple exposure of low-level laser therapy on the cellular

- responses of wounded human skin fibroblasts [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2006, **24**(6):705~714
- 21 Chen Chung-Huang, Hung Huey-Shan, Hsu Shan-hui. Low-energy laser irradiation increases endothelial cell proliferation, migration, and eNOS gene expression possibly via PI3K signal pathway [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2008, **40**:46~54
- 22 Fu Chunmao, Sun Xinhua. Effects of He-Ne laser irradiation on vascular endothelial cell growth factor R-2 expression in periodontium of tooth movement in rabbits [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(1):156~160
- 付春茂,孙新华. 氦氛激光照射对兔正畸牙周组织中血管内皮细胞生长因子受体-2 表达的影响[J]. *中国激光*, 2008, **35**(1):156~160
- 23 G. Arun Maiya, Pramod Kumar, Laxmi Rao. Effect of low intensity helium-neon (He-Ne) laser irradiation on diabetic wound healing dynamics [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2005, **23**(2):187~190
- 24 Kimberly R. Byrnes, Lauren Barna, Michelle Chenault *et al.*. Photobiomodulation improves cutaneous wound healing in an animal model of type II diabetes [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2004, **22**(4):281~290
- 25 P. D. Butler, M. T. Longaker, G. P. Yang. Current progress in keloid research and treatment [J]. *J. Am. Coll. Surg.*, 2008, **206**(4):731~731
- 26 Leslie DeSanti. Pathophysiology and current management of burn injury [J]. *Adv. Skin Wound Care*, 2005, **18**:323~332
- 27 W. Y. John Chen, Alan A. Rogers. Recent insights into the causes of chronic leg ulceration in venous diseases and implications on other types of chronic wounds [J]. *Wound Rep. Reg.*, 2007, **15**:434~449
- 28 Katherine R. Jones, Kristopher Fennie, Amber Lenihan. Evidence-based management of chronic wounds [J]. *Adv. Skin Wound Care*, 2007, **20**:591~600
- 29 Sabine A. Eming, Thomas Krieg, Jeffery M. Davidson. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms [J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2007, **127**:514~525
- 30 Yu. A. Vladimirov, A. N. Osipov, G. I. Klebanov. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation [J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2004, **69**(1):81~90