

635 nm/808 nm 双波长低能量激光对人成纤维细胞氧化应激反应的研究

陈洪丽¹ 王宏¹ 王超² 阴慧娟¹ 金文东¹ 穆志明¹ 李迎新¹

¹中国医学科学院北京协和医学院生物医学工程研究所, 天津 300192

²天津医科大学生物医学工程学院, 天津 300070

摘要 研究和比较双波长低能量激光疗法(LLLT)对人皮肤成纤维细胞(CCC-ESF)的生长、酶活性以及生长因子等的影响,讨论弱激光促进伤口愈合的作用机理。体外培养CCC-ESF,实验分为对照组和照光组(635 nm组、808 nm组和635 nm/808 nm组),照光剂量为20 mW/cm²、12 J/cm²,分别检测细胞增殖情况、活性氧(ROS)产量、抗氧化酶活性[过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)]、脂质氧化能力(MDA)以及细胞生长因子含量。635 nm组细胞增殖速度明显大于其他各组;635 nm、808 nm和635 nm/808 nm组ROS水平分别比对照组提高了14.55%、7.49%和14.92%;CAT和SOD酶活力提高;808 nm激光促进MDA增加;双波长激光使人白介素1(IL-1)和成纤维细胞生长因子(FGF)分泌量显著增多;808 nm激光增加了人胰岛素样生长因子(IGF-1)和人胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)的分泌。LLLT诱导产生的低水平氧化应激反应可促进CCC-ESF增殖,提升细胞活力,增强细胞对外界环境的抵抗能力。LLLT刺激细胞分泌多种细胞因子,调控创伤愈合的进程。双波长激光产生的生物效应优于单一波长。

关键词 医用光学;低能量激光;成纤维细胞;活性氧;生长因子

中图分类号 R318.51

文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP52.081703

Research of Oxidative Stress Reaction Induced by 635 nm/808 nm Double Wavelength Low Level Laser Therapy on CCC-ESF

Chen Hongli¹ Wang Hong¹ Wang Chao² Yin Huijuan¹ Jin Wendong¹
Mu Zhiming¹ Li Yingxin¹

¹Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

²College of Biomedical Engineering, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract To investigate and compare the biological effect of proliferation, enzyme activity and growth factor after double wavelength low level laser therapy (LLLT) on human embryonic skin fibroblasts (CCC-ESF) *in vitro*, and explore the molecular mechanism of wound healing, *in vitro* culture of CCC-ESF is divided into control group and experimental groups (635 nm group, 808 nm group, 635 nm/808 nm group), laser of 20 mW/cm², 12 J/cm² is applied to detect cell proliferation, reactive oxygen species (ROS) production, antioxidant enzyme activity [catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD)], lipid oxidation (MDA) and amount of cytokines related. Cell proliferation rate in the 635 nm group is significantly higher than that in other groups; ROS levels are 14.55%, 7.49% and 14.92% respectively in 635 nm, 808 nm and 635 nm/808 nm groups, which are higher than that in the control group; CAT and SOD enzyme activity increases after LLLT; 808 nm laser promotes the level of MDA and expression of interleukine-1 (IL-1) and fibroblast growth factor (FGF); 808 nm laser can stimulate the secretion of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). Low levels of oxidative stress induced by LLLT can promote the proliferation of CCC-ESF, improve cell viability, and enhance cellular resistance to the external environment. LLLT stimulates the secretion of a variety of cytokines and regulates the wound healing process. Biological effect produced

收稿日期: 2015-01-23; 收到修改稿日期: 2015-03-06; 网络出版日期: 2015-07-11

基金项目: 协和青年基金(33320140137,33320140056)

作者简介: 陈洪丽(1989—),女,博士研究生,主要从事激光医学方面的研究。E-mail: chenhl10107@163.com

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: yingxinli2005@126.com(通信联系人)

by double wavelength LLLT is better than that with a single wavelength in CCC-ESF.

Key words medical optics; low level laser; fibroblast; reactive oxygen species; growth factor

OCIS codes 170.1530; 140.3450; 140.5960; 170.1870

1 引言

创伤修复是一个复杂而渐进的过程,包括凝固、炎症、肉芽形成、伤口收缩和组织重构等,从分子学角度来讲,组织愈合过程是机体发生的一种多细胞因子参加的生物应激调控。尽管生物体自身有着强大的组织自我修复能力,然而,组织愈合中发生的炎症反应以及组织坏死等影响着创伤修复过程,一些慢性以及难愈合伤口的治疗依然是临床中面临的重要问题^[1]。

20世纪60年代以来,激光医疗技术的发展与应用开辟了临床上治疗创伤修复的新视角^[2],尤其是低能量激光疗法(LLLT),能够诱导机体产生良性生物刺激和光化学反应等,如促进神经冲动传递,改善酶活性和促进代谢等,从而达到治疗疾病的目的。激光波长和功率是LLLT中重要的参数,波长的选择根据不同的治疗目的具有特征选择性,研究表明,波长为630~670 nm的低功率激光对人体具有促进局部血液循环、促进伤口愈合和防治伤口感染等生物效应^[3];而波长为800~830 nm的低功率激光在促进神经修复、减轻伤口疼痛等方面有显著效果^[4],而对两种波长同时使用的研究相对较少。许多动物实验和临床研究证实特定波长LLLT对伤口愈合具有促进作用^[5-8],而双波长对创伤愈合的研究报道较少,其理论基础与作用机制的研究缺少,也限制了该方法在临床中的应用和推广。本文将通过研究和比较双波长低能量激光(635 nm、808 nm、635 nm/808 nm)对人皮肤成纤维细胞(CCC-WSF)的生长、酶活性以及生长因子等的影响,初步探索弱激光促进伤口愈合的作用机理,为双波长激光的临床治疗和推广提供理论依据。

2 材料和方法

2.1 材料

培养基DMEM/F-12和胎牛血清为Gibco公司产品;噻唑蓝(MTT)和十二烷基磺酸钠(SDS)购自Sigma公司;二甲基甲酰胺(DMF)购于天津福晨化学试剂厂;过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒、总超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(WST-8法)、脂质氧化(MDA)检测试剂盒、聚氧基丙烯酸正丁酯(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(增强型)、无线电免疫沉淀反应分析(RIPA)裂解液和活性氧检测试剂盒均购自碧云天生物技术研究。CCC-ESF购于中国医学科学院基础研究所细胞中心。光源为635 nm/808 nm双波长半导体激光器,由中国医学科学院生物医学工程研究所激光医学实验室研制。流式细胞仪Accuri™ C6(BD公司,美国),功率计(Gentec,加拿大),全波长多功能酶标仪(Thermo,美国)。

2.2 方法

2.2.1 细胞培养

采用含10%(体积分数)灭活胎牛血清的DMEM/F-12培养液,在5%(体积分数)的CO₂、饱和湿度下37℃的培养箱中传代培养。使用含0.25%(质量分数)胰酶和0.02%(质量分数)乙二胺四乙酸(EDTA)的消化液消化。每2~3 d传代1次,取对数生长期细胞进行实验。

2.2.2 实验分组与光照剂量

实验共有4组,分别为对照组、635 nm光照组、808 nm光照组和635 nm/808 nm光照组。调整激光参数,使激光器输出功率密度为20 mW/cm²,激光能量密度为12 J/cm²,连续照射3 d,每天照射2次,每次10 min。

2.2.3 MTT法检测成纤维细胞增殖情况

将100 μL成纤维细胞接种到96孔板中,细胞密度为1×10⁵~2×10⁵/mL,每组4个复孔。孵育24 h后,按照2.2.2节剂量用双波长激光器均匀照射,分别于接种后24、48、72、96、120 h后加入MTT溶液(5 mg/mL, 10 μL/pore),4 h后每孔加入100 μL SDS-DMF溶液[10%(体积分数)SDS-50%(体积分数)DMF-H₂O],孵育过夜后在酶标仪570 nm处检测吸光度。

2.2.4 流式细胞仪检测细胞内活性氧含量

将细胞接种到6孔板,光照后原位装载活性氧(ROS)探针2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)(10 μM, 1 mL/pore),37℃下孵育20 min。消化收集细胞,100 μL磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细胞,随即用流式细胞仪

检测二氯荧光素(DCF)的荧光。

2.2.5 酶标仪检测细胞内多种抗氧化酶含量

将细胞接种到6孔板,光照处理后,分别用CAT、SOD和MDA试剂盒检测相应酶活力。

在过氧化氢(H_2O_2)相对比较充足的情况下,CAT可以催化过氧化氢产生水和氧气。残余的过氧化氢在CAT的催化下可以氧化生色底物,产生红色的产物,最大吸收波长为520 nm。用过氧化氢标准品制作标准曲线,计算出样品中的CAT在单位时间单位体积内催化过氧化氢转变为水和氧气的剂量,从而可以计算出样品中CAT的酶活力。CAT酶活力单位的定义为一个酶活力单位(1 unit)在25 ℃、pH 7.0的条件下,在1 min内可以催化分解1 μmol 过氧化氢。

SOD能催化超氧化物阴离子发生歧化作用,生成过氧化氢和氧气,是生物体内一种重要的抗氧化酶。WST-8可以和黄嘌呤氧化酶催化产生的超氧化物阴离子反应产生水溶性的甲臞染料,该反应步骤可以被SOD所抑制。通过对WST-8产物的比色分析即可计算SOD的酶活力。SOD酶活力单位的定义:在上述黄嘌呤氧化酶偶联反应体系中抑制百分率为50%时,反应体系中的SOD酶活力定义为一个酶活力单位。

2.2.6 酶联免疫(ELISA)试剂盒检测细胞分泌生长因子

激光照射后收集细胞培养液,3000 r/min离心20 min,取上清液分别用人成纤维细胞生长因子(FGF)、人胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)、人胰岛素样生长因子(IGF-1)、人白介素1(IL-1)、人核因子 κB (NF κB)和人血管内皮细胞生长因子(VEGF)酶联免疫试剂盒检测。最后用酶标仪在450 nm波长处测量各孔吸光度。

2.2.7 统计

应用SPSS 16.0统计软件,各组数据用 $\bar{x} \pm s$ (均数 \pm 标准差)来表示,用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 LLLT对成纤维细胞增殖的影响

MTT比色法是一种检测细胞存活和生长的方法。在一定细胞数范围内,MTT结晶形成的量与活细胞数成正比,因此吸光度越大,细胞数越多。如图1所示,随着时间的增加,激光治疗组的细胞数量均增多;细胞接种48 h后,635 nm波长照射组的细胞增殖速度明显大于对照组($P < 0.05$);在72~96 h,808 nm和635 nm/808 nm双波长组细胞增殖速度低于对照组;然而,在120 h即治疗结束后,635 nm组和635 nm/808 nm双波长组细胞显著增多($P < 0.05$)。

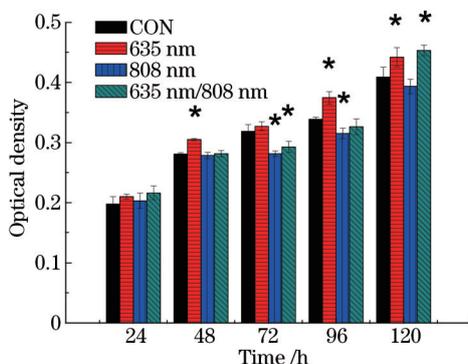


图1 低能量激光照射后细胞增殖情况(*表示 $P < 0.05$)

Fig.1 CCC-ESF proliferation after LLLT (* denotes $P < 0.05$)

3.2 LLLT对成纤维细胞活性氧含量的影响

DCFH-DA可相对特异性地检测细胞内活性氧的变化,实验用荧光探针DCFH-DA进行活性氧检测。DCFH-DA本身没有荧光,可以自由穿过细胞膜,进入细胞后,可以被细胞内的酯酶水解生成二氯二氢荧光素(DCFH),而DCFH不能通过细胞膜,从而使探针很容易被装载到细胞内,细胞内的活性氧可以氧化无荧光的DCFH生成有荧光的DCF。通过流式细胞仪检测LLLTT后DCF的荧光强度来反映细胞内ROS含量。

如图2所示,能量密度为 12 J/cm^2 的激光照射后成纤维细胞内的 ROS 含量均有不同程度的增加。相比于对照组,635 nm、808 nm 以及 635 nm/808 nm 组 ROS 水平分别提高了 14.55%、7.49%和 14.92%。

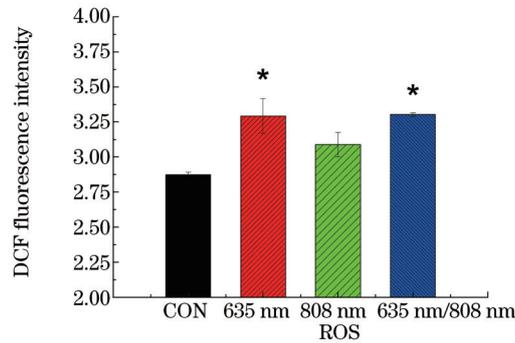


图2 低能量激光照射后 ROS 产量 (*表示 $P < 0.05$)

Fig.2 ROS yield of CCC-ESF after LLLT (* denotes $P < 0.05$)

3.3 LLLT对成纤维细胞抗氧化酶活力的影响

CAT和SOD是生物体内重要的抗氧化酶,MDA的量常常可反映机体内脂质过氧化的程度,间接反映出细胞损伤的程度。如图3所示,在 12 J/cm^2 的激光能量密度照射下,不同波长的激光均能刺激成纤维细胞内CAT和SOD的表达。相比于对照组,808 nm组和635 nm/808 nm双波长组细胞的CAT含量和MDA水平明显升高($P < 0.05$),而635 nm组和635 nm/808 nm双波长组细胞SOD表达量显著增加($P < 0.05$)。

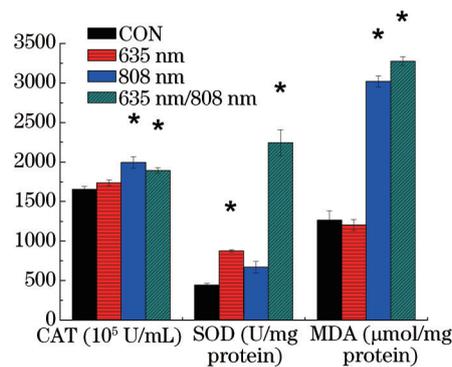


图3 LLLT对酶活力的影响 (*表示 $P < 0.05$)

Fig.3 Effect of LLLT on enzymatic activity (* denotes $P < 0.05$)

3.4 LLLT对成纤维细胞生长因子的影响

能量密度为 12 J/cm^2 的激光能促进成纤维细胞分泌多种细胞因子,其中635 nm、808 nm以及635 nm/808 nm波长激光使IL-1[图4(a)]和FGF[图4(b)]的分泌量增多($P < 0.05$);808 nm波长激光对细胞因子IGF-1[图4(c)]和GDNF[图4(d)]的分泌有明显的刺激作用($P < 0.05$);同样,不同波长的激光对VEGF[图4(e)]和NF κ B[图4(f)]的表达也有促进作用,但差异并不明显($P > 0.05$)。

4 讨 论

4.1 LLLT促进成纤维细胞增殖与ROS低水平氧化

当激光能量密度为 12 J/cm^2 时,635 nm和635 nm/808 nm双波长激光能明显促进成纤维细胞的增殖,而808 nm波长激光照射并不能刺激增殖效应。Bouvet-Gerbettaz等^[9]研究亦表明用波长为808 nm近红外光不能改变小鼠骨祖细胞增殖和分化。Migliario等^[10]研究发现当使用低能量和较高能量的激光照射成骨细胞时,细胞表现出明显的增殖效应,但当激光能量达到50 J时,细胞的增殖被抑制。研究表明,红光到近红外光易被线粒体呼吸链吸收,导致ROS、三磷酸腺苷(ATP)和环腺苷酸(cAMP)的表达量增加,从而启动了细胞增殖和保护的信号级联效应。ROS对细胞功能的影响具有剂量依赖性,高浓度的ROS影响细胞的存活导致其生理功能受损,通过蛋白激酶C(PKC)的失活和半胱天冬酶3的激活,抑制细胞的增殖,诱导细胞凋亡;然而,低水平的ROS能调节和修饰氧化还原反应相关蛋白,从而促进细胞增殖和分化^[11-13],这也是LLLTT的基础理论之一。实验中635 nm、808 nm以及635 nm/808 nm组ROS水平分别比单纯对照组提高了

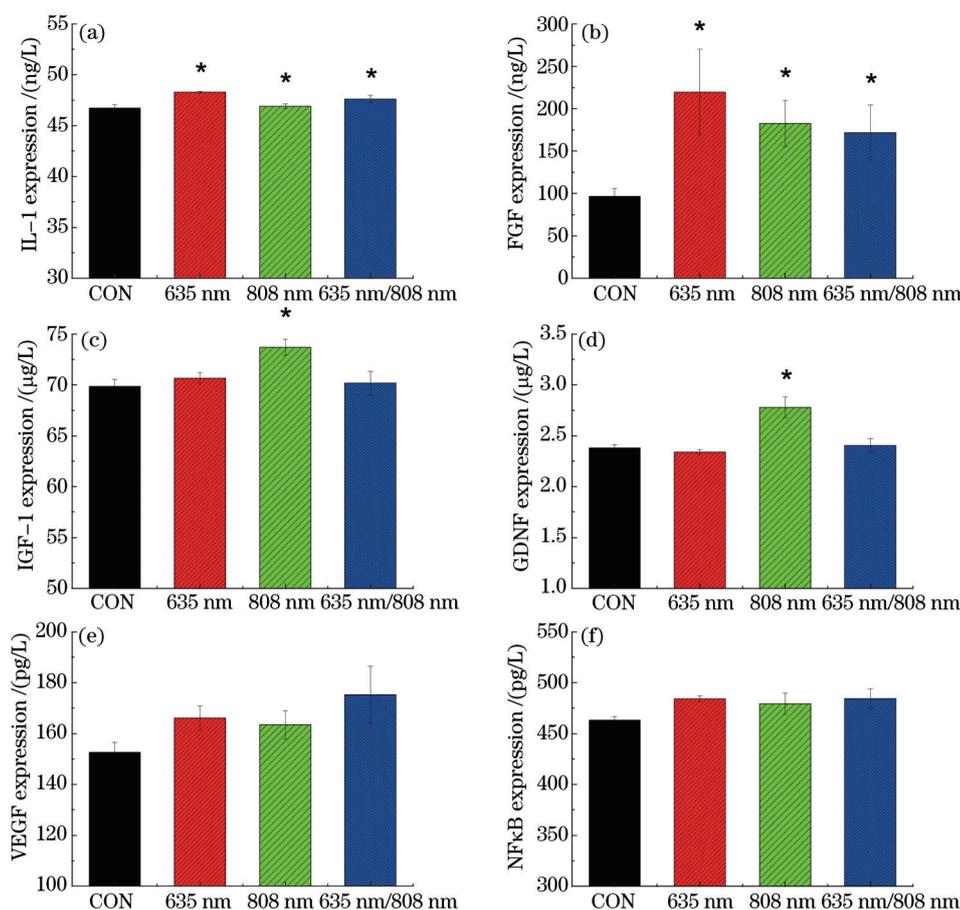


图4 LLLT对细胞生长因子分泌的影响(*表示 $P<0.05$)。(a) IL-1; (b) FGF; (c) IGF-1; (d) GDNF; (e) VEGF; (f) NFκB

Fig.4 Effect of LLLT on cell growth factors (* denotes $P<0.05$). (a) IL-1; (b) FGF; (c) IGF-1; (d) GDNF;

(e) VEGF; (f) NFκB

14.55%、7.49%和14.92%，这与MTT结果反映的增殖效应表现一致，其原因可能是LLLT引起ROS低水平表达促进了成纤维细胞的增殖，其中以635 nm组和双波长组效果最好，可见双波长能综合两种单波长产生的生物效应。

4.2 LLLT与成纤维细胞抗氧化酶含量的关系

CAT可促使 H_2O_2 分解为氧和水，清除体内的 H_2O_2 ，从而使细胞免受 H_2O_2 的毒害，是生物防御体系的关键酶之一。SOD是生物体内重要的抗氧化酶，也是生物体内清除自由基的首要物质。这些抗氧化剂在ROS介导的氧化应激反应中起到了积极的防御作用^[14-15]。实验中两种波长激光照射后均提高了CAT和SOD的酶活力，增强了成纤维细胞抗氧化能力，且双波长的治疗效果优于单一波长。结合前文4.1节所述，LLLT提高了ROS的表达，促进细胞的增殖，同时低强度的氧化应激调动了细胞内抗氧化酶活性，避免细胞被过度氧化，从而说明LLLT能提升细胞活力，增强细胞对外界环境的抵抗能力。

MDA的表达量反映机体内脂质过氧化的程度，间接反映出细胞损伤的程度，808 nm波长激光照射细胞后，MDA含量显著增加，虽然低水平ROS表达能促进细胞增殖，提高细胞活性，但近红外激光引起的脂质过氧化一定程度上损伤细胞活性，这可能是808 nm LLLT引起的ROS产量较其他两个照射组较小的原因。

4.3 LLLT对细胞生长因子表达量的影响

多种细胞因子参与了创伤愈合的过程，它们在愈合的不同阶段发挥作用。凝血期发挥主要作用的因子有FGF、转化生长因子-β(TGF-β)和VEGF等，炎症期主要有血小板衍生因子(PDGF)，表皮细胞生长因子(EGF)和TGF-β等，增殖期主要有IL-1、IGF-1和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等，再塑形期主要有PDGF、IGF和bFGF等^[16-17]。成纤维细胞是参与组织增殖的主要细胞，具有很强的代谢能力。两种波长激光照射成纤维细胞时，IL-1和FGF的分泌量明显增多，进一步促进了成纤维细胞的增殖，提高了抗炎效应，促进伤口愈合。IGF-1和GDNF对808 nm波长激光的敏感性更强，这可能与近红外光促进神经修复和减轻疼

痛有关^[18]。不同波长激光对 VEGF 和 NF κ B 的表达也有一定促进作用,可能由于这两种细胞因子并非主要由成纤维细胞分泌,其表达量并未显著增加。创伤愈合过程中细胞因子相互作用非常复杂,细胞因子相互之间也具有调控作用,进一步研究细胞因子之间的网络调控关系和信号转导通路变化很有意义。

双波长激光疗法是联合两种单波长激光的总功率和总能量实施的治疗^[7,19]。实验中无论是细胞的增殖速度还是 ROS 的产生效率,双波长能达到红光的治疗效果,弥补近红外光不能促进细胞增殖的不足,可见双波长能综合两种单波长产生的生物效应。相比于单波长,双波长更加明显地提高了细胞的过氧化物酶活性,尤其是 SOD 的活性提高了近 5 倍。红光对人体局部血液循环及伤口愈合等具有促进作用,而近红外光具有促进神经修复和镇痛等作用,不同波长光照后细胞内酶蛋白、信号分子和细胞因子表达量等不尽相同,双波长激光协同作用可以提高治疗效率,减少副作用,更经济方便地满足临床治疗和护理的需要。

5 结 论

LLLTT 诱导产生的低水平氧化应激反应可促进成纤维细胞的增殖,提升细胞活力,增强细胞对外界环境的抵抗能力。LLLTT 刺激细胞分泌多种细胞因子,调控创伤愈合的进程。单一红光或近红外光对细胞的刺激效应不同,双波长激光能联合两种波长激光的生物效应,对创伤修复有更好的疗效。

参 考 文 献

- 1 Shi Peina, Gao Mengna, Tao Jianmin, *et al.*. Skin wound repair mechanism and treatment progress[J]. Zhejiang Medical Journal, 2014, (15): 1349–1353.
史佩娜, 高梦娜, 陶键敏, 等. 皮肤创伤修复机制及治疗方法研究进展[J]. 浙江医学, 2014, (15): 1349–1353.
- 2 Rodrigo S M, Cunha A, Pozza D H, *et al.*. Analysis of the systemic effect of red and infrared laser therapy on wound repair[J]. Photomedicine and Laser Surgery, 2009, 27(6): 929–935.
- 3 Wang Hong, Wu Xiaoguang, Wang Hongxing, *et al.*. Effect of erythrocytes in hypercholesterolemia rabbits irradiation by low level 650 nm laser[J]. International Journal of Biomedical Engineering, 2014, 37(5): 295–298.
王 宏, 吴小光, 王红星, 等. 650 nm 低能激光对高胆固醇家兔模型血液红细胞的影响研究[J]. 国际生物医学工程杂志, 2014, 37(5): 295–298.
- 4 Oron U, Ilic S, De Taboada L, *et al.*. Ga-As (808 nm) laser irradiation enhances ATP production in human neuronal cells in culture[J]. Photomedicine and Laser Surgery, 2007, 25(3): 180–182.
- 5 Ma H, Li Y, Chen H, *et al.*. Effects of low-intensity laser irradiation on wound healing in diabetic rats[J]. International Journal of Photoenergy, 2012, 2012: 838496.
- 6 Pan Zhenhua, Li Yingxin, Wang Xing, *et al.*. Effects of low-level laser therapy on cutaneous wound healings with three doses[J]. Chinese J Lasers, 2010, 37(2): 599–604.
潘振华, 李迎新, 王 兴, 等. 3种剂量弱激光对大鼠皮肤创伤愈合的影响[J]. 中国激光, 2010, 37(2): 599–604.
- 7 Yang Jichun, Li Yingxin, Liu Tiegeng, *et al.*. Effects of low intensity laser irradiation with combination of 635 and 808 nanometers on surgery wound healing[J]. Opto-Electronic Engineering, 2012, 39(4): 121–124.
杨基春, 李迎新, 刘铁根, 等. 635/808 双波长低强度照射对术后创口愈合的影响[J]. 光电工程, 2012, 39(4): 121–124.
- 8 Ma Hui, Li Yingxin, Cui Yuxiao, *et al.*. Study of low-level laser therapy cutaneous wound healing in diabetic rats[J]. Applied Laser, 2011, 31(2): 185–187.
马 慧, 李迎新, 崔欲晓, 等. 弱激光促进糖尿病大鼠模型皮肤创伤愈合的实验研究[J]. 应用激光, 2011, 31(2): 185–187.
- 9 Bouvet-Gerbetaz S, Merigo E, Rocca J P, *et al.*. Effects of low-level laser therapy on proliferation and differentiation of murine bone marrow cells into osteoblasts and osteoclasts[J]. Lasers in Surgery and Medicine, 2009, 41(4): 291–297.
- 10 Migliario M, Pittarella P, Fanuli M, *et al.*. Laser-induced osteoblast proliferation is mediated by ROS production[J]. Lasers in Medical Science, 2014, 29(4): 1463–1467.
- 11 Migliario M, Rizzi M, Rocchetti V, *et al.*. *In vitro* toxicity of photodynamic antimicrobial chemotherapy on human keratinocytes proliferation[J]. Lasers in Medical Science, 2013, 28(2): 565–569.
- 12 Gao X, Chen T, Xing D, *et al.*. Single cell analysis of PKC activation during proliferation and apoptosis induced by laser irradiation[J]. Journal of Cellular Physiology, 2006, 206(2): 441–448.
- 13 Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation[J]. Journal of Biomedical Science, 2009, 16(4): 1–16.

- 14 Lim J, Sanders R A, Snyder A C, *et al.*. Effects of low-level light therapy on streptozotocin-induced diabetic kidney[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2010, 99(2): 105-110.
- 15 Takhtfooladi M A, Shahzamani M, Takhtfooladi H A, *et al.*. Effects of light-emitting diode (LED) therapy on skeletal muscle ischemia reperfusion in rats[J]. *Lasers in Medical Science*, 2015, 30(1): 311-316.
- 16 Qu Jifu, Hao Li, Sun Wei, *et al.*. Retrospective study on changes of cytokines in processes of wound healing and its significance[J]. *Journal of Traumatic Surgery*, 2003, 5(1): 74-76.
屈纪富, 郝利, 孙薇, 等. 细胞因子在创伤愈合过程中的变化及其意义的研究进展[J]. *创伤外科杂志*, 2003, 5(1): 74-76.
- 17 Zhang Haibo, Li Yingxin, Hu Tiantian, *et al.*. Impact of laser acupuncture on CIA rat serum IL-1 β , IL-15, IL-17, TNF- α , VEGF and COR [J]. *Chinese J Lasers*, 2014, 41(3): 0304002.
张海波, 李迎新, 胡甜甜, 等. 激光针灸对 CIA 大鼠血清 IL-1 β , IL-15, IL-17, TNF- α , VEGF 和 COR 的影响[J]. *中国激光*, 2014, 41(3): 0304002.
- 18 Huang Y Y, Nagata K, Tedford C E, *et al.*. Low α level laser therapy (LLLT) reduces oxidative stress in primary cortical neurons *in vitro*[J]. *Journal of Biophotonics*, 2013, 6(10): 829-838.
- 19 Rola P, Doroszko A, Derkacz A. The use of low-level energy laser radiation in basic and clinical research[J]. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2014, 23(5): 835-842.

栏目编辑: 吴秀娟