

按压对慢性激痛点模型大鼠线粒体自噬水平及PINK1/Parkin通路的影响*

蒋全睿¹ 吴琼¹ 朱晓晴¹ 匡小霞¹ 危威¹ 江玉婷¹ 袁媛¹ 李武¹ 李江山^{1,2}

摘要

目的:通过观察按压对慢性激痛点模型大鼠骨骼肌线粒体自噬水平的影响,探讨按压对激痛点去活化的作用机制。

方法:30只SPF级大鼠随机分为空白组(n=10)和激痛点模型组(n=20),以钝性打击配合离心运动法复制激痛点模型,造模成功后符合评价标准者将其随机分为模型组(n=10)和按压组(n=10),按压组以自制按法刺激器干预14d,干预结束后取其激痛点骨骼肌组织,以试剂盒测定线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)、柠檬酸合酶(citrate synthase, CS)、线粒体复合物I和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量,以免疫印迹法检测微管相关蛋白1轻链3-I(microtubule-associated protein 1 light chain 3-I, LC3-I)、LC3-II、泛素结合蛋白1(sequestosome protein1, P62)、UNC51-类似自噬激活激酶1(UNC-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)、p-ULK1、磷酸酶及张力蛋白同源物诱导的蛋白激酶1(PTEN induced putative kinase 1, PINK1)与Parkin蛋白表达。

结果:与空白组相比,模型组MMP、CS、线粒体复合物I、ATP水平均下降($P < 0.05$),LC3-II、LC3-II/LC3-I比值与P62表达上升($P < 0.05$);与模型组相比,按压组MMP、CS、线粒体复合物I、ATP、LC3-II、LC3-II/LC3-I比值、p-ULK1/p-ULK1、PINK1与Parkin水平均上升($P < 0.05$),P62表达下降($P < 0.05$)。

结论:按压激痛点可以恢复局部线粒体功能,改善局部能量代谢,达到激痛点去活化效应,其机制可能与PINK1/Parkin通路提高线粒体自噬有关。

关键词 按压;激痛点;骨骼肌;线粒体;线粒体自噬;能量代谢

中图分类号:R493,R244 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2022)-12-1593-06

Effects of pressing on mitochondrial autophagy and PINK1/Parkin pathway of chronic myofascial trigger point in rats/JIANG Quanrui, WU Qiong, ZHU Xiaoqing, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2022, 37(12): 1593—1598

Abstract

Objective: To observe the effect of pressing on skeletal muscle mitochondrial autophagy of chronic pain point in rat, and to explore the mechanism of deactivation of myofascial trigger point (MTrP) by pressing.

Method: Thirty SPF rats were randomly divided into blank group (n=10) and MTrP model group (n=20). The MTrP model was reproduced by blunt struck combined with centrifugal exercise. Those who met the evaluation criteria were randomly divided into model group (n=10) and pressing group (n=10). The pressing group was intervened with self-made pressing stimulator for 14 days, and the skeletal muscle tissue of MTrP was taken after the intervention. The mitochondrial membrane potential (MMP), citrate synthase (CS), mitochondrial complex I and adenosine triphosphate (ATP) content were detected by kit. Western blotting was used to detect the expression of microtubule-associated protein 1 light chain 3-I (LC3-I), LC3-II, sequestosome protein1 (P62), UNC-51 like autophagy activating kinase 1 (ULK1), p-ULK1, PTEN induced putative kinase 1 (PINK1) and

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2022.12.001

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81973975);湖南省教育厅科研项目(20B439)

1 湖南中医药大学针灸推拿学院,湖南省长沙市,410208; 2 通讯作者

第一作者简介:蒋全睿,男,博士研究生;收稿日期:2021-04-08

parkin protein.

Result: Compared with the blank group, the levels of MMP, CS, mitochondrial complex I and ATP in the model group decreased ($P < 0.05$) and the LC3-II, LC3-II/LC3-I and expression of P62 increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of MMP, CS, mitochondrial complex I, ATP, LC3II, LC3-II/LC3-I, p-ULK, p-ULK1/ULK1, PINK1 and Parkin increased ($P < 0.05$) while the expression of P62 decreased ($P < 0.05$) in the pressing group.

Conclusion: Pressing the MTrP can restore the local mitochondrial function, improve the local energy metabolism to achieve the deactivation effect, which may be related to the activation of mitochondrial autophagy by PINK1/Parkin pathway.

Author's address College of Acupuncture & Moxibustion and Tui-na, Chinese Medicine of Hunan University, Changsha, 410208

Key word pressing; myofascial trigger point; skeletal muscle; mitochondria; mitochondrial autophagy; energy metabolism

肌筋膜激痛点(myofascial trigger point, MTrP)是局部可辨别的痛点或对疼痛敏感的骨骼肌上的结节,会导致疼痛、活动障碍、感觉异常和自主神经症状^[1]。研究显示,活性激痛点是颈肩疼痛的常见原因之一^[2],临床常用针刺、缺血性按压、注射药物等疗法灭活激痛点以减轻相关症状^[3]。大量文献表明缺血性按压可以使激痛点去活化,缓解疼痛^[4-6],此外,在其他疗法中加入按压可以提高疗效^[7],但是按压具体的作用机制尚不明确。最新研究表明,微循环和能量代谢障碍可能是激痛点形成和维持的重要环节^[8],课题组前期形态学观察发现,慢性激痛点骨骼肌肌节挛缩,线粒体结构受损且数量减少,通过局部按压干预可以改善这些病理状态^[9]。线粒体是细胞新陈代谢的基础,当线粒体损伤程度超过其修复能力时,线粒体自噬启动以清除受损线粒体,维持能量代谢平衡^[10]。PINK1/Parkin介导了已受损的线粒体表面结构与功能蛋白的多聚泛素化,在哺乳动物细胞线粒体的自噬过程中发挥了关键作用^[11]。因此,本研究主要围绕PINK1/Parkin介导的线粒体自噬,探讨按压对激痛点去活化的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级雄性健康SD大鼠30只,体重250—280g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司生产,分笼饲养于湖南中医药大学动物实验中心,每笼3只,动物许可证书:SYXK(湘):2019-0009。饲养温度24—26℃,湿度50%—70%。实验方案中动物伦理

由湖南中医药大学实验动物伦理委员会讨论并批准通过。30只SPF级大鼠随机分为空白组($n=10$)和激痛点模型组($n=20$),以击打配合离心跑台法复制激痛点模型,造模成功后符合评价标准者将其随机分为模型组($n=10$)和按压组($n=10$)。

1.2 主要试剂与仪器

呼吸麻醉机(瑞沃德, R500);跑步机(浙江省金华市宇晟运动公司, C100型);按法治疗仪与击打器(自制);肌电仪(BIOPAC, MP150);超微量分光光度计(Thermo, NanoDrop2000);电泳仪(Bio-Rad)、转膜仪(BioRad, Trans-Blot Turbo Transfer System)、显影仪(Tanon5200);异氟烷(瑞沃德, R510-22);兔源LC3B抗体(艾方生物);兔源P62抗体(艾方生物);兔源PINK1抗体(affinity);兔源Parkin抗体(艾方生物);兔源ULK1抗体(艾方生物);兔源p-ULK1抗体(affinity);鼠源GAPDH抗体(Immuno-way);山羊抗兔IgG(H+L)/辣根酶标记抗体(Proteintech);山羊抗鼠IgG(H+L)/辣根酶标记抗体(Proteintech);线粒体膜电位试剂盒(Solarbio);柠檬酸合酶试剂盒(南京建成生物工程研究所);线粒体复合物I试剂盒(Solarbio);ATP试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 建立动物模型

造模参考黄强民团队改良验证的钝性打击结合离心运动的方法^[12],具体操作如下:

①适应期(1周):参与造模的大鼠在跑台进行适应性训练,即跑台0°放置,每次完成15min训练,速度16m/min,1次/2d,共3次。

②造模期(8周):每周第1天进行钝性击打,采用异氟烷吸入麻醉大鼠并固定在击打器底部,由团队中有诊察经验的推拿医师对大鼠股内侧肌位置进行触诊并标记,操作者将击打器钝性负重棒(总质量为1200g)从20cm高度落下打击标记位置,动能为2.352J。第2天进行离心运动,跑台-16°放置,速度设置16m/min,跑台时间90min,在跑台过程中以声音和机械刺激驱赶大鼠。其余5天仅作正常饲养和观察,无其他操作。

③恢复期(4周):不进行任何处理,每天正常饲养和观察。

④模型评价:触诊标记区域,存在明显的紧张带或膨大结节,用电极插入可引出局部抽搐反应,肌电检测显示存在自发电位,则提示激痛点造模成功。

1.4 干预方法

空白组和模型组不进行干预。按压组给予激痛点局部按压:异氟烷吸入麻醉后,将大鼠以仰卧位固定于鼠板,操作部位(即前述标记区)局部清洁剃毛。在紧张带位置采用自制的按法刺激仪器进行按压操作^[13-14],将按压臂垂直90°放置于标记区域上,根据前期研究,按压参数设置为0.7kg,频率10次/min,按压时间7.5min,2d/次,共7次。按压干预过程中由实验人员监督,防止出现意外事件。

1.5 组织标本采集和处理

治疗结束后以空气栓塞法处死大鼠,对标记处肌肉紧张带部位进行组织取材并将其置于预冷生理盐水中,用生理盐水清洗3次并以滤纸吸干,分装标记后放置在-80℃冰箱保存。

1.6 指标检测

①线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)、柠檬酸合酶(citrate synthase, CS)、线粒体复合物I和ATP检测:按照试剂盒说明书要求操作,制备组织匀浆液或提取线粒体。待室温平衡后取出试剂盒的板条,按要求设置标准品孔和样本孔并加样,按要求滴加各步骤需要的试剂、37℃水浴孵育和洗板。测定各孔的光度值,绘制出标准品线性回归曲线并计算各样本浓度值。

②微管相关蛋白1轻链3-I(microtubule-associated protein 1 light chain 3-I, LC3-I)、LC3-II、泛肽结合蛋白1(sequestosome protein1, P62)、UNC51-

类似自噬激活激酶1(UNC-51 like autophagy activating kinase 1, ULK)、p-ULK、张力蛋白同源物诱导的蛋白激酶1(PTEN induced putative kinase 1, PINK1)与Parkin检测:采用Western Blot法:取组织样本充分剪碎,加入裂解液均浆裂解。离心取上清液,用BCA进行蛋白定量。根据蛋白定量结果加入适量缓冲液,沸水浴10min后离心取上清上样,分离胶120V,50min,当染料到达胶底部时终止电泳,采用湿转转膜,三明治的排列为:滤纸/胶/膜/滤纸。膜的封闭及抗体孵育:5%脱脂奶粉封闭,4℃过夜;一抗:抗体加入封闭液中稀释到目标浓度,室温孵育1h;二抗:按照1:5000比例稀释HRP标记的二抗,室温孵育1h。孵育后PBST洗涤化学发光显影置于分析仪检测,以TANON GIS软件读取相关条带灰度值并利用目的蛋白/GAPDH求得相对表达量。

1.7 统计学分析

所有数据统计分析均采用SPSS 21.0软件。计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,多重比较方差齐时选择LSD或SNK-q法,方差不齐时选择Dunnett T3法;以 $P < 0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 一般情况

30只SPF级大鼠以随机数表法随机分为空白组10只和激痛点模型组20只,以钝性打击配合离心运动法复制激痛点模型,8周击打结合离心运动和4周恢复期后,死亡0只,经过造模评价满足评价条件共计20只,纳入实验后以随机数表法分为模型组和按压组,每组各10只。

2.2 各组大鼠激痛点组织MMP、CS、线粒体复合物I和ATP含量比较

结果见表1。MMP:与空白组相比,模型组MMP水平降低($P=0.000$),按压组差异无显著性意义($P=0.952$);与模型组相比,按压组MMP水平升高($P=0.000$)。CS:与空白组相比,模型组CS含量降低($P=0.000$),按压组差异无显著性意义($P=0.245$);与模型组相比,按压组CS含量升高($P=0.000$)。线粒体复合物I:与空白组相比,模型组和按压组线粒体复合物I含量降低($P=0.000$ 和 $P=$

表1 各组大鼠激痛点组织MMP、CS、线粒体复合物I和ATP含量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	MMP (荧光值)	CS (U/mgProt)	线粒体复合物I (U/mgProt)	ATP (μ mol/gProt)
空白组	188.31 $\pm$ 16.62	122.24 $\pm$ 15.09	157.50 $\pm$ 11.02	359.68 $\pm$ 51.27
模型组	137.27 $\pm$ 11.94 ^①	54.88 $\pm$ 13.81 ^①	89.62 $\pm$ 16.73 ^①	213.06 $\pm$ 52.00 ^①
按压组	187.91 $\pm$ 14.80 ^②	115.66 $\pm$ 6.47 ^②	118.93 $\pm$ 24.39 ^{①②}	289.17 $\pm$ 37.45 ^{①②}
<i>F</i> 值	40.542	89.882	34.907	23.951
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

0.001);与模型组相比,按压组线粒体复合物I含量升高($P=0.000$)。ATP:与空白组相比,模型组和按压组ATP含量降低($P=0.000$ 和 $P=0.003$);与模型组相比,按压组ATP含量升高($P=0.001$)。

2.3 各组大鼠激痛点组织LC3-I、LC3-II、LC3-II/LC3-I和P62蛋白表达比较

结果如表2和图1所示。LC3-I:组间单因素方差分析 $F=1.262$, $P=0.304$,组间差异无显著性意义。LC3-II:与空白组相比,模型组LC3-II含量升高($P=0.000$);与模型组相比,按压组LC3-II含量升高($P=0.001$)。LC3-II/LC3-I:与空白组相比,模型组比值升高($P=0.035$);与模型组相比,按压组比值升高($P=0.009$)。P62:与空白组相比,模型组P62含量升高($P=0.001$);与模型组相比,按压组P62含量降低($P=0.002$)。

2.4 各组大鼠激痛点组织ULK1、p-ULK1和p-ULK1/ULK1蛋白表达比较

结果如表3和图2所示。ULK1:组间单因素方差分析 $F=2.586$, $P=0.099$,组间差异无显著性意义。p-ULK1:与空白组相比,模型组p-ULK1含量差异无显著性意义($P=0.821$),按压组含量升高($P=0.000$);与模型组相比,按压组p-ULK1含量升高($P=0.000$)。p-ULK1/ULK1:与空白组相比,模型组比值差异无显著性意义($P=0.831$);与模型组相比,按压组比值升高($P=0.013$)。

2.5 PINK1与Parkin蛋白表达比较

结果如表4和图3所示。PINK1:与空白组相比,模型组PINK1含量差异无显著性意义($P=0.191$),按压组含量升高($P=0.000$);与模型组相比,按压组PINK1含量升高($P=0.000$)。Parkin:与空白组相比,模型组Parkin含量差异无显著性意义($P=0.711$);与模型组相比,按压组Parkin含量升高($P=0.028$)。

表2 各组大鼠激痛点组织LC3-I、LC3-II、LC3-II/LC3-I和P62比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	LC3-I	LC3-II	LC3-II/LC3-I	P62
空白组	0.229 $\pm$ 0.094	0.143 $\pm$ 0.042	0.679 $\pm$ 0.217	0.225 $\pm$ 0.068
模型组	0.256 $\pm$ 0.067	0.253 $\pm$ 0.036 ^①	1.064 $\pm$ 0.379 ^①	0.403 $\pm$ 0.076 ^①
按压组	0.288 $\pm$ 0.062	0.434 $\pm$ 0.091 ^{①②}	1.556 $\pm$ 0.403 ^{①②}	0.239 $\pm$ 0.122 ^②
<i>F</i> 值	1.262	45.941	13.153	9.302
<i>P</i> 值	0.304	0.000	0.000	0.001

注:与空白组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

表3 各组大鼠激痛点组织ULK1、p-ULK1和p-ULK1/ULK1蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

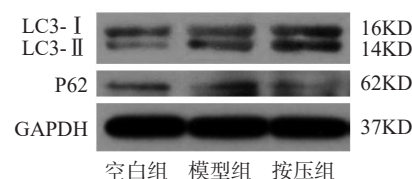
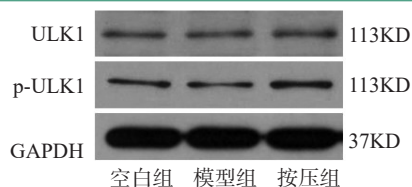
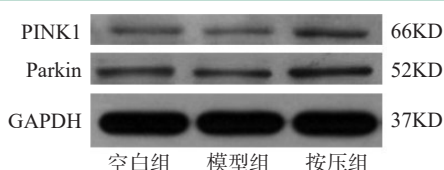
组别	ULK1	p-ULK1	p-ULK1/ULK1
空白组	0.147 $\pm$ 0.090	0.165 $\pm$ 0.094	1.161 $\pm$ 0.476
模型组	0.148 $\pm$ 0.034	0.173 $\pm$ 0.058	1.214 $\pm$ 0.433
按压组	0.211 $\pm$ 0.051	0.371 $\pm$ 0.039 ^{①②}	1.872 $\pm$ 0.538 ^{①②}
<i>F</i> 值	2.586	23.911	5.337
<i>P</i> 值	0.099	0.000	0.013

注:与空白组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

表4 各组大鼠激痛点组织PINK1与Parkin蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	PINK1	Parkin
空白组	0.131 $\pm$ 0.043	0.274 $\pm$ 0.068
模型组	0.177 $\pm$ 0.049	0.298 $\pm$ 0.120
按压组	0.323 $\pm$ 0.099 ^{①②}	0.446 $\pm$ 0.167 ^{①②}
<i>F</i> 值	17.233	4.414
<i>P</i> 值	0.000	0.025

注:与空白组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

图1 各组大鼠激痛点组织LC3-I、LC3-II、LC3-II/LC3-I和P62比较**图2 各组大鼠激痛点组织ULK1、p-ULK1蛋白表达比较****图3 各组大鼠激痛点组织PINK1与Parkin蛋白表达比较**

3 讨论

目前认为MTrP产生和持续存在的根本原因可能是局部存在能量危机^[15]。在创伤、劳损和一些医源性刺激等诱因刺激下,运动终板功能失调,作为神经肌肉传递兴奋递质的乙酰胆碱会过度释放,使肌节收缩压迫毛细血管,局部微循环障碍,供血功能不足,活性氧堆积,线粒体受损。机体ATP生成能力下降,即能量供应减少。此外,肌细胞膜持续去极化引起肌节持续收缩,加剧局部能量需求,从而使供能不足的肌肉能量更为匮乏。肌节持续收缩,外在表现为肌纤维条索,即MTrP的形态学改变。因能量缺乏,局部组织释放致敏物质,如5-羟色胺、组织胺、缓激肽及P物质等,刺激伤害性感受神经元,产生持续的肌肉疼痛。近年来不同角度的机制研究发现,激痛点组织有氧能量代谢蛋白表达下调,这印证了激痛点“能量危机”的病理状态^[16-17]。

线粒体是细胞能量代谢的基础,微循环障碍,线粒体损伤扰乱线粒体功能,导致有缺陷的细胞器逐渐积累,代谢紊乱,细胞与组织损伤^[18]。保持正常的线粒体膜电位是线粒体进行三羧酸循环氧化还原产生ATP进而保持细胞正常生理功能的必需条件,线粒体膜电位的降低意味着线粒体质量控制不足,或者线粒体损伤过程超过修复/消除受损线粒体的能力,或者线粒体降解机制存在缺陷^[19]。柠檬酸合酶是催化三羧酸循环重要的限速酶,可决定乙酰辅酶A进入三羧酸循环的速率,其活性与线粒体含量密切相关^[20]。线粒体呼吸链酶位于线粒体内膜,由5个复合物组成,具有电子传递功能,其变化可以反映线粒体有氧呼吸功能^[21],其中线粒体复合物I缺陷还可导致活性氧增加,诱发氧化应激使线粒体功能障碍诱导细胞凋亡^[22]。本实验结果显示,造模后肌细胞内MMP、CS、线粒体复合物I和ATP水平均下降;按压干预后MMP、CS、线粒体复合物I和ATP水平均上升,这表明慢性激痛点模型大鼠线粒体膜电位下降,呼吸链受损,线粒体含量下降,合成ATP能力下降,按压干预可以改善这些病理状态。

由于线粒体受损对细胞内稳态有害,需要质量控制机制恢复和维持能量代谢,当损伤程度超过其修复能力时,线粒体自噬启动以清除受损线粒体,减少氧化应激和炎症因子,同时为合成新线粒体提供

物质,保证ATP正常合成,提高细胞耐受力,对细胞产生一定的保护作用^[10]。线粒体自噬是细胞自噬装置对线粒体的靶向吞噬和破坏,是一种选择性细胞自噬途径,特异性识别无法修复的线粒体,并将其包裹入自噬体,由溶酶体加以清除的过程,通常被认为是线粒体质量控制的主要机制^[23]。但是外部应激因素强度过大或持续过久时,受损线粒体和活性氧水平剧增,细胞内受损线粒体数量超出线粒体自噬能力而无法被及时清除聚集于胞内,使细胞内环境失稳态,能量代谢障碍。如在大负荷运动损伤中可观察到内环境的改变与线粒体自噬的激活^[24]。

PINK1/Parkin通路是介导细胞线粒体自噬的主要通路之一^[25]。在正常条件下,PINK1通过线粒体外膜转位酶TOM和内膜转位酶复合体(TIM23)进入线粒体。当PINK1横跨线粒体内膜时,它被基质加工肽酶和内膜蛋白酶PINK1/PGAM5相关的蛋白酶切割最终被蛋白酶体降解^[26]。当线粒体受损、衰老时,线粒体膜电位下降,PINK1降解减少并稳定,在线粒体外膜聚集,PINK1在线粒体外膜上稳定在复合物中。与此同时,P62通过电压依赖性阴离子通道蛋白1在线粒体膜上聚集。除了自身磷酸化,PINK1还磷酸化E3泛素连接酶Parkin,增加其活性,Parkin被PINK1磷酸化从而改变构象,获得泛素化其底物所需的催化基团。PINK1还磷酸化多泛素链,即p-Ub。自噬受体蛋白识别线粒体蛋白上的磷酸化多泛素链,并通过与LC3结合,启动自噬体形成^[27]。ULK1则是自噬调控通路上游的关键蛋白之一,磷酸化的泛素募集ULK1至线粒体膜上,并受AMPK调节以磷酸化促进线粒体自噬^[28]。

自噬过程中,细胞溶质形式的LC3(LC3-I)与磷脂酰乙醇胺结合形成LC3磷脂酰乙醇胺结合物(LC3-II),后者被募集到自噬体膜。自噬体与溶酶体融合形成自溶体,自噬体内的成分包含P62等被溶酶体水解酶降解,自身溶酶体管腔中的LC3-II同时被降解。因此,P62/LC3-II已成为细胞自噬常用标志物,反映自噬活性,即LC3-II表达量或LC3-II/LC3-I比值与自噬流水平正相关,而自噬流不畅会导致P62的聚集^[29-30]。结果显示激痛点造模后PINK1、Parkin、P-ULK和p-ULK1/ULK1较空白组仅有增加趋势,差异并无显著性意义,但是LC3-II、

LC3-II/LC3-I增加,说明大鼠激痛点组织线粒体自噬水平提高,这符合损伤组织的特点^[24]。结合前结合模型组线粒呼吸链受损,ATP合成下降,P62上调,表明可能模型组线粒体自噬水平虽然提高,但是自噬下游不畅,难以清除受损线粒体从而恢复能量代谢,而按压干预后PINK1、Parkin、P-ULK、p-ULK1/ULK1、LC3-II和LC3-II/LC3-I比值显著增加,P62表达下降,说明按压可能通过上调PINK1/Parkin信号通路,促进自噬体与自噬溶酶体的形成,提高自噬水平增强自噬流,清除受损线粒体从而恢复线粒体功能。

综上所述,按压激痛点可以恢复线粒体功能,改善局部能量代谢,其机制可能与调控PINK1/Parkin通路激活线粒体自噬有关。但是,调控线粒体自噬的通路不止一条,未来还需要开展进一步的实验,加入抑制剂或激动剂以阐明其因果性并探索其具体的线粒体自噬调控机制。

参考文献

- [1] 谭树生,黄强民,庄小强. 图解筋膜疼痛触发点推拿手法[M]. 北京:人民卫生出版社,2012.
- [2] Ribeiro DC, Belgrave A, Naden A, et al. The prevalence of myofascial trigger points in neck and shoulder-related disorders: a systematic review of the literature[J]. BioMed Central, 2018,19(1):252.
- [3] Weller JL, Comeau D, Otis J. Myofascial pain[J]. Semin Neurol, 2018,38(6):640—643.
- [4] 徐子涵,侯世伦. 激痛点按压治疗筋膜疼痛综合征的Meta分析[J]. 按摩与康复医学,2021,12(03):58—64+68.
- [5] Panzeri M, Ryvlin P, Staeger P, et al. Myofascial approach in tension-type headache management: a scientific assessment[J]. Rev Med Suisse, 2020,16(687):600—605.
- [6] 王永慧,张杨,丁欣利,等. 缺血压迫减轻筋膜激痛点痛觉增敏与自发性肌电活动的机制研究[J]. 中国康复医学杂志, 2011,26(06):507—512.
- [7] 赵梦园. 缺血性按压和核心训练对筋膜疼痛综合征的疗效研究[D]. 吉林体育学院,2020.
- [8] 李丽辉. 筋膜触发点的蛋白组学研究及针刺和静态拉伸治疗后的改变[D]. 上海体育学院,2019.
- [9] 江玉婷,李铁浪,李江山,等. 推拿按法对慢性激痛点模型大鼠骨骼肌超微结构的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(01):85—90.
- [10] MacVicar Thomas. Mitophagy[J]. Essays Biochem, 2013, 55:93—104.
- [11] Ashrafi G, Schwarz TL. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria[J]. Cell Death & Differentiation, 2013,20(1):31—42.
- [12] 姚明华,黄强民. 筋膜触发点疼痛的实验动物模型研究[J]. 中国运动医学杂志,2009,28(04):415—418.
- [13] 蒋全睿,李江山,陈四红,等. 不同参数和方式按压心俞穴对局部温度影响的正交试验[J]. 针灸推拿医学,2019,17(3):147—154.
- [14] 李武,蒋全睿,艾坤,等. 力度和按压时间对按法热效应影响的实验研究[J]. 针灸推拿医学,2018,16(5):303—309.
- [15] 克莱尔·戴维斯,安伯·戴维斯. 触发点疗法[M]. 北京:北京科学技术出版社,2018.
- [16] Ye L, Li M, Wang Z, et al. Depression of mitochondrial function in the rat skeletal muscle model of myofascial pain syndrome is through down-regulation of the AMPK-PGC-1 α -SIRT3 axis[J]. J Pain Res, 2020,13:1747—1756.
- [17] 刘琳. 基于肌梭和蛋白质组学研究探讨慢性筋膜触发点的发病机理[D]. 上海体育学院,2019.
- [18] van der Blik AM, Sedensky MM, Morgan PG. Cell biology of the mitochondrion[J]. Genetics,2017,207(3):843—871.
- [19] Zorova LD, Popkov VA, Plotnikov EY, et al. Mitochondrial membrane potential[J]. Anal Biochem,2018,552:50—59.
- [20] Joy JM, Falcone PH, Vogel RM, et al. Supplementation with a proprietary blend of ancient peat and apple extract may improve body composition without affecting hematology in resistance-trained men[J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2015,40(11):1171—1177.
- [21] 姚泰,赵志奇,朱大年,等. 人体生理学[M]. 第4版. 北京:人民卫生出版社,2015.
- [22] Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species[J]. Biochem J, 2009,417(1):1—13.
- [23] Killackey SA, Philpott DJ, Girardin SE. Mitophagy pathways in health and disease[J]. J Cell Biol, 2020, 219(11):e202004029.
- [24] 尚画雨,白胜超,夏志,等. 针刺对大负荷运动大鼠骨骼肌线粒体结构和功能的影响[J]. 中国康复医学杂志,2018,33(8):901—909.
- [25] Tang MY, Durcan TM. Chapter 18 - The role of parkin and PINK1 in mitochondrial quality control[D]. Academic Press,2015.
- [26] Yamano K, Youle RJ. PINK1 is degraded through the N-end rule pathway[J]. Autophagy, 2013,9(11):1758—1769.
- [27] 吴优,卢中秋,姚咏明. 线粒体自噬中pink1-parkin途径调控机制的研究进展[J]. 医学研究杂志,2017,46(3):186—188+130.
- [28] Seabright AP, Lai YC. Regulatory roles of PINK1-parkin and AMPK in ubiquitin-dependent skeletal muscle mitophagy[J]. Front Physiol, 2020,11:1—11.
- [29] Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 and autophagy[J]. Methods Mol Biol, 2008,445:77—88.
- [30] Lamark T, Svenning S, Johansen T. Regulation of selective autophagy: the p62/SQSTM1 paradigm[J]. Essays Biochem, 2017,61(6):609—624.