

- icipates in sarcomere remodeling by acting upstream of the ubiquitin-proteasome pathway. *Hum Mol Genet*, 2005, 14: 2125-2134.
- [9] Powers SK, Kavazis AN, DeRuisseau KC. Mechanisms of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 2005, 288: R337-R344.
- [10] Leeuwenburgh C. Role of apoptosis in sarcopenia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2003, 58: 999-1001.
- [11] Adhihetty PJ, Ljubcic V, Menzies KJ, et al. Differential susceptibility of subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria to apoptotic stimuli. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 289: C994-C1001.
- [12] Allen DL, Linderman JK, Roy RR, et al. Apoptosis: a mechanism contributing to remodeling of skeletal muscle in response to hindlimb unweighting. *Am J Physiol*, 1997, 273: C579-C587.
- [13] Siu PM, Pistilli EE, Alway SE. Apoptotic responses to hindlimb suspension in gastrocnemius muscles from young adult and aged rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 289: R1015-R1026.
- [14] Alway SE, Martyn JK, Ouyang J, et al. Id2 expression during apoptosis and satellite cell activation in unloaded and loaded quail skeletal muscles. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 284: R540-R549.
- [15] Leeuwenburgh C, Gurley CM, Strotman BA, et al. Age-related differences in apoptosis with disuse atrophy in soleus muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 288: R1288-R1296.
- [16] Dupont-Versteegden EE, Murphy RJ, Houle JD, et al. Mechanisms leading to restoration of muscle size with exercise and transplantation after spinal cord injury. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 279: C1677-C1684.
- [17] Smith HK, Maxwell L, Martyn JA, et al. Nuclear DNA fragmentation and morphological alterations in adult rabbit skeletal muscle after short-term immobilization. *Cell Tissue Res*, 2000, 302: 235-241.
- [18] Jin X, Qu N, He Y, et al. Cell apoptosis in atrophic skeletal muscle induced by immobilization in rabbits—an experimental study using TUNEL. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 2004, 21: 628-630, 635.
- [19] Siu PM, Alway SE. Mitochondria-associated apoptotic signalling in denervated rat skeletal muscle. *J Physiol*, 2005, 565: 309-323.
- [20] Primeau AJ, Adhihetty PJ, Hood DA. Apoptosis in heart and skeletal muscle. *Can J Appl Physiol*, 2002, 27: 349-395.
- [21] Tews DS, Goebel HH, Schneider I, et al. DNA-fragmentation and expression of apoptosis-related proteins in experimentally denervated and reinnervated rat facial muscle. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 1997, 23: 141-149.

(修回日期:2007-02-25)

(本文编辑:松 明)

· 研究简报 ·

饮用经 He-Ne 激光照射矿物质水对大鼠微循环功能的影响

石继飞 郑来煜

【摘要】目的 探讨饮用 He-Ne 激光照射矿物质水对大鼠血管内皮细胞膜表面电光学特性及机体微循环功能的影响。**方法** 共选取 3 周龄 Wistar 大白鼠 20 只,将其随机分为实验组及对照组。实验组大鼠饮用 He-Ne 激光照射矿物质水(经 He-Ne 激光持续照射 12 h),对照组大鼠则饮用未给予 He-Ne 激光照射的矿物质水。30 d 后采用 20% 乌拉坦对 2 组大鼠进行肌肉注射麻醉,由尾静脉注入内毒素以制作白细胞黏附及血管内皮损伤模型。观察并记录 2 组大鼠小肠系膜微血管内白细胞贴壁、渗出以及血小板、红细胞黏附、聚集、血流速度、血管内皮细胞损伤情况;同时按常规方法测量 2 组大鼠的红细胞电泳率。**结果** 当实验进行到第 30 天时,发现饮用 He-Ne 激光照射矿物质水能减轻内毒素所致的炎症刺激,抑制白细胞、红细胞、血小板黏附聚集及白细胞渗出,提高红细胞电泳率及血流速度,减轻血管内皮细胞损伤。**结论** 饮用 He-Ne 激光照射矿物质水能提高实验大鼠血细胞及血管内皮细胞的表面负电荷密度,减轻内毒素对血管内皮细胞的损伤,对维系机体正常微循环功能及防止血栓形成具有积极作用。

【关键词】 He-Ne 激光; 矿物质水; 细胞表面负电荷密度; 微循环

相关研究发现,血小板、白细胞等血液成分的黏附、聚集功能对机体微循环血流速度具有影响作用,是血管内皮细胞损伤乃至血栓形成的重要原因之一,其在主动脉粥样硬化各阶段中均具有重要意义^[1]。由于血管内皮细胞具有明显的电磁特征^[1],而矿物质水经 He-Ne 激光照射后其电导率将发生改变,故本研究通过观察实验大鼠饮用 He-Ne 激光照射矿物质水,从

而探讨 He-Ne 激光照射矿物质水对其血小板、白细胞等黏附、聚集功能的影响以及对细胞膜表面电光学特性的作用。现报道如下。

材料与方法

一、实验材料

本实验选用的矿泉水是包头产雪鹿牌矿泉水,产于包头市莫尼路东段,产品标准编号为 GB8537-95,其主要水质成分包括:锶(Sr^{2+}) 0.3 ~ 0.8 mg/L、钙(Ca^{2+}) 45 ~ 65 mg/L、镁

作者单位:014010 包头,内蒙古包头医学院医学物理教研室(石继飞),包头医学院第二附属医院(郑来煜)

(Mg^{2+}) 20 ~ 35 mg/L、钠 (Na^{+}) 30 ~ 45 mg/L、钾 (K^{+}) 2.5 ~ 4.5 mg/L、偏硅酸 ($HSiO_3^{-}$) 20 ~ 25 mg/L、溶解性总固体 ≥ 200 ~ 600 mg/L、重碳酸盐 (HCO_3^{-}) 250 ~ 400 mg/L、硫酸盐 30 ~ 50 mg/L, 不含 CO_2 成分, pH 值为 7.2 ~ 7.6, 国家鉴定认可批准文号为[2000]30 号。本实验同时选取 3 周龄 Wistar 大白鼠 20 只, 由包头医学院实验动物饲养中心提供, 体重 212 ~ 235 g, 将其随机分为实验组及对照组, 每组各 10 只大鼠。

二、实验方法

实验进行期间, 实验组大鼠饮用 He-Ne 激光照射矿物质水, 对照组大鼠则饮用未经 He-Ne 激光照射的矿物质水, 每只大鼠的饮水量为 40 ~ 50 ml/d。本研究所用 He-Ne 激光照射装置系本科室自制, 为一桶形玻璃容器, 壁厚 0.5 cm, 直径 20 cm, 高 35 cm, 注入矿泉水至 30 cm 深, 将其置于实验台上。将 MRL-671 型 He-Ne 激光照射仪(长春产)置于桶形玻璃容器上方, He-Ne 激光发射功率为 23.0 mW, 激光光斑直径 5.2 cm, 波长 632.8 nm, 激光照射距离为 15 cm, 对矿泉水进行过夜照射, 共持续 12 h^[2]。

三、检测方法

对 He-Ne 激光照射矿物质水的黏度(采用 U-700 黏度计测定)、电导率(采用 HDDG-9533 型电导率测定仪测定)、介电常数(采用 BID870 型介电常数测定仪测定)及 pH 值(采用 DEMURE3600 型 pH 值测定仪测定)进行检测。当实验进行到第 30 天时, 采用 20% 乌拉坦对上述实验大鼠进行肌肉注射麻醉(4 ml/kg 体重), 随后从尾静脉注入内毒素(1 mg/kg 体重)制作白细胞黏附和血管内皮损伤动物模型。采用 Olympus IMT-2 型倒置显微镜($\times 800$ 倍)观察实验大鼠小肠系膜微血管组织。通过安装在显微镜上的 CCD 彩色摄像机记录大鼠细静脉内白细胞贴壁、渗出情况以及血流速度, 再从回放的录像资料中计数直径 40 μm 、长度 100 μm 细静脉血管腔内白细胞贴壁黏附及游出的数量^[3], 并同时观察血管损伤情况, 包括血小板、红细胞黏附聚集以及血管内皮间隙增大、血管出血等。另取 10 μl 静脉血注入到 0.4 ml 红细胞悬液中, 采用北京产 WD-9408A 型细胞电泳仪及 Olympus HB-2 型生物显微镜($\times 200$ 倍)、显微摄像机、监视仪、视频刻度尺等测量实验大鼠的红细胞电泳率。

四、统计学分析

本研究所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 *t* 检验进行统计学比较, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

当实验进行到第 30 天时, 实验组大鼠小肠系膜微血管内白细胞黏附、渗出数量均较对照组显著减少(较对照组下降了 60% ~ 70%, 差异具有统计学意义, $P < 0.05$), 而血流速度、红细胞电泳率较对照组明显增快(较对照组上升了 7% ~ 17%, 差异具有统计学意义, $P < 0.05$), 具体数据详见表 1。另外, 对 2 组大鼠长度约为 100 μm 的小肠系膜微血管腔区域进行观察, 发现实验组大鼠血小板、红细胞黏附聚集、血管内皮间隙增大和血管出血的数量均明显少于对照组(较对照组下降了 29% ~ 75%, 差异具有统计学意义, $P < 0.05$), 具体数据详见表 2。矿物质水经 He-Ne 激光照射后, 其理化参数变化显著, 具体改变详见表 3。

表 1 2 组大鼠细静脉内白细胞黏附、渗出、血流速度及红细胞电泳率比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	白细胞黏附 数量(个/ 每视野 ^①)	白细胞渗出 数量(个/ 每视野 ^②)	血流速度 (mm/s)	红细胞电泳率 ($\mu m/s$)
实验组	10	4.43 $\pm$ 2.75 ^a	1.28 $\pm$ 1.15 ^a	1.215 $\pm$ 0.226 ^a	2.80 $\pm$ 0.75 ^a
对照组	10	10.72 $\pm$ 2.92	4.86 $\pm$ 1.10	1.135 $\pm$ 0.258	2.48 $\pm$ 0.46

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; ①放大倍数为 800 倍, ②放大倍数为 200 倍

表 2 2 组大鼠细静脉血管损伤情况比较(个)

组 别	只数	血小板 黏附聚集	红细胞 黏附聚集	内皮间隙 增大	血管 出血
实验组	10	30 ^a	20 ^a	10 ^a	10 ^a
对照组	10	40	30	35	25

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$

表 3 矿物质水经 He-Ne 激光照射前、后理化参数变化比较($\bar{x} \pm s$)

检测时间	黏度(mp)	电导率($\mu s/cm$)	介电常数	pH 值
照射前	10.93 $\pm$ 0.23	132.30 $\pm$ 0.36	12.38 $\pm$ 0.62	7.6 $\pm$ 0.1
照射后	10.53 $\pm$ 0.18 ^a	129.60 $\pm$ 0.52 ^a	76.85 $\pm$ 0.35 ^a	7.2 $\pm$ 0.1 ^a

注: 与照射前比较, ^a $P < 0.05$

讨 论

本研究结果表明, 矿物质水经 He-Ne 激光照射后, 其黏度、电导率、pH 值下降, 介电常数增加, 虽然改变幅度较弱, 但若作用于生命体则能产生显著效应。实验组大鼠经饮用 He-Ne 激光照射矿物质水后, 其红细胞电泳率增加, 血流速度加快, 白细胞黏附、渗出数量减少, 血小板、红细胞黏附聚集功能降低。这种改变以血细胞及内皮细胞尤为显著, 致使白细胞等表面电力活性提高, 细胞间静电斥力增大, 白细胞黏附数量显著减少, 从而释放出 ATP 酶、ADP 酶、组织型纤溶酶原激活剂及血栓调节蛋白等多种表面活性物质, 抑制了内皮细胞的生化吸附, 防止血小板黏附聚集, 提高了机体的抗血栓能力。实验大鼠饮用 He-Ne 激光照射矿物质水后, 还发现能抑制大鼠白细胞及红细胞表面黏附分子的表达, 进一步降低其生化吸附力, 抑制其黏附聚集功能, 从而提高血流速度, 防止血栓形成, 维系血液的正常流动性; 同时本研究结果还发现, He-Ne 激光照射矿物质水能够减轻内毒素对大鼠内皮细胞的损伤作用。

细胞电泳率的大小反映细胞表面所带负电荷密度的高低^[4], 本研究结果显示, 实验组大鼠红细胞电泳率明显高于对照组, 提示其表面负电荷密度明显大于对照组($P < 0.05$), 表明 He-Ne 激光照射矿物质水能够显著增加大鼠红细胞表面负电荷密度, 提高红细胞电泳率^[5]; 同样, 实验组大鼠白细胞与血小板的表面负电荷密度亦明显高于对照组, 致使血细胞间以及血细胞与内皮细胞间的同性静电斥力增大, 从而抑制白细胞黏附聚集功能。这种细胞表面电动力学活性的升高, 可能是 He-Ne 激光照射矿物质水影响细胞黏附功能的重要因素之一。

综上所述, 本研究结果表明, He-Ne 激光照射矿物质水能够提高实验大鼠红细胞电泳率, 增大细胞表面负电荷密度, 具有降低电导率、改变体内电荷分布等功效, 同时还能减轻内毒素对内皮细胞的炎症刺激, 并抑制由此引发的白细胞黏附聚集、

渗出等^[6],加快血流速度,缩小血管内皮间隙,减轻血管出血异常,提示 He-Ne 激光照射矿物质水能影响机体微循环功能,但其确切作用机制还有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 邱红方. 超低频磁场的生物效应和临床应用. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 24: 247-249.
- [2] 田牛, 刘育英, 李向红, 等. 微循环的临床与基础. 北京: 原子能出版社, 1996: 122-142.
- [3] 邱冠英, 彭银祥. 生物物理学. 武汉: 武汉大学出版社, 2000: 228-

230.

- [4] 王长振, 吴可, 丛建波. 电磁辐射的生物学效应及生物医学应用. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25: 49-50.
- [5] 赵南明, 周海梦. 生物物理学. 北京: 高等教育出版社, 2000: 170-176.
- [6] 刘育英, 越秀梅. 不同刺激因素引起血管内白细胞黏附的研究. 中国应用生理学杂志, 2001, 7: 296-298.

(收稿日期: 2007-02-12)

(本文编辑: 易 浩)

电刺激足三里穴对肠缺血再灌注损伤的治疗作用

宋铁山 王欣 楼新法

肠道的缺血再灌注损伤普遍存在于创伤、休克、肠梗阻以及器官移植手术中, 目前认为其损伤机理与超氧自由基的大量产生有重要关系^[1]。早期采用有效措施对减轻肠损伤有重要意义。在临床上, 电针对肠缺血再灌注损伤的恢复的确有疗效, 但对其治疗作用机制的报道较少。为此, 本实验应用还原型尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase, NADPH-d) 组织化学方法和生化检测技术, 分别检测并分析大鼠肠肌间神经丛一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 阳性神经元数目和肠组织一氧化氮 (nitric oxide, NO) 含量及 NOS 活性的变化, 试图从一个侧面为探讨电针治疗肠缺血再灌注损伤的作用机制提供新的思路。

材料与方 法

一、实验动物及分组

健康 Wistar 大鼠 32 只, 体重 200 ~ 250 g, 雌雄不拘, 随机分为正常组、假手术组、缺血再灌注组 (模型组) 和针刺足三里穴组 (电针组), 每组 8 只。所有动物均在通风良好的条件下分笼喂养, 自由摄食和饮水。

二、主要实验试剂与仪器

尼可酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (β -NADPH)、氯化硝基四氮唑蓝 (nitro blue tetrazolium, NBT) 均购于美国 Sigma 公司。G6805-1 型电针治疗仪购于上海医疗仪器六厂。

三、实验模型的制作方法

模型组与电针组参照 Heithan 等^[2]的方法制作肠道缺血再灌注损伤动物模型: 用无损伤动脉夹夹闭肠系膜上动脉起始部, 阻断肠系膜血流 30 min 后, 松开动脉夹恢复肠系膜血流, 实现肠缺血-再灌注。假手术组只行开腹手术而不关闭肠系膜上动脉。

四、电刺激穴位治疗方法

电针组于造模 2 h 后用 G6805-1 型电针治疗仪进行治疗, 选双侧足三里穴, 采用疏密波, 频率为 40 Hz, 刺激强度为 1 ~

2 mA, 以双侧上肢微微颤动为度。足三里穴的定位依据华兴邦^[3]制定的实验动物穴位图谱。治疗每日 1 次, 每次 30 min, 连续治疗 3 d。其余各组不予治疗, 常规喂养。

五、检测方法

1. NO 含量及 NOS 活性的测定: 治疗 3 d 后, 各组分别取 4 只大鼠在戊巴比妥钠腹腔注射麻醉下开腹, 立即取出回肠, 置于冷生理盐水中冲洗, 滤纸拭干。用分析天平称取 0.2 g 肠组织, 放入 5 ml 小烧杯中, 用刻度吸管加入生理盐水, 制成 10% 的组织匀浆, 常温下以 3 500 转/min 离心 15 min, 吸取上清液。采用硝酸还原酶法测定 NO 含量, 采用紫外线分光光度法测定 NOS 活性。

2. 组织化学标本制备: 治疗 3 d 后, 各组剩余的大鼠在戊巴比妥钠腹腔注射麻醉下开胸, 用 300 ml 生理盐水快速灌注冲洗麻醉大鼠左心室, 再用 4% 多聚甲醛 300 ml 进行灌注固定, 固定完毕立即切取距回盲瓣 2 cm 的小肠, 置于冷生理盐水中冲洗, 然后于 4% 多聚甲醛中固定 2 h。按 Costa 等^[4]的方法稍作改进制备肠肌层和黏膜下层的分层铺片标本。

3. NADPH-d 组织化学方法: 参照文献^[5]介绍的方法, 将制备好的标本移入反应液内, 反应液用 0.1 mol/L 的 PBS (pH 值 8.0) 配制, 内含 3 g/L 的 Triton X-100、0.1 g/L 的 NADPH、0.5 g/L 的硝基四氮唑蓝。1 h 后用 0.01 mol/L PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min。常规贴片、脱水、透明, Olympus 显微镜下观察和摄像。

4. 肠肌间神经丛 NOS 阳性神经元的观察: 在光镜下定性观察 NOS 阳性神经元胞体及其染色程度, 计数阳性神经元, 计算每平方毫米 NOS 阳性神经元数。应用 ZL-2000 型细胞分析系统进行染色深度分析, 染色深度用吸光度值表示: 吸光度值 = $\log$ 空白灰度值/标本灰度值。吸光值越大, 表示 NADPH-d 染色越深。

六、统计学分析

数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 10.0 版统计学软件包进行数据处理, 成组设计的两样本均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。