

· 基础研究 ·

半导体激光和高压静电联合治疗对糖尿病大鼠血浆内皮素和微血管损害的影响

高敏 安丽荣 孙阳 吕政 孙淑芳 陈慧娟

【摘要】 目的 探讨半导体激光和高压静电治疗对糖尿病大鼠血浆内皮素和血管损害的影响。**方法** 选择健康雄性 Wistar 大鼠 50 只,取 8 只作为正常对照组(正常组),其余大鼠腹腔注射链脲佐菌素(STZ)建立糖尿病动物模型后,随机分为糖尿病对照组(模型组)、半导体激光治疗组(激光组)、高压静电治疗组(高压静电组)、高压静电和半导体激光联合治疗组(联合组)。各治疗组给予相应的治疗,每日 1 次,10 次为 1 个疗程,治疗 2 个疗程后取各组大鼠静脉血以及心、肾组织标本,检测其血糖、胰岛素、内皮素(ET)并观察组织病理改变。**结果** 模型组大鼠小血管壁增厚,血糖和 ET 水平增高,胰岛素活性下降,与正常组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。激光组、高压静电组和联合组治疗后,ET 水平明显下降,与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$);联合组的胰岛素水平明显高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 以 STZ 诱导的糖尿病大鼠出现血糖、胰岛素和 ET 严重失调,心、肾组织小动脉壁增厚、肾小球水肿以及系膜细胞增生。半导体激光和高压静电治疗对糖代谢紊乱所致的血浆 ET 水平增高和微小血管损害具有预防治疗作用。

【关键词】 糖尿病; 半导体激光; 高压静电; 内皮素

The effects of semiconductor laser irradiation and a high voltage static electric field on small vessel impairment in diabetic rats GAO Min*, AN Li-rong, SUN Yang, LV Zheng, SUN Shu-fang, CHEN Hui-juan. * Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

【Abstract】 Objective To study the effects of semiconductor laser irradiation and high voltage static electric fields on small vessel damage in diabetic rats. **Methods** Fifty healthy male Wistar rats were randomly divided into two groups: 8 rats in a normal group and 42 in a diabetic model group. The diabetic models were created by intraperitoneal injection of streptozocin. The diabetic model rats were randomly divided into four subgroups: a diabetes group, a semiconductor laser treatment group, a high voltage static electric field treatment group and a comprehensive treatment group receiving combined semiconductor laser and high voltage static electric field exposure. The rats in each treatment group were subjected to the corresponding intervention. After 20 days of treatment, the venous blood, kidney tissue and myocardium tissue of the rats were collected, and the concentrations of blood glucose, insulin, endothelin and tissue were detected. **Results** Compared with the normal group, a significant increase in blood glucose and endothelin was observed in the diabetic model group, along with significantly decreased blood insulin and significant small vessel endothelium proliferation in the kidney tissue. Compared with the diabetes group, endothelin levels were significantly lower in all 3 treatment groups, and blood insulin was also higher in the comprehensive treatment group. **Conclusion** There were severe abnormalities in blood glucose, insulin and endothelin as well as mild impairment of small vessel endothelium proliferation in the diabetic rats. Semiconductor laser and high voltage static electric field exposure have a role in treating and preventing these conditions in diabetic rats.

【Key words】 Diabetes; Semiconductor lasers; High voltage static electric fields; Endothelin

微血管病变是糖尿病的特征性病理改变,是由于胰岛素分泌绝对或相对不足所导致的糖代谢紊乱引起的全身血管广泛损害,会相继产生多器官系统的并发症。目前治疗糖尿病的药物很多,但由于药物有一定的局限性和副作用,临床医生希望能找到

更安全、有效的治疗方法。有文献报道^[1,2],低功率氦-氖激光血管内照射治疗能够改善血液流变学,促进微循环及细胞的新陈代谢,抗自由基和脂质过氧化,可改善血管内皮损伤,促进胰岛细胞功能,增加内源性胰岛素的分泌,对糖尿病微血管病变有治疗作用,对缺血性心脑血管病的发生有预防作用,但该疗法目前已禁止在临床应用。本研究采用半导体激光心外照射循环血液的治疗方法,目前鲜见报道。电刺激有改善全身血液循环,增强细胞新陈代谢,改善胰岛细胞功能的作用^[3]。我们应用半导体激光、

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(D0252)

作者单位:150001 哈尔滨,哈尔滨医科大学附属第一医院康复医学科(高敏、孙阳、吕政、陈慧娟),核医学科(孙淑芳);哈尔滨医科大学基础医学院解剖教研室(安丽荣)

高压静电对糖尿病模型大鼠进行全身治疗,观察其血糖、胰岛素、内皮素 (endothelin, ET) 水平和组织病理学改变,来探讨半导体激光及高压静电对糖尿病大鼠血浆内皮素和微小血管病变的影响。

材料与方法

一、实验动物

选择健康雄性 Wistar 大鼠 50 只,体重 180 ~ 230 g,鼠龄 2 ~ 3 个月,由哈尔滨医科大学临床第一医院实验动物中心提供。

二、试剂及仪器

试剂:链脲佐菌素 (streptozocin, STZ) 购自 Sigma 公司,胰岛素放免分析药盒购自中国北方免疫试剂研究所,ET 放免分析药盒购自中国人民解放军总医院科技开发中心放免研究所。仪器:美国产 One Touch II 血糖仪,北京产 FT-613 自动计数 I125 放免测量仪,日本产 Hitachi 20PR-520 型高速冷冻离心机,上海产半导体激光治疗仪,长春产高压电位治疗仪。

三、动物分组及造模

随机取 8 只大鼠以枸橼酸缓冲液行腹腔注射,作为正常对照组 (正常组)。其余 42 只大鼠禁食 (自由饮水) 12 h 后,腹腔注射 STZ (使用前溶于 0.1 mmol/L 枸橼酸缓冲液, pH 值 3.4) 10 mg/kg 体重;注射后恢复自由饮食,5 ~ 7 d 后禁食 12 h 后,第 2 次腹腔注射 STZ,剂量为 50 mg/kg 体重。第 2 次腹腔注射 72 h 后剪鼠尾取血检测血糖,如随机血糖 ≥ 16.6 mmol/L 并出现多饮症状,即表示糖尿病大鼠模型建立成功^[4,5]。

有 2 只造模大鼠血糖不符标准,被弃去。将其余 40 只成模大鼠随机分为糖尿病对照组 (模型组)、半导体激光治疗组 (激光组)、高压静电治疗组 (高压静电组)、高压静电和半导体激光联合治疗组 (联合组),每组 10 只。

四、治疗方法

激光组大鼠心前区剪毛,乙醚吸入麻醉后,应用 CaAlAs 半导体激光心前区照射,波长为 830 nm,光斑直径为 2 ~ 3 cm,功率为 30 mW,每次照射 8 min,每日 1 次。高压静电组应用高压电位治疗仪,输出电压为 10 000 V,频率为 50 Hz,将大鼠装在塑料笼中,置于高压电场下,每次作用 20 min,每日 1 次。治疗 10 次为 1 个疗程,1 个疗程后休息 7 d,再进行下个疗程的治疗。联合组先给予半导体激光心前区照射 (方法同激光组),然后给予高压静电治疗 (方法同高压静电组)。正常组、模型组不给予任何治疗。实验期间各组大鼠自由进食和饮水,2 个疗程治疗结束后取血并观察病理组织标本。

五、检测指标及方法

1. 血糖的测定:成模前、后和治疗结束后,常规消毒大鼠,剪鼠尾取血,采用美国强生 One Touch II 血糖仪测血糖。

2. 胰岛素和 ET 的测定:采用放射免疫法测定。以 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 体重腹腔注射麻醉大鼠,检测胰岛素时用空试管取 1 ~ 1.2 ml 血,室温下静置 1 h,吸取血清测量胰岛素含量;检测 ET 时于试管内加入 EDTA 和抑肽酶,静置 1 h,离心后吸取血浆测量 ET 含量。

3. 病理组织观察:以 1% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 体重腹腔注射麻醉大鼠,打开胸腔暴露心脏取血,然后取双肾和去包膜心脏,用 10% 福尔马林固定,石蜡切片,作 H-E 染色。

六、统计学分析

应用 SPSS 10.0 版软件进行统计学分析,所有数据均表示为 ($\bar{x} \pm s$),2 组之间比较采用 t 检验,多组之间两两比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、实验动物数量

模型组死亡 2 只,可能是由于血糖过高,3 个治疗组在实验过程中共死亡 11 只,其中乙醚麻醉过量死亡 5 只,另外 6 只死因不能确定。

二、各组血糖、胰岛素和 ET 水平的变化

模型组大鼠的体重以及胰岛素、血糖和 ET 水平与正常组相比,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。与模型组相比,激光组、高压静电组和联合组 ET 水平均显著降低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);联合组胰岛素水平明显提高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组体重以及血糖、胰岛素和 ET 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	体重 (g)	血糖 (mmol/L)	胰岛素 (μ U/ml)	ET (pg/ml)
正常组	8	348.5 $\pm$ 25.2	5.62 $\pm$ 0.62	32.34 $\pm$ 7.09	61.95 $\pm$ 8.72
模型组	8	176.3 $\pm$ 20.1 ^a	21.4 $\pm$ 4.63 ^a	6.96 $\pm$ 1.51 ^a	118.88 $\pm$ 19.96 ^a
激光组	6	189.2 $\pm$ 26.0	20.1 $\pm$ 4.71	8.02 $\pm$ 1.32	70.62 $\pm$ 6.45 ^b
高压静电组	7	180.2 $\pm$ 13.7	21.2 $\pm$ 4.77	7.01 $\pm$ 2.34	62.24 $\pm$ 8.51 ^b
联合组	6	201.2 $\pm$ 23.8	16.8 $\pm$ 3.93	14.60 $\pm$ 3.17 ^b	70.25 $\pm$ 7.44 ^b

注:与正常组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$

三、各组实验动物的病理改变

模型组大鼠的心、肾组织小动脉壁增厚,肾小球局灶性毛细血管壁增厚,嗜伊红深染。激光组、高压静电组和联合组肾小球毛细血管壁和小动脉壁无明显病理改变;心肌细胞和小血管壁未见明显病理改变。

讨 论

糖尿病患者糖代谢紊乱,引起脂代谢和血小板功能异常以及血液流变学改变,造成血液循环障碍、组织缺氧及血栓素等增加,导致血管内皮损伤、微血管病变及内皮细胞功能异常,从而促进 ET 合成及释放^[6]。ET 是糖尿病血管病变的始动和关键因素^[7],能通过促进血管收缩、内皮细胞增殖等机制参与糖尿病血管病变的进展^[8],从而加重内皮细胞损伤,形成恶性循环。血糖增高,ET 水平也随之升高,提示 ET 水平在一定程度上可反映内皮细胞损伤的程度,可作为糖尿病并发症早期诊断的敏感指标之一^[9]。本实验研究发现,模型组 ET 水平明显高于正常组;模型组心、肾病理组织观察显示,小动脉壁增厚,肾小球间质水肿,系膜细胞增生,这也证实了 ET 水平与血管损害的相关性。

研究还显示,激光组、高压静电组及联合组的 ET 水平无明显增高,考虑可能是由于激光照射可活化血液中红细胞,提高红细胞的变形能力和携氧能力,使红细胞表面的负电荷恢复正常,聚集的红细胞与血小板分散开,从而降低血黏度;高压电也有改善血液循环,增强细胞的新陈代谢,调整人体内分泌的作用。因此,半导体激光、高压静电产生的生物效应可能阻断 ET 水平增高产生的恶性循环,防止继发性血管内皮损害,从而进一步阻止 ET 的释放。同时,3 个治疗组的病理组织结果显示,肾小球毛细血管壁和小动脉壁增厚不明显。由此看来,心外应用半导体激光照射和高压低频静电能防止血管内皮细胞损害,减少 ET 的释放,从而有效地预防糖尿病血管病变。

此外,低能激光量子还可激活血液中的多种代谢酶,包括糖代谢过程中及线粒体呼吸链上的重要酶类,改善微循环,加速内皮细胞、胰岛细胞的能量代谢过程,促进内源性胰岛素的分泌,促使糖利用,使 ATP 产生增加,下调缩血管活性物质,上调舒血管活性物质,减弱蛋白质糖基化反应^[9];还可消融、分解血液中的多余脂肪,提高血氧含量,加速自由基清除,干扰脂质

过氧化代谢过程,降低血脂,从而对糖尿病血管病变发挥治疗作用^[8]。本研究还发现,激光组 and 高压静电组的胰岛素水平均有一定程度的提高,但差异无统计学意义,而联合组的胰岛素水平明显升高($P < 0.05$)。这提示联合应用半导体激光和高压静电可起到叠加作用,能进一步改善胰岛的功能,增加内源性胰岛素的释放,对糖尿病大鼠的治疗作用更显著。

本实验在糖尿病大鼠模型建立后较早介入治疗,发现治疗后的大鼠病理损害受到抑制,但并未观察产生血管病变后,半导体激光和高压静电是否对损伤的血管内皮存在修复作用,及其能否逆转和延缓糖尿病血管病变的病理过程,这对糖尿病的并发症临床治疗有重要的意义,还有待于我们进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 董为人,王铁丹,王东海,等.低能量氮-氛激光血管内照射对血液流变学性质影响的实验研究.激光杂志,1992,13:100-101.
- [2] 王铁丹,董为人,肖应庆,等.低能量氮-氛激光照射体外循环血液对 IDDM 患者红细胞膜 ATPase 活性的影响.激光杂志,1992,13:324.
- [3] Bourguignon GJ, Jy W, Bourguignon LY. Electric stimulation of human fibroblasts causes an increase in Ca^{2+} influx and exposure of additional insulin receptors. J Cell Physiol, 1989, 140:379-385.
- [4] 艾静,王宁,杜杰,等. Wistar 大鼠 2 型糖尿病动物模型的建立.中国药理学通报,2004,20:1309-1312.
- [5] 李聪然,游雪甫,蒋建东,等.糖尿病动物模型及研究进展.中国比较医学杂志,2005,15:59-62.
- [6] 徐淑华,孙术红,于华,等.糖尿病肾病患者血浆内皮素含量的变化和临床意义.标记免疫分析与临床,2002,9:142-143.
- [7] Perico N, Revnuzzi G. Role of endothelin in glomerular injury. Kidney Int, 1993, 43:76-80.
- [8] 林凡.内皮素在糖尿病肾病中的作用研究.国外医学泌尿系统分册,2001,21:32-35.
- [9] Schrijvers BF, De Vriese AS, Flyvbjerg A. From hyperglycemia to diabetic kidney disease: the role of metabolic, hemodynamic, intracellular factors and growth factors/cytokines. Endocr Rev, 2004, 25: 971-1010.

(修回日期:2006-10-12)

(本文编辑:吴倩)

本期广告目次

北京普康科健医疗设备有限公司	封二
常州市建本医疗康复器材有限公司	前插页 1
北京奔奥新技术有限公司	288a
北京得信领先科贸有限公司	288b
兰州生物技术开发有限公司	封三
北京三捷欧技医疗器械有限公司	封底