

· 基础研究 ·

紫外线照射充氧自血回输对梭曼中毒家兔氧自由基代谢的影响

张献清 张晓迪 穆士杰 梁欣 夏爱军 海春旭

【摘要】目的 探讨紫外线照射充氧自血回输(UBIO)对家兔急性梭曼中毒后氧自由基代谢的影响。**方法** 将家兔 100 只随机分为 5 组,即正常对照组、中毒组、常规治疗组、UBIO 治疗组及复合治疗组,每组 20 只。各组家兔于 14 d 后检测血清中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及过氧化氢酶(CAT)活性。**结果** 与正常对照组相比,家兔梭曼中毒后,中毒组血清 MDA 含量及 CAT 活性明显升高($P < 0.01$),SOD、GSH-Px 活性明显降低($P < 0.05$)。但经 UBIO 或复合治疗后,与中毒组比较,UBIO 组及复合治疗组血清 MDA 含量明显降低($P < 0.01$),SOD、GSH-Px 及 CAT 活性明显升高($P < 0.05$)。**结论** 家兔梭曼急性中毒后可伴有明显的氧自由基损伤,UBIO 能明显提高机体抗氧化损伤能力,可以应用于梭曼急性中毒的治疗。

【关键词】 紫外线照射充氧自血回输; 梭曼; 中毒; 氧自由基

The influence of ultraviolet blood irradiation and oxygenation on oxygen free radical metabolism in rabbits with soman intoxication ZHANG Xian-qing*, ZHANG Xiao-di, MU Shi-jie, LIANG Xing, XIA Ai-jun, HAI Chun-xu.
* Department of Blood Transfusion, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of ultraviolet blood irradiation and oxygenation(UBIO) on the metabolism of oxygen free radicals in rabbits with acute soman intoxication. **Methods** One hundred rabbits were randomly divided into five groups: a control group, intoxication group, routine therapy group, UBIO therapy group and complex therapy group, and treated accordingly. After 14d, the concentration of malondialdehyde(MDA) and the activity of superoxide dismutase(SOD), glutathionperoxidase(GSH-Px) and catalase(CAT) in their blood serum were determined. **Results** The concentration of MDA and the activity of CAT in the intoxication group were significantly higher than in the controls, and the SOD and GSH-Px activities were significantly lower. After UBIO or complex therapy, serum MDA level was significantly lower than in the intoxication group, but the concentrations of SOD, GSH-Px and CAT were significantly higher. **Conclusions** Acute soman intoxication is associated with a significant increase in oxygen free radical injury in rabbits. UBIO therapy can improve antioxidant activity and can be used to treat acute soman intoxication.

【Key words】 Ultraviolet blood irradiation; Blood oxygenation; Soman; Intoxication; Oxygen free radicals

梭曼属有机磷酸脂类化合物,具有毒性强、作用快及中毒难防难治等特点。作为神经性毒剂的主要代表,是外军装备的主要化学战剂。梭曼中毒后除主要抑制乙酸胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)活性外,还可以造成细胞脂质过氧化损伤及肺损伤^[1,2],因此寻找新的治疗药物或治疗手段是目前研究的重点。我们曾将紫外线照射充氧自血回输(ultraviolet blood irradiation and oxygenation, UBIO)应用于梭曼急性中毒的治疗,效果良好^[3]。本研究拟通过观察 UBIO 对梭曼中毒后的自由基代谢的影响,探讨其可能的作用机制。

材料与方法

一、材料

1. 实验动物及分组:健康家兔 100 只,雌雄各半,

体重为 2.0 ~ 2.3 kg,平均(2.1 ± 0.1)kg,由第四军医大学动物中心提供,经适应性喂养 3 d 后使用。将 100 只家兔随机分为 5 组,即正常对照组、中毒组、常规治疗组、UBIO 治疗组及复合治疗组,每组 20 只。

2. 试剂及仪器:梭曼(由军事医学科学院提供);丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)及过氧化氢酶(catalase, CAT)测定试剂盒(均由南京建成生物工程研究所提供);XZY-IV 型血液治疗仪(第四军医大学西京医院临床输血研究中心研制)。

二、方法

1. 梭曼中毒模型的制备:正常对照组于股部肌肉注射生理盐水 2 ml,其余各组于股部肌肉注射 0.8 LD₅₀ 梭曼(10.26 μg/kg 体重)。

2. 实验方法:在注射 3 min 后,正常对照组及中毒组于另一侧股部肌肉注射生理盐水 2 ml,常规治疗组

作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院输血科(张献清、穆士杰、夏爱军);第四军医大学毒理学教研室(张晓迪、梁欣、海春旭)

于另一侧股部肌肉注射复合解毒剂(苯那辛 5 mg/kg 体重,阿托品 5 mg/kg 体重,氯磷定 20 mg/kg 体重);UBIO 治疗组在染毒后 3 min,在兔耳缘静脉取血 20 ml,抗凝,置于改制的一次性照血袋中(紫外线透过率 >80%),充氧,以 1.5 J/cm² 紫外线($\lambda_{\max}$ = 350 nm)照射,然后快速回输,以后每隔 1 d 治疗 1 次;复合治疗组于染毒后 3 min 于另一侧股部肌肉注射复合解毒剂(同常规治疗组),同时行 UBIO 治疗(同 UBIO 治疗组)。各组均观察 14 d,记录动物存活情况,并检测血清 MDA、SOD、GSH-Px 及 CAT 水平。

三、统计学分析

所有实验数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 10.0 版统计软件对计数资料采用卡方检验,计量资料进行方差分析,组内均数比较采用 LSD 法。

结 果

一、各组动物存活率的比较

中毒组家兔在 72 h 内存活 8 只,存活率为 40.0%;常规治疗组存活 12 只,存活率为 60%;UBIO 治疗组存活 12 只,存活率为 60%,而正常对照组及复合治疗组的动物存活率为 100%。在 72 h 后各组均无动物死亡。复合治疗组与中毒组、常规治疗组及 UBIO 治疗组比较, χ^2 值分别为 13.11,5.99 和 13.11, $P < 0.01$ 。

二、血清 SOD、GSH-Px、CAT 及 MDA 的变化

各组家兔于 14 d 后采血检测的血清 SOD、GSH-Px、CAT 及 MDA 水平见表 1。从表 1 数据可以看出,各组家兔血清 MDA 水平差异有统计学意义($F = 6.51$, $P < 0.01$)。进一步应用 LSD 法作均数比较发现,梭曼中毒后,血清 MDA 水平明显高于正常对照组($P < 0.01$),而经常规治疗、UBIO 治疗及复合治疗后,MDA 水平显著降低($P < 0.01$)。家兔梭曼中毒后,各组间血清 GSH-Px 与 SOD 水平差异有统计学意义(F 值分别为 3.84,2.87, $P < 0.05$),进一步分析表明,中毒组 SOD、GSH-Px 水平明显低于正常对照组($P < 0.05$),而 UBIO 治疗及复合治疗组,其水平均明显高于中毒组($P < 0.05$)。各组间血清 CAT 水平差异有统计学意义($F = 7.76$, $P < 0.01$)。家兔梭曼中毒后

CAT 活性明显高于正常对照组($P < 0.01$),在 UBIO 治疗或复合治疗组中,其水平进一步升高,与中毒组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

讨 论

梭曼作为神经性毒剂,主要抑制体内的乙酰胆碱酯酶,使乙酰胆碱在体内过量蓄积,从而引起中枢和外周胆碱系统功能紊乱。同时,梭曼中毒引起呼吸肌麻痹,造成氧代谢障碍,因而推测会产生活性氧,以至于诱发自由基的生成^[4]。自由基及其引发的脂质过氧化物可以破坏细胞线粒体、微粒体和溶酶体等生物膜结构,使膜肿胀、融合,甚至细胞死亡,继而使这些部位或全血中酶的活性改变。

机体有一套完整的抗氧化防御体系,能够防止自由基链式反应的氧化损伤,这些抗氧化物有酶类和非酶类等。其中 SOD 是以超自由基为底物的金属蛋白酶,SOD 活性越高则清除超氧自由基及抗氧化能力越强;GSH-Px 是一种重要的催化过氧化物分解的酶类,它能催化过氧化氢和脂质过氧化物的还原;CAT 是一种 SOD 清除超氧自由基阴离子自由基链式反应的下游酶,与 GSH-Px 一样,其主要功能是将 SOD 催化生成的 H₂O₂,以进一步催化生成 H₂O,从而起到彻底清除自由基的作用。而 MDA 是脂质过氧化物的终产物之一,是反映脂质过氧化的敏感指标,因此,MDA 含量的高低可以反映机体自由基损伤的程度。

家兔梭曼中毒后,血清中 MDA 水平升高,SOD 及 GSH-Px 水平降低,提示梭曼中毒可导致机体抗氧化能力下降,自由基损伤加剧。这与文献[5]结论一致。但是梭曼中毒后,体内 CAT 活性会有显著升高,其可能原因:一是 CAT 能催化水解梭曼^[6],当梭曼进入机体后,机体应激性产生 CAT 以清除梭曼;二是梭曼诱导机体的脂质过氧化损伤,从而应激性产生大量的 CAT 以清除自由基。

本研究结果显示,经复合治疗后,动物生存率明显升高,经 UBIO 或复合治疗后,家兔血清中 MDA 含量明显降低,而 SOD、GSH-Px 与 CAT 水平均明显升高,提示 UBIO 治疗或辅助治疗能明显减少自由基的产生,从而减轻梭曼的脂质过氧化损伤。由于 UBIO 不仅能提高机体抗氧化损伤的能力^[7],调节自由基的平衡,还能增加血氧饱和度,改善组织缺氧及微循环,加之其操作方便、安全,因此,UBIO 可望成为梭曼中毒治疗或辅助治疗手段,但仍需对其机制作进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 Jacobsson SO, Cassel GE, Persson SA. Increased levels of nitrogen oxides and lipid peroxidation in the rat brain after soman-induced seizures. Arch Toxicol, 1999, 73:269-273.
- 2 赵吉庆,魏相德,吕宏宇,等.模拟高原梭曼中毒肺损伤的酶学分析.

表 1 各组家兔血清 MDA、SOD、GSH-Px 及 CAT 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	MDA (nmol/ml)	SOD (U/ml)	GSH-Px (U/ml)	CAT (U/ml)
正常对照组	20	0.08 ± 0.02	233.2 ± 24.4	261.1 ± 53.4	4.6 ± 3.3
中毒组	8	0.11 ± 0.01 *	187.6 ± 50.1 Δ	198.0 ± 71.0 Δ	7.2 ± 2.1 *
常规治疗组	12	0.08 ± 0.01	216.5 ± 21.0	217.5 ± 56.2	7.7 ± 1.3
UBIO 治疗组	12	0.08 ± 0.01 #	229.0 ± 40.7 ☆	257.1 ± 45.1 ☆	8.8 ± 1.3 ☆
复合治疗组	20	0.08 ± 0.01 #	230.0 ± 24.7 ☆	258.6 ± 37.8 ☆	8.7 ± 1.3 ☆

注:与正常对照组相比较,* $P < 0.01$, $\Delta P < 0.05$;与中毒组比较, $\#P < 0.01$, $\star P < 0.05$

- 解放军预防医学杂志,1997,15:403-405.
- 3 张献清,穆士杰,赵康海,等. 紫外线照射自血回输疗法对梭曼染毒家兔全血胆碱脂酶活性的影响. 西北国防医学杂志,2005,26:32-33.
 - 4 李文丽,梁欣,海春旭,等. 补充硒和锌对梭曼中毒大鼠抗氧化酶活性的影响. 中华劳动卫生职业病杂志,2002,20:150-150.
 - 5 杨兴斌,蒋宁,杨会宣,等. 梭曼中毒大鼠脂质过氧化损伤及抗氧化剂的作用. 卫生毒理学杂志,2003,17:17-19.

- 6 刘昌玲. 过氧化氢酶对梭曼水解的催化作用. 中国药理与毒理学杂志,1994,8:122-124.
- 7 季建梅,李金星,公衍文. 紫外线照射充氧自血回输治疗脓毒性穿掘性毛囊炎机制探讨. 中华理疗杂志,1997,20:44-46.

(修回日期:2005-09-13)

(本文编辑:松 明)

· 短篇论著 ·

半导体激光联合牵引治疗椎动脉型颈椎病的临床观察

郑明莹 潘良国

椎动脉型颈椎病是颈椎病的常见类型之一,患者临床表现主要包括颈性眩晕,可有猝倒史,旋颈试验阳性,当病情严重时影响正常工作及生活。我科采用半导体激光联合颈椎牵引治疗椎动脉型颈椎病,临床疗效满意。现报道如下。

一、资料与方法

共选取椎动脉型颈椎病患者 142 例,所有患者均符合第二届颈椎病专题座谈会中制定的关于椎动脉型颈椎病的诊断标准^[1]。按随机数字法将上述患者分为 2 组。治疗组有患者 72 例,其中男 40 例,女 32 例,年龄 35~67 岁,平均(51.21±9.2)岁,病程 5~30 d,平均(17.04±5.82)d;对照组有患者 70 例,其中男 41 例,女 29 例,年龄 36~65 岁,平均(50.32±10.5)岁,病程 6~24 d,平均(16.37±4.79)d。2 组患者一般情况经统计学分析,差异均无统计学意义,具有可比性。

治疗组先采用半导体激光治疗,随后行颈椎牵引。半导体激光治疗仪选用福建师范大学激光研究所生产的 FGZ-8 型半导体激光治疗仪,激光波长为 650 nm,功率为 50 nW。将激光照射头垂直于风池穴进行照射,调节光斑直径至 10 mm,患者两侧风池各照射 10 min,每日治疗 1 次。行颈椎牵引时,患者取坐位戴枕颌带,牵引角度为颈前屈 15~30°,牵引力为 3~5 kg,每次牵引 30 min,每日牵引 1 次。

对照组先采用调制中频电治疗,随后进行颈椎牵引。调制中频电疗采用 K8832-T 型治疗仪,设置中频频率为 2 kHz,低频频率为 0.5~150.0 Hz,调制波形包括方波、指数波等,使几种不同的刺激有节律地交替出现。将 2 个 6 cm×10 cm 电极板于患者后颈部并置,电流输出量以患者耐受为限,每次治疗 20 min;颈椎牵引方法同治疗组。上述治疗 2 组患者均为每天 1 次,连续治疗 12 次为 1 个疗程,每疗程中间休息 5 d,共治疗 2 个疗程。

参照国家中医药管理局颁布的《中医病症诊断疗效标准》^[2]进行疗效评定,治愈:患者眩晕等症状消失,恢复正常工作及生活,随访半年无复发;好转:眩晕等症状明显减轻,不影响工作及生活,随访期间偶有加重,经治疗后减轻;无效:眩晕等症状无明显改善或稍减轻,相关临床症状反复,严重影响工作及生活。

2 组患者总有效率比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

二、结果

2 组患者分别经 2 个疗程治疗后,其疗效比较详见表 1,表 1 数据显示,治疗组总有效率为 95.83%,对照组总有效率为 77.14%,经 χ^2 检验,差异具有统计学意义($P<0.01$),即半导体激光治疗组疗效明显优于对照组。

表 1 2 组患者治疗后疗效比较(例)

组别	例数	治愈	好转	无效	总有效率(%)
治疗组	72	41	28	3	95.83*
对照组	70	15	39	16	77.14

注:与对照组比较,* $P<0.05$

三、讨论

在本研究中,治疗组患者所使用的半导体激光波长为 650 nm,功率为 50 nW,属于弱激光范畴。有大量研究表明,弱激光刺激能扩张机体血管,加快血液循环及淋巴静脉回流^[3-5]。流动血液被激光刺激后,能提高红细胞变形能力及携氧能力,增强细胞膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性,降低全血粘度,改善血液流变学特征及微循环状况,使细胞代谢功能及 SOD 活性加强,从而改善大脑缺血、缺氧状况,并且半导体激光照射对局部肌腱、韧带等软组织损伤具有良好的消炎、消肿、止痛及改善肌肉痉挛等功效^[6,7],从而使患者的神经受压症状得以显著缓解。

本研究治疗组采用半导体激光照射风池穴位是将新型激光疗法与传统中医脏腑经络理论相结合,利用激光的热、光化学、电磁效应直接刺激人体穴位,从而达到治疗功效。颈椎牵引有助于恢复颈椎正常生理曲线,增大椎间隙宽度及椎间孔范围,牵伸被嵌顿的小关节囊,调整小关节错位,并使扭曲于横突孔间的椎动脉得以伸展,而且还能缓解颈部肌肉紧张,纠正颈椎失稳,使患者椎-基底动脉供血得到进一步改善,以促进眩晕等症状消除。

综上所述,半导体激光联合颈椎牵引治疗椎动脉型颈椎病见效快,患者一般经治疗 3~5 次后头晕症状即明显减轻,而且该疗法操作简单、安全可靠,值得临床推广、应用。

参 考 文 献

- 1 孙宇,陈琪. 第二届颈椎病专题座谈会纪要. 中华外科杂志,1993,31:472-476.
- 2 国家中医药管理局. 中医病症诊断疗效标准. 南京:南京大学出版社,1994. 186-187.
- 3 王彤,王红星,厉苏苏,等. 氦氖激光对脑细胞损伤的实验研究. 中华物理医学与康复杂志,2002,24:222-224.
- 4 苏明秋. 镱铝神激光照射对缺血性脑病患者 TCD、BEAM、血液流变学的影响. 中华物理医学与康复杂志,2002,24:432-433.
- 5 肖学光,董少红,倪家鹤,等. 氦氖激光血管内照射对老年脑梗塞患者泌乳素、超氧化物歧化酶及丙二醇的影响. 中华理疗杂志,1998,20:293-294.
- 6 张梅,潘凤凤. 半导体激光治疗棘间韧带损伤疗效分析. 中华物理医学与康复杂志,2002,24:431.
- 7 周彬,曹颖光,袁艳祥,等. 半导体激光穴位照射防治固定义齿修复期颞下颌关节紊乱的临床观察. 中华物理医学与康复杂志,2002,24:431.

(修回日期:2006-02-08)

(本文编辑:易 浩)