

· 基础研究 ·

低强度激光血管外照射对实验兔主动脉粥样硬化病理过程的影响

徐世全 张建中 刘瑛琪 景青萍

【摘要】目的 研究低强度激光(选用激光的波长为 650 nm、强度为 5 mW)血管外照射对兔实验性主动脉粥样硬化病理过程的影响。**方法** 共选取雄性新西兰大白兔 36 只,经先期基础喂养 1 周后给予高脂饮食;然后将其随机分为照射组(给予激光血管外照射)、药物组(给予辛伐他汀治疗)、综合组(给予激光及药物治疗)及对照组。各组动物于第 60 天实验结束时抽血行血脂测定;于第 61 天将其处死,每只动物均切取主动脉组织进行大体及镜下观察,并将各组实验动物动脉粥样硬化程度按正常、轻、中、重度进行评定。**结果** 实验开始前,4 组实验兔血脂水平间差异无统计学意义($P > 0.05$);分别经高脂饲料喂养 60 d 后,照射组、药物组及综合组 TG、LDL-C 含量与对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);照射组、综合组 HDL-C 含量与对照组比较,差异亦有统计学意义($P < 0.01$);另外还发现,实验兔主动脉粥样硬化的病理学改变与其血脂变化程度相对应;各治疗组实验动物动脉粥样硬化程度均以轻度为主,而对照组则以中、重度为主,综合组均为轻度改变,如照射组与药物组中度改变只有 1 只,对照组不但有 1 只为重度改变,另还有 3 只为中度改变。**结论** 本研究结果表明,无论是单独给予低强度激光照射或他汀类药物联合治疗,对防治血脂异常所致的动脉粥样硬化均有一定疗效,其中以两者联用效果较佳。

【关键词】 低强度激光; 血管外照射; 血脂; 主动脉粥样硬化

Effects of low-intensity laser irradiation on aortic atherosclerosis in rabbits XU Shi-Quan*, ZHANG Jian-Zhong, LIU Ying-Qi, JING Qing-Ping. * Department of Cardiology and Pathology, 306th PLA Hospital, Beijing 100101, China

【Abstract】 Objective To observe the effects of low-intensity (650 nm, 5 mW) laser irradiation on the pathological changes associated with aortic atherosclerosis using a rabbit model. **Methods** Thirty-six male Zelanian rabbits were randomly divided into 4 equal groups: a control group, a laser irradiation group, a simvastatin treatment group and a laser plus simvastatin group, and were treated accordingly. After being fed the basic diet for a week, all the animals were fed a high fat diet during the experiment. Blood samples were taken for lipid assay at the 60th day. The animals were sacrificed at the 61st day and their aortas removed for gross and microscopic examination. Any pathological changes were graded as mild, intermediate or severe according to the indicators of atherosclerosis observed. **Results** There were no significant differences in blood fat levels among the four groups before the experiment, but significant differences in serum triglyceride prevailed after the treatments. Low-density lipoprotein (LDL)-C level in the control group was significantly higher than those in the laser irradiation, simvastatin treatment and laser plus simvastatin groups. There was also a very significant difference in high-density lipoprotein (HDL)-C levels among the laser irradiation group, the laser plus simvastatin group and the control group. The pathological changes observed were correlated with blood fat levels. Mild atherosclerosis was found in the treated groups, but severe or intermediate atherosclerosis was more prevalent in the control group. **Conclusion** Low-intensity laser irradiation alone or combined with simvastatin can significantly decrease blood lipid levels and the severity of pathological changes associated with aortic atherosclerosis in this animal model.

【Key words】 Low-intensity laser; Extra-vascular irradiation; Blood lipids; Atherosclerosis

相关研究发现,低强度激光照射具有调节血脂的功效^[1-6],并且已经引起人们的高度重视,但其在动脉粥样硬化防治中的意义及作用机制目前尚不明。本研究观察了波长为 650 nm、强度为 5 mW 的低强度激

光对兔实验性主动脉粥样硬化过程的影响,并同时进行了低强度激光及辛伐他汀治疗血脂异常家兔的疗效对照研究。现报道如下。

材料与方法

一、实验动物

共选取雄性新西兰大白兔(由北京 301 医院动物

作者单位:100101 北京,中国人民解放军第 306 医院心内科(徐世全、刘瑛琪),病理科(张建中、景青萍)

实验室提供)36 只,每只体重约 1.5 kg,所有实验动物均单笼饲养,饮水不限,经基础喂养 1 周后开始实验。

二、分组及处理

将上述 36 只实验兔随机分为 4 组,每组各 9 只。为模拟临床患者进食高脂饮食的不良生活习性,各组实验兔均每日给予高脂饲料 150 g(由北京科奥协力饲料有限公司提供配方:1%胆固醇、8%精油、7.25%蛋黄粉、83.75%普通颗粒饲料)。

各组实验兔在上述高脂饮食条件下,还同时给予相应干预措施。第一组(又称照射组)实验兔每天给予铝镓铟磷半导体激光照射,激光器型号为 GX-2000A 型,将两激光导管伸入实验兔双耳腔内行血管外照射,激光照射时间为 15 min;第二组(又称药物组)动物给予辛伐他汀(舒降脂,默沙东制药有限公司提供)治疗,每日 10 mg,将药物研成粉末状后溶于生理盐水,再用特制注射器将其注入动物嘴中;第三组(又称综合组)实验兔同时给予激光照射及辛伐他汀治疗,激光及药物使用方法同上;第四组(又称对照组)实验兔不给予任何特殊处理。本研究观察时间为 60 d,各组动物于第 60 天禁食 12 h 后抽取静脉血行血脂测定,其中对照组动物于实验第 2 天时死亡 1 只,及时补充 1 只兔子仍保持总数为 9 只;照射组在第 28 天、药物组在第 21 天、综合组在第 42 天各有 1 只实验兔死亡,主要原因均为拒吃饲料,由于此时实验进程已过半,故未再补充。

三、观察指标检测

各组动物于实验进行到第 60 天时抽血行血脂水平测定,血清总胆固醇(TC)测定选用酶法(CHOD-PAP 法),甘油三酯(TG)测定选用酶法(GPD-PAP 法),高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)测定选用免疫抑制一步法(Cho-CD-DPA),均为液体双试剂,应用日立 7076 型全自动生化分析仪检测。

当实验进行到第 61 天时,将所有动物用空气栓塞法处死。每只动物均切取主动脉(包括主动脉弓、胸主动脉及腹主动脉各一段)、心、肝、肺、肾组织,经 10% 福尔马林液固定、石蜡包埋切片(切片厚约 4 μm)后置于光镜下观察(HE 染色)。

本研究实验兔主动脉粥样硬化斑块的分级标准参照相关文献^[1]及动物实际病变情况,将上述各组动物主动脉组织(包括主动脉弓、胸主动脉及腹主动脉)的病变范围及程度分为:重度——任一部位的病变范围 > 2/3 或斑块厚度超过主动脉壁厚度;中度——病变范围在 1/3 ~ 2/3 之间或斑块厚度超过主动脉壁厚度的 1/2;轻度——病变范围 < 1/3 或局灶性增厚(其厚度 < 主动脉壁厚度 1/2)。

四、统计学分析

本研究所得数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,采用 ANOVA 法进行统计学分析,所有数据处理均由 SAS 6.12 版统计软件完成, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组实验兔血脂改变情况比较

当各组实验兔结束基础喂养即将开始实验时,其血脂情况详见表 1。表 1 数据显示,4 组实验兔的血脂 HDL-C、LDL-C 及 TG 含量差异均无统计学意义, $P > 0.05$,表明各组数据匹配,具有可比性。各组实验兔经为期 60 d 的干预后,其血脂 HDL-C、LDL-C 及 TG 含量变化详见表 2。表 2 数据显示,照射组、药物组及综合组血脂 TG、LDL-C 含量与对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);照射组、综合组血脂 HDL-C 含量与对照组比较,差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 实验前各组实验兔血脂情况比较
(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组 别	HDL-C	LDL-C	TG
照射组	1.033 3 $\pm$ 0.284 6	2.606 7 $\pm$ 1.948 2	0.395 6 $\pm$ 0.199 8
药物组	0.851 1 $\pm$ 0.226 5	1.563 3 $\pm$ 1.190 5	0.715 6 $\pm$ 0.551 1
综合组	0.766 7 $\pm$ 0.283 5	1.257 8 $\pm$ 1.124 3	0.697 8 $\pm$ 0.362 7
对照组	0.837 8 $\pm$ 0.135 8	1.563 3 $\pm$ 1.190 5	0.488 9 $\pm$ 0.369 3

表 2 实验结束时各组实验兔血脂改变情况比较
(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组 别	HDL-C	LDL-C	TG
照射组	2.968 8 $\pm$ 1.165 3 [#]	20.272 5 $\pm$ 5.925 7 [#]	1.032 5 $\pm$ 0.837 4 [*]
药物组	1.826 3 $\pm$ 0.477 9	19.590 0 $\pm$ 2.783 6 [#]	0.392 5 $\pm$ 0.224 5 [*]
综合组	2.760 0 $\pm$ 1.033 0 [#]	18.842 8 $\pm$ 3.686 2 [#]	0.742 5 $\pm$ 0.616 9 [*]
对照组	1.747 5 $\pm$ 0.432 1	25.672 2 $\pm$ 5.450 0	2.041 1 $\pm$ 1.999 8

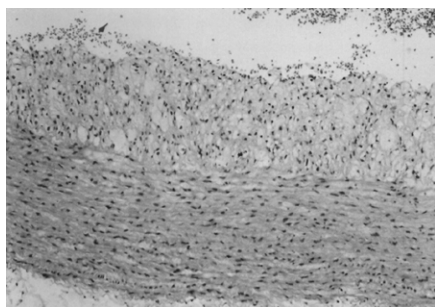
注:与对照组比较,* $P < 0.05$,[#] $P < 0.01$

二、各组实验兔病理组织学结果比较

各组实验兔所取标本组织经福尔马林液固定后,发现对照组动物主动脉内膜面有淡黄色条纹或斑片状淡黄色增厚或隆起,表面光滑,无附壁血栓形成;肝脏组织色泽变淡,部分表面及切面呈淡黄色,且质地变软;其余 3 组实验兔上述病变程度明显减轻。经显微镜观察后发现,各组实验兔主动脉内皮细胞完整,内皮组织下可见局灶性或多片状吞噬脂质的单核细胞(泡沫细胞)聚集并导致内膜增厚,呈镶嵌状排列,增厚处内膜向腔内呈丘状或扁平状隆起(图 1~4),增厚的内膜多为局灶性分布,仅有少数占据腹主动脉管周范围超过 1/2 或 2/3,其中以对照组动物较为明显,另 3 个治疗组动物上述病理改变均有不同程度减轻(表 3),其主动脉中膜及外膜组织均未见明显异常,肝脏显示出不同程度的肝细胞脂肪性变。

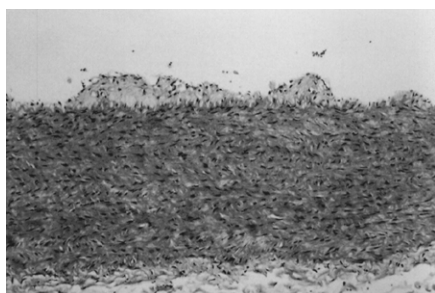
表 3 各实验组动物主动脉粥样硬化的病理学改变比较

组 别	只数	主动脉粥样硬化条纹及斑块程度(只)				粥样硬化条纹及斑块发生率(%)			
		重度	中度	轻度	无变化	重度	中度	轻度	无变化
照射组	8	0	1	6	1	0.0	12.5	75.0	12.5
药物组	8	0	1	4	3	0.0	12.5	50.0	37.5
综合组	8	0	0	6	2	0.0	0.0	75.0	25.0
对照组	9	1	3	2	3	11.1	33.3	22.2	33.3



注:可见主动脉内皮下大量泡沫细胞聚集致内膜增厚

图 1 对照组实验兔主动脉病理学改变(HE 染色, ×200)



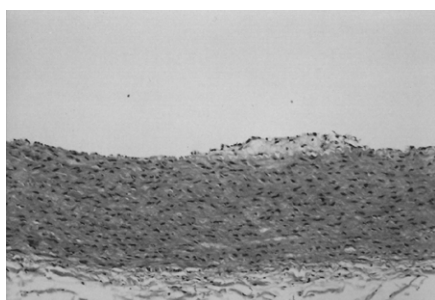
注:可见主动脉内膜局灶性泡沫细胞聚集

图 2 照射组实验兔主动脉病理学改变(HE 染色, ×200)



注:可见主动脉内膜局灶性泡沫细胞聚集

图 3 药物组实验兔主动脉病理学改变(HE 染色, ×200)



注:可见主动脉内皮下少量泡沫细胞聚集

图 4 综合组实验兔主动脉病理学改变(HE 染色, ×200)

讨 论

目前低强度激光照射疗法按其照射部位可分为血管内照射及血管外照射两条主要途径,血管外照射往往选择微循环较丰富的部位进行。国内、外相关文献表明,这两种激光照射方法在维持红细胞变形性、清除氧自由基和脂质过氧化物、降低血浆及全血黏度、控制总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量、抑制血栓形成等方面具有同样的疗效^[2-8]。有学者通过研究激光穴位照射的有效性,推测经络系统可能是低强度激光作用的途径之一^[9]。因此从作用途径来分析,双耳内激光照射治疗可能包括血细胞及经络系统两条途径。由于血液循环具有不间断的特点,对局部血液照射能达到对全身血细胞普遍照射的目的,并同时启动第二信使(cAMP)系统,从而产生各种生物学效应;另一方面外耳道内是手足少阳经及手太阳经交汇处,激光照射此处可能起到了血管外治疗的作用。最近还有研究发现,光生物调节作用的通路包括特异性及非特异性两类,前者是由能与光发生共振作用的光敏物质分子所介导,而后者是由不能与光发生共振作用的细胞膜分子所介导^[10]。一般而言,低强度激光照射是利用其非特异性通道达到调节生物功能的目的。

众所周知,血脂异常在动脉粥样硬化形成过程中具有重要作用,低强度激光血管内、外照射可以调节机体血脂水平已屡见报道^[2-6],但目前关于低强度激光调节血脂异常的机理尚未完全阐明。一般认为激光具有多种生物学效应,如热效应、压强效应、电磁场效应、光化学效应及生物刺激效应等。强激光照射具有上述多种效应,但低强度激光由于其能量较低,远没有达到破坏生物体组织的强度要求,故低强度激光照射的热效应及压强效应不占主导地位,此时主要是激光的生物刺激效应及光化学效应对生物体组织发挥作用。生物刺激效应在机体组织代谢过程中只起触发器功能,为组织提供生物能量及生物信息;光化学效应能调整血液中的蛋白质、脂质及酶类含量^[11-13]。在脂蛋白代谢过程中需要有多种酶类物质参与,主要包括脂蛋白酯酶(LPL)和肝甘油三酯(HTGL)或称肝酶(HI)以及多卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)、超氧化物歧化酶(SOD)等。低强度激光照射能调节多种与脂质代谢有

关的酶类,促进机体血脂代谢,使血脂水平趋于正常;另外低强度激光还能显著提高 SOD 活性,加速自由基清除速率,预防或减轻血管内膜及平滑肌组织损伤。

本研究中的 4 组实验兔均给予高脂饲料喂养并同时观察各组动物的血脂改变情况。开始实验前,4 组实验兔的 TG、LDL-C 及 HDL-C 含量间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。经过 60 d 的高脂饲料喂养后,4 组实验兔的 TG、LDL-C 含量均明显升高,HDL-C 含量亦有一定程度升高;进一步比较后发现,照射组、药物组及综合组的 LDL-C、HDL-C 及 TC 含量与对照组间的差异均有统计学意义($P < 0.01$)。由表 2 数据可以得出,单纯低强度激光照射对降低实验兔 LDL-C、TG 及 HDL-C 水平的作用虽不如综合组及药物组显著,但与对照组比较,仍具有显著性差异,说明单纯激光照射对实验兔血脂异常具有一定的治疗功效,有利于动脉粥样硬化防治。

动脉粥样硬化形成是一个连续发展的过程。在早期病理改变阶段,脂质与单核巨噬细胞起着关键性作用。当机体血脂异常尤其是发生血管炎症或损伤后,LDL-C 向内皮组织下浸润,单核细胞聚集,中膜平滑肌细胞增生并进入内膜,由单核细胞及平滑肌细胞衍生而来的巨噬细胞在血管内膜下吞噬脂质并形成泡沫样细胞。当巨噬细胞或泡沫样细胞吞噬大量脂质后,机体血管内膜组织即可出现黄色条纹、增厚或隆起等。上述细胞吞噬脂质饱和后,无论其破裂与否,均可释放出大量的活性物质参与动脉粥样硬化的衍变过程^[14]。

本研究通过大体观察及镜下观察各组实验兔标本,发现其动脉粥样硬化病理改变尚属早期(粥样硬化共有五期分类)^[15],即大体观察可见实验兔主动脉内膜表面有淡黄色条纹或斑片状淡黄色增厚或隆起;镜下观表现为内皮组织下局灶性或大片状吞噬脂质的单核巨噬细胞(泡沫细胞)聚集,致内膜组织增厚,呈镶嵌状排列,增厚处内膜向腔内呈丘状或扁平状隆起。从表 3 中数据可以看出,各治疗组实验兔的病理改变均以轻度为主,而对照组则以中、重度为主,如综合组有 6 只为轻度病变,而照射组及药物组均只有 1 只为中度病变,对照组不但有 1 只为重度病变,另还有 3 只为中度病变。可见无论是单独给予低强度激光照射或他汀类药物治疗或是两者联合应用,对防治血脂异常所致

的动脉粥样硬化均具有一定疗效,其中以联合应用效果最佳。

由于本研究中的实验动物数量相对较少,其数据、结果均具有一定的局限性。因此有关低强度激光对血脂及动脉粥样硬化斑块的确切治疗机制,还有待于更大规模的临床前瞻性随机对照研究。

参 考 文 献

- 1 Starry HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis*, 1989, 9:1-19.
- 2 窦祖林,胡昔权,朱洪翔. 两种激光照射血液疗法对脑损伤患者的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25:86-88.
- 3 张晓燕,陈春. 低能量氦氖激光鼻腔内照射对血脂水平的影响. *浙江中西医结合杂志*, 2003, 13:633-634.
- 4 杨玉东,路战红,梁勇,等. 低功率半导体激光血管外照射对血脂、血液流变学指标的影响. *激光杂志*, 2002, 23:80-81.
- 5 白洁,梁晓光,宋丽新,等. 半导体激光治疗高血压病高粘高脂血症观察. *中华理疗杂志*, 2000, 23:79-82.
- 6 高振华,史瑞华. 低能量氦-氖激光血管内照射对老年脑梗死患者血清蛋白的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2002, 24:302-303.
- 7 曾常春,唐勇. 低强度激光的生物效应及抗自由基损伤作用. *中国激光医学杂志*, 2004, 13:48-49.
- 8 Wase T, Hori N, Morioka T, et al. Low power laser irradiation reduces ischemic damage in hippocampal slices in vitro. *Lasers Surg Med*, 1996, 19:465-470.
- 9 阎孝诚,刘保延,主编. 实用中医激光血理学. 北京:中医古籍出版社, 1999. 230-242.
- 10 刘承宣,容东亮,刘颂豪. 光生物调节作用的研究进展. *中国激光医学杂志*, 2005, 14:197-200.
- 11 Gorbatenkova EA, Azizova A, Vladimirov IA. Reactivation of superoxide dismutase by the helium-neon laser irradiation. *Biofizika*, 1998, 33:717-721.
- 12 崔伟. 低能量氦-氖激光血管内照射对冠心病患者在心功能的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26:382-383.
- 13 Klebanov GI, Poltanov EA, Vladimirov YA. Effect of low-power laser irradiation in the red range of the spectrum on the activity of super oxide dismutase. *Biofizika*, 2003, 48:462-473.
- 14 赵水平,王钟林,陆宗良. 临床血脂学. 长沙:长江湖南科技出版社, 1997. 257-262.
- 15 陈在嘉,高润林. 冠心病. 北京:人民卫生出版社, 2002. 36-40.

(修回日期:2005-12-14)

(本文编辑:易 浩)

本刊办刊方向:

立足现实; ; 关注前沿; ; 贴近读者; ; 追求卓越