

红光照射对维持性血液透析患者氧自由基的影响

古英明¹, 宋世鹏², 黄莹¹, 肖龙¹, 陈星¹, 王翔宇², 张晓峰², 石惠敏¹, 蔡扬¹, 吕少芬¹, 余霞¹

【摘要】 目的 观察维持性血液透析患者用红光照射方法降低氧自由基的效果。方法 选择30例维持性血液透析患者在血液透析治疗时,用MRX-体外红光照射治疗系统照射体外循环管中的血液120 min/次,8次为一疗程,照射前后抽血测定MDA、SOD、AOPP、GPX,对照组不照红光。结果 30例患者透析失衡综合征减轻,自我感觉良好,精神状态好,经红光照射后治疗组MDA、AOPP下降($P<0.05$),SOD、GPX含量上升($P<0.05$),对照组SOD、GPX透析后水平下降($P<0.05$),MDA照射后水平上升($P<0.05$),AOPP透析前后比较无差异($P>0.05$)。结论 维持性血液透析患者经红光照射后可使体内MDA、AOPP下降,SOD、GPX含量上升说明有清除氧自由基作用,并可改善患者的临床症状。

【关键词】 红光照射 维持性血液透析 氧自由基

中图分类号 R 692.5 文献标志码 :A 文章编号 :1005-0809(2011)01-0001-04

The Effect of Red Light Irradiation on Oxygen Free Radical of the Patients with Maintenance Hemodialysis

GU Y ing-m ing¹, SONG Shi-peng², HUANG Y ing¹, X IAO Long¹, CHEN X ing¹, W ANG X iang-yu², ZHANG X iao-feng², SH I H u i-m in¹, CA I Y ang¹, LV Shao-fen¹, YU X ia¹

(1. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, China

2. Milestone Science & Technology, Shenzhen 518052, China)

【Abstract】 Objective To observe the effect of red light irradiation to reduce oxygen free radical in the patients with maintenance hemodialysis. **Methods** In the treatment of 30 patients with maintenance hemodialysis, the blood in extracorporeal circulation set tube was radiated for 120 min once by MRX-I red light irradiation in vitro system, 8 times as a course of treatment, test MDA, SOD, AOPP and GPX before and after irradiation, while the control group didn't use red light irradiation. **Results** 30 patients with dialysis disequilibrium syndrome were eased, who felt better. MDA and AOPP in the treatment group after the red light irradiation were decreased ($P<0.05$), SOD and GPX were increased ($P<0.05$), SOD and GPX in control group were decreased after dialysis ($P<0.05$), MDA was increased after irradiation ($P<0.05$), and there was no difference in AOPP before and after dialysis ($P>0.05$). **Conclusion** The red light irradiation could decrease MDA and AOPP of the patients with hemodialysis and increase SOD and GPX, which shows the effect of remove oxygen free radical, and improves the clinical symptom of patients.

【Key words】 red light irradiation; maintenance hemodialysis; oxygen free radical

慢性肾功能衰竭维持性血液透析的患者体内氧自由基浓度升高,由于氧自由基升高可加重这类患者

心血管病变,近年来在临床上采用给患者大量口服VitE、VitC等药物以及在透析器中空纤维涂上VitE等

作者单位:1. 510260 广州,广州医学院第二附属医院
2. 518052 深圳,深圳市迈时拓科技有限公司
通讯作者:古英明, E-mail: yingming_gu@126.com

办法来降低氧自由基,但效果欠佳。为提高疗效,探讨一种降氧自由基的方法,我科从2005年开始用红光照射透析管道中体外循环血液的方法观察30例维持性血透患者红光照射前后血清丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、晚期蛋白质氧化产物(AOPP)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)含量的改变,初步观察这种方法可降低MDA、AOPP,升高SOD、GPx,治疗后患者感觉良好,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 病例来源

30例红光照射患者选自长期维持性血液透析患者,男性17例,女性13例,年龄36~90岁,平均年龄(65.5 ± 13.34)岁;血肌酐水平为487.5~2034.2 $\mu\text{mol/L}$,肌酐清除率在4~15 mL/min ,原发病为慢性肾小球肾炎20例,高血压肾病5例,糖尿病肾病5例,平均透析时间为(27 ± 21)月;另选30例同期条件相当未进行红光照射的血透患者作为对照组,男性17例,女性13例,年龄39~81岁,平均年龄(63.61 ± 11.24)岁。原发病为慢性肾小球肾炎21例,高血压肾病5例,糖尿病肾病4例,平均透析时间为(26 ± 19)月。所有患者在检测前1周内无明显炎症、感染、肿瘤及其他自身免疫性疾病,观察期间未用抗菌素、抗体和免疫抑制剂,ViC、ViE等抗氧化剂和促氧化剂。

1.2 治疗方法

分2组:血透时照射红光组(治疗组)和单纯血透组(对照组)。

1.2.1 治疗组 血透开始后用深圳市迈时拓科技有限公司提供的MRX-I体外红光照射治疗系统照射血液透析时静脉端的血路管500mm,每次照射时间为120min。患者每次透析只进行1次红光照射,连续8次为一疗程。红光照射的主要参数为:红光峰值波长(650 ± 20)nm,光功率密度2~7 mW/cm^2 ,光源距离血管的距离为10~12mm;首次照射前及照射8次透析结束后抽血测定MDA、SOD、AOPP、GPx。血样在-70℃冰箱保存,标本采集完成后,统一检测。

1.2.2 对照组 不照射红光,单纯血液透析治疗,第1次透析前及第8次透析后抽血测定MDA、SOD、AOPP、GPx。

1.2.3 治疗组和对照组 60例患者均每周透析2次,每次4h,每次透析血流量200 mL/min ,透析液流量500 mL/min ,全部使用费森尤斯F6血液透析器,复用

6次。

1.2.4 临床观察 两组患者在进行透析治疗期间,严密观察患者的一般情况,定时测定体温、心率、血压,并观察、询问受试者有无光过敏及不良反应。

1.2.5 设备的观察 观察机器的工作状态,包括有无异常的声音,各种功能显示,运转是否正常,观察光照的温度。

1.3 血液MDA、SOD、AOPP、GPx检测方法

血清丙二醛(MDA)检测采用硫代巴比妥酸反应法^[1],以四乙氧基丙烷为标准。疗效主要试剂:硫代巴比妥酸(Thiobarbituric acid, TBA)和四乙氧基丙烷(Tetraethoxypropane, TEP)购自美国Sigma公司,硫酸、磷钨酸、正丁醇为国产分析纯标准。主要仪器:低温冷冻离心机(德国JUNIVERSAL 32R),电热恒温水浴箱(英国Grant公司)、752型分光光度计(上海医用设备仪器厂)。

血清晚期氧化蛋白产物(AOPP)测定采用紫外分光光度比色法^[2],以氯胺T为标准。主要试剂:冰醋酸、碘化钾、氯胺T均为国产分析纯。主要仪器:低温冷冻离心机(德国JUNIVERSAL 32R),核酸分析仪(Ultrospec2000, USA)。

血清谷胱甘肽过氧化物酶活性(GSH Px)的测定采用DTNB比色法^[3]。主要试剂:5',5'-二硫代双-2-硝基苯甲酸(5',5'-dithionbis-2-nitrobenzoic acid, DTNB)、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)购自美国Sigma公司。过氧化氢(30%)、三氯醋酸和氢氧化钠等为国产分析纯。主要仪器:低温冷冻离心机(德国JUNIVERSAL 32R),电热恒温水浴箱(英国Grant公司)、752型分光光度计(上海医用设备仪器厂)。

血清超氧化物歧化酶(SOD)的测定采用化学发光法。主要试剂:黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶购自美国Sigma公司,化学发光增强剂Lucigenin购自美国Molecular Probe公司。主要仪器:美国PE公司VictorV 1210多标记分析系统。

1.4 统计学处理

应用SPSS10.0进行统计分析,结果用均数±标准差表示。正态分布资料的两组均数比较采用t检验,治疗前后及组间比较采用自身配对t检验, $P < 0.05$ 有显著差异性。

2 结果

治疗组红光照射后,无1例出现不良反应,30例

患者反映经照射后透析失衡综合征如头痛、焦虑不安、恶心、呕吐等症状明显减轻,精神状态改善,自我感觉良好,1例患者手指麻木、僵硬症状消失。

30例治疗组患者经红光照射后,呼吸、心率、血压

平稳,与照射前比较无差异($P>0.05$),红细胞计数、血色素照射前后亦无差异性($P>0.05$),治疗后未发现溶血现象,见表1。

表1 治疗组患者血透治疗前后红细胞及血色素比较

	呼吸(次/min)	心率(次/min)	血压(mmHg)	红细胞计数($10^9/L$)	血色素(g/L)
照射前	20	86	140/90	3.1	79
照射后	23	90	146/86	3.5	83

照射前后比较无差异 $P>0.05$ 。

治疗组血液透析后血清 K^+ 有显著性降低, CO_2 较透析前明显升高, $P<0.001$, 治疗组透析后 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 均在正常范围,与对照组比较无差异 $P>0.05$ (见表2)。两组患者血透前后尿素氮、肌酐浓度均有显著降低,

$P<0.001$ 。治疗组肌酐平均下降 57.77%, 对照组肌酐平均下降 55.86%, 两组之间比较无显著性差异 ($P>0.05$), 见表3。

表2 两组患者血透治疗前后电解质浓度比较($\bar{x}\pm s$)

检测项目	治疗组		对照组	
	透析前	透析后	透析前	透析后
K^+ (mmol/L)	4.96 ± 0.99	3.79 ± 0.43	5.17 ± 0.88	4.05 ± 0.53
Na^+ (mmol/L)	138.60 ± 3.02	142.89 ± 3.11	137.86 ± 5.29	141.66 ± 4.69
Cl^- (mmol/L)	105.18 ± 5.90	102.64 ± 5.74	100.41 ± 7.47	97.94 ± 4.69
Ca^{++} (mmol/L)	2.17 ± 0.23	2.79 ± 0.21	2.16 ± 0.22	2.83 ± 0.51

治疗前后比较, * $P<0.05$, ** $P<0.001$, 透后治疗组电解质均在正常范围,与对照组比较, K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{++} 无显著差异 $P>0.05$ 。

表3 两组患者血透治疗前后尿素氮、肌酐的改变

组别	检测项目			
	Cr (mmol/L)		BUN (mmol/L)	
	透析前	透析后	透析前	透析后
治疗组	1053.13 ± 391.57	408 ± 168.18	27.29 ± 9.14	8.03 ± 4.29
对照组	1077.70 ± 345.71	408.83 ± 154.65	34.11 ± 12.33	11.05 ± 6.39

两组治疗前后比较 $P<0.001$, 有显著性差异, 两组之间疗效比较 $P>0.05$, 无显著性差异。

治疗组红光照射一疗程后 MDA、AOPP 明显下降 (* $P<0.05$), SOD、GPx 含量显著上升 (** $P<0.001$)。对照组透析 8 次后 SOD、GPx 水平下降 (* $P<0.05$) MDA

水平上升 (** $P<0.01$) AOPP 与透前比较无显著性差异 ($P>0.05$), 见表4。

表4 两组患者治疗前后 MDA、SOD、AOPP、GPx 比较

组别	透析前				透析 8 次后			
	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	SOD ($\mu\text{mol/l}$)	AOPP ($\mu\text{mol/l}$)	GPX ($\mu\text{mol/l}$)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	SOD ($\mu\text{mol/l}$)	AOPP ($\mu\text{mol/l}$)	GPX ($\mu\text{mol/L}$)
治疗组	4.49 ± 1.91	1391.61 ± 248.53	72.27 ± 17.51	145.69 ± 44.12	3.85 ± 1.48*	1519.43 ± 248.99***	65.09 ± 20.78*	180.41 ± 51.98***
对照组	3.51 ± 1.09	1539.35 ± 218.37	68.67 ± 17.19	188.10 ± 38.78	3.941 ± .19**	1459.98 ± 250.83*	70.36 ± 26.51	169.41 ± 41.81*

治疗前后比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

治疗组与对照组两组间疗效比较显示,在透析8次后,两组间透析前后的SOD、MDA、GPx差值有显著差异性($P < 0.001$);两组间透析前后AOPP差值比较无差异性, $P = 0.065$ 。

3 讨论

红光是指波长在647~700 nm之间的电磁波,由于它可引起人类视网膜光感为红色,故称为红光。红光对人体的穿透性较强,穿透深度可达10~15 mm以上,可直接作用于血管、淋巴管、神经末梢、皮下组织等。本实验是用红光照射血液透析时体外循环的管道。对30例维持性血透患者的治疗显示,红光照射时患者生命体征平稳,红细胞、血色素与治疗前无明显差异,电解质水平及对BUN、Cr的清除率与对照组比较无差异,显示了红光治疗的安全性。

人体的衰老、机能的下降与体内自由基的增加有密切相关。自由基是一种强氧化剂,过量存在会对细胞造成影响,使膜的通透性降低,加速细胞功能退化、衰老。人体内存在清除自由基体系,包括SOD、CAT、POD、GSH-PX等。基因芯片技术研究了红光照射对成人纤维细胞基因表达谱的影响,发现红光照射可影响抗自由基相关基因的表达。Selenoprotein W和ATX1抗氧化蛋白基因的表达增加,为研究红光照射增强机体抗氧化作用提供了理论依据^[4]。分子水平实验研究证实,机体卟啉酶类对红光尤其对632 nm波长的光有特异性吸收,如SOD、过氧化氢酶在此波长光照射后酶活性明显增加,有助于消除患者体内自由基,避免脂质过氧化等作用损伤。机体清除氧自由基的能力增强,可抑制内皮细胞ET-1(内皮素)的分泌^[5]。

慢性肾功能衰竭维持性血液透析患者体内氧自由基来源:尿毒症本身可以产生过多的自由基;在透析时,生物材料管路、透析器与血液不相容可产生自由基;透析液中含有内毒素时也可以产生大量自由基;长期透析可使抗氧化剂流失导致氧自由基

增高。为了清除氧自由基,本实验是通过检测维持性血液透析患者用红光照射体外部分的血液,照射前后MDA、AOPP、SOD、GPx的指标变化,并与对照组进行疗效比较,来了解它的治疗效果。SOD、GPx是反映血抗氧化水平的主要抗氧化酶,它能清除体内氧自由基和过氧化物。MDA、AOPP是不饱和脂肪酸过氧化后的产物,其含量可反映机体内脂质过氧化的程度,并间接反映氧自由基对细胞损伤的程度。实验结果表明,红光照射后患者体内MDA、AOPP下降,SOD、GPx含量上升,与对照组进行疗效比较,有统计学意义,说明体内自由基清除能力升高,对细胞的损伤的程度降低。30例患者临床上透析失衡综合征明显减轻自我感觉良好,精神状态改善,1例患者手指麻木、僵硬改善。结果证实,维持性血液透析患者用红光照射体外循环管道后对降低氧化自由基减轻透析治疗后不良反应有一定的临床疗效。

参考文献

- [1] 庞占军.脂质过氧化.庞占军,陈瑗,周玫.自由基医学研究方法[M].北京:人民卫生出版社,2000:147-150.
- [2] W itko-Sarat V, Friedlander M, Nguyen-Khoa T, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure [J]. The Journal of Immunology, 1998, 161(5):2524-2532.
- [3] 庞占军.谷胱甘肽过氧化物酶.庞占军,陈瑗,周玫.自由基医学研究方法[M].北京:人民卫生出版社,2000:147-150.
- [4] Zhang Y, Song SP, Fong CC, et al. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblasts cells irradiated with red light [J]. The Journal of Investigation Dermatology, 2003, 20(5):849-857.
- [5] Iakymenko IL, Sydoryk EP. Regulatory role of low-intensity laser radiation on the status of the antioxidant system [J]. Ukrainskyi Biokhimichnyi Zhurnal, 2001, 73(1):16-23.

(收稿 2010-11-08)