

He-Ne 激光照射对血液及其组分 荧光光谱影响的实验研究

降雨强, 李昌勇, 王晓波, 肖连团, 贾锁堂

(山西大学物理电子工程学院, 量子光学与光量子器件国家重点实验室, 山西 太原 030006)

摘要: 为研究弱激光照射对人血液携氧能力的影响及机制, 我们用荧光仪分别测量了 He-Ne 激光照射前后正常血液及其组分(血浆、红细胞)的荧光光谱, 研究了激光照射导致的光谱变化, 并分析了光谱变化与血液携氧能力改变的关系。实验结果显示: 全血液标本在 490 nm 及 614 nm 附近有荧光峰值; 血浆的荧光则主要分布在 420~500 nm 之间; 红细胞在 500 nm 及 614 nm 附近有荧光。He-Ne 激光照射后, 全血液及红细胞在 614 nm 处的荧光光谱都有较明显的变化, 且较相似。由此可得出结论, He-Ne 激光照射可影响血液的携氧能力。

关键词: 荧光光谱; 激光照射; 血液; 红细胞; 氧

中图分类号: R318.51 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6737(2003)01-0110-04

弱激光血管内照射治疗(ILLI)目前已经广泛应用于临床, 对很多病症都有很好的疗效。但由于治疗机理尚不清楚, 且存在一些负面效应, 故对其应用前景, 人们尚有很多质疑和担忧。因此, 亟待弄清 ILLI 治疗的机制, 建立起一套完整的理论体系。

事实上, 自从 20 世纪 80 年代 Mester 等^[1-3]报道了弱激光照射治疗对伤口愈合有效后, 人们就一直在对弱激光照射治疗的机理进行有益的研究和探讨。Karu 等研究了弱激光照射对线粒体功能的影响, 证明了线粒体可能就是可见光的受体之一^[4,5]; Stadler 等研究 660 nm 激光照射对淋巴细胞增殖的影响, 发现激光照射可促进淋巴细胞增殖, 而在此过程中, 血红蛋白的作用是至关重要的^[6]。这些研究从一定角度上揭示了弱激光与生物组织作用的机制, 解释了弱激光照射治疗的机理。

对于弱激光照射治疗, 尤其是弱激光血管内照射治疗, 我们近年来从光谱分析的角度进行了实验研究^[7-9], 并初步提出了激光照射提高血液的携氧能力是弱激光照射治疗的内在机理这一推论。本文将从光谱分析的角度对激光照射提高血液携氧能力的机制进行进一步实验研究。

1 材料和方法

新鲜血液采自健康人体, 枸橼酸钠抗凝, 由山西省人民医院提供。全血血样被分为两部分, 一部分用于全血的荧光光谱测量; 另一部分用来分离血液组分(血浆和红细胞): 将全血血样在 $500 \times g$ 、 20°C 离心 30 min, 取上层分离液(血浆)。下层为红细胞液, 用磷酸盐缓冲液清洗 3~5 次, 离心得到红细胞悬浮液。

将全血、血浆及红细胞用磷酸盐缓冲液稀释到 5% 的浓度, 然后分别测量其荧光光谱。实验中采用的是日本的 LS-50B 型荧光计, 荧光计的激发波长为 411 nm。将样品用 10 mW 的 He-Ne 激光照射 10 min 后(光斑直径为 1 cm^2), 再次分别测量其荧光光谱。

2 结 果

三种样品(全血、血浆和红细胞)的荧光光谱分别见图 1、图 2 和图 3A。从图中可以看出其荧光

收稿日期: 2002-07-25

作者简介: 降雨强, 1966 年生, 副教授, 博士研究生, 电话:
(0351)7018489, E-mail:jyq@sxu.edu.cn

光谱差异明显。这是由于三种样品中受激发光的物质成分不同。

全血液的荧光光谱在 490 nm 和 614 nm 附近有两个强的荧光峰，而在 460 nm、690 nm、720 nm 及 750 nm 附近也有荧光分布，只是较弱。

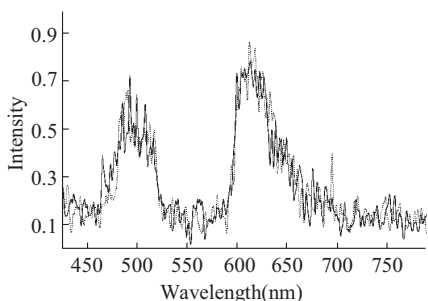


Fig.1 The fluorescent spectra of whole blood.

..... before He-Ne laser irradiation — after He-Ne laser irradiation

血浆的荧光主要分布在 570 nm 以前，730 nm 处也有荧光。这主要是由血浆中的部分蛋白质及原卟啉发出来的。

红细胞的荧光主要分布于 500 nm 及 614 nm

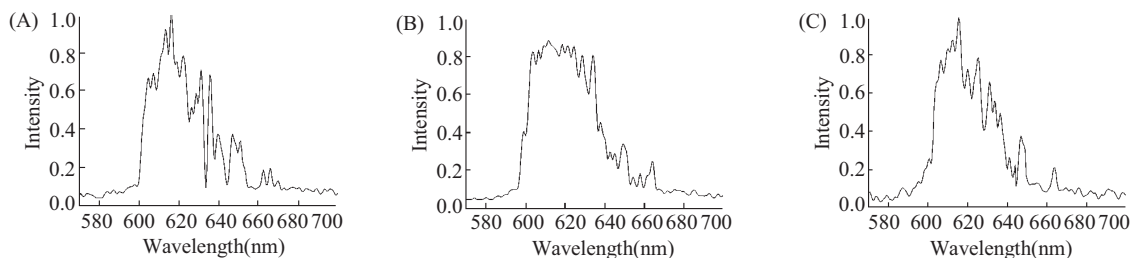


Fig.3 The fluorescent spectra of red blood cell. (A) before He-Ne laser irradiation; (B) after He-Ne laser irradiation; (C) 5 mins after He-Ne laser irradiation finished

5 min 后)，发现其荧光光谱与照射前的形状非常相似，如图 3C 所示。

3 讨 论

有临床实验显示，ILLI 治疗过程中，血液的血氧饱和度和氧分压都有较明显的增加^[10]。我们知道，氧对于生物体是至关重要的，与人体的新陈代谢和免疫机能密切相关。分子、细胞水平上，它可以影响线粒体中 ATP 的合成，刺激淋巴细胞的繁殖等。人体中氧含量的增加对人体组织的各种机能都有重要的影响。所以，激光照射导致血氧饱和度及氧分压的增高，无疑是 ILLI 治疗作用的机制之一。

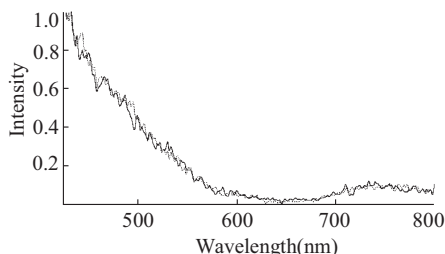


Fig.2 The fluorescent spectra of plasma.

..... before He-Ne laser irradiation — after He-Ne laser irradiation

附近，此为红细胞中的血红素的典型荧光光谱。

He-Ne 激光照射 10 min 后的全血、血浆及红细胞的荧光光谱分别如图 1、图 2 和图 3B 所示。由图中可见，全血液和红细胞的荧光光谱中 614 nm 处谱峰的变化较为明显，且荧光峰的变化很相似。He-Ne 激光照射前，峰值主要在 614 nm 附近。He-Ne 激光照射后，614 nm 处的荧光有所减弱，而两侧 600 nm 和 628 nm 处的荧光则相对有所增强，所以谱带较原来平而宽。另外，在第二次测量 He-Ne 激光照射过的红细胞的荧光时(约

文献[11]和[12]分别以一维谐振子和 C_{2v} 群为模型，讨论了弱激光照射对血液中起携氧功能的血红素的影响；从一定的角度证明了照射对其携氧能力的正效应。但是由于生物大分子的复杂性，该讨论还需要进一步的完善和实验的直接支持。

从我们的实验结果看，红细胞的荧光光谱主要由血红素发出。在 He-Ne 激光照射前后，红细胞的荧光光谱有明显的变化。这说明 He-Ne 激光照射对血液中的血红素的能态结构确实有很大的影响。

由荧光的发射机理可知，分子荧光产生于第一激发态的最低能级向基态各能级的辐射跃迁。He-Ne 激光照射前，处在相应于 614 nm 的能态的分子数最多。而 He-Ne 激光照射后，600 nm 及

628 nm 附近的荧光明显增强。这说明照射使较高和较低能态的分子数都增加了。产生该现象的原因可能在于 He-Ne 激光照射导致了血红素分子间发生了所谓的“能量积聚”。即 He-Ne 激光的照射,使 614 nm 处的分子动能增加,碰撞频率增大。在碰撞过程中,一个分子将其能量的一部分($\Delta E = \hbar \cdot \Delta v = \frac{\Delta \lambda}{\lambda_1 \cdot \lambda_2} \cdot \hbar \cdot c$)传递给另一个分子,使那个分

子处在了相应于 628 nm 的能级上,而自身则降到相应于 600 nm 的能级上。所以,较高和较低能级上的分子数都增加了。反映在光谱上就是 614 nm 荧光相对降低,而 600 nm 和 628 nm 处的荧光相对增强。高低能态的变化对血红素的携氧功能有很大的影响。能态增高,血红素分子的自由能增加,Fe 原子与 O₂ 的结合力减小,有利于氧合的血红素分子对 O₂ 的释放,从而导致血液中氧分压的增高;而能态的降低,则使血红素分子的自由能降低,有利于无氧 Fe 原子在肺泡中与 O₂ 的结合,所以血氧饱和度也增加了。由此可见,本实验的结果和文献^[10]中报道的临床结果是相一致的。

另外,测量 He-Ne 激光照射后的荧光光谱时,第二次测量的结果(约 5 min 后)和第一次测量的结果也有明显差异。第二次测量的光谱,其主峰值又回到 614 nm 附近。说明 He-Ne 激光照射对 Fe-卟啉系统的影响是短时间的。这也与文献^[10]中报道的临床结果(ILLI 治疗后血氧饱和度与氧分压恢复从前水平)相一致。

4 结 论

从本实验的结果可以看出,He-Ne 激光照射的确可以导致血氧饱和度与氧分压的增加。其原因在于 He-Ne 激光照射使血红素的能级结构发生改变,从而影响了它与氧结合的能力。本文的结果也进一步说明了,激光照射导致血氧饱和度与氧分压的增加,可能是 ILLI 治疗的一个重要机制。

参考文献:

- [1] Mester AF, Mester A. Wound-healing[J]. *Laser Therapy*, 1989,1:7~15.
- [2] Mester AF, Mester A. Scientific background of laser biostimulation[J]. *J Eur Med Laser Assoc*, 1988,1:23~28.
- [3] Bihari I, Mester A. The biostimulative effect of low level laser therapy of long-standing crural ulcer using Helium Neon laser, Helium Neon plus infrared laser, and non-coherent light: preliminary report of a randomized double blind comparative study[J]. *Laser therapy*, 1989,1:97-107.
- [4] Karu T. Photobiology of low-power laser effects[J]. *Health Phys*, 1989,56:691~704.
- [5] Wei Y, Naim JO, Lanzafame RJ, et al. Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria[J]. *Photochem Photobiol*, 1996,66:866~871.
- [6] Stadler I, Evans R, Naim JO, et al. In vitro effects of low-level laser irradiation at 660 nm on peripheral blood lymphocytes[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2000,27:255~261.
- [7] 降雨强, 李昌勇, 周源, 等. He-Ne 激光照射 HBsAg 阳性血液的荧光光谱的研究[J]. 中国医学物理学杂志, 2000,4:203~204.
- [8] 降雨强, 李昌勇, 肖连团, 等. 低强度激光血管内照射治疗的机理初探[J]. 激光生物学报, 2001,10:208~211.
- [9] 降雨强, 李昌勇, 肖连团, 等. 人血液及其组分的荧光光谱的研究[J]. 激光与光电子进展, 2001,5:23~26.
- [10] 刘枢晓, 周凌云, 侯靖边, 等. He-Ne 激光血管内照射(ILLB)对动脉血携氧能力的影响及其机理研究[J]. 光电子·激光, 1999,2:148~151.
- [11] 梁先庭, 周凌云, 梁钧, 等. 弱激光对血红蛋白携氧功能改善的物理解释[J]. 光电子·激光, 1995,6:187~190.
- [12] 周凌云, 段良和, 刘枢晓, 等. 弱激光改善血液携氧功能机制分析及临床研究[J]. 光子学报, 1999,28:205~208.

THE EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE FLUORESCENT SPECTRA OF HUMAN BLOOD AND ITS COMPONENTS

JIANG Yu-qiang, LI Chang-yong, WANG Xiao-bo, XIAO Lian-tuan, JIA Suo-tang

(State Key Laboratory of Quantum Optics and Quantum Optics Devices, Department of Electronics and Information Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: In order to investigate whether or not the He-Ne laser irradiation can affect the oxygen carrying ability of blood. The fluorescent spectra of human blood and its components before and after irradiated by He-Ne laser was investigated. The results show that the fluorescence spectra of human whole blood and red blood cells (RBC) both have an obvious peak at 614 nm. After irradiated by He-Ne laser for 10 min, it was found that the peak became flat. A conclusion can be drawn that He-Ne laser irradiation can affect the RBC structure and improve the oxygen carrying ability of blood.

Key Words: Fluorescence; Laser irradiation; Blood; Red blood cell; Oxygen

《生命科学研究》 征稿启事

21 世纪是生物科学的世纪。生命科学研究将是人类下一个世纪的主要实践活动。《生命科学研究》是经国家新闻出版署和国家科委批准, 面向全世界公开发行的反映国内外生命科学领域中最新研究成果的综合性学术期刊。

《生命科学研究》由国内外著名的专家、学者 50 人组成编辑委员会, 其中国内编委 39 人, 国外编委 11 人, 分布在美、英、日、瑞典等国家。由国内著名专家邹承鲁、袁隆平、戚正武、刘以训、顾孝诚、翟中和、刘筠、姚开泰、姚守拙、尹长民、刘德富教授担任学术顾问。

本刊拟于 2003 年上半年出版一期增刊《生命科学研究进展专辑》, 主要刊登生物学、农业科学、基础医学等学科最新研究进展, 特别欢迎反映各学

科国内外最新研究动态的综述类文章。专辑的编排格式、印刷质量均与正刊保持一致。作者来稿请按现行国家标准或行业标准及本刊规范格式(参照《生命科学研究》征稿征订启事)撰写, 并打印于 A4 纸上, 一式两份, 另请附上作者的详细通讯地址、联系电话和 E-mail 地址, 信封上需注明“专辑论文”字样。

编辑部地址: 410081 湖南师范大学生命科学学院内

电话: (0731) 8872616

E-mail: sky@mail.hunnu.edu.cn;

smky6688@yahoo.com.cn

欢迎从事生命科学研究的广大读者赐稿! 欢迎订阅《生命科学研究》杂志!