

2 450 MHz 微波辐射对原代培养的小鼠成纤维细胞增殖活性的影响及其分子机制研究

曹曼林 白跃宏 杨翠霞 谢光柏

【摘要】 目的 探讨 2 450 MHz 微波辐射对原代培养的小鼠皮肤成纤维细胞增殖活性的影响,进而分析微波辐射后成纤维细胞的基因及蛋白的变化。**方法** 小鼠成纤维细胞体外经不同功率密度,频率为 2 450 MHz 的微波直接辐射不同时间后,用四甲基偶氮唑盐比色法(MTT)法测定成纤维细胞的生长代谢情况,用流式细胞术检测细胞周期分布;采用 Real-time PCR 扩增的方法分析微波辐射对细胞前胶原 I 型和 III 型 mRNA 表达水平的影响;采用抗磷酸化形式的细胞外调节蛋白激酶(ERK)抗体,通过免疫荧光染色方法观察微波辐射后小鼠皮肤成纤维细胞蛋白质磷酸化情况。**结果** ①成纤维细胞经不同功率密度(分别为 0.5, 1 和 5 W/cm²)和不同时间(分别为 5, 15 和 30 min)微波辐射后,其生长代谢曲线随时间延长而下降。功率密度为 0.5 W/cm² 和 1 W/cm² 的微波分别辐射 5 min、15 min 和 30 min,其成纤维细胞活性与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。功率密度为 5 W/cm² 的微波辐射 5 min 以上,可抑制体外培养的正常皮肤成纤维细胞的增殖功能,成纤维细胞活性较对照组明显降低($P < 0.05$)。②功率密度为 5 W/cm² 的微波辐射 5 min, G₀/G₁ 期细胞所占比例明显升高($P < 0.05$),且磷酸化 ERK1/2 表达水平明显升高。③微波辐射对前胶原 I 型基因 mRNA 表达的抑制作用随时间的延长而增强,功率密度为 1 W/cm² 的微波辐射 30 min、功率密度为 5 W/cm² 的微波辐射 5 min 以上时,能显著抑制前胶原 I 型基因 mRNA 的表达($P < 0.05$),并且显著下调前胶原 I 型与 III 型基因 mRNA 的比率($P < 0.05$)。**结论** 体外短时间高强度微波辐射,能降低小鼠成纤维细胞的增殖活性,可阻断成纤维细胞周期,并使细胞停滞于 G₀/G₁ 期。微波对成纤维细胞的增殖及其胶原产生的某些相关基因的表达具有直接的抑制作用,且与辐射强度及时间有关。微波辐射可激活皮肤成纤维细胞磷酸化 ERK1/2 信号转导通路,提示微波辐射导致的成纤维细胞损伤可能是通过 MAPK 信号转导通路的激活而实现的。

【关键词】 成纤维细胞; 微波; 细胞周期; 前胶原; 细胞外调节蛋白激酶

The effects of 2 450 MHz microwave radiation on the proliferation of cultured mouse fibroblast in vitro and possible mechanisms CAO Man-lin, BAI Yue-hong, YANG Cui-xia, XIE Guang-bai. Department of Rehabilitation Medicine, No. 6 People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of 2 450 MHz microwave irradiation on the proliferation of cultured mouse fibroblasts in vitro, and the related gene and protein expressions. **Methods** Cells from mouse skin were directly radiated with microwaves of different intensities for different periods. The proliferation of fibroblasts was assayed by the MTT method, and the effects of microwave radiation on the fibroblast cell cycle were measured by flow cytometry. The mRNA expression of types I and III procollagen was detected by real-time RT-PCR. Anti-phosphorylation extracellular-regulated kinase (ERK-1/2) antibody was introduced in immunofluorescence staining analysis to observe any changes in the phosphorylation of fibroblast protein ERK. **Results** ① 5 W/cm² or 1.0 W/cm² irradiation for 5 min, 15 min, or 30 min did not significantly decrease fibroblast proliferation, but irradiation at 5 W/cm² for more than 5 min caused a significant decrease in fibroblast proliferation. ② After 5 W/cm² irradiation for 5 min, the percentage of cells in the G₀/G₁ phase was significantly increased, and ERK was activated immediately after irradiation. ③ The mRNA expression of type I procollagen was down-regulated after microwave irradiation, and the magnitude of the decreased expression correlated positively with the duration of irradiation. Thirty minutes of microwave irradiation at 1 W/cm² or 5 minutes at 5 W/cm² significantly down-regulated the mRNA expression of type I procollagen and the ratio of types I and III. **Conclusion** High-intensity microwaves may inhibit the proliferation of fibro-

作者单位:200233 上海,交通大学附属第六人民医院康复医学科(曹曼林、白跃宏),中心实验室(杨翠霞);上海第二军医大学附属长征医院康复医学科(谢光柏);曹曼林为第二军医大学在职硕士

通讯作者:谢光柏,Email:liquan14@21cn.com

blasts in a dose-dependent manner in vitro and down-regulate procollagen mRNA expression, which might be achieved by activating mitogen-activated protein kinase signal transduction gateways.

【Key words】 Fibroblasts; Microwaves; Cell cycle; Procollagen; Extracellular-regulated kinase

微波是频率为 300 MHz ~ 300 GHz 的电磁波。微波的生物学效应已成为医学、细胞学等方面研究的热点,同时也能为微波物理治疗或微波手术等的应用提供理论依据。无论是在动物还是在人体水平的实验,都提示微波辐射能够促进创伤愈合^[1-4]。近年来,对微波的生物学效应及其机制的研究不断深入,特别是从基因及蛋白水平探讨微波对生物体的作用已成为研究的热点。

成纤维细胞的生物学行为直接影响伤口创面的愈合,对创伤愈合起双重作用^[5,6]。为探讨微波在细胞分子水平对成纤维细胞可能产生的生物学效应,本研究就微波辐射后成纤维细胞的增殖活性、基因表达以及相关信号通路的变化进行了探讨。我们利用体外培养的小鼠皮肤成纤维细胞,以 2 450 MHz 微波辐射 5 ~ 30 min (临床常用的治疗时间),检测不同功率密度的微波辐射对成纤维细胞增殖活性和细胞周期的影响,以及相关基因表达的改变、信号通路的激活状态,以期揭示微波促进伤口愈合的分子机制,为阐明微波的作用规律奠定理论基础,以利于微波技术能在更多领域内发挥更好的作用。

材料和方法

一、主要试剂和仪器

DMEM 培养液和小牛血清购自美国 Gibco 公司,细胞周期检测试剂盒购自美国 BD 公司, Real-time PCR 相关试剂及引物均购自日本 TakaRa 公司,抗磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (extracellular-regulated kinase, ERK) 1/2 抗体购自美国 Cell Signaling 公司。LK30-1 新型微波理疗仪购自中国上海理康微波电子产品有限公司, Coulter XL 型流式细胞仪购自美国 Beckman 公司,倒置显微镜购自日本 Olympus 公司。

二、成纤维细胞的分离和体外培养

1. 实验动物:选择新生雄性昆明小鼠 6 只,体重 50 g,孕鼠购自中科院动物所。

2. 成纤维细胞的分离与纯化:取新生 2 d 小鼠背部皮肤,用含 100 U/ml 氨苄青霉素和 100 mg/ml 硫酸链霉素的 PBS 液充分洗涤;用眼科剪剪成面积为 1 mm × 1 mm 的小块,均匀贴于培养瓶底,倒置于培养箱内培养 4 ~ 6 h,缓慢翻转培养瓶,5 d 后开始换液,之后每 2 ~ 3 日换液 1 次;待培养皿基本铺满单层细胞后,添加 0.25% 胰蛋白酶消化液,控时控温消化;在消化过程中用倒置显微镜进行观察,以成纤维细胞变圆且

即将离壁为分离纯化成纤维细胞的标准,经 1 ~ 3 次传代,可将上皮细胞去除干净,得到纯化的成纤维细胞。

3. 细胞形态学观察及鉴定:将细胞进行常规苏木精和伊红染色后用光镜观察。细胞用丙酮在室温下固定 30 min;用含 0.25% H₂O₂ 的甲醇在室温下浸泡 30 min;滴加 1:1000 稀释的小鼠抗 I 型胶原一抗,在 37℃ 下处理 30 min;用 0.01 mol/L PBS 漂洗后滴加 1:400 稀释的生物素化羊抗鼠二抗,在 37℃ 下处理 30 min;DAB 显色 20 min,光镜下观察,鉴定培养的成纤维细胞及其纯度。

三、微波处理

参照并改进 Cleary 等^[7]设计的辐射系统,使用 2 450 MHz 连续微波,功率密度分别为 0.5 W/cm²、1 W/cm² 和 5 W/cm²,辐射时间分别为 5 min、15 min 和 30 min。经电磁辐射检测仪准确测定后,将培养的细胞置于辐射窗口接受不同功率密度的微波辐射,培养液平均温度上升 < 16℃。接受辐射的细胞作为辐射组,同时设定对照组作假辐射处理。辐射不同时间后,继续培养细胞。

四、细胞增殖活性的测定

采用四甲基偶氮唑盐比色法 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT 法) 进行测定。取培养的第 3 代成纤维细胞,消化 5 min,台盼蓝染色计数,将密度为 1 × 10⁶ 个/ml 的细胞接种于 6 孔板中培养,不同功率密度的微波辐射结束后,将培养板置于温度为 37℃、含 5% CO₂ 的培养箱内培养 18 h,每孔加入 20 μl MTT (5 mg/ml),继续培养 4 h,取出后轻轻吸干上清液,加二甲亚砜 150 μl,充分振荡 10 min,置于酶联免疫检测仪上于 570 nm 波长处测光密度 (optical density, OD) 值。

五、细胞周期的检测

密度为 1 × 10⁶ 个/ml 的细胞接受相应功率密度的微波辐射相应时间后,继续培养 16 h。收集细胞,用 PBS 冲洗 2 遍,70% 冷乙醇固定,参照细胞周期检测试剂盒说明书操作,经离心、碘化丙锭染料染色处理后,用流式细胞仪检测每个细胞的荧光强度,测定细胞周期各时相的细胞百分比,用细胞周期分析软件进行分析。

六、前胶原 I 型和 III 型基因表达的检测

采用逆转录-定量聚合酶链反应 (reverse transcription-real time polymerase chain reaction, RT-PCR) 法进行测定。

1. 组织总 RNA 提取:严格按照 Trizol 产品说明书进行。

2. cDNA 的合成:参照 SYBR[®] PrimeScript[™] RT-PCR Kit (TakaRa) 说明书进行,所得 cDNA 用于 PCR 扩增或 -20℃ 保存备用。

3. RT-PCR 法:参照 SYBR[®] PrimeScript[™] RT-PCR Kit (TakaRa) 说明书进行,引物由上海超世生物科技有限公司合成,用 SYBR Green I 染料在 Roche Lightcycler 荧光定量 PCR 仪上检测基因的表达。以磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehydes phosphate dehydrogenase, GAPDH) 为内参照,引物序列见表 1。将表达丰度高的样本 cDNA 系列梯度稀释,作为实时 PCR 扩增模板,用于制备各基因的相对标准曲线。实验中各个标准均做 3 个复孔,另加 3 个无模板的阴性对照。靶基因的表达用 GAPDH 的表达水平校准。用 ΔCt (cycle threshold) 法计算基因的相对表达水平^[8]。

表 1 引物序列

基 因		引物序列
前胶原 I 型	Forward	5' GGAACCTTGGGGCAAGACAGT 3'
	Reverse	5' GGAGGGAGTTTACACGAAGCAG 3'
前胶原 III 型	Forward	5' GCCTCCAGAACATTACATACGA 3'
	Reverse	5' TGTCTTGCTCCATTCCCCAG 3'
GAPDH	Forward	5' GCACAGTCAAGGCCGAGAA 3'
	Reverse	5' CCTCACCCCATTTGATGTTAGT 3'

七、ERK 活化情况的检测

采用抗磷酸化形式的 ERK1/2 抗体,用免疫荧光染色方法进行检测。将细胞接种于 24 孔板中,接受功率密度为 5 W/cm² 的微波辐射 5 min 后,在 37℃ 下继续培养 10 min;取出细胞,用 0.01 mol/L 的 PBS 洗细胞 2 遍;用 4% 多聚甲醛在室温下固定细胞 15 min;用含 0.25% H₂O 的冰甲醇在 4℃ 下通透细胞膜 10 min;用 0.01 mol/L 的 PBS 洗细胞 2 遍,每遍 5 min;用含 0.3% Triton X-100 的 5% 正常羊血清 PBS 在室温下封闭 1 h;加入一抗(抗 ERK1/2, 1:200),在 4℃ 下过夜;用 PBS 洗细胞 2 遍,每遍 5 min;加入二抗(生物素标记的抗兔多抗, 1:100),在 37℃ 下处理 30 min;用 PBS 洗细胞 2 遍,每遍 5 min;加入 Cy3 标记的抗生物素抗体(1:100),在 37℃ 下处理 30 min;用 PBS 洗细胞 2 遍,每遍 5 min;加入 DAPI 染液,室温下反应 5 min;用荧光显微镜观察。同时检测对照组的 ERK 活化情况,方法同上。

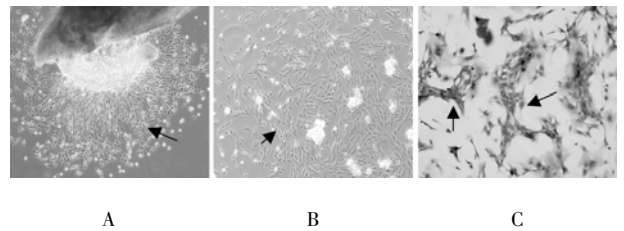
八、统计学分析

研究结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 10.0 版统计软件对各细胞周期的细胞百分比进行 *t* 检验,对各组基因相对含量进行单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

结 果

一、成纤维细胞分离、培养及观察

取自小鼠背部的皮肤经过贴壁生长,长至 5 d 左右,细胞伸展呈梭形和多边形(图 1A)。细胞连续传至第 4 代,呈单层生长,排列整齐,形态舒展,伸展性好,折光性强,有接触抑制(图 1B)。多次传代培养后,成纤维细胞呈优势生长,免疫组织化学分析显示第 3 代以后的细胞绝大部分形态为梭形,胞浆被染成深黄色,为成纤维细胞(图 1C)。

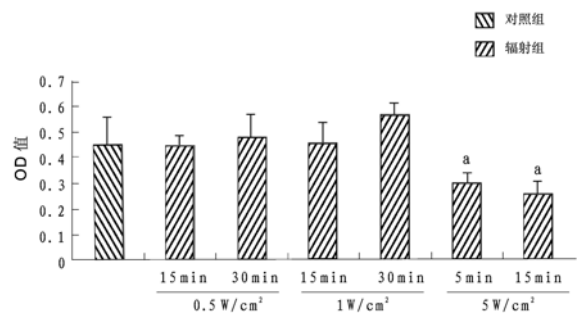


A. 成纤维细胞自组织块中爬出;B. DAB 染色的阴性对照组,经 4 次传代后纯化的成纤维细胞;C. I 型胶原,免疫组化(抗胶原 I 型抗体)法鉴定成纤维细胞

图 1 成纤维细胞分离培养及鉴定

二、微波辐射对成纤维细胞增殖活性的影响

用 MTT 法检测微波辐射对成纤维细胞增殖的影响(图 2),结果显示微波辐射对成纤维细胞的增殖具有直接的抑制作用。对照组 OD 值为(0.45 ± 0.11);功率密度为 0.5 W/cm² 和 1 W/cm² 时,辐射组成纤维细胞的 OD 值与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而功率密度为 5 W/cm² 时,微波辐射能抑制体外培养的正常皮肤成纤维细胞的增殖功能,辐射 15 min OD 值为(0.30 ± 0.04);辐射 30 min OD 值为(0.26 ± 0.05),与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$

图 2 微波辐射对小鼠成纤维细胞增殖活性的影响

三、成纤维细胞细胞周期的改变

功率密度为 5 W/cm² 的微波辐射 5 min,细胞 DNA 合成受到抑制,出现明显的 G₀/G₁ 期阻滞,表现为微波辐射后 G₀/G₁ 期细胞百分比明显升高,与对照

组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); S 期细胞百分比减小, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2, 图 3 和 4。提示功率密度为 5 W/cm^2 的微波可阻断成纤维细胞周期, 使细胞停滞于 G_0/G_1 期。

表 2 成纤维细胞周期各时相的细胞百分比 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	G_0/G_1	G_2	S
对照组	82.40 ± 9.33	11.95 ± 3.46	5.65 ± 1.87
辐射组	86.15 ± 5.73^a	9.65 ± 1.91^a	4.20 ± 1.82^a

注: 与对照组比较, $^a P < 0.05$

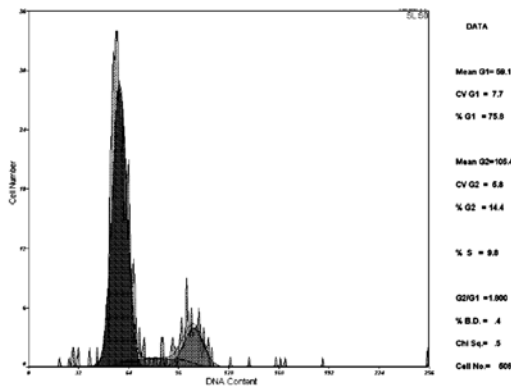


图 3 流式细胞仪检测对照组成纤维细胞周期结果

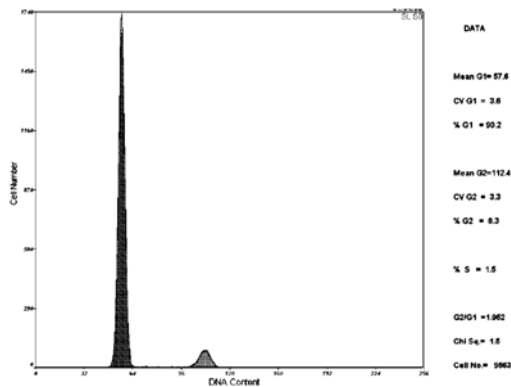


图 4 流式细胞仪检测功率密度为 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min 后成纤维细胞周期结果

四、前胶原 I 型和 III 型基因检测结果

在不同的功率密度下, 微波辐射对成纤维细胞内前胶原 I 型和 III 型基因表达的影响不同; 微波辐射对前胶原 I 型基因 mRNA 表达的抑制作用随时间的延长而增强, 能量密度为 1 W/cm^2 的微波辐射 30 min、 5 W/cm^2 的微波辐射 15 min, 能显著抑制前胶原 I 型基因 mRNA 的表达 ($P < 0.05$); 功率密度为 1 W/cm^2 的微波辐射 30 min、 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min 以上, 能显著下调前胶原 I 型与 III 型基因 mRNA 的比率 (表 3)。此外, 本实验还发现, 能量密度为 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min, 有上调前胶原 III 型基因 mRNA 表达的趋势 ($P < 0.05$), 在其他微波辐射条件下, 前胶原 III 型基因 mRNA 表达与对照组比较, 差异无统计学意义

($P > 0.05$)。

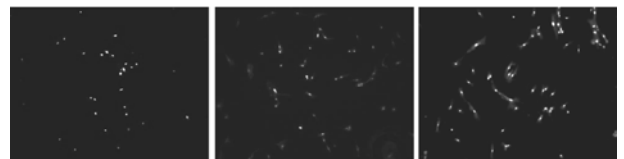
表 3 微波对前胶原 I 型与 III 型基因 mRNA 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	校准后的前胶原 I 型相对于对照组的 2- $\Delta\Delta$ CT	校准后的前胶原 III 型相对于对照组的 2- $\Delta\Delta$ CT	前胶原 I 型/前胶原 III 型
辐射组			
0.5 W/cm^2			
15 min	0.835 ± 0.359	1.214 ± 0.414	0.65 ± 0.11
30 min	0.821 ± 0.147	1.347 ± 0.078	0.59 ± 0.10
1 W/cm^2			
5 min	1.047 ± 0.428	1.335 ± 0.049	0.81 ± 0.25
15 min	0.659 ± 0.024	1.275 ± 0.153	0.47 ± 0.06
30 min	0.518 ± 0.192^a	1.130 ± 0.314	0.45 ± 0.05^a
5 W/cm^2			
5 min	0.853 ± 0.234	2.346 ± 0.115^a	0.40 ± 0.04^a
15 min	0.344 ± 0.384^a	0.826 ± 0.329	0.45 ± 0.14^a

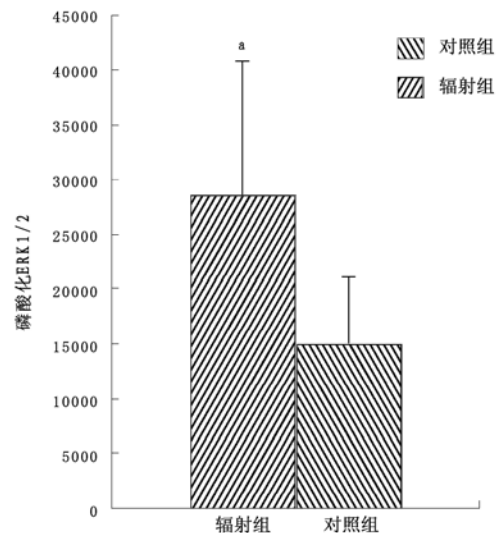
注: 与对照组比较, $^a P < 0.05$

五、ERK 活化情况

通过免疫荧光染色方法观察微波辐射后小鼠皮肤成纤维细胞蛋白质磷酸化情况, 结果发现, 功率密度为 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min, ERK1/2 的磷酸化程度明显比对照组强 (图 5)。



阴性对照组 ($\times 10$) 对照组 ($\times 10$) 辐射组 ($\times 10$)



注: 功率密度为 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min 后成纤维细胞磷酸化 ERK1/2 的表达; 与对照组比较, $^a P < 0.05$; 红色荧光表示磷酸化 ERK1/2, 细胞核被 DAPI 染成蓝色荧光

图 5 荧光显微镜下观察微波诱导磷酸化 ERK1/2 的表达情况

讨 论

成纤维细胞的过度增殖和细胞外基质 (extracellu-

lar matrix) 特别是胶原的过量沉积是产生瘢痕疙瘩及增生性瘢痕的主要病理机制,微波辐射在达到一定能量密度如 5 W/cm^2 时,能直接抑制成纤维细胞的增殖,且其抑制率随能量密度的提高而增高,提示微波辐射对成纤维细胞的增殖具有一定的直接抑制作用,且可能是其治疗瘢痕疙瘩和增生性瘢痕的作用机制之一。

为探讨微波在细胞分子水平对成纤维细胞可能产生的生物学效应,本研究利用体外培养的小鼠皮肤成纤维细胞,以 $5 \sim 30 \text{ min}$ (临床门诊患者常用的治疗时间) 作为研究时间段,检测不同功率密度微波辐射对细胞增殖活性和细胞周期的影响。结果发现成纤维细胞经不同功率密度 (0.5 W/cm^2 、 1.0 W/cm^2 和 5 W/cm^2) 及不同时间 (5 min 、 15 min 和 30 min) 微波辐射后,其生长代谢曲线随着时间的延长而下降。功率密度为 0.5 W/cm^2 和 1.0 W/cm^2 的微波分别辐射 5 、 15 和 30 min ,其成纤维细胞活性与对照组相比,变化不大 ($P > 0.05$); 功率密度为 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min 以上,可抑制体外培养的正常皮肤成纤维细胞的增殖功能,成纤维细胞活性较对照组明显降低 ($P < 0.05$); 功率密度为 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min 后, G_0/G_1 期细胞所占比例明显升高 ($P < 0.05$)。

细胞周期通常存在两个检测点,即 DNA 合成开始时的 G_1 -S 检测点和有丝分裂开始时的 G_2 -M 检测点。这两个检测点可发现细胞 DNA 的损伤和突变,从而将受损细胞阻滞在细胞周期相应时相进行 DNA 修复,无法修复的细胞则发生凋亡或死亡^[9]。功率密度为 5 W/cm^2 的微波可使小鼠皮肤成纤维细胞增殖周期停滞于 G_0/G_1 期,说明微波辐射在引起细胞增殖活性降低的同时,已经损伤了成纤维细胞的 DNA。本研究结果证实,功率密度为 5 W/cm^2 的微波连续辐射 15 min ,可对正常生理状态下小鼠皮肤成纤维细胞产生不利影响,这种影响可能与微波在分子水平的非热效应有关,即为微波的热效应和非热效应共同作用的结果。

现已知,在瘢痕疙瘩和增生性瘢痕组织及其衍生的成纤维细胞中均有 I 型胶原及 III 型胶原合成增加^[10],以及前胶原 I 型与前胶原 III 型 mRNA 比率增高^[11,12]。本研究结果显示,功率密度为 1 W/cm^2 和 5 W/cm^2 的微波辐射,可显著抑制成纤维细胞前胶原 I 型基因的表达,并显著下调前胶原 I 型基因与前胶原 III 型基因 mRNA 的比率,提示能量密度为 1 W/cm^2 和 5 W/cm^2 的微波辐射除能部分抑制成纤维细胞的增殖外,可能更主要是通过抑制成纤维细胞内前胶原 I 型基因的表达从而抑制 I 型胶原的合成,最终有效地阻断瘢痕疙瘩及增生性瘢痕的发展。本研究结果还显示,功率密度为 5 W/cm^2 的微波辐射 5 min ,能上调前

胶原 III 型基因 mRNA 的表达 ($P < 0.05$),而对前胶原 I 型基因的表达无明显的抑制作用,提示不同功率密度的微波辐射不同时间对成纤维细胞内不同类型前胶原基因表达的影响不同。

目前,利用蛋白质的差异激活研究微波辐射临床作用机制的报道较少,本实验对微波辐射后小鼠皮肤成纤维细胞的丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)——ERK-1/2 的激活情况进行了免疫荧光检测,结果发现小鼠皮肤成纤维细胞接受微波辐射 5 min 后即出现 ERK1/2 磷酸化。这与过去的报道基本一致^[13]。同时,MAPK 依赖性细胞信号可抑制凋亡,而 ERK 与 HSP27 等一样,属于应激相关基因,故微波辐射可刺激机体产生应激反应^[14]。一定程度的应激具有保护作用,所以短时间微波辐射对机体的损伤并不严重。

综上所述,体外短时间、高强度微波辐射能降低小鼠成纤维细胞的增殖活性,可阻断成纤维细胞周期,并使细胞停滞于 G_0/G_1 期。微波对成纤维细胞的增殖及其胶原产生的某些相关基因的表达具有直接的作用,且与功率密度相关。微波辐射可使皮肤成纤维细胞磷酸化 ERK1/2 信号转导通路出现差别激活,提示微波辐射导致的成纤维细胞损伤可能是通过 MAPK 信号转导通路的差别激活实现的。然而,微波所发挥的生物学功效并非由单个基因和蛋白的行为引起,而是多基因的协同调控作用及蛋白表达所造成,因此具体的分子学机制仍有待于从更全面的基因表达谱等方面展开研究,才能为更好地利用微波及防治微波对机体损伤提供准确而详实的依据。

参 考 文 献

- [1] Korpan NN, Saradeth T. Clinical effects of continuous microwave for postoperative septic wound treatment; a double-blind controlled trial. *Am J Surg*, 1995, 170: 271-276.
- [2] Detlavs I, Dombrovska L, Turauska A, et al. Experimental study of the effects of radiofrequency electromagnetic fields on animals with soft tissue wounds. *Sci Total Environ*, 1996, 180: 35-42.
- [3] Cherkasov IS, Nedzvetskii VA, Gilenko AV. Biomedical effects millimeter radio waves. *Oftalmologicheskii Zhurnal*, 1978, 33: 187-190.
- [4] Zemskov VS, Korpan NN, Khokhlich I, et al. Effect of electromagnetic radiation with low intensity millimeter range on the course of wound healing. *Klin Khir*, 1988, 31-33.
- [5] Gray H, Williams PL, Bannister LH, et al. *Gray's anatomy: the anatomical basis of medicine and surgery*. New York: Churchill Livingstone, 1995: 412-417.
- [6] Majno G. The story of myofibroblasts. *Am J Surg Pathol*, 1979, 6: 535-542.
- [7] Cleary SF, Liu LM, Merchant RE. In vitro lymphocyte proliferation induced by radio-frequency electromagnetic radiation under isothermal conditions. *Bioelectromagnetics*, 1990, 11: 47-56.
- [8] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data u-

- sing real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*, 2001, 25:402-408.
- [9] Elledge SJ. Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science*, 1996, 274:1664-1672.
- [10] Friedman DW, Boyd CD, Mackenzie JW, et al. Regulation of collagen gene expression in keloids and hypertrophic scars. *J Surg Res*, 1993, 55:214-222.
- [11] Uitto J, Perejda AJ, Abergel RP, et al. Altered steady-state ratio of type I/III procollagen mRNAs correlates with selectively increased type I procollagen biosynthesis in cultured keloid fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, 82:5935-5939.
- [12] Peltonen J, Hsiao LL, Jaakkola S, et al. Activation of collagen gene expression in keloids: colocalization of type I and VI collagen and transforming growth factor beta 1 mRNA. *J Invest Dermatol*, 1991, 97:240-248.
- [13] Caraglia M, Marra M, Mancinelli F, et al. Electromagnetic fields at mobile phone frequency induce apoptosis and inactivation of the multi-chaperone complex in human epidermoid cancer cells. *J Cell Physiol*, 2005, 204:539-548.
- [14] Pomerai D, Danielli C, David H, et al. Non-thermal heat-shock response to microwaves. *Nature*, 2000, 405:417-418.

(收稿日期:2008-01-19)
(本文编辑:吴倩)

· 个案报道 ·

调制中频电治愈老年功能性胃潴留 1 例

张梅 候斌

一、病例介绍

患者,女,67岁。因发烧 8 d 于 2007 年 9 月 8 日就诊。患者 8 d 前无诱因出现发热(具体体温不详)、伴有头痛、右腮部疼痛、纳差、口干、乏力,症状逐渐加重,并出现腹胀、呕吐隔夜宿食。自服黄连上清丸效果差,在当地诊所输注菌必治无效,为进一步诊治收入院。查体:体温 38.2℃,神志清,精神差,脱水貌,右腮腺处肿胀并有明显压痛,右颌下可扪及多个肿大淋巴结,有压痛,其余浅表淋巴结未触及肿大,咽部充血明显,双侧扁桃腺 I° 肿大,双肺呼吸音粗,上腹部膨隆,中上腹压痛伴有振水声,肝脾肋下未及,四肢肌力 IV 级,肌张力正常。查血:白细胞 $1.8 \times 10^9/L$ 、血小板 $44 \times 10^9/L$ 、血钾 3.39 mmol/L、谷草转氨酶 333.33 U/L、白蛋白 27.38 g/L、球蛋白 3.25 g/L、白球比 8.42、乳酸脱氢酶 620.58 U/L、肌酸激酶 232.51 U/L、肌酸激酶同工酶 33.54 U/L、 α -羟丁酸脱氢酶 450.50 U/L。胸片示支气管炎并左下肺炎。心电图:ST-T 改变。B 超示:右侧腮腺肿大;右侧腮腺周围及右侧颈部多发淋巴结肿大。临床诊断为:腮腺炎并颌下淋巴结肿大;粒细胞、血小板减少症;功能性胃潴留;左下肺炎;肝功能损害;冠心病。入院后行全消化道钡餐检查示:胃无力型、空腹可见少量潴留物,餐后 10 h 可见少量钡剂,无明显蠕动,轻度胃下垂。给予头孢哌酮舒巴坦钠抗感染,重组人粒细胞刺激因子、强力升白片、血宁胶囊升高白细胞、止血,多潘立酮增加胃肠动力,还原谷胱甘肽、奥美拉唑、蒙脱石散保护肝功能及胃肠黏膜,白蛋白静滴升高体内白蛋白及补钾等对症治疗,患者自觉全身乏力明显减轻,咳嗽有少量黄色黏痰,体温 37.4℃,血钾正常后,仍腹胀、呕吐隔夜宿食。消化内科会诊,给予胃苏冲剂及莫沙必利口服,停用多潘立酮,建议胃镜检查,患者拒绝检查(一年前胃镜检查:浅表性胃炎),调整服药 3 d 后症状无改善。理疗科会诊,采用 BA2008-I 型电脑中频治疗仪,中频 1~10 kHz,低频 0,125~150 Hz,调制波形:方波、尖波、三角波、锯齿波、指数波、正弦波等。输出峰电

压 $110 \text{ mA} \pm 10\%$,最大输出电流 $100 \text{ mA} \pm 10\%$,7 号处方,6 cm × 10 cm 电极,胃与左下腹部并置,电流强度耐受量,每次治疗 20 min,每日 1 次。治疗 1 次后症状减轻,治疗 2 次后患者腹胀、呕吐停止,进半流质饮食后仍腹胀不适,继续治疗 2 d 症状缓解,渐增普食,治疗 6 d 痊愈。血常规:白细胞 $3.9 \times 10^9/L$ 、血小板 $71 \times 10^9/L$ 、谷草转氨酶 150.38 U/L、白蛋白 26.03 g/L、球蛋白 27.28 g/L、白球比 0.95、乳酸脱氢酶 365.56 U/L、肌酸激酶 57.75 U/L、肌酸激酶同工酶正常、 α -羟丁酸脱氢酶 292.98 U/L,患者经调制中频电治疗后食欲较患病前明显增加,一周后复查血常规、肝功除白蛋白略低外均正常。

二、讨论

功能性胃潴留起因于胃张力缺乏、胃动力障碍、体内感染、低钾血症等^[1]。该患者因体内感染导致功能性胃潴留,而继发低血钾加重胃潴留,形成恶性循环,出现一系列的血液、肝、心功能损害。经抗感染、升高白细胞、增加胃肠动力、保护心肝功能及胃肠黏膜、补钾等对症治疗,感染控制,血钾纠正,但胃动力障碍却无改善,因此治疗的目的是促进胃肠蠕动。低频调制的中频电流能兴奋平滑肌^[2],增加胃肠动力。据文献报道,在老年重症肺部感染患者中,常合并功能性胃潴留,反复的无规律呕吐易引起误吸,导致吸入性肺炎。老年性肺炎并发症多,治疗困难、死亡率高,是目前危及老年人健康和生命的主要因素之一^[1]。该病例提示我们,对于此类老年患者在药物治疗的同时,尽量早期配合调制中频电治疗是一种简便易行且疗效肯定的较好疗法。

参 考 文 献

- [1] 朱惠莉,周伊南,符礼刚.老年人肺部感染合并胃潴留的临床分析.老年医学与保健杂志,2006,12:156-159.
- [2] 郭万学,主编.理疗学.北京:人民卫生出版社,1984:178.

(收稿日期:2008-01-15)
(本文编辑:松明)