

# 稳频与非稳频激光对大鼠脑 NADH 作用的比较\*

沈 政 张运生 吕亚兵 林庶芝

(北京大学心理系, 北京)

**摘要**——用塞曼横向稳频的氮-氩激光(STZL)与非稳频氮-氩激光, 对大鼠脑海马进行低功率激光照射(632.8 nm, 0.16 mW), 结果表明: STZL 使间脑内 NADH(还原型辅酶 I) 浓度降低, 海马 NADH 浓度增加; 非稳频激光也可使海马 NADH 浓度增加, 但其作用比 STZL 弱. 无论是 STZL 还是非稳频激光, 都不能改变离体 NADH 纯样品的浓度. 这些结果说明, 两种激光对脑 NADH 的作用是一种复杂的生化过程, 而且 STZL 的这种效应比非稳频激光强.

**关键词**——塞曼横向稳频激光, 光导纤维, 海马, 间脑, 还原型辅酶 I(NADH).

## 1. 引 言

非稳频氮-氩激光或氮分子激光, 经光导纤维导入脑深部结构, 能引起脑内单胺类和氨基酸类多种生物活性物质含量的变化<sup>[1]</sup>. 这种生化改变不但影响了脑电活动, 也产生了动物行为效应<sup>[2,3]</sup>. 可能是由于非稳频激光频率不稳定形成一定的频带宽度而引起脑内多种生物活性物质的改变, 也可能是由于激光作用于脑代谢的更一般环节上, 因而带来了多种活性物质的变化. 为此, 本文探讨塞曼横向稳频激光与非稳频激光在脑内的生物作用机制, 并加以对比; 另外, 测定脑能量代谢中的重要物质——NADH 受激光照射后的变化.

NADH 是脑能量代谢中重要的电子传递和氢传递体, 因此它成为许多氧化还原酶的辅因子. 无论是从体外向脑内注入 NADH, 还是通过苯丙胺药物作用引起脑内 NADH 含量增高, 均能增强大白鼠的跳跃行为<sup>[4,5]</sup>. 用 13.3 mW 的氮-氩激光照射 NADH 与乳酸脱氢酶的混合液, 可以改变 NADH 的氧化速率<sup>[6]</sup>. 由此可见, 对比在活体内和活体外不同条件下, 低功率激光对 NADH 作用的差异, 不仅对阐明激光生物效应的机制, 而且对探讨大脑的奥秘都有一定的理论意义. 此外, 对比塞曼横向稳频新技术<sup>[8]</sup>与非稳频激光生物效应的差异, 将为激光生物学研究寻求新的启示.

本文 1988 年 7 月 19 日收到.

\* 本项目由国家自然科学基金资助.

## 2. 仪器与实验方法

### 2.1 实验仪器

采用京大学无线电厂生产的 JWII-1 型塞曼横向稳频器, 将其与非稳频激光器联机工作。由于它配用带有电压陶瓷的气体激光管, 在横向磁场作用下产生塞曼裂变, 形成两束互相垂直的偏振光, 产生拍频信号, 经电子锁频、锁相线路对激光管共振腔长的变化反馈性调节, 从而实现了激光的稳频锁相, 使激光器输出的光频频率稳定性优于  $5 \times 10^{-11}$ , 光频的频率再现性在半年时间内保持在  $5 \times 10^{-9}$  水平。

如果不对输出激光进行稳频、锁定或完全不开启稳频器, 则经同一激光器发出的激光为非稳频激光。除其单色性略差外, 输出功率与稳频激光相同, 均为  $1 \text{ mW}$ 。

用五维精密微调器, 将石英芯光导纤维(直径  $200 \mu\text{m}$ )与氦-氖激光耦合, 再用中国科学院物理所研制的 LPE-1 型激光功率/能量测试仪, 对耦合光纤远端输出的激光功率进行精细测定。调节五维精密微调器, 以保证光纤远端激光输出功率在每次实验中均为  $0.16 \text{ mW}$ , 其辐照强度大于我们以前实验所用的光强<sup>[1-3]</sup>, 目的在于保证得到更稳定的光生化效应。

### 2.2 实验方法

选用体重  $200 \sim 300 \text{ g}$  的大白鼠 34 只, 随机分为四组: 包括正常组(9 只)、对照组(7 只)和两个实验组(各 9 只)。正常组的实验不做预处置, 直接将大白鼠剪头取脑, 测定各个脑区的 NADH 含量; 对照组的实验除了不导入激光外全部处置与实验组相同; 两个实验组的实验分别导入脑内稳频激光和非稳频激光, 照射 5 分钟时间与我们以前的工作<sup>[1]</sup>大体一致。除正常组外, 其余三组的大白鼠均在正式实验前两天预先进行手术, 以  $50 \text{ mg/kg}$  体重剂量的异戊巴比妥钠在腹腔内注射, 将大白鼠麻醉。然后将大白鼠头固定于脑立体定位仪上, 对颅骨进行定位钻孔, 埋植尼龙套管, 再以牙科用水泥固定。经手术的大白鼠两天后恢复了正常, 即可进行正式实验, 把实验用大白鼠固定于实验台上, 调节耦合好的光导纤维, 使之远端输出功率为  $0.16 \text{ mW}$ , 再将其远端沿动物头颅上预置的尼龙套管插入脑内的海马中。激光照射五分钟后, 立即停止实验, 迅速取出光导纤维并将大白鼠头剪掉, 取脑进行生化分析。

将大白鼠脑剥离出, 放在冰冷的平皿上, 按大白鼠脑图谱分离出皮层、海马、尾状核、间脑、小脑和脑干等六个区, 在每区取出部分脑组织, 分别称重后制成脑组织匀浆, 按我们以前方法<sup>[4,5]</sup>, 分别测定出 NADH 的含量, 计算出各组大白鼠每一脑区的 NADH 浓度的平均值和标准差, 对各组平均数间的差异, 用统计学的 Student's *t* 考验和多变量 *F*-考验进行处理。

根据海马区 NADH 的浓度( $6.00 \mu\text{mol/g}$ )配制离体 NADH 溶液, 从这种溶液中取 18 个样品, 每一样品为  $2 \text{ ml}$ 。在每一样品中插入光导纤维 5 分钟, 其中 6 个样品为对照组, 不导入激光; 另外 6 个样品导入稳频激光。激光处理组所用激光强度与脑内活体照射相同, 对样品内 NADH 浓度进行生化测定的方法也与脑组织相同。

生化测定用的标准样品, 及配制离体样品的 NADH 为西德 Boehringer 公司的产品。

### 3. 实验结果与讨论

#### 3.1 离体实验

对三组离体样品进行 340 nm 光吸收后测定发现, 它们的消光度分别是  $0.427 \pm 0.024$  (未照射组),  $0.417 \pm 0.019$  (非稳频激光照射组) 和  $0.420 \pm 0.014$  (STZL 照射组)。两种激光照射组与未照射组之间的差异经 Student's *t*-检验均未达到明显效果。说明这两种激光照射均未引起 NADH 的光分解反应, 对 NADH 分子不发生直接作用。这一结果与 Passarilla<sup>[6]</sup> 研究结果不同, 他们以 13.3 mW 的非稳频氦-氖激光照射 NADH 和乳酸脱氢酶的混合液, 加速了 NADH 的氧化速率。这可能是由于氦-氖激光通过对乳酸脱氢酶的作用, 也可能是由于所用激光强度大(比本实验大 80 多倍)所造成。因此, 在本实验条件下, 我们认为: 两种激光在低功率时, 并不能直接作用于 NADH 分子。

#### 3.2 活体实验

表 1 为 He-Ne 激光照射对脑内 NADH 浓度的影响。表内数值, 根据平均值 ( $\mu\text{mol/g}$ )  $\pm$  标准差与对照组相应脑区之间平均值差异的显著性来分, “\*”为  $P < 0.05$  “\*\*”为  $P < 0.01$ 。对表 1 中 34 只大白鼠六个脑区 NADH 浓度的分析表明, 正常组、对照组的六个相应脑区之间没有明显差异, 这说明埋植尼龙套管手术与向海马插入光导纤维的处理, 对各脑区 NADH 浓度没有影响。其次, 对正常组、对照组和非稳频激光照射组的各自 6 个脑区之间的差异进行数理统计的多变量分析 (*F*-检验), 结果发现:

表 1 He-Ne 激光照射海马对脑内 NADH 浓度的影响  
Table 1 The effect of He-Ne laser irradiation at hippocampus  
on brain NADH concentration (Mean  $\mu\text{mol/g} \pm \text{SD}$ )

组别	脑区						各脑区浓度差 ( <i>F</i> 检验)
	皮层	海马	尾状核	间脑	小脑	脑干	
正常组 (N=9)	7.76 $\pm$ 1.41	6.25 $\pm$ 1.69	7.76 $\pm$ 1.38	8.04 $\pm$ 1.96	8.04 $\pm$ 1.27	7.19 $\pm$ 0.99	$P > 0.05$
对照组 (N=7)	7.76 $\pm$ 2.26	6.01 $\pm$ 0.97	6.89 $\pm$ 2.79	8.53 $\pm$ 2.04	7.83 $\pm$ 2.24	7.16 $\pm$ 2.07	$P > 0.05$
非稳频组 (N=9)	7.98 $\pm$ 3.00	*8.87 $\pm$ 3.19	6.81 $\pm$ 2.13	7.06 $\pm$ 2.48	7.56 $\pm$ 1.83	7.77 $\pm$ 1.78	$P > 0.05$
稳频组 (N=9)	7.29 $\pm$ 2.65	**11.52 $\pm$ 2.50	6.36 $\pm$ 1.79	*5.98 $\pm$ 2.02	9.64 $\pm$ 2.89	7.70 $\pm$ 2.16	$P < 0.05$

三组大白鼠 6 个脑区浓度差不十分明显, 说明对于这三组大白鼠中, 各脑区之间 NADH 浓度虽有一定差异, 但基本上是一致的。将非稳频激光照射组或稳频激光照射组各脑区 NADH 浓度, 分别与对照组相应脑区之间的浓度差, 进行统计学上的 *t* 检验 (Student's *t*-Test), 结果发现: 非稳频激光照射仅引起海马内 NADH 浓度的轻度升高 ( $P < 0.05$ ); 而塞曼横向稳频激光则引起海马 NADH 浓度非常明显的升高 ( $P < 0.01$ )。此外, 塞曼横向稳频激光还引起间脑 NADH 浓度下降, 并使六个脑区之间的浓度差达明显水平 (多变量分析,  $P < 0.05$ )。塞曼横向稳频激光比非稳频激光对脑 NADH 浓度有较强的生化效应, 它的作

用不仅出现在激光照射的部位(海马),也扩展至间脑等其他未受照射的脑区。对照离体研究的结果,可以说明激光对脑 NADH 浓度的影响不是直接作用于 NADH 分子上,可能是通过脱氢酶等复杂生化过程而实现的。

脑内 NADH 是在葡萄糖酵解和氧化过程中形成的,一个葡萄糖分子完全为脑组织利用时,可形成十个分子的 NADH。随后在氧化磷酸化过程中, NADH 分子又被氧化成  $\text{NAD}^+$ , 依次将氢和电子传递给辅酶 Q、细胞色素 b、c、a、直至氧分子。每个 NADH 分子将电子传递给氧的整个过程,可形成三个分子高能磷酸键物质(ATP),为脑活动所利用。因此,激光照射引起脑海马中 NADH 含量的增高,可能是由于葡萄糖代谢过程被加速,也可能是由于细胞呼吸链的电子传递过程被抑制。

根据我们以前的研究<sup>[1]</sup>,光纤导入的低功率激光在脑内仅作用于不超过  $1\text{mm}^3$  体积的脑组织范围内。因此,本实验中稳频激光的照射对海马、间脑 NADH 含量的影响,主要是由两个脑结构之间的神经联系而实现的。神经解剖学早就发现,海马通过穹窿与间脑的乳头体和前核有着直接的神经联系。由此可见,由光纤导入脑内的稳频锁定激光对 NADH 的影响可能成为研究脑内神经联系的一种新的手段。

#### 参 考 文 献

- [1] Shen Zheng, Xiao Jian, Lin Shu-Zhi, Wang Li-Hua, *Neuroscience Letters*, **32**(1982), 2: 203.
- [2] Shen Zheng, Xiao Jian, Lin Shu-Zhi, Wang Li-Hua, *Lasers in Surgery and Medicine*, **2**(1983), 3: 231.
- [3] She Zheng, Xiao Jian, Lin Shu-Zhi, *Kezue Tongbao*, **30**(1985), 12: 1693.
- [4] She Zheng, Lin Shu-Zhi, *Life Science*, **37**(1985), 8: 731.
- [5] She Zheng, Lin Shu-Zhi, *Acta Pharmacologica Sinica*, **8**(1987), 2: 97.
- [6] Passarilla S., In S. Mastellui and A. N. Chester(Eds) *Laser Photobiology and Photomedicine*, Plenum Press, New York, 1985, 67.
- [7] Passarilla, S., *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **10**(1983)2: 185.
- [8] 王楚、吴义芳、沈伯弘, *北京大学学报(自然科学版)*, (1987), 1: 102.

## COMPARISON OF EFFECTS OF STABILIZED AND NON-STABILIZED LASERS ON BRAIN NADH OF RATS\*

SHEN ZHENG, ZHANG YUNSHENG, LU YABING, LIN SHUZH

*(Department of Psychology, Peking University, Beijing, China)*

### ABSTRACT

The rat brain is irradiated by either frequency-stabilized transverse Zeeman He-Ne laser (STZL) or non-stabilized He-Ne laser. The results show that STZL decreases NADH concentration in diencephalon, but increases NADH in hippocampus. The non-stabilized laser increases NADH in hippocampus too, however, its effect is less than that of STZL. Neither STZL nor non-stabilized laser can change NADH concentration in samples in vitro. The results suggest that the effect of both lasers on brain NADH is a complicated biochemical process, and the effect of STZL is stronger than that of non-stabilized laser.

---

\* Project Supported by the Fund of the Natural Sciences of China.