

69 101-106

大白鼠皮肤低电阻点的成因初探

李自双* 欧阳克清 张显全 俞为群 蔡绍哲

(重庆大学生物工程研究院, 重庆, 400044; 第一作者 30岁、男、博士生)

R318.03
R224.1

摘要 用形态计量学方法和硝酸铜浸染法在光镜与电镜下对大白鼠皮肤高电阻点和低电阻点的表皮细胞结构进行了比较研究。发现低电阻点表皮细胞缝隙连接数目明显多于高电阻点,其直径也较高电阻点大,其它结构未见区别。

关键词 大白鼠 / 皮肤电阻; 缝隙连接; 表皮

中国图书资料分类法分类号 Q-331; R224.1

经络

0 引言

50年代初中谷义雄首次报告,在人类体表存在一系列低电阻点,其位置多数与经典穴位一致。此后在人与动物体上进行了一系列实验,大多数观察者实验者都支持这一论点,进一步证实,不仅穴位,而且在经络体表循行线处的皮肤也具有低电阻的性质^[1],因而经穴低电阻性质的结构基础问题受到学者们的关注。

然而,皮肤低电阻的结构基础迄今仍然不清楚。有证据表明^[2],皮肤电阻的差异与汗腺的活动或皮下脂肪的厚度有关,有人报告,人或动物皮肤低电阻(或连线)下神经干和神经末梢较周围皮肤丰富,但这一现象与皮肤电阻特点的关系尚待研究。龚启华等报告,在兔耳低电阻点下毛细血管与淋巴管密集,认为这是造成皮肤低电阻的原因,但另一方面早已证实,阻断血液循环并不能改变皮肤电阻。

在探讨皮肤低电阻点的结构基础时,需要考虑以下几个重要事实:1)人死后皮肤低电阻仍可保持相当时间,这提示皮肤低电阻的存在不依赖神经支配或血液循环的维持,而很可能是皮肤结构固有的物质特性的一种反应;2)一般实验室或临床上常用的测量皮肤电阻的仪器均有两个电极,用这种仪器所测的皮肤电阻主要反映了表皮的物理性质;3)除去表皮后,皮肤原有的低电阻点、低电阻线也消失。因此,如果皮肤低电阻点的结构确实不同于周围皮肤,那么这种区别很可能存在于表皮中。

为了探究皮肤低电阻点形成原因,找出经络的物质基础,我们用光镜与电镜方法对皮肤低电阻点与高电阻点的表皮结构进行了研究。

* 收文日期 1996-11-12

** 作者现在南宁广西大学工作

1 材料与方法

由重庆医科大学提供的体重为200~250 g的大白鼠4只(雄性2只,雌性2只),用于胃经研究。

1.1 皮肤电阻的测量

对大白鼠用20%乌拉坦腹腔注射麻醉(5 mL/kg 体重),去毛,暴露出测试部位。根据比较解剖学在胸腹确定胃经的体表循行线,并用皮肤电阻测试仪校对。该仪器有两个电极。参考电极为棒状,测量时用盐纱布缚于后肢。探测电极尖端为球形,直径1 mm,电极皮肤压力为40 g/mm²。每个皮肤点测量时间为5 s,测量电压为10 V,交流1000 Hz。参考电极位置,大白鼠尾部。在每条经线外侧2~3 mm处测得一高电阻线作为对照线。

1.2 皮肤样品的制备

每条经线与对照线确定和标记后,随机剪取宽1 mm,长5~7 mm的皮肤三条,使标记线在皮肤中间。按常规电镜样品制备方法固定、脱水和包埋,但在固定剂中加入2%硝酸镧,立即固定并用硝酸镧浸染。方法如下:3%戊二醛(0.1 mol/L二甲砷酸钠缓冲液,pH7.2,内含2%硝酸镧)固定3小时;然后用0.11 mol/L二甲砷酸钠缓冲液,pH7.2,浸泡15分钟(中间换液体1次),洗去多余固定液;1%四氧化锇(0.067 mol/L二甲砷酸钠缓冲液,pH7.2,内含2%硝酸镧)固定2小时。然后经乙醇系列脱水和环氧树脂包埋。每个包埋块均在标记端作0.5 μm的半薄切片和50~60 nm的超薄切片。

1.3 形态计量学分析^[3]

每一结构清晰的半薄切片在电镜下随机拍摄1~2张,表皮细胞照片最终放大倍数为1500倍,并在其上测量表皮细胞核的截圆直径。将截圆直径按大小从0到最大值分为等间距的14组。用作直方图补足小截圆数。表皮细胞核截圆的平均直径

$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i d_i}{\sum_{i=1}^k n_i} \quad (1)$$

其中 n_i 为第 i 组截圆数, d_i 为第 i 组截圆直径的中值,于是表皮细胞核的平均直径

$$D = \frac{1 + \frac{T}{D}}{1 + \frac{4}{\pi} \frac{T}{D}} \left(\frac{4}{\pi} \bar{d} \right) \quad (2)$$

其中 T 为切片厚度,由此可算出细胞核的平均体积

$$V_n = \frac{\pi}{6} D^3 \quad (3)$$

在照片上用点计数法测量细胞核体密度 V_n , 于是表皮细胞的平均体积

$$V_c = \frac{V_n}{V_{n'}} \quad (4)$$

表皮及角质层厚度用半薄切片的光镜照片测量。每个包埋块观察 3~5 张切片, 在切片中间和两端分别测量表皮全层和角质层, 取三者均值作为该包埋块有关参数值。

每一结构平整的超薄切片在 20 000 电镜下取机拍摄 2 张表皮细胞照片, 经光学放大后, 测量桥粒和细胞间隙体密度。

在 20 000 倍电镜下, 对每一次埋块随机观察表皮细胞切面面积 300 nm², 计数所见的缝隙连接, 据此计算出单位面积细胞切面上的缝隙连接数(面数密度)。

设缝隙连接为一圆盘, 由于切割部位和角度的随机性, 在截面上所测得的平均长度 d 将小于圆盘的直径 D , 而测得的平均密度 $\bar{\omega}$ 将大于圆盘的真值 $\bar{\tau}_d$ 按文献[3], 其关系分别为

$$D = \frac{4}{\pi} d \quad \text{和} \quad \bar{\tau}_d = \frac{\pi}{4} \bar{\omega} \quad (5)$$

因此, 圆盘的平均直径 $D = \frac{2 + \pi K}{4K}$, 其中 $K = \frac{D}{r_d}$, 平均外切直径是指设想用两个平行的平面在不同方向测量圆盘直径所得数值的平均值。确定 D 后, 而圆盘基底的平均面积:

$$S = \frac{\pi}{4} D^2 \quad (6)$$

测得缝隙连接数密度 N_v 后, 则可计算出每个表皮细胞上缝隙连接数 N_E

$$N_E = N_v \cdot V_c \quad (7)$$

而 S 相当于在表皮细胞上每个缝隙连接的平均面积, 平均面积由(6)(7)求出

$$S_E = N_E \cdot S \quad (8)$$

2 结 果

2.1 皮肤电阻

在一定测试条件下, 用皮肤电阻测量仪测出的皮肤电阻值表明: 经线上各点皮肤电阻值明显小于其邻近对照组线上的皮肤电阻值, 经线上皮肤电阻值约为对照线的一半, 见表 1。

表 1 大白鼠经线与对照皮肤电阻的比较 $k\Omega$

| 经线电阻值 R_b | 对照线电阻值 R_c | P 值 |
|---------------------|---------------------|-----------|
| $30.5 \pm 11.7(28)$ | $73.2 \pm 19.2(28)$ | < 0.001 |

P ——百分率($P < 0.05$, 表示有显著性差异)

2.2 表皮细胞体积

光镜下的定性观察未见经脉与其对照表皮细胞体积有明显差异, 表皮细胞核的平均体积、体密度和表皮细胞的平均体积定量分析见表 2。

表2 表皮细胞核与细胞体积 μm^3

| 表皮细胞核平均体积 V_n | 表皮的细胞核体密度 $V_{vn}/(\%)$ | 表皮细胞平均体积 V_c |
|-----------------|-------------------------|--------------------|
| 112(20) | $6.42 \pm 1.00(20)$ | $1730 \pm 290(20)$ |

2.3 表皮细胞的缝隙连接

在硝酸银浸染的皮肤超薄切片上,大白鼠表皮细胞的缝隙连接主要见于基层、棘层或棘层与颗粒层细胞间,偶尔见于颗粒层细胞间。其分布不均匀,总是相对集中于表皮的某些区域,在20 000倍电镜下,多数情况可能看不到一个缝隙连接,但有时能见2、3甚至4个以上的缝隙连接,这种情况主要见于经线表皮细胞(见图1),表3是经线及其邻近对照表皮细胞缝隙连接特点和定量分析的结果。由表3可见经线表皮缝隙连接的面数密度明显高于其邻近对照表皮,这与定性观察结果一致;经线表皮细胞的缝隙连接数密度及面积都明显大于其对照表皮。

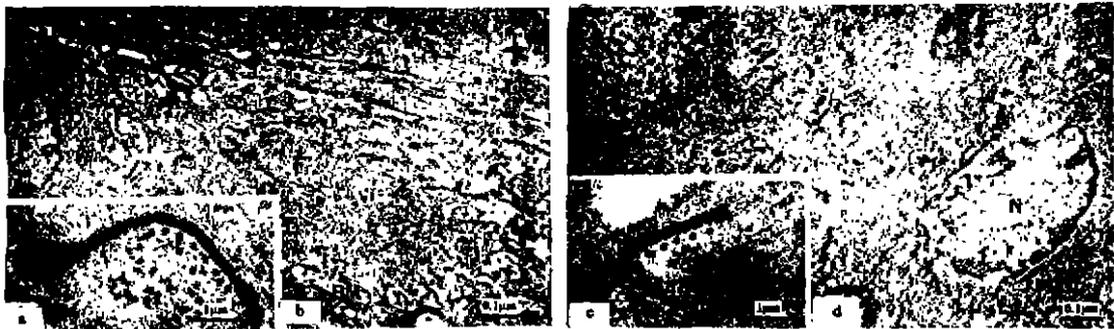


图1 大白鼠皮肤低电阻点及对照表皮细胞缝隙连接

- a 缝隙连接的分布与密度,箭头指示缝隙连接, BM——基底膜, N——细胞核;
 b a中↑所指的缝隙连接放大像, * 缝隙连接的范围;
 c 皮肤高阻点表皮细胞的低倍放大像,视野中能见到缝隙连接↑;
 d c中缝隙连接的放大像, * 缝隙连接的范围

表3 大白鼠胃经及其对照表皮细胞缝隙连接的结构参数

| | 经线 | 对照 | P值 |
|--|----------------------|---------------------|-----------|
| 面数密度 $N_{vn}/10^{-3} \mu\text{m}^{-2}$ | $4.3 \pm 0.6(20)$ | $0.9 \pm 0.1(20)$ | < 0.001 |
| 数密度 $N_c/10^{-3} \mu\text{m}^{-2}$ | $19.6 \pm 2.7(20)$ | $9.2 \pm 1.7(20)$ | < 0.01 |
| 平均外径 $D/\mu\text{m}$ | $0.22 \pm 0.02(20)$ | $0.09 \pm 0.01(20)$ | < 0.001 |
| 平均面积 $S_E/10^{-3} \mu\text{m}^2$ | $63.93 \pm 0.33(20)$ | $9.92 \pm 0.01(20)$ | < 0.001 |
| 每个表皮细胞缝隙连接数 N_E | $38.9 \pm 4.7(20)$ | $15.3 \pm 2.5(20)$ | < 0.05 |
| 每个表皮细胞缝隙连接面积 $S/\mu\text{m}^2$ | $2.32 \pm 0.29(20)$ | $0.14 \pm 0.01(20)$ | < 0.01 |

2.4 表皮其它结构参数

除缝隙连接外,还分析了表皮中其它可能影响电阻结构的结构参数,这些结构参数在经脉与对照间未见显著差异。

表 4 大白鼠胃经表皮结构参数 μm

| | 径线 | 对照 | P 值 |
|-----------------------|--------------------|--------------------|----------|
| 表皮全层厚度 T_1 | $30.0 \pm 1.9(20)$ | $29.2 \pm 1.7(20)$ | > 0.05 |
| 角质层厚度 T_2 | $7.0 \pm 0.6(20)$ | $7.2 \pm 0.8(20)$ | > 0.05 |
| 表皮细胞层数 n_1 (不包括角质层) | $2.4 \pm 0.01(20)$ | $2.4 \pm 0.01(20)$ | > 0.05 |
| 细胞间隙体密度 $V_1/(\%)$ | $2.5 \pm 0.2(20)$ | $2.3 \pm 0.2(20)$ | > 0.05 |
| 桥粒体密度 $V_2/(\%)$ | $2.6 \pm 0.3(20)$ | $2.8 \pm 0.3(20)$ | > 0.05 |

3 讨 论

根据比较解剖学及大量实验表明,在动物体存在一条条与人体相似的皮肤低电阻线(只不过这些线不是一条条连续不断的直线,而是由一些离散点组成的点组)^[1]。故我们选择了大白鼠用于胃经研究。笔者先对大白鼠胃经表皮缝隙连接特点与对照点进行定性观察,发现胃经表皮缝隙连接数密度及面积明显高于其对照表皮。在发现此规律基础上,不失一般性。笔者对每一标本进行了定量分析,定量分析在于随机选择拍摄照片 20 张,按前面所介绍方法进行计算。

实验结果表明:在大白鼠经脉线上随机取材的皮肤样品中,其表皮中缝隙连接不仅数目多,而且面积大;以单个表皮细胞计算,其缝隙连接面积为邻近组十倍以上,以上结果说明经络和穴位的表皮是由丰富的缝隙连接偶连起来的,因而在通讯能力上明显高于邻近表皮特征细胞群。研究这些细胞群的起源,它们在功能上的特点及其与经络功能和特点间的关系,将有助于经络实质的阐明,也为阐明经络的治病原理奠定了物质基础。

从现有的证据看,经穴表皮的上述结构特点至少与其低电阻性质有关。这是因为:

1) 已有充分证据证明^[4],缝隙连接是细胞连接通讯的结构基础,小分子和离子可经由缝隙连接在相邻的细胞内部自由扩散,并因而构成细胞间的低电阻通道。这些事实提示,由丰富的缝隙连接偶连的一串(如在经脉线上)或一组(如在穴位)表皮细胞其电阻必将低于邻近缝隙连接少的区域;

2) 真皮与表皮结构如图 2 所示,图中 $R_{\text{真}}$ 与真皮层相对,应而 C_1 和 R_1 与表皮层相对应, R_1 为表皮层等效串、并联电阻的总和,而缝隙连接相当于其中的并联电阻且阻值较低,对于真皮层 $Z_{\text{真}} = R_{\text{真}}$; 缝隙连接增加,相当于并联电阻的个数增加,将使得总的等效电阻 R_1 减小。

所以缝隙连接越多,该处表皮阻抗越小,这可解释为什么在经穴处低阻抗这一实验事

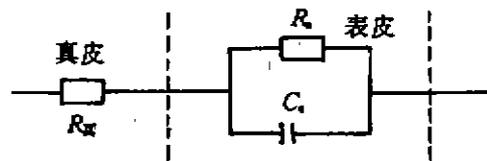


图 2 等效电路模拟模型图

实;

3) 已证实^[5,6],降低细胞内 pH 值,减小细胞外钙离子浓度或抑制细胞代谢可使细胞通讯去偶连(即缝隙连接通道关闭),而提高 pH 值或给肾上腺素等,则能使细胞通讯偶连增强。这不仅从另一个侧面证明表皮中缝隙连接可能与皮肤阻抗有关,而且酸、碱以及神经递质和激素对皮肤阻抗的调节作用,也可解释经穴阻抗因生理和病理状态而发生变化的事实。

参 考 文 献

- 1 李自双. 智能化穴位电阻检测仪的研制及实验研究,北京生物医学工程,1996,15(1):27~30
- 2 王昭威. 五年来我国经络现象研究进展. 针刺研究,1984,9(3):207
- 3 郑富盛. 细胞形态立体计量学. 北京:北京医科大学和协和医科大学联合出版社,1990. 23~26
- 4 Spray D C, Bennett M V, physiology and pharmacology of gap junction. Ann Rev Physiology, 1985, 47: 281
- 5 樊累禹. 弱酸弱碱对小鼠皮肤导电性的影响. 基础医学与临床, 1991, 11(2): 118
- 6 Fan J Y. The role of gap junctions in determining skin conductance and their possible relationship to acupuncture points and meridians. Am J Acupuncture, 1990, 18(2): 163

A Study of the Origin of Low Electric Resistance Points on Rat Skin

Li Zishuang Ouyang Keqing Zhang Xianquan Yu Weiqun Cai Shaoxi
(Bioengineering Research Institute, Chongqing University)

ABSTRACT A comparative study on the epidermis structure at high and low electric resistance points on rat skin was carried out at both light and electron microscope level, with morphometry and impregnation technique of lanthanum nitrate. The results showed that the amount of gap junctions at low resistance points was evidently higher and their diameters were larger than those at high resistance points, while no differences were found in other structure parameters between the two types of skin points. It is assumed that the gap junction may be the structure basis for the difference in skin electric resistance.

KEYWORDS reattus norvegicus / skin electric resistance; gap junction; epidermis