

# 细胞外液低钾对小鼠心室肌细胞跨膜电位影响的定量分析

杨素雨 高 倩 闫 莉 谷婧丽 郝 维 曹济民

**摘 要** **目的** 研究不同程度细胞外低钾对心肌细胞跨膜电位的效应,阐明低钾对心肌细胞电生理特性的详细影响。**方法** 分离 C57BL/6J 小鼠的左心室乳头肌,采用标准玻璃微电极胞内记录技术记录心室肌细胞的跨膜电位,观察细胞外液  $K^+$  浓度由正常的 5.4 mmol/L 分别降为 3、2、1 和 0 mmol/L 时,心室肌细胞跨膜电位各参数的变化。**结果** 低钾对心肌细胞的静息电位 (RP) 有双向影响:细胞外  $K^+$  浓度降为 3 mmol/L 时,RP 显著增大 (超极化) ( $P=0.000$ ),而细胞外  $K^+$  浓度降为 2、1 和 0 mmol/L 时,细胞 RP 先显著增大后显著减小 ( $P=0.000$ ),这些结果异于传统观点。当细胞外液  $K^+$  浓度为 3 mmol/L 时,动作电位振幅 (APA) 和 0 期最大除极速度 ( $V_{max}$ ) 均增大,动作电位时程 APD10、APD20、APD50 和 APD90 均显著缩短 ( $P<0.05$ ),而动作电位复极到 APD90 后,复极速度减慢,即复极化有拖尾现象。当细胞外  $K^+$  浓度为 2 mmol/L 时,APA 极度减小, $V_{max}$  明显减慢,AP 呈侏儒型,而当细胞外  $K^+$  浓度为 1 和 0 mmol/L 时,细胞兴奋性丧失,电刺激不能诱发动作电位。此外,低钾可诱发早期后除极以及连串的触发活动,且后者两种形式,也表现为量-效和时-效的特点。**结论** 细胞外液低钾对心室肌细胞的 RP、APA 和  $V_{max}$  有双重影响:中度低钾 ( $K^+$  3 mmol/L) 使这 3 个参数均增大;重度低钾 ( $K^+$  2 mmol/L 及以下) 使这 3 个参数均减小;低钾使动作电位早期复极加快,晚期复极减慢;极度低钾 ( $K^+$  1 mmol/L 及以下) 会导致心室肌细胞的兴奋性丧失;中、重度低钾可导致心室肌细胞发生早期后除极及连串的触发活动,后者相当于细胞水平的心动过速,但不是工作细胞获得了自律性。本研究在一定程度上澄清了以往对低钾的心肌电生理效应的模糊认识。

**关键词** 低血钾 心肌细胞 静息电位 动作电位 触发活动

**中图分类号** Q414, Q463, R337.5

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.01.006

**Quantitative Analysis of the Effects of Hypokalemia on the Transmembrane Potential of Mice Cardiomyocytes.** Yang Suyu, Gao Qian, Yan Li, et al. Department of Physiology, Institute of Basic Medical Sciences Chinese Academy of Medical Sciences, School of Basic Medicine Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

**Abstract** **Objective** To investigate the effects of hypokalemia on the transmembrane potentials of cardiomyocytes, aiming to clarify ambiguous understandings and the detailed effects of hypokalemia on myocardial electrophysiology. **Methods** Isolated left ventricular papillary muscles of C57BL/6J mice were used as a model. The transmembrane potentials of ventricular myocytes were recorded intracellularly using the standard microelectrode technique, and extracellular  $K^+$  concentrations (in mmol/L) were set at 5.4 to 3, 2, 1 and 0. **Results** Low extracellular potassium showed bidirectional effects on the resting potential (RP): RP increased significantly when extracellular  $K^+$  concentration was reduced to 3 mmol/L ( $P=0.000$ ), RP increased first and then decreased when extracellular  $K^+$  concentrations was reduced to 2, 1, and 0 mmol/L ( $P=0.000$ ). Three mmol/L extracellular  $K^+$  increased the action potential amplitude (APA) and the maximal depolarization velocity ( $V_{max}$ ), and shortened the action potential duration (APD) at APD10, APD20, APD50 and APD90, but prolonged the overall APD mainly due to a longer APD tail (APD90 - APD100). APA and  $V_{max}$  decreased dramatically, and the AP shape became a 'pygmy' type configuration when extracellular  $K^+$  concentration was at 2 mmol/L. The excitability of cardiomyocytes diminished when extracellular  $K^+$  concentrations was at 1 or 0 mmol/L. In addition, early afterdepolarization and triggered activities with two configurations were observed during low extracellular  $K^+$  and also showed dose-response and time-response relationships. **Conclusion** Extracellular low potassium has bidirectional effects on the RP, APA and  $V_{max}$  of ventricular myocytes. Mild low potassium ( $K^+$  3 mmol/L) increases the values of above three parameters, but severe low potassium ( $K^+$  2 mmol/L or lower) decreases the three parameters. Low potassium accelerates early repolarization of action potential but slows down late repolarization. Extream low potassium ( $K^+$

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31171088)

作者单位:100005 北京,中国医学科学院基础医学研究所/北京协和医学院基础学院生理学系

通讯作者:曹济民,电子信箱:caojimin@126.com

1mmol/L or lower) abolishes cell excitability. Moderate to severe low potassium may induce early afterdepolarization and consecutive triggered activities. The latter is likely the tachycardia at the cellular level, but does not mean that working cardiomyocytes have acquired autorhythmicity. The study clarifies some ambiguous understandings on the electrophysiological effects of hypokalemia on cardiomyocytes.

**Key words** Hypokalemia; Cardiomyocytes; Resting potential; Action potential; Triggered activity

钾是一种对维持细胞正常功能很重要的电解质。正常的血清  $K^+$  浓度为  $3.5 \sim 5.5 \text{ mmol/L}$ , 临床上血清  $K^+$  浓度  $< 3.5 \text{ mmol/L}$  称为低血钾 (hypokasemia), 其中血清  $K^+$  浓度为  $3 \sim 3.5 \text{ mmol/L}$  时为轻度低血钾, 血清  $K^+$  浓度为  $2.5 \sim 2.99 \text{ mmol/L}$  时为中度低血钾, 血清钾  $< 2.5 \text{ mmol/L}$  时为重度低血钾<sup>[1,2]</sup>。低血钾会增加心律失常发生的危险, 重者可危及生命<sup>[3-6]</sup>。很多研究已经证明低钾会影响心肌细胞的静息电位 (resting potential, RP) 与动作电位 (action potential, AP)。传统理论及教科书中一般描述, 低钾时心肌细胞静息电位减小<sup>[7]</sup>。而近些年有报道显示低钾时心肌细胞静息电位增大, 呈超极化状态<sup>[8]</sup>。在心肌细胞动作电位的复极过程中, 低钾能够使延长动作电位时程 (action potential duration, APD), 并且可促进复极 3 期发生早后除极<sup>[9-11]</sup>。但细胞外液不同程度低钾对心肌细胞跨膜电位的影响有何异同, 并没有清晰的认识。本研究采用标准玻璃微电极记录技术探究不同程度低钾 (细胞外液  $K^+$  浓度分别为  $3$ 、 $2$ 、 $1$ 、 $0 \text{ mmol/L}$ ) 对小鼠左心室乳头肌细胞跨膜电位 (RP 和 AP) 的影响, 就低血钾对心肌细胞的电生理影响开展进一步的定量和细化研究, 以澄清对低钾的心肌电生理效应的模糊认识。

### 材料与方法

1. 实验动物及试剂: C57BL/6J 小鼠 (雄性, 体重  $20 \sim 30 \text{ g}$ ,  $2 \sim 3$  个月龄) 购自中国人民解放军军事医学科学院检验中心; NaCl、KCl、CaCl<sub>2</sub>、MgCl<sub>2</sub>、Glucose (葡萄糖), 购自生物工程 (上海) 股份有限公司; Tris 购自索莱宝生物科技有限公司。

2. 标准玻璃微电极胞内记录心肌细胞动作电位: 采用 HF402 型超级抗干扰电生理实验系统 (成都泰盟软件有限公司) 记录。将小鼠拉颈处死, 迅速摘取心脏浸入纯氧气饱和的台氏液中, 分离左心室乳头肌。台氏液组成 (mmol/L) 为: NaCl 136.9, KCl 5.4, CaCl<sub>2</sub> 1.8, MgCl<sub>2</sub> 1.05, 葡萄糖 11.3, Tris 5, pH 7.4。分离的乳头肌固定在心肌适配槽中, 用氧饱和的台氏液  $37^\circ\text{C}$  恒速灌流, 流速为  $2.5 \text{ ml/min}$ 。稳定 1h 后, 将内充  $3 \text{ mmol/L}$  KCl 后尖端阻抗为  $10 \sim 30 \text{ M}\Omega$  的单管

硼硅酸盐玻璃电极 (World Precision Instruments, 1B120F-4, 美国) 缓慢插入乳头肌细胞中, 记录乳头肌细胞的跨膜电位。记录稳定一段时间后, 分别更换  $K^+$  浓度为  $3$ 、 $2$ 、 $1$ 、 $0 \text{ mmol/L}$  的台氏液, 记录 1h。台氏液中降低的  $K^+$  由相应  $Na^+$  补充, 以维持灌流液中渗透压的恒定。当刺激诱导产生动作电位时, 给予波宽  $2 \text{ ms}$ , 频率  $1 \text{ Hz}$ ,  $1.5$  倍阈强度的电刺激。

3. 统计学方法: 采用 Graphpad Prism 5.0 分析数据, 数据采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用配对  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 细胞外液低钾对心肌细胞静息电位 (RP) 的影响呈双向作用: 单纯记录静息电位时, 不给于电刺激。由于细胞外液  $K^+$  浓度由正常降为低钾时, RP 在动态变化中, 因此用最大静息电位表示不同程度低钾时 RP 所能达到的最大值, 而用稳定静息电位表示不同程度低钾时 RP 稳定在某一水平时的 RP 值。图 1 所示, 细胞外液  $K^+$  浓度由正常对照  $5.4 \text{ mmol/L}$  降为  $3 \text{ mmol/L}$  后, RP 由  $-66.71 \pm 1.27 \text{ mV}$  增大至  $-76.68 \pm 0.78 \text{ mV}$  (与正常对照 RP 值相比,  $P = 0.000$ ); 当细胞外液  $K^+$  浓度由  $5.4 \text{ mmol/L}$  降为  $2.0 \text{ mmol/L}$  后, RP 先由  $-65.90 \pm 0.93 \text{ mV}$  增大至  $-78.29 \pm 0.10 \text{ mV}$  (与正常对照 RP 值相比,  $P = 0.000$ ), 然后又减小至  $-37.54 \pm 0.15 \text{ mV}$  (与正常对照 RP 值相比,  $P = 0.000$ )。当细胞外液  $K^+$  浓度由  $5.4 \text{ mmol/L}$  降为  $1.0 \text{ mmol/L}$  后, RP 由  $-62.57 \pm 1.15 \text{ mV}$  增大到  $-76.41 \pm 1.02 \text{ mV}$  (与正常对照 RP 值相比,  $P = 0.000$ ), 然后又减小至  $-40.08 \pm 1.85 \text{ mV}$ , (与正常对照 RP 值相比,  $P = 0.000$ )。当细胞外液  $K^+$  浓度由  $5.4 \text{ mmol/L}$  降至  $0 \text{ mmol/L}$  后, 细胞 RP 先由对照值  $-65.83 \pm 0.97 \text{ mV}$  增大至  $-74.48 \pm 1.68 \text{ mV}$  (与正常对照 RP 值相比,  $P = 0.000$ ), 然后又减小至  $-34.55 \pm 1.33 \text{ mV}$  (与正常对照 RP 值相比,  $P = 0.000$ )。

2. 细胞外液低钾对心肌细胞动作电位的影响具有量-效特点: 细胞外液  $K^+$  浓度正常时, 心室乳头肌细胞不能自发产生动作电位, 需要电刺激诱发动作电位。细胞外液  $K^+$  浓度为  $3 \text{ mmol/L}$  时, 乳头肌细胞

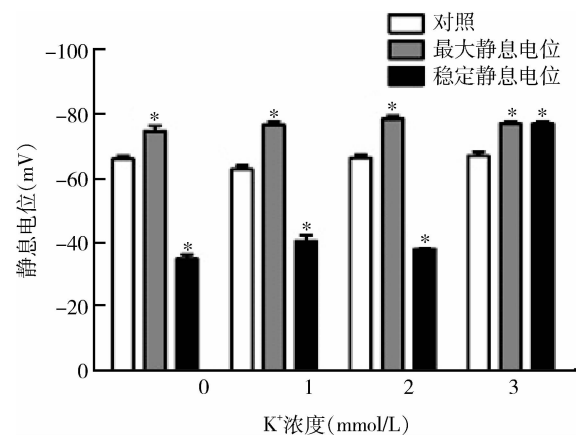


图 1 细胞外液不同程度低钾对乳头肌细胞静息电位的影响 (n = 5 ~ 7)  
与对照组比较, \* P = 0.000

可因后除极自发产生动作电位(注:此时不等于细胞获得了自律性),但动作电位形态与正常对照相比有明显变化(图 2B),后文会进一步分析。细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度降为 2mmol/L 时,细胞也可自发产生动作电位,但动作电位振幅(action potential amplitude, APA)和最大去极速度极度降低(图 2C)。而当细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 1mmol/L 或 0mmol/L 时,即使给予很大电刺激,乳头肌细胞仍不会产生动作电位(图 2),提示此时乳头肌细胞兴奋性丧失。

3. 细胞外液低钾引起的触发活动具有两种不同的形式:细胞外液低钾时,动作电位易发生早期后除极(early after-depolarization, EAD),而低钾时由 EAD 引发的触发活动具有两种不同的形式。第 1 种触发活动的触发动作电位出现在前一个动作电位复

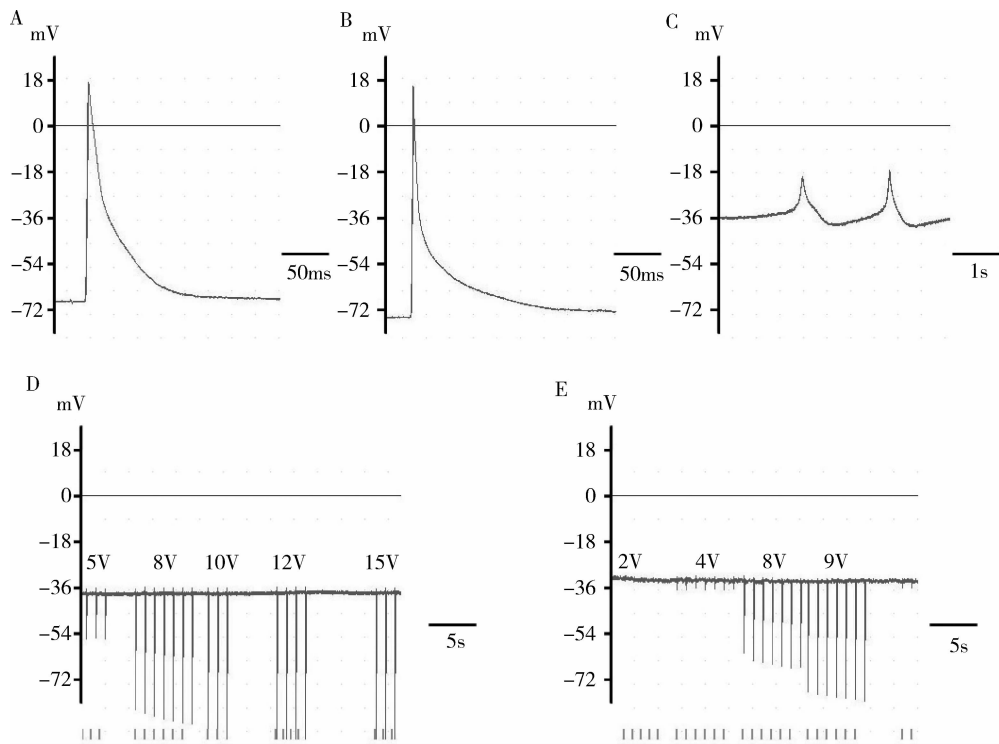


图 2 细胞外液不同程度低钾对心肌细胞兴奋性的影响

A. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为正常的 5.4mmol/L 时,电刺激(波宽 2ms,频率 1Hz,强度 1.5V)引发乳头肌细胞去极化产生动作电位(可见动作电位发生前的电刺激伪迹);B. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 3mmol/L 时,不给予电刺激(记录图无刺激伪迹),细胞可应后除极而自发产生动作电位(不是工作心肌细胞获得了自律性);C. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 2mmol/L 时,细胞自发产生的动作电位;D. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 1mmol/L 时,给予远大于阈强度的电刺激,细胞不能产生动作电位;E. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 0mmol/L 时,给予远大于阈强度的电刺激,细胞不能产生动作电位

极 3 期的末期,且触发活动结束后 RP 可恢复到原来的水平(图 3A),这种类型的触发活动出现在静息电位相对稳定的阶段,在细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 3mmol/L 时及细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度由 5.4mmol/L 分别降为 2、1 和 0mmol/L 的过程中均会出现这一类型的触发活

动。第 2 种触发活动的触发动作电位出现在前 1 个动作电位复极 3 期的早期,触发活动结束后细胞的静息电位无法复极恢复到原来的水平(图 3B),这一类型的触发活动多发生在低钾时 RP 的减小阶段,是低钾过程中乳头肌细胞 RP 减小的一个中间过程。

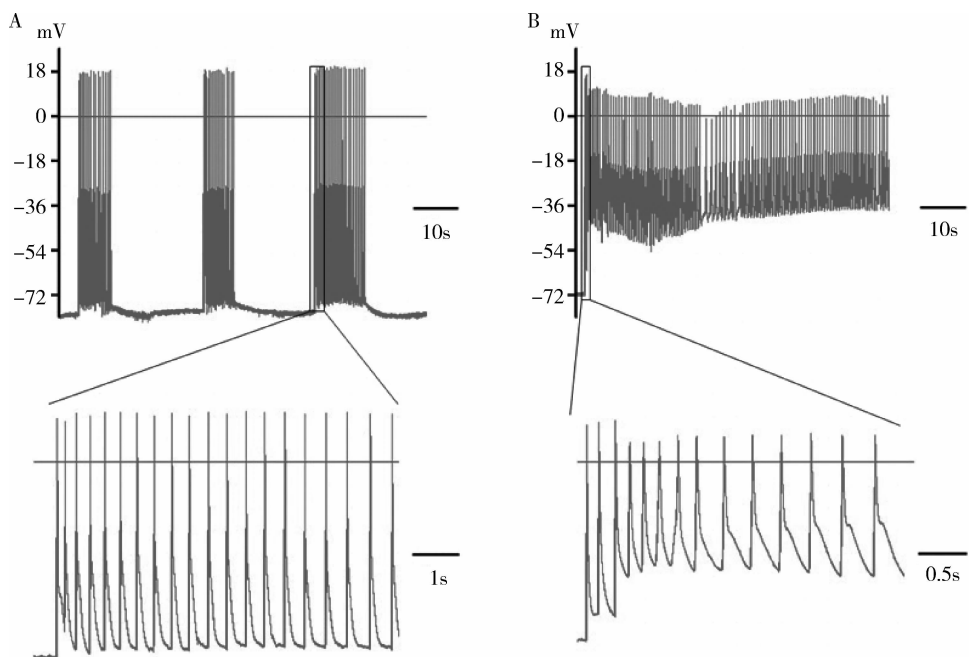


图3 细胞外液低钾时出现的两种类型的触发活动

A. 第1种类型:触发活动结束后,静息电位可恢复至触发活动前的水平,放大图中显示触发活动中的触发动作电位,后一个动作电位出现在前一个动作电位3期复极的末期;B. 第2种类型:触发活动后心肌细胞的静息电位不能恢复到触发活动前的水平。放大图显示,触发活动的后一个动作电位出现在前一个动作电位3期复极的早期

4. 量化分析细胞外液低钾( $K^+$ 浓度为3mmol/L)对电刺激诱导产生动作电位的影响:由于细胞外液 $K^+$ 浓度为1和0mmol/L时,乳头肌细胞兴奋性丧失,而当细胞外液 $K^+$ 浓度为2mmol/L时,给予电刺激产生的动作电位形态异常,无法统计分析其各参数的变化,因此只对胞外液 $K^+$ 浓度为3mmol/L时,电刺激诱导产生的动作电位的各参数进行量化分析(配对 $t$ 检验)。结果如图4显示,与细胞外液 $K^+$ 浓度为5.4mmol/L时的动作电位(图4A)相比,细胞外液 $K^+$ 浓度为3mmol/L时,乳头肌细胞RP增大(图4B),APA显著增加(与对照值相比, $P < 0.05$ )(图4C),0期最大除极速度( $V_{max}$ )显著增大(与对照值相比, $P < 0.05$ )(图4D)。反映动作电位复极的APD10、APD20、APD50和APD90都显著减小(与对照值相比, $P < 0.05$ ),其中以APD50减小最显著( $P = 0.000$ ,图4E)。最大复极速度( $V_{max}$ )显著增加(与对照组相比, $P = 0.000$ ,图4F)。但比较图4A和图4B可知,细胞外液 $K^+$ 浓度为3mmol/L时,总的动作电位时程延长,即动作电位在复极到90%后的复极过程缓慢。

## 讨 论

低血钾是临床上常见的一种病理生理状态,其对全身组织器官(如神经、骨骼肌、心脏、胃肠道等)的

正常功能有广泛而重大影响,被认为是电风暴(electrical storm, ES)的普遍诱因,而且在伴有低血钾的心肌病患者中ES的复发危险最高。由于此前对低钾的心肌电生理效应研究在定量分析方面并不充分,因此本文重点研究了不同程度低钾对心室肌细胞跨膜电位各参数的量-效关系和时-效关系。

在1h的细胞外液低钾过程中,笔者发现细胞外液低钾对小鼠左心室乳头肌细胞RP的影响呈现双向效应,即细胞外 $K^+$ 浓度为3mmol/L时,RP增大,而细胞外 $K^+$ 浓度为2、1和0mmol/L时,细胞RP先增大后减小。心肌细胞的RP取决于两个因素,即细胞膜内外的 $K^+$ 浓度差和内向整流钾通道( $I_{K1}$ 通道)对 $K^+$ 的通透性。低钾时,细胞膜内外 $K^+$ 浓度差增大,理论上 $K^+$ 外流应该增加,RP增大,细胞膜电位出现超极化。低钾也会降低 $I_{K1}$ 通道对 $K^+$ 的通透性<sup>[7]</sup>,理应使RP会减小,膜电位呈去极化状态。而由本研究结果可以推测,轻度低钾(细胞外 $K^+$ 浓度为3mmol/L)时,细胞膜内外的 $K^+$ 浓度势能的效应大于 $I_{K1}$ 通道对 $K^+$ 通透性减小对 $K^+$ 外流的影响,于是出现RP增大,而低钾程度比较严重时, $I_{K1}$ 通道对 $K^+$ 的通透性才会明显降低,此时后者对 $K^+$ 外流的效应可能大于膜内外 $K^+$ 浓度势能的效应,于是RP减小,具

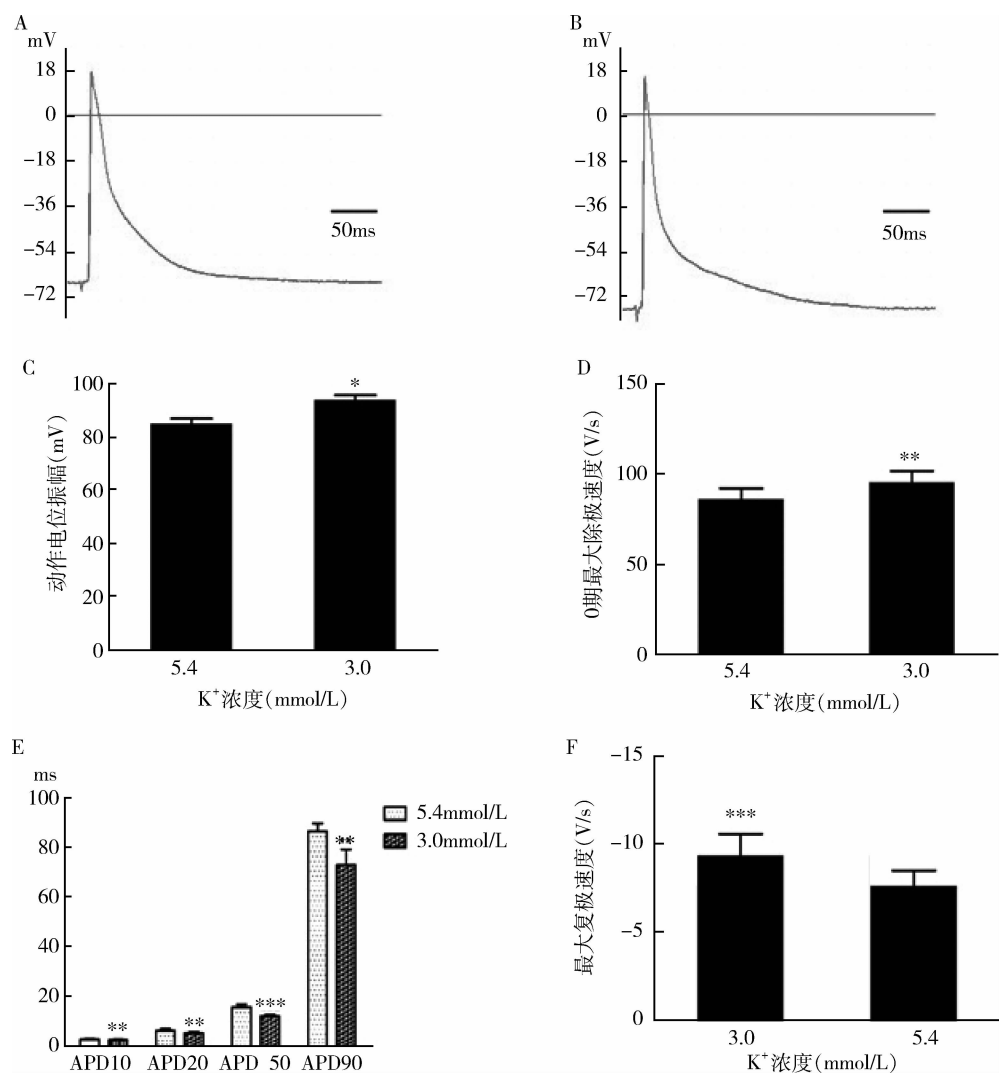


图 4 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 3mmol/L 时对电刺激诱导的心肌细胞动作电位各参数的影响

A. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 5.4mmol/L 时的动作电位;B. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度为 3mmol/L 时的动作电位;C. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度分别为 5.4 和 3.0mmol/L 时动作电位 APA 的统计图,K<sup>+</sup> 浓度为 3.0mmol/L 时,APA 显著增大;D. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度分别为 5.4 和 3.0mmol/L 时动作电位 0 期最大除极速度 (V<sub>max</sub>) 的统计图,K<sup>+</sup> 浓度为 3mmol/L 时,0 期最大除极速度显著增加;E. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度分别为 5.4 和 3.0mmol/L 时动作电位 APD 的统计图,K<sup>+</sup> 浓度为 3.0mmol/L 时,APD10、APD20、APD50 和 APD90 均显著缩短;F. 细胞外液 K<sup>+</sup> 浓度分别为 5.4 和 3.0mmol/L 时动作电位最大复极速度统计图,K<sup>+</sup> 浓度为 3.0mmol/L 时,动作电位最大复极速度绝对值显著增加。各组 n 均 = 6。与正常对照相比,\*\* P<0.01, \*\*\* P=0.000

体机制还待于进一步研究证明。细胞外 K<sup>+</sup> 浓度为 2mmol/L 时,APA 极度减小,0 期最大除极速度明显减慢,提示此浓度低钾已经严重干扰了心肌细胞电活动。而当细胞外 K<sup>+</sup> 浓度为 1 和 0mmol/L 时,心肌细胞不能再去极化产生动作电位,提示此浓度低钾可使细胞兴奋性丧失。统计分析细胞外 K<sup>+</sup> 浓度为 3mmol/L 时跨膜电位各参数的变化可知,与严重低钾对心肌细胞去极和复极过程的抑制作用不同,低钾 (3mmol/L) 时,RP 显著增加,APA 增加,0 期最大除极速度增加,APD10、APD20、APD50 和 APD90 都显

著减小,而是在复极到 90% 后,复极速度才减慢,出现拖尾现象,也证明低钾 (3mmol/L) 对心肌细胞 AP 复极过程的影响也具有双向作用,即复极速度先增大后减小。此外,低钾过程中,由于早期后除极引发的触发活动的两种不同形式,也具有量-效和时-效的特点,而且其中一种为低钾时 RP 由大变小的一个中间过程。

本研究的研究有助于认识低钾时的心肌电生理效应,修正目前存在的关于低钾电生理效应的模糊认识,从而为完善电解质的电生理效应理论提供一定的

实验依据。体表心电图与心肌细胞动作电位在电位变化上有一定的内在联系<sup>[12]</sup>。因此,此研究也为临床中低钾所引起的心电图变化及正确处理低血钾提供了一定的实验依据。

### 参考文献

- 1 李桂源. 病理生理学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 133 - 134
- 2 Eliacik E, Yildirim T, Sahin U, *et al.* Potassium abnormalities in current clinical practice: frequency, causes, severity and management [J]. *Med Princ Pract*, 2015, 24(3): 271 - 275
- 3 Akybekova EL, Payne JP, Newton - Cheh C, *et al.* Gene - environment interaction between SCN5A - 1103Y and hypokalemia influences QT interval prolongation in African Americans: the Jackson Heart Study[J]. *Am Heart J*, 2014, 167(1): 116 - 122
- 4 Bowling CB, Pitt B, Ahmed MI, *et al.* Hypokalemia and outcomes in patients with chronic heart failure and chronic kidney disease: findings from propensity - matched studies[J]. *Circ Heart Fail*, 2010, 3(2): 253 - 260
- 5 Goyal A, Spertus JA, Gosch K, *et al.* Serum potassium levels and mortality in acute myocardial infarction[J]. *JAMA*, 2012, 307(2): 157 - 164
- 6 Su J, Fu X, Tian Y, *et al.* Additional predictive value of serum po-

tassium to thrombolysis in myocardial infarction risk score for early malignant ventricular arrhythmias in patients with acute myocardial infarction[J]. *Am J Emerg Med*, 2012, 30(7): 1089 - 1094

- 7 姚泰. 生理学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 123 - 124
- 8 Bouchard R, Clark RB, Juhasz AE, *et al.* Changes in extracellular K<sup>+</sup> concentration modulate contractility of rat and rabbit cardiac myocytes via the inward rectifier K<sup>+</sup> current IK1[J]. *J Physiol*, 2004, 556(Pt 3): 773 - 790
- 9 Zhong JH, Lu SJ, Chen MS, *et al.* Effects of hypokalemia on transmural dispersion of ventricular repolarization in left ventricular myocardium[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2013, 6(6): 485 - 488
- 10 孟静, 胡伟杰, 刘雪莉, 等. PD - 118057 对抗低钾或药物所致豚鼠心肌细胞动作电位时程延长的影响[J]. *华西药理学杂志*, 2014, 5: 536 - 538
- 11 Maruyama M, Ai T, Chua SK, *et al.* Hypokalemia promotes late phase 3 early afterdepolarization and recurrent ventricular fibrillation during isoproterenol infusion in Langendorff perfused rabbit ventricles[J]. *Heart Rhythm*, 2014, 11(4): 697 - 706
- 12 畅雪玲, 张赣麟. 低血钾心电图改变与血清钾浓度测定的对比分析[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2006, 5: 395

(收稿日期: 2015 - 06 - 11)

(修回日期: 2015 - 06 - 12)

(上接第 18 页)

- 3 Zhang JY, Liu C, Zhou L, A, *et al.* A review of hydrogen as a new medical therapy [J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(116): 1026 - 32
- 4 Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications[J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(22): 2241 - 2252
- 5 Gharib B, Hanna S, Abdallahi OM, *et al.* Anti - inflammatory properties of molecular hydrogen: investigation on parasite - induced liver inflammation[J]. *C R Acad Sci III*, 2001, 324: 719 - 724
- 6 Ignacio RM, Kwak HS, Yun YU, *et al.* The drinking effect of hydrogen water on atopic dermatitis induced by dermatophagoides farinae allergen in NC/Nga mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 538673
- 7 Masanori K, Yasushi S, Yukiko O, *et al.* Molecular hydrogen attenuates neuropathic pain in mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e100352
- 8 Yukio M, Tomomi K, Mikako I, *et al.* Maternal molecular hydrogen administration ameliorates rat fetal hippocampal damage by in utero ischemia - reperfusion[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2014, 69: 324 - 330
- 9 Ji Q, Hui K, Zhang L, *et al.* The effect of hydrogen - rich saline on the brain of rats with transient ischemia[J]. *J Surg Res*, 2011, 168(1): e95 - 101
- 10 Xue J, Shang G, Tanaka Y, *et al.* Dose - dependent inhibition of gastric injury by hydrogen in alkaline electrolyzed drinking water[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 14: 81
- 11 Lee PC, Yang YY, Huang CS, *et al.* Concomitant inhibition of oxidative stress and angiogenesis by chronic hydrogen - rich saline and N - acetylcysteine treatments improves systemic, splanchnic and hepatic hemodynamics of cirrhotic rats[J]. *Hepatol Res*, 2015, 45(5): 578

- 88

- 12 Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, *et al.* Supplement of hydrogen - rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance [J]. *Nutrition Research*, 2008, 28(3): 137 - 143
- 13 Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, *et al.* Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome - an open label pilot study[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2010, 465(2): 140 - 149
- 14 Masaaki N, Hirofumi N, Hiromi H, *et al.* A novel bioactive haemodialysis system using dissolved dihydrogen (H<sub>2</sub>) produced by water electrolysis: a clinical trial [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(9): 3026 - 3033
- 15 Kang KM, Kang YN, Choi IB, *et al.* Effects of drinking hydrogen - rich water on the quality of life of patients treated with radiotherapy for liver tumors [J]. *Medical Gas Research*, 2011, 1(1): 11
- 16 Hirohisa O, Yoji N, Naoto A, *et al.* Improved brain MRI indices in the acute brainstem infarct sites treated with hydroxyl radical scavengers, edaravone and hydrogen, as compared to edaravone alone. A non - controlled study [J]. *Medical Gas Research*, 2011, 1(1): 12
- 17 Hiobio O, Yoji N, Naoto A, *et al.* Hydrogen treatment for acute erythematous skin disease. A report of 4 patients with safety data and a non - controlled feasibility study with H<sub>2</sub> concentration measurement on two volunteers[J]. *Medical Gas Rese*, 2012, 2(1): 24
- 18 Toru I, Bunpei S, Shinji S, *et al.* Therapeutic efficacy of infused molecular hydrogen in saline on rheumatoid arthritis: A 2 randomized, double - blind, placebo - controlled pilot study[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(2): 468 - 473

(收稿日期: 2015 - 05 - 24)

(修回日期: 2015 - 06 - 01)