

· 基础研究 ·

16 Hz、130 dB 次声不同作用时间对大鼠肾脏组织病理和超微结构的影响

亢君君 王春梅 黄晓峰 尹文 石洁 杨家骥 于华 王爽 孟瑞

【摘要】目的 探讨次声不同时间作用后大鼠肾脏组织病理和超微结构的变化。**方法** 将 20 只 Sprague-Dawley 大鼠随机分为正常对照组、假次声作用组、次声作用 A 组和次声作用 B 组。次声作用 A 组 (2 h/d, 连续作用 7 d) 和次声作用 B 组 (4 h/d, 连续作用 7 d) 大鼠反复暴露于 16 Hz、130 dB 的次声环境中。用光镜、扫描电镜和透射电镜观察各组大鼠肾脏组织病理和超微结构的变化。**结果** 光镜下, 次声作用 A 组局部肾小球囊腔增大, 肾小管上皮细胞脱落; 次声作用 B 组出现轻度肾小管变性坏死, 肾小球毛细血管扩张, 管腔内可见少量渗出。电镜下, 次声作用 B 组有大量溶酶体增生, 间质水肿, 白细胞附壁; 次声作用 A 组和次声作用 B 组均有局部足细胞突水肿、融合, 线粒体空泡化等变化。**结论** 次声每天长时间作用于大鼠, 对其肾脏组织病理和超微结构损害较短时间作用严重。

【关键词】 次声; 电子显微镜; 超微结构; 肾脏

The influence of infrasound on pathological and ultrastructural changes in the renal tissue of rats KANG Jun-jun*, WANG Chun-mei, HUANG Xiao-feng, YIN Wen, SHI Jie, YANG Jia-ji, YU Hua, WANG Shuang, MENG Rui.

* Central Lab, Faculty of Preclinical Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: WANG Chun-mei, Email: wangcm@fmmu.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate renal tissue changes in rats exposed to 16 Hz/130 dB infrasound. **Methods** Twenty male Sprague-Dawley adult rats were randomly divided into a control group, a pseudo-infrasound group, and two infrasound groups-A and B. Groups A and B were exposed to 16 Hz/130 dB infrasound for 2 h or 4 h daily respectively over 7 days. Pathological and ultrastructural changes in their renal tissues were observed with a light microscope and an electron microscope. **Results** Under the light microscope, Bowman's capsules expanded, epithelial cells were shed, and a little secretion was found in the renal tubules of infrasound group A. Slight degeneration and necrosis of the renal tubules and glomerular exudation could be observed in group B. Under the electron microscope, a large number of lysosomes displayed hyperplasia, there was interstitial edema, and leukocyte pavingmenting was found in group B. Other changes such as swelling of podocytes' processes, fusion of foot processes, and vacuolization in the mitochondria could be observed in both infrasound groups. **Conclusion** Lengthy exposure to 16 Hz/130 dB infrasound can cause severe pathological and ultrastructural changes in renal tissue, at least in rats.

【Key words】 Infrasound; Electron microscope; Ultramicrostructure; Kidneys

次声对机体的基本作用原理是生物共振, 引起器官、组织的共振反应。次声在传播过程中会引起物质性质和状态的变化, 导致力学、热学、光学、电学等物理效应, 这些物理效应可以直接损伤组织超微结构, 影响组织的功能。有实验证明, 一定强度的次声作用可导致机体肝、肺、脑、肾等重要器官细胞超微结构损伤^[1]。本实验旨在探讨频率为 16 Hz、声压级为 130 dB 的次声每天作用不同时间对大鼠肾脏组织病理和超微结构的影响。

材料与方法

一、材料

1. 次声的产生与检测: 采用本校研制的电激励式次声压力舱系统 (包括次声信号源、功率放大器、电动扬声器和次声舱)。此外, 设有次声声频和声压检测系统, 灵敏度高, 能同步记录时域波形、频谱分析及检测不同次声成分的声压强度。

2. 试剂: 40 mg/L 多聚甲醛, 30 mg/L 戊二醛, 10 g/L 锇酸, 丙酮, 乙醇。

二、动物分组

成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 20 只, 由第四军医大学实验动物中心提供, 体重 250 ~ 300 g。实验前 3 d 分笼饲养于安静环境下, 自由饮水, 标准饲料喂

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0254-1424. 2009. 06. 003

作者单位: 710032 西安, 第四军医大学基础部中心实验室 (亢君君、王春梅、黄晓峰、尹文、杨家骥、于华、王爽、孟瑞), 西京医院神经内科 (石洁)

通信作者: 王春梅, Email: wangcm@fmmu.edu.cn

养。随机分为正常对照组、假次声作用组、次声作用 A 组和次声作用 B 组, 每组 5 只。

三、次声处理方法

正常对照组: 正常饲养, 不置于次声舱中; 假次声作用组: 放入次声舱中 2 h/d, 但无次声输出, 连续 7 d; 次声作用 A 组: 次声作用频率为 16 Hz, 声压级为 130 dB, 2 h/d, 连续作用 7 d; 次声作用 B 组: 次声作用频率为 16 Hz, 声压级为 130 dB, 4 h/d, 连续作用 7 d。

四、标本取材和固定

动物存活 7 d 后进行腹腔麻醉(戊巴比妥钠 40 mg/kg 体重); 迅速开胸经左心室至升主动脉插管, 剪开右心耳, 先以 150 ml 生理盐水经左心室灌注; 用 4℃ 多聚甲醛-戊二醛-苦味酸 (paraformaldehyde-glutaldehyde-trinitrophenol, PGT) 固定液先快后慢灌注固定 1 h; 开腹取肾脏组织, 用 0.1 mol/L 的 PBS 溶液冲洗。

五、组织病理学观察

用 40 mg/L 多聚甲醛溶液固定, 包埋, 切片, HE 染色, 光镜下观察。

六、超微结构观察

分别采用透射电镜和扫描电镜观察各组超微结构改变。透射电镜标本制备方法如下: 切取 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小组织块, 用 30 mg/L 戊二醛前固定, 10 g/L 锇酸后固定, 0.1 mol/L PBS 漂洗, 丙酮梯度脱水, 丙酮 + 包埋剂 (1:1) 浸透, 环氧树脂包埋及修块; 超薄切片后, 透射电镜下观察并记录结果。扫描电镜标本制备方法如下: 切取 1 cm × 1 cm × 3 cm 的组织块, 放入 30 mg/L 戊二醛固定液中于 4℃ 下固定 2 h; 用 0.1 mol/L PBS 漂洗 3 次, 每次 20 min; 用 50%、70%、100% 乙腈梯度脱水 20 min; JEE-4X 真空蒸发仪真空干燥, JFC-1100 离子溅射仪喷金处理; HITACHI S-3400N 扫描电子显微镜下观察。

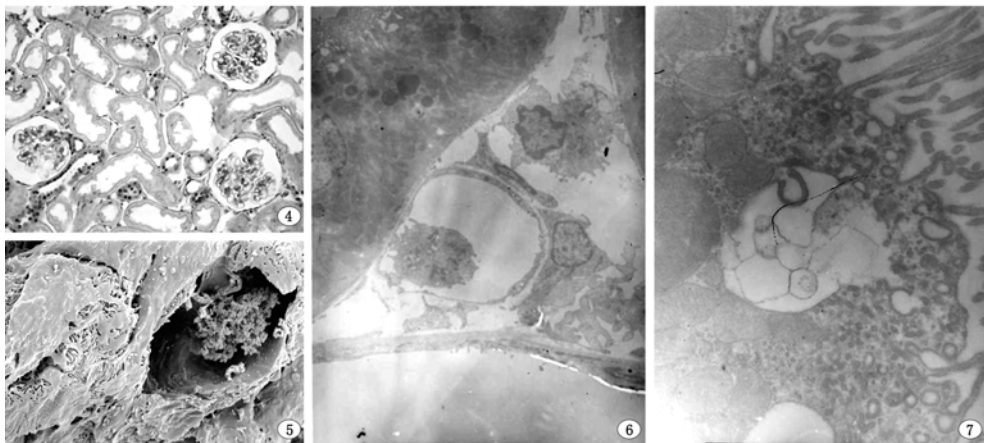


图 4 次声作用 B 组光镜下观 (HE 染色, ×400); 图 5 次声作用 B 组扫描电镜下观 (×5000); 图 6 次声作用 B 组透射电镜下观 (×1500); 图 7 次声作用 B 组透射电镜下观 (×12000)

结 果

一、正常对照组和假次声作用组

正常对照组和假次声作用组的肾脏形态结构无明显差别。在光镜、扫描电镜及透射电镜下可见肾小球结构完整, 足细胞胞体平整, 初级及次级突起排列整齐, 肾小管上皮细胞排列整齐, 滤过屏障结构清晰。

二、次声作用 A 组

光镜下见肾小球囊腔扩张 (图 1), 肾小管上皮细胞脱落。扫描电镜下可见肾小球足细胞上大小不一的泡状突起, 局部足突水肿、融合 (图 2), 间隙狭窄, 肾小管上皮细胞排列紊乱。透射电镜下可见大鼠肾远曲小管上皮细胞变性, 线粒体嵴空泡化, 近曲小管有少量渗出, 间质水肿, 肾小球毛细血管内皮细胞变化不大, 足细胞结构完整, 肿胀呈泡状突起, 局部足突融合 (图 3)。

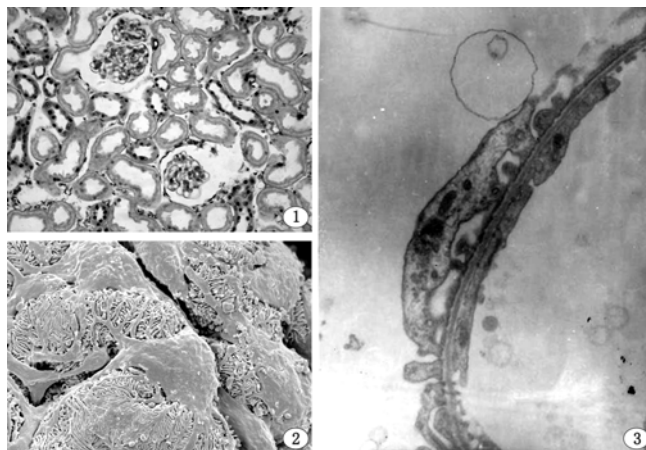


图 1 次声作用 A 组光镜下观 (HE 染色, ×400); 图 2 次声作用 A 组扫描电镜下观 (×5000); 图 3 次声作用 A 组透射电镜下观 (×10000)

三、次声作用 B 组

光镜下见肾小管局部变性坏死, 程度较轻 (图 4), 肾小球毛细血管扩张, 管腔内可见渗出, 但渗出不多。扫描电镜下见局部肾小球坏死, 血管腔内可见渗出 (图 5)。透射电镜下见足细胞肿胀明显, 足突融合, 胞质水肿, 内质网有空泡化, 间质水肿, 可见巨噬细胞, 血管内有白细胞附壁 (图 6), 肾小管上皮细胞微绒毛排列紊乱, 可见线粒体空泡化, 有大量空泡性溶酶体 (图 7)。

讨 论

众所周知,肾脏在维持机体内环境稳定方面发挥着重要的功能,肾脏组织细胞的正常结构是维持肾脏功能的重要保证。次声作为一种低频率的声波,具有独特的物理学性质,可导致机体组织、器官发生共振,从而引起分子结构改变,影响生物体内多种生物学功能。从 20 世纪 60 年代起,对次声及其生物学效应的研究开始受到各国学者的关注^[2]。次声对机体的损伤程度与其参数(频率、声压、强度等)有关,在频率、声压级水平相同时,暴露于次声场的时间愈长,损伤愈重^[3]。

本课题组的前期研究结果表明,频率 16 Hz、声压级为 130 dB 的次声作用 7 d、每天 4 h 后,大鼠学习记忆能力显著降低^[4]。本实验则观察在相同条件下作用 2 h 和 4 h,大鼠肾脏病理和超微结构的变化。本实验结果显示:光镜下观察发现,次声作用 A 组(每日次声作用 2 h)主要发生球囊腔扩大,肾小管内可见细胞脱落;次声作用 B 组(每日次声作用 4 h)肾小管发生变性坏死,程度较轻,肾小球毛细血管扩张,管腔内可见渗出,但渗出不多,2 组区别不是很明显。在电镜下观察发现,次声作用 A 组和次声作用 B 组都出现局部足突水肿、融合,线粒体空泡化等变化,各种细胞的超微结构损伤以膜性结构破坏及水肿等改变为主,可以看出次声作用可引起肾脏细胞超微结构损伤。这可能是因为次声作用使体内产生氧自由基,引起脂质过氧化反应,从而损伤生物膜;由于生物膜的受损,线粒体、内质网膜等细胞钙池释放钙离子也增加,即细胞内钙释放增加^[5],从而出现线粒体空泡化等改变。有研究者指出,次声导致损伤的作用机制中,细胞膜结构的原发性功能损伤出现最早^[6,7]。细胞膜结构的稳定性遭

到破坏,会导致一系列不良变化。与次声作用 A 组相比,次声作用 B 组肾脏可见大量溶酶体增生,有白细胞附壁。溶酶体作为细胞内消化器官,参与细胞自溶、防御等生物过程。近年的研究发现,溶酶体在死亡信号作用下释放以组织蛋白酶为主的多种水解酶,参与包括自噬及凋亡在内的细胞死亡^[8,9],因此溶酶体增多可能是细胞的一种防御机制。

上述结果表明,次声每天长时间作用于大鼠,对其肾脏组织病理和超微结构损害较短时间作用严重。

参 考 文 献

- [1] 鲁荣,王贵学,赵志强. 次声在生物医学中的研究及应用. 中华医学研究杂志,2007,7:134-136.
- [2] Pawlaczyk-Luszczynska M. The influence and sources of infrasound: review of literature. Med Pr,1998,49:498-492.
- [3] 庄志强,裴兆辉,陈景藻. 次声生物学效应的相关机制. 疾病控制杂志,2005,9:328-330.
- [4] 石洁,赵钢,夏峰,等. 不同浓度人參皂甙 Rd 对次声性脑损害的保护. 中华神经外科疾病研究杂志,2008,7:440-443.
- [5] 韩风华,黄晓峰,陈景藻,等. 大鼠肾脏经 90 dB 或 130 dB 次声作用后其超微结构的改变. 中华物理医学与康复杂志,2004,26:143-146.
- [6] 王冰水,陈景藻,李玲,等. 16 Hz 次声暴露对人脐静脉血管内皮细胞内钙离子浓度的影响. 中国临床康复,2005,9:48-49.
- [7] Okamoto K, Yoshida A, Inoue J, et al. The influence of infrasound upon human body. J UOEH,1986,8:135-149.
- [8] Guicciardi ME, Bronk SF, Wemeburg NW, et al. cFLIPL prevents TRAIL-induced apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by inhibiting the lysosomal pathway of apoptosis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2007,292:337-346.
- [9] 杨杨,蔡真. 溶酶体在细胞死亡中的介导作用. 中国肿瘤生物治疗杂志,2007,6:589-592.

(收稿日期:2008-08-20)

(本文编辑:吴 倩)

· 短篇论著 ·

促进技术配合集体训练对脑卒中患者综合功能的影响

陈湘鄂 陈四海 毛善平 付光斌

脑卒中是临床常见疾病,亦是致残的主要原因。帮助脑卒中患者尽快回归社会,提高其日常生活活动能力,降低病残率是一项艰难的任务。我们对 33 例脑卒中患者应用促进技术配合集体训练,取得了较满意效果,现报道如下。

一、资料与方法

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.06.004

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院康复科(陈湘鄂),神经内科(毛善平、付光斌);湖北省十堰市红十字会医院康复科(陈四海)

(一) 临床资料

选取我院神经内科和康复医学科收治的脑卒中患者 66 例,均符合各类脑血管疾病诊断要点^[1],并经 CT 和/或 MRI 检查证实。入选标准:初次发病或既往有发作但未遗留神经功能障碍;年龄 < 78 岁;经临床救治后意识恢复,能配合康复医师与治疗师进行康复训练。排除语言理解和认知功能严重障碍者。

将符合入选标准的 66 例脑卒中患者随机分为对照组和康复组,每组 33 例。康复组 33 例中,男 17 例,女 16 例;平均年龄(56.74 ± 12.32)岁;病程(46.88 ± 8.49)d;脑出血 12 例,脑梗