

## · 基础研究 ·

# 次声不同时间作用后对大鼠大脑皮质超微结构的影响

唐迪 陈景藻 李玲 刘静

**【摘要】 目的** 进一步探讨次声对大鼠大脑作用阈值及量效关系,观察次声不同时间作用后对大鼠脑皮质超微结构的影响。**方法** 大鼠暴露于 16 Hz、90 dB 的次声,2 h/d,分组作用 7,14,21,28,35 d,透射电镜下观察各组动物于次声暴露结束后 2 h、3 d、7 d 等不同时间点脑顶叶皮质超微结构的变化。**结果** 16 Hz、90 dB 次声,2 h/d,作用 7,14 d 后脑皮质超微结构无明显变化;作用 21,28,35 d 后脑皮质超微结构出现变性改变,从 21 d 开始随作用时间延长变性损伤加重;各组变性损伤随作用后时间延长可恢复正常。**结论** 16 Hz、90 dB 次声作用一定次数后大鼠脑皮质超微结构可见变性改变,随作用后时间延长可逐渐恢复正常。

**【关键词】** 次声; 脑皮质; 超微结构

**The effects of infrasound on the ultrastructure of the rat pallium** TANG Di, CHEN Jing-zao, LI Ling, LIU Jing. Department of Physiotherapy and Rehabilitation, Xijing Hospital, The 4th Military University, Xi'an 710032, China

**【Abstract】 Objective** To further investigate the threshold value and the dose-effect relationship of infrasound on the rat pallium, and to observe the effects on the pallium's ultrastructure. **Methods** Rats were exposed to 16 Hz, 90 dB infrasound for 2 hours daily. With a transmission electron microscope, changes in the ultrastructure of the cortex of the rats' parietal lobes were observed 2 hours, 3 days and 7 days after the treatment. **Results** There were no changes in the ultrastructure of the pallium in rats which had been exposed for 7 days or 14 days. Denaturation appeared when the rats had been exposed for 21 days, 28 days or 35 days. Denaturation become more serious as the exposure time increased beyond 21 days. Denaturation and damage gradually returned to normal with time after exposure. **Conclusion** 16 Hz, 90 dB infrasound exposure over an extended time may cause denaturation and other changes in the ultrastructure of the pallium in rats. Such changes can return to normal with time.

**【Key words】** Infrasound; Pallium; Ultrastructure

次声是频率低于 20 Hz 的声波,是生产噪声和公共噪声的重要组成部分。一定参数的次声常影响中枢神经系统功能,出现头晕、疲倦、焦虑、工作效率下降等症状<sup>[1]</sup>。有报道认为,脑是对次声作用较为敏感的器官之一。叶琳等<sup>[2]</sup>的研究显示:次声可非特异性地损伤脑的超微结构;次声作用后脑损伤以变性改变为主,可见于细胞内外的各种结构。然而关于次声损伤的阈值及作用的量效关系尚未有较深入的研究。本实验拟观察 16 Hz、90 dB 次声作用于大鼠后,脑皮质超微结构的变化及随时间延长自我恢复的情况。

## 材料和方法

### 一、实验动物与分组

基金项目:全军医学科学技术研究“十五”计划指令性课题(No. 01L071)

作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院康复医学理疗科

健康成年雄性 SD 大鼠 96 只,体重为 200 ~ 225 g,分笼饲养于安静舒适环境中(基础噪音不高于 40 dB),自由饮水,标准饲料喂养,避免各种刺激。随机分为 16 组。16 Hz、90 dB 次声作用组动物,每天暴露于次声下 2 h,按暴露天数分为 7,14,21,28,35 d 共 5 组,各组再分别按次声作用停止后的不同时间分 2 h、3 d、7 d 3 小组,共 15 组,每组 6 只,对照组 6 只动物每天在次声仓内无次声作用放置 2 h,共 21 d。

### 二、实验方法

1. 仪器与设备:①次声压力舱系统及检测系统(第四军医大学、航天工业总公司第 41 所等合作研制)。压力舱系统由低频信号发生器(1110B 型,北京强度环境研究所)、功率放大器(7101 型,航天工业总公司第 702 所)和 4 个电动扬声器(YD500-8XA,南京电声器材公司)组成,压力舱有效面积为 1.96 m<sup>2</sup>,体积为 1.92 m<sup>3</sup>。检测系统主要包括次声传感器(1425 型,丹麦 B&K 公司)和次声信号数据

采集分析系统。②JEM-2000EX 透射电镜(日本电子光学有限公司制造)。

2. 电镜标本制备:按各时间点将实验动物常规灌注固定,解剖分离出大脑顶叶皮质(左右不限)。经 30 ml/L 戊二醛前固定、10 g/L 锇酸后固定、0.1 mol/L 的 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。

## 结 果

### 一、对照组、次声作用 7 d 组及 14 d 组

神经元细胞形态正常,细胞质膜完整;核膜清晰,细胞核内染色质均匀(图 1);线粒体嵴清晰(图 2),内质网无扩张;髓鞘板层结构完整;突触结构正常;神经纤维轴索内的神经微管排列整齐(图 3)。

### 二、次声作用 21 d 组

1. 末次作用后 2 h 组:神经元细胞形态完整;可见溶酶体增多(图 4),核仁可见,染色质无明显变化;突触结构正常;胶质细胞无明显变化。

2. 末次作用后 3 d 及 7 d 组:神经元细胞及胶质细胞形态完整,同对照组。

### 三、次声作用 28 d 组

1. 末次作用后 2 h 组:神经元细胞形态尚正常,可见溶酶体,并有脂褐素颗粒出现,胞质内可见髓鞘样结构形成(图 5);细胞核膜模糊;高尔基复合体结构紊乱(图 6);线粒体稍肿胀;出现小胶质细胞,形态尚可。

2. 末次作用后 3 d 组:神经元细胞形态基本正常,胞质内仍可见脂褐素颗粒;线粒体稍肿胀;可见小胶质细胞,并有吞噬变性神经细胞现象(图 7)。

3. 末次作用后 7 d 组:神经元细胞及胶质细胞形态完整,基本同对照组。

### 四、次声作用 35 d 组

1. 末次作用后 2 h 组:神经元细胞体积缩小,胞质电子密度增加(图 8);胞核核膜模糊;胞质内可见脂褐素颗粒;线粒体略肿胀;髓鞘板层变薄;可见小胶质细胞;神经纤维轴索内的神经微管排列紊乱(图 9)。

2. 末次作用后 3 d 组:神经元细胞形态略有变化,内质网结构清晰,有明显的溶酶体及脂褐素颗粒(图 10);可见小胶质细胞。

3. 末次作用后 7 d 组:神经元细胞形态基本正常,胞核核膜清楚;部分神经元存在溶酶体及脂褐素颗粒;可见小胶质细胞;其它结构基本正常。

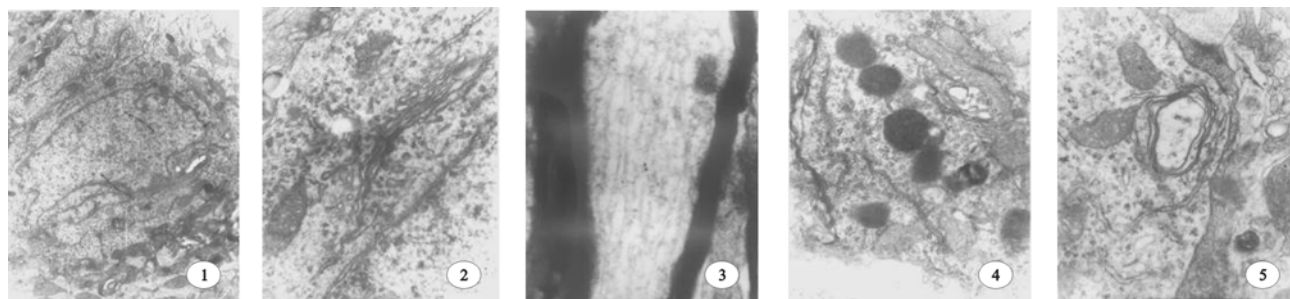


图 1 对照组 核膜清晰,细胞核内染色质均匀( $\times 7\,500$ ); 图 2 次声作用 7 d 组 线粒体嵴清晰( $\times 25\,000$ ); 图 3 次声作用 14 d 组 神经纤维轴索内的神经微管排列整齐( $\times 50\,000$ ); 图 4 次声作用 21 d 末次作用后 2 h 组 溶酶体增多( $\times 25\,000$ ); 图 5 次声作用 28 d 末次作用后 2 h 组 胞质内可见髓鞘样结构形成( $\times 25\,000$ )

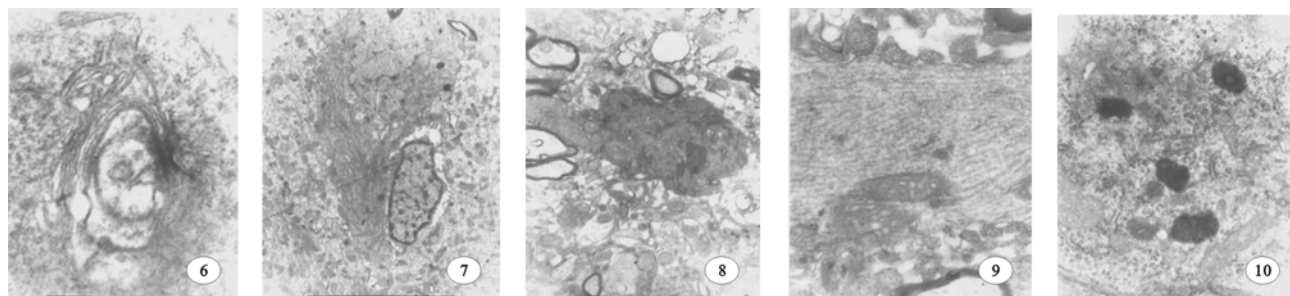


图 6 次声作用 28 d 末次作用后 2 h 组 高尔基复合体结构紊乱( $\times 40\,000$ ); 图 7 次声作用 28 d 末次作用后 3 d 组 小胶质细胞吞噬变性的神经细胞( $\times 40\,000$ ); 图 8 次声作用 35 d 末次作用后 2 h 组 神经元细胞体积缩小,胞质电子密度增加( $\times 10\,000$ ); 图 9 次声作用 35 d 末次作用后 2 h 组 神经纤维轴索内的神经微管排列紊乱( $\times 25\,000$ ); 图 10 次声作用 35 d 末次作用后 3 d 组 线粒体、内质网结构清晰,有明显的溶酶体及脂褐素颗粒( $\times 20\,000$ )

## 讨 论

次声在自然界广泛存在,是生产噪声和公共噪声的重要组成部分。职业性次声暴露大多数属于中等水平,不引起明显的健康效应,但当其超过听阈水平,将会导致一系列生理反应。为了保护作业者的健康,制订相应的工业次声卫生标准十分必要。各国的标准尚未统一,俄罗斯规定允许水平为 110 dB;美国环境保护机构在“噪声的公众健康和福利标准”中提出,次声强度在 130 dB 以下不会构成对公众的危害;日本环境厅提出的次声限值为不高于 120 dB;德国制订的现行限定标准为不高于 90 dB<sup>[3]</sup>。我国尚未制订相应的工业次声卫生标准。本实验室既往实验表明,90 dB 次声作用即可引起脑组织反应。袁华等<sup>[4]</sup>报道,8 Hz、90 dB 次声,2 h/d,作用 14,21 d,大鼠脑皮质出现热休克蛋白 70 阳性神经元表达。牟翔等<sup>[5]</sup>报道,16 Hz、90 dB 次声,2 h/d,作用 7 d,小鼠脑中即出现胶质纤维酸性蛋白表达,作用 21,28 d,表达至高峰。刘朝晖等<sup>[6]</sup>的研究表明,8 Hz、90 dB 次声作用一定时间后,可导致海马细胞凋亡数量显著增高,对大鼠海马细胞具有损伤效应。90 dB 次声长时间作用可引起学习能力降低<sup>[7]</sup>。但既往关于 90 dB 次声损伤的阈值及作用的量效关系尚未有深入的研究。

本实验研究表明,16 Hz、90 dB 次声,2 h/d,作用 1,2 周鼠大脑皮层超微结构无变化,表明在此参数条件下,作用 2 周内不能引起变性损伤。次声作用 3 周,可见溶酶体增多。次声作用 4 周,出现脂褐素颗粒,高尔基复合体结构紊乱,并可见小胶质细胞。作用 5 周可见胞质电子密度增加,神经微管排列紊乱。在病理状况下,如炎症和损伤时,细胞分解代谢加剧,超过了溶酶体的消化能力,即可出现大量溶酶体蓄积在细胞内。溶酶体消化作用在最后阶段,酶的活性很弱时,剩下一些不能消化的物质,即可形成脂褐素或髓样结构。高尔基复合体是敏感性较低的细胞器,可将粗面内质网合成的蛋白质作进一步的加工,包装和运输,形成各种分泌颗粒,并与溶酶体生成有关<sup>[8]</sup>。小胶质细胞被认为是脑内起吞噬作用的细胞,在静息状态下,它是较星形胶质细胞和少突胶质细胞小而不引起注意的细胞,但脑发生创伤和免疫损伤时,小胶质细胞被激活,通过变形、增殖而起作用<sup>[9]</sup>。16 Hz、90 dB 次声,2 h/d,作用 3 周似可认为损伤的临界值,随作用时间的增加损伤逐渐加重,可见明显的累加效应。

叶琳等<sup>[10]</sup>认为,次声作用于机体后,通过在体内产生氧自由基,引起脂质过氧化,进而损伤生物膜,同

时又通过人体体内抗氧化酶活力的增强,以消除自由基,减弱脂质过氧化反应,达到保护机体的目的。在本实验中,随次声暴露时间增加,可能引起脂质过氧化,损伤逐渐加重。但在次声暴露停止后,随时间延长,体内抗氧化酶活力的增强,减弱了脂质过氧化反应。在本实验所用参数条件下,变性损伤均为可逆性,随作用后时间延长而逐渐恢复,表明此种条件下的次声作用所引起的损伤均为可逆性的。既往不同频率的次声对大鼠脑组织超微结构的影响的研究表明<sup>[3,11]</sup>,次声对大鼠细胞的损伤作用具有直接性、广泛性及无组织结构特异性等特点;次声对细胞超微结构损伤以膜性结构破坏、非特异性炎性反应及水肿等病理改变为主,并随着次声作用时间的增加而加重。其结果与本实验一致。本实验中,未出现严重的变性损伤,也未出现对次声损伤的适应性<sup>[11,12]</sup>,可能与本实验参数有关。关于次声对鼠大脑作用阈值及量效关系,可作为制定次声卫生防护标准的参考。

## 参 考 文 献

- 1 陈景藻. 次声的产生及生物学效应. 见:中国人民解放军总后勤部卫生部,编. 医药卫生科学技术进展. 北京:军事医学科学出版社,1997. 194-197.
- 2 叶琳,龚书明,黄晓峰,等. 次声作用对鼠大脑皮层超微结构的影响. 第四军医大学学报,2002,23:856-858.
- 3 党卫民,王生. 国外工业次声暴露限值的研究. 中华劳动卫生职业病杂志,2002,20:233-235.
- 4 袁华,陈景藻,李玲. 8 Hz 次声作用后大鼠脑热休克蛋白 70 的表达. 中华物理医学与康复杂志,1999,21:94-96.
- 5 牟翔,陈景藻,李玲,等. 不同声压级次声作用小鼠后脑胶质纤维酸性蛋白的含量和意义. 现代康复,2001,5:45.
- 6 刘朝晖,陈景藻,李康樗,等. 不同声压级次声对大鼠海马细胞凋亡的影响. 中华物理医学与康复杂志,2004,26:148-151.
- 7 王斌,陈景藻. 不同声强 8 Hz 次声对小鼠学习能力的影响. 第四军医大学学报,1997,18:442-445.
- 8 王春梅,黄晓峰,杨家骥. 细胞超微结构与超微结构病理基础. 西安:第四军医大学出版社,2004. 60-70.
- 9 Sawada M, Suzumura A, Yamamoto H, et al. Activation and proliferation of the isolated microglia by colony stimulating factor-1 and possible involvement of protein kinase C. Brain Res, 1990,509:119-124.
- 10 叶琳,龚书明,陈耀明,等. 次声作用对大鼠大脑皮层脂质过氧化的影响. 中华物理医学与康复杂志,2002,24:360-362.
- 11 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.
- 12 陈耀明,叶林,陈景元,等. 次声对大鼠大脑皮层超微结构和单胺氧化酶的影响. 环境与健康杂志,2004,21:140-142.

(修回日期:2006-01-16)

(本文编辑:松 明)