

• 基础研究 •

8 Hz 次声对大鼠体重及胃十二指肠 5-HT 表达的影响

谭永霞 李玲* 陈景藻 刘朝晖

[摘要] 目的 探讨 8 Hz、90 dB、130 dB 次声对 SD 大鼠体重的影响及其可能机制。方法 30 只雄性 SD 大鼠按体重随机分为对照组、8 Hz、90 dB 及 8 Hz、130 dB 组 3 组。实验组分别暴露于 8 Hz、90 dB 或 8 Hz、130 dB 次声仓中,每日作用时间 2 小时,共 42 天。对照组每日置次声仓中,但不予次声作用,所有动物每 3 天称体重 1 次。另 75 只随机分为对照组和 8 Hz、90 dB、130 dB 的 7、14、21、28、35 天组共 15 组,每组 5 只,按组别予以不同时间及强度的次声作用,对照组每日置次声仓中,但不予次声作用。最后一次从次声仓取出后立即取胃及十二指肠(包括体重实验组各 5 只),免疫组织化学染色显示其 5-羟色胺(5-HT)含量。光学显微镜下计数胃窦及十二指肠 5-HT 阳性细胞数。结果 实验组大鼠体重增长均较对照组缓慢($P=0.000$),其中 130 dB 组对大鼠体重增长较 90 dB 组增长缓慢($P=0.000$);实验组动物胃窦及十二指肠 5-HT 含量较对照组增多,以 90 dB 的 35 天和 130 dB 的 28 天明显($P<0.01$)。结论 8 Hz、90 dB 及 8 Hz、130 dB 次声对雄性 SD 大鼠体重的增长有抑制作用,其机制可能与胃及十二指肠 5-HT 增多有关。

[关键词] 次声;大鼠;体重;胃;十二指肠;5-羟色胺(5-HT)

Effects of infrasound on weight and expression of 5-HT in stomach and duodenum of rats TAN Yong-xia, LI Ling, CHEN Jing-zao, et al. Department of Rehabilitation & Physiotherapy, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shanxi, China

[Abstract] Objective To study the effects of 8 Hz, 90 dB and 130 dB infrasound on the weight of SD rats and its possible mechanism. Methods 30 male SD rats were randomly divided into the control group, 8 Hz 90 dB and 8 Hz 130 dB groups according to their original weights. The experimental groups exposed to infrasound of 8 Hz 90 dB or 8 Hz 130 dB 2 hours every day, and the control group was placed in the infrasonic storehouse without infrasound exposure. The experiment lasted for 42 days. All the rats were weighed up every 3 days. Other 75 rats were randomly divided into 7, 14, 21, 28, 35 days of control group and 8 Hz 90 dB and 130 dB infrasound groups. Each group was given different parameter of infrasound. Then the stomach and duodenum was taken and given immunohistochemical staining for 5-HT (including another 15 rats of the weight group). The content of 5-HT in stomach sinus and duodenum was detected under an optical microscope. Results The weight of rats exposed to infrasound increased slower than that of the control ($P=0.000$); a magnificent difference was observed between 90 dB and 130 dB group ($P=0.000$). Rats exposed to 130 dB infrasound gained less weights than that exposed to 90 dB. The infrasound group expressed more 5-HT in stomach sinus and duodenum, and the peaks were at the 28th day of 8 Hz 130 dB group and the 35th day of 8 Hz 90 dB group ($P<0.01$). Conclusion Infrasound of 8 Hz 90 dB and 8 Hz 130 dB can restrain the increase of weight of rats, which possibly related to the increase of 5-HT in stomach and duodenum.

[Key words] infrasound; rats; weight; stomach; duodenum; 5-hydroxytryptamine (5-HT)

中图分类号:TB53 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2004)01-0031-03

[本文标引格式] 谭永霞,李玲,陈景藻,等.8 Hz 次声对大鼠体重及胃十二指肠 5-HT 表达的影响[J].中国康复理论与实践,2004,10(1):31-33.

次声是指频率 0.0001—20 Hz,波长 ≥ 17 米的声波,广泛存在于自然界但却不易被人耳所感知,对人和动物可产生广泛的生物效应^[1]。次声作为公共噪声的重要组成部分日益受到重视,波兰已制定了法律对工作环境中次声噪声的最大允许值作出严格规定^[2]。本实验拟通过动物实验探讨次声对大鼠体重的影响及其可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料

基金项目:全军医学科学技术研究“十五”计划指令性课题(01L071)。

作者单位:1.710032 陕西西安市,第四军医大学西京医院康复理疗科(谭永霞、李玲、陈景藻);2.710032 陕西西安市,第四军医大学军事预防医学系(刘朝晖)。作者简介:谭永霞(1970-),女,陕西宝鸡县人,硕士生,主要研究方向为次声的生物学效应。*通讯作者:李玲。

1.1.1 动物 一级雄性 SD 大鼠 30 只,由第四军医大学实验动物中心提供,6—7 周龄,体质量 190—210 g,实验前 1 周领回,分笼饲养于安静环境中。动物室温度控制在 20℃—24℃,湿度控制在 50%左右,动物自由进食、饮水,正常日光周期。

1.1.2 仪器及设备 ACS-ZJ 电子计重称(钱江电子衡器厂)。次声声源及检测系统:采用本校在中国科学院声学研究所和航天工业总公司第 41 所的指导和协作下建成的,声源为电动扬声器的次声压力仓系统及检测系统。次声压力仓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 型,南京电声器材公司)组成。检测系统主要包括次声传声器(1425 型,丹麦 B & K 公司)和次声信号数据采集分析系统。信号输出的次声声压、频率和波形稳定,模拟分析仪测量结果误差在 2.02%—2.03%之间。

1.2 方法

1.2.1 实验方法 30 只雄性 SD 大鼠根据体重采用分段随机法分成 3 组,其中 8 Hz,90dB、130dB 组和对照组各 10 只。实验组动物每天于固定时间分别暴露于 8 Hz、90dB 或 8 Hz、130dB 的次声仓中 2 小时,对照组动物每天于固定时间置于次声仓中 2 小时,但不予次声作用。所有动物每 3 天于上午 8 时测体重 1 次。另 75 只随机分为对照组及 8 Hz、90dB、130dB 的 7、14、21、28、35 天组,每组 5 只,按组别分别予以不同参数的次声作用,对照组亦置次声仓中但不予次声作用。大鼠最后一次从次声仓中取出后立即取胃及十二指肠(包括体重实验组每组各 5 只)进行免疫组织化学染色。

1.2.2 取材方法 大鼠予 1%戊巴比妥钠(按 40 mg/kg)进行腹腔麻醉,打开胸腔,拨开心包膜,暴露心脏,剪开右心房,将灌注针经左心室插入主动脉,生理盐水 100 ml 冲去血管内血细胞,4%多聚甲醛 400 ml 灌注固定,先快后慢,约 1.5 h 灌完。打开腹腔,取胃及十二指肠置 4%多聚甲醛中后固定 4 h(4℃冰箱)后,入 20%蔗糖磷酸缓冲液直至沉底(4℃冰箱),切片,染色。

1.2.3 试剂及免疫组织化学染色方法 兔抗 5-HT 抗体为本校组织胚胎学教研室生产(工作浓度分别为 1:1000)。生物素化羊抗兔 IgG 为 Sigma 公司产品(工作浓度为 1:500),ABC 复合物为 Sigma 公司产品(工作浓度为 1:500)。

1.2.4 染色及计数方法 大鼠胃窦及十二指肠标本在 Leica 恒冷冰冻切片机切片,片厚 10μm。采用抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合法(ABC 法)染色,DAB 显色(蓝色反应)。每例动物随机取 3 张。在 10×40 光镜下采图,用 MIAS-2000 图文分析系统进行图像分析,用灰度值代表其阳性结果。

1.2.5 统计方法 所得体重数据用 SPSS 10.0 软件

进行重复测量方差分析。5-HT 计数结果以单因素 ANOVA 方差分析,组间差异采用 Dunnett-*t* 检验。

2 结果

2.1 3 组大鼠体重变化情况 3 组大鼠实验后体重均成增长趋势,但实验组大鼠体重增长较对照组缓慢($P=0.000$),此外 8 Hz、90dB 组大鼠体重增长较 8 Hz、130dB 组快($P=0.000$)。见表 1。

2.2 次声对 SD 大鼠胃 5-HT 表达的影响 对照组可见胃粘膜固有层中呈深蓝色的阳性细胞,主要分布在胃幽门窦部,呈胞浆着色,细胞形状不规则,大小不等。实验组阳性细胞数增多,其中 90dB 组以 35 天最多,130dB 组以 28 天最多($P<0.01$)。见表 2 及图 1A、B。

2.3 次声对 SD 大鼠十二指肠 5-HT 表达的影响 对照组可见十二指肠粘膜固有层中阳性细胞,呈深蓝色,胞浆着色,细胞形态不规则,次声实验组阳性细胞数增多,其中 90dB 组以 35 天最多,130dB 组以 28 天最多($P<0.01$)。见表 3 及图 2A、B。

表 1 3 组大鼠体重变化情况

时间(天)	对照组	90dB 组	130dB 组
0	226.50±7.56	225.10±5.33	224.90±7.61
3	229.40±7.58	228.70±6.58	230.70±9.72
6	240.20±6.53	233.30±5.59	233.20±7.47
9	257.80±4.54	249.80±5.94	242.10±7.62
12	277.8±8.46	264.60±9.82	253.60±9.08
15	281.50±9.64	267.40±13.31	266.00±14.08
18	298.90±10.15	284.10±9.64	273.40±17.66
21	305.10±13.95	287.9±10.18	284.00±17.42
24	318.70±12.47	303.12±11.37	298.20±15.36
27	324.80±10.52	304.80±9.71	307.40±17.46
30	338.00±11.25	316.00±9.30	311.50±16.73
33	344.90±11.25	326.70±10.48	326.70±15.93
36	356.70±14.06	334.70±12.48	330.10±15.15
39	361.2±13.70	347.70±9.55	340.50±17.44
42	369.10±10.61	356.10±9.64	351.70±12.79

注:3 组间比较, $F=361.096$, $P=0.000$;90dB 组与 130dB 组间比较, $F=104.406$, $P=0.000$ 。

表 2 8 Hz 次声对大鼠胃幽门窦 5-HT 表达的影响(个/视野,n=15)

	7d	14d	21d	28d	35d	42d
对照组	13.66±2.13	12.59±2.08	13.10±2.11	11.58±2.30	10.97±1.88	12.77±2.15
90dB 组	15.84±2.01	19.48±3.12	24.51±2.36 ^a	29.87±3.02 ^b	33.54±4.12 ^b	27.90±3.14 ^a
130dB 组	17.56±2.11	21.55±2.06 ^a	28.83±2.12 ^b	34.35±3.14 ^b	25.79±3.05 ^a	19.84±2.00

注:与对照组相比,a: $P<0.05$;b: $P<0.01$ 。

表 3 8 Hz 次声对大鼠十二指肠 5-HT 表达的影响(个/视野,n=15)

	7d	14d	21d	28d	35d	42d
对照组	19.03±2.87	17.98±2.08	19.35±2.02	18.75±3.24	20.12±3.11	18.10±2.35
90dB 组	23.12±3.67	30.13±4.21	38.41±4.05 ^a	46.13±4.87 ^b	64.21±4.23 ^b	41.67±3.26 ^a
130dB 组	28.67±3.82	40.13±3.89 ^a	51.29±4.06 ^b	72.87±4.56 ^b	52.13±4.59 ^b	35.09±4.12 ^a

注:与对照组相比,a: $P<0.05$;b: $P<0.01$ 。

3 讨论

次声不仅广泛存在于我们的周围,而且可以通过共振效应对动物和人体产生广泛的影响。研究表明,次声短时间作用可引起动物和人体的循环、呼吸、神

经、消化等系统的功能、结构变化^[3]。由于腹腔脏器的固有频率是 6—9 Hz,因此 8 Hz 次声可以引起胃肠脏器功能和结构紊乱。



图 1 大鼠胃窦部 5-HT 阳性表达 (×400)
A:对照组 ;B:8Hz、130dB 28 天组

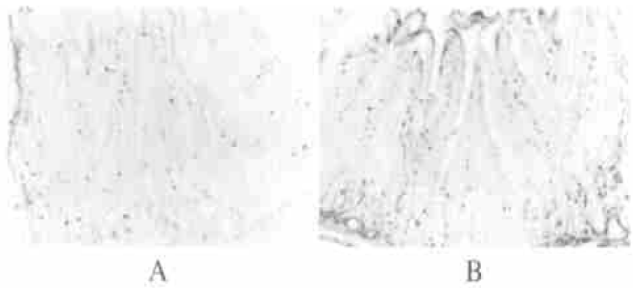


图 2 大鼠十二指肠 5-HT 阳性表达 (×200)
A:对照组 ;B:8Hz、130dB 28 天组

体重为各器官、骨骼、肌肉、脂肪等组织及体液的总量,是代表体格生长,尤其是营养情况最易取得的重要指标。日本学者曾将两组野生大鼠置于 16 Hz、60 dB 和 120 dB 的次声环境中共 100 天,每天 10 小时,结果并未发现两组动物在食物和水的消耗、体重增长方面有区别^[4]。另一项研究表明,8 Hz、110 dB 的次声作用于大鼠,每天 2 小时,共 10 周,可发现实验组大鼠体重增长较慢,且随时间的延长,作用更加明显^[5]。本实验结果表明 8 Hz、90 dB 组及 130 dB 组的大鼠体重增长均较对照组缓慢,且 130 dB 次声的影响更为明显。因此可以认为次声对大鼠体重有影响,一定参数的次声可以引起大鼠体重增长缓慢。

5-HT 是动物体内重要的化学递质,体内大约 90 % 存在于消化道的嗜铬细胞中,血小板内约有 8 %,脑内约有 1 %—2 %。消化道内的 5-HT 具有调节胃、肠消化吸收功能,抑制胃酸和胃蛋白酶的分泌,刺激胃肠平滑肌,提高胃肠紧张性和机动性,加快胃肠道收缩和蠕动的功能^[6]。研究发现静脉内注射 5-HT 或给予选择性 5-HT 再吸收抑制剂后,小肠蠕动增强,推进速度加快,通过回盲部的时间缩短,移行性综合运动出现次数增多,小肠张力增高^[7]。给予大鼠腹腔内注射 5-HT 能显著增强其结肠的推进性运动,使肠内容物由近端向远端结肠快速移动至直肠排出,甚至可以导致腹泻^[8]。肠易激惹综合症患者的乙状结肠粘膜及血清 5-HT 含量均增高^[9]。5-HT 可使胃底平滑肌细胞胞浆内 Ca^{2+} 浓度迅速升高,而在无钙培养液中则出现 Ca^{2+} 浓度的轻微震荡,ryanodine 可以阻断 5-HT 引起的细胞浆内 Ca^{2+} 浓度升高,5-HT₂ 受体拮抗剂 mianserin 可

以部分拮抗 5-HT 引起的细胞浆内 Ca^{2+} 浓度升高。提示 5-HT 通过 5-HT₂ 受体促进外钙内流和钙库内钙释放来升高胞浆内 Ca^{2+} 浓度,进而引起胃底平滑肌收缩^[10]。

本实验中,次声作用组胃肠 5-HT 含量均较对照组增多,并且在实验开始的一段时间内,随着作用次数的增加,含量逐渐增多;相同时间时,130 dB 组大鼠胃、十二指肠 5-HT 含量较 90 dB 组多。同时,我们在实验过程中也发现,实验组动物出现稀便现象较多,部分有腹泻现象,推测,8 Hz 次声使大鼠体重增长减慢的原因可能与其所至胃、十二指肠 5-HT 增多,引起大鼠胃肠蠕动增快,消化吸收功能障碍有关。实验组动物胃、十二指肠 5-HT 含量在后期有恢复趋势,说明动物对次声存在适应现象,这与叶琳等的观察相似^[11]。我们在观察 8 Hz 次声对 SD 大鼠海马超微结构的影响的实验中也观察到类似的现象^[12],其机制尚不明确。但适应是自然界普遍存在的,是生物体与环境建立动态平衡的表现。而我们在 8 Hz 次声对 SD 大鼠海马超微结构的影响的实验中发现线粒体、内质网等细胞器的变化以变性为主,可以从一个侧面说明适应出现的可能性。

由于机体对次声的效应很复杂,更长时间的次声作用是否符合这一规律有待进一步探讨。同时,生物体是一复杂的有机体,影响体重的因素很多,次声对 5-HT 以外其他影响体重因素的作用有待于进一步研究。

[参考文献]

[1]陈景藻.次声的产生及生物效应[A].见:医药卫生科学技术进展[C].北京:军事医学科学出版社,1997.194—197.
[2]Pawlaczyk LM. Evaluation of occupational exposure to infrasound in Poland[J]. Int Occup Med Environ Health,1999,12(2):159—176.
[3]Andreson J, Moller H. Equal annoyance contours for infrasonic frequencies[J]. Low Freq Noise Vib,1984,3(3):1—9.
[4]Kosaka T, Yamada S. Effects of low frequency on mice[J]. Low Freq Noise Vib,1984,3(3):17—19.
[5]Gabovich RD, Shutenko OI, Shvaiko KIP. Experimental effects of the combined exposure to infrasound and ultra high frequency electromagnetic fields[J]. Gig Saint,1979b,10:12—14.
[6]周舒,姜艾琳.5-羟色胺的生理和病理生理[M].北京:人民卫生出版社,1988.80—81.
[7]Gorard DA, Libby GW, Farthing MJG. 5-hydroxytryptamine and human small intestinal motility: effect of inhibiting 5-hydroxytryptamine reuptake[J]. Gut, 1994,35(4):496—500.
[8]Oosterbosch L, Vonderohe M, Valdoinos MA, et al. Effects of serotonin on rats ileocolic transfer in vivo: possible mechanisms of action[J]. Gut, 1993,34(6):794—798.
[9]张川,李定国,王彝康,等.肠易激惹综合症患者 5-羟色胺含量的变化[J].上海第二医科大学学报,2001,21(1):66—68.
[10]刘丽宏,梅其炳,陈蕾,等.5-羟色胺对胃底平滑肌细胞内游离钙动员的影响[J].第四军医大学学报,2001,22(10):891—893.
[11]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[J].第四军医大学学报,2002,23(9):856—858.
[12]谭永霞,李玲,陈景藻,等.次声对大鼠海马超微结构的影响[J].中国康复理论与实践,2003,9(11):645—647.

(收稿日期:2003-10-25)