

低频强声对大鼠肝脏和脾脏形态学影响

屈昌民¹, 李连勇¹, 吴玮², 王刚², 尹志利², 郭庆², 屈昌北², 张建中³, 吴继华³, 景青萍³, 曾新吾⁴, 龚昌超⁴, 田幸福⁴, 柳琰⁴ (1.解放军第306医院 消化内科, 北京 100101; 2.解放军第306医院 耳鼻咽喉头颈外科, 北京 100101; 3.解放军第306医院 病理科, 北京 100101; 4.国防科技大学光电科学与工程学院, 长沙 410073)

摘要: 目的 探讨低频强声对肝脏及脾脏组织形态学的影响。方法 随机将大鼠暴露于频率为103 Hz或300 Hz的声场中, 暴露时间分别为5分钟和10分钟。根据暴露的频率和作用时间, 分为4个实验组和对照组。依据暴露后观察时间, 每组再分为即刻组、3天组和7天组。依据肝脏、脾脏损伤程度判断标准, 对低频强声暴露后及对照组肝脏、脾脏组织病理学进行观察。结果 与对照组比较, 各实验组光镜下肝脏、脾脏均有不同程度的血管扩张、充血、淤血及组织水肿等改变。结论 低频强声可导致肝脏、脾脏损伤。

关键词: 低频强声; 大鼠; 肝脏; 脾脏; 腹部损伤

Effects of strong low-frequency sound on liver and spleen of rats

QU Chang-min¹, LI Lian-yong¹, WU Wei², WANG Gang², YIN Zhi-li², GUO Qing², QU Chang-bei², ZHANG Jian-zhong³, WU Ji-hua³, JING Qing-ping³, ZENG Xin-wu⁴, GONG Chang-chao⁴, TIAN Zhang-fu⁴, LIU Long⁴ (1.Department of Gastroenterology and Hepatology, The 306 Hospital of PLA, Beijing 100101, China; 2.Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, The 306 Hospital of PLA, Beijing 100101, China; 3.Department of Pathology, The 306 Hospital of PLA, Beijing 100101, China; 4.College of Electronic Science and Engineering, National University of Defense Technology, Changsha 410073, China)

Abstract: Objective To evaluate the effects of strong low-frequency sound on liver and spleen of rats.

Methods The rats were randomly exposed to a closed sound field and acoustically stimulated by strong low-frequency sound of 103 Hz or 300 Hz, respectively. The exposure time was 5 min and 10 min, respectively. On the basis of observation time, each group were divided into immediate group, 3 days group and 7 days group. The liver and spleen histopathology were observed based on the injury severity criteria. **Results** Different degrees of vascular dilation, congestion, edema were found in liver and spleen of the exposed rats when observed under light microscope. **Conclusions** Strong low-frequency sound can cause liver and spleen injury.

Key words: Strong low-frequency sound; Rats; Liver; Spleen; Abdominal injuries

噪声与大气污染、水污染一起被认为是当今世界三大公害, 广泛存在于人们的日常生活之中。噪声除了对听觉系统造成直接损伤外, 还会影响消化系统, 使唾液、胃液分泌下降, 消化腺分泌减少, 胃肠道蠕动减慢, 引起胃肠功能紊乱, 食欲不振、恶心、腹胀, 甚至应激性溃疡, 严重影响人们的身心健康。强声通常指声压级超过140 dB以上的声音, 属于噪声的一部分。由于强声的声强更高, 因此其对机体的损伤效应更为明显。尽管目前对强声的研究取得了一定进展, 但各研究所采用的声学参数及观察的时间段各不相同, 缺乏统一、系统性的研究。目前鲜有低频强声

对腹部实质性脏器影响的研究报道。为此本研究选择不同声强、频段、持续时间不同组合观察低频强声对肝脏、脾脏形态学的影响。

1 材料与方法

1.1 低频强声发生系统 低频强声发生系统主要由动力源、低频信号发生器、功率放大器和强声发生器组成。该设备由国防科技大学光电科学与工程学院提供。

1.2 受试动物 选择SD大鼠102只, 雌雄不拘, 200 g左右。随机将SD大鼠分为5组: 对照组和4个实验组, 其中对照组6只, 实验组共96只。将4个实验组分别暴露于频率103 Hz和300 Hz, 声压级150 dB的声场中, 暴露时间分别为5分钟和10分钟。根据暴露的频率、作

用时间,4个实验组分为条件一组(21只,103 Hz,153.7 dB,10分钟)、条件二组(27只,300 Hz,158 dB,10分钟)、条件三组(24只,103 Hz,153.7 dB,5分钟)、条件四组(24只,300 Hz,158 dB,5分钟)。根据暴露后时间点分为即刻组(28只)、3天组(36只)和7天组(32只)。对照组为空白对照,不进行任何条件的低频强声暴露。

1.3 方法 低频强声暴露后,依据各时间节点进行解剖。剖开腹部,取出肝脏、脾脏,观察其大体标本,多聚甲醛固定,脱水后石蜡包埋,切片后常规HE染色,行光镜下形态学检查。

1.4 判定标准

1.4.1 肝脏损伤程度判断标准 依据光镜下表现有无肝血窦扩张、肝细胞水肿及肝脏炎性细胞浸润情况进行积分。肝血窦无扩张记为0分,轻度扩张记为1分,中度扩张记为2分,重度扩张记为3分;肝细胞无水腫记为0分,局部肝细胞水肿记为1分,大片肝细胞水肿记为2分,弥漫肝细胞水肿记为3分;肝组织无炎性细胞浸润记为0分,有炎性细胞浸润记为1分。依据累计积分作为肝脏损伤程度的判断标准。

1.4.2 脾脏损伤程度判断标准 依据光镜下表现有无脾窦扩张、脾窦扩张范围及脾间质水肿情况进行积分。脾窦无扩张记为0分,轻度扩张记为1分,中度扩张记为2分,重度扩张记为3分;脾窦扩张范围为局部记为1分,弥漫记为2分;脾间质无水腫记为0分,有水腫记为1分。依据累计积分作为脾脏损伤程度的判断标准。

1.5 统计学处理 应用PASW Statistics 18.0统计软件包进行数据处理,各组间差异采用方差分析,统计分析均以 $P < 0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 低频强声对肝脏的影响 低频强声暴露后,实验组肝脏可见不同程度肝血窦扩张、肝细胞水肿及肝脏炎性细胞浸润,见图1。

低频强声暴露后,各实验组呈现不同程度的肝损伤,对照组肝脏光镜下观察基本正常,无明显肝血窦扩张、肝细胞水肿及肝脏炎性细胞浸润等表现。各实验组与对照组比较,均有显著差异(条件一组vs对照

组, $P < 0.001$; 条件二组vs对照组, $P < 0.001$; 条件三组vs对照组, $P < 0.001$; 条件四组vs对照组, $P < 0.001$),见表1。

低频强声暴露不同时间后,各实验组均呈现肝损伤,而对照组肝脏组织基本正常,各实验组与对照组比较,均有显著差异(暴露5分钟组vs对照组, $P < 0.001$; 暴露10分钟组vs对照组, $P < 0.001$)。暴露5分钟组的肝脏损害程度与暴露10分钟组比较,无显著差异($P = 0.327$),见表2。

不同频率低频强声暴露后,各实验组均呈现肝损伤,而对照组肝脏组织基本正常,实验组与对照组比较,均有显著差异(103 Hz暴露组vs对照组, $P < 0.001$; 300 Hz暴露组vs对照组, $P < 0.001$)。103 Hz暴露组的肝脏损害程度与300 Hz暴露组比较,无显著差异($P = 0.086$),见表3。

低频强声刺激后光镜下观察大鼠肝脏明显损伤,暴露即刻组出现明显损伤,暴露3天后组肝脏损伤最为严重,暴露7天后组肝脏损伤仍未明显恢复,见表4。

2.2 低频强声对脾脏的影响 低频强声暴露后,实验组脾脏可见不同程度无脾窦扩张、脾窦扩张范围及脾间质水肿,见图2。对照组脾脏光镜下观察基本正常,无脾窦扩张、脾窦扩张范围及脾间质水肿等表现。

低频强声暴露后,各实验组呈现不同程度的脾脏损伤,而对照组脾脏组织基本正常,各实验组与对照组比较,均有显著差异(条件一组 vs 对照组, $P = 0.002$; 条件二组 vs 对照组, $P = 0.014$; 条件三组 vs 对照组, $P < 0.001$; 条件四组 vs 对照组, $P < 0.001$),见表5。

低频强声暴露不同时间后,各实验组均呈现脾脏损伤,而对照组脾脏组织基本正常,各实验组与对照组比较,均有显著差异(暴露5分钟组 vs 对照组, $P < 0.001$; 暴露10分钟组 vs 对照组, $P = 0.003$),见表6。

不同频率低频强声暴露后,各实验组均呈现脾脏损伤,而对照组脾脏组织基本正常,实验组与对照组比较,均有显著差异(103 Hz暴露组 vs 对照组, $P < 0.001$; 300 Hz暴露组 vs 对照组, $P < 0.001$)。

103 Hz暴露组对脾脏损害程度与300 Hz暴露组比较，无显著差异（ $P=0.797$ ），见表7。

低频强声刺激后光镜下观察大鼠脾脏明显损伤，暴露即刻组出现明显损伤，暴露3天组脾脏损伤最为严重，暴露7天组脾脏损伤仍未明显恢复，见表8。

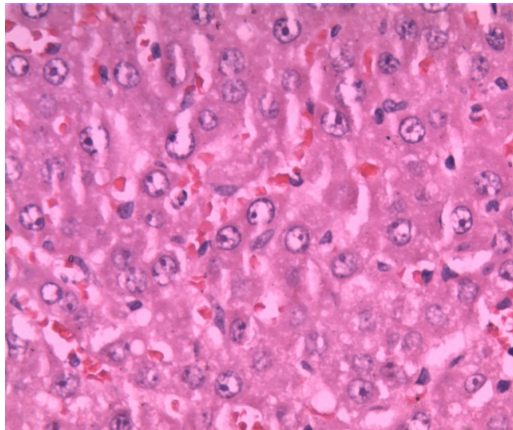


图 1 实验组低频强声暴露后肝组织（HE染色，200 ×）
注：光镜下显示血窦增宽，淤血扩张，肝细胞水肿

表 1 低频强声暴露后肝脏的损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
条件一组	27	4.1852	1.64169
条件二组	21	3.2857	2.02837
条件三组	24	4.4583	2.02117
条件四组	24	3.9167	2.32036
对照组	6	0.1667	0.40825
总体样本	102	3.7647	2.15800

表 2 不同暴露时间肝脏损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
未暴露组	6	0.1667	0.40825
暴露5分钟组	48	4.1875	2.16997
暴露10分钟组	48	3.7917	1.85608
总体样本	102	3.7647	2.15800

表 3 不同暴露频率肝脏损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
未暴露组	6	0.1667	0.40825
103Hz暴露组	51	4.3137	1.81648
103Hz暴露组	45	3.6222	2.18766
总体样本	102	3.7647	2.15800

表 4 暴露后不同时间点肝脏损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
暴露即刻组	28	4.0357	1.45251
暴露3天后组	36	4.1667	2.18436
暴露7天后组	32	3.7500	2.27185
未暴露	6	0.1667	0.40825
总体样本	102	3.7647	2.15800

3 讨论

噪声对消化系统的影响，除了可引起胃肠道功能紊乱^[1,2]外，还可引起肝脏功能异常^[3]。王允杰等^[4]发现暴露于噪声中的小鼠肝脏核酸含量及ALT活性可发生变化，朱蓓薇等^[5]亦发现噪音可导致转氨酶异

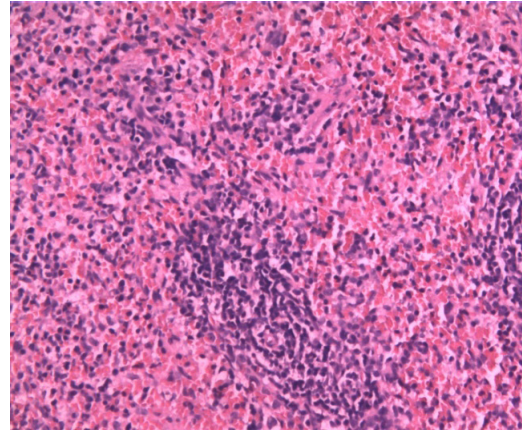


图 2 实验组低频强声暴露后脾脏（HE染色，100 ×）
注：光镜下显示红髓显著增宽，见大量红细胞，被膜下水肿

表 5 不同组间脾脏损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
条件一组	27	1.9630	1.31505
条件二组	21	1.6667	1.35401
条件三组	24	2.3333	1.20386
条件四组	24	2.6667	0.70196
对照组	6	0.3333	0.51640
总体样本	102	2.0588	1.25724

表 6 不同暴露时间脾脏损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
未暴露组	6	0.3333	0.51640
暴露5分钟组	48	2.5000	0.98930
暴露10分钟组	48	1.8333	1.32622
总体样本	102	2.0588	1.25724

表 7 不同暴露频率脾脏损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
未暴露组	6	0.3333	0.51640
103Hz暴露组	51	2.1373	1.26522
103Hz暴露组	45	2.2000	1.15994
总体样本	102	2.0588	1.25724

表 8 暴露后不同时间点脾脏损伤程度

	例数（例）	损伤程度均数	标准差
暴露即刻组	28	1.6786	1.36228
暴露3天后组	36	2.3889	0.96445
暴露7天后组	32	2.3438	1.23417
未暴露组	6	0.3333	0.51640
总体样本	102	2.0588	1.25724

常。与普通噪声不同,低频强声因其声强更大,对机体的损伤可能更重。本研究从组织学水平对低频强声对肝脏产生的损害进行了探讨,发现低频强声暴露后肝脏组织学水平可出现明显变化。低频强声暴露后即刻就出现明显肝脏损伤,暴露3天组肝脏损伤最为严重,而暴露7天组肝脏损伤仍未明显恢复。因此,短时间低频强声暴露对肝脏的损害是即刻发生的,而且其持续损伤可能是中期或长期的过程。

所有类型的急、慢性肝损伤均可能引起肉芽肿性肝炎、脂肪肝及肝血管损害,甚至导致肝硬化及肝恶性肿瘤等一系列后果^[6,7]。强声刺激后出现炎性细胞浸润及肝血管损伤改变,该改变是原发性表现,亦可为机体对各种病因引起肝脏损伤后的一种修复反应,表现为炎性细胞募集并诱发级联反应。如长期刺激可能导致胶原物质等过度形成和沉积^[8,9],最终可能引起肝纤维化或肝硬化^[10]。因本研究观察最长期限为短期强声暴露后7天,低频强声刺激后远期变化或长期低频强声刺激后对肝脏的影响仍待进一步验证。

低频强声对脾脏的影响目前鲜有研究。脾脏为人体内最大的淋巴器官,约占全身淋巴组织总量的25%,其内含有大量的淋巴细胞和巨噬细胞等。本研究在脾脏组织学水平探讨低频强声对免疫功能的影响,当脾脏微环境受损后,血源性抗原抗体反应变迟缓,导致血清抗体浓度下降。脾脏内还有一种记忆细胞,对再次入侵的抗原能迅速产生抵抗反应。此外,脾脏又能合成多种激素或因子,借以促进脾脏吞噬反应^[11,12]。本研究发现,低频强声暴露后,实验组脾脏可见不同程度脾窦扩张、脾间质水肿,使脾脏微循环受损,从而可能影响脾脏的免疫功能。韩浩伦等^[13]亦报道,飞船舱内噪声可对豚鼠淋巴细胞增殖率产生影响,从而引起免疫功能异常,故本研究结果在一定程度上解释了噪音引起免疫功能异常的原因。

低频强声引起肝脏、脾脏损害的原因可能为低频强声刺激引起机体剧烈运动,运动后组织器官相对缺氧,引起细胞膜通透性增加,细胞水肿;当生物体处于低频强声环境时,若声压级水平达到一定程度,其作用频率与生物体组织器官的固有频率相同时,就会发生器官共振反应^[14]。共振发生后可直接作用到各种

组织和细胞的原生质膜和线粒体膜,改变细胞膜的通透性,影响某些酶与质膜的结合状态及酶的活性,从而影响生物氧化过程和能量代谢与合成,降低机体抗氧化系统的功能,影响微循环;强声还可通过共振直接导致微循环障碍、影响组织器官的营养^[15],致使中央静脉和肝血窦纤维化^[16]。此外,强声刺激可引起交感肾上腺髓质系统兴奋,引起神经-体液调节系统变化,导致器官、组织缺血。低频强声对肝脏及脾脏损伤可能为机械损害与应激性损伤共同作用的结果。

总之,低频强声可引起肝脏及脾脏明显损伤,未来研究应依据低频强声对肝脾损害的机制制定适当的防护措施。

参考文献

- [1] 张磊,刘芳娥,胡文治,等.褪黑素对噪声应激大鼠胃肠传输功能的影响及其机制[J].世界华人消化杂志,2008,16:208-211.
- [2] 穆振斌,黄裕新,赵保民,等.枪击噪声对大鼠胃肠传输固体食物的影响及其机制探讨[J].解放军医学杂志,2005,30:145-146.
- [3] Oliveira MJ, Freitas D, Carvalho AP, et al. Exposure to industrial wideband noise increases connective tissue in the rat liver[J]. Noise Health,2012,14:227-229.
- [4] 王允杰,林英,李树壮,等.川芎对噪声致小鼠肝糖原含量、肝ALT活性变化的影响[J].中国工业医学杂志,2001,14:45.
- [5] 朱蓓薇,云霞,刘英新,等.中药调节噪声引起的动物肝AST、ALT变化的研究[J].中国工业医学杂志,2002,15:68-70,74.
- [6] 张欣,党双锁.实验性肝损伤机制研究进展[J].中国肝脏病杂志(电子版),2009:60-62.
- [7] Ahmad A, Ahmad R. Understanding the mechanism of hepatic fibrosis and potential therapeutic approaches[J]. Saudi J Gastroenterol,2012,18:155-167.
- [8] Polimeno L, Pesetti B, De Santis F, et al. Decreased expression of the augments of liver regeneration results in increased apoptosis and oxidative damage in human-derived glioma cells[J]. Cell Death Dis, 2012,3:e289.
- [9] 丁红兵,陈育霞,赖小欢,等.非病毒性肝炎肝损害的肝脏病理分析[J].肝脏,2012:216-217.
- [10] 郭蓉,阎明.肝纤维化的细胞和分子机制研究进展[J].中国肝脏病杂志(电子版),2012:57-62.
- [11] 徐明,鲁建国,马庆久.脾神经与脾脏免疫功能研究进展[J].现代生物医学进展,2010:2177-2179.
- [12] 孙备,李承.脾脏功能的研究进展[J].临床外科杂志,2006:450-452.
- [13] 韩浩伦,吴玮,王刚,等.模拟失重及飞船舱内噪声复合因素对豚鼠免疫功能的影响[J].实用医学杂志,2011,27:3842-3843.
- [14] 龚昌超,曾新吾.低频强声对动物及其行为效应的研究[J].中国应用生理学杂志,2008:52-56.
- [15] 庄志强,裴兆辉,陈景藻.次声生物学效应的相关机制[J].疾病控制杂志,2005,9:328-330.
- [16] 房婷,安立才,刘迷迷,等.小鼠肝窦内皮细胞损伤在肝静脉闭塞病中的作用研究[J].中国实验血液学杂志,2012:1457-1462.

收稿日期:2013-01-12