

次声作用对大鼠血浆 SOD、MDA、NO 水平的影响 *

张歆薇 刘海强 徐胜龙 周 艳 郭国祯[△] 王 晋[△] 丁桂荣[△]

(第四军医大学军事预防医学院放射医学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的 通过观察 16 Hz/130 dB 次声作用大鼠不同时间其血浆超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)水平的变化,揭示次声作用对大鼠氧化应激损伤的特点。方法 80 只 SD 大鼠随机分为次声作用 1、7、14、21 和 28 d 组及对应的假暴露组,每组 8 只大鼠。次声暴露组每日定时在次声舱内接受 16 Hz/130 dB 次声作用 2h,连续 1、7、14、21 和 28 d,假暴露组除不施加次声作用外,其在次声舱中放置的时间、次数、采样时间点均和次声暴露组相同。次声暴露后即刻测定大鼠血浆 SOD、MDA、NO 水平,测得的结果与假暴露组进行比较。结果 与假暴露组相比,大鼠血浆 SOD 活力在次声作用后显著降低($P<0.05$),且随次声作用时间延长,SOD 活力逐渐降低。大鼠血浆 MDA 含量在次声作用后显著升高($P<0.05$),且随次声作用时间延长,MDA 含量逐渐升高。大鼠血浆 NO 含量在次声作用 7、14 d 时显著降低($P<0.05$),1、21 和 28 d 时无统计学差异($P>0.05$)。结论 次声作用可引起大鼠氧化应激损伤,损伤的程度与次声暴露时间有关。

关键词 次声 大鼠 超氧化物歧化酶 丙二醛 一氧化氮

中图分类号 R-363 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)18-3416-04

Effects of Infrasound on the Levels of SOD, MDA and NO in Rat Plasma*

ZHANG Xin-wei, LIU Hai-qiang, XU Sheng-long, ZHOU Yan, GUO Guo-zhen[△], WANG Jin[△], DING Gui-rong[△]

(Department of Radiation Medicine, College of Military Preventive Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

ABSTRACT Objective: To observe the effects of infrasound on the levels of SOD, MDA and NO in rat plasma. **Methods:** 80 SD rats were randomly divided into five sham groups and five infrasound exposed groups ($n=8$). The rats in exposed groups were exposed under infrasound of frequency at 16 Hz, sound pressure level at 130 dB for 1, 7, 14, 21 and 28 d, 2 h per day, the rats in sham groups were treated the same except infrasound exposure. The levels of SOD, MDA and NO in plasma were measured immediately after final exposure. **Results:** Comparing to sham groups, the activity of SOD in rat plasma decreased significantly after infrasound exposure for 1, 7, 14, 21 and 28 d ($P<0.05$), the content of MDA in rat plasma increased significantly after infrasound exposure for 1, 7, 14, 21 and 28 d ($P<0.05$), the content of NO in plasma decreased significantly at 7 d ($P<0.05$) and 14 d ($P<0.05$), at 0, 21 and 28 d normally ($P>0.05$). **Conclusion:** Infrasound could induce oxidative stress in a time-dependent manner in rats.

Key words: Infrasound; Rats; Nitric oxide; Malondialdehyde; Superoxide dismutase

Chinese Library Classification(CLC): R-363 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)18-3416-04

前言

次声是物体震动产生的频率在 0.0001~20 Hz 之间的声波,广泛存在于工业生产、交通运输和军事环境中。因其能量在传播过程中不易被吸收,固具有传播远、波长长、衰减小等特性。近年来的研究表明,一定强度的次声作用可引起生物体的损伤。据美国环保局报道 90 dB 基本是次声的生物效应阈水平。90-110 dB 次声是一种强烈的应激因子,长期作用可导致机体的适应机能破坏^[1]。本实验将大鼠每天暴露于 16 Hz/130 dB 的次声环境中 2 h,连续 1、7、14、21 和 28 d,通过对大鼠血浆超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活力、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量和一氧化氮(Nitric oxide, NO)含量的测定,拟揭示次声作用对大鼠的氧化应激损伤特点,为次声的医学防护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性成年 Sprague-Dawley 大鼠(SD 大鼠)80 只(由第四军医大学动物实验中心提供),体质量 190~220 g。

1.2 仪器设备

1.2.1 次声的产生与检测 次声压力仓系统及次声检测系统由第四军医大学、航天工业总公司第 41 所、中科院声学研究所协作研制。压力仓系统由低频信号发生器(1110B 型,由北京强度环境研究所提供)、功率放大器(7101 型,由航天工业总公司第 702 所提供)和四个电动扬声器(YD500-8XA,由南京电声器材公司提供)组成,压力仓有效面积为 1.96 m²,体积为 1.92 m³。另设有次声声频和声压检测系统,能同步完成频谱分析及检测不同次声成分的声压强度。

* 基金资助 国家 973 项目(2011CB503704, 2011CB503705), 国家自然科学基金项目(81072272, 60871068)

作者简介 张歆薇(1982),女,硕士研究生,主要研究方向 次声生物学,电话 15339021681, E-mail ycmxmalong@163.com

△通讯作者 郭国祯, E-mail guozhen@fmmu.edu.cn 王晋, E-mail wangjinn@fmmu.edu.cn 丁桂荣, E-mail dingzhao@fmmu.edu.cn

(收稿日期 2012-03-13 接受日期 2012-04-08)

1.2.2 其他仪器设备 酶标仪 (由美国 Bio-Rad 公司提供)、微量式移液器 (由日本 NICHIRYO 立洋公司提供)、低温台式离心机 (由德国 Heraeus 公司提供)、电热恒温水箱 (由上海医疗器械七厂提供)、电子天平 (由德国电子仪器公司提供)、漩涡混匀器 (由海门麒麟医用仪器厂提供)。

1.3 实验用次声参数

频率 :16 Hz ; 声压级水平 :130 dB ; 作用时间 :1 次 / d,2 h / d,按分组不同,各组作用总时间分别为 1、7、14、21、28 d。

1.4 样品的制备

将 80 只 SD 大鼠随机分为次声作用 1、7、14、21 和 28 d 组及相应的假暴露组,每组 8 只大鼠。次声暴露组每日定时在次声舱内接受 16 Hz/130 dB 次声暴露 2 h,假暴露组除不施加次声作用外,其放置时间、次数、采样时间点及动物数和次声暴露组相同。各组预定暴露时间结束后即刻,用 1%戊巴比妥钠 (45 mg/kg) 腹腔注射麻醉,腹主动脉取血 5 mL,血液用肝素抗凝,以 4000 r/min 离心 20 min 提取血浆,将血浆分装后放入 -20 ℃ 冰箱保存待测。

1.5 SOD、MDA、NO 的测定

SOD 活力的测定采用黄嘌呤氧化酶法,MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸法,NO 通过采用硝酸还原法测定其代谢产物血浆亚硝酸盐和硝酸盐 (NO₂⁻ 和 NO₃⁻) 含量,按照试剂盒的说明操作,试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.6 统计学分析

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS16.0 分析软件行 Dunnett-t 检验,P<0.05 为具有显著性差异。

2 结果

2.1 次声作用对大鼠血浆 SOD 活力的影响

16 Hz,130 dB 次声作用于大鼠不同时间后,大鼠血浆 SOD 活力总体呈降低的趋势,且随作用时间的延长,SOD 活力逐渐降低。与假暴露组相比,大鼠血浆 SOD 活力在次声作用后 1、7、14、21、28 d 组均有显著性差异 (P<0.05)。说明在本实验条件下,次声作用可使大鼠血浆 SOD 活力降低 (表 1)。

2.2 次声作用对大鼠血浆 MDA 含量的影响

16 Hz,130 dB 次声作用于大鼠不同时间后,大鼠血浆 MDA 含量总体呈升高的趋势,且随作用时间的延长,MDA 含量逐渐升高。与假暴露组相比,大鼠血浆 MDA 含量在次声作用后 1、7、14、21、28 d 组均有显著性差异 (P<0.05)。说明在本实验条件下,次声作用可使大鼠血浆 MDA 含量升高 (表 2)。

2.3 次声作用对大鼠血浆 NO 含量的影响

16 Hz,130 dB 次声作用于大鼠不同时间后,与假暴露组相比,大鼠血浆 NO 含量在次声作用后 1 d 无显著性差异 (P>0.05),7、14 d 降低,有显著性差异 (P<0.05),14 d 组达到最低水平,以后随作用时间延长,NO 含量开始上升,到 21、28 d 组时,与假暴露组相比无显著性差异 (P>0.05)。说明在本实验条件下,次声作用可使大鼠血浆 NO 含量先降低后升高 (表 3)。

表 1 16Hz/130 dB 次声作用不同时间后大鼠血浆 SOD 活力 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 1 Change of SOD level in rat plasma after infrasound exposure ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Group	SOD (U/ml)				
	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d
Sham	100.62± 12.73	98.65± 14.16	99.54± 8.50	96.67± 10.14	93.62± 9.25
Exposed	77.13± 8.17 ^a	70.53± 10.42 ^a	56.27± 6.69 ^a	53.11± 8.47 ^a	51.26± 6.32 ^a

注 :与假暴露组相比,aP<0.05。
Note: aP<0.05 vs sham control group.

表 2 16Hz/130 dB 次声作用不同时间后大鼠血浆 MDA 含量 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 2 Change of MDA level in rat plasma after infrasound exposure ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Group	MDA (nmol/ml)				
	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d
Sham	6.77± 1.16	6.45± 1.51	6.87± 1.51	6.72± 0.81	7.12± 1.32
Exposed	9.81± 1.43 ^a	10.58± 1.08 ^a	11.82± 2.50 ^a	13.55± 4.43 ^a	14.42± 3.71 ^a

注 :与假暴露组相比,aP<0.05。
Note: aP<0.05 vs sham control group.

表 3 16Hz/130 dB 次声作用不同时间后大鼠血浆 NO 含量 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 3 Change of NO level in rat plasma after infrasound exposure ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Group	NO(μ mol/gprot)				
	1d	7d	14d	21d	28d
Sham	36.79± 2.29	38.05± 2.46	37.53± 1.65	36.32± 2.47	35.87± 1.82
Exposed	36.46± 3.53	32.47± 3.01 ^a	31.56± 2.06 ^a	35.79± 1.98	36.45± 2.72

注 :与假暴露组相比,aP<0.05。
Note: aP<0.05 vs sham control group.

3 讨论

次声作为物理因子作用于机体,其生物学效应与次声的频率、声压级和作用时间关系密切:当次声作用的频率和时间固定时,声压级水平越高,造成机体的损伤程度越重、损伤出现越早;当作用声压级和时间水平固定时,机体损伤程度随次声频率的变化可有所不同;当次声频率、声压级水平固定时,暴露于次声场的时间越长,机体损伤越严重^[2]。因为次声可对机体造成严重的损害,加上其在传播时不易衰减,不易被听到等特点,其军事应用价值早已引起一些国家的重视^[3,4]。美国、法国、俄罗斯、英国、德国和日本等争相研究次声暴露的生物学效应^[4,8],其目的在于探索非致死性次声武器在现代战争中的应用。

次声作用于生物体的始动因素是生物共振,对细胞结构和功能的原发性损伤具有重要意义^[9]。人体器官可看做是一系列多支点、多重心的弹簧模型,各个器官固有频率多在次声频率范围内,如人体头部为 8~12 Hz,躯干为 7~13 Hz,胸腔为 4~6 Hz,心脏为 5 Hz,腹部为 6~9 Hz,盆腔为 6 Hz,,如果各部分间的弹力都处于平衡状态,则机体也处于正常状态;当机体处于次声声压场时,若其声强达到一定程度就有可能打破这种平衡,使机体的弹性壁进入振动状态,继而传导给内部组织器官,接近或符合激发作用的振动频率的某一部件将扩大振幅并继续振动,此即生物共振反应^[1,2]。次声以引发共振的方式既可作用于机体各器官,又可作用到细胞结构^[9]。在次声损伤作用机制中,细胞膜结构变化占有明显的位置,次声可以直接作用于各种组织细胞的原生质膜和线粒体膜,改变细胞膜的通透性,影响质膜和一些酶的结合状态和活性,从而影响生物氧化过程和能量代谢过程,出现适应性反应和脱适应性反应的时相变化^[9,10]。次声作用还可激活体内氧化系统,产生大量自由基,自由基具有很强的生物活性,很容易与生物大分子反应,通过直接损害或者一系列过氧化链式反应而引起广泛的生物结构的破坏,造成生物体损害^[1,11]。据报道,采用自由基清除剂可以减少次声对生物膜的损伤。SOD 是广泛存在于需氧代谢细胞中的一种氧自由基清除剂,对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,其活力可反映机体清除氧自由基的能力。MDA 是自由基损害多不饱和脂肪酸脂质过氧化的产物,是衡量机体自由基代谢的敏感指标,其含量的高低可间接反映细胞受自由基攻击后脂质过氧化的严重程度。本实验观察到次声多次作用后大鼠血浆 SOD 活力降低,原因可能是次声作用使机体产生大量的氧自由基,SOD 作为氧自由基的清除剂而出现消耗性降低,或者因次声暴露而导致 SOD 的分泌和合成障碍,次声作用产生的过量的氧自由基不能及时清除,继而发生堆积。此外,我们还发现次声作用后脂质过氧化产物 MDA 含量增加,表明次声可引起脂质过氧化损伤。

心脏是对次声敏感的器官之一。据报道,脂质过氧化反应是导致心肌和血管内皮损伤的重要因素之一^[12]。有实验表明^[13]:大鼠和豚鼠暴露于 4-16 Hz,90-145 dB 次声下,每天 3 h,共 45 d,分别在第 5、10、15、25、45 d 对组织取材检测心肌的超微结构变化,结果发现 毛细血管内皮细胞、心肌细胞器及微循环中毛细血管长度均发生损伤性改变。裴兆辉等^[14]将大鼠多次暴露于

8 Hz,90、130 dB 的次声环境中,王溯等^[15]将大鼠多次暴露于 8 Hz,80、120 dB 的次声环境中,都观察到次声对大鼠血压有一定影响,且这种影响与次声作用的时间和声压级水平有关。NO 的生物学作用包括扩张血管、阻断血小板和白细胞黏附内皮细胞、清除超氧化物、调节免疫反应、保护内皮细胞不受氧化应激的损害等功能,在维持血管的正常功能及所处的舒缩状态中起重要的作用^[16]。若 NO 合成不足,会使 NO 的生理功能得不到正常的发挥,从而可引起高血压、动脉粥样硬化和组织供血障碍等诸多病理过程^[17]。在正常生理条件下,内皮细胞生成基础量的 NO,用以维持血管的正常功能及所处的舒缩状态,以维持血压在正常生理范围内,当各种因素引起内皮功能受损时,NO 合成与释放发生障碍,内皮依赖性血管扩张能力减弱,即可引起血压升高,反之,高血压也能造成内皮功能障碍^[18]。本实验观察到次声作用后大鼠血浆中 NO 含量明显降低,可能是次声导致机体分泌 NO 功能发生改变,并且与次声作用的时间有关。NO 含量降低可导致心肌细胞缺血缺氧,ATP 合成减少,Ca²⁺ 大量进入线粒体,使线粒体功能受损,细胞色素氧化酶系统功能失调,以致进入细胞内的氧,经单电子还原生成的氧自由基增多,造成心肌细胞凋亡和内皮细胞损伤,以致血压升高。

综上所述,在本实验条件下,次声作用可导致大鼠血浆 SOD 活力降低,MDA 含量升高,NO 含量降低,结果提示次声可引起大鼠氧化应激的损伤,损伤的程度与次声暴露时间有关。

参考文献 (References)

- [1] 陈景藻. 次声的产生及生物学效应 [J]. 国外医学·物理医学与康复学分册, 1999, 19(1): 9-14
Chen Jingzao. The generation and the biological effects of infrasound [J]. Foreign Medicine · Physical Medicine and Rehabilitation, 1999, 19(1): 9-14
- [2] Harris CS, Sommer HC, Johnson DL. Review of the effects of infrasound on man [J]. Aviation Space and Environment Medicine, 1976, 47(4): 430-434
- [3] 朱序来, 王广献. 次声武器 [J]. 外国军事学术, 1994, 8: 57-59
Zhu Xulai, Wang Guangxian. Infrasound weapons [J]. World Military Review, 1994, 8: 57-59
- [4] 王志平, 王永建, 王容芬等. 未来的超常规武器 [M]. 北京: 解放军出版社, 1985: 64-66
Wang Zhiping, Wang Yongjian, Wang Rongfen, et al. The future of supernormal weapons [M]. Beijing: Liberation Army Press, 1985: 64-66
- [5] Johnson DL. Auditory and physiological effects of infrasound [J]. Intennoise, 1975, 75: 172-175
- [6] CH Ammons. Takes for the study of perceptual learning and performance variables [J]. Percept Mot Skill, 1975, 5: 11-14
- [7] RA Hood. The occurrence and 50 men subjective effects of infrasonic noise [D]. London: University of London, 1973: 34-36
- [8] H Ising, C Wittke. long-term exposure of working persons to low frequency Noise Insitute of Acoustic Meeting on Low Frequency noise [J]. Chelsea College, 1979, 5: 25-29
- [9] 朱妙章. 心血管生理学及临床 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 523
Zhu Miao Zhang. Cardiovascular Physiology and Clinic [M]. Beijing:

Higher Education Press, 2004: 523

- [10] 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(4): 328 -330
Zhuang Zhiqing, Pei Zhaohui, Chen Jingzao. The underlying mechanisms for infrasonic bioeffect [J]. Chin Dis Control Prev, 2005, 9(4): 328 -330
- [11] He L, Perkins GA, Poblentz AT, et al. Overexpression blocks Bax-mediated mitochondrial contact site formation and apoptosis in rod photoreceptors of lead-exposed mice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 1022-1027
- [12] 侯忠赤, 王健春, 康劲松等. 罗摩甙抗自由基损伤作用的实验研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2002, 18(3): 292-294
Hou Zhongchi, Wang Jianchun, Kang Jinsong, et al. Study on the protection of asclepiadaceae against free radical injury [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2002, 18(3): 292-294
- [13] Nekhoroshev AS, Glinchikov VV. Morphofunctional changes in the myocardium under exposure to infrasound [J]. Noise Vib Bull, 1991, 12(1): 56-58
- [14] 裴兆辉, 丁红新, 陈景藻等. 次声对大鼠心率与血压影响的实验观察 [J]. 军事医学科学院院刊, 2005, 29(3): 208-210

Pei Zhaohui, Ding Hongxin, Chen Jingzao, et al. Experimental study on effects of infrasound on heart rate and blood pressure of rats [J]. Bull Acad Mil Med Sci, 2005, 29(3): 208-210

- [15] 王溯, 夏俊杰. 大鼠循环系统与次声的相关性研究 [J]. 继续医学教育: 2010, 24(3): 82-84
Wang Su, Xia Junjie. Correlation Study on circulation system of rat and infrasound [J]. Continuing Medical Education: 2010, 24 (3): 82-84
- [16] 朱妙章. 心血管生理学基础与临床 [M]. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 2011: 587-588
Zhu Miaozhang. Cardiovascular Physiology and Clinic [M]. The second edition. Beijing: Higher Education Press, 2011: 587-588
- [17] 海春旭. 自由基医学 [M]. 西安: 第四军医大学出版社, 2006: 51
Hai Chunxu. Free Radical Medicine [M]. Xi'an: Fourth Military Medical University Press, 2006: 51
- [18] 朱妙章. 心血管生理学基础与临床 [M]. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 2011: 298
Zhu Miaozhang. Cardiovascular Physiology and Clinic [M]. the second edition. Beijing: Higher Education Press, 2011: 298

(上接第 3424 页)

- [15] Vredenburg MR, Ojima I, Veith J, et al. Effects of orally active taxanes on P-glycoprotein modulation and colon and breast carcinoma drug resistance[J]. J.Natl. Cancer Inst, 2001, 93(16): 1234-1245
- [16] Ma P, Dong XW, Courtney L, et al. Development of idarubicin and doxorubicin solid lipid nanoparticles to overcome Pgp-mediated multiple drug resistance in leukemia [J]. J Biomed Nanotechnol, 2009, 5 (2): 151-161
- [17] S J Ahn, Y H Jeon, Y J Lee, et al. Enhanced anti-tumor effects of combined MDR1 RNA interference and human sodium/iodide symporter (NIS) radioiodine gene therapy using an adenoviral system in a

colon cancer model[J]. Cancer Gene Ther, 2010, 17(7): 492-500

- [18] M.R. Vredenburg, I. Ojima, J. Veith, et al. Effects of orally active taxanes on P-glycoprotein modulation and colon and breast carcinoma drug resistance[J]. J. Natl. Cancer Inst, 2001, 93(16): 1234-1245
- [19] Gian Carlo Alghisi, Lionel Ponsonnet, and Curzio Rüegg. The integrin antagonist cilengitide activates $\alpha V\beta 3$, disrupts VE-Cadherin localization at cell junctions and enhances permeability in endothelial cells[J]. PLoS ONE, 2009, 4(2): e4449
- [20] Huang Y, Chen X-Mei, Zhao BX, et al. Antiangiogenic activity of sterically stabilized liposomes containing paclitaxel (SSL-PTX): in vitro and in vivo[J]. AAPS PharmSciTech, 2010, 11(2): 752-759