

低声压级水平次声波对未孕大鼠卵巢及孕鼠胚胎和仔鼠的影响

韩小雪, 丁玉珍, 邓裕钦, 鲍正清, 李瑞满

(暨南大学 附属第一医院 妇产科, 广东 广州 510630)

[摘要] **目的:** 研究低声压级水平次声波(2~25 Hz/70 dB)对未孕大鼠卵巢结构和分泌功能的影响,同时探讨其对孕鼠的胚胎和仔鼠的影响。**方法:** 将40只雌性大鼠随机分组:对照组A1与次声组A2各8只,处理后观察卵巢结构并测定血清中的雌二醇、睾酮、黄体生成素(LH)和卵泡刺激素(FSH);其余雌鼠合笼,将孕鼠分为对照组B1与次声组B2、B3各6只,妊娠第6、12、18 d测血清中的雌三醇和孕酮;孕鼠分娩后记录仔鼠情况。**结果:** A1和A2组及B1、B2和B3组性激素水平均无统计学意义,A1和A2组卵泡的数量及形态无明显差别,但A2组髓质层血管明显扩张。与B1组比较,B2、B3组仔鼠的体质量明显增加($P < 0.05$)。**结论:** 低声压级水平次声波可以增加卵巢的血液供应,但对卵泡的发育、卵巢的内分泌功能无明显影响;可增加仔鼠的体质量,但对胚胎无明显影响,低声压级水平次声波应用于孕妇是安全的。

[关键词] 低声压级水平次声波; 卵巢; 胚胎; 仔鼠; 内分泌

[中图分类号] R714.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2014)02-0148-04

Effects of low-decibel infrasound on the ovary of non-pregnancy female rats, embryos and neonatal rats

HAN Xiaoxue, DING Yuzhen, DENG Yuqin, BAO Zhengqing, LI Ruiman

(Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou 510630, China)

[Abstract] **Aim:** To investigate the effects of low-decibel infrasound(2~25 Hz/70 dB) on the ovarian structure and the endocrine function of non-pregnancy female rats, and meanwhile to explore its influence on embryos and neonatal rats. **Methods:** Forty female rats were used, of which 16 were randomly divided into 2 groups with 8 in each: the control group A1, and the infrasound group A2. Then serum hormones were determined and the structure of ovary tissue was examined. The other female rats were mated. 18 pregnant rats were equally divided into 3 groups: the blank group B1 and the infrasound groups, B2, B3. The serum estradiol and progesterone were determined at post-pregnant day 6, 12, and 18, respectively. The neonatal rats were examined soon after delivery. **Results:** All of the serum hormone levels tested showed no statistically significant difference in this study. There were many different follicles observed, but no evident difference in quantity and morphology was found. However, blood vessels were found obviously dilated in the group A2. Compared to B1, the neonatal rat weights of B2 and B3 were found significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Low-decibel infrasound may cause weight gain of

[收稿日期] 2013-11-04

[基金项目] 广东省科技计划基金项目(2011B031700020);暨南大学第一临床医学院科研培育专项基金项目(2012)

[作者简介] 韩小雪(1987-),女,硕士研究生,研究方向:围产医学。

通信作者:李瑞满,主任医师,教授,博士生导师,Tel: 020-38688603; E-mail: hqyyilm@126.com

neonatal rats and increase ovarian blood supply, without evident influence on embryo development, ovarian structure and the endocrine functions.

[Key words] low-decibel infrasound; ovarian; embryo; neonatal rats; endocrine

次声波(infrasound)又称亚声波,是频率低于可听声频率范围的声波,其频率范围是 $10^{-4} \sim 20$ Hz,低声压级水平次声波是指90 dB以下的次声波^[1].广泛的存在于自然界,生产环境,工作环境及生物体内.次声波就像一把双刃剑,其生物学效应与参数有关(声压、频率等),高声压级水平的次声波对生物体的危害已被证实,而低声压级水平次声波现已用于医学领域^[2-7].声压级水平较高的次声波(90,130 dB)可以使小鼠怀孕率和仔鼠出生存活率降低^[8],亦可导致卵泡细胞形态及分泌功能受损^[9].因此,本研究旨在探讨低声压级水平次声波是否会影响未孕大鼠卵巢及孕鼠胚胎,同时观察其对仔鼠的出生存活率和外观畸形是否有影响.

1 材料与方法

1.1 材料

(1)实验动物 SPF级80日龄健康雌性SD大鼠40只,性成熟而未生育,体质量220~260 g;90日龄健康雄性大鼠6只,性成熟,体质量280~310 g,由暨南大学动物实验中心提供.

(2)主要试剂和仪器 光学显微镜,次声治疗仪infrasonic8000,雌二醇、睾酮、卵泡刺激素(follicle stimulated hormone,FSH)和黄体生成激素(luteinizing hormone,LH)放射免疫试剂盒,雌三醇和孕酮酶联免疫试剂盒购自上海信帆生物科技有限公司,Sn-695B型放射免疫分析仪,352型酶联免疫检测仪为芬兰Labystems公司产品.

1.2 方法

(1)实验分组 将性成熟雌性SD大鼠40只饲养2天后随机分组:A1组8只,不作任何处理;A2组8只,低声压级水平次声处理组.其余24只雌鼠与6只雄鼠按4:1定时合笼,发现阴道栓或阴道涂片见精子时记为妊娠第0天,合笼5 d后共有18只孕鼠,余大鼠未妊娠,然后将孕鼠随机分组:B1组6只,正常饲养至分娩;B2组,妊娠期(1~20 d)次声处理组;B3组,妊娠中晚期(7~20 d)次声处理组.

(2)次声参数及处理方法 次声治疗仪infrasonic 8000 主要是由主机及次声声头组成,该治疗仪输出次声频谱主要集中在2~25 Hz之间,次声主频信号的频谱是随机变化的,声强为70 dB.采用固定

器固定大鼠,使次声头垂直于大鼠腹部的水平位,次声发射头与大鼠腹部的距离2~3 cm.A2组经次声处理,30 min/次,2次/d,共20 d.B2组自妊娠第1~20 d经次声处理,30 min/次,2次/d.B3组自妊娠第7~20 d经次声处理,方法同B2组.

(3)样本的处理

①卵巢组织的采集 将A1和A2组大鼠解剖,分离并切除卵巢,称重后将卵巢用生理盐水清洗,用体积分数为4%多聚甲醛固定,常规脱水、石蜡包埋、切片,进行HE染色观察组织结构.

②激素的测定 A1和A2组经腹主动脉取血,B1、B2和B3组分别于妊娠第6、12、18 d经眼眶后静脉取血,离心后取上层血清放入EP管中,-20℃冰箱中储存.应用放射免疫法测定A1和A2组大鼠血清雌二醇、睾酮、FSH和LH的浓度,酶联免疫法测定B1、B2和B3组的孕鼠血清雌三醇和孕酮的浓度.

③仔鼠情况的观察 孕鼠分娩后分别进行仔鼠计数、测量身长、尾长及体质量、记录出生时的存活率及3 d的存活率,3 d时根据肛门与外阴间的距离:长的为雄性,短的为雌性,判断性别并记录.

1.3 统计方法

实验数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,A1和A2组组间比较采用两样本 t 检验;B1、B2和B3组的组间比较采用随机设计资料的方差分析;B1、B2和B3组仔鼠出生率等的组间比较采用多个样本率比较的 χ^2 检验.采用SPSS 13.0软件进行统计分析. $P < 0.05$ 表示有统计学差异.

2 结果

2.1 卵巢组织学观察和脏器系数的测定

A1和A2组大鼠卵巢皮质层可见多个不同发育时期的卵泡,原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡、成熟卵泡及黄体的数量及形态无明显差别,颗粒细胞多层,排列整齐,染色质致密,卵泡内膜细胞2~3层,A2组髓质层血管扩张(图1).

脏器系数又称脏/体比值,指每100 g体质量的某一脏器(湿重)所占的重量,以脏器重量g/100 g体质量表示.对照组A1与次声处理组A2大鼠卵巢脏器系数分别为 (0.024 ± 0.006) 和 $(0.026 \pm$

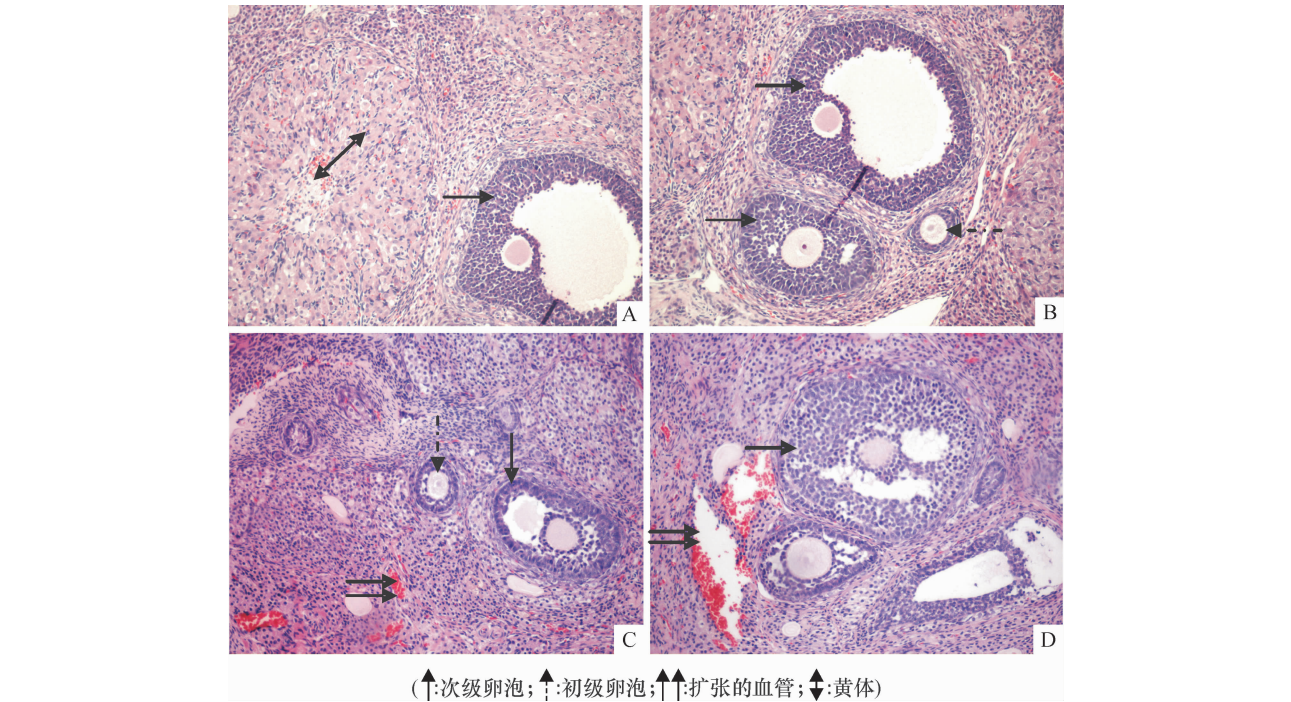
0.007), 两组卵巢脏器系数比较, 无统计学差异 ($P>0.05$).

2.2 血清激素的测定

A1 组与 A2 组雌二醇、睾酮、LH 和 FSH 的浓度及 B1、B2 和 B3 组于孕期第 6、12、18 d 雌三醇和孕酮的水平均无明显差异($P>0.05$, 表 1 ~ 表 3).

2.3 仔鼠出生后情况的观察

B1、B2 和 B3 组仔鼠出生时存活率、3 d 存活率、性别比、身长及尾长无明显差异($P>0.05$). 3 组仔鼠体质量、身长和尾长的变化(表 4), 3 组间体质量 $P<0.05$ 有统计学意义, B2 和 B3 组 $P>0.05$ 无统计学意义.



A: 对照组 A1, 可见次级卵泡及黄体, 未见明显扩张的血管; B: 对照组 A1, 可见初级卵泡及次级卵泡, 未见明显扩张的血管; C: 次声处理组 A2, 可见初级卵泡及次级卵泡, 扩张的血管; D: 次声处理组 A2, 可见次级卵泡及明显扩张的血管.

图 1 卵巢组织 HE 染色 (× 100)

Fig. 1 Hematoxylin and eosin staining of ovarian tissue (× 100)

表 1 A1 组与 A2 组雌二醇、睾酮、LH 和 FSH 的比较
Table 1 Comparison of the estradiol, testosterone, LH and FSH between A1 and A2

组别	动物数/只	ρ 雌二醇/(ng·L ⁻¹)	ρ 睾酮/(ng·mL ⁻¹)	ρ FSH/(mIU·mL ⁻¹)	ρ LH/(mIU·mL ⁻¹)
A1	8	19.04 ± 4.45	0.79 ± 0.32	1.05 ± 0.15	1.61 ± 0.39
A2	8	18.04 ± 6.81 ¹⁾	1.32 ± 0.77 ¹⁾	0.94 ± 0.12 ¹⁾	2.01 ± 0.63 ¹⁾

1) 次声处理组 A2 与对照组 A1 比较, 雌二醇 ($P=0.73$)、睾酮 ($P=0.25$)、FSH ($P=0.29$) 及 LH ($P=0.32$) 质量浓度均无统计学意义, $P>0.05$.

表 2 孕期第 6、12、18 天血清雌三醇的质量浓度 (ng/L)
Table 2 Comparison of the E3 estriol in 6, 12 and 18 days of pregnancy

组别	动物数/只	孕第 06 天	孕第 12 天	孕第 18 天
B1	6	52.84 ± 4.06	59.27 ± 1.78	66.14 ± 4.75
B2	6	48.63 ± 0.87 ¹⁾	61.56 ± 3.60 ¹⁾	64.44 ± 1.73 ¹⁾
B3	6	53.94 ± 0.94 ¹⁾	58.90 ± 0.78 ¹⁾	63.60 ± 1.20 ¹⁾

1) 与对照组 B1 比较, 次声处理组 B2、B3 在孕早 ($P=0.12$)、中 ($P=0.35$)、晚 ($P=0.65$) 期血清雌三醇的质量浓度的差异均无统计学意义, $P>0.05$.

表 3 孕期第 6、12、18 天血清孕酮的质量浓度 (μg/L)
Table 3 Comparison of the progesterone in 6, 12 and 18 days of pregnancy

组别	动物数/只	孕第 06 天	孕第 12 天	孕第 18 天
B1	6	19.67 ± 1.46	22.69 ± 1.08	24.73 ± 1.16
B2	6	18.85 ± 1.24 ¹⁾	23.08 ± 1.72 ¹⁾	24.77 ± 1.50 ¹⁾
B3	6	20.00 ± 0.93 ¹⁾	23.35 ± 0.45 ¹⁾	24.01 ± 0.34 ¹⁾

1) 与对照组 B1 比较, 次声处理组 B2、B3 在孕早 ($P=0.54$)、中 ($P=0.76$)、晚 ($P=0.66$) 期血清孕酮的质量浓度的差异均无统计学意义, $P>0.05$.

表 4 B1、B2 和 B3 组仔鼠体质量、身长及尾长的变化
Table 4 Comparison with the weight, body length and tail length of young rats among B1, B2 and B3

组别	动物数/只	体质量/g	身长/cm	尾长/cm
B1	6	5.68 ± 0.75	5.01 ± 0.22	1.71 ± 0.14
B2	6	6.15 ± 0.76 ¹⁾	5.12 ± 0.21 ²⁾	1.72 ± 0.13 ²⁾
B3	6	6.16 ± 0.49 ¹⁾	5.10 ± 0.23 ²⁾	1.68 ± 0.12 ²⁾

1) 与对照组 B1 比较, 次声处理组 B2、B3 仔鼠的体质量明显增加, $P<0.05$; 2) 与对照组 B1 比较, 次声处理组 B2、B3 仔鼠的身长 ($P=0.07$)、尾长 ($P=0.52$) 无明显差异, $P>0.05$.

3 讨论

次声治疗仪是由美国加利福尼亚州医师学会研制,获得美国国家专利的一种次声发射器.本实验所用的 infrasonic 8 000 次声治疗仪产生的次声波频率在 2~25 Hz 之间,声压级为 70 dB.次声对生物体的基本作用原理^[10-11]是生物共振.生物体各器官都存在一定的固有频率,并分布在次声范围内,生理学研究表明,人体各器官都有一个固定的振动频率,称为人体器官的固有频率,通常在 2~16 Hz 之间,如腹腔为 6~9 Hz、盆腔为 6 Hz.次声治疗仪则是以随机的频率产生低声压级水平次声波,缓慢而轻柔,随频率变化对人体的不同组织器官产生不同的共振效应.

本研究结果表明:一方面低声压级水平次声波(2~25 Hz/70 dB)对卵泡的发育和卵巢的内分泌功能以及胚胎无明显影响,对仔鼠出生时存活率、3 d 存活率、性别比及外观畸形率亦无明显影响,由此推测低声压级水平次声波应用于孕妇是安全可靠的;另一方面低声压级水平次声波作用可以使仔鼠的体质量增加,卵巢髓质层血管扩张,改善卵巢的血液供应.研究表明:低声压级水平次声波(低于 90 dB 的次声波)较短时间作用于生物体能使生物体改善血液循环、扩张血管,使阻塞的血管再通,例如低声压级水平次声可以使病灶处血管再通,对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤具有保护作用^[12];低声压级水平次声治疗亦可以显著改善心肌梗死后大鼠心脏功能^[13].由本研究可推测低声压级水平次声作用可以改善卵巢的血液循环,扩张血管,但其作用尚不能影响各级卵泡的发育和激素水平的改变.在孕期,低声压级水平次声作用,可以使胎盘的血管扩张,改善母体和胎儿之间的血液供应,从而使仔鼠体质量增加.设想低声压级水平次声波是否可以通过扩张血管、改善血液循环用于治疗胎儿生长受限、妊娠期高血压等产科相关疾病,关于低声压级水平次声波在产科方面的应用有待进一步研究.

[参考文献]

[1] LIU J, LIN T, YAN X, et al. Effects of infrasound on cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats[J].

Neuroreport, 2010, 21(8): 585-589.

- [2] 张永元,吴胜举.次声的研究与应用进展[J].宝鸡文理学院学报:自然科学版,2004,24(3):216-219.
- [3] YOUNT G, TAFT R, WEST J, et al. Possible influence of infrasound on glioma cell response to chemotherapy: a pilot study [J]. Altern Complement Med, 2004, 10(2): 247-250.
- [4] 余继林,孙艳萍.次声治疗仪治疗小儿厌食症临床疗效分析[J].中国中医药信息杂志,1995,2(11):22.
- [5] OBRUBOV S A, TUMASIAN A R. To the treatment of progressive myopia children [J]. Vestn Oftalmol, 2005, 121(4):30-32.
- [6] TSATSARIS A, KOUKOUNARIS E, et al. Role of infrasound pressure waves in atherosclerotic plaque rupture: a theoretical approach [J]. Recent Pat Cardiovasc Drug Discov, 2007, 2(1): 69-72.
- [7] PEI Z, SANG H, LI R, et al. Infrasound-induced hemodynamics, ultrastructure, and molecular changes in the rat myocardium [J]. Environ Toxicol, 2007, 22(2): 169-175.
- [8] 刘秀敏,甄荣.次声对小鼠生育能力与免疫功能的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2000,22(2):100-102.
- [9] 魏亚宁,刘静.次声暴露对小鼠卵巢细胞超微结构的影响[J].第四军医大学学报,2003,24(4):293-295.
- [10] DU F, YIN L, SHI M, et al. Involvement of microglial cells in infrasonic noise-induced stress via upregulated expression of corticotrophin releasing hormone type 1 receptor [J]. Neuroscience, 2010, 167(3): 909-919.
- [11] PARK J, ROBERTSON J. A portable infrasound generator [J]. J Acoust Soc Am, 2009, 125(4): L148-L151.
- [12] 李川,范建中,吴红瑛,等.低声压级次声对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J].中国康复医学杂志,2009(5):419-422.
- [13] 刘召红,初国良,朱妙章,等.低声压级水平次声对心肌梗死大鼠心功能的影响及机制[J].心脏杂志,2009(5):665-668.

[责任编辑:朱颖嫒]