

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00672

• 短篇论著 •

高功率微波辐射对大鼠的肝损伤作用及对细胞因子的影响

王月华¹, 蒋林哲², 李强¹, 孙艳美¹, 吕士杰³, 钟秀宏^{4*}

- 1. 吉林医药学院病原学教研室, 吉林 132013
- 2. 吉林市人民医院普通外科, 吉林 132013
- 3. 吉林医药学院生物化学教研室, 吉林 132013
- 4. 吉林医药学院病理学教研室, 吉林 132013

[摘要] **目的** 探讨高功率微波辐射对大鼠肝细胞形态结构及血清细胞因子的影响。**方法** 以 100 mW/cm² 功率对成年雄性 Wistar 大鼠进行微波辐射,并设立正常对照组。分别于辐射后 1、7 和 14 d 进行心脏采血,取血清检测天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、白介素(IL)-6、IL-10 和 IL-18 水平;采血后处死大鼠,冰浴下取肝右叶组织,采用光镜观察肝组织结构的改变。**结果** 形态学观察发现辐射后 1、7 d 大鼠肝小叶内有散在、片状肝细胞变性、坏死及炎性细胞浸润,辐射后 14 d 时病变减轻,但仍有部分肝细胞有变性及点状坏死。大鼠血清 AST 和 ALT 水平于辐射后 1、7 d 与对照组比较均明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$);14 d 时 ALT 和 AST 与对照组比较差异无统计学意义。细胞因子 IL-6 和 IL-18 水平于辐射后 1、7 d 明显高于对照组($P < 0.01$),14 d 时有所恢复;IL-10 水平与对照组比较呈下降趋势,辐射后 1 d 时与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 高功率微波辐射对肝脏结构和功能具有损伤效应,其机制可能与细胞因子 IL-6、IL-10 和 IL-18 的变化有关。

[关键词] 高功率微波;辐射损伤;肝损伤;白介素 6;白介素 10;白介素 18

[中图分类号] R 818.85 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)06-0672-04

Effect of high power microwave radiation on liver injury and serum cytokine in rats

WANG Yue-hua¹, JIANG Lin-zhe², LI Qiang¹, SUN Yan-mei¹, LÜ Shi-jie³, ZHONG Xiu-hong^{4*}

- 1. Department of Pathogenic Biology, Jilin Medical College, Jilin 132013, Jilin, China
- 2. Department of General Surgery, Jilin People's Hospital, Jilin 132013, Jilin, China
- 3. Department of Biochemistry, Jilin Medical College, Jilin 132013, Jilin, China
- 4. Department of Pathology, Jilin Medical College, Jilin 132013, Jilin, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of high power microwave (HPM) radiation on morphology of liver cells and serum cytokines in rats. **Methods** Adult male Wistar rats were exposed to 100 mW/cm² intensity microwave radiation as experimental group, and rats without radiation were designed as normal controls. The blood samples were obtained from the hearts to determine the levels of aspartate transaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT), interleukin (IL)-6, IL-10 and IL-18 on 1 d, 7 d and 14 d after HPM radiation. Finally the rats were sacrificed and the right leaf tissues of liver were obtained immediately under ice bath, and the hepatic tissue changes were observed under routine light microscope. **Results** There were inflammatory cell infiltration, scattered, and patched cell degradation, and necrosis in rat hepatic lobule on 1 d and 7 d after HPM radiation; the situation was improved on 14 d after radiation, but there were still cell degradation and dotted necrosis. Serum levels of AST and ALT in the experimental group were significantly higher than those in the control group on 1 d and 7 d after HPM radiation ($P < 0.05, P < 0.01$), but not on 14 d after radiation ($P > 0.05$). Serum levels of cytokines IL-6 and IL-18 in the experimental group were significantly higher than those in the control group on 1 d and 7 d after HPM radiation ($P < 0.01$), and the changes recovered somewhat on 14 d after radiation. Level of IL-10 was decreased after

[收稿日期] 2013-10-24 **[接受日期]** 2014-03-26

[基金项目] 吉林省教育厅课题(吉教科合字 2014373, 吉教科合字 2012495, 吉教科合字 2013348)。Supported by the Education Department of Jilin Province(2014373, 2012495, 2013348).

[作者简介] 王月华, 硕士, 讲师。E-mail: yuehua26@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0432-64560468, E-mail: xhzhong0611@163.com

radiation compared with the control group, with significant difference found on 1 d after radiation ($P < 0.05$).

Conclusion HPM radiation can cause damage to liver structure and function, which might be associated with the changes of serum IL-6, IL-10 and IL-18 levels.

[Key words] high power microwaves; radiation injuries; liver injuries; interleukin-6; interleukin-10; interleukin-18

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(6): 672-675]

随着微波技术的迅猛发展,从事通讯、电视转播、雷达作业等特殊职业的人群数量迅速增长,普通人群接触微波辐射的强度和时间也与日俱增。国内外流行病学调查和实验研究已证实,微波(包括高、中、低功率)辐射具有广泛的生物损伤效应,其中高强度微波对人类健康特别是职业从业者的健康影响已引起广泛关注^[1-3]。肝是高功率微波辐射的敏感器官,本课题组前期研究发现高功率微波辐射大鼠后可引起肝超微结构的变化^[4],本研究仍以大鼠为研究对象进行 100 mW/cm² 高功率微波辐射,通过形态学和生物化学检测,观察高功率微波对肝组织损伤和细胞因子的影响,探讨高功率微波辐射对肝的损伤作用及其调控机制,为更深层次的研究及采取有效防护措施提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 清洁级雄性 Wistar 大鼠 32 只(吉林大学白求恩医学院实验动物中心提供,生产许可证号 SCXK-吉 2008-0005),体质量(190±20)g。所有动物均于清洁级动物室饲养,自由饮食,室内温度 20~25℃,相对湿度 60%~80%,保持通风,定时换气,适应性喂养 7 d 后进行实验。将 32 只大鼠随机分为对照组、微波辐射后 1 d 组、微波辐射后 7 d 组、微波辐射后 14 d 组,每组 8 只。

1.2 微波辐射方法 微波辐射源为雷达发射机改装的大功率脉冲微波辐射装置,出口天线为喇叭天线,峰值功率 2 MW,辐射强度 100 mW/cm²,辐射时间 6 min。将大鼠置于辐射源的正下方,辐射参考点为大鼠背部体表,电磁波电场方向与大鼠的长轴平行。对照组不予辐射,其他环境条件与实验组一致。

1.3 肝功能和细胞因子的检测 各组大鼠分别于辐射后 1、7 和 14 d 时用戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,穿刺左心室采血,制备血清,应用 7020 型全自动生化分析仪(日本日立公司)检测天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT)水平,采用 ELISA 法

测定血清中白介素(IL)-6、IL-10 和 IL-18 水平(ELISA 试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司,检测仪器为 Bio-rad 680 酶标仪)。

1.4 肝组织病理形态学观察 心脏取血后,迅速取大鼠肝脏右叶,固定,石蜡包埋,切片,H-E 染色,光镜下观察肝组织病理形态学。根据肝损伤程度分为 4 级^[5]：“-”表示基本正常；“+”表示肝细胞损伤轻,无明显坏死和炎细胞浸润；“++”表示肝细胞损伤明显,偶见散在点状坏死；“+++”表示肝细胞损伤严重,有明显肝细胞坏死和炎细胞浸润等。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异的比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 高功率微波辐射对大鼠肝组织形态学的影响 光镜下可见,对照组大鼠肝小叶结构清晰,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝窦正常,肝细胞呈多边形,胞核结构清晰(图 1A),肝损伤级别均为一;辐射后 1 d 组和 7 d 组大鼠肝小叶界限欠清晰,肝细胞紊乱,肝窦变窄,肝小叶内肝细胞出现片状变性,并可见灶性坏死和炎细胞浸润,上述病变以小叶中央静脉周围为重,高倍镜下可见大部分肝细胞胞质疏松淡染,有的胞核模糊不清,有的胞核呈固缩状(图 1B、1C),肝损伤级别以++和+++为主(辐射后 1 d 组:5 只++,3 只+++;辐射后 7 d 组:1 只+,4 只++,3 只+++);辐射后 14 d 组肝损伤有所减轻,但部分肝细胞仍有变性及点状坏死(图 1D),肝损伤级别以+和++为主(6 只+,2 只++)。

2.2 高功率微波辐射对大鼠肝功能的影响 高功率微波辐射后 1 d 组和 7 d 组大鼠血清 ALT 和 AST 水平与对照组相比均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);辐射后 14 d 组大鼠血清 ALT 和 AST 基本恢复,与对照组比较差异无统计学意义。详见表 1。

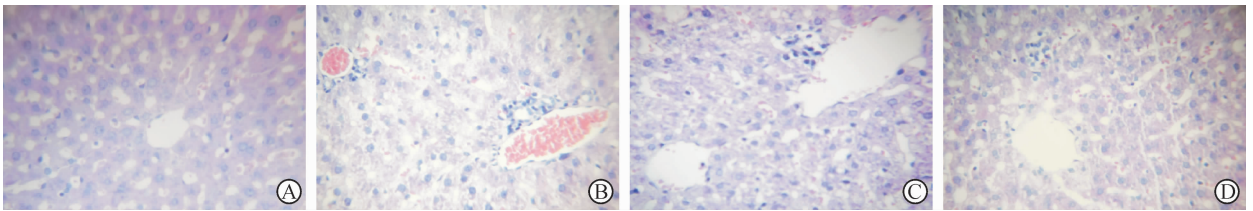


图 1 高功率微波辐射致大鼠肝组织损伤的形态学观察

A: 对照组; B: 辐射后 1 d 组; C: 辐射后 7 d 组; D: 辐射后 14 d 组. H-E 染色. Original magnification: $\times 200$

表 1 高功率微波辐射对大鼠血清 ALT、AST 和细胞因子的影响

$z_B / (U \cdot L^{-1}), n=8, \bar{x} \pm s$

血清指标	对照组	辐射后 1 d 组	辐射后 7 d 组	辐射后 14 d 组
肝功能指标				
ALT	51.04 ± 10.99	219.53 ± 69.36**	151.96 ± 63.00*	97.35 ± 48.69
AST	79.36 ± 20.52	431.38 ± 108.28**	351.91 ± 116.67**	104.37 ± 34.49
细胞因子				
IL-6	70.93 ± 14.16	182.45 ± 26.87**	155.69 ± 33.03**	94.69 ± 30.69
IL-10	101.01 ± 20.68	53.18 ± 11.18*	72.29 ± 9.69	82.73 ± 12.77
IL-18	45.86 ± 4.67	154.84 ± 31.78**	112.04 ± 22.60**	75.85 ± 13.43*

ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 天冬氨酸转氨酶; IL-6: 白介素 6; IL-10: 白介素 10; IL-18: 白介素 18. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与对照组比较

2.3 高功率微波辐射对大鼠血清细胞因子的影响 由表 1 可见,高功率微波辐射后 1 d 和 7 d,大鼠血清中 IL-6 和 IL-18 水平与对照组比较明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$); IL-10 水平比对照组降低,且在辐射后 1 d 时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。辐射后 14 d 各细胞因子水平均有所恢复,但 IL-18 水平与对照组相比差异仍具有统计学意义 ($P < 0.05$),而 IL-6 和 IL-10 水平与对照组比较差异无统计学意义。

3 讨论

目前,关于高功率微波辐射对神经、心血管、生殖系统产生致伤效应的研究较多^[6-9],但有关微波肝损伤效应研究较少,本课题组前期对高功率微波辐射致大鼠肝超微结构改变曾有过报道^[4],但肝功能是否改变以及炎性细胞因子是否参与其损伤过程尚未确定。为了系统阐明微波损伤效应和作用机制,本实验仍采用单次高功率微波辐射大鼠,动态观察大鼠肝组织形态与肝功能变化特点和规律,以进一步明确高功率微波致肝损伤效应。

本实验结果显示,高功率微波辐射后 1 d 和 7

d,大鼠肝组织形态学发生了明显损伤,小叶界限欠清晰,肝细胞索紊乱,肝窦变窄,肝小叶内肝细胞出现片状变性,并可见灶性坏死和炎细胞浸润;反映肝功能损伤最为重要的生化指标 ALT 和 AST 在辐照后 1、7 d 明显升高,说明肝功能受损,这与肝组织形态学变化一致。我们同时检测了相关细胞因子的变化水平,结果显示高功率微波辐射后 1、7 d,IL-6 与 IL-18 明显高于对照组,而 IL-10 水平低于对照组。IL-6 与 IL-18 可促进细胞毒性 T 细胞(CTL)分化,刺激肝细胞产生急性炎症蛋白,在肝损伤和炎症中起着中心作用^[10-12]。IL-10 为巨噬细胞和 T 细胞在肝内产生的强有力的抗炎性细胞因子,具有抑制 Th1 细胞因子的细胞免疫功能,同时促进 Th2 细胞的发育和抗体的产生,介导体液免疫,对急性肝损伤具有保护作用^[10,13-14]。本研究中高功率微波辐射后上述细胞因子表达的动态变化规律与肝组织病理变化及炎细胞浸润规律相一致,表明 IL-6、IL-18 升高及 IL-10 降低可能参与了高功率微波辐照后早期所致的肝细胞损伤。

我们进一步观察了高功率微波辐射后 14 d 时肝组织形态学、肝功能和血清细胞因子的变化,结果

显示肝细胞损伤及炎症减轻,可见再生的肝细胞,并且AST和ALT有恢复的趋势,说明肝脏结构和功能得到了一定程度的修复。辐射后14d与辐射后1d和7d相比,细胞因子IL-6与IL-18呈现下降趋势,IL-10呈上升趋势,说明这3个细胞因子的水平也得到一定的恢复。上述结果提示,在高功率辐射后晚期,机体处于肝损伤修复阶段,损伤性细胞因子合成和分泌逐渐减少,而抗损伤细胞因子合成和分泌逐渐增多。

综上所述,高功率微波辐射对肝脏结构和功能具有损伤效应,其机制可能与细胞因子IL-6、IL-10和IL-18的变化有关。本研究中高功率微波所致的肝细胞损伤是可逆性的,这可能与微波辐照时间和肝细胞修复、代偿功能强,以及细胞因子参与免疫调节密切相关。然而基于现代民用微波设备向大功率方向拓展,军事微波武器向高功率延伸,经常处于高功率微波环境的从业者,如军事雷达及通讯检测、使用微波烘干技术的加工工业,这些人群暴露于高强度微波辐射的危险是多次的,且可能时间累积较长,有可能造成不明确的累积损伤发生,此种状况下机体能否进行有效修复,值得进一步深入研究。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 王水明,彭瑞云,高亚兵,陈浩宇,马俊杰,周红梅,等. HPM辐照后大鼠睾丸组织细胞因子表达的定量研究[J]. 中国体视学与图像分析,2006,11:135-138.

[2] 王锩德,彭军祥,李福庆. 电磁环境对人体的危害及防护[J]. 中国个体防护装备,2007,3:20-23.

[3] 胡向军,王德文. 微波辐射生物效应的量效关系研究进展[J]. 军事医学科学院院刊,2005,29:375-378.

[4] 钟秀宏,徐俊杰,刘洪梅,姜艳霞,芦晓晶,吕士杰. 高功率微波辐射致大鼠心和肝损伤形态学观察[J]. 中国公共卫生,2010,26:1559-1560.

[5] 杨淑艳,钟秀宏,张以忠,赵丽微. 灯盏花素对抗结核药致小鼠肝损伤的保护作用及机制研究[J]. 中国药学杂志,2011,46:1242-1244.

[6] 牟敬锋,严宙宁. 微波辐照对生殖损伤研究现状[J]. 中国职业医学,2013,40:372-373.

[7] 文静,徐天昊,彭瑞云. 微波辐射损伤及防护研究进展[J]. 军事医学科学院院刊,2009,33:385-387.

[8] 王亚男,周喆,王升启. 微波辐射防护药物的研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2013,40:167-171.

[9] Kesari K K, Siddiqui M H, Meena R, Verma H N, Kumar S. Cell phone radiation exposure on brain and associated biological systems[J]. Indian J Exp Biol, 2013, 51:187-200.

[10] Chan C C, Lee K C, Huang Y H, Chou C K, Lin H C, Lee F Y. Regulation by resveratrol of the cellular factors mediating liver damage and regeneration after acute toxic liver injury[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2014, 29: 603-613.

[11] 程勇,赵亚敏,苏剑,尹体英. 非酒精性脂肪性肝病患者血清白介素-18、白介素-8、肿瘤坏死因子- α 水平变化的临床意义[J]. 医学研究与教育,2009,26:18-20.

[12] 王春艳,蒋利萍. 白细胞介素18基因多态性与疾病的关系研究进展[J]. 检验医学与临床,2007,4:104-106.

[13] 苏岑,张兴利,黄韵如,郑和鑫,肖献忠,曾庆仁,等. 血管活性肠肽对脓毒性休克大鼠肝损伤的保护作用[J]. 生命科学研究,2012,16:319-323.

[14] Huang K C, Wu W T, Yang F L, Chiu Y H, Peng T C, Hsu B G, et al. Effects of freshwater clam extract supplementation on time to exhaustion, muscle damage, pro/anti-inflammatory cytokines, and liver injury in rats after exhaustive exercise[J]. Molecules, 2013, 18:3825-3838.

[本文编辑] 孙岩