

· 综述 ·

低强度微波辐射的细胞生物学效应

王志刚 蒋欧 时德

微波为电磁振荡频率在 300 MHz ~ 300 GHz 间的电磁波辐射,其波长 $< 1\text{ m}$ 。一般认为:微波辐射功率密度不超过 10 mW/cm^2 为低强度微波(low intensity microwaves, LIM),它对人体主要产生非热生物学效应^[1],即机体接受微波辐射后产生不归属于温度变化的生物学改变。随着移动电话(频率为 900 MHz 或 1 800 MHz)、家用微波炉等的广泛使用,微波作为一种非电离辐射,与人们生活和工作密切相关,因此微波的生物学效应也倍受关注。同时微波凝固治疗(microwave coagulation therapy, MCT)、微波理疗、微波辐射辅助肿瘤化疗应用于临床,微波辐射的生物学作用和机制已成为医学、细胞学研究的热点。近年来,大量的研究发现,经 LIM 辐射后,在细胞、亚细胞及分子水平产生一系列变化,并往往表现为频率选择性和功率选择性,且在相同实验条件下,不同细胞在不同的辐射时间产生迥然不同的生物学效应。本文就 LIM 辐射所导致的细胞生物学改变作一初步阐述。

LIM 辐射对细胞形态和增殖的影响

LIM 辐射细胞后,细胞形态及增殖周期的改变是微波辐射细胞效应最为常见的现象之一。实验发现: LIM 辐射(74.0 GHz , 1 h , 10 mW/cm^2) BHK-21/C13 细胞后,细胞质内空泡增加,细胞体积变得不规则;持续辐射 48 h 后,细胞增殖率与对照组相比下降 10% ~ 60%,细胞继续培养 12 d 后,对照组细胞形成多层细胞克隆,而辐射组细胞形成小而规则变皱的单层细胞^[2]。Somosy 等^[3]使用 LIM(2 450 MHz , 72 h , $0.002\text{ 4} \sim 2.4\text{ mW/g}$) 辐射鼠 3T3 纤维母细胞后,在光镜下发现,细胞浆肿胀,出现空泡和脂肪滴,进而细胞质溶解,细胞核浓缩、深染,结构不清,细胞在中期停止分裂;电镜下线粒体肿胀或破坏,多聚核蛋白体变成单核蛋白体,细胞质浓缩、核小体消失等。有的研究使用 LIM(2 450 MHz) 辐射大袋鼠脉络膜和骨髓细胞,显示细胞分裂指数下降(对照组为 3%,辐射组为 0.95%)^[4]。Garaj 等^[5]研究发现, LIM 辐射(7.7 MHz , 10 mW/cm^2 , 15, 30, 60 min) 可使中国仓鼠 V79 细胞克隆减少,不能进入 S 期,并与微波的功率与暴露时间有关,提示 LIM 可影响细胞 DNA 的结构和合成。

LIM 辐射与炎症过程

炎症的发展与致炎介质的作用有关。在致炎因子的作用下,微血管损伤,通透性增高,炎性细胞浸润,进一步释放炎症介质,引起组织损伤。LIM 辐射可使炎症病灶中的致炎介质含量下降,其机制目前尚不清楚,但有研究认为, LIM 可能是通过抑制炎症介质的合成与分泌或减少炎性细胞浸润及促进炎性细胞的凋亡来实现抗炎作用的^[4]。Sinorova 等^[6]采用 LIM

(8.15 GHz , 2 mW/cm^2 , 每日 3 h, 共 30 d) 辐射雄性免疫鼠,发现雄性免疫鼠的巨噬细胞、T 淋巴细胞的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)明显增加,辐射组与非辐射组比较,前者的白介素 3(IL-3)的分泌明显减少。Glushkova 等^[7]采用类似的方法,也观察到病灶炎性细胞 TNF 增加,炎性细胞浸润较对照组减少。另有实验证明:以低功率微波辐射($< 88\text{ mW/cm}^2$) 变态反应性关节炎的关节后,关节渗出减轻,放射性碘被变态反应性关节炎关节吸收的速度减慢,病灶炎性细胞较对照组明显减少,表明低功率微波辐射急性炎症病灶后,可使血管通透性下降,抑制炎症的发展,但中等以上功率密度($> 220\text{ mW/cm}^2$, 热量)的微波辐射急性炎症病灶则会使炎性病灶的炎性介质含量增加进而导致炎症恶化^[4]。

LIM 辐射对细胞 DNA 的影响

LIM 辐射对细胞 DNA 结构与功能有无影响目前尚存在争议。Verma 等^[8]用 LIM(915 MHz , 比吸收率(specific absorption rate, SAR)为 0.05 mW/kg) 辐射带有神经元特异性烯醇化酶基因重组因子的细胞,结果该基因表达增加。该基因的表达提示细胞 DNA 损伤或发生畸变。Lai 等^[9]以 LIM(2 450 MHz , SAR 为 $0.6, 1.2\text{ mW/kg}$) 辐射雄性 SD 大鼠 2 h, 结果发现脑细胞 DNA 单链升高,并认为 DNA 单链的增高,可能是由于 DNA 修复机制减弱所致,首次提出微波辐射可导致细胞 DNA 单链断裂。Lai 等^[10]在另一研究中发现, LIM 辐射可使神经细胞产生大量自由基,导致 DNA 单、双链断裂增多(辐射条件为: 2 450 Hz , 每秒 500 个脉冲, 脉宽 2 ms, 功率密度 2 mW/cm^2 , 辐射时间 2 h), 辐射前先注射自由基清除剂(美拉拖宁或 N-3-丁基-a-硝基苯)可抑制 DNA 单、双链的断裂。众所周知, DNA 单链增高是 DNA 损伤常用的指标,而 DNA 单链断裂可致肿瘤形成或细胞凋亡。Sarkar 等^[11]用 LIM(2 450 MHz , SAR 为 1.18 mW/kg) 脉冲波辐射雄性 Swiss 小鼠(每日 2 h, 120 ~ 200 d), 然后取脑组织用 Southern blot 法检测发现,经 Hinf I 内切酶消化的小鼠睾丸和脑组织 DNA 杂交带在 7 000 ~ 8 000 bp 范围内发生基因重排。另外 Singh 等^[12]使用 LIM(2 450 MHz , 10 mW/cm^2) 辐射出生 23 d 的大鼠 60 d 后,观察到聚-ADP-核糖-聚合酶[Poly-(ADP-ribose) Polymerase, PARP]活性在各器官变化不一致,肝、睾丸 PARP 活性分别增加 20% 和 35%, 而间脑和皮质 PARP 活性分别降低 53% 和 70%, 而 PARP 的活化使 NAD⁺ 和 ATP 减少,使细胞趋于死亡或凋亡。

由上可见, LIM 辐射可使 DNA 发生断裂、损伤,并存在量-效关系。当 DNA 受到损伤时,野生型 P53 基因与特异序列 DNA 结合诱导细胞进入 G₁ 期,抑制细胞增殖,为 DNA 修复创造时机。但因 DNA 修复相关酶 PARP 活性降低,则受损 DNA 难以修复,这样可能在 P53 基因的调控下使细胞进入凋亡状态。但是也有实验表明,微波对 DNA 的合成与增殖不起作用,例如在对正常和癌变鼠脑胶质细胞辐射后(频率 836.55 MHz , 24 h,

作者单位: 614000 乐山, 四川省乐山市人民医院外二科(王志刚); 重庆医科大学附属第一医院血管外科(蒋欧)

功率密度分别为 0.09, 0.9, 9 mW/cm²), 与对照组相比, 正常的神经胶质细胞的 DNA 合成和增殖没有明显差别^[13]。在另一研究中, Garson 等^[14]将 38 名长时间接触 400 KHz ~ 20 GHz 电磁波环境的半导体工人与 38 名对照人员的外周血淋巴细胞染色体畸变率进行比较, 并未发现 DNA 的损伤, 提示微波对 DNA 的损伤存在频率窗、功率窗效应。其频率、功率与辐射时间对 DNA 的影响起关键作用。

LIM 辐射与细胞基因表达

目前研究认为 LIM 可引起细胞凋亡。Ye 等^[15]采用 LIM (5 mW/cm² 和 10 mW/cm²) 辐射兔角膜细胞 3 h, 发现兔角膜细胞凋亡。Peinnequin 等^[16]以人的 T 淋巴细胞作为靶细胞, 用 LIM (2 450 MHz, 48 h, 5 mW/cm²) 辐射, 结果 T 淋巴细胞大量凋亡, 并认为其凋亡机制在于受体与 Caspase-3 或膜蛋白间的 Fas 途径促使细胞凋亡, 并非是丁酸盐或神经酰胺诱导的细胞凋亡。而在另一研究中, Harvey 等^[17]以人的肥大细胞 (Human mast cell line, HMC-L) 作为生物靶暴露于持续微波辐射 (864 MHz, SAR 为 7 W/kg, 每日 20 min, 共 7 d), 并将温度控制在 26.5℃, 发现原癌基因 c-kit、核苷二磷酸激酶 B 和凋亡相关基因 DAD-1 上调, 提示微波通过蛋白激酶 C 的活化, 改变 HMC-L 的基因表达。在另一研究手机微波辐射对去颅骨大鼠神经细胞凋亡的实验中^[18], 采用 LIM (900 MHz, 每日 4 h, 共 21 d, 0.05 mW/cm²) 辐射, 结果去颅骨辐射组的凋亡细胞及 Bax、Bcl-2 表达阳性细胞率与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。以上研究均采用不同的微波频率、功率密度、辐射时间以及靶细胞, 因此 LIM 对细胞基因表达的确切影响极为复杂。此外 c-fos、c-Jun、ras、Fas/apo-1、c-myc 等基因与细胞凋亡关系密切, LIM 是否影响这些基因的表达呢? Omura 等^[19]观察到微波炉 (2 450 MHz, 450 W) 漏出的微波在 0.2 ~ 2 m 的距离可引起 c-fos Ab1 和 c-fos Ab2 的长时间表达。比较性观察发现: c-myc 在 60 Hz 磁场中表达增加^[20], c-ras 在 72 Hz 磁场中表达下降^[21], 微波对上述基因表达的影响可能与 LIM 辐射诱导细胞凋亡有关。

LIM 辐射对细胞酶活性的影响

微波辐射对酶结构和功能的影响是微波对细胞产生作用的主要因素之一。在经膜受体运输激素、生长因子及细胞因子等物质的信息传导过程中, 蛋白激酶是关键酶。Byus 等^[22]报道, 电磁波辐射可降低 cAMP 蛋白激酶的活性, 然而, 这一类酶包括很多种, 其活性降低是非特异性的。同时, 一些实验还发现, 用频率为 3 000 MHz、功率密度为 1 ~ 5 mW/cm² 的连续波辐射中性粒细胞, 能使细胞酸性磷酸酶与溶菌酶活性增强, 这两种酶的活性增强与细胞死亡率成正比。采用组织化学方法分析证明, 微波辐射可使细胞内多种酶 (如碱性磷酸酶、ATP 酶、琥珀酸脱氢酶等) 的活性降低。这些酶的活性降低可影响细胞代谢、生长, 直至停止增殖。

结 语

随着微波技术在通讯、雷达、探测、医疗等领域的应用, 微波辐射对人的生物学效应日益受到关注, 尤其是微波用于医疗已取得很好的疗效, 对其作用机制的研究变得日益迫切。本文初

步阐述了 LIM 对细胞形态、增殖、DNA、基因表达方面的影响, 但对其作用机制的研究还不够深入。由于电磁辐射的非热效应和机理研究比热效应起步要晚, 非热效应很难在重复实验中取得一致结果, 其机理研究和定量计算也很困难, 对电磁生物学效应的研究仍停留在整体效应、细胞水平和亚细胞水平, 较少涉及分子水平, 故需进一步研究和探讨。

参 考 文 献

- Kolosova LI, Akoev GN, Arelev VD, et al. Effect of low-intensity millimeter wave electromagnetic radiation on regeneration of the sciatic nerve in rat. *Bioelectromagnetics*, 1996, 17: 44-47.
- Lentz RR, Stensaas LJ, Partlow LM. Effects of millimeter-wave radiation on monolayer cell cultures. *J Microw Power*, 1990, 15: 113-118.
- Somosy Z, Thuroczy G, Kubasova T, et al. Effects of modulated and continuous microwave irradiation on the morphology and cell surface negative charge of 3T3 fibroblasts. *Scanning Microsc*, 1991, 5: 1145-1155.
- 陈景藻. 现代物理治疗学. 北京: 人民军医出版社, 2000. 193-194.
- Garaj-Vrhovac V, Horvat D, Koren Z. The relationship between colony-forming ability, chromosome aberration and incidence of micronuclei in V79 Chinese hamster cells exposed to microwave radiation. *Mutat Res*, 1991, 263: 143-149.
- Sinotova OA, Novoselova EG, Ogai VB, et al. Effect of electromagnetic waves in the centimeter range on the production of tumor necrosis factor and interleukin-3 in immunized mice. *Biofizika*, 2002, 47: 78-82.
- Glushkova OV, Novoselova EG, Sinotova OA, et al. Immunomodulating effect of electromagnetic waves on production of tumor necrosis factor in mice with various rates of neoplasm growth. *Biofizika*, 2002, 47: 376-381.
- Verma M, Dutta SK. Microwave induced alteration in the neuron specific enolase gene expression. *Cancer Biochem Biophys*, 1993, 13: 239-244.
- Lai H, Singh NP. Acute low-intensity microwave exposure increase DNA single-strand breaks in rat brain cell. *Bioelectromagnetics*, 1995, 16: 207-210.
- Lai H, Singh NP. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics*, 1997, 18: 446-454.
- Sarkar S, Ali S, Behari J. Effect of low power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. *Mutat Res*, 1994, 320: 141-147.
- Singh N, Rudra N, Bansal P, et al. Poly ADP ribosylation as a possible mechanism of microwave-biointeraction. *Indian J Physiol Pharmacol*, 1994, 38: 181-184.
- Stagg RB, Thomas WJ, Jones RA, et al. DNA synthesis and cell proliferation in C6 glioma and primary glial cells exposed to 936.55 MHz modulated radio frequency field. *Bioelectromagnetics*, 1997, 18: 230-236.
- Garson OM, McRobert TL, Campbell LJ, et al. A chromosomal study of workers with long-term exposure to radio-frequency radiation. *Med J Aust*, 1991, 155: 289-292.
- Ye J, Yar K, Lu D, et al. Low power density microwaves radiation induced early changes in rabbit lens epithelial cells. *Chin Med J*, 2001, 114: 1290-1294.
- Peinnequin A, Piriou A, Mathieu J, et al. Non-thermal effects of continuous 2.45GHz microwaves on Fas-induced apoptosis in human Jurkat T-cell line. *Bioelectrochemistry*, 2000, 51: 157-161.
- Harvey C, French PW. Effects on protein kinase C and gene expression in a human mast cell line, HMC-1, following microwave exposure. *Cell Biol Int*, 2000, 23: 739-748.

- 18 刘伟国,杨小锋,朱永坚. 手机微波辐射对去颅骨大鼠神经细胞凋亡的影响. 浙江创伤外科,2003,8:4-7.
- 19 Omura Y, Losco M. Electro-magnetic fields in the home environment (color TV, computer monitor, microwave oven, cellular phone, etc) as potential contributing factors for the induction of oncogen C-fos Ab1, oncogen C-fos Ab2, integrin alpha 5 beta 1 and development of cancer, as well as effects of microwave on amino acid composition of food and living human brain. Acupunct Electrother Res,1993,18: 33-73.
- 20 Goodman R, Weisbrot D, Uluc AJ, et al. Transcription in Drosophila melanogaster salivary gland cells is altered following exposure to low-frequency electromagnetic fields: analysis of chromosome 3R. Bioelectromagnetics,1992, 13: 111-118.
- 21 Phillips JL, Haggren W, Thomas WJ, et al. Effect of 72 Hz pulsed magnetic field exposure on ras p21 expression in CCRF-CEM cells. Cancer Biochem Biophys,1993,13:187-193.
- 22 Byus CV, Kartum K, Pieper S, et al. Increased ornithine decarboxylase activity in cultural cells exposed to low energy modulated microwave fields and ester tumour promoters. Cancer,1988,48:4222-4226.

(修回日期:2005-04-26)

(本文编辑:松 明)

· 研究快报 ·

低温高渗盐水配合低温等渗盐水治疗兔脑梗死的实验研究

李涛 李玲莉 李承晏 魏捷 余绍祖

脑梗死治疗中的一个关键问题就是如何降低颅内压(intracranial pressure, ICP),升高脑灌注压(cerebral perfusion pressure, CPP)。在以往的研究中,我们发现静脉灌注低温等渗盐水能有效形成亚低温,并持续降低 ICP,但形成亚低温需要一段时间,而此段时间 ICP 无明显降低,而且体表降温形成的亚低温有降血压作用;高渗盐水在治疗初期会升高平均动脉压(mean arterial blood pressure, MBP),并明显降低 ICP,但随着时间的延长作用逐渐减弱。本研究试图通过两者的联合运用,探讨其对脑梗死兔的治疗作用和对 ICP, CPP 的影响。

材料与方法

一、材料

家兔 30 只,体重 2.0 ~ 2.5 kg,由武汉大学医学院动物中心提供,雌雄各半,随机分为 3 组,每组 10 只。线栓法制备大脑中动脉梗死模型,梗死后 6 h 开始治疗。I 组:静脉推注 7.5% 的高渗盐水 2.5 ml/kg 体重;II 组:按每千克体重 0.8 ml/min 的速度静脉滴注 4℃ 生理盐水,在脑温达到 (33.5 ± 0.5)℃ 时将滴注速度改为每千克体重 0.15 ml/min;III 组:静脉推注 4℃ 7.5% 高渗盐水 2.5 ml/kg 体重,而后按 II 组方法滴注 4℃ 生理盐水。3 组均按 0.5 mg/kg 体重的剂量给予氯丙嗪。

二、模型制作和相关指标监测方法

兔大脑中动脉梗死模型的制作:用 20% 乌拉坦 (5 ml/kg 体重) 腹腔注射麻醉后,将兔固定于手术台上,沿颈前正中偏左侧切开,分离暴露左颈总动脉(common carotid artery, CCA)及颈内动脉(internal carotid artery, ICA),结扎左侧 ICA 根部,将 0.8 号渔线(直径 0.148 mm)预先放入 4 号静脉穿刺针头内,待针头刺入颈内动脉后将渔线导入 ICA 约 4.0 ~ 4.5 cm,结扎、固定渔线,制成局灶性大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA)梗死模型。

CPP:左股动脉穿刺监测动脉血压,经第四脑室穿刺后接监测仪监测 ICP。CPP = MBP - ICP。

三、统计学分析

应用 SPSS 11.5 版软件进行统计学分析,数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,同一治疗组不同时间段的比较采用配对资料的符号秩和检验(Wilcoxon Signed-rank Test);不同治疗组同一时间段的比较采用两样本比较的秩和检验(Mann-Whitney Rank Sum Test), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、脑温

3 组治疗前脑温均在 37.5 ~ 38.6℃ 之间,差异无统计学意义($P > 0.05$);I 组治疗后脑温无明显变化;II 组治疗 (50.6 ± 7.8) min 后脑温降至 35℃;III 组治疗 (51.6 ± 9.6) min 后脑温降至 35℃。II、III 组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

二、MBP (图 1)

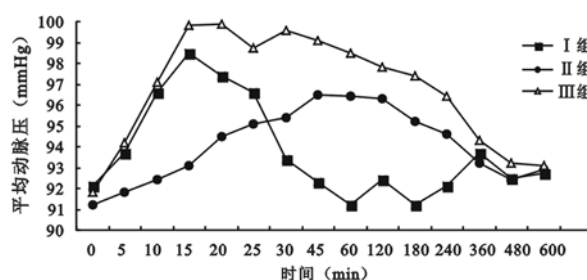


图 1 I、II、III 组治疗前、后 5 ~ 600 min MBP 的变化

各组治疗前 MBP 的差异无统计学意义($P > 0.05$)。I 组 MBP 在 15 min 左右达到峰值;之后逐渐下降,治疗后 10 ~ 25 min 比治疗前提高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。II 组 MBP 在快速灌注期(开始灌注后 55 min)逐渐上升;之后逐渐下降,在治疗后 15 ~ 240 min 高于治疗前,差异有统计学意义($P < 0.05$)。III 组 MBP 在 15 min 左右达到峰值;之后逐渐下降,治疗后 5 ~ 360 min 高于治疗前,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

基金项目:湖北省重点攻关基金资助(No. 2001aa307B);湖北省卫生厅基金资助(No. JXIB082)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经内科(李涛、李承晏、余绍祖),急诊科(李玲莉、魏捷)