

· 基础研究 ·

高场强电磁脉冲辐射对小鼠肝损伤效应的初步研究

姚莉 梁晓俐 王德文 王水明 睦翔 张莉 高亚兵 尹建宁 彭瑞云

【摘要】 目的 研究高场强电磁脉冲辐射对小鼠肝的损伤效应。**方法** 二级昆明小鼠 204 只,分为对照组(24 只)和辐射组(180 只),辐射组小鼠又根据照射剂量分为 8×10^3 V/m、 2×10^4 V/m 和 6×10^4 V/m 辐射亚组。对照组不作任何处理,辐射组采用高场强电磁脉冲(EMP)源,分别对所有小鼠进行全身辐射,于辐射后 6 h、1 d、3 d、7 d、14 d、1 个月、3 个月、6 个月、9 个月及 12 个月观察不同场强电磁脉冲辐射对小鼠肝病理形态的影响,并与对照组 14 d、3 个月、6 个月及 12 个月进行比较。**结果** 辐射后小鼠肝病理改变呈进行性发展趋势,早期(6 h~3 d)以肝实质细胞变性为主,中后期(7 d~1 个月)以肝细胞坏死为重,晚期(3~12 个月)肝细胞增生活跃,可见非典型性增生与癌肿。**结论** 电磁辐射对小鼠肝具有损伤效应,尤其对肝实质细胞损伤严重,且远后效应显著。

【关键词】 电磁辐射; 电磁脉冲; 肝/组织学; 生物学效应; 病理学

The pathological changes in the liver of mice induced by high power electromagnetic irradiation YAO Li*, LIANG Xiao-li, WANG De-wen, WANG Shui-ming, SUI Xiang, ZHANG Li, GAO Ya-bing, YIN Jian-ning, PENG Ruiyun. * Department of Pathology, Beijing Medical College of PLA, Beijing 100071, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of high power electromagnetic pulse field on pathological changes in the liver of mice. **Methods** Two hundred and four male Kunming mice were divided into a control group and an irradiation group, which was subdivided into 8×10^3 V/m irradiation group, 2×10^4 V/m irradiation group and 6×10^4 V/m irradiation group according to the irradiation dosage. The mice in control group were given no irradiation. The mice in irradiation groups were irradiated with different dosages of high power electromagnetic pulse(EMP) respectively. Pathological changes of liver of the rats in respective irradiation groups were investigated at 6h, 1d, 3d, 7d, 14d, 1 month, 3 months, 6 months, 9 months and 12 months after irradiation, and compared with the control group at 14d, 3 months, 6 months, and 12 months after irradiation. **Results** Pathological changes in the liver of mice developed progressively after irradiation. The degeneration of liver parenchymal cells were mainly observed at the early stage (6h~3d), the necrosis of hepatocytes were serious at the medium-to-late stage (7d~1 months), and at the late stage (3~12 months) the hyperplasia was active, even atypical hyperplasia and neoplasm can be found. **Conclusion** The high power electromagnetic irradiation has injurious effect on liver of mice, especially on the liver parenchymal cells.

【Key words】 Electromagnetic irradiation; Electromagnetic pulse; Liver; Biological effects; Pathology

近年来,电磁辐射生物学效应的研究备受关注^[1,2],但对于肝的相关研究报道甚少。本文应用高场强电磁脉冲(electromagnetic pulse, EMP)对小鼠全身辐射,进行为期 1 年的肝病理学观察,初步研究高场强电磁脉冲辐射对小鼠肝的损伤效应,为进一步深入探讨其生物学效应及防护措施提供基础理论依据。

材料与方法

一、材料

基金项目:军队总后勤部“十五”科研基金资助项目(No. 01MB143, 01H023)

作者单位:100071 北京,北京军医学院病理学教研室(姚莉、梁晓俐、睦翔、张莉、尹建宁);军事医学科学院放射医学研究所(姚莉、王德文、王水明、高亚兵、彭瑞云)

健康雄性二级昆明小鼠 204 只,鼠龄(65 ± 10)d,体重(27.42 ± 2.42)g,由军事医学科学院动物中心提供。生物医学研究用高场强电磁脉冲源及电磁波实验室由国防科技大学理学院研制,北京放射医学研究所提供。

二、方法

204 只小鼠分为对照组(24 只)和辐射组(180 只)。对照组小鼠不作任何处理,辐射组小鼠根据照射剂量分为 8×10^3 V/m、 2×10^4 V/m 和 6×10^4 V/m 辐射亚组。小鼠置于 EMP 辐射源上、下两极板中央区内,电磁波平行于极板传播,室温(25.0 ± 0.5)℃,湿度(45 ± 2.0)%,自然光照,自由体位,分别在相应场强下进行全身辐射,辐射脉冲上升时间 20 ns,脉宽 30 μ s,2 min 内发射 5 个单脉冲。各辐射组设照射后

6 h、1 d、3 d、7 d、14 d、1 个月、3 个月、6 个月、9 个月及 12 个月 10 个观察时间点;对照组设 14 d、3 个月、6 个月及 12 个月 4 个观察时间点。每组小鼠均自由饮水、摄食,分别于相应时间点用颈椎脱臼法快速处死(每组 6 只),取肝,做大体观察,新鲜肝组织立即浸入 10% 中性福尔马林,经常规石蜡包埋、切片、HE 染色,OLYMPUS 显微镜下观察组织病理变化,摄像。

结 果

一、实验动物死亡率

2×10^4 V/m 辐射组于辐射后 9 个月死亡 2 只(33.3%),12 个月死亡 2 只(33.3%); 6×10^4 V/m 辐射组于辐射后 9 个月死亡 2 只(33.3%),12 个月死亡 1 只(16.7%)。其余各组于各时间点均无小鼠死亡。

二、肉眼观察

对照组小鼠肝未见异常。辐射早期(6 h~3 d),小鼠肝体积正常或略有肿大,表面光滑,呈红褐色或略黄红色,质软,切面肝小叶轮廓清晰;中后期(7 d~1 个月)偶见肝切面局部区域呈灰红、灰白相间,其中灰白色区域质韧;晚期(3~12 个月)部分小鼠肝体积萎缩,呈褐色,质实。辐射后 6~12 个月,有 8 例小鼠肝表面或切面有 1 个或多个肿物形成,切面呈灰白色或灰红色,肿物圆形或类圆形,大小不等,小者针尖大,大者占据多个肝叶(图 1,表 1)。

表 1 不同场强 EMP 辐射后肉眼观察小鼠肿瘤发生情况比较(检出肿瘤小鼠数/存活小鼠数)

组 别	6 个月	9 个月	12 个月
对照组	0/6	—	0/6
8×10^3 V/m 辐射组	1/6	1/4	2/4
2×10^4 V/m 辐射组	0/6	0/6	2/6
6×10^4 V/m 辐射组	0/6	0/4	2/5

三、病理组织学观察

对照组肝组织小叶结构完整,肝细胞板围绕中央静脉呈放射状排列,肝细胞轮廓清晰,胞质粉染,核圆形、居中,多为单核,可见双核。

辐射早期(6 h~3 d),大部分肝细胞胞质疏松,着色浅淡、甚至透亮,核居中,部分肝细胞胞质内可见大小不等的空泡,核偏位。病变趋势由中央静脉向汇管区方向渐轻,严重者累及全小叶,偶见肝细胞点状或小灶状嗜酸性坏死。 6×10^4 V/m 辐射后 3 d,还可见部分肝细胞胞质嗜碱性,双核较多见,核分裂像易见(图 2)。各剂量组间质细胞有不同程度的增生。

辐射中后期(7 d~1 个月),肝细胞水肿、水样变性、脂肪变性、嗜酸性变较早期轻,而肝细胞点状、小

灶状坏死多见,呈现大小不等的肝细胞变性区和局灶性坏死区,坏死多为嗜酸性坏死及溶解性坏死(图 3)。各辐射组肝细胞板有不同程度增厚,双核肝细胞较多见,窦壁细胞增生,部分肝血窦及小血管呈极度扩张状态。

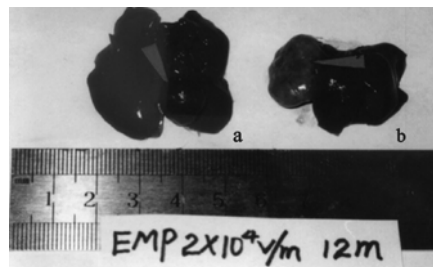


图 1 2×10^4 V/mEMP 辐射后 12 个月小鼠肝肉眼观
注:a.肿物呈灰红色,大小 1.4 cm×1.5 cm×1.4 cm;b.肿物呈灰白色,大小 2.0 cm×1.5 cm×1.2 cm

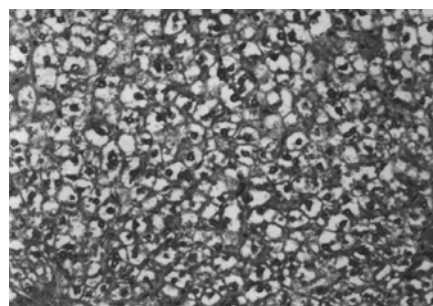


图 2 6×10^4 V/mEMP 辐射后 3 d 镜下观(HE 染色 ×200)
注:肝细胞胞质疏松,呈空网状或空化,病变累及全小叶

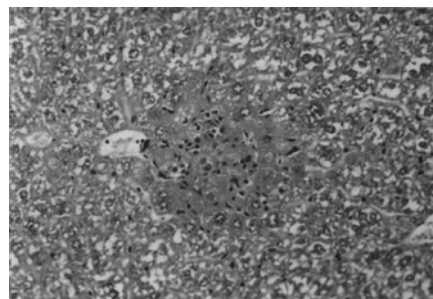


图 3 2×10^4 V/mEMP 辐射后 7 d 镜下观(HE 染色 ×200)
注:中央静脉旁小坏死灶,灶内炎性细胞浸润,灶周肝细胞胞质疏松及气球样变

辐射晚期(3~12 个月),肝细胞增生活跃,部分肝细胞胞质呈嗜碱性,肝细胞板明显增厚,受扩张小血管压迫,有排列紊乱迹象。肝细胞坏死灶周边有大量间质细胞增生,并包绕、分割肝小叶,使正常小叶结构破坏,形成假小叶样结构(图 4)。辐射后 6,9 和 12 个月,肉眼观察所见肿物在镜下分别为肝细胞腺瘤、肝细胞不典型增生灶和肝细胞癌,肝细胞癌又分为高、中、低 3 级分化(图 5~6)。各组非肿瘤区窦壁细胞增生,汇管区增宽,其内间质成分有增生。

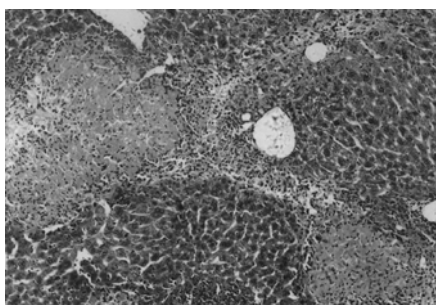


图 4 8×10^3 V/mEMP 辐射后 9 个月镜下观(HE 染色 $\times 100$)

注:区域性坏死灶,灶内肝细胞核溶解,胞质均匀淡染,坏死灶内及其周围有大量纤维组织增生,并分割、包绕肝小叶;小叶结构破坏,假小叶样结构形成

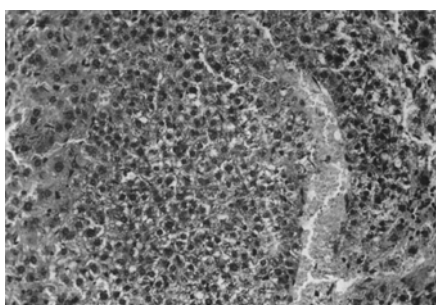


图 5 8×10^3 V/mEMP 辐射后 9 个月镜下观(HE 染色 $\times 200$)

注:小血管旁灶性肝细胞不典型增生

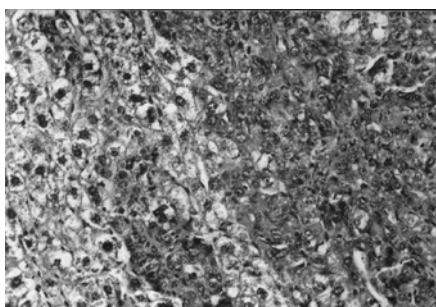


图 6 6×10^4 V/mEMP 辐射后 12 个月镜下观(HE 染色 $\times 200$)

注:低分化肝细胞癌

讨 论

以往研究表明,肝为电离辐射抗性较高的脏器之一,故涉及肝的电磁辐射研究项目很少。近年,肝的辐射敏感性再次引起人们的关注^[3,4]。本研究就高场强电磁脉冲辐射对肝的病理学改变作了全面、动态的观察,时间达 1 年。

依据本研究结果,我们初步归纳出高场强电磁脉冲辐射对小鼠造成的肝损伤病变特点如下。

1. 病变有一定的剂量依赖性。量-效关系在辐射后早、中后及晚期均有不同程度的体现。早期,尤其在辐射后 6 h, 8×10^3 V/m 辐射组肝细胞主要病变为细胞水肿; 2×10^4 V/m 辐射组在细胞水肿的基础上,尚可见水样变性和脂肪变性; 6×10^4 V/m 辐射组除上述

改变外,还可见部分肝细胞胞质嗜碱性,同时有较多双核肝细胞与核分裂像。中后期,以辐射后 1 个月为例, 8×10^3 V/m 辐射组多为肝细胞小灶性坏死,而 6×10^4 V/m 辐射组有较多坏死区域,且伴有实质与间质增生。晚期, 6×10^4 V/m 辐射组肝细胞增生活跃程度略高于 8×10^3 V/m 辐射组,异常增生肝细胞的分化程度较低。另外,小鼠辐射晚期发生肝肿瘤和死亡,但肿瘤的发生率和小鼠死亡率与辐射场强并未呈良好的剂量依赖性。我们初步分析,电磁脉冲的致癌性和致死性可能存在“窗效应”和阈值特性,也就是说,当场强达到一定阈值,不论场强高低,电磁脉冲辐射对肝均有致癌性,但其发生率及致死率可能不呈显著剂量依赖性;此外,本研究受条件所限,且未及与相关文献为鉴,还有待进一步深入探讨。

2. 病变以肝实质细胞损伤为主,间质改变次之。有文献报道,电离辐射对肝损伤的特征性变化是中央静脉的非特异性闭塞性损伤,即肝静脉闭塞症(veno-occlusive disease, VOD)^[5]。有学者提出,电离辐射所致肝病变的病理过程分 4 个阶段,即放射性肝炎期、肝纤维化前期、肝纤维化期及肝硬化期,并指出放射性肝纤维化形成的主要效应细胞是成纤维细胞、贮脂细胞及肝细胞(上述细胞经照射后,其胶原合成与分泌功能被激活),其次为肥大细胞及胶原和网状纤维,再次为 Kuffer 细胞及某些基质成分^[6]。以上研究证实,电离辐射引起的肝损伤主要在间质,最终致肝纤维化。而本研究发现,在病变的发生与发展过程中,肝实质细胞是电磁脉冲辐射损伤的主要效应细胞,表现为变性、坏死、增生甚至癌变,而间质改变次之。综合分析、比较研究结果提示,在辐射损伤效应及机制的研究中,要注意全面考量辐射的种类、能量和照射条件等因素,若条件不一,所造成的损伤类型及损伤程度也有所不同。所谓条件,包括剂量、剂量率、射线对机体作用的方式、外界环境及个体差异等。既往研究报道多为电离辐射,如 X 射线和 γ 射线等,本研究采用的电磁脉冲辐射属非电离辐射,且为高场强,结果的差异进一步提示电离辐射与非电离辐射的生物学效应及作用机制不同,这将为安全防护措施的选择提供新的思路。

3. 各期病变具有一定的规律性,呈进行性发展趋势。早期以各类肝细胞变性为主,伴有点、灶状坏死,间质成份少量增生;中后期则以肝细胞坏死为重,尤其以溶解性坏死、嗜酸性坏死多见,间质增生明显,血窦、小血管不同程度扩张、充血;晚期肝细胞增生显著,可见肝细胞不典型增生、肝细胞腺瘤及肝细胞癌等,间质成分大量增生,有的包绕、穿插肝小叶,破坏肝小叶,形成假小叶样结构,部分血窦毛细血管化,小血管增生,管壁增厚。病变循变性-坏死-增生(代偿/肿瘤)的趋

势进行性发展。

4. 病变部位呈现一定的梯度差异。本研究结果显示,辐射后肝病变,特别是肝细胞变性和坏死,呈现中央静脉周围病变较重,而汇管区周围病变较轻的特点。此病变特点可能与肝细胞形态结构和功能梯度的差异相关,这种差异以肝腺泡(hepatic acinus)概念阐述较为合理。肝腺泡为肝基本的微循环单位 and 功能单位,是继经典肝小叶和门管小叶后公认的肝结构和功能的最小单位。肝腺泡以汇管区为中心,肝细胞板从输入血管向中央静脉伸展,划分为 3 个同心区带。本研究显示,3 区带肝细胞病变较 1 区带为重,病变表现在血供末端周围部,符合肝血循环、肝病理及肝再生的变化规律^[7,8]。但并非所有病变均呈现小叶内梯度差异,有些表现为汇管区小血管周肝细胞病变较重,其机制尚需进一步探讨。辐射后肝病变呈梯度差异的特点提示,肝病变的发生和发展与其微循环、微环境的改变密切相关,这为本研究的深入展开及对其机制的阐述奠定了较好的实验理论基础。

新近有学者认为,肝细胞板中约有 15~25 个单层肝细胞,这些细胞排列于门脉小支至肝小静脉区之间,而且处于不同位置的肝细胞具有不同的代谢功能,形成肝细胞功能的区室化(compartmentation)。肝细胞板中某些表型的肝细胞还可再次分化。因此,肝区室化功能的涵义已不再局限于门脉周围区(periportal)和肝小静脉区(perivenular)^[9]。结合本研究中关于电磁脉冲辐射对肝致伤效应明显、不均一和远后效应显著的结论,推测 EMP 对肝的生物学效应与肝细胞的生物学行为,如肝细胞的功能状态与分化程度等相关,这可能为进一步探讨肝外组织的辐射敏感性提供新的启

示。

目前,对电磁脉冲辐射后肝的损伤效应仍缺乏系统、全面的研究,本文仅为初步基础工作,尚有大量研究亟待进行,如从多水平、多层次全面进行损伤效应的探讨,深入阐述其可能的作用机制以及为寻找安全防护措施提供可能性并制定相应评价标准等。

参 考 文 献

- 1 Tynes T, Klaeboe L, Haldorsen T. Residential and occupational exposure to 50 Hz magnetic fields and malignant melanoma: a population based study. *Occup Environ Med*, 2003, 60:43-347.
- 2 Elbetieha A, Al-Akhras MA, Darmani H. Long-term exposure of male and female mice to 50 Hz magnetic field: effects on fertility. *Bioelectromagnetics*, 2002, 23: 168-172.
- 3 Heikkinen P, Kosma VM, Huuskonen H, et al. Effects of 50 Hz magnetic fields on cancer induced by ionizing irradiation in mice. *Int J Radiat Biol*, 2001, 77:483-495.
- 4 Koura NH. Hepatocyte decay in late irradiation liver failure. *Saudi Med J*, 2002, 23:1361-1366.
- 5 Nakazawa Y, Chisuwa H, Mita A, et al. Life-threatening veno-occlusive disease after living-related liver transplantation. *Transplantation*, 2003, 75:727-730.
- 6 彭瑞云. 肝放射损伤的研究概况. *中华放射医学与防护杂志*, 1994, 14: 348-350.
- 7 Kurbel S, Kurbel B, Vcev A, et al. A model of dual circulation in liver acini with hypoxia regulated adenosine secretion. *Med Hypotheses*, 2003, 60:515-519.
- 8 Wang HH, McIntosh AR, Hasinoff BB, et al. Regulation of B16F1 melanoma cell metastasis by inducible functions of the hepatic microvasculature. *Eur J Cancer*, 2002, 38:1261-1270.
- 9 王英杰, 主编. 生物人工肝. 北京: 人民出版社, 2002. 44-45.

(收稿日期:2003-07-24)

(本文编辑:吴 倩)

· 短篇论著 ·

牵引、针灸、推拿联合治疗腰椎间盘突出症前、后 FIM 的变化

傅建明 姚云海 顾旭东 俞志良

腰椎间盘突出症是临床常见疾病之一,牵引、针灸及推拿是治疗腰椎间盘突出症的常用手段。国内对利用牵引、针灸、推拿方法治疗腰椎间盘突出症的疗效报道较多,但涉及患者治疗前、后其残疾水平变化的报道甚少。本文拟通过目前国际上公认的功能独立性评测量表(functional independence measure, FIM)对腰椎间盘突出症患者经骨盆牵引、针灸及推拿治疗前、后其 FIM 评分变化作一初步分析。现报道如下。

一、资料与方法

共选取 1997 年~2000 年期间在我科就诊的腰椎间盘突出症患者 80 例,其中男 50 例,女 30 例;年龄 24~68 岁,平均 46 岁;病程 3 d~15 年,平均 2.5 年。本组患者中,腰部疼痛 65 例,伴一侧下肢麻木 20 例,伴一侧下肢放射痛 45 例,椎旁压痛 75 例,双侧下肢麻木 6 例,直腿抬高试验小于 30°者 30 例,双下肢直腿抬高试验阴性 10 例,一侧下肢肌肉萎缩 8 例。全部患者经腰椎正侧位片及骨盆平片检查,显示有腰椎退变及椎间隙狭窄迹象,并均经腰椎 CT 或 MRI 证实有不同程度的椎间盘突出,其中 L₃₋₄ 突出 7 例, L₄₋₅ 突出 62 例, L₅~S₁ 突出 34 例,合并