

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.13.007

## 急性微波辐射对雄性大鼠睾丸形态和血浆 FSH 及抑制素 B 浓度的影响\*

孙礼刚<sup>1</sup>,蔡玉娇<sup>2</sup>,杨桦<sup>2</sup>

(1.解放军第六十中心医院普通外科,云南大理 671003;2.第三军医大学新桥医院普通外科,重庆 400038)

**[摘要]** **目的** 探讨不同功率密度急性微波辐射对雄性大鼠睾丸组织形态及血浆促卵泡刺激素(FSH)及抑制素 B(INHB)浓度的影响。**方法** 36 只成年雄性 SD 大鼠均分为 4 组(A、B、C、D),经平均功率密度分别为 0、30、60、90 mW/cm<sup>2</sup> 微波辐射 5 min,辐射完成后 24 h 用酶联免疫吸附试验测定大鼠血浆内 FSH 及 INHB 浓度,利用光学显微镜观察大鼠睾丸曲细精管直径及管壁厚度、管腔内精子数量等。**结果** 辐射组与对照组相比,睾丸曲细精管直径及管壁厚度、管腔内精子数量等均未见明显差异;辐射组与对照组、各辐射组间血浆 FSH 浓度差异无统计学意义( $P>0.05$ );各辐射组血浆内 INHB 含量均下降,其中 90 mW/cm<sup>2</sup> 组与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 急性微波辐射对雄性大鼠睾丸曲细精管形态、腔内精子数量等无明显损害;对辐射大鼠 24 h 后血浆 FSH 浓度无明显影响,高剂量辐射可明显降低大鼠血浆 INHB 浓度。

**[关键词]** 促卵泡刺激素;抑制素类;微波辐射**[中图分类号]** R339.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)13-1747-02**Effects of acute microwave radiation on morphology of testis and plasma concentrations of FSH and INHB in male rats\***Sun Ligang<sup>1</sup>,Cai Yujiao<sup>2</sup>,Yang Hua<sup>2</sup>

(1. Department of General Surgery, 60 Central Hospital of PLA, Dali, Yunnan 671003, China; 2. Department of General Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of different power densities of acute microwave radiation on the testicular morphology and the plasma concentrations of follicle-stimulating hormone (FSH) and inhibin B (INHB) in male rats. **Methods** Thirty-six male rats were equally divided into the groups A, B, C and D and performed the whole-body exposure to microwave radiation with the mean power densities (MPD) of 0, 30, 60, 90 mW/cm<sup>2</sup> for 5 min respectively. The rats were sacrificed at 24 h after radiation, then the plasma concentrations of FSH and INHB were detected by the ELISA method and the diameters of the round seminiferous tubules and the thickness of seminiferous walls were observed by optical microscope. **Results** No differences in the seminiferous tubular diameter, seminiferous wall thickness and intratubular sperms number was observed in the exposure groups and the control group. The plasma FSH concentration had no significant difference between the exposure groups and the control group, even among the three exposure groups ( $P>0.05$ ); the plasma INHB concentrations in all the exposure groups were decreased, in which the difference between the 90 mW/cm<sup>2</sup> group and the control group was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Acute microwave radiation has no obvious damage on the seminiferous tubule morphology, intratubular sperms number, etc.; and has no obvious influence on the plasma FSH concentration at 24 h after radiation in rat, but the high dose radiation could significantly decrease plasma INHB concentration in rat.

**[Key words]** follicle stimulating hormone; inhibins; microwave radiation

微波是指频率为 300 MHz 至 300 GHz 的电磁波,属超高频电磁波。随着微波技术的迅速发展及其在民用、军用领域的广泛应用,人们接触微波辐射的概率不断增加。根据以往研究,微波对生物体具有热效应及非热效应。一般认为,当微波的平均功率密度小于 10 mW/cm<sup>2</sup> 时,以引起非热效应为主,当平均功率密度大于 10 mW/cm<sup>2</sup> 时,以引起热效应为主<sup>[1]</sup>。近年来,男性不育症患者逐渐增多,电磁污染被认为是引起男性不育的重要原因之一。然而最近,英国移动通讯和健康研究项目组(mobile telecommunications and health research program, MTHR)发布了一份研究长达 11 年的成果报告,报告认为,没有证据支持手机辐射会影响人体健康。除了手机辐射外,雷达、微波炉等军用及民用大功率微波电器的使用使得人们将关注的目光投向了微波领域。有研究表明,短期微波辐射后 24 h 雄性大鼠睾丸具有最为明显的结构及功能损伤<sup>[2-4]</sup>。

研究称,微波辐射具有功率窗及时间窗等效应,但目前尚无统一数据。由于动物实验的辐射参数如剂量、时间、辐射源、辐射环境等不同而导致关于微波辐射对男性生殖系统是否存在损害效应也一直存在两种不同的研究结果。为此,本实验采用平均功率密度(MPD)分别为 0、30、60、90 mW/cm<sup>2</sup> 的微波辐射大鼠 5 min,辐射后 24 h 观察睾丸组织形态变化及大鼠血浆促卵泡刺激素(FSH)及抑制素 B(INHB)浓度的变化,借此评估大鼠垂体腺细胞及睾丸支持细胞(sertoli cell, SC)的功能是否受损,为微波辐射的防护提供理论依据(本实验已得到医院伦理学学会的同意批准)。

**1 材料与方法**

**1.1 实验动物** 36 只 SD 雄性大鼠由第三军医大学新桥医院动物实验中心提供,体质量(200±12)g。根据饲养笼子的不同将大鼠平均分为 4 组,每组 9 只。在新桥医院实验动物房适应

\* 基金项目:国家自然科学基金 973 资助项目(SQ2010CB051474)。 作者简介:孙礼刚(1983—),硕士,主治医师,主要研究电磁辐射对生殖系统的影响。 △ 通讯作者, E-mail: huayang@tmmu.edu.cn。

性饲养 1 周后,分别接受平均功率密度为 0、30、60、90 mW/cm<sup>2</sup>、时间为 5 min 的微波辐射。

**1.2 微波辐射参数** 微波辐射源采用炮瞄雷达 5 改造而来。其基本参数如下:平均发射功率大于或等于 180 W;重复频率 1 875 kHz;脉冲宽度(0.5±0.05)μs;发射频率(9 370±80) MHz,辐射时间 5 min。辐射剂量 0、30、60、90 mW/cm<sup>2</sup>。辐射源由第三军医大学预防医学院劳动卫生学教研室提供,具体参数调节由教研室专业人员调节。

### 1.3 方法

**1.3.1 微波辐射及实验动物取材** 将大鼠按照分组分别置于可透射有机玻璃盒内接受全身微波辐射,辐射时大鼠自由体位。将装有大鼠的有机玻璃盒置于四周墙壁均装有辐射吸收材料、反射系数近似为零、湿度(45%)及温度(25℃)相对恒定的暗室中接受辐射 5 min。辐射探头位于有机玻璃盒正上方约 1.0 m 处。对照组接受假辐射 5 min(0 mW/cm<sup>2</sup>),其余辐射条件与各辐射组相同。辐射期间大鼠禁食禁水,辐射结束后大鼠正常饮食(辐射过程于第三军医大学预防医学院劳动卫生学教研室完成)。24 h 后采用 1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)经腹腔注射麻醉大鼠,麻醉生效后剪开大鼠腹白线进入腹腔,剪开部分肠系膜,显露下腔静脉,在双侧肾静脉与下腔静脉交汇处上方约 0.5 cm 处使用穿刺针及真空抗凝采血管抽取下腔静脉血液,量约 3~5 mL,室温下静置。接着,迅速取下双侧睾丸,在睾丸头尾两端用注射器针头穿孔约 2~4 个,并用注射器将 4%多聚甲醛固定液注入睾丸白膜下以充分固定睾丸组织,接着将双侧睾丸均浸于 4%多聚甲醛固定液中,室温下放置。取材结束后处死大鼠,动物尸体交由实验动物中心统一处理。

**1.3.2 大鼠睾丸组织的 HE 染色** 睾丸于室温下充分固定 1

周后行常规 HE 染色。乙醇、二甲苯梯度脱水,石蜡包埋、切片;二甲苯、乙醇梯度脱蜡;苏木精、伊红液 HE 染色;中性树脂胶封片,光镜显微镜下观察。选择切片不同视野内圆形曲细精管作为观察对象,观察其直径、管壁厚度以及估计腔内精子数量。每张切片观察 3 个不同视野。

**1.3.3 大鼠血浆 FSH 及 INHB 检测** 大鼠静脉血液于室温下静置约 30~60 min,离心(1 500 rpm×15 min),吸取上清液并分装保存于-20℃冰箱内。标本收集完成后使用 ELISA 法集中检测血浆 FSH 及 INHB 浓度,操作步骤按照试剂说明书完成。ELISA 试剂盒均由上海西塘生物科技有限公司提供。ELISA 操作由检验科专业操作人员完成。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 10.0 进行统计学分析。计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示,采用 *t* 检验,组间比较采用单因素方差分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大鼠睾丸、曲细精管未观察到明显形态学改变** 与对照组(图 1)相比,B、C、D 组大鼠睾丸曲细精管直径、管壁厚度、管腔内精子数量等均未见明显差别。对照组与辐射组中均可见到,曲细精管形态完整,各级生精细胞顺序排列,未见明显肿胀、变性坏死等征象,腔内精子排列规则有序,曲细精管腔内未见明显空虚。睾丸间质清晰,可见间质内小血管。

**2.2 大鼠血浆 FSH 及 INHB 浓度改变** 血浆 INHB 浓度数值在各辐射组中均明显下降,其中 D 组下降最为明显,与 A 组比较差异有统计学意义(*P*<0.05),而 B、C 组与 A 组比较差异均无统计学意义(*P*>0.05)。B、C、D 组间比较差异无统计学意义(表 1)。

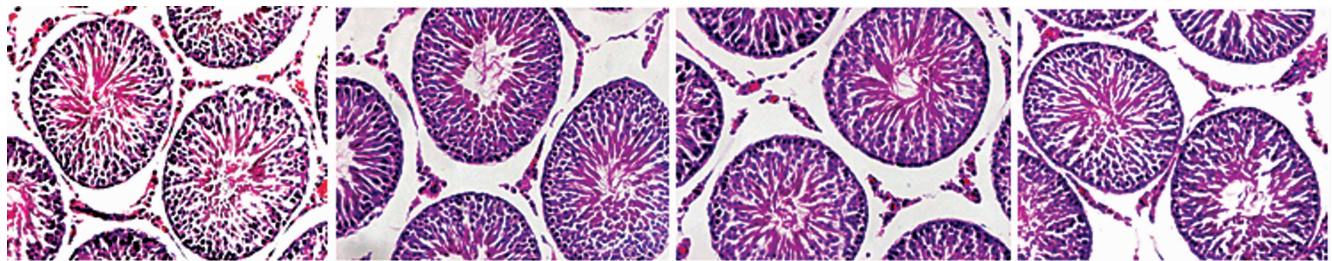


图 1 急性微波辐射对大鼠睾丸曲细精管形态、结构的影响(HE×400)

表 1 辐射后 24 h 大鼠血浆 FSH 及 INHB 浓度变化( $\bar{x}\pm s$ )

组别	MPD(mW/cm <sup>2</sup> )	<i>n</i>	FSH(ng/mL)	INHB(ng/mL)
A	0	9	5.10±1.13	11.61±1.31
B	30	9	5.14±1.36	9.50±2.23
C	60	9	3.88±0.81	9.73±2.23
D	90	9	3.94±0.98	8.53±1.66*

\*:*P*<0.05,与 A 组比较。

## 3 讨论

关于电磁辐射对男性生殖系统是否有危害的争论由来已久,尤其是辐射的剂量阈值、辐射窗时间等并无统一结论。如前所述,低于 10 mW/cm<sup>2</sup> 的电磁辐射剂量引起的生殖损害主要是由生物的非热效应所致,高于 10 mW/cm<sup>2</sup> 的电磁辐射则主要引起生物热效应。当实验动物接受全身照射时,其神经系统、内分泌系统、血液等多个系统功能受影响<sup>[5]</sup>;而接受局部照射的动物,以照射部位局部的损害为主要表现,辐射剂量过高

或辐射时间过长时均以引起生物体的热效应为主,甚至可引起局部组织烫伤<sup>[6]</sup>。动物实验研究表明,急性短期微波辐射可引起睾丸血睾屏障通透性增高<sup>[7]</sup>、睾丸细胞凋亡增加<sup>[4]</sup>、睾丸生精细胞损伤等<sup>[8]</sup>。

INHB 主要是由 SC 分泌的激素,其对垂体分泌 FSH 具有负反馈调节作用,使 FSH 水平保持稳定,保证睾丸的正常生精功能及内分泌功能。近年来,INHB 已成为衡量睾丸功能状态的重要指标之一<sup>[9]</sup>,尤其是作为鉴别梗阻性无精症与非梗阻性无精症具有重要参考意义<sup>[10]</sup>。而 FSH 则是由腺垂体分泌的、与 SC 胞膜表面 FSH 受体(FSH receptor,FSHR)结合产生生理作用的激素,具有促进精子生成、调节睾丸支持细胞合成 ABP 的功能。正常稳定的 FSH 水平对于睾丸组织本身的新陈代谢及男性生殖功能的维持具有重要作用,与抑制素 B 联合检测可提高对睾丸功能是否正常的判断<sup>[11]</sup>。

本实验结果显示,微波辐射大鼠(5 min)后第 24 小时,辐射组大鼠血浆内 FSH 水平与对照组间比较(下转第 1751 页)

控<sup>[11-12]</sup>。

本研究表明,胆管癌细胞能促进血管内皮细胞的增殖,以及 b-FGF 分泌和 VEGF 表达,增强内皮细胞血管生成的能力,为肿瘤发生、发展和转移提供条件和环境。实验结果可为胆管癌治疗中抗血管生成积累资料,在此基础上,有待进一步研究其机制。

#### 参考文献

- [1] 汪华霖. 肝门部胆管癌的诊治进展[J]. 重庆医学, 2013, 42(9):1072-1074.
- [2] Ribatti D, Moschetta M, Vacca A, et al. Microenvironment and multiple myeloma spread [J]. *Thromb Res*, 2014, 133(2):102-106.
- [3] Wahl ML, Moser TL, Pizzo SV. Angiostatin and anti-angiogenic therapy in human disease [J]. *Endo Soci*, 2004(59):73-104.
- [4] Cao Y, E G, Wang EF, et al. VEGF Exerts an Angiogenesis-Independent function in cancer cells to promote their malignant progression [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(16):3912-3918.
- [5] Chaitanya GV, Cromer WE, Wells SR, et al. Gliovascular and cytokine interactions modulate brain endothelial barrier in vitro [J]. *J Neuro inflammation*, 2011, 8(1):162-178.
- [6] Gavalas NG, Liontos M, Trachana SP, et al. Angiogenesis-related pathways in the pathogenesis of ovarian cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(8):15885-15909.

(上接第 1748 页)

无显著性差异,表明在该辐射条件(30、60、90 mW/cm<sup>2</sup>, 5 min)下,辐射大鼠垂体分泌 FSH 的能力并未受到明显影响。造成这一结果可能的原因有:(1)其功能虽有轻微改变,但在辐射后 24 h 内恢复正常;(2)由于辐射大鼠 INHB 下降,腺垂体分泌 FSH 功能部分受损,仍能代偿性分泌 FSH。INHB 浓度结果表明,当辐射剂量小于 60 mW/cm<sup>2</sup> 时,短期的全身微波辐射并未对血浆抑制素浓度产生明显影响,间接反映了睾丸支持细胞分泌 INHB 能力未受损。只有当辐射剂量增加到一定程度时(90 mW/cm<sup>2</sup>),睾丸支持细胞的分泌功能才收到明显抑制。

关于电磁辐射引起损伤的具体机制,至今仍未达成共识。细胞膜氧化酶体系的活化、DNA 损伤<sup>[12]</sup>、细胞凋亡增加等多种机制均曾被提及,但这些机制均不能完全解释同种细胞或组织的所有病理改变。故辐射对机体的损伤很可能是通过多种机制共同作用的。近年来,随着移动电话的普及及使用,通过手机辐射或模拟手机辐射对大鼠、细胞等进行辐射研究,以期找出微波辐射对机体损伤的具体机制。截至目前,氧化应激被认为是电磁辐射引起机体损伤的最重要机制,许多研究都正围绕这一内容开展,未来可能解开电磁辐射是怎样影响人体生理功能的这一谜题。

#### 参考文献

- [1] 闫蓓,袁伟,高尔生,等. 电磁辐射对男性生殖功能影响的研究现状[J]. *环境与职业医学*, 2007, 24(4):423-425.
- [2] 尉春华,杨瑛,李东红,等. 高功率微波辐射对大鼠睾丸生殖细胞凋亡的影响[J]. *医学研究生学报*, 2004, 17(4):312-314.
- [3] 吴惠,王德水,王水明,等. 不同波段电磁辐射致大鼠睾丸

- [7] Fontijn D, Bosch LJ, Duyndam MC, et al. Basic fibroblast growth factor-mediated overexpression of vascular endothelial growth factor in 1F6 human melanoma cells is regulated by activation of PI-3K and p38MAPK[J]. *Cell Oncol*, 2009, 31(3):179-190.
- [8] Eriksson K, Magnusson P, Dixelius J, et al. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways[J]. *FEBS Lett*, 2003, 536(1):19-24.
- [9] Seghezzi G, Patel S, Ren CJ, et al. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries; an autocrine mechanism contributing to angiogenesis [J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(7):1659-1673.
- [10] Eichholz A, Merchant S, Gaya AM. Anti-angiogenesis therapies; their potential in cancer management[J]. *Onco Targets Ther*, 2010, 3(3):69-82.
- [11] Eveno C, Pocard M. VEGF levels and the angiogenic potential of the microenvironment can affect surgical strategy for colorectal liver metastasis [J]. *Cell Adh Migr*, 2012, 6(6):569-573.
- [12] Andreas P, Michael M, Joachim D. Liver cancer; Targeted future options[J]. *World J Hepatol*, 2011, 3(2):38-44.

(收稿日期:2014-10-28 修回日期:2015-01-13)

支持细胞的损伤效应[J]. *生物物理学报*, 2011, 27(1):38-46.

- [4] 季惠翔,宋波,张家华,等. 微波照射后小鼠睾丸损伤及凋亡的研究[J]. *重庆医学*, 2009, 38(21):2680-2682.
- [5] 曹毅,童建. 电磁辐射生物效应研究综述[J]. *环境与职业医学*, 2007, 24(2):222-226.
- [6] Foster KR, Morrissey JJ. Thermal aspects of exposure to radiofrequency energy: report of a workshop [J]. *Int. J. Hyperthermia*, 2011, 27(4):307-319.
- [7] 高晓芳,王水明,彭瑞云,等. 微波辐射对大鼠睾丸闭锁蛋白和连接黏附分子-1 表达的影响[J]. *中华男科学杂志*, 2010, 16(1):10-13.
- [8] 王水明,彭瑞云,高亚兵,等. 高功率微波辐射所致大鼠睾丸损伤的病理学研究[J]. *中华男科学杂志*, 2006, 12(6):486-489.
- [9] 杨昊,陈斌. 抑制素 B 在男科学中的研究进展及应用[J]. *中华男科学杂志*, 2011, 25(1):69-71.
- [10] 刘琼珊,李长祺,林敏,等. 血清抑制素 B 在男性不育症诊断中的应用研究[J]. *福建医药杂志*, 2011, 33(5):5-6.
- [11] 李天泉,周明连,何浩明. 男性不育症患者血清 TNF- $\alpha$ 、T、FSH、PRL 检测的临床意义[J]. *放射免疫学杂志*, 2011, 24(4):392-394.
- [12] Lai H, Singh NP. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat[J]. *Environ Health Perspect*, 2004, 112(6):687-694.

(收稿日期:2014-11-18 修回日期:2015-02-08)