

SC 双波源脉冲微波相互垂直复合辐照对大鼠 重要组织器官生物效应的影响

叶金怡 张杰 齐红新 王向晖

(华东师范大学物理与电子科学学院 上海磁共振重点实验室 上海 200241)

摘要 本文研究了 S 和 C 波段双波源沿相互垂直方向同时辐照时,脉冲数对大鼠血液、脑、睾丸、心脏和肝脏组织的影响,并与相同电磁暴露水平条件下的单波源电磁暴露生物效应进行了比较。结果表明:当空间场强幅值为 44.84 kV/m,脉冲数为 2、5、20 和 200 时,辐照组大鼠的血常规、血清睾酮、谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)含量等指标与 Control 组及 Sham 组相比均未发生明显变化($p>0.05$)。辐照组大鼠的脑、睾丸、心脏和肝脏组织形态正常,细胞核面积统计结果及睾丸组织的 Johnson 评分结果与 Control 及 Sham 组相比均无明显差异($p>0.05$),没有发现明显的病理损伤。辐照组大鼠 4 个组织中的促凋亡蛋白 Bax 的含量均随脉冲数增加呈非线性增加趋势,具有脉冲微波辐照在非热效应下的场效应特征。当脉冲数大于 2 时,脑和睾丸组织出现了明显的凋亡响应($p<0.05$),而心脏和肝脏组织在脉冲数达到 20 时才出现明显的凋亡响应($p<0.05$),这主要是因为脑和睾丸的内场场强幅值(分别为 11.3 kV/m 和 10 kV/m)高于心脏和肝脏组织的内场场强幅值(分别为 5.73 kV/m 和 5.33 kV/m)。在电磁暴露水平基本相同的情况下,复合辐照与两波源单独辐照所产生的凋亡响应之间无显著性差异($p>0.05$)。

关键词 双波源复合场,电磁暴露,生物效应,比吸收能,脉冲微波

中图分类号 Q64, TL929

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2022-0109

Effects of SC dual pulsed-microwaves irradiation on the bioeffects in rats' organs under a mutually perpendicular incidence

YE Jinyi ZHANG Jie QI Hongxin WANG Xianghui

(Shanghai Key Laboratory of Magnetic Resonance, School of Physics and Electronic Sciences,
East China Normal University, Shanghai 200241, China)

ABSTRACT To investigate the potential risk of electromagnetic exposure, systematic studies on the bioeffects caused by single-frequency electromagnetic fields have been carried out with plenty of achievements. However, the bioeffects caused by multiple-frequency fields still need to be further studied. In the recent work, we constructed a dual-sourced irradiation system to allow two microwaves simultaneously incident from two perpendicular directions. Subsequently, the influence of the number of pulses on the blood, brain, testis, heart, and liver tissues of rats under the simultaneous irradiation of S-band and C-band pulsed microwaves was studied, and compared to that caused by

基金资助: 国家自然科学基金项目(31600675)资助

第一作者: 叶金怡,女,1997年1月出生,2019年6月毕业于浙江师范大学,现为华东师范大学在读硕士研究生,无线电物理专业

通信作者: 王向晖,博士,副教授, E-mail: xhwang@phy.ecnu.edu.cn

收稿日期: 初稿 2022-10-25; 修回 2022-12-16

Supported by National Natural Science Foundation of China (31600675)

First author: YE Jinyi (female) was born in January 1997, and graduated from Zhejiang Normal University in June 2019. Now she is a graduate student at East China Normal University, majoring in radio physics

Corresponding author: WANG Xianghui, doctoral degree, associate professor, E-mail: xhwang@phy.ecnu.edu.cn

Received 25 October 2022; accepted 16 December 2022

the single-sourced exposure with the same electromagnetic exposure dose. The results showed that when the amplitude of the space electric field intensity was 44.84 kV/m and the number of the pulses was 2, 5, 20 and 200, the blood routine, testosterone, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase content of rats in the irradiation groups did not change significantly compared with the control group and sham group ($p>0.05$). The nuclear area in the brain, heart and liver of rats, as well as the Johnson score of the testis, has not significantly changed after the irradiation ($p>0.05$), and no pathological changes have been observed in these target tissues. The content of Bax in the above four tissues of rats in the irradiation groups increased nonlinearly with the increase of the number of pulses, which can be described as the non-thermal bioeffect that concerned the intensity of the electric field of the pulsed microwave. When the number of pulses is greater than 2, a significant apoptotic response was detected in the brain and testicle ($p<0.05$), while in the liver and heart the pulse number needs to be greater than 20 ($p<0.05$). This is mainly because the amplitude of the internal field of the brain and testicle (11.3 kV/m and 10 kV/m respectively) is higher than that of the liver and heart (5.73 kV/m and 5.33 kV/m respectively). Under the same electromagnetic exposure dose, there was no difference between the SC combined irradiation and the S or C individual-irradiation ($p>0.05$).

KEYWORDS Dual-wave combined field, Electromagnetic exposure, Biological effect, Specific absorption energy, Pulsed microwave

CLC Q64, TL929

射频场电磁暴露的潜在危害与生物体内电磁暴露剂量紧密相关。现有的0~300 GHz人员电磁暴露安全标准^[1-3]的制定依据主要来自单波源电磁暴露研究数据,但环境电磁场通常是多波源发射的不同频率电磁波相互叠加形成的复合场。关于复合场电磁暴露的安全评估,国际非电离辐射防护委员会在其最新版的安全标准中,仅给出了基于单频场电磁暴露安全限值的推算公式^[1],其合理性有待进一步验证。

目前,已有报道利用合路器、混频器或电磁混响室等将多源电磁波合成为更复杂的电磁波,研究这种电磁暴露下的生物效应,并在入射功率密度(W/m^2)或比吸收率(Specific absorption rate, SAR, W/kg)相同的情况下与单频场电磁暴露的结果进行了比较。例如,吕朝辉等^[4]将33个频率从P波段到Ku波段(包括连续波信号和脉冲信号)的模拟信号以 $1 mW/cm^2$ 左右的信号强度通过发射天线发射出去辐照大鼠30 d,每天辐照时间分别为20 min、40 min、80 min和160 min,观察到随着每天辐照时间的增加,大鼠肝脏细胞凋亡趋势增加。

还有研究者将微波与 γ 射线复合辐照,研究微波在治疗中的辅助作用^[5]。Jauchem等^[6]研究了1 GHz和10 GHz连续波复合辐照对大鼠尾部、皮下、鼓膜、结肠等部位的温升以及大鼠心率、动脉血压及呼吸频率的影响,复合方式为同向同时辐照,复合辐照与两个波源单独辐照时大鼠的全身平均SAR均为 $12 W/kg$,当大鼠结肠温度为 $37.5\text{ }^\circ\text{C}$ 时开

始辐照,直至大鼠死亡。结果表明,1 GHz单独辐照组大鼠的存活时间最短,复合辐照组居中,10 GHz单独辐照组存活时间最长。复合辐照时大鼠各部位(除右侧皮下)的温升介于两个波源单独辐照时引起的温升之间。Lopez Furelos等^[7]利用混频器将频率分别为900 MHz和2 450 MHz的波(功率均为1 W)合成后发射,辐照时间为1 h,并将实验结果与用两波源单独辐照,且每个波源的功率均为2 W的实验进行比较。结果表明,复合辐照对大鼠大脑皮质、梯形肌、胸腺和睾丸组织细胞凋亡没有显著影响,且复合波辐照与两个波源单独辐照之间的效应也没有显著性差异。Lee等^[8]在电磁混响室中用频率为849 MHz和1 950 MHz的射频场形成的复合波辐照妊娠小鼠(SAR均为 $2 W/kg$),整个妊娠期每天辐照两次,时间均为45 min,间隔15 min,在妊娠第18天解剖小鼠,检查胎儿的死亡率、生长迟缓、头部大小变化和其他形态异常,结果表明,复合波辐照不会对小鼠胎儿产生不良影响。此外,对于多个波源同向先后入射这一复合辐照方式下的效应也有少量研究^[9],但波沿不同方向入射在空间叠加形成的复合场中的电磁暴露生物效应研究,目前尚未见报道。为此,我们搭建了双波源复合辐照平台,研究了两个不同频率的脉冲波沿相互垂直方向同时辐照,脉冲数对大鼠血液、脑、睾丸、心脏和肝脏组织的影响,并在电磁暴露剂量基本相同的情况下,与两波源单独辐照的结果进行了比较,目的是考察多频电磁场暴露与单频场电磁暴露生物效应之间的差异,

为多频场电磁暴露安全评估提供更全面的实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

PBS缓冲液,购自杭州吉诺生物医药技术有限公司;辜酮、ALT、AST、Bax蛋白、Bcl-2蛋白检测试剂盒,购自欧赛德生物公司;4%多聚甲醛通用型组织固定液,购自合肥Biosharp生命科学公司;石蜡,购自德国Leica公司;HE染色液、中性树胶,购自南昌雨露实验器材有限公司。

LS628水平仪(莱赛激光);BC-5000 Vet全自动血细胞分析仪(迈瑞医疗国际有限公司);JXFSTPRP-CL冷冻研磨仪(上海净信实业发展有限公司);TGL-20bR高速台式冷冻离心机(上海安亭仪器厂);Bio-Tek Epoch2酶标仪(美国伯腾仪器有限公司)等。

1.2 辐照装置与辐照方法

辐照平台如图1所示。S波段(2.71 GHz)高功率脉冲微波辐射系统(由S波段微波源、标准增益喇叭天线组成)放置在微波暗室(4 m×2.5 m×2.5 m)顶部,C波段(5.4 GHz)高功率脉冲微波辐射系统(由C波段微波源、标准增益喇叭天线组成)放置在微波暗室的侧面。微波暗室内放置可二维调节的有机玻璃样品台,样品处的场强可通过样品台与喇叭天线之间的距离来调节。本实验中,样品台处的场强为44.84 kV/m,保持不变。复合场暴露时,将雄性SD大鼠(9~10周龄,由华东师范大学实验动物中心提供,经过华东师范大学实验动物伦理委员会审查)放于塑料圆筒中置于两波交汇处,并使S波源从鼠背部入射,电场沿鼠体长方向极化,C波源从鼠头部入射,电场沿着鼠体高方向极化。单波源暴露时,保持其中一个波源工作,另一个波源关闭,并调节 d_1 或 d_2 使单波源辐照的场强与双波源复合辐照时的场强相同。实验中的电磁暴露剂量通过微波源发射的脉冲数控制。

辐照组、Control组和Sham组每组6只大鼠。其中,Control组大鼠常规饲养不做任何处理,Sham组大鼠置于与辐照组相同的辐照环境中,但不接受辐照。不同辐照组的脉冲数 N 分别为2、5、20和200,分别对应辐照组1、辐照组2、辐照组3和辐照组4。

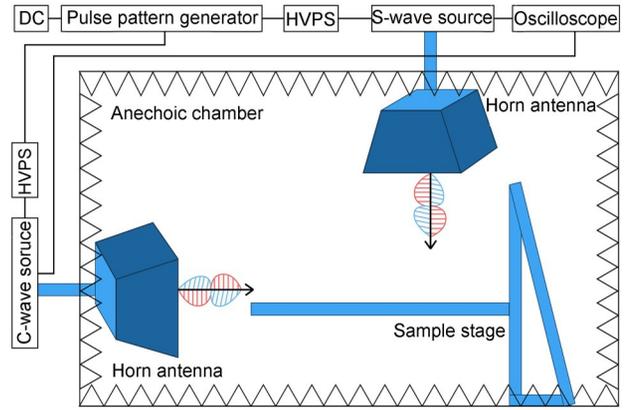


图1 S-C复合辐照平台示意图

Fig.1 Schematic diagram of S-C combined irradiation system

1.3 大鼠体内电磁暴露剂量的理论计算

大鼠体内的电磁暴露剂量SAR用时域有限差分方法(Finite difference time domain, FDTD)^[10]分析,各组织的SAR值均按式(1)计算。

$$\text{SAR} = \frac{1}{2 \sum_{(i,j,k)} (\rho(i,j,k) \cdot V(i,j,k))} [\sum_{i,j,k} (\sigma_x(i,j,k) \cdot E_x^2(i,j,k) \cdot V(i,j,k) + \sigma_y(i,j,k) \cdot E_y^2(i,j,k) \cdot V(i,j,k) + \sigma_z(i,j,k) \cdot E_z^2(i,j,k) \cdot V(i,j,k))] \quad (1)$$

式中: (i,j,k) 为计算空间网格索引; E_x 、 E_y 、 E_z 为电场在 x 、 y 、 z 方向上的振幅(V/m), σ_x 、 σ_y 、 σ_z 为不同坐标方向上的有效电导率(S/m), $\rho(i,j,k)$ 和 $V(i,j,k)$ 分别表示组织密度(kg/m^3)和网格体积(m^3)。利用总场-散射场技术实现多波源同时入射^[11]。沿 θ 、 φ 方向传播的平面电磁波在球坐标系中电场和磁场的分量如式(2)所示。

$$\begin{cases} E_x = E_0(-\sin\varphi \sin\alpha + \cos\theta \cos\varphi \cos\alpha) \\ E_y = E_0(\cos\varphi \sin\alpha + \cos\theta \sin\varphi \cos\alpha) \\ E_z = E_0 \sin\theta \cos\alpha \\ H_x = E_0/Z_0(-\sin\varphi \cos\alpha - \cos\theta \cos\varphi \sin\alpha) \\ H_y = E_0/Z_0(\cos\varphi \cos\alpha - \cos\theta \cos\varphi \sin\alpha) \\ H_z = E_0/Z_0 \sin\theta \sin\alpha \end{cases} \quad (2)$$

式中: E_0 为平面电磁波的幅值(V/m); θ 、 φ 分别表示球坐标系下的极角和方位角(rad); α 为极化角(rad)。计算使用的大鼠模型来自IT'IS4公司,各组织的电磁参数取自联邦通信委员会的大鼠组织介电参数数据库^[12]。本实验条件下大鼠各组织的SAR值计算结果如表1所示。

表1 不同辐照方式下大鼠组织的SAR值
Table 1 SAR values under different irradiation modes

辐照方式 Irradiation mode	SAR / (W·kg ⁻¹)			
	脑 Brain	睾丸 Testis	心脏 Heart	肝脏 Liver
SC	133.086	126.005	37.866	25.821
S	140.819	108.624	40.719	25.932
C	140.538	120.745	39.267	25.014

1.4 样品采集

辐照后6 h,向大鼠腹腔注射10%水合氯醛溶液,使大鼠麻醉后进行解剖,暴露内脏,用采血针采血1.5 mL收集至EDTA-2K抗凝负压真空采血管,用于后续血常规检测,再采血1.5 mL收集至EDTA-2K抗凝负压真空采血管,用于后续血液生化指标睾酮、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)检测。取出脑、心、肝和左侧睾丸,一半组织立即用4%多聚甲醛-戊二醛(50:1)固定,用于后续石蜡切片及HE染色,另一半组织用预冷的PBS缓冲液清洗,用于后续Elisa检测凋亡蛋白Bax和Bcl-2含量。

1.5 检测方法

用全自动血细胞分析仪检测血常规各项指标。血液离心取上清,按试剂盒说明书操作,利用酶标仪测血清睾酮、ALT和AST含量。各组织固定48 h后进行石蜡切片,HE染色后在显微镜下观察各组织形态。各组织按质量体积比1:9加入PBS缓冲液研磨后离心取上清,按试剂盒说明书操作,利用酶

标仪测Bax蛋白和Bcl-2蛋白含量。

1.6 数据分析

数据统计分析表明,相同辐照条件下同一组织Control组和Sham组的实验测量结果之间无显著性差异。我们进行数据统计与分析时将辐照组数据(D_i)与同批次的Sham组数据(D_0)归一化处理,利用Origin 9.0作图,横坐标为各实验分组,纵坐标 D_i/D_0 为归一化后的辐照组。用SPSS 21.0先进行独立样本T检验,若 $p < 0.05$ 表示辐照组与Sham组之间存在显著性差异(*),若 $p < 0.01$ 表示辐照组与Sham组之间存在极显著性差异(**),均具有统计学意义。之后再利用SPSS 21.0进行Oneway ANOVA分析及双因素方差分析。

2 结果

2.1 复合辐照对大鼠血常规的影响

表2列出了部分指标的检测数据。血常规通过统计血细胞的数量变化与形态分布反映血液状况,是判断外源性因素是否会对动物血液造成毒性效应的依据。

本研究共检测了红细胞、白细胞和血小板三大系统中的23个指标,包括红细胞计数(RBC)、血红蛋白浓度(HGB)、白细胞计数(WBC)、血小板(PLT)等。检测结果表明,所有辐照组的各项血常规指标与Control及Sham组相比均未发生显著性变化。

表2 辐照后大鼠血常规
Table 2 Blood routine of rats after irradiation (n=6)

辐照方式I Radiation mode	辐照分组 Irradiation group	血常规指标 Blood routine index			
		RBC / 10 ¹² L	HGB / (g·L ⁻¹)	WBC / 10 ⁹ L	PLT / 10 ⁹ L
Control	—	7.32±0.22	146.67±2.89	4.60±0.89	1 062±186
Sham	—	7.35±0.38	148.00±3.00	4.66±1.12	975±177
SC	1组 Group 1	7.36±0.33	150.33±2.52	4.44±1.09	1 002±118
	2组 Group 2	7.09±0.64	149.00±3.61	4.55±1.79	1 059±87
	3组 Group 3	7.53±0.47	148.67±6.51	4.62±1.98	1 120±138
	4组 Group 4	7.12±0.36	145.67±5.51	4.12±1.14	993±160
S	1组 Group 1	7.35±0.13	147.67±5.69	4.61±0.87	1 134±417
	2组 Group 2	7.30±0.42	146.00±8.55	4.80±0.94	983±135
	3组 Group 3	7.27±0.31	146.00±7.00	4.37±1.05	965±127
	4组 Group 4	7.00±0.29	148.33±8.14	4.40±1.64	976±176
C	1组 Group 1	7.40±0.19	148.00±3.00	3.92±1.68	1 018±165
	2组 Group 2	7.04±0.75	146.00±2.65	4.66±0.96	1 024±166
	3组 Group 3	7.41±0.36	148.33±4.73	4.46±0.95	1 065±129
	4组 Group 4	7.40±0.13	147.00±5.29	4.51±1.36	1 070±108

2.2 复合辐照对大鼠血液生化指标的影响

血清睾酮的含量可以反映大鼠性功能是否正常^[13],ALT和AST的含量可以反映大鼠肝脏功能是否正常^[14-15]。睾酮、ALT和AST含量的检测结果见图2。

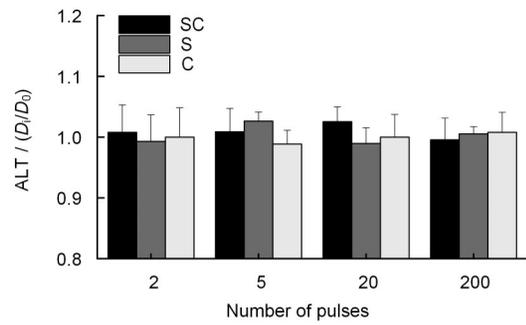
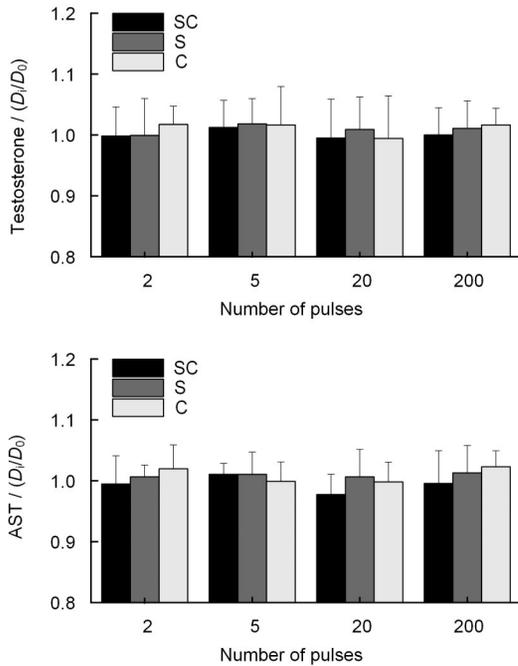


图2 辐照后大鼠血清睾酮、ALT和AST含量的检测结果($n=6$)

Fig.2 Content of testosterone, ALT and AST in rats' serum after irradiation ($n=6$)

由图2可知,与Control组和Sham组相比,无论是复合辐照组还是单独辐照组,睾酮、ALT和AST的含量均未发生显著性变化,表明辐照未对大鼠睾丸和肝脏造成功能性损伤。当脉冲数相同时,复合辐照组与单独辐照组之间未见明显差异。

2.3 复合辐照对大鼠组织病理形态的影响

当脉冲数 N 为200时,大鼠的脑、睾丸、心脏和肝脏组织的HE染色照片(图3)显示,各组织均未出现明显病理损伤。

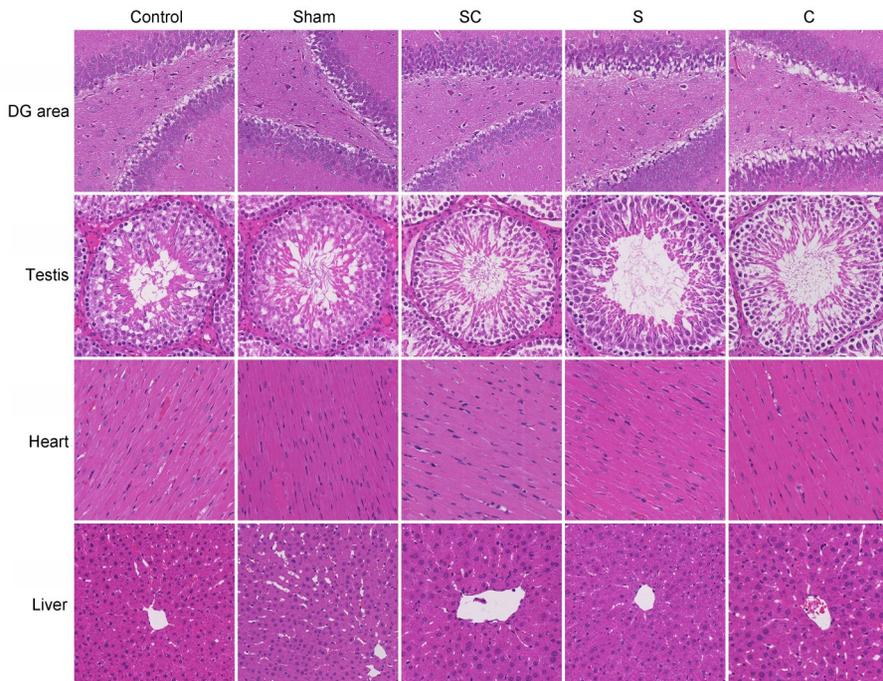


图3 辐照后大鼠组织的HE染色照片(辐照组4)

Fig.3 HE staining picture of rats' tissues after irradiation (irradiation group 4)

无论是Control组、Sham组、单独辐照组还是复合辐照组都可以观察到:大鼠海马DG区细胞层次清晰,排列正常,神经元分布正常,未见明显组织变

性及坏死,未见明确炎症细胞浸润;大鼠睾丸组织内生精小管基膜完整,未见增厚,管壁形状未见明显异常改变。小管内支持细胞和各级生精细胞排列

有序,层次清晰,未见明确变性和坏死;大鼠心脏组织内细胞排列尚规则,未见明显心肌细胞变性坏死,间质未见明显纤维组织增生及炎症细胞浸润;大鼠肝脏组织中肝细胞围绕中央静脉呈放射状排列,每个肝细胞有1~2个细胞核,细胞核呈圆形,位于细胞中央。当脉冲数*N*分别为2、5、20时,HE染色观察结果与*N*为200时相同。说明辐照未对大鼠的组织造成病理损伤。复合辐照与单独辐照之间未表现出明显差异。有文献表明,细胞核大小的变化在一定程度上反映了细胞状态^[16]。因此,我们利用

Image J分别对脑海马DG区颗粒细胞、心肌细胞和肝细胞核面积进行了统计分析(表3)。结果表明:这三个组织中,辐照后细胞核面积的大小与Control及Sham组相比并未发生统计学意义上的变化;对于睾丸组织,我们利用Johnson评分对生精小管中精子的发生及精子发生障碍程度进行评估。该评分共分10级,级数越高表明精子发生越好,反之,精子发生障碍越严重,以此来定量反映辐照后睾丸组织是否受到了损伤。评分结果见表4,各辐照组与Control及Sham组之间并无显著性差异。

表3 辐照后大鼠脑、心、肝组织细胞核面积的统计结果
Table 3 Statistic results of the nuclear area in the brain, heart, and liver tissues of rats after irradiation

辐照方式 Irradiation mode	辐照分组 Irradiation group	细胞核面积 Nuclear area / μm^2		
		脑 Brain	心脏 Heart	肝脏 Liver
Control	—	70.85±5.72	42.67±15.28	42.68±10.32
Sham	—	72.36±8.24	41.35±12.89	44.72±8.65
SC	1组 Group 1	73.56±8.19	43.39±13.06	43.38±9.76
	2组 Group 2	69.89±8.57	41.30±15.37	45.87±9.86
	3组 Group 3	71.34±9.21	38.72±14.66	42.71±10.37
	4组 Group 4	73.66±8.59	41.58±16.31	45.03±9.29
S	1组 Group 1	70.78±7.65	37.59±12.67	44.69±9.35
	2组 Group 2	72.15±8.64	36.38±10.57	42.36±7.41
	3组 Group 3	72.89±7.43	40.57±12.89	43.30±8.93
	4组 Group 4	69.78±9.15	44.87±12.18	42.07±10.76
C	1组 Group 1	73.45±7.69	42.47±18.05	44.58±11.83
	2组 Group 2	72.36±8.45	41.74±15.86	42.87±9.39
	3组 Group 3	73.48±8.17	38.26±13.56	40.62±10.56
	4组 Group 4	71.95±8.24	40.36±17.84	42.91±8.69

表4 辐照后大鼠睾丸组织的Johnson评分
Table 4 Johnson score of rats' testis after irradiation

辐照方式 Irradiation mode	辐照分组 Irradiation group	Johnson评分 Johnson score
Control	—	9.55±0.48
Sham	—	9.64±0.72
SC	1组 Group 1	9.58±0.36
	2组 Group 2	9.61±0.47
	3组 Group 3	9.53±0.28
	4组 Group 4	9.62±0.75
S	1组 Group 1	9.63±0.57
	2组 Group 2	9.59±0.35
	3组 Group 3	9.58±0.61
	4组 Group 4	9.62±0.43
C	1组 Group 1	9.57±0.54
	2组 Group 2	9.63±0.40
	3组 Group 3	9.64±0.49
	4组 Group 4	9.59±0.62

2.4 复合辐照对大鼠组织细胞凋亡影响

与大鼠组织细胞凋亡相关的一对正负调节蛋白—Bax蛋白和Bcl-2蛋白含量的检测结果(图4)显示,复合辐照后,大鼠脑组织和睾丸组织中促凋亡蛋白—Bax蛋白的含量在脉冲数 $N=2$ 时与Sham组相比就已经有了明显的增加,且随着脉冲数的增加而上升;大鼠脑组织和睾丸组织中抑凋亡蛋白—Bcl-2蛋白的含量与Sham组相比显著下降,但随脉冲数的增加而继续下降的趋势不明显。这说明大鼠脑组织和睾丸组织在复合辐照后产生了明显的凋亡响应,且随着脉冲数的增加呈增大趋势。大鼠心脏和肝脏组织中,随着脉冲数的增加,Bax蛋白含量也呈上升趋势,Bcl-2蛋白含量呈下降趋势,但与

Sham组相比,当 $N \geq 20$ 时才出现显著性差异,即当 $N \geq 20$ 时大鼠心脏和肝脏组织出现了明显的凋亡响应。表明在外电场强度相同的情况下,大鼠脑组织和睾丸组织比其心脏和肝脏组织更易受到脉冲微波辐照的影响。有研究表明,脑和睾丸是对电磁暴露较为敏感的组织^[17-18]。两个波源单独辐照时,4个组织中的细胞凋亡响应规律与复合辐照时极为相似。当脉冲数相同时,复合辐照与两个波源单独辐照的凋亡响应之间并无显著性差异。有研究表明,脑和睾丸是对电磁暴露较为敏感的组织^[17-18]。两个波源单独辐照时,4个组织中的细胞凋亡响应规律与复合辐照时极为相似。当脉冲数相同时,复合辐照与两个波源单独辐照的凋亡响应之间并无显著性差异。

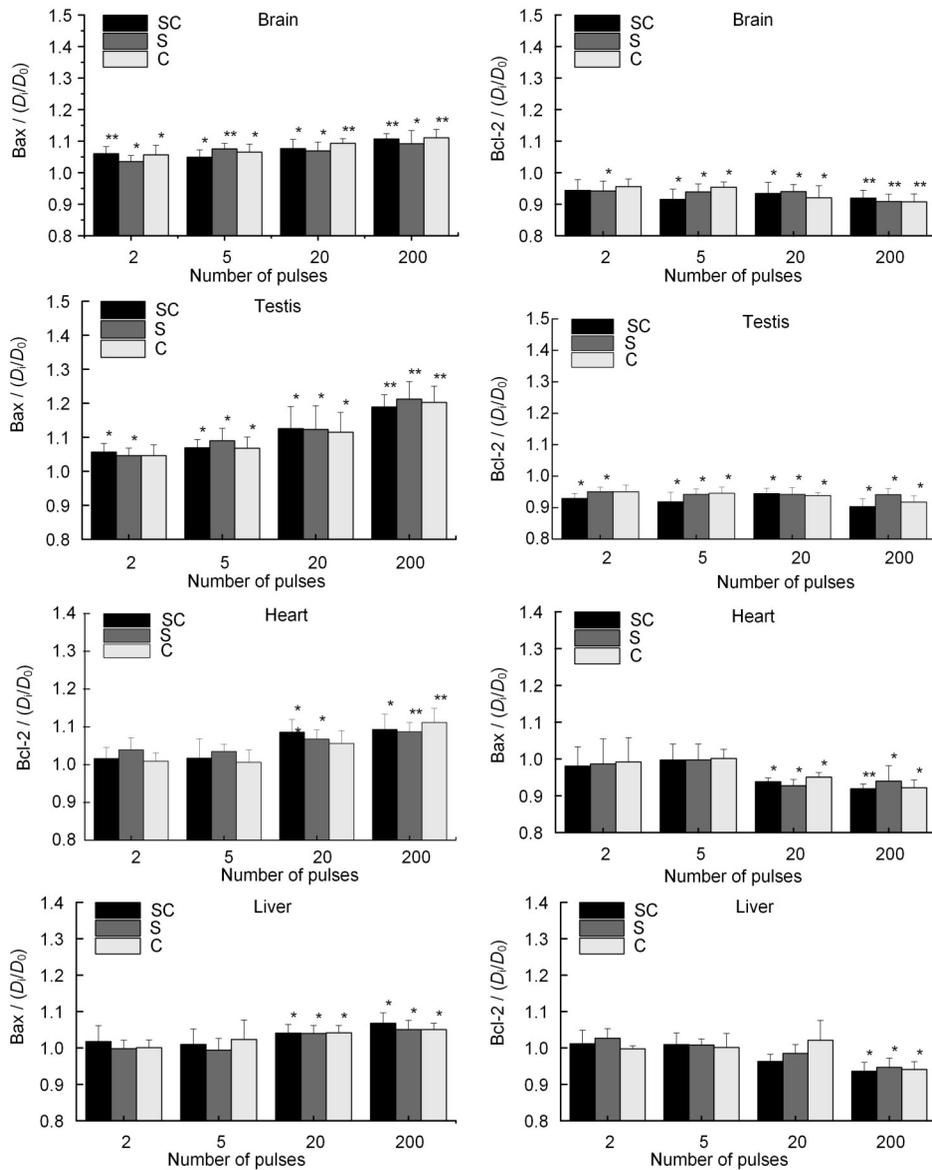


图4 辐照后大鼠组织中的Bax和Bcl-2蛋白含量的检测结果($n=6$);与Sham组相比,* $p < 0.05$,** $p < 0.01$
 Fig.4 Content of Bax and Bcl-2 proteins in rats' tissues after irradiation ($n=6$); compared with the Sham group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

3 讨论

本文研究了外场场强一定时, SC复合暴露对大鼠体内4种组织器官的影响, 以及电磁暴露剂量相同时, 复合电磁暴露与单波源暴露之间的效应关系。本研究采用的外场幅值为44.84 kV/m, 高于国家标准12 kV/m(S波源)和16.17 kV/m(C波源)。这是因为本实验的主要目的是考察两脉冲微波复合辐照的非热效应, 因此选择远高于国家标准的外场幅值并将脉冲数限制在200以内。比吸收能(Specific absorption, SA)是指单位质量物体在 t_1 到 t_2 时间段内吸收的能量, 即从 t_1 到 t_2 间SAR的积分, 其定义

如式(3)^[1]。

$$SA = \int_{t_1}^{t_2} SAR(t) dt \quad (3)$$

脉冲数体现了脉冲微波的辐照时长, 大鼠各组织SA值可利用(4)式计算得到^[19], 进而可利用(5)式计算各组织的理论温升, 式中 c 取水的比热($J/(kg \cdot ^\circ C^{-1})$)^[20]。

$$SA = N \int_0^t \frac{\sigma \vec{E} \cdot \vec{E}}{\rho} dt \quad (4)$$

$$\Delta t = SA/c (^\circ C) \quad (5)$$

计算结果分别列于表5和6。

表5 不同脉冲数下大鼠组织的SA值
Table 5 SA values in rats' tissues under different pulse numbers

辐照分组 Irradiation group	辐照方式 Irradiation mode	SA / (J·kg ⁻¹)			
		脑 Brain	睾丸 Testis	心脏 Heart	肝脏 Liver
1组 Group 1	SC	2.11×10 ⁻⁴	1.81×10 ⁻⁴	5.89×10 ⁻⁵	3.75×10 ⁻⁵
	S	2.00×10 ⁻⁴	1.89×10 ⁻⁴	5.70×10 ⁻⁵	3.87×10 ⁻⁵
	C	2.12×10 ⁻⁴	1.63×10 ⁻⁴	6.11×10 ⁻⁵	3.89×10 ⁻⁵
2组 Group 2	SC	5.27×10 ⁻⁴	4.53×10 ⁻⁴	1.47×10 ⁻⁴	9.38×10 ⁻⁵
	S	4.99×10 ⁻⁴	4.73×10 ⁻⁴	1.43×10 ⁻⁴	9.68×10 ⁻⁵
	C	5.29×10 ⁻⁴	4.07×10 ⁻⁴	1.53×10 ⁻⁴	9.72×10 ⁻⁵
3组 Group 3	SC	2.11×10 ⁻³	1.81×10 ⁻³	5.89×10 ⁻⁴	3.75×10 ⁻⁴
	S	2.00×10 ⁻³	1.89×10 ⁻³	5.70×10 ⁻⁴	3.87×10 ⁻⁴
	C	2.12×10 ⁻³	1.63×10 ⁻³	6.11×10 ⁻⁴	3.89×10 ⁻⁴
4组 Group 4	SC	2.11×10 ⁻²	1.81×10 ⁻²	5.89×10 ⁻³	3.75×10 ⁻³
	S	2.00×10 ⁻²	1.89×10 ⁻²	5.70×10 ⁻³	3.87×10 ⁻³
	C	2.12×10 ⁻²	1.63×10 ⁻²	6.11×10 ⁻³	3.89×10 ⁻³

表6 不同辐照条件下大鼠不同组织器官的理论温升
Table 6 Theoretical temperature rise of rats' tissues under different irradiation modes

辐照分组 Irradiation group	辐照方式 Irradiation mode	辐照后的理论温升 /°C Theoretical temperature rise after irradiation			
		脑 Brain	睾丸 Testis	心脏 Heart	肝脏 Liver
1组 Group 1	SC	0.67×10 ⁻⁴	0.58×10 ⁻⁴	0.19×10 ⁻⁴	0.12×10 ⁻⁴
	S	0.63×10 ⁻⁴	0.60×10 ⁻⁴	0.18×10 ⁻⁴	0.12×10 ⁻⁴
	C	0.67×10 ⁻⁴	0.52×10 ⁻⁴	0.19×10 ⁻⁴	0.12×10 ⁻⁴
2组 Group 2	SC	0.17×10 ⁻³	0.14×10 ⁻³	0.47×10 ⁻⁴	0.30×10 ⁻⁴
	S	0.16×10 ⁻³	0.15×10 ⁻³	0.45×10 ⁻⁴	0.31×10 ⁻⁴
	C	0.17×10 ⁻³	0.13×10 ⁻³	0.48×10 ⁻⁴	0.30×10 ⁻⁴
3组 Group 3	SC	0.67×10 ⁻³	0.58×10 ⁻³	0.19×10 ⁻³	0.12×10 ⁻³
	S	0.63×10 ⁻³	0.60×10 ⁻³	0.18×10 ⁻³	0.12×10 ⁻³
	C	0.67×10 ⁻³	0.52×10 ⁻³	0.19×10 ⁻³	0.12×10 ⁻³
4组 Group 4	SC	0.01	0.58×10 ⁻⁴	0.19×10 ⁻²	0.12×10 ⁻²
	S	0.01	0.01	0.18×10 ⁻²	0.12×10 ⁻²
	C	0.01	0.01	0.19×10 ⁻²	0.12×10 ⁻²

大鼠组织的理论温升最大值出现在脉冲数为200的脑组织中,但也仅为0.01 °C,表明辐照所引起的生物效应以非热效应为主。有研究表明,脉冲微波的非热效应主要表现为场效应,即只有当场达到一定强度时,才能引起生物效应^[21]。而各类安全标准对公众暴露安全限值的制定是十分严格的,考虑了所有年龄段及不同健康状况的个体,包括易感人群等,因此在制定安全限值时都会设置一定的安全系数(降低因子),以确保即使大幅超标情况下,其限值也具有保护作用^[1]。因此,本文选择了能够确保有效应的场强,观察其效应大小与脉冲个之间的关系。在该外场下,大鼠的脑和睾丸组织在脉冲数 $N=2$ 时就产生了明显的凋亡响应,而肝脏和心脏在 $N=20$ 时才出现凋亡响应。根据表5可知,大鼠体内各组织的SA值不同,但最大也仅为 $2.12 \times 10^{-2} \text{ J/kg}$,从能量的角度来看,并不足以引起大鼠各组织的病理损伤。但由于外场场强较大,通过场效应在大鼠组织

中引起了凋亡响应。我们以促凋亡的Bax蛋白含量变化作为指标分析了两个脉冲微波复合辐照时的作用规律,以及与单波源辐照之间的关系。无论是双波源复合辐照还是两波源单独辐照均表现出与文献报道相符的作用规律。文献报道,2.71 GHz脉冲微波辐照,当海马组织内场强达到8 kV/m左右,心脏组织内场强达到7 kV/m左右时,就能够通过电场与生物分子之间的作用而产生效应^[22-23],而本实验中各组织内场强与之相近,见表7。其中,大鼠脑和睾丸组织中的电场相对较高,在 $N=2$ 时就能够观察到明显的凋亡响应;心脏和肝脏组织中的电场相对较低,当 $N \geq 20$ 时才观察到明显的凋亡响应。由于本实验中双波源与单波源辐照的场强基本相同,为了考察场强相同时凋亡响应与脉冲数之间的关系,我们将不同辐照方式下测量数据放在一起,以脉冲数为横坐标,以Bax蛋白含量为纵坐标作图,并对数据进行了函数拟合,结果如图5所示。

表7 不同辐照方式下大鼠组织器官的内场场强幅值
Table 7 Amplitude of internal field strength in rats' tissues under different irradiation modes

辐照方式 Irradiation mode	组织的内场场强幅值 $E / (\text{kV} \cdot \text{m}^{-1})$ Amplitude of internal field strength of tissue E			
	脑 Brain	睾丸 Testis	心脏 Heart	肝脏 Liver
SC	11.30	10.13	5.73	5.33
S	12.22	11.56	6.23	5.91
C	10.30	8.48	5.18	4.68

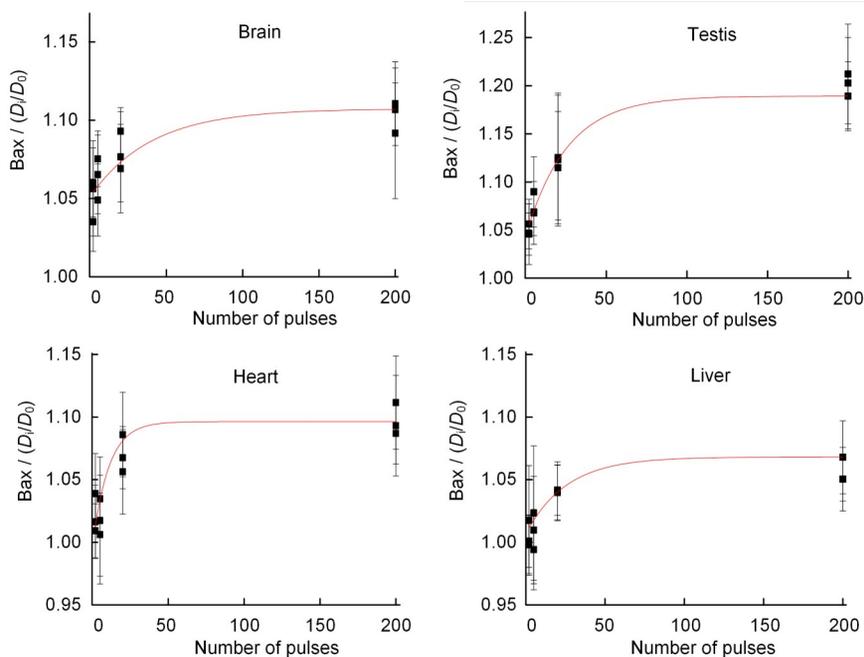


图5 电场强度相同时,凋亡响应与脉冲数之间的关系
Fig.5 Relationship between apoptosis response and the number of pulses

由图5可以看到,4个组织的凋亡效应与脉冲数之间均呈非线性正相关。不同组织之间的拟合常数略有差异,这可能与不同组织内的电场强度、组织对电磁场的敏感性等因素有关。该结果与文献报道中关于脉冲微波生物效应与脉冲数之间的作用规律是一致的^[24]。

为了比较双波源复合电磁暴露与单波源电磁暴露之间的关系,我们以Bax蛋白的检测数据为因变量,以脉冲数 N 和辐照方式(SC双波源复合辐照、S波源单独辐照和C波源单独辐照)作为自变量,进行了双因素方差分析。表8中睾丸组织的统计分析结果表明,引起睾丸组织Bax蛋白含量变化的主要

因素是脉冲数,辐照方式对大鼠睾丸组织中Bax蛋白含量的变化并无影响,且两者之间并无交互作用。对其余三个组织的双因素方差分析结果与睾丸组织的相同。根据ICNIRP导则,对 $f < 6$ GHz的脉冲微波暴露,通常采用比吸收能SA来描述生物体内的电磁暴露剂量^[1]。由(1)式可知,同一波源当场强不变时,大鼠体内的SA值与脉冲数 N 之间成正比。因此,本实验中,当脉冲数相同时,复合辐照与两个波源单独辐照时大鼠体内的电磁暴露剂量基本相同。这说明,当大鼠体内电磁暴露剂量基本相同时,复合辐照与单波源辐照引起的生物效应之间无显著性差异。

表8 脉冲数和辐照方式引起大鼠睾丸组织Bax变化的双因素方差分析结果
Table 8 Two-way ANOVA results of Bax changes in rats' testis caused by number of pulses and irradiation modes

源 Source	III类平方和 Class III sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F	显著性 Significance
脉冲数 Number of pulses	0.120	3	0.040	20.218	0.000
波源 Wave source	0.001	2	0.000	0.167	0.848
脉冲数×波源 Number of pulses × Wave source	0.001	6	0.000	0.124	0.992

在安全标准中,对于多频率场同时暴露,给出了基于各单波源电磁暴露安全限值的推算公式。本实验条件下,当大鼠体内电磁暴露剂量相同时,不同辐照方式引起的生物效应之间无显著性差异,说明多频场同时暴露与单频场电磁暴露一样,均与电磁暴露剂量有关,剂量相同的情况下,如果单频场电磁暴露是安全的,那么多频场电磁暴露有可能也是安全的。但是,本文只研究一种双波源复合辐照的情况,其它频率组合和辐照方式组合是否也具有类似的结果,尚需进一步验证。

4 结论

本文研究了SC两个波源沿相互垂直方向入射时,脉冲数对大鼠血液、脑、心脏、肝脏和睾丸组织的影响,并与两个波源单独辐照的情况进行了比较。结果表明:在本文所采用的辐照条件下,由于SA值较小,未对大鼠血常规指标以及血液生化指标睾酮、ALT和AST产生影响,也未对脑、睾丸、心脏和肝脏四个组织造成病理性损伤;但场强达到了一定的强度,各组织产生了凋亡响应,在场强不变的情况下与脉冲数之间呈非线性正相关关系。当大鼠体内电磁暴露水平基本相同时,复合辐照与两波源单

独辐照所引起的组织凋亡响应之间无显著性差异。

致谢 此项工作的数值计算部分是在国家超级计算天津中心的天河新一代超级计算机上完成的,感谢天河的大力支持。

作者贡献声明 叶金怡、王向晖负责文献查阅、分析和论文初稿写作;叶金怡、张杰进行了实验,并对实验数据进行了采集和分析;齐红新进行了理论计算;王向晖为通信作者,负责论文的最终修订、审阅及定稿等。所有作者均对稿件的最终版本给予了认可。

参考文献

- 1 International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). Guidelines for limiting exposure to electromagnetic fields (100 kHz to 300 GHz)[J]. Health Physics, 2020, 118(5): 483-524. DOI: 10.1097/HP.0000000000001210.
- 2 IEEE International Committee on Electromagnetic Safety. IEEE standard for safety levels with respect to human exposure to electric, magnetic, and electromagnetic fields, 0 Hz to 300 GHz: IEEE-Std-C95 [S]. New York: The Institute of Electrical and Electronics

- Engineers, Inc, 2019.
- 3 国家质量监督检验检疫总局, 环境保护部. 电磁环境控制限值: GB 8702—2014[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2015.
Radiation Monitoring Technical Center of Ministry of Ecology and Environment. Controlling limits for electromagnetic environment: GB 8702—2014[S]. Beijing: China Environmental Press, 2015.
 - 4 吕朝辉, 张文鸾, 耿德军, 等. 复杂电磁环境下电磁辐射对大鼠肝脏的影响[J]. 实验动物与比较医学, 2018, **38**(1): 40-43. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2018.01.007.
LYU Zhaohui, ZHANG Wenluan, GENG Dejun, *et al.* Influence of electromagnetic radiation on rats liver under complex electromagnetic environment[J]. Laboratory Animal and Comparative Medicine, 2018, **38**(1): 40-43. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2018.01.007.
 - 5 徐茜, 靳宗达, 董亮, 等. 低剂量微波辐射减轻 γ 射线对小鼠造血系统的损伤[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2009, **27**(5): 289-296.
XU Qian, JIN Zongda, DONG Liang, *et al.* The reduction of γ -rays damages of mice hematopoietic system pretreated by low dose microwave irradiation[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2009, **27**(5): 289-296.
 - 6 Jauchem J R, Ryan K L, Frei M R. Cardiovascular and thermal effects of microwave irradiation at 1 and/or 10 GHz in anesthetized rats[J]. Bioelectromagnetics, 2000, **21**(3): 159-166. DOI: 10.1002/(sici)1521-186x(200004)21:3159:aid-bem2>3.0.co;2-#.
 - 7 López-Furelos A, del Mar Miñana-Maiques M, Leiro-Vidal J M, *et al.* An experimental multi-frequency system for studying dosimetry and acute effects on cell and nuclear morphology in rat tissues[J]. Progress in Electromagnetics Research, 2012, **129**: 541-558. DOI: 10.2528/pier12042707.
 - 8 Lee H J, Lee J S, Pack J K, *et al.* Lack of teratogenicity after combined exposure of pregnant mice to CDMA and WCDMA radiofrequency electromagnetic fields[J]. Radiation Research, 2009, **172**(5): 648-652. DOI: 10.1667/RR1771.1.
 - 9 Zhu R Q, Wang H, Xu X P, *et al.* Effects of 1.5 and 4.3 GHz microwave radiation on cognitive function and hippocampal tissue structure in Wistar rats[J]. Scientific Reports, 2021, **11**: 10061. DOI: 10.1038/s41598-021-89348-4.
 - 10 李孟达. 大鼠复合场电磁暴露剂量的数值仿真[D]. 上海: 华东师范大学, 2020.
LI Mengda. Numerical simulation of electromagnetic exposure dose in compound field of rat[D]. Shanghai: East China Normal University, 2020.
 - 11 葛德彪, 闫玉波. 电磁波时域有限差分方法[M]. 3版. 西安: 西安电子科技大学出版社, 2011.
GE Debiao, YAN Yubo. Finite difference time domain method for electromagnetic wave[M]. 3rd ed. Xian: Xidian University Press, 2011.
 - 12 Federal Communications Commission. Body tissue dielectric parameters[EB/OL]. (2015-11-06) [2019-11-15]. <https://www.fcc.gov/general/body-tissue-dielectric-parameters>.
 - 13 Chen H L, Ge R S, Zirkin B R. Leydig cells: from stem cells to aging[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2009, **306**(1/2): 9-16. DOI: 10.1016/j.mce.2009.01.023.
 - 14 Anderson F H, Zeng L C, Rock N R, *et al.* An assessment of the clinical utility of serum ALT and AST in chronic hepatitis C[J]. Hepatology Research, 2000, **18**(1): 63-71. DOI: 10.1016/S1386-6346(99)00085-6.
 - 15 Xie K L, Chen C H, Tsai S P, *et al.* Loss of life expectancy by 10 years or more from elevated aspartate aminotransferase: finding aspartate aminotransferase a better mortality predictor for all-cause and liver-related than alanine aminotransferase[J]. The American Journal of Gastroenterology, 2019, **114**(9): 1478-1487. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000332.
 - 16 孙强. 运动性肥大心脏心肌超微结构改变的实验研究[J]. 四川体育科学, 2013, **32**(4): 33-36. DOI: 10.13932/j.cnki.sctyxk.2013.04.003.
SUN Qiang. Experimental study on the ultrastructure change of cardiomyocyte in athletic heart[J]. Sichuan Sports Science, 2013, **32**(4): 33-36. DOI: 10.13932/j.cnki.sctyxk.2013.04.003.
 - 17 Akdag M Z, Dasdag S, Canturk F, *et al.* Does prolonged radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi devices induce DNA damage in various tissues of rats? [J]. Journal of Chemical Neuroanatomy, 2016, **75**: 116-122. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2016.01.003.
 - 18 Jaffar F H F, Osman K, Ismail N H, *et al.* Adverse effects of Wi-Fi radiation on male reproductive system: a systematic review[J]. The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 2019, **248**(3): 169-179. DOI: 10.1620/tjem.248.169.
 - 19 Taflove A, Oskooi A, Johnson S G. Advances in FDTD computational electrodynamics: photonics and

- nanotechnology[M]. Boston: Artech House, 2013.
- 20 Wang X H, Qi H X, Zhang J, *et al.* Multivariable quantitative relation between cell viability and the exposure parameters of 9.33 GHz RF-EMP irradiation[J]. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2018, **37**(3): 146-154. DOI: 10.1080/15368378.2018.1482221.
- 21 邹勇, 王丽峰, 胡向军. 电磁辐射生物效应的量效关系研究进展[J]. *军事医学*, 2012, **36**(3): 234-237. DOI: 10.3969/j.issn.1674-9960.2012.03.018.
- ZOU Yong, WANG Lifeng, HU Xiangjun. Dose-response relationship of electromagnetic radiation and its research progress[J]. *Military Medical Sciences*, 2012, **36**(3): 234-237. DOI: 10.3969/j.issn.1674-9960.2012.03.018.
- 22 匡玉标. 脉冲微波辐照对大鼠海马影响的研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2011.
- KUANG Yubiao. The effects on rats' hippocampus of pulses microwave irradiation[D]. Shanghai: East China Normal University, 2011.
- 23 程煜. 脉冲微波对乳鼠心肌细胞及大鼠心脏组织的影响[D]. 上海: 华东师范大学, 2012.
- CHENG Yu. The effects of pulses microwave irradiation on newborn rats' cardiomyocytes and rats' Cardiac tissues[D]. Shanghai: East China Normal University, 2012.
- 24 裴剑, 黄欣, 陈树德, 等. 高功率脉冲微波细胞生物效应中脉冲个数与效应的关系研究[J]. *辐射防护*, 2012, **32**(1): 1-7.
- PEI Jian, HUANG Xin, CHEN Shude, *et al.* The relationship between pulse number and effect in cell biological effects induced by high power pulse microwave [J]. *Radiation Protection*, 2012, **32**(1): 1-7.