

文章编号:1000-5404(2012)21-2163-04

论著

毫米波辐照对大鼠局部皮肤 P 物质和组织形态学的影响

张彦文, 姚 权, 余争平, 张广斌 (400038 重庆, 第三军医大学军事预防医学院劳动卫生学教研室)

[摘要] **目的** 观察毫米波辐照对 SD 大鼠局部皮肤 P 物质和组织形态学的影响。**方法** 采用 40 W/cm² 35 GHz 毫米波局部 1 次辐照 SD 大鼠 30 s、1 min、3 min, 测量辐照前后局部皮肤温度的变化, 在辐照后不同时相点用 HE 染色观察局部组织形态学变化, 用放射免疫法测定局部皮肤组织中 P 物质的变化。**结果** 毫米波辐照大鼠后, 大鼠皮肤温度显著升高; 其中辐照 30 s 皮肤温度平均升高 16.7 °C, 辐照 1 min 平均升高 25.6 °C, 辐照 3 min 平均升高 33.2 °C。皮肤 HE 染色可见表皮真皮层不同程度组织形态学改变, 随辐照时间的增加皮肤损伤加重, 可引起胶原致密化和局部变性坏死。大鼠局部皮肤中 P 物质含量在辐照后第 5 min 和 10 min 显著升高, 1 h 后回复至对照组水平。**结论** 在本实验条件下, 毫米波辐照 30 s 就可致大鼠皮肤损伤和痛觉反应, 这可能与明显的热效应和 P 物质释放有关。

[关键词] 毫米波; P 物质; 热效应; 皮肤

[中图分类号] R322.99; R329; R363.124

[文献标志码] A

Effects of millimeter wave radiation on substance P and histomorphology in rat skin

Zhang Yanwen, Yao Quan, Yu Zhengping, Zhang Guangbin (Department of Occupational Health, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To determine the effects of millimeter wave (MMW) irradiation on substance P and histomorphology in rat skin. **Methods** A total of 126 health adult SD rats were randomly divided into MMW irradiation group ($n=117$) and normal control group ($n=9$). The outside skin on the back of MMW irradiation rats was radiated by 35 GHz MMW (40 W/cm²) for 30 s, and 1 and 3 min respectively. Rat skin temperature was detected before and after irradiation with infrared thermometer. The skin samples were taken at 0, 5 and 10 min, and 1 h after irradiation for detecting substance P (SP) level with radioimmunoassay ($n=6$ for each time point), and taken at 1, 3, 6 and 24 h after irradiation for observing histomorphology with HE staining ($n=3$ for each time point). **Results** MMW irradiation resulted in an obvious elevation of local skin temperature, and collagen congestion and local degeneration necrosis at different degrees in the epidermal and dermal layers of the skin. The skin injury was deteriorated with elapse of irradiation time. SP level was increased significantly at 5 and 10 min after MMW irradiation, but it returned to the level of normal control at 1 h. **Conclusion** Based on our experiment condition, MMW irradiation induces the rat skin damage and hyperalgesia, which may be related with markedly elevated skin temperature (thermal effect) and release of SP.

[Key words] millimeter wave; substance P; thermal effect; skin

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2008BB5116). Corresponding author: Zhang Yanwen, Tel: 86-23-68752732, E-mail: zhangyw20022002@yahoo.com.cn

毫米波技术不仅在雷达、通信、无线电测量、仪器等领域的应用广泛, 而且在生物医学领域的研究和应用也较多。据文献[1-6]报道, 较低剂量毫米波可以用于止痛(镇痛)、止痒、创面愈合、消化性溃疡、支气管哮喘、急性放射性皮炎、糖尿病所致的血管神经病

变、化疗所致免疫功能抑制等疾病的治疗。在这些临床应用中如辐照剂量过大或辐照时间过长, 都极有可能导致或加重组织损伤。毫米波是频率为 30~300 GHz 的电磁波, 主要作用于生物体表面的皮肤和眼睛, 较高剂量的毫米波对生物体的损伤机制主要以热效应为主。近年研究^[7-10]表明, 高剂量毫米波不仅不能止痛(镇痛), 而且可致痛、致皮肤和眼睛损伤、致死等。

[基金项目] 重庆市自然科学基金(CSTC2008BB5116)

[通信作者] 张彦文, 电话: (023)68752732, E-mail: zhangyw20022002@yahoo.com.cn

本研究系统观察 35 GHz 毫米波不同时间辐照对大鼠局部皮肤 P 物质含量和组织形态学的影响规律,为毫米波在生物医学等领域的安全应用提供线索和依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

健康成年 SD 大鼠 117 只,体质量 200 ~ 250 g,雌雄各半,由大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供,自由饮水和饮食,随机分为对照组(9 只)和毫米波辐照组(108 只)。毫米波辐照组按辐照时间又分为 30 s、1 min、3 min 组,每组 36 只大鼠。各组大鼠分别于辐照前、辐照后即刻使用接触式红外测温仪测定辐照局部皮肤温度;每组分别于辐照后 0、5、10 min、1 h 取材测定辐照局部皮肤中的 P 物质含量(每组每个时相点 6 只大鼠);每组分别于辐照后 1、3、6、24 h 取材进行辐照局部皮肤组织形态学观察(每组每个时相点 3 只大鼠)。

1.2 辐照模型

将大鼠置于毫米波反射系数为零的毫米波暗室内进行辐照,室内温度控制在 20 ℃,相对湿度 80%,辐照前在大鼠背部局部脱毛,辐照时将大鼠放置于自制的容器中,将其固定,大鼠局部脱毛皮肤暴露于毫米波焦点处,用毫米波(35 GHz,40 W/cm²)分别辐照 30 s、1 min、3 min。

1.3 辐照局部皮肤温度测定

在辐照前和辐照后用接触式红外测温仪测定大鼠辐照局部皮肤温度。

1.4 辐照局部皮肤组织形态学观察

取对照组和辐照组辐照局部皮肤按常规石蜡包埋切片,片厚 5 μm,行常规 HE 染色,光学显微镜下观察结果。

1.5 辐照局部皮肤 P 物质(SP)测定

动物麻醉后,取暴露于毫米波焦点处的局部皮肤,吸去血迹,称 30 ~ 70 mg 皮肤后,尽快加入 1 ml 生理盐水冰浴下研磨,制成匀浆,4 ℃ 3 000 r/min 离心,15 min,取上清,应用碘[¹²⁵I] P 物质放射免疫分析药盒在 γ 自动计数仪上测定 P 物质含量。单位以 pg/mg 表示。

1.6 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因

素方差分析和独立样本 *t* 检验。

2 结果

2.1 毫米波辐照后局部皮肤温度的变化

SD 大鼠经毫米波辐照后局部皮肤温度较辐照前显著升高,且随辐照时间延长而升高越明显。辐照 30 s 皮肤温度平均升高 16.7 ℃,辐照 1 min 平均升高 25.6 ℃,辐照 3 min 平均升高 33.2 ℃,见表 1。

表 1 毫米波辐照后局部皮肤温度的变化(℃, $n=36, \bar{x} \pm s$)

辐照时间	环境温度	辐照前皮肤温度	辐照后皮肤温度
30 s	20.20 ± 0.34	31.65 ± 0.83	48.36 ± 2.44 ^a
1 min	20.32 ± 0.23	31.62 ± 0.71	57.27 ± 2.12 ^a
3 min	20.75 ± 0.14	31.70 ± 0.82	64.93 ± 3.17 ^a

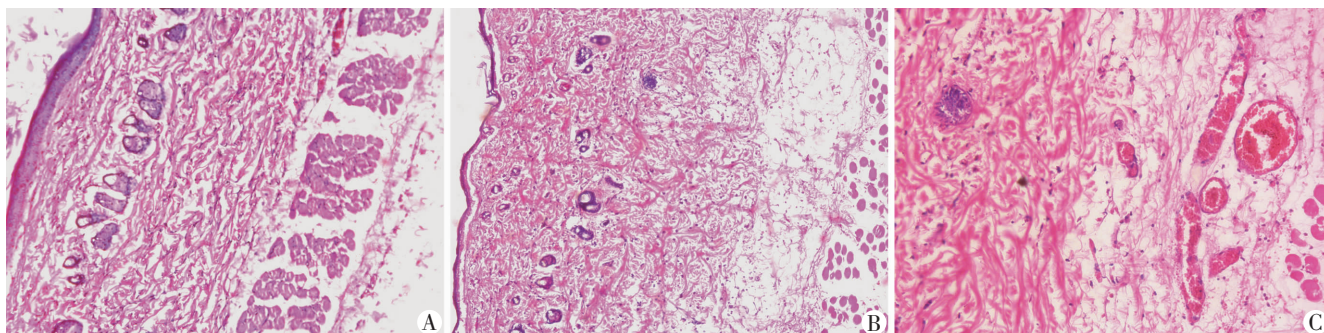
a: $P < 0.01$,与辐照前皮肤温度比较

2.2 毫米波辐照后局部皮肤组织形态学改变

肉眼观察对照组脱毛大鼠背部皮肤为淡红色、质软。辐照组大鼠皮肤表面均未见水泡,随辐照时间的延长,皮肤颜色渐变为潮红、青灰、黑灰色,质地变硬。辐照处的皮肤高出正常皮肤表面,并出现较多微小鲜红出血点。皮肤 HE 染色镜下观察,对照组表皮层、真皮层和皮下组织未见明显充血、水肿、炎症等改变;毫米波辐照 30 s 后可见真皮浅层胶原排列紊乱、变性,真皮深层水肿、胶原疏松、血管扩张充血、出血、炎细胞浸润等(图 1);毫米波辐照 1 min 后可见毛囊空泡化,真皮组织胶原排列紊乱、断裂、变性、致密化、血管充血出血等(图 2);毫米波辐照 3 min 后可见表皮变性坏死,毛囊空泡化,真皮胶原玻璃样变性、致密化(图 3)。

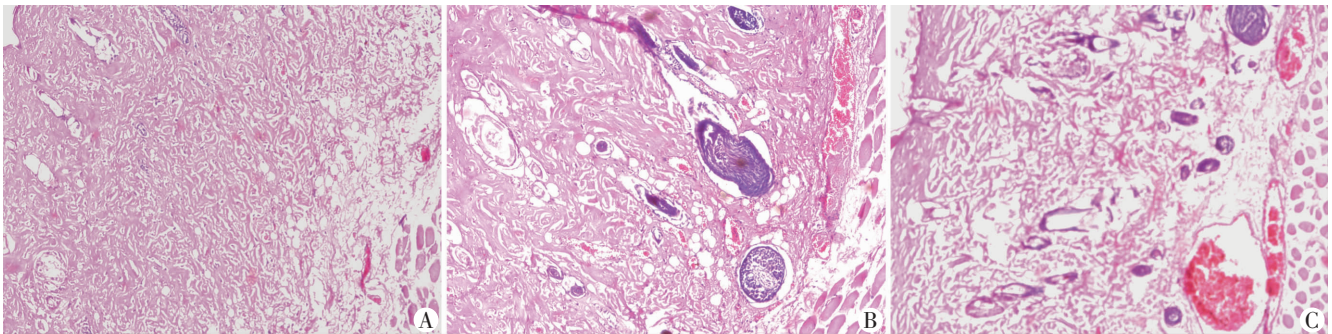
2.3 毫米波辐照后局部皮肤组织中 P 物质含量的变化

由表 2 可知,毫米波辐照 30 s 组和 1 min 组辐照后 0 min,大鼠皮肤 P 物质含量较对照组未见明显变化($P > 0.05$),辐照后 5 min 和 10 min,SP 含量较对照组明显增加($P < 0.05$),辐照后 1 h 皮肤 SP 含量较对照组无明显变化($P > 0.05$)。毫米波辐照 3 min 组辐照后 0 min,大鼠皮肤 SP 含量较对照组明显增加($P < 0.05$),辐照后 5 min 和 10 min,与对照组相比,SP 含量增加非常显著($P < 0.01$)。总观 3 个辐照组皮肤 SP 含量的变化,最大值均出现在辐照后 5 min,并且有一定的剂量-效应关系。

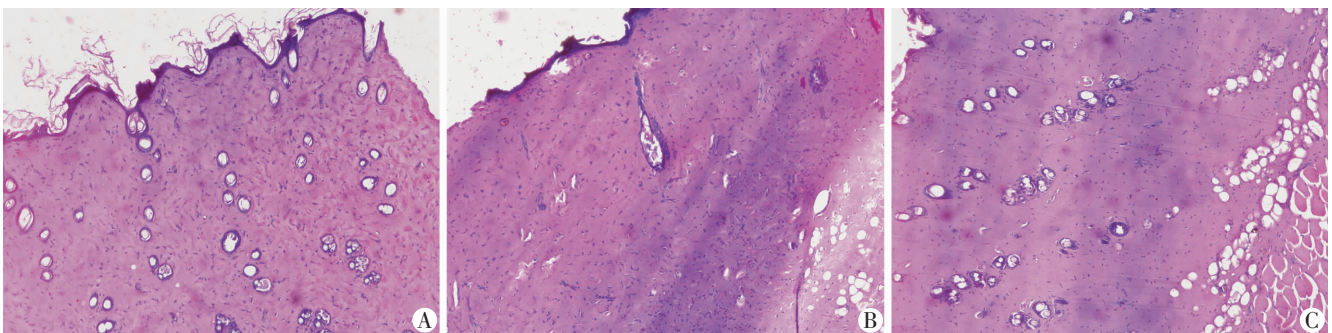


A: 对照组(×100);B: 毫米波辐照后 6 h(×100);C: 毫米波辐照后 24 h(×200)

图 1 HE 染色观察对照组和毫米波辐照 30 s 组大鼠局部皮肤典型病理改变



A:毫米波辐照后1 h;B:毫米波辐照后3 h;C:毫米波辐照后24 h
图2 毫米波辐照1 min组大鼠局部皮肤典型病理改变 (HE ×100)



A:毫米波辐照后1 h;B:毫米波辐照后3 h;D:毫米波辐照后24 h
图3 毫米波辐照3 min组大鼠局部皮肤典型病理改变 (HE ×100)

表2 毫米波辐照不同时间大鼠局部皮肤组织中P物质含量的变化 (pg/mg, n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	辐照后0 min	辐照后5 min	辐照后10 min	辐照后1 h
对照组	18.76 ± 1.89	18.76 ± 1.89	18.76 ± 1.89	18.76 ± 1.89
辐照30 s组	19.51 ± 0.42	26.30 ± 5.20 ^a	25.23 ± 3.12 ^a	18.28 ± 1.01
辐照1 min组	20.83 ± 1.56	28.76 ± 1.79 ^b	25.46 ± 3.85 ^a	20.68 ± 1.60
辐照3 min组	22.93 ± 1.46 ^a	36.63 ± 6.88 ^b	33.74 ± 3.37 ^b	21.13 ± 1.51

a; $P < 0.05$, b; $P < 0.01$, 与对照组比较

3 讨论

频率为35 GHz的毫米波辐照生物组织的透射深度为0.8 mm,因此仅皮肤的表皮和真皮层能够吸收^[11]。Millenbaugh等^[12]研究发现,75 mW/cm² 35 GHz和94 GHz毫米波辐照30 s大鼠皮肤温度增值分别约为6℃和9℃,辐照60 s大鼠皮肤温度增值分别约为8℃和10℃;90 mW/cm² 35 GHz和94 GHz毫米波辐照30 s大鼠皮肤温度增值分别约为9℃和13℃,辐照60 s大鼠皮肤温度增值分别约为11℃和15℃,表明在同等条件下毫米波频率越高或功率密度越高,其热效应越明显。我们研究发现40 W/cm² 35 GHz毫米波辐照30 s大鼠皮肤温度增值约为16.7℃,辐照60 s

大鼠皮肤温度增值约为25.6℃,辐照180 s大鼠皮肤温度增值约为33.2℃,也提示在同等条件下毫米波功率密度越高或辐照时间越长其热效应越明显。进一步分析发现,辐照0~30 s其温度增值速率约为0.56℃/s,辐照30~60 s其温度增值速率约为0.30℃/s,辐照60~180 s其温度增值速率约为0.06℃/s,表明毫米波辐照初期(前30 s)温度增值速率最大,随着辐照时间的延长,温度增值速率逐渐降低,逐渐达到一平台期。Walters等^[7]研究认为,毫米波(94 GHz)辐照致人体皮肤产生刺痛的温度阈值为(43.9 ± 0.7)℃。我们研究发现,毫米波辐照30 s,大鼠皮肤温度平均达到48.36℃,按照上述温度增值速率(0.56℃/s)推算,大约在辐照20~22 s左右大鼠皮肤温度就可达到刺痛阈值43.9℃,产生刺痛效应。另外我们在实验中也观察到毫米波辐照从20 s左右开始,SD大鼠烦躁不安、嘶叫等行为反应非常明显。提示在本实验条件下毫米波辐照可引起明显的痛觉效应。

毫米波对生物组织的损伤效应与其热效应有关。Donald等^[13]发现功率密度为75 mW/cm²的毫米波辐照大鼠皮肤40 min可产生明显损伤而功率密度为1 W/cm²毫米波辐照10 s皮肤未见明显组织学改变。

Millenbaugh 等^[14] 研究发现 35 GHz 功率密度为 75 mW/cm² 毫米波辐照可致 SD 大鼠皮肤真皮基质细胞变性坏死,真皮下小血管扩张,血管内有中性粒细胞聚集等改变。本实验发现,毫米波辐照 30 s 后 1 h 出现中度水肿,表明已造成皮肤组织形态学改变。随辐照时间延长,皮肤组织形态学改变逐渐加重,与皮肤温度的上升存在明显的相关性,可引起真皮层中度和充血,胶原坏死后致密化,导致局部皮肤变硬,使皮肤屏障保护功能部分或全部丧失。

P 物质(Substance P, SP) 是一种多肽,广泛分布于中枢神经系统和周围神经系统及其某些非神经组织^[15]。皮肤内伤害性感受器兴奋,引起皮肤神经感觉纤维末端释放 P 物质,伤害性传入冲动传至神经纤维末梢分叉处时,可传至另一末梢分支,使之释放 P 物质,后者可使缓激肽、5-HT 和组织胺释放增多,由此继发地兴奋相邻的伤害性感受器以产生痛觉过敏和伤害性刺激停止后仍有痛感存在和持续现象。本研究发 现,毫米波辐照后即刻未见 SP 显著升高,而辐照后 5 min 和 10 min SP 含量明显升高,可能是 SP 少量释放后引起更多的 SP 的释放的缘故。SP 不仅能够把疼痛由外周神经传入脊髓神经和高级中枢神经,同时 SP 是强效组胺释放剂,可通过产生或不产生组胺方式使皮肤变红、水肿。另外 SP 还能刺激巨噬细胞和肥大细胞释放促炎细胞因子参与炎症反应^[16]。本研究发 现毫米波辐照后炎症反应不明显,可能由于毫米波产生的高能量使局部皮肤胶原变性坏死后致密化,使炎症因子释放不明显有关。SP 作为一种致痛物质,在毫米波致痛和致组织损伤过程中起重要作用,值得进一步深入研究。

参考文献:

[1] Radzievsky A A, Gordiienko O V, Alekseev S, *et al.* Electromagnetic millimeter wave induced hypoalgesia: frequency dependence and involvement of endogenous opioids[J]. *Bioelectromagnetics*, 2008, 29 (4): 284 - 295.
[2] Rojavin M A, Cowan A, Radzievsky A A, *et al.* Antipruritic effect of millimeter waves in mice: evidence for opioid involvement [J]. *Life Sci*, 1998, 63(13): PL251 - PL257.
[3] Logani M K, Bhanushali A, Anga A, *et al.* Combined millimeter wave

and cyclophosphamide therapy of an experimental murine melanoma [J]. *Bioelectromagnetics*, 2004, 25(7): 516 - 523.
[4] 李旭红,唐劲天,廖遇平,等. 毫米波治疗颈部急性放射性皮炎的疗效[J]. *中国肿瘤临床*, 2008, 35(6): 317 - 318, 322.
[5] Makar V R, Logani M K, Bhanushali A, *et al.* Effect of Cyclophosphamide and 61.22 GHz millimeter waves on T-Cell, B-Cell, and macrophage functions [J]. *Bioelectromagnetics*, 2006, 27(6): 458 - 466.
[6] 周许峰,张义平,殷嫦娥. 毫米波促进感染伤口愈合的疗效观察[J]. *山东医药*, 2010, 50(20): 24.
[7] Walters T J, Blick D W, Johnson L R, *et al.* Heating and pain sensation produced in human skin by millimeter waves: comparison to a simple thermal model[J]. *Health Phys*, 2000, 78(3): 259 - 267.
[8] Kojima M, Hanazawa M, Yamashiro Y, *et al.* Acute ocular injuries caused by 60-GHz millimeter-wave exposure[J]. *Health Phys*, 2009, 97(3): 212 - 218.
[9] 徐志伟,吴永红,袁广江,等. 高功率毫米波持续急性照射对小鼠行为变化和致死效应影响的初步研究[J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35(11): 1298 - 1301.
[10] 高艳,袁广江,李志慧,等. 高功率毫米波急性持续辐照对小鼠皮肤损伤的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35(11): 1306 - 1310.
[11] Blick D W, Adair E R, Hurt W D, *et al.* Thresholds of microwave-evoked warmth sensations in human skin [J]. *Bioelectromagnetics*, 1997, 18(6): 403 - 409.
[12] Millenbaugh N J, Kiel J L, Ryan K L, *et al.* Comparison of blood pressure and thermal responses in rats exposed to millimeter wave energy or environmental heat[J]. *Shock*, 2006, 25(6): 625 - 632.
[13] Stewart D A, Gowrishankar T R, Weaver J C. Skin heating and injury by prolonged millimeter-wave exposure: theory based on a skin model coupled to a whole body model and local biochemical release from cells at supraphysiologic temperatures[J]. *IEEE Trans Plasma sci*, 2006, 34(4 Pt 2): 1480 - 1493.
[14] Millenbaugh N J, Roth C, Sypniewska R, *et al.* Gene expression changes in the skin of rats induced by prolonged 35 GHz millimeter-wave exposure[J]. *Radiat Res*, 2008, 169(3): 288 - 300.
[15] Ribeiro-da-Silva A, Hokfelt T. Neuroanatomical localisation of substance P in the CNS and sensory neurons[J]. *Neuropeptides*, 2000, 34(5): 256 - 271.
[16] Wu Z Z, Guan B C, Li Z W, *et al.* Sustained potentiation by substance P of NMDA-activated current in rat primary sensory neurons [J]. *Brain Res*, 2004, 1010(1/2): 117 - 126.

(收稿:2012-06-05;修回:2012-07-23)

(编辑 吴培红)