不同波段电磁辐射致大鼠睾丸 支持细胞的损伤效应

吴 惠, 王德文, 王水明, 赵 黎, 左红艳, 高亚兵, 彭瑞云

军事医学科学院放射与辐射医学研究所实验病理学研究室,北京 100850

收稿日期: 2010-07-19; 接受日期: 2010-11-17

基金项目: 军队"十一五"科技重点攻关项目 (08G145),中国博士后科学基金资助项目 (20090451503) 通讯作者: 王德文,电话: (010)66931336, E-mail: wangdewen1938@yahoo.com.cn

摘要:为探讨不同波段电磁辐射对大鼠睾丸支持细胞(Sertoli细胞)损伤效应的异同,将原代培养的Sertoli细胞经场强 6×10⁴ V/m 的电磁脉冲(electromagnetic pulse, EMP)、平均功率密度为 100 mW/cm² 的 S-波段高功率微波(S-band high power microwave, S-HPM)和 X-波段高功率 微波(X-band high power microwave, X-HPM)辐射。流式细胞仪结果显示 3 种波段电磁辐射后,Sertoli细胞的晚期凋亡和坏死率增加;MTT 试验显示细胞代谢活性降低;光镜观察发现胞浆的颗粒增多且空泡变性;超微结构主要为线粒体肿胀、空化,内质网扩张。三者比较:总体 呈 EMP>X-HPM>S-HPM 的趋势,且辐射后 1 h 较重,随时间延长损伤逐渐减轻。表明 3 种波段的电磁辐射均可致 Sertoli细胞不同程度的损伤,且超宽谱波段的 EMP 效果最明显,微波波段则 与频率呈正相关。

关键词: 电磁辐射; Sertoli 细胞; 效应 中图分类号: Q684

引 言

随着科学技术的进步,电磁技术已经广泛应用于广播、电视、通信、导航、环境监测、 家用电器以及工农业生产、国防等领域。电磁技术在给人们带来极大利益、推动社会发展 的同时,也不可避免地造成环境污染及对人类健康的威胁^[1,2]。电磁辐射的生物效应及其机 制研究已成为目前生物电磁学的前沿课题^[3]。

电磁辐射包括电离辐射和非电离辐射,其中波长大于或等于红外线,且其光量子和电磁场强度较弱,不足以使分子离解的辐射线称为非电离辐射或狭义的电磁辐射,依据其频率或波长可划分为不同波段^[3]。近年来在军事上和部分工业中应用较多的是电磁脉冲(electromagnetic pulse, EMP)和高功率微波(high power microwave, HPM); 厘米波段的微波常以雷达波段划分为 P、L、S、C、X、Ku、K、Ka 波段,其中 S 波段高功率微波(S-band high power microwave, S-HPM)和 X 波段高功率微波(X-band high power microwave, X-HPM)的应用较为广泛。这些电磁波释放到周围,形成一个混频的电磁环

境^[3]。因此,揭示不同频段电磁辐射对机体健康的影响、作用机理及电磁辐射的卫生防护更 具有实际意义。

睾丸是电磁辐射敏感的靶器官之一^[4]。国内外实验研究发现,小鼠、大鼠、犬经微波局 部或全身照射后,其睾丸曲细精管内生精上皮变薄,各级生精细胞变性、凋亡/坏死、脱 落,其中精原细胞和精子损伤尤为明显^[56]。支持细胞(Sertoli细胞)不同程度变性,管腔 内精液稀疏,间质细胞也发生不同程度的损伤^[7];生精细胞损伤的超微结构表现为核膜皱褶 不平滑、滑面内质网和核膜间隙扩张、核质相互沟通并混淆,线粒体肿胀、扩张、空泡化, 最终细胞崩解^[6]。微波辐射后,异常精子数明显增多,表现为精子头部形态异常,核内出现 包涵体,核染色质明显浓缩不良;精子顶体边缘卷曲,电子密度降低,颗粒不对称分布而 偏向顶体帽的一侧,顶体膜破裂或缺失^[89]。微波辐射可致睾丸功能障碍,表现为性欲减退、 性功能异常、不育等。王桂珍等^[10]对 368 名接触微波作业男工的流行病学调查资料显示: 性欲减退的发生率随作业工龄的增长而升高,有明显的时间,反应关系,性功能异常率 (包括性欲减退、阳痿、早泄)也随日暴露时间延长而升高。

目前的研究表明,电磁辐射致睾丸生精细胞和精子的损伤比较明了,而 Sertoli 细胞由 于其自身形态结构的特点导致体内观察的限制,有关微波辐射后 Sertoli 细胞较系统的观察 报道较少。Sertoli 细胞是生精小管内唯一的体细胞,它在精子发生中发挥着重要作用^{III},系 统研究不同波段电磁辐射致 Sertoli 细胞的损伤效应,对于深入探讨电磁辐射致睾丸损伤效 应及机制具有重要意义。因此本研究拟在既往研究的基础上,采用电磁脉冲 (electromagnetic pulse, EMP)、X-波段高功率微波 (X-band high power microwave, X-HPM)和 S-波段高功率微波 (S-band high power microwave, S-HPM)模拟源辐射原代 培养的 Sertoli 细胞,对不同波段电磁辐射致 Sertoli 细胞损伤效应的异同进行对比性探讨, 为深入探讨电磁辐射致睾丸损伤的效应和机制提供新的思路和靶点。

材料与方法

实验动物

二级 Wistar 大鼠,健康雄性,3周龄。由军事医学科学院实验动物中心提供。操作按 实验动物相关法规进行。

材料和仪器

DMEM-F12、胎牛血清购自美国 Gibco 公司; L- 谷氨酰胺、MTT 试剂购自美国 Amersco 公司; 胶原酶、透明质酸酶、胰蛋白酶购自美国 Sigma 公司; Annexin V 凋亡检测 试剂盒购自北京宝赛生物技术公司; FACSC 型流式细胞仪 (flow cytometry, FCM) 购自美国 BIO-RAD 公司。

原代大鼠 Sertoli 细胞培养及辐射

培养方法参照文献¹²¹并做适当修改。简言之,正常3周龄雄性 Wistar 大鼠,经颈椎脱 臼法处死。去膜的睾丸置于0.5 mg/mL 的胶原酶溶液中,边搅拌边孵育15 min 以分离间质 细胞,自然沉淀后吸出上清。将上述沉淀物洗涤一次,加入0.5 mg/mL 的胶原酶溶液,在 室温下孵育 15 min, 孵育同时进行搅拌, 然后自然沉淀, 吸出上清, 将沉淀洗涤两次以去 除管周的肌样细胞。将上述沉淀悬浮在 1 mg/mL 的透明质酸酶溶液中继续孵育 20 min, 并 伴随着搅动。最后将消化后的细胞团离心,洗涤一次, 接种在 60 mm 的培养皿中, 在 DMEM-F12 (包含 10% FBS、100 U/mL 青霉素, 100 µg/mL 链霉素) 培养基中, 32℃培养 72 h。用吸管吹打, 除去黏附在 Sertoli 细胞上的生精细胞。经 WT1 (Wilms' tumor nuclear protein 1) 免疫荧光染色, 鉴定 Sertoli 细胞纯度为 95%以上。Sertoli 细胞随机分为假辐射 组和辐射组, 辐照组设 EMP 组、S-HPM 组和 X-HPM 组。EMP 源采用国防科技大学理学 院与本院联合设计的高场强 EMP 模拟源; S 波段微波源采用本院自建的高功率微波 (high power microwave, HPM) 模拟源; X 波段微波源采用天津市渤海无线电厂生产的 351 雷达 机。 EMP 组场 强 6×10⁴ V/m, 作用 4 min; S-HPM 和 X-HPM 平均 功率密度均为 100 mW/cm², 照射时间均为 4 min。对照组置相同环境下假辐射。

Sertoli 细胞凋亡和坏死的检测

于辐照后 1、24 和 48 h 收集细胞 (1×10⁶ /mL),按 Annexin-V 细胞凋亡检测试剂盒 (购自北京宝赛生物技术公司)说明书操作。简言之:Sertoli 细胞用 0.02% EDTA 消化, 1000 r/min 离心 10 min 收集细胞 (1×10⁶ /mL), PBS 离心洗涤两次;将细胞悬浮于 200 μ l 结合缓冲液;加入 10 μ l Annexin-V-FITC 和 5 μ l PI,轻轻混匀,避光室温反应 15 min 或 4℃反应 30 min;加入 300 μ l 结合缓冲液后,应用 FACSC 型流式细胞仪进行检测及分析。

MTT 法测定 Sertoli 细胞代谢活性

Sertoli 细胞培养在 96 孔板中,向培养物中加入含 0.05 mg/mL 的 MTT, 37℃ 继续培养 4 h。吸净培养基后,每孔加入 150 µl DMSO,约 10 min 后,用波长为 570 nm 酶标仪测定 吸光度。实验重复 3 次,数据代表 3 次实验的平均值。

倒置显微镜观察

应用 Olympus IX70 型倒置显微镜观察对照组及各辐射组 Sertoli 细胞辐照后 1、6、12、24、48 和 72 h 的形态改变。每次计数 200 个细胞,计算损伤细胞的百分比。数据代表 3 次 实验的平均值。

细胞电镜样本的制作

收集照射后1h的Sertoli细胞 (1×10⁶/mL),迅速放入3%戊二醛中固定2h,1%锇酸 后固定,梯度乙醇脱水,丙酮过渡,Epon812树脂包埋,超薄切片厚70nm,铅铀染色。应 用Philip-CM120型透射电镜观察并照像。

统计学分析

数据由 \bar{x} 表示;采用 SPSS 11.0 统计学软件,进行 One-way 方差分析, P<0.05 认为 统计学差异显著。

结 果

三种波段电磁辐射后 Sertoli 细胞凋亡和坏死的变化

我们收集了 3 种波段电磁辐射后 1、24 和 48 h 的细胞,应用 FCM 检测了 Sertoli 细胞 调亡和坏死的变化。结果显示辐照后细胞的晚期凋亡和坏死率增加。照后 1 h,各组与对照 组相比,Sertoli 细胞的晚期凋亡和坏死率均增加,差异具有统计学意义 (*P*<0.01),组间比 较显示 EMP>X-HPM>S-HPM,且差异具有统计学意义 (*P*<0.05)。照后 24 h,各实验组 细胞的凋亡率与对照组相比均增加 (*P*<0.05),组间比较无显著性差异;48 h,各组细胞的 凋亡率与对照组均无显著差异 (*P*>0.05)。见图 1。



图 1 三种波段电磁辐射后 Sertoli 细胞晚期凋亡和坏死变化 (A) Sertoli 细胞凋亡和坏死变化的流式图。左下象 限代表活细胞,右下象限代表早期凋亡细胞,右上象限代表晚期凋亡细胞和坏死细胞,左上象限代表细胞碎片。 (B) 晚期凋亡和坏死的 Sertoli 细胞的定量分析。辐射后 1 和 24 h, 各组与对照组相比晚期凋亡和坏死细胞的数目 显著增加 (P < 0.01); 48 h 无明显差异。在辐射后 1 h, 组间比较差异有意义 (P < 0.05),即 EMP>X-HPM> S-HPM。数据以 \bar{x} 表示,代表 3 次实验的平均值。与对照组比较, **P < 0.01; 组间比较, *P < 0.05Fig.1 Changes of late apoptoic and necrotic Sertoli cells after exposed respectively by 100 mW/cm² S-HPM, X-HPM and 6×10⁴ V/m EMP (A) Flow cytometry with Annexin V-FITC+PI labeling was used after irradiation to elevate apoptosis. Left inferior quadrant represent live cells, lower right quadrant represent early

irradiation to elevate apoptosis. Left inferior quadrant represent live cells, lower right quadrant represent early apoptosis cells, right superior quadrant represent late apoptosis and necrotic cells, left superior quadrant represent cell debris. (B) Quantitative analysis on the number of late apoptotic and necrotic Sertoli cells. The number of late apoptotic and necrotic Sertoli cells was increased significantly in three groups compared with control at 1 and 24 h (P<0.01), no significant difference was seen at 48 h. Significant difference was also found in three groups compared mutually at 1 h (P<0.05), that is EMP>X-HPM>S-HPM. Data are $\bar{x}\pm s$ of three assays, **P<0.01 for comparison with control, #P<0.05 for comparison with three groups mutually

三种波段电磁辐射后, Sertoli 细胞活力的变化

3 种波段辐射后, Sertoli 细胞活力的观察结果如图 2 所示, 辐照后 1 h, 各组 OD 值均 高于对照组,其中 EMP 和 X-HPM 组与对照组相比差异具有统计学意义 (*P*<0.05)。6 h 以 后,细胞的 OD 值均呈降低趋势,其中 6 和 24 h 的 EMP 组 OD 值与对照组差异显著 (*P*< 0.05)。辐射后 48 h, EMP 和 X-HPM 组 OD 值与对照组相比差异具有统计学意义 (*P*<0.05, *P*<0.01)。各组间 OD 值无明显统计学差异 (*P*>0.05)。



图 2 MTT 法检测 3 种波段电磁辐射后 Sertoli 细胞的活力变化 辐射后 6 和 24 h, EMP 组 Sertoli 细胞的 *OD* 值降 低 (*P*<0.05); 48 h, EMP 组和 X-HPM 组降低显著 (*P*<0.05), 组间差别无明显统计学意义。数据以 x±s 表示, 代表 3 次实验的平均值。与对照组比较, **P*<0.05

Fig.2 Metabolic activity of Sertoli cells was assessed by MTT test after exposed respectively by S-HPM, X-HPM and EMP The general metabolic activity of Sertoli cells in EMP group were decrease significantly at 6 and 24 h (P < 0.05), and at 48 h after irradiation, the metabolic activity in EMP and X-HPM were decreased significantly compared with control (P < 0.05), but there were no significant differences among the three experimental groups. Data are $\bar{x}\pm s$ of three assays, *P < 0.05 for comparison with control

EMP、X-HPM 和 S-HPM 辐射后 Sertoli 细胞光镜所见

分离 3 周龄 Wistar 大鼠的 Sertoli 细胞, 经 EMP、X-HPM 和 S-HPM 辐射后,在倒置显 微镜下观察辐射后 1、6、12、24、48 和 72 h Sertoli 细胞形态结构的变化。3 种波段电磁辐 射后均可见 Sertoli 细胞胞浆内颗粒增多,部分细胞胞浆内可见空泡; 核膜增厚,核仁增粗 (图 3A)。计数结果显示,辐射后 1、6、12、24、48 h 各组损伤细胞的数目明显高于对照组



图 3 三种波段电磁辐射后 Sertoli 细胞的形态改变 (A) 3 种波段电磁辐射后 Sertoli 细胞形态改变的光镜照片。辐射后的各组细胞 胞浆内可见颗粒增多 (Δ),少数细胞的胞浆见空泡变性 (Δ)。Bar=20 µm。(B) 受损细胞的定量分析。辐射后 1、6、12、24、 48 h,各组损伤细胞的数目明显高于对照组 (P<0.05, P<0.01);在 72 h,仅见 EMP 组损伤细胞数明显高于对照组 (P<0.05)。三者 比较,EMP 组和 X-HPM 组损伤细胞的数目高于 S-HPM 组 (P<0.05),而 X-HPM 组与 S-HPM 组间差别不显著。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,代表 3 次实验的平均值。与对照组比较, P<0.05, P<0.01;组间比较, P<0.05

Fig.3 Morphology changes of Sertoli cells after radiated by S-HPM, X-HPM and EMP (A) Representative images with light microscope of Sertoli cells after radiated by S-HPM, X-HPM and EMP. Granular (\triangle) and vacuolar degeneration (\bigwedge_{T}) were seen in the cytoplasm of irradiated Sertoli cells. Bar=20 µm. (B) Quantitative analysis on the number of impaired Sertoli cells after radiation. The total number of impaired Sertoli cells were increased significantly in 1, 6, 12, 24, 48 h compared with control (P < 0.01); At 72 h, the number of impaired cells in EMP were increased compared with control (P < 0.05). Among the three experimental groups, impaired cells in EMP group and X-HPM group were significantly higher than in S-HPM group (P < 0.05), no significant difference was seen in EMP group and X-HPM group. Data are $\bar{x}\pm s$ of three assays, *P < 0.05, *P < 0.01 for comparison with three groups mutually

(*P*<0.05, *P*<0.01)。三者比较, EMP 组和 X-HPM 组损伤细胞的数目高于 S-HPM 组 (*P*<0.05), 而 X-HPM 组与 S-HPM 组间差别不显著。在 72 h, 仅见 EMP 组损伤细胞数明显高于对照组 (*P*<0.05)。且呈现辐射后 1 h 损伤细胞数目最多、随后逐渐降低的趋势。3 种波段之间比较为: EMP>X-HPM>S-HPM (图 3B)。

三种波段电磁辐射后 Sertoli 细胞超微结构的变化

我们收集了辐射后 1 h 的细胞,对其超微结构进行了观察。在正常的 Sertoli 细胞内可 见大量滑面内质网和少数粗面内质网,大量的线粒体和溶酶体,丰富的高尔基体,核膜皱 褶,1~2个核仁(图 4A)。3种波段电磁辐射后,可见核染色质凝聚、边集。线粒体肿胀、 空化,滑面内质网不同程度的扩张,并可见胞浆内的次级溶酶体(图 4B~D)。上述病变呈 现 EMP>X-HPM>S-HPM 的趋势(图 4B-D)。



图 4 三种波段电磁辐射后 1 h Sertoli 细胞超微结构的变化 (A) 对照组; (B) S-HPM 组; (C) X-HPM 组; (D) EMP 组。可见染色质凝聚、边集,呈调亡改变,线粒体肿胀、空化,内质网扩张,并可见胞浆内的次级溶酶体。病变程度由轻到重依次为 S-HPM<X-HPM<EMP

Fig.4 Ultrastructural changes of Sertoli cells exposed with three bands of electromagnetic radiation at 1 h (A) Control; (B) S-HPM; (C) X-HPM; (D) EMP. The main changes are chromatin coagulating and moving to nucleus membrane even apoptosis formation, mitochondria swelling and vacuolating, endoplasmic reticular dilating. The changes degree showed an attenuating trend in the radiation groups as EMP>X-HPM>S-HPM

讨 论

生殖系统是电磁辐射敏感的靶系统之一。电磁辐射对人类生殖的危害,不仅关系着家庭和社会的安宁,也涉及人类未来,对电磁辐射致睾丸损伤效应及其机制的探讨成为电磁辐射生物学效应的研究热点之一。本研究室和国内外的众多研究表明,电磁辐射可致生精细胞变性、坏死、脱落¹⁶,然而尚缺少不同波段电磁辐射致 Sertoli 细胞损伤的报道。

Sertoli 细胞是生精小管内唯一的体细胞,它对镶嵌其间的各期生精细胞起支持和营养 作用。Sertoli 细胞可吞噬精子形成过程中脱落的残余胞质和凋亡的生精细胞,以维持内环 境的平衡^[13,14];还可参与构成血-睾屏障,形成并维持有利于精子发生的微环境^[11]。此外, Sertoli 细胞还能合成雄激素结合蛋白 (ABP),以保持生精小管内雄激素的水平,促进精子 发生^[15]。Sertoli 细胞可表达白介素 -1 (interleukin 1, IL-1)、白介素 6 (interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α, TNFα)等细胞因子,产生的细胞因子可 通过局部调节和/或信号转导等途径,直接或间接影响精子发生^[16]。鉴于 Sertoli 细胞在精子 发生过程中的重要作用,有必要研究电磁辐射后 Sertoli 细胞的损伤情况及对精子发生的影 响。因此,本研究系统探讨了电磁辐射后体外原代分离培养的大鼠 Sertoli 细胞的损伤特点。 鉴于近年来 EMP 和厘米波段的 S-HPM 和 X-HPM 的应用较为广泛,比较研究 EMP、 S-HPM、X-HPM 3 种不同波段电磁波辐射的生物学效应特点更贴近实际,对其采取防诊治 措施也更具有现实意义。因此本研究采用 EMP、X-HPM 和 S-HPM 模拟源辐射细胞,探讨 了不同波段电磁辐射致 Sertoli 细胞的损伤效应,拟为电磁辐射致睾丸损伤的机制研究及防 护提供新的思路和策略。

3 种波段电磁辐射后, Sertoli 细胞的凋亡、坏死及代谢活性的研究结果显示, Sertoli 细胞的晚期凋亡和坏死率增加, 而细胞活力随照后时间的延长而逐渐降低。光镜结果显示细胞的颗粒增多和空泡变性。超微结构损伤以线粒体和内质网的改变为主,并可见胞浆内的次级溶酶体, 核内染色质凝聚、边集, 呈早期凋亡改变。考虑光镜所见的颗粒为电镜中所见的自噬溶酶体, 而胞浆的空泡为线粒体和内质网扩张所致。上述这些结果提示, EMP、 X-HPM和 S-HPM 辐射均可致 Sertoli 细胞的变性、凋亡 / 坏死改变, 导致 Sertoli 细胞的损伤。

此外,我们对 3 种波段电磁辐射后 Sertoli 细胞的光镜观察发现,辐射后 72 h, EMP 组 损伤细胞数明显高于对照组,对各时间点的观察发现,辐射后 1 h,损伤细胞数目最多,随 后逐渐降低;超微结构显示 EMP 辐射后细胞损伤最重,X-HPM 次之,S-HPM 最轻;流式 细胞仪结果显示辐照后 1 和 24 h,Sertoli 细胞的凋亡率增加具有统计学差异,以EMP 和 X-HPM 组更明显。而 48 h 各组细胞的凋亡率与对照组均无显著差异;MTT 结果显示,6 和 24 h 的 EMP 组 OD 值与对照组差异显著,而辐射后 48 h,EMP 和 X-HPM 组 OD 值与对照 组相比差异具有统计学意义。这些结果表明,3 种波段电磁辐射致 Sertoli 细胞的损伤程度 存在差异,总体呈现 EMP>X-HPM>S-HPM 的趋势,即属于超宽谱波段的 EMP 最严重, 微波波段则显示与其频率呈正相关的趋势。对各时间点的动态观察结果显示,呈现照后 1 h 最重、随后逐渐减轻的趋势。值得一提的是,MTT 检测结果显示,辐射后 1 h 细胞的增殖 活力增高而不是降低,可能是电磁辐射引起细胞的反应性增生,是否还有其他原因,尚有 待于进一步探讨。

已有研究表明,胞内 Ca²⁺ 明显增加可能是微波辐射致细胞凋亡与坏死的重要机制之 一^[17]。本研究室以往的研究也表明,100 mW/cm² 的 S-HPM 可引起培养的 Sertoli 细胞生长 抑制及凋亡与坏死增加,胞内 Ca²⁺ 升高是其损伤的重要机制^[18]。除探讨引起 Sertoli 自身损 伤的机制外,电磁辐射致 Sertoli 细胞的损伤会对精子发生产生何种影响呢?研究表明, Sertoli 细胞经 γ射线照射后细胞因子 IL-6 的表达增高^[19]。环境中的有害化学物质,如邻苯 二甲酸单 -2- 乙基己酯 [mono-(2-ethylhexyl)phthalate, MEHP],可增强 Sertoli 细胞 FasL 的 表达,通过与生精细胞的 Fas 结合,引发生精细胞凋亡^[20]。电磁辐射引起 Sertoli 细胞的损 伤,是否导致一系列分子、蛋白的表达变化,进而对生精细胞的凋亡,或对 X、Y 精子的 发生产生影响呢?有关这方面的研究我们正在深入探讨。

综上,本文较系统研究了3种波段电磁辐射致 Sertoli 细胞损伤的效应,为揭示电磁辐射致睾丸损伤效应及其机制的探讨提供了新的有益补充。

参考文献:

- Roosli M, Rapp R, Braun-Fahrlander C. Radio and microwave frequency radiation and health — An analysis of the literature. *Gesundheitswesen*, 2003, 65(6): 378~392
- Hocking B. Microwave sickness: a reappraisal. Occup Med (Lond), 2001, 51(1): 66~69
- 王德文,彭瑞云. 电磁辐射的损伤与防护. 中华劳动卫生职业 病杂志, 2003, 21(5): 321~322
 Wang DW, Peng RY. Injury and protection of electromagnetic radiation. *Chin J Ind Hyg Occup Dis*, 2003, 21(5): 321~322
- Wdowiak A, Wdowiak L, Wiktor H. Evaluation of the effect of using mobile phones on male fertility. *Ann Agric Environ Med*, 2007, 14(1): 169~172
- Varma MN, Traboulay EA. Biological effects of microwave radiation on the testes of swiss mice. *Experientia*, 1975, 1(3): 301~302
- 王水明,王德文,彭瑞云. 电磁脉冲辐射对小鼠睾丸组织结构 的影响. *军事医学科学院院刊*, 2003, 27(2): 118~120 Wang SM, Wand DW, Peng RY. Effect of electromagnetic pulse on mouse testis. *Bull Acad Mil Med Sci*, 2003, 27(2): 118~120
- 郭国祯,郭 鹞. 微波局部辐照小鼠睾丸对睾丸、附睾及精子的 形态学影响. 生物医学工程学杂志, 1994, 11(4): 286~290
 Guo GZ, Guo Y. Morphology changes of mouse testis, epididymis and spermatozoa after microwave radiation partly. J Biomed Eng, 1994, 11(4): 286~290
- Margonato V, Nicolini P, Conti R, Zecca L, Veicsteinas A, Cerretelli P. Biologic effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats: II. 50 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 1995, 16(6): 343~355
- Narra VR, Howell RW, Goddu SM. Effects of a 1.5-Tesla static magnetic field on spermatogenesis and embryogenesis in mice. *Invest Radiol*, 1996, 31 (9):

586~590

- 王桂珍,王海燕,狄妙香. 微波和高频辐射对男工生殖机能的 影响. *内蒙古医学杂志*,2001, 33(6): 564~565
 Wang GZ, Wang HY, Di MX. Effect of microwave and high frequency radiation on generation function of male worker. *Inn Mong Med J*, 2001, 33(6): 564~565
- Wong CH, Cheng CY. The blood-testis barrier: Its biology, regulation, and physiological role in spermatogenesis. *Curr Top Dev Biol*, 2005, 71: 263~296
- Cheng CY, Mather JP, Byer AL, Bardin CW. Identification of hormonally responsive proteins in primary Sertoli cell culture medium by anion-exchange high performance liquid chromatography. *Endocrinology*, 1986, 118(2): 480~488
- Miething A. Germ-cell death during prespermatogenesis in the testis of the golden hamster. *Cell Tissue Res*, 1992, 267(3): 583~590
- Pineau C, Le Magueresse B, Courtens JL, Jegou B. Study in vitro of the phagocytic function of Sertoli cells in the rat. *Cell Tissue Res*, 1991, 264(3): 589~598
- Xiong X, Wang A, Liu G, Liu H, Wang C, Xia T, Chen X, Yang K. Effects of p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene on the expressions of transferrin and androgen-binding protein in rat Sertoli cells. *Environ Res*, 2006, 101(3): 334~339
- Guazzone VA, Jacobo P, Theas MS, Lustig L. Cytokines and chemokines in testicular inflammation: A brief review. *Microsc Res Tech*, 2009, 72(8): 620~628
- Santella L. The role of calcium in the cell cycle: Facts and hypotheses. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 244(2): 317 - 324
- 高晓芳, 王水明, 彭瑞云, 王丽峰, 左红艳, 高亚兵, 董霁, 董波. 微 波辐射对原代培养睾丸支持细胞的影响. 中华劳动卫生职业病 杂志, 2009, 27(9): 530~533
 Gao XF, Wang SM, Peng RY, Wang LF, Zuo HY, Gao

YB, Dong J, Dong B. Effect of microwave radiation on primary cultured Sertoli cells. *Chin J Ind Hyg Occup Dis*, 2009, 27(9): 530~533

 Brouazin-Jousseaume V, Guitton N, Legu F, Chenal C. GSH level and IL-6 production increased in Sertoli cells and astrocytes after gamma irradiation. *Anticancer Res*, 2002, 22(1A): 257~262

20. Yao PL, Lin YC, Sawhney P, Richburg JH. Transcriptional regulation of fasL expression and participation of sTNF- α in response to Sertoli cell injury. *J Biol Chem*, 2007, 282(8): 5420~5431

The Damaging Effects of Different Bands Electromagnetic Radiation on The Rat Sertoli Cells

WU Hui, WANG Dewen, WANG Shuiming, ZHAO Li, ZUO Hongyan, GAO Yabing, PENG Ruiyun

Department of Experimental Pathology, Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China

This work was supported by grants from The Major Military Basic Research Program of China (08G145) and China Postdoctoral Sciences Foundation Funded Project (20090451503) Received: Jul 19, 2010 Accepted: Nov 17, 2010

Corresponding author: WANG Dewen, Tel: +86(10)66931336, E-mail: wangdewen1938@yahoo.com.cn

Abstract: To investigate comparatively the damaging effects of EMP (electromagnetic pulse), S-HPM (S-band high power microwave) and X-HPM (X-band high power microwave) on rat Sertoli cells. Primary Sertoli cells were isolated from 3-wk-old Wistar rats, and exposed to EMP, S-HPM and X-HPM respectively. After radiation by the three bands electromagnetic radiation respectively, the number of late apoptotic and necrotic Sertoli cells was increased significantly in three groups examined by flow cytometry; The general metabolic activity of Sertoli cells in EMP group were decrease significantly after irradiation analyzed by MTT test; The total number of impaired Sertoli cells were increased significantly observed by light microscope. Granular degeneration and vacuolar degeneration were seen in the cytoplasm. Ultrastructural changes: mitochondria swelling and vacuolating, endoplasmic reticular various degree dilating (particularly in S-ER) and ribosome-scaling in R-ER and so on. Three bands of electromagnetic radiation could induce different injury effects in rat Sertoli cells. The degree of injury effects varied according to different microwaves. The rank as follows: EMP>X-HPM>S-HPM.

Key Words: Electromagnetic radiation; Sertoli cells; Effect