

1800 MHz 电磁辐射暴露对大鼠海马 GFAP 表达的“窗口效应”

徐晓霜¹⁾, 熊庆²⁾, 张媛³⁾, 武慧欣¹⁾, 和丽梅¹⁾, 木云珍¹⁾

(1)昆明医科大学公共卫生学院, 云南昆明 650500; 2)云南省疾病预防控制中心环境卫生所, 云南昆明 650500; 3)昆明医科大学生物医学工程研究院, 云南昆明 650500)

[摘要] 目的 在 1800 MHz 电磁波照射下, 研究电磁波功率密度对 SD 大鼠海马胶原纤维酸性蛋白(GFAP) 表达的影响, 以及是否具有“窗口效应”。方法 将 98 只 4 周龄 SPF 级 SD 大鼠随机分为 14 个组, 每组 7 只, 7 组暴露组(频率: 1800 MHz, 功率密度: 0.1 mW/cm²、0.3 mW/cm²、0.5 mW/cm²、0.7 mW/cm²、0.9 mW/cm²、1.0 mW/cm²、1.2 mW/cm²)和 7 组对照组(功率密度: 0 mW/cm²), 每天暴露 12 h, 持续 3 周。暴露结束后, 采用 Western Blot 检测海马组织的 GFAP 表达水平, 免疫组化法测定海马组织中 DG、CA3 和 CA1 区域的 GFAP 阳性表达产物平均光密度(MOD)值, 以确定在 1800 MHz 暴露下的 SD 大鼠海马中 GFAP 表达的功率密度窗口。结果 在 0.1 mW/cm² 和 0.3 mW/cm² 功率密度下, Western Blot 结果表明, 可增加大鼠海马 GFAP 表达量($P < 0.05$)以及免疫组化染色显示可增加 3 个区域 GFAP 的 MOD 值($P < 0.05$)。结论 长时间暴露于 1800 MHz 电磁辐射对 SD 大鼠海马 DG 区、CA3 区和 CA1 区的 GFAP 表达有影响具有“窗口效应”, 强度窗口的功率密度为 0.1 mW/cm² 和 0.3 mW/cm²。

[关键词] 电磁辐射; 神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP); 窗口效应; 1800 MHz

[中图分类号] R594.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)03-0030-05

The “Window Effect” Study on the Effect of 1800 MHz Electromagnetic Radiation Irradiation on GFAP Expression in the Hippocampus of Rats

XU Xiaoshuang¹⁾, XIONG Qing²⁾, ZHANG Yuan³⁾, WU Huixin¹⁾, HE Limei¹⁾, MU Yunzhen¹⁾

(1) School of Public Health, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500;

2) Environmental Health Center, Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming Yunnan 650500; 3) Biomedical Engineering Research Center,

Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of electromagnetic wave power density on the expression of glial fibrillary acidic protein(GFAP) in the hippocampus of SD rats under 1800 MHz electromagnetic wave irradiation, and whether it exhibits a “window effect”. **Methods** Ninety-eight 4-week-old SPF-grade SD rats were randomly divided into 14 groups, with 7 rats in each group. Seven groups were exposed groups (frequency: 1800 MHz, power densities: 0.1 mW/cm², 0.3 mW/cm², 0.5 mW/cm², 0.7 mW/cm², 0.9 mW/cm², 1.0 mW/cm², 1.2 mW/cm²) and corresponding 7 groups were control groups (power density: 0 mW/cm²). Exposure was conducted for 12 hours daily for 3 weeks. After exposure, Western Blot was used to detect the expression level of GFAP in the hippocampal tissue, and immunohistochemistry staining was performed to determine the average optical density(MOD) value of GFAP-positive expression products in the DG, CA3, and CA1 regions of the hippocampal

[收稿日期] 2023-03-20

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(202101AY070001-056)

[作者简介] 徐晓霜(1999~), 女, 重庆大足人, 在读硕士研究生, 主要从事公共卫生研究工作。熊庆与徐晓霜对本文有同等贡献。

[通信作者] 木云珍, E-mail: muyz98@163.com

tissue, to determine the power density window of GFAP expression in the hippocampus of SD rats under 1800 MHz exposure. **Results** At power densities of 0.1 mW/cm² and 0.3 mW/cm², Western Blot results showed increased expression of GFAP in the rat hippocampus ($P < 0.05$), and immunohistochemistry staining demonstrated increased MOD values of GFAP in the three regions ($P < 0.05$). **Conclusion** Long-term exposure to 1800 MHz electromagnetic radiation has a “window effect” on the expression of GFAP in the DG, CA3, and CA1 regions of the hippocampus in SD rats, with power density windows of 0.1 mW/cm² and 0.3 mW/cm².

[**Key words**] Electromagnetic wave; Glial fibrillary acidic protein(GFAP); The window effect; 1800 MHz

随着科技的发展,电磁相关产品越来越多,人们更加频繁的暴露于电磁辐射(electromagnetic radiation, EMR)中,尤其是用于通信的射频电磁场(RF-EMFs, 30 kHz-300 GHz),EMR可能引起的健康问题也逐渐被广泛关注,特别是对大脑的影响。大脑中的中枢神经系统被确定为最容易受到微波辐射的影响,海马体特别敏感^[1]。胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)是大脑组织中的成熟星形胶质细胞所特有的细胞骨架蛋白,它在维持中枢神经系统的生理功能和正常结构方面有极其重要的作用,GFAP的表达水平升高被认为中枢神经系统受损重要检测指标之一^[2]。电磁波生物学“窗口效应”是指只有特定功率密度的电磁辐射使生物体产生生物学效应^[3]。而EMR对人体系统的影响可能取决于辐射的频率、强度和功率,但影响GFAP的表达的辐射阈值并无清楚报道,本研究通过控制EMR的频率和强度,而改变功率密度,探究在1800 MHz电磁辐射暴露SD大鼠下,不同的功率密度海马组织中GFAP的表达。

1 材料与方法

1.1 动物分组及电磁辐射暴露

98只4周龄SPF级,雌雄各半的健康SD大鼠,采取完全随机方法分配7个对照组和7个暴露组,每组7只。动物电磁波暴露分7批进行,每批一个强度的暴露组(分别对应E0.1、E0.3、E0.5、E0.7、E0.9、E1.0、E1.2 7组,功率密度分别为0.1 mW/cm²、0.3 mW/cm²、0.5 mW/cm²、0.7 mW/cm²、0.9 mW/cm²、1.0 mW/cm²、1.2 mW/cm²)和每个暴露组对应一个对照组进行虚拟暴露(均为E0.0,功率密度为0 mW/cm²)。本研究通过昆明医科大学动物实验伦理审查(批号:kmmu-2020250)。

实验前使用Model7620微波辐射测试仪测定暴露室的本底强度。暴露时间每天固定

20:00~8:00,持续21 d,控制实验室物理环境条件。本实验设置采用盲法,暴露的强度由本项目负责人设置,动物电磁波暴露操作人员和GFAP表达测定人员以及统计分析人员均不知道动物暴露的分组和强度,待所有实验完成以及统计分析结束后揭盲。

1.2 暴露装置

参照德国电信公司,按照提供给德国国家环境与健康研究中心的毒理所的标准--欧洲数字式GSM移动通信暴露室而自制的暴露室。可对暴露装置设置产生频率为800~2400 MHz微波及不同的功率密度。

1.3 主要仪器设备和测定试剂

Model7620微波辐射测试仪(美国Narda公司),TES电场测试器(中国台湾泰仕电子工业有限公司),CM1900冰冻切片仪(德国莱卡公司),Nikon 90i电子摄影显微镜(日本尼康公司),Image Pro Plus6.0(IPP6.0)图像分析系统(美国Medical Cybernetics公司),Amersham Imager 680超灵敏多功能成像仪(美国GE Health公司),兔抗鼠GFAP多克隆抗体试剂(美国MILLIPORE公司),即用型山羊抗兔SP免疫组化试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)。实验前配置好浓度为4%的多聚甲醛溶液,蔗糖溶液,0.1 mol/L的磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)缓冲液,0.01 mol/L的磷酸缓冲盐溶液。

1.4 免疫组化测定大鼠海马组织GFAP

将暴露完成的大鼠用4%的戊巴比妥钠(0.0015 L/kg)腹腔麻醉,打开大鼠的胸腔后,经过左心室做主动脉插管延伸至升主动脉,以0.002 L/min速度灌注4%的多聚甲醛溶液30 min,对大鼠脑组织内固定。随后分离大鼠脑组织浸入4%的多聚甲醛溶液中,置于4℃冰箱后固定。将脑组织用梯度蔗糖溶液脱水,将海马组织从大鼠脑组织中剥离。最后在-20℃下用CM1900冰冻切片仪沿着海马组织长轴进行连续切片,每份切片的厚度均保持在20 μm,每只大鼠作20张

海马组织切片, 随机选取 3 张冰冻切片进行免疫组化链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶法(streptavidin-peroxidase method, SP 法)染色。在保证所有免疫组化法染色切片的背景吸光度值相同的情况下, 在 100 倍显微镜下随机选取海马 DG 区、CA3 区和 CA1 区, 每区选择 2 个视野在 400 倍下进行摄片。摄取后照片采用 IPP6.0 图文分析系统测定 GFAP 表达量的平均光密度(mean optical density, MOD)值表示, MOD 值越大, 表示摄片区域相关蛋白表达量越大, 每只动物在海马各区的 GFAP 表达量是摄取的合计 6 个视野 MOD 值的平均值。

1.5 Western Blot 测定大鼠海马组织 GFAP

各组的大鼠颈椎脱位后, 取海马组织加入 500 μ L RIPA 裂解液和 5 μ L 蛋白酶抑制剂, 利用超声破碎仪破碎海马组织 15~20 s, 随后以 12000 r/min 离心取上清液。通过 BCA 蛋白定量法测定蛋白含量, 将每组样品加入 5x 上样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 煮 15 min。取 5 μ L 裂解样品进行电泳分离, 之后将分离的蛋白湿转移至 PVDF 膜。快速封闭液在

常温下摇床封闭 10 min。随后, GFAP(1:1000)和 GAPDH(1:10000)一抗, 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育。二抗常温孵育 2 h。最后, 采用显色成像技术, 并使用 Image J 软件对成像结果进行灰度值量化分析。

1.6 统计学处理

用 SPSS 19.0 软件建立数据库并进行统计分析, GFAP 表达值 MOD 值用($\bar{x} \pm s$)表示。大鼠的性别比以及体重分别用 χ^2 检验和单因素方差分析进行统计分析。对照组和暴露组的 MOD 值和相对蛋白表达量用两独立样本 t 检验或完全随机设计两样本秩和检验, 检验水准为 0.05。

2 结果

2.1 实验大鼠的基本情况

7 批大鼠暴露期间无死亡, 无患病且无异常活动。暴露结束后动物大体解剖和心, 肝, 肺, 肾, 胰, 脾, 生殖系统, 大脑病理检查无异常。大鼠性别和体重, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 实验大鼠的基本情况 [$(\bar{x} \pm s)$, $n = 7$]

Tab. 1 Basic information of experimental rats [$(\bar{x} \pm s)$, $n = 7$]

分组		性别(雄/雌)	体重(g)	t	P
E0.1组	暴露组	4/3	228.19 \pm 32.48	-0.451	0.660
	对照组	3/4	236.60 \pm 37.10		
E0.3组	暴露组	4/3	224.61 \pm 19.45	-0.275	0.788
	对照组	3/4	227.78 \pm 23.52		
E0.5组	暴露组	4/3	239.47 \pm 31.19	0.214	0.834
	对照组	3/4	236.81 \pm 10.37		
E0.7组	暴露组	3/4	234.75 \pm 43.21	0.165	0.872
	对照组	4/3	231.02 \pm 41.27		
E0.9组	暴露组	3/4	237.83 \pm 41.29	0.147	0.885
	对照组	4/3	234.45 \pm 44.60		
E1.0组	暴露组	3/4	228.11 \pm 32.57	0.154	0.880
	对照组	4/3	225.21 \pm 37.54		
E1.2组	暴露组	3/4	231.93 \pm 29.53	-0.079	0.938
	对照组	4/3	233.23 \pm 31.63		

2.2 免疫组化检测 GFAP 在 SD 大鼠海马组织各区的表达

SD 大鼠海马组织冰冻切片进行免疫组化法染色, GFAP 在各个视野中均有表达, GFAP 阳性染色呈棕色, 星形胶质细胞纤维清晰可见,

呈现典型的“蜘蛛样”形态, 各组间均未见明显的阳性细胞形态和数量的变化, 见图 1。各组 MOD 值暴露组 E0.1 和 E0.3 的 3 个区 GFAP 表达的 MOD 值比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 2。

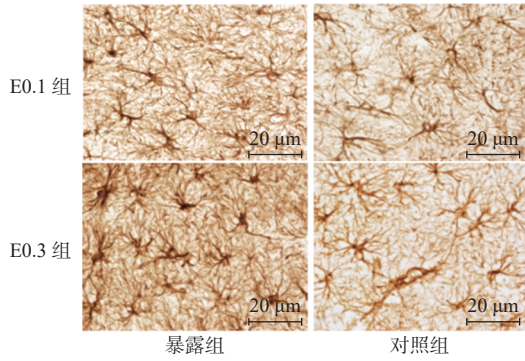


图1 GFAP在大鼠海马CA1区的表达(×400)

Fig. 1 Expression of GFAP in the CA1 region of the rat hippocampus.(×400)

2.3 GFAP 在 14 组大鼠的海马蛋白表达比较

和对照组相比, Western Blot 电泳检测 1800 MHz 对大鼠海马 GFAP 表达的影响。结果显示, 暴露组 E0.1 组和 E0.3 组海马组织中 GFAP

的表达显著高于对照组 ($P < 0.01$), 且 E0.1 组海马组织中 GFAP 的表达显著高于 E0.3 组, 见图 2。

3 讨论

RF-EMF 主要来源于电视信号的发射与接收、无线电通讯、广播等^[4]。手机和基站所发出的频率为 1800 MHz, 对人体组织稳态有长期、短期的影响, 尤其是对大鼠蛋白组成的影响^[5]。据报道基站的辐射功率密度为 0.6 mW/cm² 到 2.1 mW/cm²^[6], 其中 1800 MHz 的功率密度限值为 0.9 mW/cm²^[7]。本次所选择的 7 个暴露组的功率密度是基于以上综合考虑后的结果。在张盛庆宇、陈洁^[8-9]等, 研究中表示 1800 MHz 的电磁辐射后, 增加了大海马中的 GFAP 表达。现目前的研究

表 2 14 组大鼠海马 3 个区 GFAP 表达的 MOD 值($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Tab. 2 MOD values of GFAP expression in three areas of the hippocampus of rats in 14 groups($\bar{x} \pm s, n = 7$)

分组	DG区	Z	P	CA3区	Z	P	CA1区	Z	P
E0.1组	暴露组	0.1148 ± 0.0336	-6.192	0.1238 ± 0.0547	-5.868	< 0.001*	0.1207 ± 0.0556	-6.049	< 0.001*
	对照组	0.0293 ± 0.0096		0.0530 ± 0.0283			0.0364 ± 0.0095		
E0.3组	暴露组	0.1092 ± 0.0524	-5.272	0.1104 ± 0.0529	-5.780	< 0.001*	0.1070 ± 0.0579	-4.801	< 0.001*
	对照组	0.0305 ± 0.0157		0.0549 ± 0.0568			0.0306 ± 0.0169		
E0.5组	暴露组	0.0251 ± 0.0131	-1.667	0.0336 ± 0.0125	-1.066	0.145	0.0283 ± 0.0077	-0.279	0.391
	对照组	0.0312 ± 0.0272		0.0340 ± 0.0257			0.0337 ± 0.0274		
E0.7组	暴露组	0.0194 ± 0.0141	-0.939	0.0176 ± 0.0148	-0.787	0.431	0.0201 ± 0.0147	-1.235	0.108
	对照组	0.0146 ± 0.0087		0.0142 ± 0.0111			0.0153 ± 0.0103		
E0.9组	暴露组	0.0272 ± 0.0157	-0.873	0.0327 ± 0.0229	-0.854	0.197	0.0242 ± 0.0136	-0.931	0.176
	对照组	0.0232 ± 0.0411		0.0373 ± 0.0447			0.0282 ± 0.0385		
E1.0组	暴露组	0.0247 ± 0.0239	-1.376	0.0311 ± 0.0235	-1.809	0.070	0.0334 ± 0.0330	-1.755	0.080
	对照组	0.0170 ± 0.0081		0.0270 ± 0.0130			0.0217 ± 0.0087		
E1.2组	暴露组	0.0177 ± 0.0046	-0.130	0.0243 ± 0.0056	-0.872	0.192	0.0267 ± 0.0135	-1.512	0.065
	对照组	0.0196 ± 0.0072		0.0235 ± 0.0046			0.0276 ± 0.0079		

* $P < 0.05$ 。

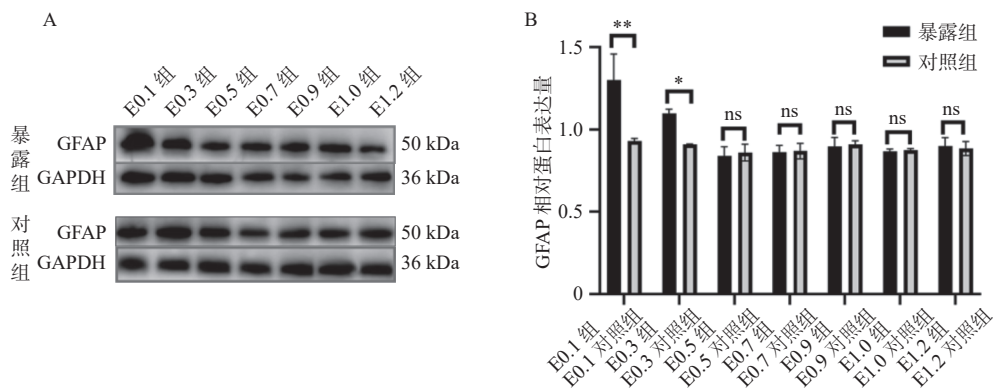


图 2 14 组大鼠海马 GFAP 蛋白表达表达结果

Fig. 2 Expression of GFAP protein in the hippocampus of rats in 14 groups

A: GFAP 蛋白表达量; B: GFAP 相对蛋白表达量。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

中表明 1800 MHz 的电磁辐射对 GFAP 的表达确实有影响, 但却未明确其辐射功率密度, 为了找到功率密度中的窗口, 本研究将辐射功率密度分为 7 个组, 目的是筛选出功率密度窗, 明确在多少功率密度下 1800 MHz 可对 GFAP 造成影响。

3.1 在 1800MHz 电磁波暴露对 GFAP 表达的影响是非线性的

动物实验研究表明, 在高功率密度射频辐射的实验条件下大鼠的记忆功能受影响, GFAP 的表达上升^[10]。杨美丽等^[11-13]学者的研究显示 850 ~ 1900 MHz 产前手机辐射会使大鼠后代 GFAP 表达上调。马卿鑫和张盛庆宇等^[3, 9]学者研究 1800 MHz 电磁波暴露对大鼠 GFAP 表达的影响, 两者的研究结果显示不同功率密度的电磁波暴露会使大鼠海马各区的 GFAP 表达发生改变, 表达下降或上升。本实验最终结果表明, 功率密度为 0.1 mW/cm² 和 0.3 mW/cm² 的电磁波暴露使大鼠海马各区 GFAP 表达出现上调, 其余功率密度对 GFAP 表达无明显影响。由此可知, 在该频率电磁辐射条件下产生的生物学效应是非线性的, 提示在 1800 MHz 下随着电磁波功率密度增加并不会产生更大的生物学效应。

3.2 1800 MHz 电磁波暴露对大鼠海马 GFAP 表达的影响具有“窗口效应”

现有研究表明手机的电磁辐射的功率密度对生物体的影响是有选择性的, 张媛, 刘松等^[14-15]与本研究相同装置产生的 1800 MHz 的电磁辐射, 辐射功率密度为 0.5 mW/cm² 和 1.0 mW/cm² 的 SD 大鼠出现心肌氧化应激反应, 可由此推, 相应的功率密度可能对大脑的海马也有一定影响。本次结果显示为 0.1 mW/cm² 和 0.3 mW/cm² 的暴露组与对照组相比, 大鼠海马各区 GFAP 表达出现上调, 根据密度窗的定义, 可将功率密度为 0.1 mW/cm² 和 0.3 mW/cm² 认定为 1800 MHz 电磁辐射暴露下 SD 大鼠海马组织的 GFAP 升高的功率密度窗。本研究为动物实验研究, 得到的结果有局限性, 能否将此种影响外推于人还需要更多流行病学研究证实。

[参考文献]

[1] Mumtaz S, Rana J N, Choi E H, et al. Microwave radiation and the brain: Mechanisms, current status, and future prospects[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16): 9288.
[2] Abdelhak A, Foschi M, Abu-Rumeileh S, et al. Blood

GFAP as an emerging biomarker in brain and spinal cord disorders[J]. *Nat Rev Neurol*, 2022, 18(3): 158-172.

- [3] 马卿鑫. 1800 MHz 电磁波暴露对大鼠海马 GFAP、NCAM 和 GABA 受体表达影响的窗效应研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2016.
[4] 杨红红, 左汶奇, 钟时勋. 手机电磁辐射对听觉系统影响的研究进展[J]. *中华耳科学杂志*, 2021, 19(2): 296-300.
[5] Hu C, Zuo H, Li Y. Effects of radiofrequency electromagnetic radiation on neurotransmitters in the brain[J]. *Front Public Health*, 2021, 9: 691880.
[6] 孙艳, 腾云飞, 杨新华. 电磁辐射的研究及其仿真平台的建立——移动通信基站的电磁辐射[J]. *大众科技*, 2005(9): 225-226.
[7] 武慧欣, 杜盼盼, 李志强, 等. 出生前 WiFi 和 1800 MHz 电磁辐射暴露对子代大鼠学习和记忆的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2020, 37(4): 308-311.
[8] 陈洁, 熊庆, 吴锡南, 等. 出生前后电磁波暴露对大鼠海马组织神经胶质纤维酸性蛋白表达的影响[J]. *中国工业医学杂志*, 2021, 34(3): 212-214+221+289.
[9] 张盛庆宇, 舒道, 吴锡南, 等. 1800 MHz 射频电磁场暴露对大鼠海马 GFAP、NCAM 和 GABA 受体表达的影响[J]. *昆明医科大学学报*, 2021, 42(9): 13-19.
[10] Barth é l é my A, Mouchard A, Bouji M, et al. Glial markers and emotional memory in rats following acute cerebral radiofrequency exposures[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2016, 23(24): 25343-25355.
[11] Akakin D, Tok OE, Anil D, et al. Electromagnetic waves from mobile phones may affect rat brain during development[J]. *Turk Neurosurg*, 2021, 31(3): 412-421.
[12] Riccitelli S, Di Paolo M, Ashley J, et al. The timecourses of functional, morphological, and molecular changes triggered by light exposure in sprague-dawley rat retinas[J]. *Cells*, 2021, 10(6): 176-185.
[13] 杨美丽, 洪姗燕, 黄红红, 等. 大鼠产前手机辐射对子代小脑白质的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(1): 77-82.
[14] 刘松, 武慧欣, 周浩, 等. 1800 MHz 电磁波对大鼠心肌氧化应激的影响[J]. *昆明医科大学学报*, 2014, 35(6): 9-11.
[15] 张媛, 武慧欣, 周浩, 等. 1800 MHz 电磁辐射对大鼠皮肤组织氧化应激的影响[J]. *昆明医科大学学报*, 2013, 34(5): 7-9.