

低功率密度微波辐射对小鼠学习记忆的影响

徐方剑, 王逸文, 陆寒烨, 孙浩, 高海馨, 万朋

摘要:

[目的] 观察低功率密度微波辐射对小鼠学习记忆能力的影响。

[方法] 将40只雄性昆明小鼠随机分成对照组及低、中、高3个微波辐射暴露组(500、1000、2000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$), 每组10只, 每天照射1h, 连续照射30d。照射30d后进行Y迷宫训练连续7d, 观察小鼠学习记忆能力变化; 取海马组织匀浆, 用高效液相色谱法观察海马组织中氨基酸含量的变化。

[结果] 观察学习能力的Y迷宫实验中, 与对照组(54.62 ± 3.13)s相比, 3个暴露组小鼠的逃避潜伏期[分别(76.24 ± 4.17)s、(95.36 ± 2.31)s、(117.01 ± 4.13)s]均有所延长($P < 0.05$); 中、高暴露组小鼠进入错误区域的次数[(7.24 ± 0.57)、(9.86 ± 0.28)次/min]也较对照组[(2.67 ± 0.38)次/min]增加($P < 0.05$); 微波辐射后海马组织中谷氨酸的质量分数减少, γ -氨基丁酸增加($P < 0.05$)。

[结论] 低功率密度微波辐射对小鼠的学习记忆能力有损害, 可能是通过 γ -氨基丁酸的增加和谷氨酸减少实现的。

关键词: 微波辐射; 学习记忆; 海马; 谷氨酸; γ -氨基丁酸

引用: 徐方剑, 王逸文, 陆寒烨, 等. 低功率密度微波辐射对小鼠学习记忆的影响[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(1): 76-78. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16325

Effects of low power density microwave radiation on learning and memory in mice XU Fang-jian, WANG Yi-wen, LU Han-ye, SUN Hao, GAO Hai-xin, WAN Peng (Department of Physiology, Jilin Medical College, Jilin, Jilin 132013, China). Address correspondence to WAN Peng, E-mail: wpeng_1980@163.com
· The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To observe the effects of low power density microwave radiation on learning and memory ability in mice.

[Methods] Forty male Kunming mice were exposed to low, middle, and high microwave radiation (500, 1000, and 2000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$), with 10 mice in each group, for consecutive 30 days (1 h/d). After microwave radiation, the learning and memory ability was observed by 7-day Y maze training. Mice hippocampi were dissected to detect the levels of amino acid by high performance liquid phase chromatography.

[Results] Compared with the control group [(54.62 ± 3.13) s], the three groups exposed to microwave radiation showed extended escape latency in Y maze training [(76.24 ± 4.17), (95.36 ± 2.31), and (117.01 ± 4.13) s, respectively] ($P < 0.05$). The middle [(7.24 ± 0.57) times/min] and high [(9.86 ± 0.28) times/min] microwave radiation exposed mice had higher frequencies in entering wrong areas ($P < 0.05$) than the control group [(2.67 ± 0.38) times/min]. Decreased glutamate and increased gamma aminobutyric acid after microwave radiation treatment ($P < 0.05$) were also recorded.

[Conclusion] The impairment induced by low power density microwave radiation on learning and memory ability in mice may be achieved through the increase of gamma aminobutyric acid and the decrease of glutamate in hippocampus.

Keywords: microwave radiation; learning and memory; hippocampus; glutamate acid; gamma aminobutyric acid

Citation: XU Fang-jian, WANG Yi-wen, LU Han-ye, et al. Effects of low power density microwave radiation on learning and memory in mice[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(1): 76-78. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16325

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 吉林省大学生创新训练项目(无编号); 吉林省科技厅科技攻关项目(编号: WL201301)

[作者简介] 徐方剑(1995—), 男, 本科生; 研究方向: 微波辐射防护; E-mail: 547192683@qq.com

[通信作者] 万朋, E-mail: wpeng_1980@163.com

[作者单位] 吉林医药学院生理学教研室, 吉林 吉林 132013

微波是电磁辐射波的一种,其频率为0.3~300 GHz,波长为1 mm~1 m。微波辐射为非电离电磁辐射,在分子水平上能诱发非热能吸收影响分子震动,或热能吸收影响分子加热^[1-2]。微波广泛应用于通信和医疗领域,中枢神经系统是微波辐射的敏感靶部位,长期接触微波的工作人员可能存在潜在的神经损伤和认知功能障碍^[3-4]。有报道发现微波辐射可对中枢神经系统造成严重影响,包括头疼、睡眠障碍、焦虑、认知功能障碍和神经发生障碍等^[5-6]。但长期低功率密度(即平均功率密度<10 mW/cm²)微波辐射对学习记忆的影响报道很少见,尤其对神经递质和调质的影响尚未见到报道。本实验在利用Y迷宫观察微波辐射对小鼠学习记忆能力影响的基础上,利用高效液相色谱法观察海马区神经递质质量分数(后称“含量”)的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用雄性昆明小鼠40只,适应性饲养1周,室温(20±2),相对湿度40%~60%,体重(20±2)g,由吉林大学动物实验中心提供。实验动物随机分为4组:微波辐射低、中、高暴露组(微波辐射功率密度分别为500、1000、2000 μW/cm²)和正常对照组。

1.2 主要试剂和仪器

甲醇(TEMIA,美国),水合氯醛(天津市大茂化学仪器供应站,中国),γ-氨基丁酸(GABA)、L-天冬氨酸和L-谷氨酸(Sigma,美国),HTEC-300型生物活性物质微量分析系统、EAS-20自动进样器、CA-50DS型高效液相分离柱(EICOM,日本);MY8C-1型微波功率(汇研微波系统工程有限公司,中国),频率为2450 MHz;YMT-100 Y迷宫(成都泰盟科技有限公司,中国)。

1.3 微波辐射模型的制备

微波辐照装置:微波信号发生器,出口天线为矩形喇叭天线,功率峰值2 MW。小鼠辐照时,将小鼠放置于30 cm×30 cm×15 cm(高)自制的有机玻璃盒中,上面带有多个通气孔的盖,不含金属物质,矩形喇叭天线置于被照小鼠的正上方,照射参考点为小鼠背部体表,微波方向与小鼠的长轴平行;微波照射1 h/d,连续照射30 d。对照组放置在微波辐射装置内,但不接受微波辐射,其他处理与暴露组相同,微波辐射实验室的反射基本为零。

1.4 Y迷宫检测

Y迷宫由3个相同的臂组成,分别称为区、

区、区,3个臂相交处为隔离区(0区)。迷宫底为铜棒,可以进行电刺激。3个臂顶端各装有15 W的信号灯。实验前先将小鼠放入迷宫,让其适应5 min,小鼠在起步区给予电击致其逃至安全区,灯光持续15 s,然后熄灯休息45 s,开始下一次操作。每次实验每只小鼠重复20次为一轮。实验在黑暗、安静的环境中进行。小鼠受到电刺激后10 s内一次性从起步区逃至安全区的反应称为正确反应,否则为错误反应。以连续10次电击中正确反应达9次或以上定为学会标准。达到学会标准所需的电击次数表示学习记忆成绩,电击次数少说明学习记忆能力强。Y迷宫实验训练为7 d,训练结束后,开始正式实验。主要观察小鼠对光照反应的时间,即逃避潜伏期;电击后小鼠进入另外两个区域,如果进入电击区,即进入错误区域的次数被记录。

1.5 海马组织内谷氨酸、GABA含量的测定

Y迷宫实验测试结束后,各组小鼠断头处死,冰上快速取出大脑,并迅速剥离一侧大脑皮质和海马组织,滤纸滤干准确称取海马组织的重量,并放入盛有脑组织质量9倍的4%生理盐水的组织匀浆管中,用匀浆器制备10%的组织匀浆,3000 r/min(离心半径13.5 cm),离心10 min,取上清液备用。将收集的样品注入高效液相色谱系统,测定谷氨酸、GABA的含量。

1.6 统计学方法

用SPSS 17.0对数据进行统计分析。所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用完全随机设计的单因素方差分析,各样本均数之间的多重比较采用独立样本LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 Y迷宫实验结果

Y迷宫测试结果显示,与对照组相比,微波辐射低、中、高暴露组小鼠的逃避潜伏期明显延长($P<0.05$);中、高暴露组小鼠进入错误区域的次数也增加($P<0.05$)。见表1。

表1 低功率微波辐射对小鼠学习记忆能力的影响

组别	<i>n</i>	逃避潜伏期(s)	进入错误区域的次数(次/min)
对照组	10	54.62±3.13	2.67±0.38
低暴露组	10	76.24±4.17*	4.23±0.46
中暴露组	10	95.36±2.31*	7.24±0.57*
高暴露组	10	117.01±4.13*#	9.86±0.28*#

[注]*:与对照组相比, $P<0.05$;#:与低暴露组相比, $P<0.05$ 。

2.2 不同功率密度微波辐射暴露对海马组织内谷氨酸、GABA 含量的影响

与对照组相比,3个微波辐射暴露组海马组织内谷氨酸减少,GABA的含量增加($P<0.05$)。见表2。

表2 低功率微波辐射对海马组织谷氨酸和GABA的影响
(ng/mg)

组别	n	谷氨酸	GABA
对照组	10	4.16 ± 0.23	1.25 ± 0.12
低暴露组	10	3.42 ± 0.51*	1.36 ± 0.27*
中暴露组	10	3.15 ± 0.26*	2.04 ± 0.11*#
高暴露组	10	2.81 ± 0.31*#	2.63 ± 0.18*#

[注]*:与对照组相比, $P<0.05$;#:与低暴露组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

外界环境可以影响大脑的高级功能即学习记忆能力,学习记忆的关键脑区是海马。谷氨酸可以通过其受体改变突触可塑性,从而影响学习记忆的功能。微波辐射最主要的影响是导致认知功能障碍^[7-8]。以前的研究主要集中在高功率微波辐射,而本研究是探索长期低功率微波辐射对学习记忆影响的神经化学机制。行为学实验广泛用于微波辐射对学习记忆影响的评估。本研究提示,30d低功率微波辐射影响小鼠的学习记忆功能,小鼠在Y迷宫实验中逃避潜伏期明显延长,进入错误区域的次数也增加,这些结果与其他报道一致^[9]。

脑内存在很多神经递质,主要分为两大类,即兴奋性氨基酸(以谷氨酸为代表)和抑制性氨基酸(以GABA为代表)。微波辐射对突触可塑性的影响,主要是通过兴奋性和抑制性神经递质的传递所介导^[10]。本研究发现30d微波辐射后,小鼠海马区神经递质发生了改变,出现了谷氨酸下降和GABA的升高,这可能与相关的代谢产物和递质平衡的紊乱有关。同时,实验结果提示微波辐射后海马区神经递质的改变与Y迷宫检测微波辐射对小鼠学习记忆能力的影响存在一致性。所以本研究认为微波辐射对学习记忆的损害可能是通过GABA的增加和谷氨酸的减少实现的。但长期低功率微波辐射是如何影响海马结构的,目前还不清楚,关于谷氨酸和GABA相关的受体是如何改变的,我们将进行下一步深入的研究。

参考文献

- [1] 万朋,高俊涛,刘志洋,等.微波辐射对学习记忆影响的研究进展[J].环境与职业医学,2015,32(10):983-986.
- [2] Lu Y, Xu S, He M, et al. Glucose administration attenuates spatial memory deficits induced by chronic low-power-density microwave exposure[J]. Physiol Behav, 2012, 106(5): 631-637.
- [3] Elwood JM. Microwaves in the cold war: the Moscow embassy study and its interpretation. Review of a retrospective cohort study[J]. Environ Health, 2012, 11: 85.
- [4] Zhao L, Peng R Y, Wang S M, et al. Relationship between cognition function and hippocampus structure after long-term microwave exposure[J]. Biomed Environ Sci, 2012, 25(2): 182-188.
- [5] Wang H, Peng R, Zhou H, et al. Impairment of long-term potentiation induction is essential for the disruption of spatial memory after microwave exposure[J]. Int J Radiat Biol, 2013, 89(12): 1100-1107.
- [6] Maaroufi K, Had-Aissouni L, Melon C, et al. Spatial learning, monoamines and oxidative stress in rats exposed to 900 MHz electromagnetic field in combination with iron overload[J]. Behav Brain Res, 2014, 258: 80-89.
- [7] Kesari K K, Kumar S, Behari J. Pathophysiology of microwave radiation: effect on rat brain[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2012, 166(2): 379-388.
- [8] Kesari K K, Siddiqui M H, Meena R, et al. Cell phone radiation exposure on brain and associated biological systems[J]. Indian J Exp Biol, 2013, 51(3): 187-200.
- [9] Wang H, Peng R, Zhao L, et al. The relationship between NMDA receptors and microwave-induced learning and memory impairment: a long-term observation on Wistar rats[J]. Int J Radiat Biol, 2015, 91(3): 262-269.
- [10] Qiao S, Peng R, Yan H, et al. Reduction of phosphorylated synapsin I(ser-553) leads to spatial memory impairment by attenuating GABA release after microwave exposure in Wistar rats[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95503.

(收稿日期:2016-04-29;录用日期:2016-09-12)

(英文编辑:汪源;编辑:丁瑾瑜;校对:王晓宇)