文章编号：1006-3617(2013)11-0818-04　　中图分类号：R114；R122.4　　文献标志码：A

【论著】

孕鼠1 800 MHz电磁波暴露对子代海马细胞凋亡的影响

张媛[1]，木云珍[2]，武慧欣[2]，吴锡南[3]

摘要：［目的］探讨孕期暴露1 800 MHz电磁波对子代大鼠海马细胞凋亡的影响。［方法］以7周龄无特定病原体（SPF）级SD大鼠24只（雌鼠16只、雄鼠8只），雌雄2∶1合笼。孕鼠随机分为0.5 mW/cm^{2}暴露组、对照1组；1.0 mW/cm^{2}暴露组、对照2组；暴露组采用1 800 MHz射频电磁波对大鼠于孕第0~20天进行连续21 d全身暴露，每天12 h，功率密度分别为0.5 mW/cm^{2}和1.0 mW/cm^2。各组于出生后第3周和第7周时，分别随机抽取8只仔鼠（雌雄各半）测定其海马细胞凋亡率。［结果］孕期暴露于密度为1 800 MHz 0.5 mW/cm^{2}的电磁波，3周龄仔鼠海马细胞凋亡率显著高于两对照组和1.0 mW/cm^{2}暴露组（$P<0.05$），1.0 mW/cm^{2}暴露组海马细胞凋亡率与两个对照组相比，差异无统计学意义（$P>0.05$）；7周龄仔鼠海马细胞凋亡率，0.5 mW/cm^{2}和1.0 mW/cm^{2}组均高于两个对照组（$P<0.05$），两个对照组相比差异无统计学意义（$P>0.05$）。［结论］大鼠孕期暴露于1 800 MHz功率密度为0.5 mW/cm^{2}和1.0 mW/cm^{2}的电磁波可致发育期和成年期子代大鼠海马细胞凋亡率升高。

关键词：电磁波；海马；细胞凋亡；大鼠

Effects of Prenatal Exposure to 1 800 MHz Electromagnetic Waves on Apoptosis in Hippocampus of Offspring Rats

ZHANG Yuan[1], *MU Yun-zhen*[2], *WU Hui-xin*[2], *WU Xi-nan*[3] (1.*Biomedical Engineering Research Center of Kunming Medical University*, *Yunnan* 650500, *China*; 2.*School of Public Health*, *Kunming Medical University*, *Yunnan* 650500, *China*; 3.*Graduate Department of Kunming Medical University*, *Yunnan* 650500, *China*). *Address correspondence to WU Xi-nan*, *E-mail*: *wuxinan2010@gmail.com*　*· The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.*

Abstract:［Objective］To study the effects of prenatal exposure to 1 800 MHz electromagnetic waves (EMWs) on apoptosis in hippocampus of offspring rats.［Methods］Twenty-four SPF graded SD rats (male-female ratio, 1 ∶ 2) at age of 7 weeks old were randomly divided into paired groups: EMWs exposure group at 0.5 mW/cm^2 and paired with control 1 group; EMWs exposure group at 1.0 mW/cm^2 and paired with control 2 group. The pregnant rats in the exposure groups were respectively and continuously irradiated with 1 800 MHz EMWs at a power density of 0.5 mW/cm^2 or 1.0 mW/cm^2 for 12 hours per day from day 0 to day 20 of pregnancy. Then 8 offspring rats (male-female ratio, 1 ∶ 1) were selected from each group at 3 and 7 weeks of age respectively to detect apoptosis rate in hippocampus.［Results］The prenatal exposure to 0.5 mW/cm^2 EMWs obviously increased apoptosis in hippocampus in the offspring rats at 3 weeks of age compared with the control groups and the 1.0 mW/cm^2 group ($P<0.05$). The prenatal exposure to 0.5 mW/cm^2 and 1.0 mW/cm^2 EMWs remarkably increased apoptosis in hippocampus in the offspring rats at 7 weeks of age ($P<0.05$).［Conclusion］Prenatal exposure to 1 800 MHz electromagnetic waves at power density of 0.5 mW/cm^2 and 1.0 mW/cm^2 may increase apoptosis in hippocampus in young and adult offspring rats.

Key Words: electromagnetic waves; hippocampus; apoptosis; rats

随着通讯事业的发展，手机的广泛使用，移动通信基站不断增多，人群暴露于移动电话产生的射频电磁场的时间和强度也不断增加，随之引起的健康问题备受瞩目。即使在不使用手机的情况下，孕妇还是难以避免接触到环境中的手机电磁辐射。而胚胎时期是细胞增殖分化最活跃的时期，尤其是神经系统发生、发育的关键时期，对外界的损伤因素非常敏感，对成年大鼠无明显损害的电磁辐射可能会对胎鼠产生严重损害[1]。DIVAN等[2]研究报道，母亲孕期使用移动电话以及出生后使用移动电话会导致幼儿出现行为困难，表现为情绪多变等。海马是哺乳动物参与学习记忆等高级神经活动的主要区域。据文献报道，应用物理或化学的方法定位损毁大鼠海马后，会明显引起学习记忆功能障碍[3]。研究表明，低功率密度射频辐

[基金项目]国家自然科学基金资助项目（编号：30771773）

[作者简介]张媛（1983—），女，硕士，助理实验师；研究方向：环境卫生学与职业卫生学；E-mail：yuanzi730@163.com

[通信作者]吴锡南教授，E-mail：wuxinan2010@gmail.com

[作者单位]1.昆明医科大学生物医学工程研究中心，云南 650050；2.昆明医科大学公共卫生学院，云南 650050；3.昆明医科大学研究生部，云南 650050

射可使实验动物的学习记忆能力下降[4-5]。因此，有必要进一步研究母体暴露在低功率密度射频辐射中对其子代学习记忆能力是否有影响。手机电磁波属于射频场范围，目前使用最广泛的全球移动通信系统（global system for mobile communications，GSM）和码分多址分组数据传输技术（code division multiple access，CDMA）的工作频率为1 800~1 900 MHz。本研究拟通过模拟手机及其基站辐射强度的低功率微波长时间连续照射妊娠期大鼠，观察其对子代大鼠不同时期（发育期和成年期）海马细胞凋亡的影响，探索低功率电磁辐射对大鼠海马的损伤效应。

1　材料与方法

1.1　实验设备

1.1.1　暴露系统及参数测定　设备源于德国国家环境与健康研究中心毒理所提供的标准欧洲数字式GSM移动通信暴露系统。采用惠普公司生产的射频信号发生装置8614A（Signal Generator 0.8~2.4 GHz）连接1个放大器（SCD Amplificateur Linear l.3~2.6 GHz，法国生产）产生1 800 MHz射频场，受试大鼠置于60 cm×40 cm×20 cm的有机玻璃盒中。使用美国Narda公司7620型微波辐射测试仪、美国惠普公司8592C频谱分析仪定期测定暴露参数。

1.1.2　试剂与仪器　采用MEBSTAIN Apoptosis TUNEL kit direct试剂盒（昆明医科大学第三附属医院流式细胞室）和美国贝克曼库尔特（Backman Coulter）公司流式细胞仪（Epic XL）对样品进行检测。

1.2　实验动物

7周龄无特定病原体（SPF）级SD大鼠24只，购自中国科学院上海动物研究中心，合格证号：SCXK（沪）2007-0005，240~280 g，雌鼠16只，雄鼠8只。暴露前，实验室环境适应性饲养一周，自由饮水进食。雌雄大鼠2∶1于每晚18:00时合笼，次日清晨对雌鼠进行阴道涂片，在电子显微镜下检查，见到精子则记为妊娠第0天，连续暴露20 d。于孕第0~21天进行全身暴露，每天照射12 h，连续21 d。暴露期间记录孕鼠体重和进食、饮水量，观察孕鼠每天的活动、有无阴道出血、流产等现象；暴露结束后记录孕鼠体重，观察孕鼠每天活动、哺乳情况。仔鼠从出生第0天开始，每3 d测量1次体重，每日上午观察皮毛、精神状态和活动情况。仔鼠在同一实验室由母鼠喂养至断乳，然后与母鼠分笼饲养至实验结束。

1.3　实验分组

1.3.1　孕鼠分组　按实验功率密度的不同，将16只孕鼠分为0.5 mW/cm^{2}组、对照1组；1.0 mW/cm^{2}组、对照2组。每组4只，分别置于1 800 MHz电磁场中进行全身暴露。暴露期间，孕鼠置于有机玻璃暴露箱中，可自由活动，饮水进食，温度、湿度等环境条件稳定，实验室射频场背景值频宽范围稳定。

1.3.2　仔鼠分组　将雌雄仔鼠随机编号，并于第3周和第7周，分别以0.5 mW/cm^{2}组、对照1组和1.0 mW/cm^{2}组、对照2组每8只为一组实验对象（雌雄各半）。

1.4　样品检测

于出生后第3周和第7周，将仔鼠断头取脑，取海马组织在冰生理盐水中漂洗，除去血液，滤纸拭干，称重。立刻在冰皿中迅速剥离一侧海马组织，剪碎研磨冲洗，置于离心管中15 100×g离心沉淀2 min，取上清液，按试剂盒说明书将细胞悬液进行标记。使用流式细胞仪检测分析样品海马细胞凋亡情况。

1.5　统计分析

采用SPSS 13.0统计软件包对检测数据进行分析处理，两组间比较采用两独立样本t检验，多组比较采用单因素方差分析，检验水准α=0.05。

2　结果

2.1　仔鼠出生时体重

暴露期间孕鼠无流产和阴道流血，无死胎。经方差分析，出生时各组雌、雄鼠体重差异均无统计学意义（P>0.05），见表1。

表1　雌、雄仔鼠出生时体重（$\bar{x}\pm s$）

Table 1　Birth weight and gender of offspring rats

分组 Group	雌鼠（Female）		雄鼠（Male）	
	动物数 Number	体重（g） Weight	动物数 Number	体重（g） Weight
对照1组（Control 1）	21	6.48 ± 0.42	22	6.84 ± 0.26
0.5 mW/cm^2	20	6.32 ± 0.58	28	6.59 ± 0.90
对照2组（Control 2）	11	6.67 ± 1.22	25	7.09 ± 1.27
1.0 mW/cm^2	29	6.43 ± .044	40	6.79 ± 0.77

2.2　仔鼠第3周和第7周体重及脑体比

经方差分析，第3周和第7周对照1组、0.5 mW/cm^{2}组和对照2组、1.0 mW/cm^{2}组仔鼠体重（$F_{3周}$=2.271，$F_{7周}$=2.654）、脑体比（$F_{3周}$=0.236，$F_{7周}$=0.139）差异均无统计学意义（P>0.05），见表2。

表 2　大鼠体重和脑体比（$\bar{x}\pm s$）

Table 2　Weight and brain-to-body weight ratio of rats

分组 Group	第 3 周（Third week）				第 7 周（Seventh week）			
	动物数 n	雌雄比 Femal-to-male ratio	体重（g） Weight	脑体比（%） Brain weight/body weight	动物数 n	雌雄比 Femal-to-male ratio	体重（g） Weight	脑体比（%） Brain weight/body weight
对照 1 组（Control 1）	8	4∶4	42.26 ± 3.00	2.10 ± 0.00	8	4∶4	258.81 ± 46.25	1.20 ± 0.00
0.5 mW/cm^2	8	4∶4	42.84 ± 2.81	2.13 ± 0.14	8	4∶4	258.84 ± 46.25	1.21 ± 0.01
对照 2 组（Control 2）	8	4∶4	41.44 ± 2.66	2.10 ± 0.01	8	4∶4	285.93 ± 36.25	1.29 ± 0.01
1.0 mW/cm^2	8	4∶4	41.38 ± 4.43	2.17 ± 0.21	8	4∶4	259.15 ± 20.08	1.16 ± 0.04

2.3　仔鼠第 3 周和第 7 周海马细胞凋亡率和坏死率

经方差分析，第 3 周仔鼠海马细胞凋亡率，0.5 mW/cm^2 组高于对照 1 组、对照 2 组、1.0 mW/cm^2 组，差异有统计学意义（F=19.064，P<0.05）。两对照组间差异无统计学意义（P>0.05），1.0 mW/cm^2 组与两对照组相比，差异无统计学意义（P>0.05）；各组间坏死率差异无统计学意义（F=1.761，P>0.05）。第 7 周仔鼠海马细胞凋亡率和坏死率，以 0.5 mW/cm^2、1.0 mW/cm^2 均高于两对照组，差异均有统计学意义（$F_{凋亡}$=9.219，P<0.05；$F_{坏死}$=50.37，P<0.05）；两对照组、0.5 mW/cm^2 与 1.0 mW/cm^2 组相比，差异均无统计学意义（P>0.05）。

表 3　仔鼠海马细胞凋亡率和坏死率（$\bar{x}\pm s$）

Table 3　Cell apoptosis and necrosis of hippocampus in offspring rats

分组 Group	第 3 周（Third week）			第 7 周（Seventh week）		
	动物数（n）	凋亡率（Apoptosis rate，%）	坏死率（Necrosis rate，%）	动物数（n）	凋亡率（Apoptosis rate，%）	坏死率（Necrosis rate，%）
对照 1 组（Control 1）	8	9.57 ± 4.16	1.00 ± 0.29	8	5.15 ± 1.41	0.68 ± 0.24
0.5 mW/cm^2	8	22.53 ± 4.28$^{*\#}$	0.98 ± 0.29	8	9.92 ± 3.07$^{*\#}$	1.43 ± 0.58$^{*\#}$
对照 2 组（Control 2）	8	10.20 ± 3.92	1.60 ± 0.83	8	4.86 ± 1.54	0.65 ± 0.23
1.0 mW/cm^2	8	11.20 ± 3.89$^{\triangle}$	1.27 ± 0.47	8	7.97 ± 2.26$^{*\#}$	1.18 ± 0.40$^{*\#}$

［注］*：与对照 1 组相比（Compared with the control 1 group），P<0.05；$^\#$：与对照 2 组相比（Compared with the control 2 group）；$^\triangle$：与 0.5 mW/cm^2 组相比（Compared with the 0.5 mW/cm^2 group），P<0.05。

3　讨论

细胞凋亡是细胞受到某种信号或某些因素刺激后的一种主动的细胞自杀性消亡过程。细胞增殖和细胞凋亡的动态平衡是维持有机体内稳态的一种重要方式。胚胎期是中枢神经系统发育最迅速，也是最易受到外来毒物损害的时期，在此时期如果由于各种因素的作用导致神经细胞异常，则必然会对中枢神经系统的正常发育和分化造成严重影响，将不可避免地引起神经系统功能受损。ODACI 和 DEL 等[6-7]研究发现，孕期暴露在 900 MHz 电磁场会导致颗粒细胞数量的减少，诱导神经细胞死亡或抑制胚胎发育过程中神经干细胞分化为神经元。国内研究也发现，900 MHz 电磁辐射孕期暴露会抑制仔鼠海马神经发育，进而损害子代认知功能[1]。在以往的研究中，发现孕期暴露 1 800 MHz 电磁辐射可使发育期和成年期仔鼠海马内神经生长因子含量、神经细胞黏附分子、胶质纤维酸性蛋白、γ-氨基丁酸受体在海马各区的表达发生改变[8-10]。说明大鼠孕期暴露于 1 800 MHz 电磁辐射将对发育期和成年仔鼠的大脑海马产生不良效应。而本次研究在相同的暴露条件下，使用流式细胞仪对海马细胞凋亡率进行检测，发现 0.5 mW/cm^2 强度的电磁波使发育期大鼠海马神经元凋亡率升高；0.5 mW/cm^2 和 1.0 mW/cm^2 强度的电磁波均可使成年大鼠海马神经元凋亡率升高。研究团队以往的实验中，海马功能性损伤大多单独出现在 1 800 MHz 0.5 mW/cm^2 或 1.0 mW/cm^2 强度的电磁波条件下，本次研究发现，孕鼠暴露于 1 800 MHz 0.5 mW/cm^2 和 1.0 mW/cm^2 强度的电磁波，均可使其子代成年大鼠海马神经元凋亡率升高，由此推断孕期暴露对仔鼠大脑海马有远期效应；大鼠海马细胞暴露于 1.0 mW/cm^2 强度的电磁波，发育期海马细胞凋亡率没有显著改变，而成年期出现凋亡率下降，据此认为该暴露强度电磁辐射孕期暴露对仔鼠海马的效应可能与暴露时间和暴露量的蓄积有关。结合早期对大脑海马超微结构的研究，在 1.0 mW/cm^2 强度下未发现有病理改变[11]，故推测该暴露条件对大鼠海马功能性效应早于病理损伤效应。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

（下转第 824 页）

[4]WAN X, ZHOU MG, TAO Z, et al. Epidemiologic application of verbal autopsy to investigate the high occurrence of cancer along Huai River Basin, China[J]. Popul Health Metr, 2011, 9: 37.

[5]殷俊.淮河流域的几十个“癌症村”[J].乡镇论坛, 2007(16): 22.

[6]陈万青, 赵平, 乔友林, 等. 2004—2005年全国第三次死因回顾抽样调查方法介绍[J].中国预防医学杂志, 2010, 44(5): 376-377.

[7]管永波.沙颍河某段流域污染现况及健康风险评价[D].郑州: 郑州大学, 2012.

[8]SU CC, LU JL, TSAI KY, et al. Reduction in arsenic intake from water has different impacts on lung cancer and bladder cancer in an arseniasis endemic area in Taiwan[J]. Cancer Causes Control, 2011, 22(1): 101-108.

[9]WANG M, XU YJ, PAN S, et al. Long-term heavy metal pollution and mortality in a Chinese population: an ecologic study[J]. Biol Trace Elem Res, 2011, 142(3): 362-379.

[10]GARCÍA-PÉREZ J, LÓPEZ-CIMA MF, PÉREZ-GÓMEZ B, et al. Mortality due to tumours of the digestive system in towns lying in the vicinity of metal production and processing installations[J]. Sci Total Enviro, 2010, 408(16): 3102-3112.

[11]余新华, 卢志坚.粤北某农村水污染与肿瘤死亡相关性研究[J].现代预防医学, 2005, 32(7): 742-743.

[12]陶庄. 淮河流域“癌症村”归因于水的疾病负担研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2010.

[13]俞顺章, 刘佩莉, 徐忠, 等.饮水与肝癌[J]. 肿瘤, 1986, 6(4): 149-152.

[14]穆丽娜, 周学富, 丁保国, 等.饮水与上消化道癌症的关系[J]. 中国慢性疾病预防与控制, 2004, 12(12): 244-247.

[15]李砚, 舒为群.微囊藻毒素对人群健康影响的流行病学研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(8): 730-733.

[16]陈坤, 焦登鳌, 沈永洲, 等.不同饮用水类型的若干癌症发病率研究[J]. 中国公共卫生学报, 1994, 13(3): 146-149.

(收稿日期: 2013-01-22)

(英文编审: 金克峙; 编辑: 张晶; 校对: 洪琪)

(上接第820页)

参考文献:

[1]方传勤, 高长越, 王景周, 等. 电磁辐射孕鼠对仔鼠神经发生和学习记忆影响研究[J]. 中国职业医学, 2011, 38(5): 381-383, 386.

[2]DIVAN HA, KHEIFETS L, OBEL C, et al. Prenatal and postnatal exposure to cell phone use and behavioral problems in children[J]. Epidemiology, 2008, 19(4): 523-529.

[3]黄晓科, 银晓勇, 黄艳秋, 等. 大鼠海马损毁与学习记忆研究进展[J].中国老年学杂志, 2012, 32(10): 2199-2201.

[4]田勇浩, 陈素, 郝冬梅, 等. 长期电磁辐射暴露对大鼠学习记忆能力的影响[J].环境与健康杂志, 2011, 28(12): 1059-1062.

[5]吴锡南, 程天民, 刘苹, 等. 出生前暴露1 800 MHz电磁场大鼠Morris迷宫测试[J].环境与健康杂志, 2003, 20(1): 10-12.

[6]ODACI E, BAS O, KAPLAN S. Effects of prenatal exposure to a 900MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats: a stereological and histopathological study[J]. Brain Res, 2008, 1238: 224-229.

[7]DEL VG, GIULIANI A, FERNANDEZA M, et al. Continuous exposure to 900 MHz GSM-modulated EMF alters morphological maturation of neural cells[J]. Neurosci Lett, 2009, 455(3): 173-177.

[8]木云珍, 张媛, 武慧欣, 等. 1 800 MHz电磁波出生前暴露对大鼠海马NCAM表达的影响[J]. 昆明医学院学报, 2011, 32(10): 4-9.

[9]木云珍, 张媛, 周浩, 等. 出生前暴露于1 800 MHz电磁波对大鼠海马胶原纤维酸性蛋白表达的影响[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(12): 1055-1058, 1145.

[10]赵丽娟, 张媛, 木云珍, 等. 妊娠期1 800 MHz电磁辐射暴露对仔鼠海马神经生长因子的影响[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(10): 851-853.

[11]张媛, 武慧欣, 李宏玲, 等. 1 800 MHz电磁波辐射出生前暴露对子代大鼠海马脑区超微结构的影响[J]. 环境与健康杂志, 2009, 26(9): 810-811.

(收稿日期: 2013-01-08)

(英文编审: 金克峙; 编辑: 张晶; 校对: 洪琪)