



5.8 GHz射频辐射对大鼠学习记忆和海马神经元突触可塑性的影响

芮刚, 刘力源, 林加金, 郭玲, 薛一哲, 来盼盼, 高鹏, 邢俊玲, 丁桂荣

引用本文:

芮刚, 刘力源, 林加金, 等. 5.8 GHz射频辐射对大鼠学习记忆和海马神经元突触可塑性的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2020, 40(6): 427-433.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.06.003>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

电离辐射对大鼠海马区神经发生及TrkA和TrkB表达的影响

The role of TrkA/TrkB in radiation-induced hippocampal neurogenesis impairment

中华放射医学与防护杂志. 2017, 37(4): 241-245 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2017.04.001>

氟对神经细胞迁移相关因子表达及空间学习记忆能力的影响

Expression of neuronal migration-related factors and the spatial learning and memory of rats prenatally exposed to tritiated water

中华放射医学与防护杂志. 2019, 39(12): 887-892 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2019.12.002>

低剂量电离辐射对大鼠海马新生神经元树突生长发育的抑制作用

The inhibiting effects of low dose radiation on dendritic growth of newborn neurons in rat hippocampus

中华放射医学与防护杂志. 2016, 36(4): 252-255 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2016.04.003>

低频脉冲磁场对大鼠海马血脑屏障通透性的影响

Effect of low-frequency pulsed magnetic field on blood-brain barrier permeability of rat hippocampus

中华放射医学与防护杂志. 2019, 39(6): 401-407 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2019.06.001>

丰富环境对辐射诱导小鼠认知障碍的保护作用及可能机制

The protective effect of environmental enrichment on radiation induced cognitive dysfunction and underlying mechanism

中华放射医学与防护杂志. 2018, 38(6): 401-406 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2018.06.001>

5098.2018.06.001

5.8 GHz 射频辐射对大鼠学习记忆和海马神经元突触可塑性的影响

芮刚 刘力源 林加金 郭玲 薛一哲 来盼盼 高鹏 邢俊玲 丁桂荣

特殊作业环境危害评估与防治教育部重点实验室 空军军医大学军事预防医学系辐射防护医学教研室, 西安 710032

通信作者: 丁桂荣, Email: dingzhao@fmmu.edu.cn

【摘要】 **目的** 探讨 5.8 GHz 射频辐射 (radiofrequency, RF) 暴露对大鼠学习记忆和海马神经元突触可塑性的影响, 为科学评价 5.8 GHz RF 的潜在健康危害提供理论和实验参考。**方法** 56 只健康成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠按随机数表法分为假暴露组 (Sham) 和射频暴露组 (RF), 每组 28 只, RF 组每天暴露 1 h, 连续暴露 15 d 或 30 d, 频率为 5.8 GHz, 全身比吸收率为 1.15 W/kg。采用 Morris 水迷宫检测大鼠学习记忆能力; Nissl 染色观察大鼠海马组织结构及神经元数量; Golgi 染色观察大鼠海马 CA1 区树突棘密度; Western blot 检测海马组织内突触后致密蛋白 PSD95、突触小泡蛋白 Synaptophysin 的水平; 液相色谱-质谱联用仪检测海马组织内神经递质含量。**结果** Morris 水迷宫实验中, RF 暴露 15 和 30 d, Sham 组与 RF 组大鼠的逃逸潜伏期、穿越平台次数、目标象限停留时间百分比及首次到达平台的潜伏期差异均无统计学意义 ($P>0.05$); Sham 组和 RF 组海马区组织结构与神经元数量、CA1 区树突棘密度 (顶树突棘密度: 15 d 分别为 5.10±0.20、4.89±0.24, 30 d 分别为 4.58±0.27、4.49±0.24; 基树突棘密度: 15 d 分别为 4.81±0.17、4.79±0.34, 30 d 分别为 4.20±0.27、4.22±0.17)、海马组织内 PSD95 及 Synaptophysin 表达水平及海马组织内多种神经递质含量均无明显变化 ($P>0.05$)。**结论** 本实验条件下的 5.8 GHz RF 暴露对雄性大鼠空间学习记忆及海马神经元突触可塑性无影响。

【关键词】 射频辐射; 学习记忆; 海马区; 突触可塑性

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.06.003

Effects of 5.8 GHz radiofrequency radiation on learning and memory along with synaptic plasticity of hippocampal neurons in rats

Rui Gang, Liu Liyuan, Lin Jiabin, Guo Ling, Xue Yizhe, Lai Panpan, Gao Peng, Xing Junling, Ding Guirong

Ministry of Education Key Laboratory of Hazard Assessment and Control in Special Operational Environment, Department of Radiation Protection Medicine, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: Ding Guirong, Email: dingzhao@fmmu.edu.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of 5.8 GHz radiofrequency (RF) radiation on learning and memory along with hippocampal synaptic plasticity in rats, in order to provide theoretical and experimental references for scientific evaluation of potential hazards of 5.8 GHz RF radiation. **Methods** A total of 56 healthy adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham exposure group ($n=28$) and RF exposure group ($n=28$). RF groups were exposed to 5.8 GHz RF for 1 h each day in 15 d or 30 d continuously, and the whole-body absorption rate was 1.15 W/kg. The learning and memory ability of rats was tested by Morris water maze (MWM). The hippocampal structure of rats was observed by Nissl stain. The density of dendritic spines in CA1 region of hippocampus was detected by Golgi stain. The expression of synaptic related protein (PSD95, Synaptophysin) in hippocampus was detected by Western blot. The level of hippocampal neurotransmitters was detected by liquid chromatography-mass spectrometry. **Results** In MWM experiments, at 15 d and 30 d after RF exposure, there was no statistically significant difference between sham group and RF group in the escape latency, frequency of crossing plateau, percentage of stay time in plateau quadrant and latency of first arrival to the plateau ($P>0.05$). Besides, the structure and the number of neurons in the hippocampus, the density of apical and basal dendritic spines of pyramidal neurons in the CA1 region (apical: 5.10±0.20, 4.89±0.24, 4.58±0.27, 4.49±

0.24, and basal: 4.81 ± 0.17 , 4.79 ± 0.34 , 4.20 ± 0.27 , 4.22 ± 0.17 , named as Sham 15 d group, RF 15 d group, Sham 30 d group, RF 30 d group, respectively), the expression of PSD95 and Synaptophysin and the level of multiple kinds of neurotransmitters in the hippocampus had no significant changes ($P > 0.05$). **Conclusions** In this study, 5.8 GHz RF radiation has no significant influence on the spatial learning and memory ability along with the synaptic plasticity of hippocampal neurons of rats.

【Key words】 Radiofrequency; Learning and memory; Hippocampus; Synaptic plasticity

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.06.003

射频辐射 (radiofrequency, RF) 是指频率在 100 kHz~300 GHz 的电磁辐射, 主要由无线通讯设备包括手机、Wi-Fi、雷达等产生。其中, 5.8 GHz 频段是开放的、较少被使用的公共无线频段, 其带宽高、干扰低。因此, 5.8 GHz 无线技术有望代替目前主流的 2.4 GHz 无线技术。我国现已将 5.8 GHz 频段作为点对点或点对多点扩频通信系统、高速无线局域网、宽带无线接入系统、蓝牙技术设备及车辆无线自动识别系统等无线电台站的共用频段。迄今为止, 5.8 GHz RF 是否引起神经行为尤其是学习记忆能力改变, 少见报道。为科学评价 5.8 GHz RF 的潜在健康危害提供理论和实验参考, 本研究探讨了 5.8 GHz RF 对大鼠学习记忆能力和海马神经元突触可塑性的影响。

材料与amp;方法

1. 动物分组和取材: 56 只健康成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠购自空军军医大学动物实验中心, 体重 (180 ± 3) g, 合格证号: XK (陕 2014-002)。实验前, 所有动物适应饲养环境 3 d。动物饲养在 (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 的恒温环境中, 湿度保持在 40%~70%, 保证每天 12 h 的光照并避免噪音, 饲养期间所有动物可自由摄食。所有实验均获得了空军军医大学伦理委员会的批准 (20170606)。大鼠用随机数表法分为假暴露组 (Sham) 和射频暴露组 (RF), 每组 28 只, 于暴露后不同时间点 (15 和 30 d) 进行实验, 每个时间点每组各 14 只。

2. 射频暴露系统及暴露参数: 本研究应用的射频暴露源由西北核技术研究所提供, 该装置由信号发生器、放大器和天线 3 部分组成。暴露组动物自由体位放置于距离信号源 3.3 m 处的有机玻璃盒内 ($26 \text{ cm} \times 8 \text{ cm} \times 7 \text{ cm}$, 各壁均有气孔)。暴露参数为: 频率 5.8 GHz, 平均功率密度 74.25 W/m^2 , 全身比吸收率 1.15 W/kg , 每天暴露 1 h, 连续暴露 15 或 30 d。Sham 组动物处理方式同 RF 组, 但无 RF 输出。

3. Morris 水迷宫实验: 每组 10 只大鼠分 2 批

在第 10~15 天及第 25~30 天进行 Morris 水迷宫实验, 第 10~14 天及第 25~29 天进行定向巡航训练, 第 15 及 30 天进行空间探索测试。实验时水温保持 (22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 水中倒入墨汁以避免大鼠观察水池底 (圆柱形水池直径 150 cm, 高 50 cm)。定向巡航训练期间, 逃生平台 (直径 12 cm) 位于水下 2 cm 处。连续训练 5 d, 每天 4 次, 每次选择不同象限的入水点将大鼠轻放入水中允许其自由探索 1 min; 空间探索测试期间, 撤去平台, 任其自由探索 1 min^[1]。实验期间录像对大鼠的定向巡航训练阶段的逃逸潜伏期, 空间探索测试阶段的首次到达平台潜伏期、穿越平台的次数以及平台所在象限停留时间百分比进行分析, 以观察其空间学习记忆能力。

4. Nissl 染色: 每组 3 只大鼠以 1% 戊巴比妥钠按 60 mg/kg 体重剂量腹腔注射麻醉, 生理盐水心脏灌注冲去残血, 4% 多聚甲醛快速灌注 10 min 后转为缓慢滴灌 20 min, 灌注结束后断头取脑, 4% 多聚甲醛 4°C 后固定过夜。次日修剪脑组织块、梯度乙醇脱水、石蜡包埋。用石蜡切片机 (德国 Leica 公司) 作大鼠海马区冠状切片, 切片厚度 $4 \mu\text{m}$ 。

Nissl 染色时, 生物透明剂透明后梯度乙醇复水后进行染色, 使用甲苯胺蓝法 Nissl 染色试剂盒 (北京 Solarbio 科技有限公司) 进行具体染色操作。中性树胶封片后避光干燥 24 h, 显微镜下 (德国 Leica 公司) 拍照观察海马区结构形态, 200 倍镜下检测每视野内 CA1 区及 DG 区神经元数量。

5. Golgi 染色: 每组 3 只大鼠腹腔麻醉后快速断头取脑, 脑组织置于提前 1 d 配置好的 Golgi 溶液 (A 液 : B 液 = 1 : 1) 中浸泡 2 周后, 更换 C 液浸泡 1 周。用冰冻切片机 (德国 Leica 公司) 作大鼠海马区冠状切片, 切片厚度 $150 \mu\text{m}$ 。切片干燥后去离子水清洗并用 Golgi 溶液 (D : E : 去离子水 = 1 : 1 : 2) 染色, 梯度乙醇脱水, 生物透明剂透明, 中性树胶封片。具体操作步骤参考 FD Rapid Golgi stain kit 说明书 (美国 FD Neurotech 公司)。

通风条件下避光干燥 24 h 后, 显微镜下 (日本 Olympus 公司) 拍照观察海马 CA1 区锥体神经元二级树突中段树突棘, 用 Fiji 分析树突棘密度 (个/10 μm)。

6. 蛋白质免疫印迹实验 (Western blot): 每组 3 只大鼠腹腔麻醉后快速断头取脑, 预冷的磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗, 冰上快速剥离海马组织。海马组织称重后按 1 g : 10 ml 加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的组织裂解液, 匀浆后离心 15 min (4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min, 离心半径 8.4 cm), 收集上清液。二辛可酸 (BCA) 法测定蛋白浓度后按 1 : 4 加入 5 \times 上样缓冲液, 100 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴 10 min, 冷却备用。制备聚丙烯酰胺凝胶后按 20 μg /孔等质量上样, 80 V 恒压电泳、250 mA 恒流转膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后, 兔抗 PSD95 (1 : 300, 英国 Abcam 公司)、鼠抗 Synaptophysin (1 : 1 000, 美国 Sigma 公司)、鼠抗 β -肌动蛋白 (1 : 5 000, 美国 CMCTAG 公司) 等一抗孵育过夜, 相应二抗室温孵育 2 h, 化学发光法发光并照相, Quantity One 分析条带灰度值。

7. 神经递质检测: 每组 5 只大鼠腹腔麻醉后快速断头取脑, 预冷的 PBS 冲洗, 冰上快速剥离海马组织。海马组织称重后按 1 g : 10 ml 加入预冷的甲酸乙腈溶液 (乙腈 : 甲酸 : 去离子水 = 1 : 9 : 9 000), 匀浆后离心 15 min (4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min, 离心半径 8.4 cm) 收集上清液。上清液经 0.22 μm 微孔膜过滤后, 液相色谱-质谱联用仪 (LC-MS) (美国 SCIEX 公司) 检测单胺类递质 (多巴胺、乙酰胆碱、去甲肾上腺素、5-羟色胺)、氨基酸类递质 (组氨酸、甘氨酸、谷氨酸、 γ -氨基丁酸、天冬氨酸)、肽类递质 (亮氨酸脑啡肽、蛋氨酸脑啡肽、普罗瑞林) 等。

8. 统计学处理: 采用 SPSS 20.0 进行数据统

计分析, 所有数据符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间均数比较采用两独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 大鼠学习记忆行为的变化: 由图 1 可见, Morris 水迷宫实验是评价大鼠空间学习记忆能力的一种常用方法。本研究结果显示, 在定向巡航阶段, 大鼠逃逸潜伏期随着训练时间的延长而缩短, 但各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。Sham 15 d 组、RF 15 d 组、Sham 30 d 组、RF 30 d 组在空间探索阶段, 各组大鼠穿过平台的次数 (3.60 \pm 0.52、3.50 \pm 0.62、3.40 \pm 0.45、3.10 \pm 0.64)、目标象限停留时间百分比 (27.07% \pm 1.58%、28.87% \pm 1.55%、29.83% \pm 2.54%、29.33% \pm 2.30%)、首次到达平台的潜伏期 [(9.02 \pm 1.68)、(8.38 \pm 0.76)、(8.40 \pm 1.76)、(9.38 \pm 1.37) s] 等指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示在本实验条件下, 5.8 GHz RF 暴露 15 及 30 d 不能引起大鼠空间学习记忆行为的明显改变。

2. 大脑海马形态结构的变化: Nissl 染色结果显示, 各组大鼠海马神经元均排列紧密, Nissl 体呈斑驳状, RF 暴露后, Sham 15 d 组、RF 15 d 组、Sham 30 d 组、RF 30 d 组每视野 CA1 区神经元数量分别为 148.67 \pm 12.44、133.00 \pm 8.29、138.00 \pm 6.36、140.00 \pm 3.18; 每视野 DG 区神经元数量分别为 308.00 \pm 17.03、302.33 \pm 21.42、296.00 \pm 8.89、291.33 \pm 4.91, 各组间海马 CA1 区及 DG 区神经元数量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示本实验条件下 5.8 GHz RF 暴露 15 及 30 d 不能引起大鼠海马形态结构及神经元数量的变化 (图 1)。

3. 大脑海马 CA1 区树突棘密度的变化: Golgi 染色结果显示, Sham 15 d 组、RF 15 d 组、Sham

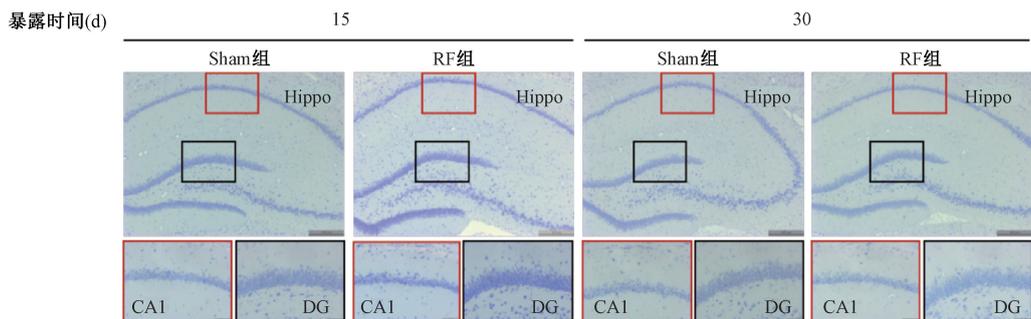


图 1 5.8 GHz RF 暴露对大鼠海马形态结构的影响 Nissl 染色 Hippo 区 $\times 50$ 、CA1 区 $\times 200$ 、DG 区 $\times 200$

Figure 1 The influence of 5.8 GHz RF exposure on the morphology of hippocampus Nissl stain Hippo $\times 50$, CA1 $\times 200$, DG $\times 200$

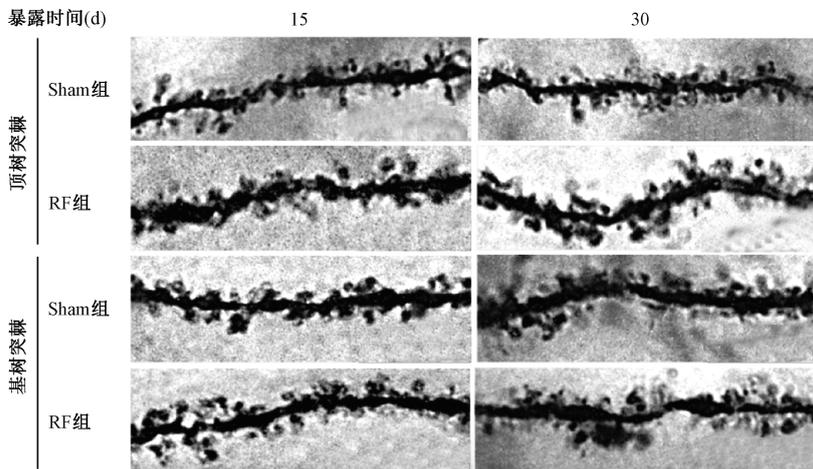


图 2 5.8 GHz RF 暴露对大鼠 CA1 区树突棘密度的影响 Golgi 染色 ×1 000

Figure 2 The influence of 5.8 GHz RF exposure on the dendritic spines in CA1 region Golgi stain ×1000

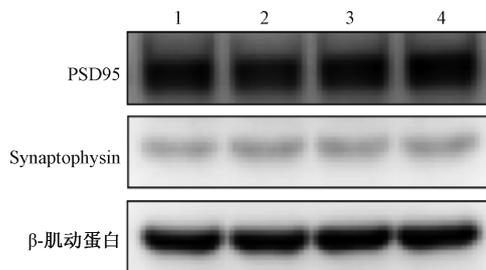
30 d 组、RF 30 d 组顶树突棘密度分别为 (5.10 ± 0.20)、(4.89 ± 0.24)、(4.58 ± 0.27)、(4.49 ± 0.24) 个/10 μm; 基树突棘密度分别为 (4.81 ± 0.17)、(4.79 ± 0.34)、(4.20 ± 0.27)、(4.22 ± 0.17) 个/10 μm。RF 15 d 组及 RF 30 d 组大鼠顶树突棘及基树突棘密度与 Sham 组相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示本实验条件下 5.8 GHz RF 暴露 15 及 30 d 不能引起大鼠海马 CA1 区锥体神经元树突棘密度的明显改变 (图 2)。

4. 大脑海马区突触相关蛋白的变化: 结果显示, Sham 15 d 组、RF 15 d 组、Sham 30 d 组、RF 30 d 组海马组织内突触后致密蛋白 PSD95 相对表达量分别为 0.99 ± 0.04、0.95 ± 0.07、1.05 ± 0.07、0.96 ± 0.07; 突触小泡蛋白 Synaptophysin 相对表达量分别为 1.11 ± 0.10、1.02 ± 0.03、1.01 ± 0.05、0.94 ± 0.04。RF 15 d 组及 RF 30 d 组大鼠海马组织内突触相关蛋白 (PSD95、Synaptophysin) 表达水平与 Sham 组相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示本实验条件下 5.8 GHz RF 暴露 15 及 30 d 不能引起大鼠海马组织内突触相关蛋白表达水平的改变 (图 3)。

5. 大脑海马神经递质表达水平的变化: LC-MS 结果显示, RF 15 d 组及 RF 30 d 组大鼠海马组织内多种神经递质含量与 Sham 组相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示本实验条件下 5.8 GHz RF 暴露 15 及 30 d 未能引起大鼠海马组织内神经递质表达水平的改变 (表 1)。

讨 论

目前, RF 是否可诱发学习记忆障碍仍然存在



注: 1. Sham 15 d; 2. RF 15 d; 3. Sham 30 d; 4. RF 30 d

图 3 5.8 GHz RF 暴露对大鼠海马区突触相关蛋白表达的影响
Figure 3 The influence of 5.8 GHz RF exposure on the expression of synaptic related proteins of hippocampus

争议。一些流行病学调查研究报道 RF 可引起的神经性认知障碍, 甚至会增加神经退行性病变的风险, 但也有流行病学调查结果显示, RF 暴露对人体无害^[3-8]。不同实验室的研究也表明, 不同频率、强度及时间的 RF 暴露可对啮齿类动物学习记忆产生不同甚至相反的实验结果^[9-13]。5.8 GHz 无线技术良好的应用前景也引起了公众对 5.8 GHz RF 对人体健康特别是对大脑影响的关注。本研究以 Morris 水迷宫实验检测 5.8 GHz RF 暴露对学习记忆行为的影响, 以海马区神经元数量、树突棘密度、突触相关蛋白表达水平以及神经递质含量为主要检测指标, 探讨 5.8 GHz RF 暴露对海马区神经元突触可塑性的影响。

Morris 水迷宫实验可较好地反映大鼠空间学习记忆能力。本实验中 5.8 GHz (1 h/d, 1.15 W/kg) RF 暴露 15 及 30 d, 暴露后 RF 组大鼠 Morris 水迷宫实验中多项指标与 Sham 组相比, 差异均无统计学意义。Daniels 等^[9] 研究结果显示, RF 暴露后大鼠

表 1 5.8 GHz RF 暴露对大鼠海马神经递质含量的影响 (ng/ml, $\bar{x}\pm s$)

Table 1 The influence of 5.8 GHz RF exposure on the level of neurotransmitters in hippocampus (ng/ml, $\bar{x}\pm s$)

神经递质	15 d		30 d	
	Sham 组	RF 组	Sham 组	RF 组
多巴胺	9.01±0.02	8.98±0.03	12.21±1.36	12.02±2.04
5-羟色胺	1.36±0.09	1.42±0.06	5.55±0.55	6.20±0.72
乙酰胆碱	128.93±11.74	109.23±12.22	344.99±42.16	299.54±33.90
去甲肾上腺素	280.78±37.14	305.59±93.01	495.69±30.94	542.23±37.30
γ-氨基丁酸	16 723.75±432.87	16 198.27±423.59	17 230.73±831.45	17 895.43±254.90
甘氨酸	4 468.06±100.76	3 847.71±664.07	4 215.85±289.28	4 599.42±104.40
谷氨酸	6 103.61±130.44	6 245.85±1 057.16	7 014.28±322.16	7 278.11±261.95
天冬氨酸	8 819.75±503.92	9 710.67±860.18	10 003.74±416.96	9 814.34±491.08
组氨酸	7.25±0.12	6.92±0.22	6.36±0.04	6.32±0.07
亮氨酸脑啡肽	2.29±0.16	1.99±0.25	1.47±0.14	1.40±0.14
蛋氨酸脑啡肽	2.97±0.61	2.96±0.33	2.69±0.20	2.69±0.47
普罗瑞林	2.47±0.01	2.48±0.01	2.59±0.05	2.56±0.03

注：每个时间点每组大鼠 5 只

Morris 水迷宫实验中空间记忆行为无明显变化；Dubreuil 等^[10]利用八臂迷宫实验和新物体识别实验观察大鼠 RF 暴露对学习记忆行为的影响，也没有发现阳性结果；本实验结果与上述文献结果一致。Tan 等^[11]研究发现，1.5 GHz (6 min, 1.8 W/kg)及 2.856 GHz (6 min, 1.7 W/kg) RF 单次暴露后大鼠学习记忆行为没有明显的改变，但 1.5 GHz (6 min, 3.7 W/kg) 及 2.856 GHz (6 min, 3.3 W/kg) RF 单次暴露可显著延长大鼠在 Morris 水迷宫实验中的逃逸潜伏期；Shahin 等^[12]研究表明，2.45 GHz (2 h/d, 0.014 6 W/kg) RF 暴露 15 d 可通过诱导小鼠神经元凋亡，从而导致 Morris 水迷宫实验中多项指标的显著改变。本研究中 5.8 GHz RF 暴露对大鼠学习记忆行为无明显影响，推测本实验条件下 RF 暴露即便可以引起大鼠学习记忆物质基础的改变，但或是这些改变轻微且可逆，或是大鼠对其有良好的适应性，不足以引起学习记忆行为的明显改变。

海马区与学习、记忆等高级脑功能密切相关，海马区的正常形态结构是维持其正常功能的物质基础^[14]。Nissl 染色可标记神经元，观察是否神经元丢失，在病理情况下，Nissl 体减少还可提示神经元蛋白合成能力的减弱。本实验中，RF 组海马 CA1 及 DG 区神经元排列紧密，神经元数量均没有显著的降低。有报道称，RF 暴露可引起大鼠大脑海马神经元凋亡或自噬^[15-16]。Karimi 等^[17]研究发现，2.45 GHz (2 h/d, 0.017 W/kg) RF 暴露 40 d 后大鼠海马 CA1 区神经元密度明显降低。Tan 等^[11]研究结果显示，RF 暴露后 Nissl 体数量的减少与暴露强度有关而与暴露频率的无关，暴露强

度较低时，Nissl 体数量无明显变化。本实验中神经元数量未见显著减少，可能与本实验的暴露强度较低有关。

突触可塑性是学习和记忆的物质基础，包括与储存信息有关的突触形态、突触相关蛋白及神经递质表达变化的结构可塑性和传递信息有关的长时程增强或长时程抑制的功能可塑性^[18-20]。树突棘是形成突触的主要部位，也是神经元接受和传递信息的重要结构，突触相关蛋白 (PSD95 和 Synaptophysin) 与神经递质的改变可引起神经元兴奋性的变化，这些变化与突触可塑性密切相关^[21-24]。本研究结果显示，5.8 GHz 暴露后，RF 组大鼠海马 CA1 区锥体神经元树突棘的密度、海马组织突触相关蛋白表达水平以及神经递质含量检测均未发现有显著的改变，提示本实验条件下，大鼠海马区突触结构可塑性与功能可塑性没有显著变化。Pakhomov 等^[25]研究结果也显示，9.3 GHz 高功率微波辐射也不能引起大鼠海马神经元突触可塑性的变化。本实验结果与此一致。但是也有研究发现，RF 暴露不仅可引起突触结构可塑性的损伤，也可以减少兴奋性突触的生成，引起突触功能可塑性如长时程增强、递质代谢等改变^[12, 26-27]。神经元的基本功能如神经递质释放、酶激活、细胞内信号转导和基因表达等大都依赖于 Ca²⁺ 内流。已有研究表明，RF 暴露对大鼠海马及皮层神经元 Ca²⁺ 稳态无明显影响^[28-29]。5.8 GHz RF 暴露是否可以通过诱导神经元 Ca²⁺ 稳态变化引起长时程增强或长时程抑制，从而导致学习记忆行为的改变，仍有待进一步研究。

RF 暴露对生物体造成损伤的程度与其频率、

强度、暴露时间以及辐射源与暴露目标的耦合程度密切相关。目前, 5.8 GHz RF 暴露的生物体效应研究少见报道, 对学习记忆的研究更是罕见。现有的研究也多为阴性结果, 如 Miyakoshi 等^[30] 研究发现 5.8 GHz (24 h, 1 mW/cm²) RF 暴露对人眼细胞的微核形成、DNA 链断裂和 HSP 表达几乎没有影响; Kuzniar 等^[31] 以 5.8 GHz (24 h, 9.5 V/mRMS) RF 对人骨肉瘤细胞、人成纤维细胞以及小鼠胚胎干细胞进行暴露, 结果显示 RF 暴露后只有不到 1% 的蛋白质出现蛋白质丰度的微小变化。由于不同组织细胞对射频辐射的敏感性或耦合程度不一致, 现有的 5.8 GHz RF 暴露的研究均为离体实验且暴露程序 (单次长时间暴露) 也与本实验存在差异, 故现有研究对本实验研究的参考意义有限。而本研究结果与部分其他实验室的研究结果不一致的原因可能与本实验的暴露条件有关, 如频率较高, 暴露强度及暴露时间也有区别等; 另外, 5.8 GHz RF 是否与大鼠海马区神经元耦合程度较低, 难以产生较为显著的生物学效应, 也需要进一步研究。

综上所述, 本实验条件下 5.8 GHz RF 暴露没有引起大鼠学习记忆行为的明显改变, 也没有引起海马区神经元突触可塑性的显著变化, 增加暴露的时间和强度是否会对学习记忆行为及突触可塑性产生影响有待进一步研究。

利益冲突 无

作者贡献声明 芮刚负责实验操作、数据采集、统计分析和论文撰写; 刘力源、郭玲、薛一哲、来盼盼、高鹏协助实验操作、数据采集; 林加金负责暴露参数计算与核实; 邢俊玲、丁桂荣负责指导课题设计和修改论文

参 考 文 献

- [1] Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [J]. *Nat Protoc*, 2006, 1 (2): 848-858. DOI: 10.1038/nprot.2006.116.
- [2] Hutter HP, Moshammer H, Wallner P, et al. Subjective symptoms, sleeping problems, and cognitive performance in subjects living near mobile phone base stations [J]. *Occup Environ Med*, 2006, 63 (5): 307-313. DOI: 10.1136/oem.2005.020784.
- [3] Abdel-Rassoul G, El-Fateh OA, Salem MA, et al. Neurobehavioral effects among inhabitants around mobile phone base stations [J]. *Neurotoxicology*, 2007, 28 (2): 434-440. DOI: 10.1016/j.neuro.2006.07.012.
- [4] Gunnarsson LG, Bodin L. Occupational exposures and neurodegenerative diseases: a systematic literature review and meta-analyses [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16 (3): 337. DOI: 10.3390/ijerph16030337.
- [5] Belyaev I, Dean A, Eger H, et al. EUROPAEM EMF Guideline 2016 for the prevention, diagnosis and treatment of EMF-related health problems and illnesses [J]. *Rev Environ Health*, 2016, 31 (3): 363-397. DOI: 10.1515/reveh-2016-0011.
- [6] Anel R, Crowe M, Feychting M, et al. Work-related exposure to extremely low-frequency magnetic fields and dementia: results from the population-based study of dementia in Swedish twins [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2010, 65 (11): 1220-1227. DOI: 10.1093/gerona/gdq112.
- [7] Repacholi MH, Lerchl A, Rössli M, et al. Systematic review of wireless phone use and brain cancer and other head tumors [J]. *Bioelectromagnetics*, 2012, 33 (3): 187-206. DOI: 10.1002/bem.20716.
- [8] Jarideh S, Taeb S, Pishva SM, et al. Does occupational exposure of Shahid Dastgheib international airport workers to radiofrequency radiation affect their short term memory and reaction time? [J]. *J Biomed Phys Eng*, 2015, 5 (3): 143-150.
- [9] Daniels WM, Pitout IL, Afullo TJ, et al. The effect of electromagnetic radiation in the mobile phone range on the behaviour of the rat [J]. *Metab Brain Dis*, 2009, 24 (4): 629-641. DOI: 10.1007/s11011-009-9164-3.
- [10] Dubreuil D, Jay T, Edeline JM. Head-only exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields does not alter rat's memory in spatial and non-spatial tasks [J]. *Behav Brain Res*, 2003, 145 (1-2): 51-61. DOI: 10.1016/s0166-4328 (03) 00100-1.
- [11] Tan S, Wang H, Xu X, et al. Study on dose-dependent, frequency-dependent, and accumulative effects of 1.5 GHz and 2.856 GHz microwave on cognitive functions in Wistar rats [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 10781. DOI: 10.1038/s41598-017-11420-9.
- [12] Shahin S, Banerjee S, Singh SP, et al. 2.45 GHz microwave radiation impairs learning and spatial memory via oxidative/nitrosative stress induced p53-dependent/independent hippocampal apoptosis: molecular basis and underlying mechanism [J]. *Toxicol Sci*, 2015, 148 (2): 380-399. DOI: 10.1093/toxsci/kfv205.
- [13] Son Y, Kim JS, Jeong YJ, et al. Long-term RF exposure on behavior and cerebral glucose metabolism in 5xFAD mice [J]. *Neurosci Lett*, 2018, 666: 64-69. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.12.042.
- [14] Basu J, Siegelbaum SA. The corticohippocampal circuit, synaptic plasticity, and memory [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7 (11): a021733. DOI: 10.1101/cshperspect.a021733.
- [15] Ertlav K, Uslusoy F, Ataizi S, et al. Long term exposure to cell phone frequencies (900 and 1800 MHz) induces apoptosis, mitochondrial oxidative stress and TRPV1 channel activation in

- the hippocampus and dorsal root ganglion of rats [J]. *Metab Brain Dis*, 2018, 33 (3): 753-763. DOI: 10.1007/s11011-017-0180-4.
- [16] Kim JH, Yu DH, Kim HJ, et al. Exposure to 835 MHz radiofrequency electromagnetic field induces autophagy in hippocampus but not in brain stem of mice [J]. *Toxicol Ind Health*, 2018, 34 (1): 23-35. DOI: 10.1177/0748233717740066.
- [17] Karimi N, Bayat M, Haghani M, et al. 2.45 GHz microwave radiation impairs learning, memory, and hippocampal synaptic plasticity in the rat [J]. *Toxicol Ind Health*, 2018, 34 (12): 873-883. DOI: 10.1177/0748233718798976.
- [18] Caroni P, Donato F, Muller D. Structural plasticity upon learning: regulation and functions [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13 (7): 478-490. DOI: 10.1038/nrn3258.
- [19] Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus [J]. *Nature*, 1993, 361 (6407): 31-39. DOI: 10.1038/361031a0.
- [20] Collingridge GL, Peineau S, Howland JG, et al. Long-term depression in the CNS [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11 (7): 459-473. DOI: 10.1038/nrn2867.
- [21] Becher A, Drenckhahn A, Pahnner I, et al. The synaptophysin-synaptobrevin complex: a hallmark of synaptic vesicle maturation [J]. *J Neurosci*, 1999, 19 (6): 1922-1931. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-06-01922.1999.
- [22] El-Husseini AE, Schnell E, Chetkovich DM, et al. PSD-95 involvement in maturation of excitatory synapses [J]. *Science*, 2000, 290 (5495): 1364-1368. DOI: 10.1126/science.290.5495.1364.
- [23] Segal M. Dendritic spines, synaptic plasticity and neuronal survival: activity shapes dendritic spines to enhance neuronal viability [J]. *Eur J Neurosci*, 2010, 31 (12): 2178-2184. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2010.07270.x.
- [24] Lovinger DM. Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum [J]. *Neuropharmacology*, 2010, 58 (7): 951-961. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2010.01.008.
- [25] Pakhomov AG, Doyle J, Stuck BE, et al. Effects of high power microwave pulses on synaptic transmission and long term potentiation in hippocampus [J]. *Bioelectromagnetics*, 2003, 24 (3): 174-181. DOI: 10.1002/bem.10079.
- [26] Zhao XY, Liu MG, Yuan DL, et al. Nociception-induced spatial and temporal plasticity of synaptic connection and function in the hippocampal formation of rats: a multi-electrode array recording [J]. *Mol Pain*, 2009, 5: 55. DOI: 10.1186/1744-8069-5-55.
- [27] Xu S, Ning W, Xu Z, et al. Chronic exposure to GSM 1800-MHz microwaves reduces excitatory synaptic activity in cultured hippocampal neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 398 (3): 253-257. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.01.004.
- [28] O'Connor RP, Madison SD, Leveque P, et al. Exposure to GSM RF fields does not affect calcium homeostasis in human endothelial cells, rat pheochromocytoma cells or rat hippocampal neurons [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (7): e11828. DOI: 10.1371/journal.pone.0011828.
- [29] Platano D, Mesirca P, Paffi A, et al. Acute exposure to low-level CW and GSM-modulated 900 MHz radiofrequency does not affect Ba²⁺ currents through voltage-gated calcium channels in rat cortical neurons [J]. *Bioelectromagnetics*, 2007, 28 (8): 599-607. DOI: 10.1002/bem.20345.
- [30] Miyakoshi J, Tonomura H, Koyama S, et al. Effects of exposure to 5.8 GHz electromagnetic field on micronucleus formation, DNA strand breaks, and heat shock protein expressions in cells derived from human eye [J]. *IEEE Trans Nanobioscience*, 2019, 18 (2): 257-260. DOI: 10.1109/TNB.2019.2905491.
- [31] Kuzniar A, Laffeber C, Eppink B, et al. Semi-quantitative proteomics of mammalian cells upon short-term exposure to non-ionizing electromagnetic fields [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (2): e0170762. DOI: 10.1371/journal.pone.0170762.

(收稿日期: 2019-11-19)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊开设“在国外发表的 SCI 论文介绍”栏目

近年来许多报道国内优秀科研成果的论文首先投向国外,特别是被美国科学引文索引(SCI)收录的高水平国际期刊上,虽然有助于促进国际间的学术交流,让世界更好地了解中国,但所导致的直接后果是中国科学家的许多优秀科研成果不能为本国的同行首先获悉,也使国内的科技期刊在学术水平和国际化方面陷入极大的困境。

为了将这些高质量、有影响的论文介绍给国内的广大读者,《中华放射医学与防护杂志》已开设“在国外发表的 SCI 论文介绍”栏目,目的是使国内更多的读者共享我国的科研成果和了解相关学科的进展。

具体要求:国内作者在国外 SCI 期刊中已经发表的优秀论文,其主要作者可撰写 1 000 字左右的大摘要,用第三人称介绍研究背景、主要方法和结果,说明参加人员情况,最后给出首次发表的文献处(包括刊名、年、卷、页),所载期刊的影响因子。

(本刊编辑部)