

# 小功率WPT电磁环境对海马CA1区神经元兴奋性的影响

赵军<sup>1,2,3\*</sup> 王晓轩<sup>1,2,3</sup> 张冰茜<sup>1,2,3</sup> 马菁<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>河北工业大学生命科学与健康工程学院, 天津 300130; <sup>2</sup>河北省生物电磁与神经工程重点实验室(河北工业大学), 天津 300130; <sup>3</sup>天津市生物电工与智能健康重点实验室(河北工业大学), 天津 300130)

**摘要** 该研究旨在探究小功率无线电能传输(wireless power transmission, WPT)系统对小鼠海马CA1区神经元兴奋性的影响。将小鼠分为对照组和辐射组(2周组、4周组、6周组), 通过莫里斯水迷宫实验、光纤光度实验、HE染色实验、膜片钳实验观察小鼠工作记忆能力、Ca<sup>2+</sup>信号强度、海马锥体细胞数量、动作电位的变化以及瞬时外向K<sup>+</sup>通道电流(I<sub>A</sub>)和延迟整流K<sup>+</sup>通道电流(I<sub>K</sub>)的变化。莫里斯水迷宫实验结果显示, 小功率WPT电磁环境不会对小鼠的工作记忆能力产生影响; 光纤光度实验以及HE染色实验显示, 小功率WPT电磁环境可能促进了海马CA1区神经元集群的放电活动, 导致了荧光信号强度的增加。这表明电磁环境对Ca<sup>2+</sup>浓度的调节可能增加了海马CA1区神经元放电活动次数, 增强了海马CA1区神经元的兴奋性。随着辐射时间的增加, 荧光信号的峰值逐渐下降, 表明小鼠海马锥体细胞适应了小功率WPT电磁环境; 小功率WPT电磁环境提高了小鼠海马CA1区的神经元的静息膜电位, 缩短了动作电位的半波宽, 降低了动作电位阈值, 加快了海马CA1区的神经元动作电位的发放频率, 促进了海马CA1区的神经元动作电位的发放, 提高了海马CA1区的神经元的兴奋性; 小功率WPT电磁环境会令细胞膜上的瞬时外向钾通道的激活过程受到抑制, 延迟整流钾通道的激活特性向去极化方向移动, 减少细胞内K<sup>+</sup>的外流, 进而增强海马CA1区神经元兴奋性。小功率WPT电磁环境可促进海马锥体细胞的放电活动, 抑制I<sub>A</sub>与I<sub>K</sub>的激活过程, I<sub>A</sub>通道的激活曲线向去极化方向偏移, 从而增强神经元兴奋性。

**关键词** 海马锥体细胞; 小功率WPT电磁环境; 光纤光度实验; 膜片钳技术; 神经元兴奋性

## Effect of Low-Power WPT Electromagnetic Environment on Neuronal Excitability in Hippocampal CA1 Region

ZHAO Jun<sup>1,2,3\*</sup>, WANG Xiaoxuan<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Bingqian<sup>1,2,3</sup>, MA Jing<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>Hebei University of Technology Life Health and Engineering College, Tianjin 300130, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Bioelectromagnetic and Neural Engineering of Hebei Province, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China; <sup>3</sup>State Key Laboratory of Reliability and Intelligence of Electrical Equipment, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

**Abstract** The aim of this study was to investigate the effects of low-power WPT(wireless power transmission) system on the excitability of hippocampal CA1 neurons in mice. Mice were divided into control group and radiation group (2-week group, 4-week group, 6-week group). Morris water maze test, fiber photometry test, HE staining test, patch clamp test were used to observe the changes of working memory ability, Ca<sup>2+</sup> signal, the num-

收稿日期: 2023-10-18

接受日期: 2024-02-27

国家自然科学基金(批准号: 51407058、52077057)的资助课题

\*通信作者。Tel: 13902119116, E-mail: ashunjun@126.com

Received: October 18, 2023

Accepted: February 27, 2024

The work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.51407058, 52077057)

\*Corresponding author. Tel: +86-13902119116, E-mail: ashunjun@126.com

ber of hippocampal pyramidal cells, action potential,  $I_A$ (instantaneous outward  $K^+$  channel current) and  $I_K$ (delayed rectifier  $K^+$  channel current) in mice. The results of Morris water maze test showed that low-power WPT electromagnetic environment did not affect the working memory ability of mice. Fiber photometry test and HE staining test showed that low-power WPT electromagnetic environment may promote the discharge activity of hippocampal CA1 neuron clusters, resulting in an increase in fluorescence signal. This suggests that the regulation of  $Ca^{2+}$  concentration by electromagnetic environment might increase the number of discharge activities of hippocampal CA1 neurons and enhance the excitability of hippocampal CA1 neurons. With the increase of radiation time, the peak value of fluorescence signal gradually decreased, indicating that hippocampal pyramidal cells of mice adapted to low-power WPT electromagnetic environment. Low-power WPT electromagnetic environment increases the resting membrane potential of hippocampal CA1 neurons in mice, shortens the half-wave width of action potential, reduces the action potential threshold, accelerates the frequency of action potential release, promotes the release of action potential, and improves the excitability of hippocampal CA1 neurons. Low-power WPT electromagnetic environment inhibits the activation process of transient outward potassium channels on the cell membrane, delays the activation characteristics of rectifier potassium channels to the depolarization direction, reduces the outflow of  $K^+$  in the cell, and then enhances the excitability of hippocampal CA1 neurons. Low-power WPT electromagnetic environment promotes the discharge activity of hippocampal vertebral cells, inhibits the activation process of  $I_A$  and  $I_K$ , and the activation curve of  $I_A$  channel shifts to the depolarization direction, enhancing the excitability of neurons.

**Keywords** hippocampal pyramidal cell; low-power WPT electromagnetic environment; fiber photometry experiments; patch-clamp technique; neuron excitability

近年来, WPT技术在许多领域中得到广泛应用, 其中, 基于磁耦合谐振原理的磁耦合谐振式无线电能传输(magnetic resonance coupling-wireless power transmission, MRC-WPT)技术得到了广泛的使用。MRC-WPT利用发射器和接收器之间的磁耦合谐振实现高效传输, 具有较远距离和较高传输效率的特点。然而, 随着WPT技术的不断发展, 人们开始关注电磁环境对生物体的影响。电磁辐射是由同向振荡且互相垂直的电场与磁场在空间中以波的形式传递动量和电能, 其传播方向垂直于电场与磁场构成的平面。电场与磁场的交互变化产生电磁波, 电磁波向空中发射或传播形成电磁环境。神经系统对外部环境的敏感性使得研究电磁环境对神经系统的影响尤为重要<sup>[1-2]</sup>。国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer)将射频电磁环境归类为可能的人类致癌物2B。大量文献指出, 暴露在极低频与射频电磁环境下对人体产生影响<sup>[3-8]</sup>, 尤为突出的是对大脑的影响<sup>[9-13]</sup>。海马区作为大脑的一个关键区域, 负责执行和维持工作记忆。由于其高度敏感的特性, 海马区很容易受到电磁环境的干扰<sup>[14-20]</sup>。海马CA1区是海马区的一个子区域, 在记忆过程中起着至关重要的作用。来自其他脑区的

信息在海马CA1区的神经元进行临时存储, 以便进行后续的加工和分析。它接收其他区域的输入, 并将其存储为临时的记忆表征。海马CA1区的神经元在记忆的形成、巩固和检索中起关键作用<sup>[21-24]</sup>, 该区域是电磁环境的易损伤区域之一<sup>[25-27]</sup>。先前的研究表明, 电磁辐射对海马CA1区的神经元产生不良影响, 导致小鼠工作记忆能力减弱, 并引发海马锥体细胞数量的变化<sup>[28]</sup>。

工作记忆是一种短时的、用于临时存储和处理信息的记忆形式, 支持生物体在进行认知任务时保持和操作相关信息。海马CA1区的神经元不仅参与工作记忆的形成, 还与长时记忆的转化和存储有关。这种关联性使其在学习和记忆过程中发挥着关键的作用; 海马CA1区的神经元的工作记忆能力与 $Ca^{2+}$ 信号密切相关<sup>[29]</sup>。在海马CA1区的神经元的兴奋过程中,  $Ca^{2+}$ 信号发挥着重要的调节功能<sup>[30-32]</sup>。当海马锥体细胞受到刺激时, 细胞膜上的电压门控 $Ca^{2+}$ 通道会打开, 使外部的 $Ca^{2+}$ 进入细胞内。这一结果可以触发多种反应, 包括激活离子通道、改变海马锥体细胞细胞膜电位、调节离子流动等,  $Ca^{2+}$ 信号的变化可以影响海马CA1区神经元的兴奋性和抑制性, 调节海马CA1区神经元的信息处理和记忆形成

过程, 高钙浓度通常与钾通道的关闭相关, 增强海马CA1区神经元的兴奋性; 动作电位是神经元兴奋性传导的体现。通过动作电位, 神经元可以将信息从一个区域传递到另一个区域, 从而实现对外部刺激的感知、处理和响应。这种兴奋性传导是神经系统正常功能的基础, 它使得神经元能够在神经网络中相互通信; 电压门控 $K^+$ 通道参与调节动作电位的形成和持续性<sup>[33-34]</sup>,  $K^+$ 通道的活动可以影响海马CA1区神经元的膜电位, 进而调节海马CA1区神经元的兴奋性和抑制性, 影响信息的处理和存储。通过调控 $K^+$ 的通透性来影响细胞内外的电位差。电磁环境影响 $K^+$ 通道的开放时间和失活时间。通过调节开放时间、失活时间以及复活时间, 电磁环境影响神经细胞控制动作电位的形成和持续时间, 影响神经信号的传递速度和强度。 $K^+$ 通道电流在神经元的膜电位调节中起着关键作用。

因此, 本研究搭建了小功率WPT系统生物安全实验平台, 采用了莫里斯水迷宫实验、光纤光度实验、HE染色法与全细胞膜片钳技术相结合的方法, 通过比较对照组小鼠和辐射组小鼠工作记忆能力的差异, 海马锥体细胞的 $Ca^{2+}$ 信号变化, 海马锥体细胞数量, 动作电位的发放过程以及 $K^+$ 通道的电流幅值、开放时间、失活时间与复活时间的变化, 来探究小功率WPT电磁环境对海马CA1区神经元的 $Ca^{2+}$ 信号与电压门控 $K^+$ 通道的影响。

## 1 材料

### 1.1 动物及分组

有研究表明, 暴露于极低频磁场下的雄性小鼠

比雌性对焦虑、压力或两者更敏感<sup>[35]</sup>。因此, 研究对象选用24只6~8周的健康雄性昆明小鼠(中国北京华阜康生物科技股份有限公司, 经河北工业大学生物医学伦理委员会批准, 伦理审查批准号: HEBU-TaCUC2022010), 铺设好木屑, 给予充足的食物和水, 进行一周的适应性饲养。适应性饲养环境条件: 室温21~25 °C, 湿度50%~60%, 光照时间为9:00至21:00, 每笼6只。适应性饲养结束后进行手术。将小鼠随机分为对照组和辐射组(2周组、4周组、6周组), 每组各6只。

### 1.2 小功率WPT电磁环境系统

实验平台用于开展小功率WPT电磁环境实验, WPT系统由逆变电源箱、发射线圈、接收线圈以及负载四部分组成(图1), 该系统采用的频率如下所示:  $f = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \approx 47 \text{ kHz}$ , 发射线圈与接收线圈相距200 mm、发射线圈 $P_{in} \approx 53.0 \pm 0.5 \text{ W}$ , 由于机械设备灵敏度不易控制, 小功率负载接收端控制在 $25.0 \pm 0.5 \text{ W}$ 。

### 1.3 莫里斯水迷宫

使用小功率WPT系统对四组小鼠进行不同的辐射时长的辐射。辐射后, 评估各组小鼠的工作记忆能力。所有小鼠在直径为1.5 m的水迷宫(SMARTWN, RWD Life Science公司)中进行训练和测试, 包括一个带有平台的象限(水面下1 cm)。每只小鼠的运动轨迹都是用ANY-maze视频追踪系统记录的。莫里斯水迷宫实验持续6天, 在前5天, 小鼠每天接受4次训练实验, 在首次实验中, 将小鼠沿面向水箱内壁放入隐藏平台所在象限, 如果小鼠能够在60 s内成功找到隐藏的平台, 则允许它在平台上停留10 s。如果小鼠在60 s内未能到达平台, 则引导它在

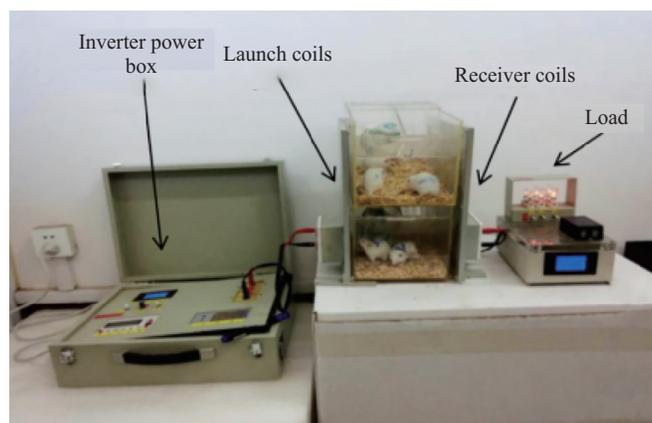


图1 小功率WPT系统生物安全实验平台

Fig.1 Low-power WPT system biosafety experimental platform

平台上停留 20 s。之后放入隐藏平台所在象限两侧的象限进行实验,最后放回隐藏平台所在象限对面。在完成3次每日实验后,将小鼠从迷宫中取出,干燥,然后放回笼子。后续4天将小鼠按照相同顺序放入水中,进行训练实验。连续训练5天后,进行测试期实验。撤去隐藏平台,将小鼠放入原平台象限对面的象限,通过记录延迟次数(到达平台的次数)来评估每只小鼠的空间记忆,使用ANY-maze视频追踪系统进行记录。根据小鼠的空间记忆能力将所有小鼠分为四组( $n=6$ ),并确保所有组具有相似的总潜伏时间。

#### 1.4 光纤光度实验

对小鼠进行预麻醉,将其头部固定在立体定位仪器上。涂抹红霉素眼膏,剪开头皮,用微型钻头在颅骨上钻出一个小洞。使用注射泵将腺病毒 rAAV-CaMKIIa-GCaMP6以 10 nL/min 的速度缓慢注入小鼠海马 CA1 区的神经元[前脑(bregma), -2.70 mm 正侧(antero-posterior), 2.4 mm 中侧(medio-lateral), -1.70 mm 背侧(dorso-ventral)],总计 200 nL。注射完成后,静置 20 min,缓慢取出。之后将一根光纤(外径 200  $\mu\text{m}$ )与陶瓷卡箍结合,其尖端对准病毒注射部位植入并用牙科丙烯酸将其固定在头骨上。病毒稳定表达后(约3周后),进行进一步检测。GCaMP 信号的光纤光度测定使用多通道光纤光度测定系统(南京千奥星科生物科技有限公司)进行检测<sup>[36-38]</sup>。实验室视图程序(思想者科技南京生物科学有限公司)用于控制 CMOS 相机和记录  $\text{Ca}^{2+}$  信号在 50 Hz 的频率。

#### 1.5 HE 染色法

使用 10% 浓度的水合氯醛溶液麻醉小鼠,待其进入深度麻醉状态时,张开四肢,胸口朝上,使用手术剪刀剪开肚皮,用手术钳将肋骨向上翻,暴露出心脏。用镊子固定住心脏之后,使用装有 20 mmol/L 磷酸缓冲盐溶液[(phosphate buffer saline, PBS), pH 值 7.4]的灌注针灌注小鼠脑组织,去除血液,使用 4% 多聚甲醛(paraformaldehyde)溶液对组织于室温条件下进行固定至全身,待观察到小鼠尾巴翘起,浑身抽动后呈现僵硬状态即可。灌注结束后将小鼠断头,剥开颅骨,取出鼠脑,放入装有 20 mmol/L PBS 的离心管中,24 h 后取出并使用超纯水进行清洗。清洗结束后放入 20% 的蔗糖溶液中进行脱水,放入冰箱(4  $^{\circ}\text{C}$ )静置,待鼠脑沉底 12 h 后进行清洗并置于 30% 蔗糖溶液中,静置 12 h 后取出。使用滤纸滤干表面液体,

脱水后的组织浸泡在透明的 Paraffin 蜡中,进行包埋。使用冰冻切片从蜡块中切割薄片,通常为 8~10  $\mu\text{m}$ ,切割后将薄片转移到载玻片上。使用 95% 的乙醇进行脱水(5 min),之后将载玻片浸入苏木素染色溶液 8~10 min,使细胞核染成蓝紫色,使用流动自来水冲洗。在 1% 盐酸乙醇溶液中浸泡 10~20 s,以去除多余的苏木素染色溶液。将载玻片浸入氨水 5~10 min,反蓝后取出,使用伊红溶液将细胞质染成粉红色。之后用梯度酒精进行快速脱水,清洗和透明化。使用透明的封片剂(中性树脂)将载玻片于室温条件下进行封闭。将封好的玻片置于 37  $^{\circ}\text{C}$  以上的温箱中使其干燥。干燥后使用荧光倒置显微镜观察 HE 染色的切片,拍摄下海马 CA1 区神经元的图像进行分析。

#### 1.6 主要试剂

人工脑脊液成分(mmol/L)包括: 124 mmol/L NaCl、3 mmol/L KCl、2 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ 、2 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ 、26 mmol/L  $\text{NaHCO}_3$ 、1.625 mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、11 mmol/L glucose、5 mmol/L HEPES。用 NaOH 将 pH 调至 7.4,渗透压 300~305 mOsm。

切片液成分(mmol/L)包括: 2.5 mmol/L KCl、6 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ 、1 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ 、26 mmol/L  $\text{NaHCO}_3$ 、1.625 mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、11 mmol/L glucose、220 mmol/L sucrose。用 NaOH 将 pH 调至 7.4,渗透压 300~305 mOsm。

动作电位电极内液(mmol/L)包括: 125 mmol/L K-gluconate、15 mmol/L NaCl、2 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ 、1 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ 、11 mmol/L EGTA、10 mmol/L HEPES、3 mmol/L Na-ATP、0.3 mmol/L Na-GTP。用 KOH 将 pH 调至 7.2~7.3,经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,进行分装冷冻。

钾电流电极内液成分(mmol/L)包括: 140 mmol/L KCl、2 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ 、2 mmol/L Mg-ATP、10 mmol/L EGTA、10 mmol/L HEPES, pH 用 KOH 调节至 7.2。溶液配制好后进行分装冷冻前要用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜进行过滤,同时实验记录使用前也要用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜进行过滤。

钾电流细胞外液成分(mmol/L)包括: 130 mmol/L NaCl、5 mmol/L KCl、1 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ 、2 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ 、0.2 mmol/L  $\text{CdCl}_2$ 、0.001 mmol/L TTX、10 mmol/L glucose、10 mmol/L HEPES,记录  $I_K$  时加入终浓度为 3 mmol/L 的 4-AP,记录  $I_A$  时加入终浓度为 25 mmol/L 的

TEA-Cl。pH值用NaOH调节至7.4。

### 1.7 脑片的制备与孵育

使用10%浓度的水合氯醛溶液对其进行腹腔注射,并进行深度麻醉,快速取出小鼠的大脑,沿着小鼠头颅中缝使用手术剪剪开头皮与颅骨。为避免损伤鼠脑,剪刀的朝向应始终向上,随后使用镊子轻轻拨开鼠脑上的两瓣颅骨,暴露出完整的大脑,利用刀片截取小脑后部只额叶前端的部分,使用药匙取出该部分并放入通氧状态下,冰水混合物的切片液中。为确保鼠脑具有较好的活性,取脑过程应控制在2~3 min,鼠脑在切片液中浸泡2~3 min后,将其取出,使用滤水纸吸干大脑表面的切片液,将鼠脑断面大口的一端放在沾有502胶水的切片槽中央位置。使用刀片沿着中缝方向从上往下垂直切一刀,将切片液倒入,持续通入氧气。使用振动切片机(徕卡VT1200S),将大脑在切片液中切出300  $\mu\text{m}$ 厚度的大脑切片。用吸管吸出具有完整海马结构的脑片放入28  $^{\circ}\text{C}$ 的孵育环境中,孵育1 h之后开始实验。

### 1.8 全细胞膜片钳技术

室温环境下,使用EPC10膜片钳信号放大器记录全细胞膜片钳实验数据。本实验采用内径为0.86 mm,外径为1.50 mm规格的硼硅酸盐材质的玻璃微电极,使用P-97(SUTTER公司,美国)设备,设定控制程序后预热30 min可拉制获得不同开口大小的微电极,灌注射冻的电极内液至电极针身的1/3处,甩出电极内的气泡。

将预先固定的电极轻柔地插入记录槽(尼龙网)中,确保电极与脑片的接触精准而准确。

在低倍镜明场下观察并将海马齿状回区域(dentate gyrus, DG)移至视野中心区域,随后将低倍镜明场切换成高倍镜红外场,找到位于海马DG区上方的CA1区,在该区域寻找状态良好的细胞(饱满锥体状细胞),将该细胞移至屏幕中心位置,升起显微镜。将玻璃电极固定于电极加持器上,随后将玻璃电极针尖移至脑片上方,缓慢下移至入液。通过观察入液电阻阻值判断玻璃电极是否可用。当电极与细胞膜形成高阻封接之后,使用快电容补偿。使用连通电极尾端的注射器给予负压,直至海马锥体细胞破膜,阻值降至200~300  $\text{M}\Omega$ ,给予慢电容补偿。将记录模式切换到电压钳模式,记录离子通道电流信号,探究 $\text{K}^{+}$ 通道的活动及其对神经元功能的影响。

## 1.9 数据统计分析

采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)对多组数据进行比较, $t$ 检验比较两组间差异。统计分析使用了GraphPad Prism 6.0和Origin2017软件,所有数据均以均数 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SEM)的形式呈现结果。检验指标 $\alpha$ 设定为0.05。

## 2 结果

### 2.1 小功率WPT电磁环境对小鼠工作记忆能力的影响

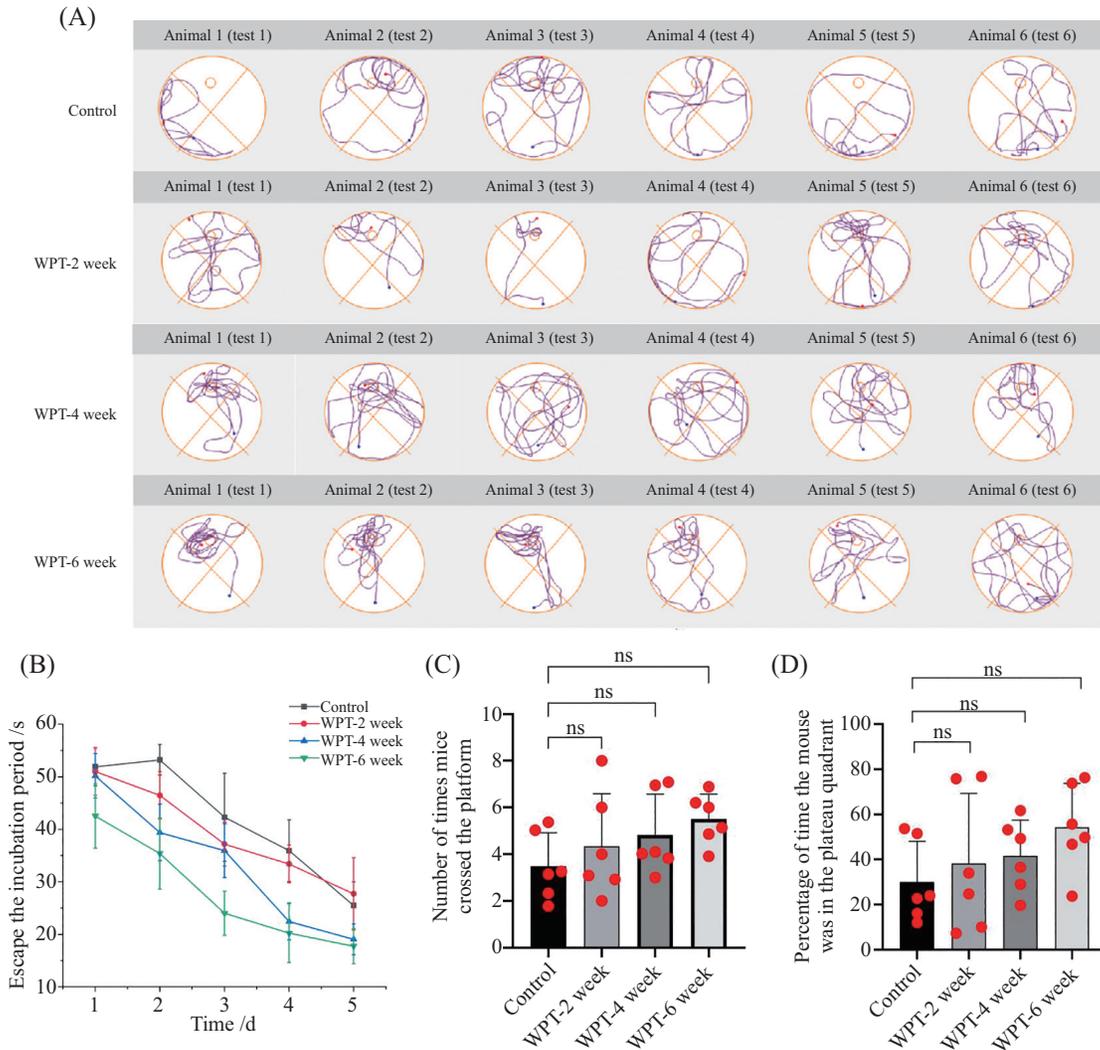
为了评估小功率WPT装置对小鼠工作记忆能力的影响,使用了莫里斯水迷宫测试(图2A)。随着辐射时长的增加,小鼠在目标象限的运动轨迹有增加的趋势,目标象限中花费的时间比例更大。但重复测量方差分析显示4组之间没有显著性差异( $P>0.05$ )。

为了进一步确认小功率WPT电磁环境不同辐射时长对小鼠认知功能的影响,我们对小鼠训练阶段的逃避潜伏期进行分析(图2B)。由图3可知,对照组、辐射2周组、辐射4周组以及辐射6周组的逃避潜伏期是逐渐降低的,但各组之间均无显著性差异( $P>0.05$ )。

随后,对各组小鼠穿越平台的次数(图2C)以及目标象限的时间百分比(图2D)进行统计学分析。结果表明,辐射6周组小鼠的认知能力与对照组小鼠差异最大,但均无显著性差异( $P>0.05$ )。

### 2.2 小功率WPT电磁环境对小鼠海马CA1区的神经元 $\text{Ca}^{2+}$ 信号的影响

使用小功率WPT系统生物安全实验平台对小鼠进行辐射,干扰小鼠海马CA1腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)载体在海马CA1区神经元中表达钙敏感荧光蛋白GCaMP,其荧光强度与胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度呈正相关。利用光纤光度实验记录荧光强度的变化实现体内海马CA1区神经元活动的检测。该方法具有较高的时空分辨率。本研究采用rAAV-CaMKIIa-GCaMP6感染海马CA1区的神经元,观察对照组、辐射2周组、辐射4周组以及辐射6周组海马锥体细胞 $\text{Ca}^{2+}$ 活性变化。具体来说,从钙信号的幅值、发放频率以及上升时间作为衡量 $\text{Ca}^{2+}$ 活性变化的标准,并进行统计学分析。钙信号的幅值是指单个钙信号的峰值与基线的高度差,发放频率指的是一定时间内的钙信号个数除以时间,上升时间指



A: 各组小鼠探索期运动轨迹; B: 训练阶段小鼠的逃避潜伏期; C: 小鼠穿越平台的次数; D: 目标象限的时间百分比。ns:  $P>0.05$ 。

A: the trajectory of mice in each group during the exploration period; B: the escape latency of mice in the training stage; C: the number of times the mice crossed the platform; D: percentage of time in the target quadrant. ns:  $P>0.05$ .

图2 各组小鼠水迷宫实验结果以及实验结果分析

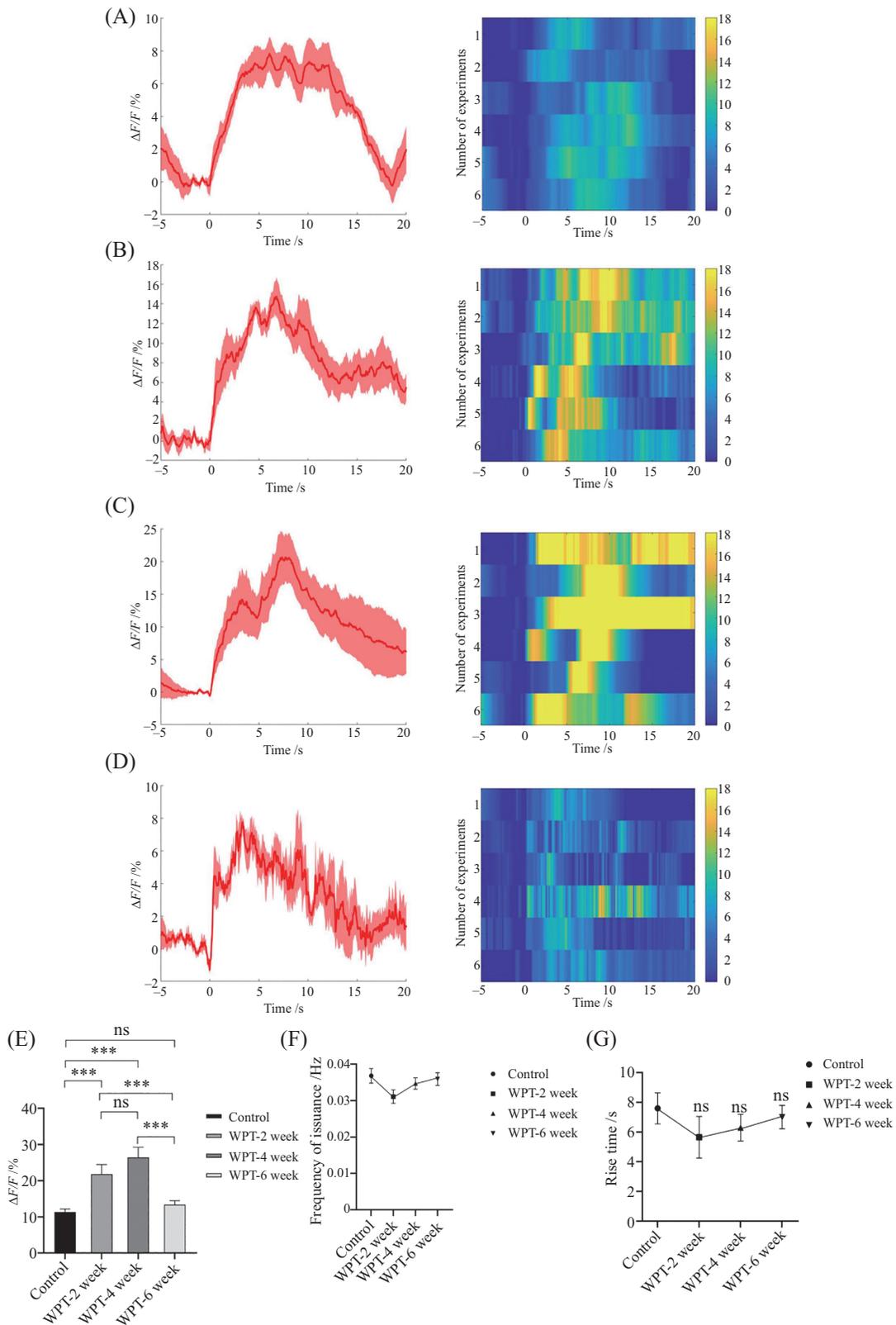
Fig.2 The experimental results of the water maze in each group of mice and the analysis of the experimental results

的是从钙信号上升起始点到钙信号达到峰值所需要的时间, 光纤光度实验结果如图3所示。

在本研究中, 截取四组小鼠 25 s 的  $\text{Ca}^{2+}$  信号平均相对荧光变化进行统计分析, 对照组与不同时长小功率 WPT 电磁环境辐射组的  $\text{Ca}^{2+}$  信号平均相对荧光变化分别为  $(3.942 \pm 0.313)\%$ 、 $(7.119 \pm 0.635)\%$ 、 $(9.454 \pm 2.150)\%$ 、 $(2.910 \pm 0.667)\%$ (图3A~图3D), 辐射组小鼠海马 CA1 区神经元的荧光信号变化显著高于对照组, 在 0~2 周, 荧光信号强度变强( $***P<0.001$ ), 并且第 4 周的峰值达到最大( $***P<0.001$ ), 在 4~6 周, 小鼠的  $\text{Ca}^{2+}$  信号峰值下降, 热度图也体现了海马 CA1 区神经元的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下降(图3C和图3D)( $*P<0.05$ )。热度图表明小功率 WPT 电磁环境对海马 CA1 区神经

元的影响不一定与辐射的剂量与时间长度有关。由于  $\text{Ca}^{2+}$  信号幅值所监测到的是海马 CA1 区神经元的  $\text{Ca}^{2+}$  水平,  $\text{Ca}^{2+}$  信号幅值只是证明其影响的其中一种指标, 为此, 对  $\text{Ca}^{2+}$  信号发放频率以及上升时间两种数据进行了统计学分析。

结果显示, 对照组的海马 CA1 区神经元的发放频率最高(图3F), 表明对照组的海马 CA1 区神经元活动水平较高。随着小功率 WPT 电磁环境的持续时间的增加, 辐射组海马 CA1 区神经元活动频率逐渐下降, 2 周后降至最低点。然而, 在 4 周和 6 周后, 小鼠的海马 CA1 区神经元活动频率开始回升。与未辐射组相比, 辐射前后, 各组的发放频率并无显著性差异( $P>0.05$ )。同样地, 相较于对照组, 辐射 2 周组的上升时间明显变



A: 对照组; B: 辐射2周组; C: 辐射4周组; D: 辐射6周组; E:  $Ca^{2+}$  信号平均相对荧光强度变化; F: 发放频率; G: 上升时间。\*\*\* $P < 0.001$ , ns:  $P > 0.05$ 。  
 A: control group; B: 2 weeks of radiation group; C: 4 weeks of radiation group; D: 6 weeks of radiation group; E: change in mean relative fluorescence intensity of  $Ca^{2+}$  signal; F: transmit frequency; G: rise time. \*\*\* $P < 0.001$ , ns:  $P > 0.05$ .

图3 光纤光度实验结果

Fig.3 Fiber photometry experimental results

短, 在辐射4周时有较小幅度回升, 而辐射6周后, 上升时间继续回升。但从整体来说, 各组之间的 $\text{Ca}^{2+}$ 信号上升时间无显著性差异( $P>0.05$ )(图3G)。具体而言, 对照组与不同时长的辐射组分析记录得到的 $\text{Ca}^{2+}$ 信号发放频率分别是 $0.038\pm 0.004$  Hz、 $0.032\pm 0.002$  Hz、 $0.032\pm 0.002$  Hz、 $0.031\pm 0.002$  Hz;  $\text{Ca}^{2+}$ 信号上升时间分析记录得到的结果分别是 $7.593\pm 1.446$  s、 $5.450\pm 1.608$  s、 $5.993\pm 0.899$  s、 $6.803\pm 1.383$  s。这些结果表明, 将小鼠放在小功率WPT电磁环境中, 不同辐射时长条件不会对海马锥体细胞 $\text{Ca}^{2+}$ 信号上升时间和发放频率产生显著性影响。

### 2.3 小功率WPT电磁环境对小鼠海马锥体细胞形态结构的影响

通过显微镜的10×倍镜, 我们可以找到各组小鼠的海马锥体细胞带。选定合适的区域后, 在20×以及40×倍镜下画出区域范围计算面积(图4), 记录该区域内海马锥体细胞的数量。由图5可知, 对照组、辐射2周组、辐射4周组以及辐射8周组的小鼠海马锥体细胞数量在统计学上没有显著性差异( $P>0.05$ )。

### 2.4 小功率WPT电磁环境对动作电位的影响

由图6A可知, 小功率WPT电磁环境不同辐射时长会对小鼠的静息膜电位产生显著性影响( $*P<0.05$ ),

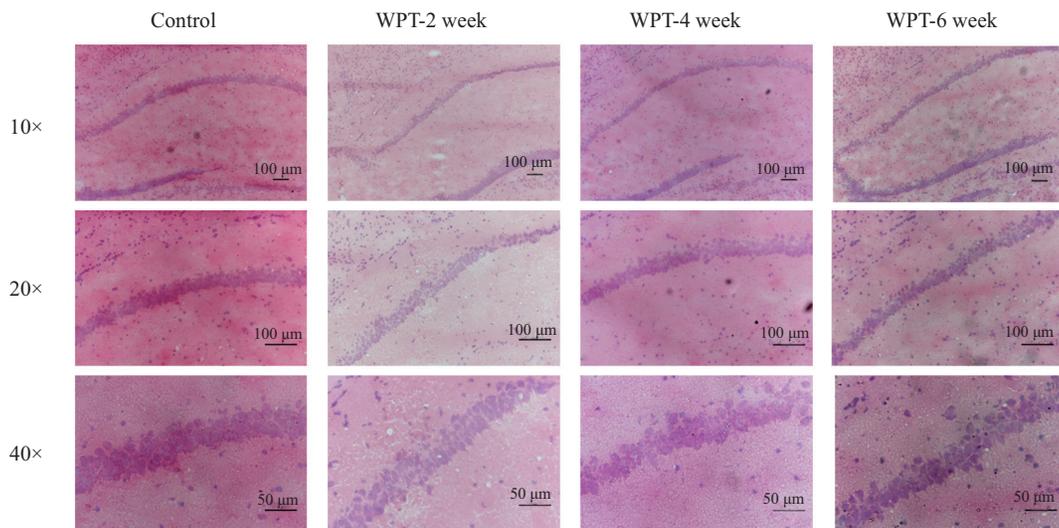
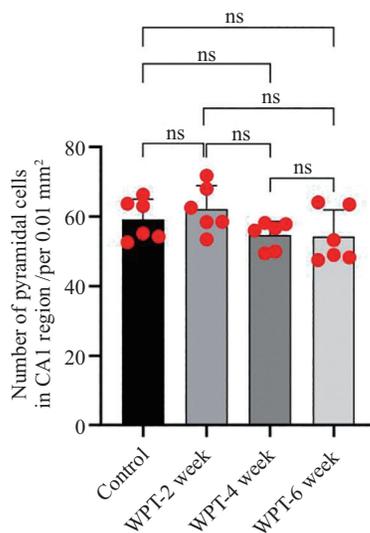


图4 染色示意图

Fig.4 Schematic diagram of HE staining



ns:  $P>0.05$ .

图5 单位面积海马CA1区的神经元数量示意图

Fig.5 Schematic diagram of the number of neurons in the CA1 region of the hippocampus per unit area

辐射6周组与对照组无显著性差异, 与辐射2周组, 辐射4周组均有显著性差异( $*P<0.05$ )。

图6B为小功率WPT电磁环境对动作电位放电个数的影响, 可以看到, 随着辐射时间的增加, 各辐射组的放电个数显著增加, 但在辐射6周时有明显下降。辐射6周组与对照组( $***P<0.001$ )、辐射2周组( $**P<0.01$ )之间均具有显著性差异, 与辐射4周组没有显著性差异。

由图6C可知, 各组之间的动作电位峰值并无显著性差异。这一结果说明了, 小功率WPT电磁环境不会对小鼠海马CA1区的神经元的动作电位峰值产生影响。

图6D为小功率WPT电磁环境对小鼠海马CA1区的神经元的动作电位阈值的影响, 可以看到, 对照组与辐射2周组( $*P<0.05$ )、辐射4周组( $**P<0.01$ )以及辐射6周组( $*P<0.05$ )之间均具有显著性差异。具体表现为: 随着辐射时间的增加, 阈值电位逐渐减

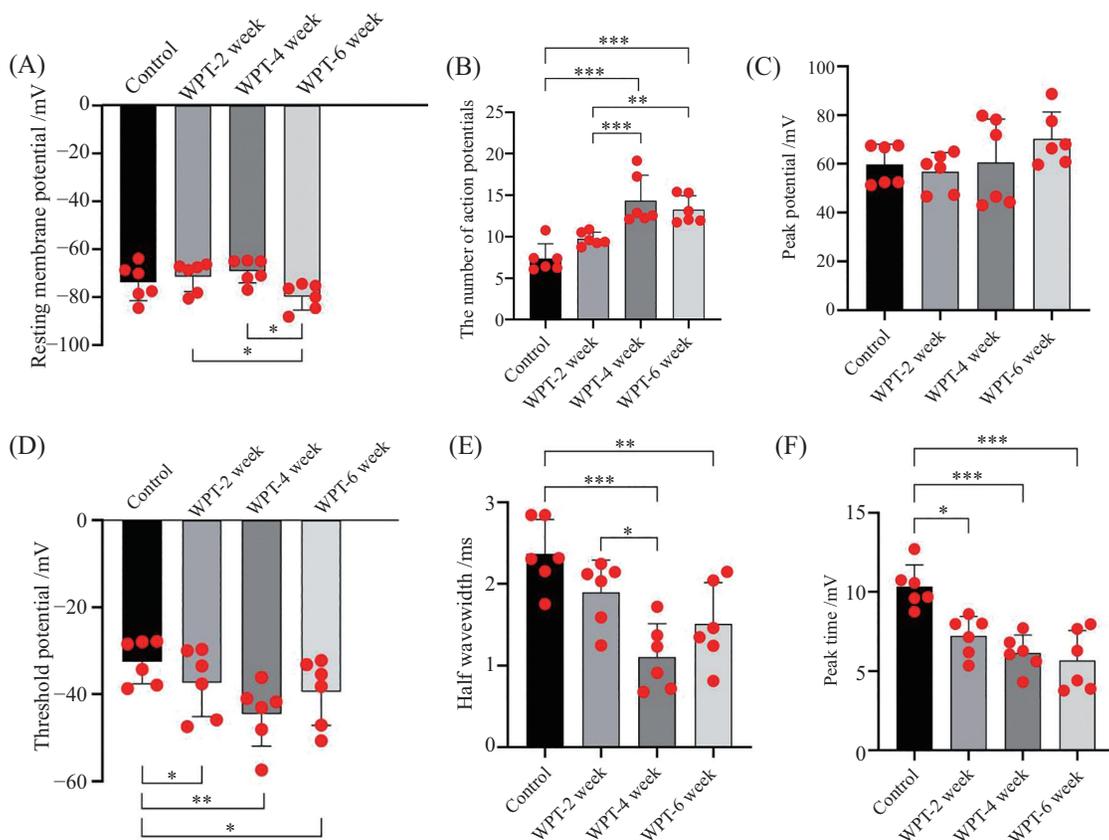
小, 但辐射6周后, 阈值电位升高。

图6E为小功率WPT电磁环境对小鼠海马CA1区的神经元的动作电位半波宽的影响。该结果表明, 随着辐射时间的增加, 小鼠海马CA1区的神经元的动作电位半波宽逐渐减少, 辐射6周后, 相较于辐射4周组, 辐射6周组的动作电位半波宽增加。对照组与辐射4周组( $***P<0.001$ )、辐射6周组( $**P<0.01$ )之间均有显著性差异; 辐射2周组与辐射4周组( $*P<0.05$ )之间也具有显著性差异。

小功率WPT电磁环境对小鼠海马CA1区的神经元的动作电位达峰时间的影响如图6F所示。随着辐射时间的增加, 动作电位达峰时间逐渐缩短。对照组与辐射2周组( $**P<0.01$ )、辐射4周组( $***P<0.001$ )以及辐射6周组( $***P<0.001$ )之间均有显著性差异。

## 2.5 不同辐射时长对瞬时外向钾电流的影响

为阻断延迟整流钾电流(delayed rectifier potassium



A: 静息膜电位; B: 动作电位个数; C: 峰值电位; D: 阈值电位; E: 半波宽; F: 达峰时间。\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ 。

A: resting membrane potential; B: number of action potentials; C: peak potential; D: threshold potential; E: half-wave width; F: time to peak. \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ 。

图6 膜电位及动作电位相关指标分析

Fig. 6 Analysis of related indexes of membrane potential and action potential

current,  $I_K$ )、钠电流以及钙电流,使用全细胞外液以及 $K^+$ 通道电极内液,在外液中加入终浓度为25 mmol/L的TEA-Cl,使用NaOH将pH调节至7.4。

**2.5.1 小功率WPT电磁环境对 $I_A$ 幅值的影响** 将钳制电位设定为 $-100$  mV,预先给予一段 $-110$  mV波宽400 ms的超极化条件刺激,添加时长为150 ms,步阶为10 mV,从 $-50$  mV至 $+90$  mV的去极化测试脉冲后,可得到一组瞬时外向钾电流(transient outward potassium current,  $I_A$ )。

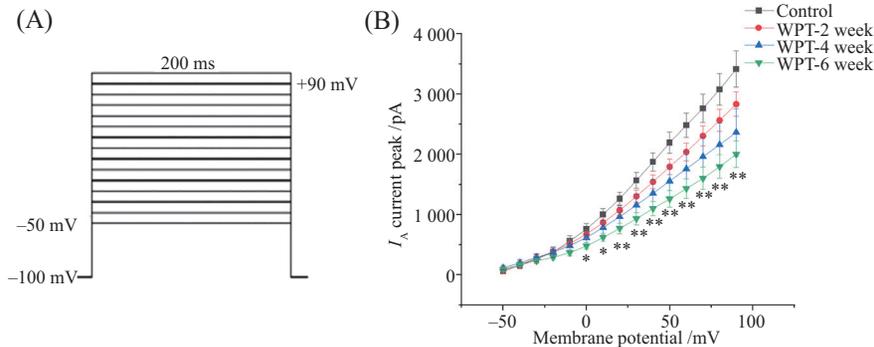
由图7B可知,对照组电流峰值最高,与对照组相比,辐射2周组的 $I_A$ 的 $I-V$ 曲线下移,这说明小功率WPT电磁环境开始对瞬时外向钾通道产生影响。辐射4周组和辐射6周组的 $I_A$ 电流峰值进一步下移,反映了长时间辐射对 $I_A$ 的渐进影响。这表明小功率WPT电磁环境的效应随时间的推移而加深。辐射引起的生物电效应会影响细胞膜上的离子通道活性。小功率WPT电磁环境引起离子通道的开放或关闭状态的变化,进而影响其电流幅值。

电流峰值下降的趋势也反映了小功率WPT电磁环境对小鼠造成了累积效应。长期暴露于该环境中,导致对 $I_A$ 通道的反应性减弱。

**2.5.2 小功率WPT电磁环境对 $I_A$ 激活动力学曲线的影响** 将钳制电位设定为 $-50$  mV,预先给予 $-110$  mV波宽为400 ms的超极化条件刺激,然后给予 $-50$  mV至 $+90$  mV,步阶10 mV,波宽为150 ms的去极化测试脉冲(图8A),得到一组延迟整流钾电流,此为 $I_A$ 的稳态激活过程。

使用公式 $G=I/(V_m-V_r)$ 将瞬时外向钾电流值转换为电导值,其中 $G$ 为电导, $I$ 为不同测试脉冲下的峰值电流, $V_m$ 膜电位, $V_r$ 为反转点位。以膜电位为横坐标, $I/I_{max}$ 为纵坐标,绘制通道的激活散点图。然后使用Boltzmann方程 $G/G_{max}=1/\{1+\exp[(V_m-V_{1/2})/k]\}$ 对得到的激活散点图进行拟合,其中以 $V_m$ 为膜电位, $V_{1/2}$ 为半数激活电压, $k$ 为斜率因子(图8B)。

对照组的 $V_{1/2}$ 为 $-9.552\pm 2.860$  mV(表1)。这表明在对照组条件下, $K^+$ 通道需要较低的膜电位才能达

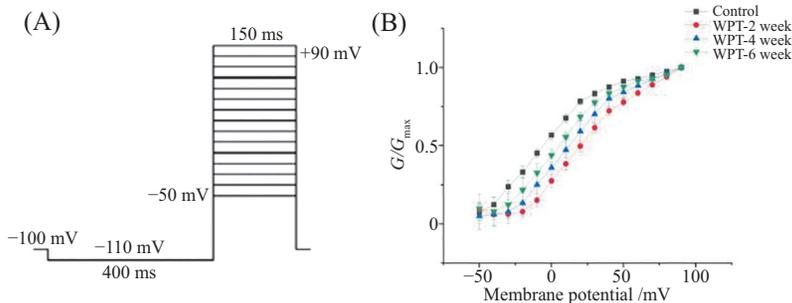


A:  $I_A$ 的 $I-V$ 刺激脉冲; B:  $I_A$ 的 $I-V$ 曲线。\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , 相较于对照组。

A:  $I-V$  stimulation pulse of  $I_A$ ; B:  $I-V$  curve of  $I_A$ . \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  compared with the control group.

图7  $I_A$ 的 $I-V$ 刺激程序

Fig.7  $I-V$  stimulation procedure for  $I_A$



A:  $I_A$ 的激活刺激脉冲; B:  $I_A$ 的激活动力学曲线。

A: activation stimulation pulses for  $I_A$ ; B: activation curve of  $I_A$ .

图8  $I_A$ 的激活过程

Fig.8  $I_A$  activation process

到50%的开放概率。辐射2周组的 $V_{1/2}$ 立刻升高。相比对照组, 辐射2周组的 $K^+$ 通道对膜电位的响应变得更加正向, 即需要更高的膜电位才能达到50%的开放概率。与辐射2周组相比, 辐射4周组的 $V_{1/2}$ 略有下降, 但仍然较高。在辐射6周后,  $K^+$ 通道的 $V_{1/2}$ 显著降低, 表明它对膜电位的响应进一步正向偏移这一结果反映了小功率WPT电磁环境提高了瞬时外向 $K^+$ 通道蛋白的激活膜电位。但各组的数据表明, 斜率 $k$ 并未发生明显变化, 斜率 $k$ 描述了激活动力学曲线的陡峭程度, 它反映了离子通道对膜电位的响应速度。在这种情况下, 小功率WPT电磁环境对斜率没有产生显著影响。这意味着该环境对 $K^+$ 通道的激活速度没有明显的调节作用。

综合以上结果, 可以看出小功率WPT电磁环境对 $I_A$ 通道的激活特性产生了影响, 对斜率 $k$ 却几乎没有影响。辐射2周后,  $K^+$ 通道对膜电位的响应变得更加正向, 而辐射4周和辐射6周后,  $K^+$ 通道的 $V_{1/2}$ 显著下降, 即对膜电位的响应进一步正向偏移。这表明小功率WPT电磁环境对 $K^+$ 通道的激活特性具有时间依赖性效应。

### 2.5.3 小功率WPT电磁环境对 $I_A$ 失活动力学曲线

的影响 在全细胞记录模式下, 将钳制电位设定为 $-100$  mV, 预先给予细胞一段时长为 $80$  ms, 步阶为 $10$  mV, 从 $-110$  mV到 $+10$  mV的阶梯去极化条件脉冲, 然后添加时长为 $80$  ms的 $+50$  mV测试脉冲后, 可得到一组瞬时外向钾电流。

绘制以膜电位为横坐标, 电流峰值与电流最大峰值的比值 $I/I_{max}$ 为纵坐标的失活散点图(图9B)。然后使用Boltzmann方程 $I/I_{max}=1/\{1+\exp[(V_m-V_{1/2})/k]\}$ 对得到的失活散点图进行拟合, 其中 $I$ 为每条测试脉冲下的电流峰值,  $V_m$ 为膜电位,  $V_{1/2}$ 为半数失活电压,  $k$ 为斜率因子。

对照组的半数失活电压为 $-34.83$  mV, 与对照组相比, 辐射2周组的动力学曲线发生了左移, 即需要更低的膜电位才能达到半数失活状态。辐射4周组的半数失活电压为 $-45.62$  V。与辐射2周组相比, 辐射4周组的失活动力学曲线再次左移, 表示离子通道对膜电位的响应性进一步减弱。辐射8周组的半数失活电压为 $-50.11$  V。与辐射4周组相比, 辐射6周后 $K^+$ 通道的失活动力学曲线进一步发生左移, 这意味着 $K^+$ 通道在更低电压下的失活更短暂, 失活状态更不稳定。

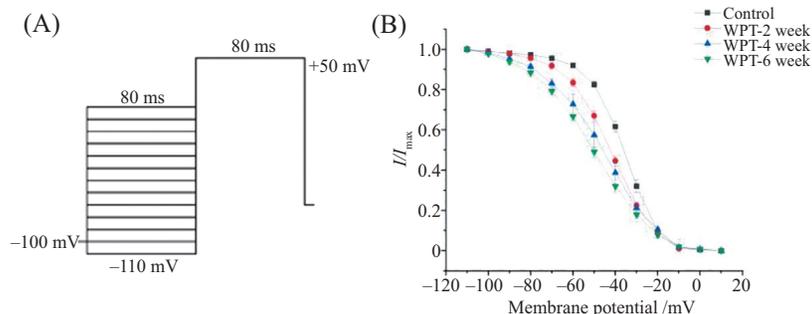
表1  $I_A$ 的激活曲线参数

Table 1 The activation parameters of  $I_A$

组别 Group	半数激活电压/mV $V_{1/2}$ /mV	斜率因子 $k$
Control	$-9.552 \pm 2.860$	$24.370 \pm 2.094$
WPT-2 week	$14.971 \pm 1.145^{***}$	$22.982 \pm 1.695$
WPT-4 week	$11.348 \pm 1.976^{***}$	$22.790 \pm 2.136$
WPT-6 week	$5.628 \pm 2.395^*$	$23.157 \pm 2.419$

\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ , 相较于对照组。

\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$  compared with the control group.



A:  $I_A$ 的失活刺激脉冲; B:  $I_A$ 的失活动力学曲线。

A: deactivation stimulation procedure of  $I_A$ ; B: deactivation dynamic curve of  $I_A$ .

图9  $I_A$ 的失活过程

Fig.9  $I_A$  inactivation process

同时,随着辐射时间的增加,失活动力学曲线的斜率 $k$ 也逐渐增大,这意味着失活过程的速度加快。较大的斜率值表示失活过程更陡峭,即 $K^+$ 通道从激活状态向失活状态的转变更快。

**2.5.4 小功率WPT电磁环境对 $I_A$ 复活动力学曲线的影响** 在全细胞记录模式下,将钳制电位设置为 $-100\text{ mV}$ ,预先给予两个时长为 $80\text{ ms}$ , $+50\text{ mV}$ 的条件脉冲与测试脉冲,两个脉冲之间保持钳制电位为 $-100\text{ mV}$ ,时间为1至 $256\text{ ms}$ (图10A),可得到一组瞬时外向钾电流,此为 $I_A$ 的失活再恢复的过程。以间隔时间为横坐标,测试脉冲的峰电流与条件脉冲的峰电流的比值 $I_2/I_1$ 为纵坐标绘制恢复散点图(图

10B)。然后利用公式 $I_2/I_1=A+B\times\exp(-t/\tau)$ 对得到的恢复散点图进行拟合,其中 $I_1$ 为条件脉冲的峰电流, $I_2$ 为测试脉冲的峰电流, $\tau$ 为恢复时间常数。通过复活动力学曲线可以看出,与对照组相比,辐射组的复活动力学曲线的趋势是逐步右移的(表3),这一结果意味着 $K^+$ 通道从失活状态恢复到激活状态的速度变慢,且 $K^+$ 通道对小功率WPT电磁环境具有时间依赖性。

## 2.6 不同辐射时长对海马CA1区的神经元延迟整流钾通道电流的影响

为了阻断小鼠海马锥体细胞的 $I_A$ 、钙电流和钠电流,选用全细胞外液,加入终浓度为 $3\text{ mmol/L}$ 的

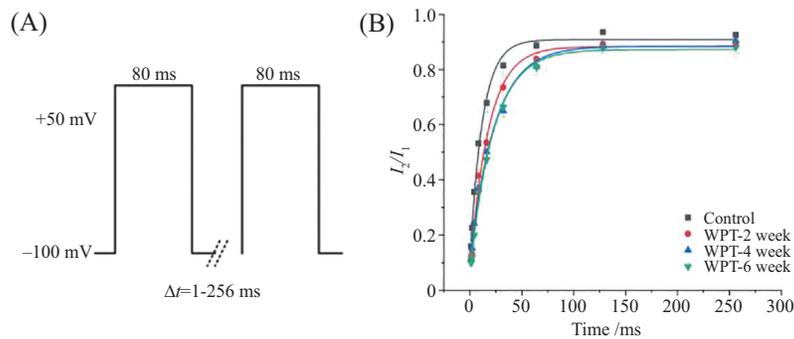
表2  $I_A$ 的失活曲线参数

Table 2 The deactivation parameters of  $I_A$

组别 Group	半数失活电压/mV $V_{1/2}/\text{mV}$	斜率因子 $k$
Control	$-34.834\pm 0.397$	$8.219\pm 0.341$
WPT-2 week	$-42.030\pm 0.315^*$	$10.554\pm 0.335^*$
WPT-4 week	$-45.626\pm 0.581^{**}$	$14.058\pm 0.562^{***}$
WPT-6 week	$-50.110\pm 0.428^{***}$	$14.527\pm 0.474^{***}$

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , 相较于对照组。

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  compared with the control group.



A:  $I_A$ 复活刺激脉冲; B:  $I_A$ 的复活动力学曲线。

A: resurrection stimulation procedure of  $I_A$ ; B: recovery dynamic curve of  $I_A$ .

图10  $I_A$ 的复活过程

Fig.10  $I_A$  resurrection process

表3  $I_A$ 的复活曲线参数

Table 3 The recovery parameters of  $I_A$

组别 Group	恢复时间常数 $\tau$
Control	$8.444\pm 0.935$
WPT-2 week	$12.461\pm 1.142^*$
WPT-4 week	$16.598\pm 1.596^{***}$
WPT-6 week	$15.639\pm 1.135^{**}$

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , 相较于对照组。

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  compared with the control group.

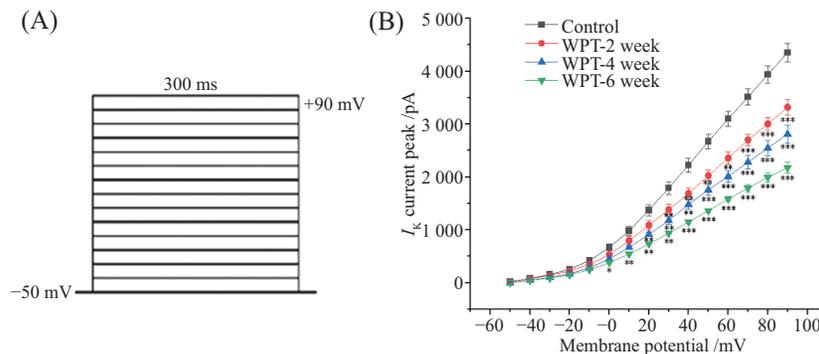
4-AP, 使用NaOH将pH调节至7.4, 选用K<sup>+</sup>通道电极内液。由于I<sub>k</sub>的激活过程为延迟激活, 具有短时间内不失活, 失活速度缓慢的特点, 因此在实验中不考虑I<sub>k</sub>的失活与复活过程<sup>[39]</sup>。

2.6.1 小功率WPT电磁环境对I<sub>k</sub>电流幅值的影响  
在全细胞记录模式下, 将钳制电位设定为-50 mV, 给予细胞一段时长为300 ms, 步阶为10 mV, 从-50 mV至+90 mV的去极化脉冲刺激后, 可得到一组外向电流I<sub>k</sub>。以膜电位为横轴, 激活得到的I<sub>k</sub>峰值为纵轴, 绘制I<sub>k</sub>的I-V动力学曲线(图11B), 由这一散点图可以看出, 对照组的I<sub>k</sub>电流峰值明显高于辐射组, 表明小功率WPT电磁环境对I<sub>k</sub>电流的幅值产生了显著影响, 趋势方面, 辐射组的I<sub>k</sub>电流随着辐射时间的增加呈逐渐下降的趋势, 与对照组之间存在显著性差异。这意味着小功率WPT电磁环境对I<sub>k</sub>电流的调节机制与暴露时间相关, 并对神经细胞的电生理特性产生持续的影响。综合而言, 我们观察到电磁环境导致

I<sub>k</sub>电流的显著下降, 而对照组表现出较高的I<sub>k</sub>电流峰值。这些结果表明小功率WPT电磁环境对I<sub>k</sub>电流的调控产生了明显的影响, 并且随着辐射时间的延长, I<sub>k</sub>电流的下降趋势进一步加强。

2.6.2 小功率WPT电磁环境对I<sub>k</sub>激活动力学曲线的影响  
将钳制电位设定为-50 mV, 预先给予-110 mV波宽为400 ms的超极化条件刺激, 然后给予-50 mV至+90 mV, 步阶10 mV, 波宽为150 ms的去极化测试脉冲, 得到一组延迟整流钾电流, 此为I<sub>k</sub>的稳态激活过程。利用公式 $G=I/(V_m-V_r)$ 将所得延迟整流钾电流值转换为电导值, 其中G为电导, I为不同测试脉冲下的电流峰值, V<sub>m</sub>为膜电位, V<sub>r</sub>为反转电位, 以膜电位为横坐标, G/G<sub>max</sub>为纵坐标, 绘制通道的激活散点图(图12B)。然后利用 Boltzmann 方程  $G/G_{max}=1/\{1+\exp[(V_m-V_{1/2})/k]\}$  对得到的散点图进行拟合, 其中V<sub>m</sub>为膜电位, V<sub>1/2</sub>为半数激活电压, k为斜率因子。

通过I<sub>k</sub>激活动力学曲线, 可以看出, 在对照组和

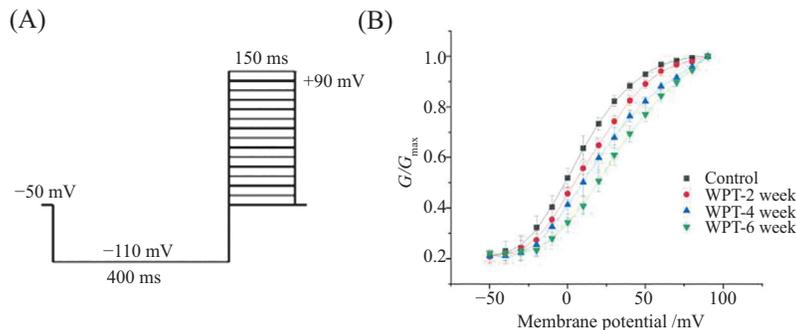


A: I<sub>k</sub> I-V刺激脉冲; B: I<sub>k</sub>的I-V曲线。\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001, 相较于对照组。

A: I-V stimulation pulse of I<sub>k</sub>; B: I-V stimulation dynamic curve of I<sub>k</sub>. \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 compared with the control group.

图11 I<sub>k</sub>的I-V刺激程序

Fig.11 I-V stimulation procedure for I<sub>k</sub>



A: I<sub>k</sub>的激活刺激脉冲; B: I<sub>k</sub>的激活动力学曲线。

A: activation stimulation pulses for I<sub>k</sub>; B: activation dynamic curve of I<sub>k</sub>.

图12 I<sub>k</sub>的激活过程

Fig.12 I<sub>k</sub> activation process

表4  $I_K$ 的激活曲线参数Table 4 The deactivation parameters of  $I_K$ 

组别 Group	半数激活电压/mV $V_{1/2}$ /mV	斜率因子 $k$
Control	8.554±0.767	17.595±0.730
WPT-2 week	17.215±1.119	23.418±1.242
WPT-4 week	17.545±1.584	22.510±1.832
WPT-6 week	32.394±2.152***	22.459±2.314

\*\*\* $P < 0.001$ , 相较于对照组。

\*\*\* $P < 0.001$  compared with the control group.

辐射组中,  $I_K$ 的激活动力学曲线呈现典型的S形状, 表明延迟整流 $K^+$ 通道的激活动力学特性存在明显的电压依赖性。与对照组相比, 辐射组的 $I_K$ 激活动力学曲线整体呈现向右偏移的趋势, 即 $V_{1/2}$ 随辐射时长增加。使用 $t$ 检验分析方法, 我们发现对照组和辐射6周组的 $V_{1/2}$ 之间存在统计学差异。这些结果表明小功率WPT电磁环境对延迟整流 $K^+$ 通道的激活动力学特性产生了明显的影响。尽管小功率WPT电磁环境对 $I_K$ 激活动力学曲线的影响明显, 但我们的结果显示, 斜率因子 $k$ 的统计学差异不明显。这表明小功率WPT电磁环境对 $I_K$ 的斜率特性影响较小, 主要影响了激活膜电位的变化。

### 3 讨论

海马CA1区的神经元是大脑中与学习和记忆高度相关的结构之一<sup>[40]</sup>。海马CA1区对空间信息的处理是其显著的功能之一。它接收来自环境中不同位置的信息, 并在工作记忆中暂时存储这些信息。这使得大脑能够在空间导航和认知任务中使用工作记忆功能;  $Ca^{2+}$ 信号在海马CA1区的神经元内部扮演着关键角色, 参与了神经元的兴奋性、突触可塑性以及信息存储和检索; 神经元的兴奋是神经元产生动作电位的状态, 而动作电位是神经元膜电位由负值迅速上升到正值, 再快速恢复至负值的瞬时电压变化。这一短暂的电压变化是神经元兴奋的标志; 电压门控 $K^+$ 通道控制了海马锥体细胞膜电位的变化, 影响了海马CA1区神经元的兴奋性与抑制性。 $Ca^{2+}$ 信号、动作电位以及 $K^+$ 通道电流的相互作用与海马CA1区神经元的兴奋性调控有关, 包括对 $Ca^{2+}$ 浓度的调节、对动作电位的发放状态以及 $K^+$ 通道开放与关闭的影响。在神经元兴奋过程中, 有研究表明, 电磁场暴露能够引起工作记忆能力、钙稳态、海马组织结构、动作电位以及神经元离子通道的变化<sup>[41-44]</sup>。

因此, 本文使用水迷宫实验、光纤光度实验、HE染色法与全细胞膜片钳技术, 观察小功率WPT电磁环境对小鼠海马CA1区的神经元兴奋性的影响。

在莫里斯水迷宫实验中, 各组小鼠的探索期运动轨迹、训练阶段的逃避潜伏期以及穿越平台的次数以及目标象限的时间百分比均无显著性差异。目标象限中的运动轨迹增加和时间比例增加意味着小功率WPT电磁环境提高了小鼠工作记忆能力。然而, 这些变化并未达到统计学上的显著差异; 辐射6周组小鼠在穿越平台次数和目标象限百分比方面显示出与对照组最大的差异。这一结果说明了小功率WPT电磁环境对小鼠的工作记忆能力产生了一定的影响趋势, 但这种影响可能较为细微, 不足以在实验数据中得到明确体现。因此我们认为, 小功率WPT电磁环境不会对小鼠的工作记忆能力产生显著的影响。

在光纤光度实验中, 辐射组小鼠 $Ca^{2+}$ 荧光信号的变化显著高于对照组, 在第4周, 荧光信号达到了最大峰值。这表明小功率WPT电磁环境促进了海马CA1区神经元的放电活动。荧光信号的幅值变化的原因是该环境对 $Ca^{2+}$ 浓度的调节, 导致海马CA1区神经元放电活动的增强。根据辐射4周组与辐射6周组的数据可以看出, 小鼠的 $Ca^{2+}$ 信号峰值开始下降, 并且热度图显示了同样的结果。有研究表明, 电磁辐射会导致细胞膜发生电穿孔现象, 使得胞外 $Ca^{2+}$ 内流趋势增大, 胞内 $Ca^{2+}$ 超载, 最终导致细胞凋亡<sup>[45-47]</sup>, 还有研究表明暴露于射频电磁场可能会改变细胞内 $Ca^{2+}$ 的浓度, 即通过降低 $Ca^{2+}$ 浓度实现稳态。海马体中的通道表达, 可能是通过激活自噬途径, 同时抑制细胞凋亡作为暴露于射频电磁场的适应过程<sup>[48]</sup>。

为进一步确定引起 $Ca^{2+}$ 信号变化的原因, 我们使用HE染色法观察小功率WPT电磁环境对小鼠海马锥体细胞数量的影响。结果显示, 各组小鼠的海马锥体细胞数量没有显著性差异, 这一结果表明, 长

期暴露于小功率WPT电磁环境下,使得小鼠海马锥体细胞发生了适应性反应。海马锥体细胞通过调节其生存机制(如维持海马锥体细胞膜完整性、维持胞内稳定的离子浓度)适应环境的变化,维持海马锥体细胞数量在一个相对稳定的水平。结合光纤光度实验实验的结果,小功率WPT电磁环境对海马CA1区神经元的影响不是通过细胞凋亡来实现的。因此,我们认为,在辐射6周后,海马锥体细胞通过调节细胞自身的稳态来适应小功率WPT电磁环境的影响,即小鼠逐渐适应了小功率WPT电磁环境。

在膜片钳实验中,我们对小鼠海马CA1区的神经元的静息膜电位、500 ms内动作电位放电个数、阈值电位、峰值电位、达峰时间、半波宽进行了分析。统计学分析结果显示,随着小功率WPT电磁环境暴露时间的增加,小鼠海马CA1区的神经元的静息膜电位逐渐升高,但在磁场暴露6周时出现降低趋势。事后分析发现,辐射6周组与辐射4周组、辐射2周组均存在显著性差异。这一结果说明了小功率WPT电磁环境引起细胞膜通透性的变化,导致离子的外流或内流增加,从而影响静息膜电位<sup>[49]</sup>。小鼠海马CA1区的神经元的动作电位个数随着电磁环境暴露时间的增加逐渐升高,但在磁场暴露6周时出现降低趋势。这一结果说明小功率WPT电磁环境提高了海马CA1区的神经元的兴奋性,导致了动作电位的生成和传导更加频繁。相似的,动作电位阈值,动作电位半波宽均显现出与动作电位放电个数相似的趋势,这说明了小功率WPT电磁环境改变了海马CA1区神经元膜的电学性质,使得海马CA1区的神经元对刺激的敏感性增加;海马CA1区神经元膜的电学性质变化导致动作电位的持续时间减短。小功率WPT电磁环境不同暴露时长对动作电位达峰时间具有显著性影响,即随着电磁环境暴露时间的增加,动作电位达峰时间逐渐呈下降趋势。这一结果说明了小功率WPT电磁环境影响了离子通道的打开和关闭速度,使得动作电位的达峰时间缩短。

之后,我们利用全细胞膜片钳技术对 $I_A$ 的电流幅值,激活、失活、复活的动力学曲线以及 $I_K$ 电流幅值,激活动力学曲线进行了分析。 $I_A$ 以及 $I_K$ 的电流幅值的曲线图显示,辐射组的电流幅值明显小于对照组,随着辐射时间的增加逐渐下降,这表明小功率WPT电磁环境对 $I_A$ 的表达产生了明显的抑制效应,并且这种抑制效应具有时间依赖性。通过 $I_A$ 与 $I_K$ 的

激活动力学曲线可以看出,辐射组的曲线整体上呈现向去极化方向偏移的趋势,这意味着在相同的电压下, $I_A$ 与 $I_K$ 的激活水平降低,这一结果导致了海马CA1区神经元产生动作电位的速度变快。通过 $I_A$ 的失活动力学曲线可以看出,辐射组的曲线整体上呈现反S形的特征,并与对照组相比向左偏移。这证明了长时间处于小功率WPT电磁环境中可使 $I_A$ 的失活特性发生明显的改变,包括失活速率的增加和去极化方向偏移;通过 $I_A$ 的复活动力学曲线可以看出,辐射组的 $I_A$ 复活曲线相对于对照组呈现向右偏移的趋势,即 $I_A$ 失活后的恢复时间显著延长。辐射2周组、辐射4周组和辐射6周组的 $I_A$ 复活时间与对照组相比显著延长。这说明小功率WPT电磁环境对 $I_A$ 通道的复活过程产生了明显的影响,导致了恢复速度变慢。

神经元兴奋性是指神经元处于能够产生和传播动作电位的状态,而动作电位是兴奋状态中的显著电压变化。延迟整流外向钾通道是分布在多种兴奋性细胞膜上的电压敏感性钾通道,包括心肌细胞和神经细胞。在这些细胞中,电生理信号的特性在很大程度上受到不同类型的 $K^+$ 通道的控制<sup>[50-51]</sup>,并且电压门控 $K^+$ 通道具有调节静息膜电位以及复极化的作用<sup>[52]</sup>。全细胞膜片钳实验结果表明,小功率WPT环境抑制了 $I_A$ 和 $I_K$ 的激活过程,动作电位复极化,延迟 $K^+$ 通道的开放过程,加快钾离子通道的关闭过程。这些变化意味着 $K^+$ 外流的减少,导致胞内 $K^+$ 的升高,使得海马CA1区的神经元兴奋性增强。郑羽等<sup>[53]</sup>探究2 450 MHz射频磁场辐射对小鼠脑皮层神经元 $I_K$ 的影响,得出了与本研究相似的结果,射频磁场作用使得延迟整流钾电流稳态激活曲线向去极化方向移动,半数激活电压增大。

## 4 结论

本研究实验结果表明,小功率WPT电磁环境促进海马CA1区的神经元的放电活动,导致 $Ca^{2+}$ 荧光信号强度增加。随着辐射时间的增长,荧光信号峰值逐渐降低。小功率WPT电磁环境促进了动作电位的发放,加速了小鼠海马CA1区的神经元的兴奋过程,抑制了 $I_A$ 与 $I_K$ 的激活过程, $I_A$ 通道的激活曲线向去极化方向偏移。根据上述结果,我们得出:小功率WPT电磁环境促使了海马CA1区的神经元钙释放增加,提高了海马锥体细胞的兴奋性。

## 参考文献 (References)

- [1] TSIEN J Z, HUERTA P T, TONEGAWA S. The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory [J]. *Cell*, 1996, 87(7): 1327-38.
- [2] JOLAS T, ZHANG X S, ZHANG Q, et al. Long-term potentiation is increased in the CA1 area of the hippocampus of APPswe/ind CRND8 mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2002, 11(3): 394-409.
- [3] MARTEL J, CHANG S H, CHEVALIER G, et al. Influence of electromagnetic fields on the circadian rhythm: implications for human health and disease [J]. *Biomed J*, 2023, 46(1): 48-59.
- [4] SPANDOLE-DINU S, CATRINA A M, VOINEA O C, et al. Pilot study of the long-term effects of radiofrequency electromagnetic radiation exposure on the mouse brain [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2023, 20(4): 3025.
- [5] 包业炜, 房晓, 甘欣欣, 等. 非电离辐射损害男性生育功能生物学机制的研究现状 [J]. *海军军医大学学报 (BAO Y W, FANG X, GAN X X, et al. Research status on the biological mechanism of non-ionizing radiation damage to male reproductive function [J]. Academic Journal of Naval Medical University)*, 2022, 43(3): 308-13.
- [6] LOWDEN A, NAGAI R, ÅKERSTEDT T, et al. Effects of evening exposure to electromagnetic fields emitted by 3G mobile phones on health and night sleep EEG architecture [J]. *Sleep Res*, 2019, 28(4): 1-9.
- [7] CHEN H F. Research on the influence of radio frequency electromagnetic fields on visual systems and damage thresholds [J]. *Technological*, 2020(30): 2.
- [8] GAUTAM R, PRIYADARSHINI E, NIRALA J P, et al. Impact of nonionizing electromagnetic radiation on male infertility: an assessment of the mechanism and consequences [J]. *Int J Radiat Biol*, 2022, 98(6): 1063-73.
- [9] 王龙龙. 工频磁场对大鼠工作记忆神经电信号的影响 [D]. 天津: 河北工业大学(WANG L L. Effect of power frequency magnetic field on electrical neural signals in working memory in rats [D]. Tianjin: Hebei University of Technology), 2017.
- [10] 陶嘉雯, 马秦龙, 龚明月, 等. 50 Hz磁场暴露对Neuro2a/APP(695)细胞基因转录的影响[J]. *陆军军医大学学报(TAO J W, MA Q L, GONG M Y, et al. Effect of 50 Hz magnetic field exposure on gene transcription in Neuro2a/APP(695) cells [J]. Journal of the Army Medical University)*, 2023, 45(18): 1894-906.
- [11] ZHANG J, SUMICH A, WANG G Y, et al. Acute effects of radiofrequency electromagnetic field emitted by mobile phone on brain function [J]. *Bioelectromagnetics*, 2017, 38(5): 329-38.
- [12] FARASHI S, BASHIRIAN S, KHAZAEI S, et al. Mobile phone electromagnetic radiation and the risk of headache: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2022, 35: 1-15.
- [13] HASAN I, JAHAN M R, ISLAM M N, et al. Effect of 2 400 MHz mobile phone radiation exposure on the behavior and hippocampus morphology in Swiss mouse model [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2022, 29(1): 102-10.
- [14] 蒋廷锋, 叶菁华, 施开波, 等. 微波技术在大脑深层信息探测的应用研究进展[J]. *太赫兹科学与电子信息学报(JIANG T F, YE J H, SHI K B, et al. Research progress on the application of microwave technology in the detection of deep brain information [J]. Journal of Terahertz Science and Electronic Information Technology)*, 2023, 21(9): 1124-34.
- [15] 郑羽. 低频低剂量电磁场对海马CA1区细胞电生理活动的影响 [C]//中国力学学会动力学与控制专业委员会神经动力学专业组. 第四届全国神经动力学学术会议摘要集. 天津工业大学生物医学工程系, 2018: 2.
- [16] 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.
- [17] HAINMUELLER T, BARTOS M. Dentate gyrus circuits for encoding, retrieval and discrimination of episodic memories [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(3): 153-68.
- [18] XU F, BAI Q, ZHOU K, et al. Age-dependent acute interference with stem and progenitor cell proliferation in the hippocampus after exposure to 1800 MHz electromagnetic radiation [J]. *Electromagn Biol Med*, 2017, 36(2): 158-66.
- [19] KUMAR R, DESHMUKH P S, SHARMA S, et al. Effect of mobile phone signal radiation on epigenetic modulation in the hippocampus of Wistar rat [J]. *Environ Res*, 2021, 192: 110297.
- [20] BINGMAN V P, PEMBERTON M L, MORA C V. Avian forebrain processing of magnetic intensity and inclination: hippocampus, anterior forebrain Wulst and an unexpected double-dissociation [J]. *Monit Zool Ital*, 2021, 33(3): 230-47.
- [21] GEILLER T, SADEH S, ROLOTTI S V, et al. Local circuit amplification of spatial selectivity in the hippocampus [J]. *Nature*, 2022, 601(7891): 105-9.
- [22] 谢红, 成蕊希, 韵迪, 等. 长期记忆存储的神经编码与调控 [J]. *科学通报(XIE H, CHENG R X, YUN D, et al. Neural encoding and regulation of long-term memory storage [J]. Scientific Bulletin)*, 2023, 68(16): 2016-28.
- [23] JEONG N, SINGER A C. Learning from inhibition: functional roles of hippocampal CA1 inhibition in spatial learning and memory [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2022, 76: 102604.
- [24] GEILLER T, PRIESTLEY J B, LPSNCZY A. A local circuit-basis for spatial navigation and memory processes in hippocampal area CA1 [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2023, 79: 102701.
- [25] HOSSEINI E, KIANIFARD D. Effect of prenatal stress and extremely low-frequency electromagnetic fields on anxiety-like behavior in female rats: with an emphasis on prefrontal cortex and hippocampus [J]. *Brain Behav*, 2023, 13(4): e2949.
- [26] ZHAO W, DONG L, TIAN L, et al. Changes in intracellular calcium concentration level accompany age-related inhibitions of long-term potentiation in hippocampus induced by extremely low frequency electromagnetic fields [J]. *Eur J Neurosci*, 2023, 58(2): 2437-50.
- [27] HAO Y, LIU W, XU Z, et al. High-power electromagnetic pulse exposure of healthy mice: assessment of effects on mice cognitions, neuronal activities, and hippocampal structures [J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 898164.
- [28] 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): 873-83.
- [29] LOBOS P, CÓRDOVA A, VEGA-VÁSQUEZ I, et al. RyR-mediated  $Ca^{2+}$  release elicited by neuronal activity induces nuclear  $Ca^{2+}$  signals, CREB phosphorylation, and Npas4/RyR2 expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(33): e2102265118.
- [30] 窦珺荣. 低强度低频磁场对大鼠海马CA1区神经元电生理特性的影响 [D]. 天津: 天津工业大学 (DOU J R. Effect of low-

- intensity low-frequency magnetic field on the electrophysiological properties of neurons in the CA1 region of rat hippocampus [D]. Tianjin: Tianjin Polytechnic University, 2018.
- [31] DOU Y, XIA J, GAO R, et al. *Orai1* plays a crucial role in central sensitization by modulating neuronal excitability [J]. *J Neurosci*, 2018, 38(4): 887-900.
- [32] MCQUATE A, LATORRE-ESTEVEZ E, BARRIA A. A Wnt/calcium signaling cascade regulates neuronal excitability and trafficking of NMDARs [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(1): 60-9.
- [33] TANNER G R, TZINGOUNIS A V. The mammalian nodal action potential: new data bring new perspectives [J]. *Adv Physiol Educ*, 2022, 46(4): 693-702.
- [34] SANCHO M, KYLE B D. The large-conductance, calcium-activated potassium channel: a big key regulator of cell physiology [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 750615.
- [35] CHOLERIS E, THOMAS A W, OSSENKOPP K P, et al. Sex differences in conditioned taste aversion and in the effects of exposure to a specific pulsed magnetic field in deer mice *Peromyscus maniculatus* [J]. *Physiol Behav*, 2000, 71(3/4): 237-49.
- [36] GUO Q, ZHOU J, FENG Q, et al. Multi-channel fiber photometry for population neuronal activity recording [J]. *Biomed Opt Express*, 2015, 6(10): 3919-31.
- [37] LIU X, CHEN C, LIU Y, et al. Gentle handling attenuates innate defensive responses to visual threats [J]. *Front Behav Neurosci*, 2018, 12: 239.
- [38] DONG X, ZHANG X, WANG F, et al. Simultaneous calcium recordings of hippocampal CA1 and primary motor cortex M1 and their relations to behavioral activities in freely moving epileptic mice [J]. *Exp Brain Res*, 2020, 238(6): 1479-88.
- [39] 尹晓楠, 徐桂芝, 朱海军, 等. 不同频率磁刺激对离体脑片神经元兴奋性及电压门控型钾通道影响的研究 [J]. *生物医学工程学杂志* (YIN X N, XU G Z, ZHU H J, et al. Effect of different frequencies of magnetic stimulation on neuronal excitability and voltage-gated potassium channels in isolated brain slices [J]. *Journal of Biomedical Engineering*), 2021, 38(2): 224-31.
- [40] TYUKIN I, GORBAN A N, CALVO C, et al. High-dimensional brain: a tool for encoding and rapid learning of memories by single neurons [J]. *Bull Math Biol*, 2019, 81: 4856-88.
- [41] PANAGOPOULOS D J, KARABARBOUNIS A, YAKYMENKO I, et al. Human made electromagnetic fields: ion forced oscillation and voltage-gated ion channel dysfunction, oxidative stress and DNA damage [J]. *Int J Oncol*, 2021, 59(5): 1-16.
- [42] GOLBACH L A, PORTELLI L A, SACELKOUL H F J, et al. Calcium homeostasis and low-frequency magnetic and electric field exposure: a systematic review and meta-analysis of *in vitro* studies [J]. *Environ Int*, 2016, 92: 695-706.
- [43] ZHU R, WANG H, XU X, et al. Effects of 1.5 and 4.3 GHz microwave radiation on cognitive function and hippocampal tissue structure in Wistar rats [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1-12.
- [44] AZIZI M S N, SALLEH A, OTHMAN A, et al. Non-ionizing (ultra-wideband frequency) electromagnetic radiation effect on nerve fiber action potential of human body [J]. *J Teknol*, 2016, 78(5/6): 131-7.
- [45] ZHENG W, MI Y, MA C, et al. A perspective on modeling pore energy and pulsed electromagnetic field induced cell membrane perforation [J]. *J Appl Phys*, 2023, doi: 10.1063/5.0139065.
- [46] MIKLAVCIC D, NOVICKIJ V, KRANJC M, et al. Contactless electroporation induced by high intensity pulsed electromagnetic fields via distributed nanoelectrodes [J]. *Bioelectrochemistry*, 2020, 132: 107440.
- [47] ŁAPIŃSKA Z, SZWEDOWICZ U, CHOROMAŃSKA A, et al. Electroporation and electrochemotherapy in gynecological and breast cancer treatment [J]. *Molecules*, 2022, 27(8): 2476.
- [48] FEDERICO B, REBECCA L, SILIVA S R P, et al. Effects of electromagnetic fields on neuronal ion channels: a systematic review [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2021, 1499(1): 82-103.
- [49] PEREZ R. Simulation studies of frequency-dependent action potentials in cell axons [D]. Lubbock: Texas Tech University, 2023.
- [50] MCNEILLI J, RUDYK C, HILDEBRAND M E, et al. Ion channels and electrophysiological properties of astrocytes: implications for emergent stimulation technologies [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 644126.
- [51] ANDRÁS V, TOMEK J, NAGY N, et al. Cardiac transmembrane ion channels and action potentials: cellular physiology and arrhythmogenic behavior [J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(3): 1083-1176.
- [52] WILBERS R, METODIEVA V D, DUVERDIN S, et al. Human voltage-gated Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> channel properties underlie sustained fast AP signaling [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(41): eade3300.
- [53] 郑羽, 张洋, 张子钊, 等. 低功率2 450 MHz射频磁场对神经元延迟整流钾通道的抑制作用 [J]. *生物化学与分子生物学报* (ZHENG Y, ZHANG Y, ZHANG Z Z, et al. Inhibition of low-power 2 450 MHz RF magnetic field on neuronal delayed rectification of potassium channels [J]. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*), 2012, 28(6): 561-6.