

# 手机微波辐射对体外培养大鼠晶状体 Bax 表达的影响

史凯, 张文芳, 刘瑜, 李春丽

作者单位: (730030) 中国甘肃省兰州市, 兰州大学第二医院眼科  
 作者简介: 史凯, 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼底病、白内障。  
 通讯作者: 史凯. abcsk123@sina.com  
 收稿日期: 2012-10-29 修回日期: 2013-01-05

**关键词:** 手机辐射; Bax; 晶状体; 免疫组织化学

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.02.12

**引用:** 史凯, 张文芳, 刘瑜, 等. 手机微波辐射对体外培养大鼠晶状体 Bax 表达的影响. 国际眼科杂志 2013;13(2):265-266

## Influence induced by mobile microwave on the expression of Bax in the lens epithelial cells of rat *in vitro*

Kai Shi, Wen-Fang Zhang, Yu Liu, Chun-Li Li

Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

**Correspondence to:** Kai Shi. Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China. abcsk123@sina.com

Received:2012-10-29 Accepted:2013-01-05

### Abstract

• **AIM:** To study the effect of mobile microwave on the expression of Bax in the lens epithelial cells of rat *in vitro*.

• **METHODS:** Bax expression was detected by ELISA and immunohistochemistry after the lenses of rats were cultivated in MEM culture medium.

• **RESULTS:** The expression of Bax in the mobile microwave groups was significantly higher than the control group ( $P < 0.05$ ) and the expression of Bax accumulated while it was exposed in the mobile microwave.

• **CONCLUSION:** Mobile microwave can induce the expression of Bax in the lens epithelial cells of rat and cause cataract.

• **KEYWORDS:** mobile microwave; Bax; lens epithelial cells; immunohistochemistry

**Citation:** Shi K, Zhang WF, Liu Y, *et al.* Influence induced by mobile microwave on the expression of Bax in the lens epithelial cells of rat *in vitro*. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(2):265-266

### 摘要

**目的:** 探讨手机辐射对体外培养大鼠晶状体上皮细胞中 Bax 表达的影响。

**方法:** 采用 ELISA 和免疫组织化学法检测手机辐射后在 MEM 培养液培养 28d 晶状体中 Bax 的表达水平, 裂隙灯下观察晶状体的混浊程度。

**结果:** 手机辐射组 Bax 的表达量均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), Bax 的表达量随着手机辐射时间的增加而增加, 且手机辐射组的晶状体混浊程度较对照组明显增加。

**结论:** 手机微波辐射可增加体外大鼠晶状体中 Bax 的表达, 导致晶状体上皮细胞凋亡和白内障的发生。

### 0 引言

随着无线通讯事业的迅猛发展, 手机电磁辐射对机体的健康影响也越来越多地引起人们的关注。尽管手机厂商及一些相关组织对手机产生的微波辐射效应有着严格的限定, 但现在广泛使用着的低强度、脉冲辐射的通讯微波 (主要指手机) 可产生轻微的非热生物效应。白内障是当今国内外的第一致盲的眼病, 在白内障的致病诱因中, 占第 5 位的是微波辐射<sup>[1]</sup>。眼是人体吸收微波辐射的两个“hot spots”<sup>[2]</sup>, 其中晶状体因含水量较高成为研究的焦点<sup>[3]</sup>, 有研究人员将手机微波辐射称为“甜蜜语言”中的眼睛杀手。我们通过观察手机辐射对体外大鼠晶状体 Bax 的影响和晶状体的混浊程度, 以探讨手机辐射对晶状体影响的分子生物学机制。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康 SPF 级 SD 大鼠 30 只 (兰州大学实验动物中心提供), 雌雄不拘, 体质量 180 ~ 240g, 实验前双眼前节检测均正常, 对动物的处置方法符合动物伦理学要求; 按随机对照分为 3 组 (每组 10 只): A 组为空白对照组; B 组为手机辐射 1h/d 组; C 组为手机辐射 2h/d 组。MEM 培养液、胎牛血清、Bax 鼠单克隆抗体、DAB 显色试剂盒、SABC 免疫组化试剂盒、APES 由武汉博士德公司提供, 细胞凋亡调节基因 (Bax) ELISA Kit (USCNLIFE 公司), ELISA 及免疫组织化学相关设备、微型台式离心机、微型移液管等分别由甘肃省中医学院生化实验室和病理教研组提供。手机型号为摩托罗拉 T2668。

**1.2 方法** 用铁丝将 B 和 C 两组大鼠固定在木板上受同一磁场手机 (同一型号) 影响, 手机均放在大鼠的一侧耳边, 调为通话状态, B 组每天早上 9:00 接受辐射 1h, C 组分别于每天早上 9:00 和下午 15:00 辐射 1h, 共 4wk; 同时用铁丝将 A 组大鼠固定在木板上, 受同一型号手机假辐射 (内无手机卡), 余方法与上同<sup>[4]</sup>。之后统一将所有大鼠用 10g/L 托吡卡胺扩瞳, 3g/L 氟哌酸洗眼, 颈椎脱臼致死, 沿角巩膜缘全周剪开角膜, 取出晶状体, 裂隙灯下观察大鼠晶状体混浊程度, 依据 Zhang 等<sup>[5]</sup>对紫外线白内障进行分级: 0 级: 晶状体透明; 1 级: 晶状体前囊混浊; 2 级: 前囊膜及周边混浊; 3 级: 裂隙灯可见前皮质混浊; 4 级: 皮质混浊明显, 肉眼即可见。然后将大鼠晶状体放入盛有 3mL 的 MEM 培养液 (100mL/L 小牛血清, 青霉素 10 万 U/L, 链霉素 0.1g/L, pH = 7.4) 的 24 孔培养板内, 于 37℃、95% 湿度、50mL/L CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 3h, 取出晶状体作为下一步实验对象。

表1 手机辐射28d后Bax表达及晶状体混浊程度的变化

分组	Bax 含量 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )	Bax 阳性细胞率 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )	晶状体混浊程度(眼, $n=20$ )				
			-	+	++	+++	++++
A组	35.34±2.59	25.20±1.72	0	20	0	0	0
B组	121.23±3.78	38.05±2.23	0	5	7	6	2
C组	227.87±6.21	49.51±2.61	0	2	5	8	5

1.2.1 ELISA 酶联免疫吸附法检测晶状体中 Bax 含量的表达 制备 SD 大鼠晶状体匀浆<sup>[6]</sup>:用圈匙托起晶状体,测质量后,置于含 8.6g/L 生理盐水的匀浆器内,在冰浴下研磨 5min,10000r/min 高速离心 15min,取上清液测定各指标;用纯化的 Bax 抗体包被微孔板,制成固相载体,往包被抗体的微孔中依次加入标本或标准品、生物素化的抗 Bax 抗体、HRP 标记的亲合素,经过彻底洗涤后用底物 TMB 显色。TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 Bax 含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(A 值),计算大鼠晶状体匀浆后所提取样品 Bax 的含量。

1.2.2 免疫组织化学法检测大鼠晶状体中 Bax 蛋白的阳性表达 将手机辐射后各组 10 只大鼠(20 个晶状体)于手机微波辐射造模后 100g/L 甲醛溶液中固定 48h,梯度乙醇脱水,常规石蜡包埋,厚度 4 $\mu\text{m}$  连续切片。免疫组织化学染色检测 Bax 的阳性表达率。Bax 主要在细胞质和(或)细胞核中表达,阳性呈棕黄色颗粒,光镜下观察并照相,分别随机计数每张切片 5 个高倍镜视野(SABC×400),并记录阳性细胞率<sup>[7]</sup>。

统计学分析:所有数据采用 SPSS 16.0 软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,若差异有统计学意义,两组间比较用最小显著差 LSD-t 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 Bax 含量的测定 B 组和 C 组经手机辐射 28d 后晶状体中 Bax 的表达较 A 组明显增加( $P < 0.05$ ),并且随着手机辐射时间的增加表达随之增强(表 1)。

2.2 Bax 阳性细胞率 在手机辐射 28d 后大鼠晶状体 Bax 的表达中, B 组和 C 组比 A 组的阳性细胞率明显增加(表 1)。

2.3 晶状体混浊程度 裂隙灯下观察大鼠晶状体混浊程度,依据 Zhang 等<sup>[5]</sup>对紫外线白内障进行分级:0 级:晶状体透明;1 级:晶状体前囊混浊;2 级:前囊膜及周边混浊;3 级:裂隙灯可见前皮质混浊;4 级:皮质混浊明显,肉眼即可见(表 1)。

## 3 讨论

近年来移动通讯事业蓬勃发展,手机的使用率越来越普遍,在通话时,持机者往往将手机紧贴头部,而手机微波辐射能够穿过皮肤和颅骨<sup>[8]</sup>,使中枢神经系统和眼部晶状体受到较强的微波辐射。而晶状体由透明纤维蛋白构成,含水量高,无血管分布,孤立存在于房水之中,易吸收微波能量而导致损伤,因而是辐射的重要敏感靶器官。细胞凋亡是一种基本的生命现象,贯穿于个体生长发育直至死亡的全过程,这一过程受许多基因调节,其中 Bax 及 Bcl-2 的调节至关重要。Bax 为促凋亡基因,与凋亡抑制基因 Bcl-2 具有同源性,但作用完全相反,Bax 的过表达会拮抗 Bcl-2 的保护效应而使细胞趋于凋亡<sup>[9]</sup>。Alves 等<sup>[10]</sup> 研究认为:Bax 与 Bcl-2 在体内可形成同源二聚体或者异源二聚体,当 Bax 占优势时,凋亡抑制基因 Bcl-2 受到阻遏,从而使细胞凋亡加速。随着凋亡调节基因 Bax 及 Bcl-2 与

疾病关系研究的深入,人们开始关注到 Bax 及 Bcl-2 与晶状体上皮细胞凋亡及白内障的关系。当不同因素如氧化损伤、紫外线在体外和活体实验中均可使晶状体上皮细胞 Bax 表达明显升高,抑制凋亡抑制基因 Bcl-2 的作用,加速晶状体上皮细胞的凋亡,导致晶状体的混浊<sup>[11-16]</sup>。我们通过手机微波辐射影响体外培养的大鼠晶状体中 Bax 表达的研究发现,高辐射量辐射组 Bax 的表达明显高于低辐射量组和对照组,晶状体的混浊程度也有明显差异。但人体作为一个整体,较体外培养的细胞具有更强的代谢和防御能力。因此,探讨人眼接触微波的安全剂量尚需进一步深入研究。

## 参考文献

- 1 叶娟,姚克,吴仁毅,等.低强度微波辐射致兔晶状体上皮细胞超微结构的早期改变.中华眼科杂志 2001;37(1):56-58
- 2 Moneda AP, Ioannidou MP, Chrissoulidis DP. Radio-wave exposure of the human head: analytical study based on a versatile eccentric spheres model including a brain core and a pair of eyeballs. *IEEE Trans Biomed Eng* 2003; 50(6):667-676
- 3 Sun LX, Yao K, He JL, et al. Effect of acute exposure to microwave from mobile phone on DNA damage and repair of cultured human lens epithelial cells *in vitro*. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 2006;24(8):465-467
- 4 梁肖迪,简家辉,蔡彦,等.手机辐射对大鼠晶状体的影响及白内障防护的实验研究.中华中医药学刊 2009;27(5):1058-1059
- 5 Zhang F, Lofgren S, Soderberg PG. Interaction of anaesthetic drugs and UV-B irradiation in the anterior segment of the rat eye. *Acta Ophthalmol Scand* 2007;85(7):745-752
- 6 崔蓓,付清,柳林,等.紫外线辐射致大鼠白内障模型的建立.国际眼科杂志 2009;9(5):836-838
- 7 徐国兴,胡建章,王婷婷,等.热休克蛋白-70 在人类糖尿病性白内障晶状体上皮细胞中的表达及意义.眼视光学杂志 2003;5(2):72-74
- 8 Eulitz C, Ullsperger P, Freude G, et al. Mobile phones modulate response patterns of human brain activity. *Neuroreport* 1998;9(14):3229-3232
- 9 Krajewski S, Mai JK, Krajewska M, et al. Upregulation of Bax protein levels in neurons following cerebral ischemia. *Neurosci* 2005;15:6364-6376
- 10 Alves NL, Lier RA, Eldering E. Withdrawal symptoms on display: Bcl-2 members under investigation. *Trends Immunol* 2007;1:26-32
- 11 Li WC, Spector A. Lens epithelial cell apoptosis is an early event in the development of UVB induced cataract. *Free Radic Biol Med* 1996;20(3):301-311
- 12 Zheng Y, Liu Y, Ge J, et al. Resveratrol protects human lens epithelia cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. *Mol Vis* 2010;16:1467-1474
- 13 孙红,惠延年,王琳,等. Caspase-3 及 Bax 在人晶状体上皮细胞中的表达.第四军医大学学报(*J Fourth Mil Med Univ*) 2003;24(10):940-941
- 14 刘思源,康刚劲.不同浓度 17 $\beta$ -雌二醇对雌性大鼠晶状体上皮细胞凋亡的影响.眼科新进展 2011;31(8):725-729
- 15 李爽乐,罗清礼,李正时,等.银杏叶提取物对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的晶状体上皮细胞 Bcl-2 和 Bax 表达的影响.国际眼科杂志 2006;6(4):787-789
- 16 汪朝阳,黄秀榕,祁明信,等.枸杞多糖对氧化损伤大鼠晶状体上皮细胞凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 表达的调控.眼视光学杂志 2003;5(3):147-149