



磁耦合谐振式无线电能传输磁场对 海马齿状回区神经元K⁺通道的影响*

赵 军^{1,2,3)**} 张冰茜^{1,2,3)} 赵毅航^{1,2,3)} 王晓轩^{1,2,3)}

(¹) 河北工业大学生命科学与健康工程学院, 天津 300130; (²) 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;

(³) 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 目的 磁耦合谐振式无线电能传输 (magnetically-coupled resonant wireless power transfer, MCR-WPT) 具有传输距离较大、传输效率高、穿透性好等优点, 为人们生活带来便利的同时其引起的生物电磁效应安全问题备受人们关注。本文通过研究 MCR-WPT 电磁环境对小鼠海马齿状回 (DG) 区神经元 K⁺ 通道特性的影响, 为无线电能传输 (WPT) 技术的发展及其合理开发应用提供实验依据。方法 每天对小鼠不间断辐射 5 h, 持续 30 d, 对比分析对照组和磁场暴露 5 d、15 d、30 d 组小鼠的学习记忆能力、海马 DG 区神经元的瞬时外向 K⁺ 通道电流 (I_A) 和延迟整流 K⁺ 通道电流 (I_K) 的变化。结果 磁场暴露组瞬时外向 K⁺ 通道的激活过程受到抑制、延迟整流 K⁺ 通道的激活特性向去极化方向移动, 减少 K⁺ 的外流, 增强了神经兴奋性, 但磁场暴露组小鼠行为上无显著性变化。结论 长期处于 MCR-WPT 电磁环境会改变 K⁺ 通道的电流-电压 ($I-V$) 特性和动力学特性, 抑制 I_A 和 I_K , 改变神经元动作电位的发放频率, 但这些变化并没有引起小鼠学习记忆能力的下降以及认知功能障碍。

关键词 K⁺通道, 电流-电压 ($I-V$) 特性, 无线电能传输, 齿状回区

中图分类号 Q689

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0400

随着现代科技的不断发展以及电气化设备在生活中的应用不断增加, 无线电能传输 (wireless power transfer, WPT) 作为一种借助空间无形软介质 (如声波、机械波、磁场、电场等) 通过电源端将电能隔空传递至用电设备的新型电能传输方式, 具有使用寿命长、安全性和灵活性高的特点^[1], 经过多年的发展, 该技术已应用于机器人、智能家居、交通等工业领域^[2-6]。目前, WPT 根据传输过程中能量形式的不同主要分为 3 种方式: a. 基于分离变压器原理的电磁感应式; b. 基于微波辐射的传输方式; c. 磁耦合谐振式。其中, 由于磁耦合谐振式无线电能传输 (magnetically-coupled resonant wireless power transfer, MCR-WPT) 可在数米范围内实现无线供电, 具有传输距离较远、电磁干扰小、传输效率高等特点, 在工业方面优于其他传输方式而被广泛应用^[7-8]。然而, 大量研究表明, 生物体在一定的电磁环境中生存, 生物体的不同部位会产生不同程度的变化, 影响生物体的神经系统、生殖系统、免疫系统、内分泌等维持生命活动正常运动的功能变化, 导致记忆力障碍、情绪易变、抑

郁等行为记忆方面的问题, 有的转变甚至是不可逆的^[9-11]。为了使 MCR-WPT 更好地运用于市场当中, 人体在 MCR-WPT 运行的电磁环境中的安全性是研究的热点之一。

目前有关 WPT 电磁环境的安全性研究大多利用软件仿真计算、对比标准限值来得出是否安全的结论, 若要将该技术大规模应用于市场, 尚缺乏生物实验的数据支撑^[12]。在现有有关电磁环境的安全性研究当中, 长期接受射频 (900 MHz) 电磁辐射可导致大鼠的海马结构发生变化, 并对大鼠认知能力产生不利影响^[13-14]。膜电位是反映细胞功能的重要指标^[15], 低频电磁场会影响离子的跨膜运动, 进而影响细胞膜电位的变化, 使神经系统发生改变^[16-17]。而脉冲磁场和射频磁场会影响皮层神经元细胞膜上 K⁺ 通道的激活、失活等特性, 从而影响神经元的生理特性^[18-20]。

* 国家自然科学基金 (51407058, 52077057) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 13902119116, E-mail: ashunjun@126.com

收稿日期: 2022-08-22, 接受日期: 2023-01-04

因海马区是人体易受电磁环境影响的敏感区域, 其中齿状回 (dentate gyrus, DG) 区在与学习记忆功能密切相关的三突触回路中扮演着至关重要的角色^[21], 故本文选用小鼠海马区 DG 区颗粒神经元作为研究对象。神经元信息系统中的信息传递主要依靠膜电位的发放、频率、峰值来对离子通道进行调控^[22], 离子通道由跨膜蛋白构成, 使 Na⁺、K⁺ 和 Cl⁻ 穿过, 改变细胞内部和外部的电位差以此来改变细胞的生理活动。由于膜内无闸门控制的 K⁺ 通道远多于 Na⁺ 通道, 使得神经元细胞膜对于 Na⁺ 的渗透性远低于 K⁺, 且 Na⁺ 通道的通道电导在相同强度相同频率磁场中的变化并不明显^[23-24], 故实验采用膜片钳技术, 从离子通道角度研究 WPT 电磁环境对颗粒神经细胞 K⁺ 通道的影响。利用新物体识别实验检测小鼠的学习记忆情况, 探究磁场暴露对神经元和学习记忆的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂

人工脑脊液 (ACSF): NaCl 134 mmol/L, KCl 5 mmol/L, NaH₂PO₄ 1.5 mmol/L, MgSO₄ 2 mmol/L, CaCl₂ 2 mmol/L, NaHCO₃ 25 mmol/L, 葡萄糖 10 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, pH 7.3, 使用前通 95% O₂+5% CO₂ 混合气饱和。高糖切片液: KCl 2.5 mmol/L, CaCl₂ 1 mmol/L, MgCl₂ 6 mmol/L, NaH₂PO₄ 1.625 mmol/L, NaHCO₃ 26 mmol/L, 葡萄糖 11 mmol/L, 蔗糖 220 mmol/L, pH 7.4, 使用前通 95% O₂+5% CO₂ 混合气饱和。动作电位电极内液: 葡萄糖酸钾 (K-gluconate) 125 mmol/L, NaCl 15 mmol/L, MgCl₂ 2 mmol/L, CaCl₂ 1 mmol/L, EGTA 11 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Na-ATP 3 mmol/L, Na-GTP 0.3 mmol/L。用 KOH 将 pH 调至 7.2~7.3, 分装冷冻前及使用前都要经 0.22 μm 滤膜过滤。K⁺ 通道记录细胞外液: NaCl 130 mmol/L, KCl 5 mmol/L, CaCl₂ 2 mmol/L, MgCl₂ 1 mmol/L, 葡萄糖 10 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, TTX 0.001 mmol/L, CdCl₂ 0.2 mmol/L。用 NaOH 将 pH 调至 7.4。K⁺ 通道记录电极内液: KCl 140 mmol/L, MgCl₂ 2 mmol/L, EGTA 10 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Mg-ATP 2 mmol/L。用 KOH 将 pH 调至 7.2, 分装冷冻前及使用前都要经 0.22 μm 滤膜过滤。

1.2 脑片的制备与孵育

选用 24 只 1 月龄健康雄性昆明小鼠作为实验对

象, 购买于北京华阜生物科技股份有限公司。使用 10% 浓度的水合氯醛溶液对其进行腹腔注射进行深度麻醉, 迅速斩首取脑, 剥离出切除额叶前端和小脑后端的大脑部分并浸泡在提前准备好的 0~4℃ 冰水混合状态且含饱和氧气的切片液中, 为确保神经细胞的活性, 整个过程控制在 3 min 以内。待大脑在切片液中降温 2~3 min 后取出, 用滤水纸吸干大脑表面溶液, 将其断面大口朝下放置涂有 502 胶水的切片槽中央, 倒入含有冰块的切片液, 调整切片机刀片进刀角度, 后用 VT1200S 切片机 (德国徕卡) 在冰芯切片液中切出 300 μm 的脑切片, 用吸管选择具有完整海马区域的脑片, 并将其置于持续通有 95% O₂+5% CO₂ 混合气体的人工脑脊液孵育槽中, 保持孵育槽温度在 28℃ 的环境中, 孵育约 1 h 后用于实验。该动物实验全部内容均根据中国相关指南和规定进行, 由河北工业大学生物医学伦理委员会审批 (编号为 HEBUTaCUC2020007), 且符合实验动物使用规范。

1.3 磁场装置及实验设计

实验采用小功率 MCR-WPT 装置, 高频电源通过发射线圈传输高频交变电流, 然后与接收线圈发生磁耦合谐振, 从而实现电能从发射端到接收端的高效无线传输过程, 可通过观察发射端与接收端分别带有的功率表调整功率, 无线电能传输装置工作频率位于 45~60 kHz 之间, 实际所采用频率为 $f = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \approx 46.789 \text{ kHz}$ (L 为线圈电感, C 为补偿电容), 发射线圈与接收线圈相距 200 mm、发射线圈 $P_{in} \approx 54.2 \text{ W}$, 负载接收端控制在 $(25 \pm 0.5) \text{ W}$, 发射线圈与接收线圈为边长 32 cm 的正方形基板, 线圈材料为定制的利兹线, 实验系统如图 1 所示。

在小鼠适应环境 1 周后, 将小鼠随机分为 4 组, A、B、C 组为实验组 (A 组辐射 5 d、B 组辐射 15 d、C 组辐射 30 d), D 组对照组, 每个组均为 6 只小鼠。打开无线电能传输试验箱, 将实验组的鼠笼每天放置于发射线圈与接收线圈之间的中部暴露 5 h。由于两线圈规格大小的关系, 两个鼠笼叠加放置, 每日开始前交换鼠笼位置 (图 1c)。对照组在每天相同条件下, 但不打开无线电能传输装置。

为明确两线圈之间的磁场分布情况, 以线圈为中心做一个垂直于线圈的切面, 并计算该切面上线圈电磁场的分布情况 (图 2)。根据三维电磁辐射分析仪的测量结果统计分析可知, 小鼠活动范围的电场强度平均值为 316.8 V/m, 磁感应强度平均值

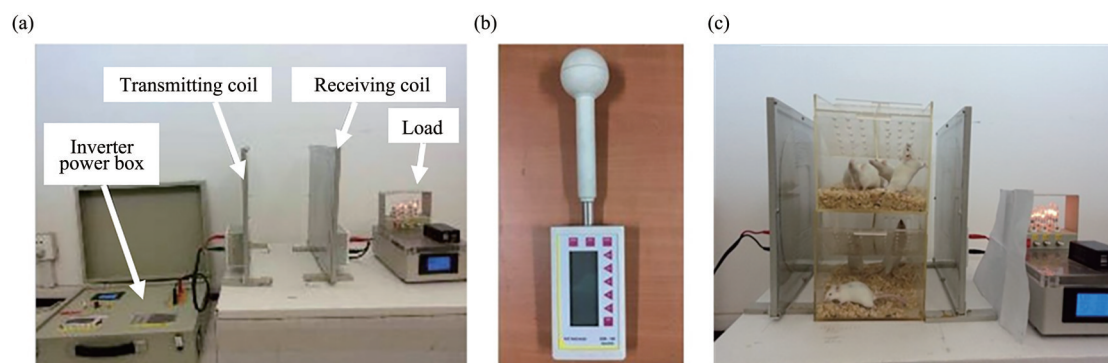


Fig. 1 The electromagnetic exposure experimental platform of WPT

(a) Wireless power transfer system exposure experiment; (b) 3D electromagnetic radiation analyzer; (c) range of motion of mice.

为 $272.5 \mu\text{T}$, 小鼠头部感应电场强度峰值为 0.806 V/m [25]。

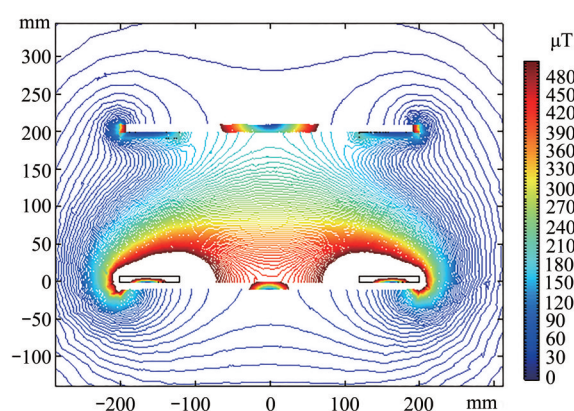


Fig. 2 Distribution of magnetic field

1.4 新物体识别实验

小鼠辐射结束后, 依次单独放入新物体识别实验箱 (江苏赛昂斯生物科技有限公司) 中进行实验, 实验包含 3 个阶段: 熟悉期、测试 I 期和测试 II 期。熟悉期: 提前在箱中底部靠近箱体的一侧平行摆放两个完全相同的物体, 让小鼠在安静且不被打扰的环境中自由活动 5 min 后将其取出, 放回饲养笼中。测试 I 期: 待熟悉期结束 1 h 后进行, 将其中一个物体替换成另一个形状颜色不同但尺寸相当的新物体后, 将小鼠放入相同的环境中自由活动 5 min 后取出, 放回饲养笼中。测试 II 期: 测试 I 期结束 24 h 后进行, 将另一旧物体替换成另一个形状颜色不同但尺寸相当的新物体后, 在相同的环境中放入小鼠自由活动 5 min 后取出, 放回饲养笼中。在实验过程中, 配备 Any-maze 行为学跟踪软件跟踪并记录小鼠的行为轨迹 [26-27]。每只小鼠从实验箱被取出后都需用 75% 的酒精对箱体进行擦拭,

防止上一只小鼠遗留的气味对后来的小鼠行动造成影响。计算新物体的认知指数 (cognitive index, CI), 计算方法为认知指数 = 探索新物体的时间 / (探索新物体的时间 + 探索旧物体的时间) [28]。通过测试 I 期与测试 II 期获得的认知指数分别记为 $CI(1 \text{ h})$ 与 $CI(24 \text{ h})$ 。

1.5 全细胞膜片钳记录

在 $20\sim 25^\circ\text{C}$ 室温环境下, 使用 EPC10 膜片钳信号放大器 (HEKA 公司, 德国) 进行全细胞膜片钳记录, 实验采用外径 1.5 mm 内径 0.86 mm 规格硼硅酸盐材质的玻璃微电极, 经 P-97 拉制仪 (SUTTER 公司, 美国) 两步拉制获得, 往电极中灌注射液后的电极内液至电极针身 1/3 处, 避免安装电极时内液溢出污染电极夹持器, 灌注后可捏住电极尾部轻轻甩动, 将电极内的气泡排出。

将灌注好的电极固定在电极夹持器上, 用吸管选取孵育完成的脑片平铺在膜片钳操作台上的记录槽中, 并用尼龙网固定, 在低倍镜下将脑片海马齿状回尖端移至视野中央后切换为高倍镜及红外场, 在水镜下锁定海马 DG 区内的一个颗粒细胞后标记位置上抬镜头, 将电极缓慢移入记录槽中可看到阻抗为 $5\sim 10 \text{ M}\Omega$, 当电极与细胞膜之间形成高阻封接后 ($>1 \text{ G}$), 给予快电容补偿, 然后用注射器给予适量的脉冲式负压进行破膜。破膜成功即可看到阻值跳变至 $200\sim 300 \text{ M}\Omega$ 左右, 此时细胞内液与电极内液相通, 待电阻稳定后给予慢电容补偿, 之后将记录模式更改为电流钳模式, 可用于记录电压信号, 膜电流置零记录静息膜电位, 给予足够的去极化电流刺激记录诱发动作电位, 将记录模式更改为电压钳模式, 可用于记录离子通道电流信号。

1.6 数据分析

实验结束后, 采用非重复测量的单因素方差

(one-way ANOVA) 分析方法对数据进行分析, 组间的多重比较采用 Tukey-test 分析方法, 事后分析采用 Tukey-test 矫正下的成对 *t* 检验分析方法。使用 GraphPad Prism 6.0 和 Origin2017 软件对结果进行统计并以 $mean \pm SEM$ 的方式表示, 检验水准 0.05。

2 结 果

2.1 MCR-WPT对小鼠学习记忆的影响

在熟悉期的实验阶段中, 对小鼠的运动轨迹进

行数据分析。磁场暴露 5 d 组和磁场暴露 15 d 组的运动轨迹密集程度较高, 磁场暴露 30 d 组运动轨迹最为稀疏, 运行轨迹如图 3 所示。为判定小鼠在不同磁场暴露环境下的运动能力, 对其在熟悉期的运动轨迹长度进行定性分析 (图 4), 小鼠磁场暴露组与对照组在熟悉期的运动轨迹长度皆无显著差异。

新物体识别实验通过设置颜色及形状各异的两类物体来获得小鼠对新旧物体的喜好程度, 分别计

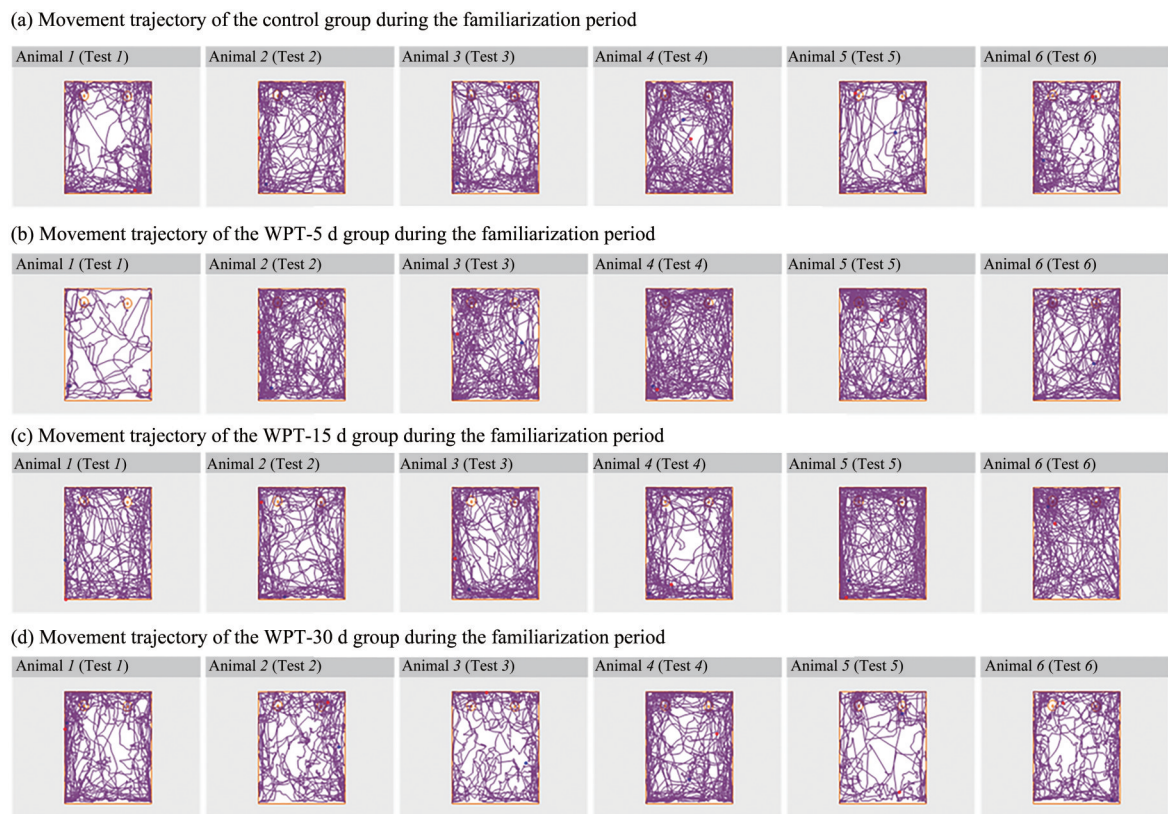


Fig. 3 Motion trajectory during the familiarization period

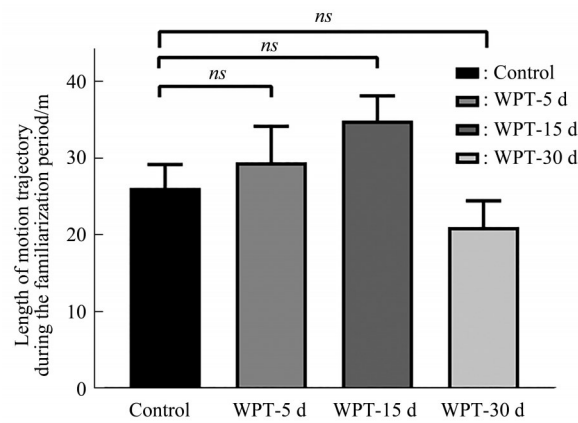


Fig. 4 Length of motion trajectory during the familiarization period

算了测试I期和测试II期小鼠探索新旧物体的次数比和认知指数。实验结果表明, 30 d辐射组与对照

组的新物体识别能力差异最大且 CI 低于对照组, 但无显著性差异 (图5)。

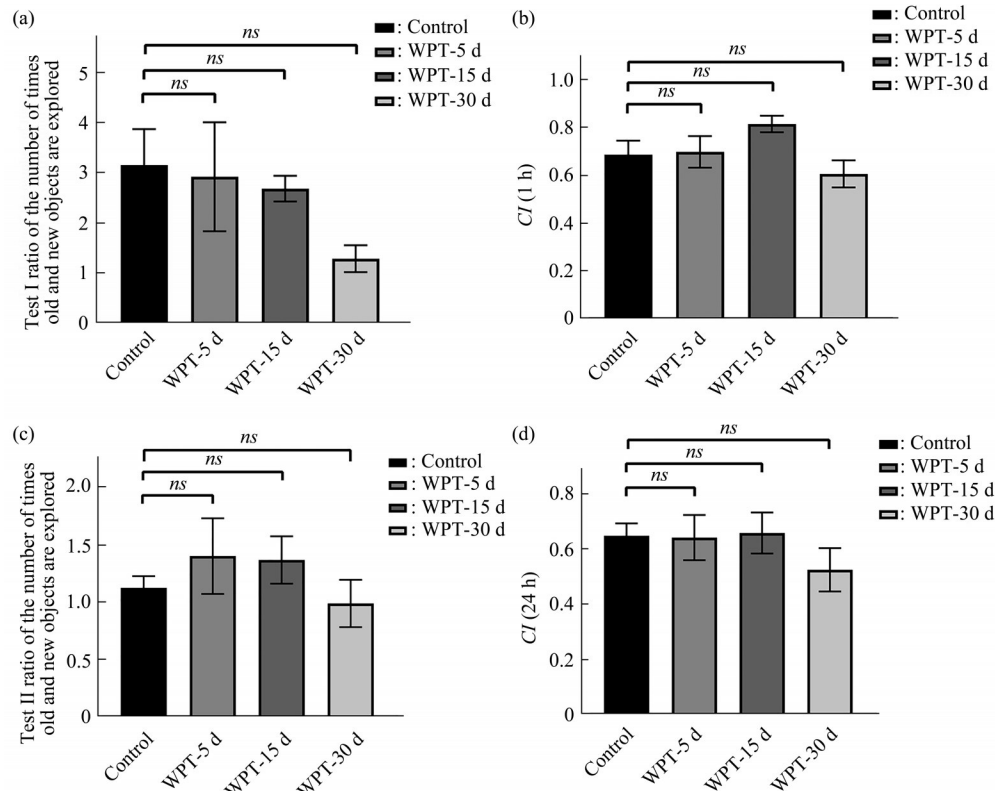


Fig. 5 Test period data analysis

(a) Test I ratio of the number of times old and new objects are explored; (b) Test I CI (1 h); (c) Test II ratio of the number of times old and new objects are explored; (d) Test II CI (24 h).

2.2 MCR-WPT对瞬时外向钾通道电流 (I_A) 的影响

本文主要研究对电流-电压 ($I-V$) 曲线的影响。使用 K^+ 通道电极内液和全细胞外液, 并在外液中加入终浓度为 25 mmol/L 的 TEA-Cl, 使用 NaOH 调节 pH 至 7.4。用于阻断神经元上的 Ca^{2+} 电流、 Na^+ 电流和延迟整流 K^+ 电流。

a. 在全细胞膜记录模式下, 将钳制电位设定为 -100 mV, 给予细胞 $-50 \sim +90$ mV, 步阶 10 mV, 波宽为 200 ms 的去极化脉冲刺激 (图 6a) 后, 可得到一组外向电流 I_A 。以膜电位为横轴, 该膜电位下激活的 I_A 峰值为纵轴, 绘制 I_A 的 $I-V$ 曲线 (图 6b)。对同一膜电位下的电流峰值分析, 对照组 I_A 电流峰值明显大于磁场暴露组, 磁场暴露 30 d 组的 I_A 最小, 磁场暴露 5 d 组的 I_A 在磁场暴露组中最高, 但仍显著小于对照组, 且随着去极化电压的变化, 磁场暴露时间的增加对 I_A 峰值的抑制作用更为明显。说明 MCR-WPT 电磁环境可明显抑制瞬时外向

钾电流 I_A , 且其影响程度随着暴露天数的增加而增强, 具有时间依赖性。

b. 在全细胞膜记录模式下, 将钳制电位设定为 -100 mV, 预先给予 -110 mV 波宽 400 ms 的超极化条件刺激, 然后给予 $-50 \sim +90$ mV, 步阶 10 mV, 波宽为 150 ms 的去极化测试脉冲至 $+90$ mV (图 7a), 得到一组瞬时外向钾电流, 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 为膜电位, V_r 为反转电位。以膜电位为横坐标, G / G_{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 V_m 为膜电位, $V_{1/2}$ 为半数激活电压, k 为斜率因子 (图 7b)。根据得到的曲线图可以看出对照组与磁场暴露组皆呈 S 形, 且与对照组相比, 磁场暴露组曲线皆向右偏移。使用 t 检验

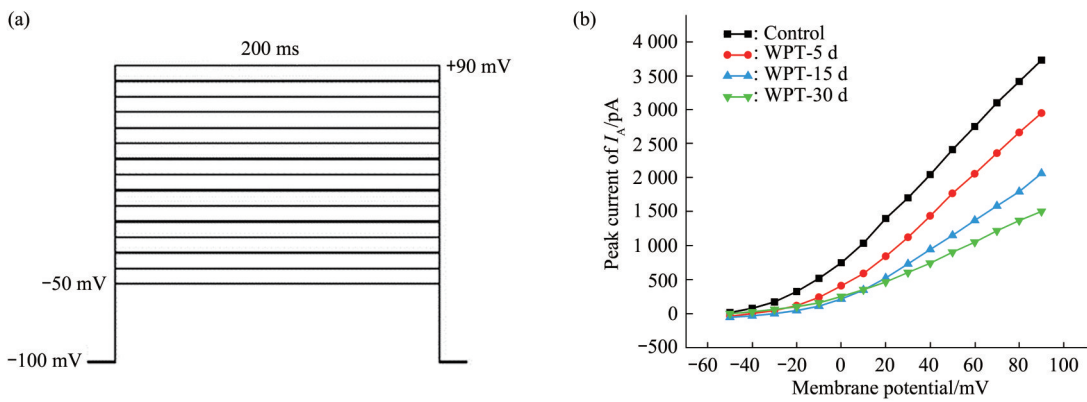


Fig. 6 I - V stimulation procedure (a) and I - V curve (b) of I_A

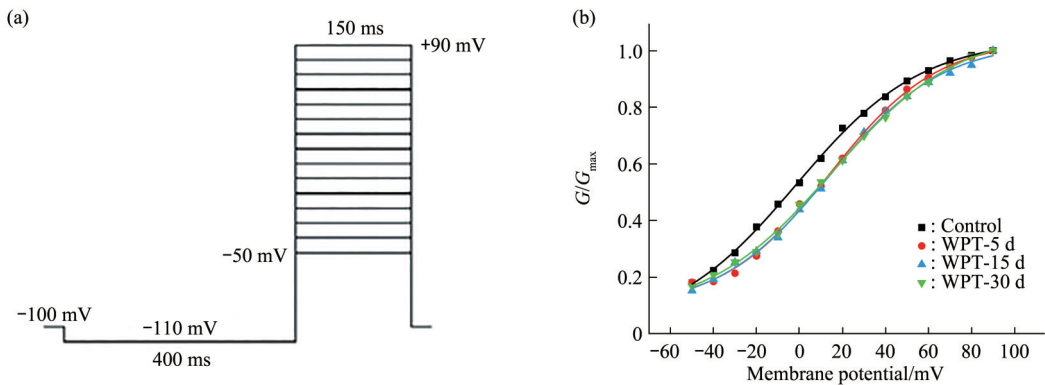


Fig.7 Activating stimulus program (a) and activation curve (b) of I_A

分析方法，可以看出对照组与磁场暴露组 I_A 的半数激活电压 $V_{1/2}$ 之间的具有统计学差异，而斜率因子 k 的统计学差异不明显（表1）。由此可知，MCR-WPT

Table 1 The activation parameters of I_A		
Group	Activation curve parameters of I_A ($n=6$)	
	$V_{1/2}/\text{mV}$	k
Control	-1.5 ± 1.49	29.1 ± 1.41
WPT-5 d	$14.26\pm1.28^{***}$	25.05 ± 1.55
WPT-15 d	$13.92\pm1.41^{***}$	26.16 ± 1.74
WPT-30 d	$15.37\pm1.17^{***}$	29.28 ± 1.57

*** $P<0.001$.

电磁环境不改变其斜率因子，但可使 I_A 的激活特性发生明显改变，令激活曲线向去极化方向移动，提高瞬时外向钾通道蛋白的激活膜电位。

c. 在全细胞膜记录模式下，将钳制电位设定为 -100 mV，预先给予 -110~+10 mV，步阶 10 mV，

波宽为 80 ms 的阶梯去极化条件脉冲，然后给予 +50 mV 波宽 80 ms 的测试脉冲（图 8a），得到一组瞬时外向钾电流，此为 I_A 的稳态失活过程。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。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（图 8b）。由绘制曲线图可以看出对照组与磁场暴露组皆呈反 S 形，且与对照组相比，磁场暴露组曲线皆向左偏移，其中磁场暴露 30 d 组的斜率因子 k 显著小于对照组（表 2）。由此可知，长时间处于 MCR-WPT 电磁环境中可使 I_A 的失活特性发生明显的改变，令失活曲线向去极化方向移动，并改变其斜率因子，缩短瞬时外向钾通道蛋白的开放时间，提高失活速率。

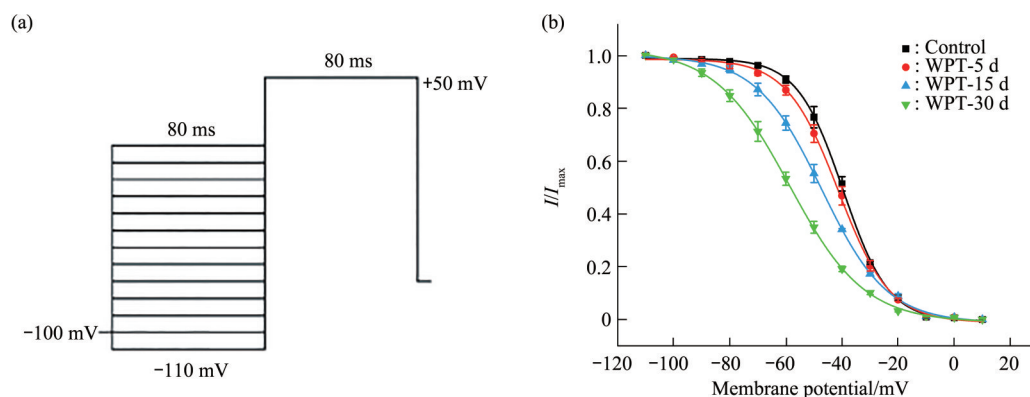


Fig. 8 Deactivation stimulation procedure (a) and deactivation curve (b) of I_A

Table 2 The deactivation parameters of I_A

Group	Inactivation curve parameters of I_A ($n=6$)	
	$V_{1/2}/\text{mV}$	k
Control	-39.65 ± 0.25	8.14 ± 0.22
WPT-5 d	-41.31 ± 0.37	9.19 ± 0.33
WPT-15 d	$-47.25 \pm 0.31^{***}$	11.67 ± 0.29
WPT-30 d	$-58.69 \pm 0.25^{***}$	$13.33 \pm 0.24^{***}$

*** $P < 0.001$.

d. 在全细胞膜记录模式下, 将钳制电位设置为 -100 mV , 预先给予两个 $+50 \text{ mV}$ 波宽 80 ms 的条件

脉冲与测试脉冲, 两个脉冲间隔保持钳制电位 -100 mV , 时间 $1 \sim 256 \text{ ms}$ (图 9a), 得到一组瞬时外向 K^+ 电流, 即 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。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_2 为测试脉冲的峰电流, I_1 为条件脉冲的峰电流, τ 为恢复时间常数 (图 9b)。由绘制曲线图可以看出与对照组相比, 磁场暴露组皆向右偏移, 其中磁场暴露 15 d 组和 30 d 组的 I_A 失活后的恢复时间与对照组相比显著延长 (表 3)。

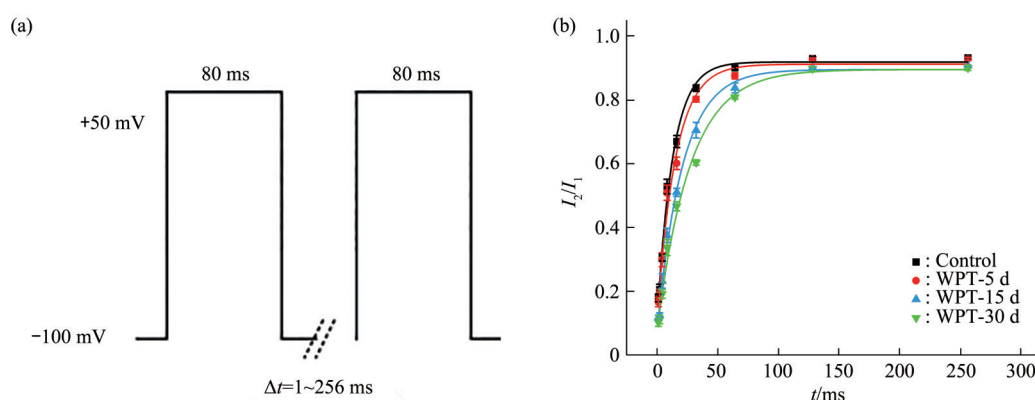


Fig. 9 Resurrection stimulation procedure (a) and resurrection curve (b) of I_A

Table 3 The recovery parameters of I_A

Group	Recovery curve parameters of I_A ($n=6$)	
	τ/ms	
Control	8.9 ± 0.74	
WPT-5 d	10.54 ± 1.25	
WPT-15 d	$14.55 \pm 1.07^{***}$	
WPT-30 d	$18.95 \pm 1.9^{***}$	

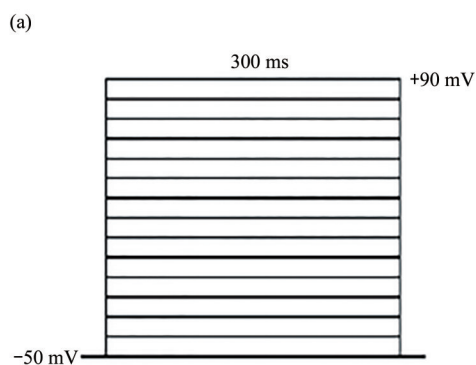
*** $P < 0.001$.

2.3 MCR-WPT对延迟整流 K^+ 通道电流 (I_K) 的影响

本文主要考察对 $I-V$ 曲线的影响。使用 K^+ 通道电极内液和全细胞外液, 并在外液中加入终浓度为 3 mmol/L 的 4-氨基吡啶 (4-aminopyridine, 4-AP), 使用 NaOH 调节 pH 至 7.4 。用于阻断神经元上的 Na^+ 电流、 Ca^{2+} 电流和瞬时外向 K^+ 电流。由于延迟整流 K^+ 通道电流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_K 的失活与恢复过程^[29]。

a. 在全细胞膜记录模式下, 将钳制电位设定为 -50 mV, 给予 $-50\sim+90$ mV, 步阶 10 mV波宽为 300 ms的去极化脉冲刺激 (图10a), 得到一组外向电流 I_K 。以膜电位为横轴, 同一膜电位下激活的 I_K 峰值为纵轴, 绘制 I_K 的 I - V 曲线 (图10b)。对同



一膜电位下的电流峰值分析, 对照组 I_K 电流峰值明显大于磁场暴露组, 磁场暴露 30 d组的 I_K 最小, 磁场暴露 15 d组与 5 d组的 I_K 相近, 但仍与对照组之间存在显著性差异。说明MCR-WPT电磁环境可明显抑制延迟整流钾电流 I_K , 且随着去极化电压的变化, 磁场暴露时间的增加对 I_K 峰值的抑制作用更为明显, 具有时间依赖特性。

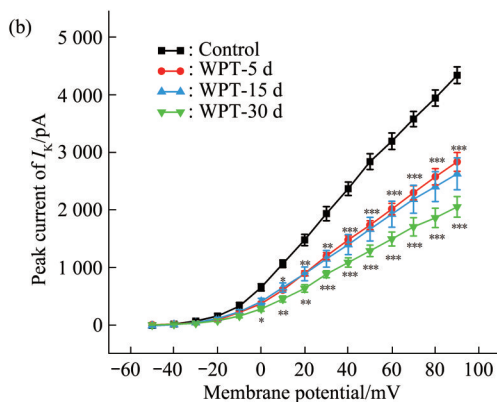


Fig. 10 I - V stimulation procedure (a) and I - V curve (b) of I_K

b. 在全细胞膜记录模式下, 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 $-50\sim+90$ mV, 步阶 10 mV, 波宽为 150 ms的去极化测试脉冲 (图11a), 得到一组延迟整流钾电流, 此为 I_K 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_m 为膜电位, V_r 为反转电位, 以膜电位为横坐标, $G / G_{\max}$ 为纵坐标, 绘制通道的激活散点图。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_m 为膜电位, $V_{1/2}$ 为半数激活电压, k 为斜率因子 (图11b)。由绘制曲线图可以看出对照组与磁场暴露组皆呈S形, 且与对照组相比, 磁场暴露组曲线皆向右偏移。使用 t 检验分析方法, 可以看出对照组与磁场暴露组 I_K 的半数激活电压 $V_{1/2}$ 之间具有统计学差异, 而斜率因子 k 的统计学差异不明显 (表4)。由此可知, MCR-WPT电磁环境不改变其斜率因子, 但可使 I_K 的激活特性发生改变, 令激活曲线向去极化方向移动, 提高延迟整流钾通道的激活膜电位。

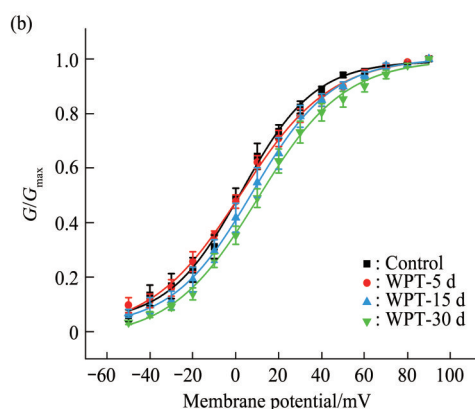
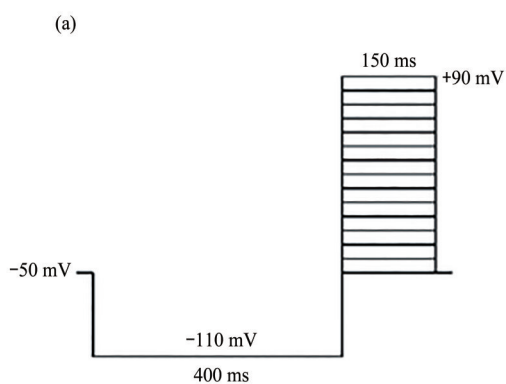


Fig. 11 Activating stimulus program (a) and activation curve (b) of I_K

Table 4 The activation parameters of I_K

Group	Activation curve parameters of I_K ($n=6$)	
	$V_{1/2}/mV$	k
Control	2.66±1.19	17.05±1.11
WPT-5 d	2.27±1.25	20.91±1.2
WPT-15 d	7.61±0.75***	18.66±0.75
WPT-30 d	10.14±1.11***	20.18±1.16

*** $P<0.001$.

3 讨 论

国际上已有大量报告指出,不同频段的电磁波会对生物的神经系统产生影响,引起生物行为和记忆等方面问题^[30-32]。本文主要从离子通道的角度利用全细胞膜片钳技术,研究频率为47 KHz小功率MCR-WPT电磁环境对小鼠海马DG区神经元电压门控膜电流 I_A 和 I_K 的影响。

新物体识别实验通过更改实验箱中物体的形状、颜色观察小鼠的识别记忆能力,基于小鼠对新旧事物的探索偏好来反映小鼠的记忆能力。结果表明,在频率为47 KHz的小功率MCR-WPT电磁环境中,每天暴露5 h,连续30 d暴露,小鼠的识别能力和记忆功能没有受到影响。膜片钳实验结果表明,与对照组相比,磁场暴露组 I_A 与 I_K 的 $I-V$ 曲线的激活曲线显著降低,且随着暴露时间的增加,受到的抑制作用更明显,使膜的去极化过程延迟,提高了神经元产生动作电位的速度,改变神经元之间的传导速度。磁场暴露组 I_A 与 I_K 的半数激活电压 $V_{1/2}$ 在电磁环境的作用下明显增大,激活曲线明显右移,斜率因子无明显改变,可以看出 K^+ 通道的激活阈值增大,激活难度增加,但激活速率不变。另外, I_A 的半数失活电压 $V_{1/2}$ 减小,恢复时间显著延长,缩短了激活过程,同时 I_A 恢复时间的显著延长,使电压门控 K^+ 通道的开放时间缩短,抑制了细胞膜电位的复极化过程。

根据生物电磁学理论,神经元作为神经系统基本的结构和功能单位,神经兴奋性是神经元在放电状态和静息状态之间转换的动力学机制^[33],与 K^+ 通道的开放与关闭密切相关。当磁场作用于细胞时,细胞膜表面的极性类脂分子形成的电偶极子会受到电磁场的影响,改变细胞膜通道内离子能量,引起离子跨膜迁移的变化,改变细胞膜的厚度、电导和电容^[34]。本文研究结果中, I_A 与 I_K 的激活过程与 I_A 的失活过程受到抑制, I_A 的失活过程受到促

进,可能是在外加磁场的作用下,改变了 K^+ 通道蛋白的开放频率,提高了神经元的敏感性。由于 K^+ 在设置静息电位与动作电位下降的过程中起着重要作用,阻碍 K^+ 外流,提高了细胞内的电位水平,使细胞持续处于较高的兴奋状态。李刚等^[35-36]研究不同强度工频磁场对神经元瞬时外向 K^+ 通道和延迟整流 K^+ 通道的影响,与本文有着相似的实验结果,工频磁场都对 I_A 与 I_K 产生了抑制作用,改变神经元动作电位的发放频率。

4 结 论

本文研究结果表明,短时间内在MCR-WPT电磁环境下生活,会令细胞膜上瞬时外向 K^+ 通道的激活过程受到抑制、延迟整流 K^+ 通道的激活特性向去极化方向移动,减少细胞内 K^+ 的外流,增强神经兴奋性。有相关研究表明,在外加电磁场的作用下,组成 K^+ 通道孔洞的重要蛋白质 α 螺旋蛋白质分子会改变离子跨膜迁移的几率,从而影响离子通道蛋白的开放过程^[19],这种改变是否可逆尚不确定。可在下一步实验中开展对海马区细胞形态、通道蛋白或其他区域的研究,完善WPT电磁场作用机理,为WPT技术的发展及其合理开发应用提供具有一定参考价值的实验数据和理论依据。

参 考 文 献

- [1] 张波,疏许健,吴理豪,等.无线电能传输技术亟待解决的问题及对策.电力系统自动化,2019,43(18): 1-12
Zhang B, Shu X J, Wu L H, *et al.* Automation of Electric Power Systems, 2019, 43(18): 1-12
- [2] 李文清.感应式无线充电产品详述及设计.机电信息, 2019(27): 124-125+127
Li W Q. Mechanical and Electrical Information, 2019(27): 124-125+127
- [3] 曾玉凤.植入式医疗设备磁谐振式无线输电系统线圈设计研究[D].广州:华南理工大学,2018
Zeng Y F. Research on Coil Design for Magnetic Resonant Wireless Power Transfer System in Implanted Medical Device[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018
- [4] 沈栋,杜贵平,丘东元,等.无线电能传输系统电磁兼容研究现状及发展趋势.电工技术学报,2020,35(13): 2855-2869
Shen D, Du G P, Qi D Y. Transactions of China Electrotechnical Society, 2020, 35(13): 2855-2869
- [5] Li L, Xu Y, Zhang Z, *et al.* A prediction-based charging policy and interference mitigation approach in the wireless powered internet of things. IEEE Journal on Selected Areas in Communications, 2019, 37(2): 439-451
- [6] 陈凯楠,赵争鸣,刘方,等.电动汽车双向无线充电系统谐振拓

- 扑分析. 电力系统自动化, 2017, **41**(2): 66-72
- Chen K N, Zhao Z M, Liu F, *et al.* Automation of Electric Power Systems, 2017, **41**(2): 66-72
- [7] 李中启. 磁耦合谐振式无线电能传输系统效率分析与优化[D]. 长沙: 湖南大学, 2016
- Li Z Q. Transfer Efficiency Analysis and Optimization for Wireless Power Transfer via Magnetic Resonance[D]. Changsha: Hunan University, 2016
- [8] 殷雪君. 磁耦合谐振式动态无线电能传输系统研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2021
- Yin X J. Magnetically Coupled Resonance Type Dynamic Wireless Power Transmission System Research[D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology, 2021
- [9] 蒋思媛. 电动汽车无线电能充电空间电磁场对血液细胞生物活性的影响[D]. 天津: 天津工业大学, 2018
- Jiang S Y. Effect of Spatial Electromagnetic Fields on The Biological Activity of Blood Cells in Electric Vehicle Wireless Energy Charging[D]. Tianjin: Tianjin Polytechnic University, 2018
- [10] Cheng Y, Dai Y, Zhu X, *et al.* Extremely low-frequency electromagnetic fields enhance the proliferation and differentiation of neural progenitor cells cultured from ischemic brains. *Neuroreport*, 2015, **26**(15): 896-902
- [11] 聂世芳, 杨根元. 微波辐射对小鼠脑内乙酰胆碱含量及胆碱乙酸转移酶活性的影响. *生物物理学报*, 1992, **8**(4): 664-668
- Nie S F, Yang G Y. *Acta Biophysica Sinica*, 1992, **8**(4): 664-668
- [12] 薛明, 杨庆新, 章鹏程, 等. 无线电能传输技术应用研究现状与关键问题. *电工技术学报*, 2021, **36**(8): 1547-1568
- Xu M, Yang Q X, Zhang P C, *et al.* *Transactions of China Electrotechnical Society*, 2021, **36**(8): 1547-1568
- [13] Narayanan S N, Kumar R S, Karun K M, *et al.* Possible cause for altered spatial cognition of prepubescent rats exposed to chronic radiofrequency electromagnetic radiation. *Metab Brain Dis*, 2015, **30**(5): 1193-1206
- [14] Moazamehosadat R, Kasra M, Mohammad S. Maternal mobile phone exposure alters intrinsic electrophysiological properties of CA1 pyramidal neurons in rat offspring. *Toxicol Ind Health*, 2016, **32**(6): 968-979
- [15] 覃玉荣. 外电场作用下悬液中细胞膜电压变化建模研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2005
- Qi Y R. Research on Modeling the Transmembrane Voltage Induced on a Cell Membrane in Suspensions Exposed to External Electric Fields[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2005
- [16] Sun Z C, Ge J L, Guo B, *et al.* Extremely low frequency electromagnetic fields facilitate vesicle endocytosis by increasing presynaptic calcium channel expression at a central synapse. *Sci Rep*, 2016, **6**: 21774
- [17] 薛静. LF-EMF 诱发膜电位变化对离子通道电活动影响机制的研究[D]. 天津: 天津工业大学, 2019
- Xu J. Study on The Mechanism of LF-EMF-Induced Membrane Potential Changes on The Electrical Activity of Ion Channels[D]. Tianjin: Tianjin Polytechnic University, 2019
- [18] 林凌, 贾方荣, 李刚, 等. 脉冲磁场对神经元瞬时外向钾电流的影响. *光学精密工程*, 2008(9): 1746-1751
- Lin L, Jia F R, Li G, *et al.* *Optics and Precision Engineering*, 2008(9): 1746-1751
- [19] 郑羽, 孔莹, 杜正高, 等. 低功率900MHz射频磁场对小鼠皮层神经元动作电位的影响. *神经解剖学杂志*, 2014, **30**(1): 45-50
- Zheng Y, Kong Y, Du Z G, *et al.* *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2014, **30**(1): 45-50
- [20] 郑羽, 张洋, 张子钊, 等. 低功率2450MHz射频磁场对神经元延迟整流钾通道的抑制作用. *中国生物化学与分子生物学报*, 2012, **28**(6): 561-566
- Zheng Y, Zhang Y, Zhang Z Z, *et al.* *Chin J Biochem Mol Biol*, 2012, **28**(6): 561-566
- [21] Fanselow M S, Dong H W. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures?. *Neuron*, 2010, **65**(1): 7-19
- [22] Ohnishi T, Hayashi T, Okabe S, *et al.* Endogenous dopamine release induced by repetitive transcranial magnetic stimulation over the primary motor cortex: an raclopride positron emission tomography study in anesthetized macaque monkeys. *Biol Psychiatry*, 2004, **55**(5): 484-489
- [23] 李飞. 恒磁场对血管内皮细胞生物学效应的研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2002
- Li F. Biologic Effects of Static Magnetic Field on Vascular Endothelial Cells[D]. Xi'an: Fourth Military Medical University, 2002
- [24] 曾晴, 李超英, 茹琴. 钾离子通道在物质依赖中的研究进展. *神经解剖学杂志*, 2021, **37**(1): 101-104
- Zeng Q, Li C Y, Ru Q. *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2021, **37**(1): 101-104
- [25] 赵军, 杨婷, 王磊, 等. 小功率无线电能传输系统对小鼠记忆行为和部分生理特性影响的研究. *生物医学工程学杂志*, 2020, **37**(2): 280-287+295
- Zhao J, Yang T, Wang L, *et al.* *Journal of Biomedical Engineering*, 2020, **37**(2): 280-287+295
- [26] Faivre E, Hölscher C. D-Ala 2GIP facilitated synaptic plasticity and reduces plaque load in aged wild type mice and in an Alzheimer's disease mouse model. *J Alzheimers Dis*, 2013, **35**(2): 267-283
- [27] Okada K, Nishizawa K, Kobayashi T, *et al.* Distinct roles of basal forebrain cholinergic neurons in spatial and object recognition memory. *Sci Rep*, 2015, **5**: 13158
- [28] Batool Z, Sadir S, Liaquat L, *et al.* Repeated administration of almonds increases brain acetylcholine levels and enhances memory function in healthy rats while attenuates memory deficits in animal model of amnesia. *Brain Res Bull*, 2016, **120**: 63-74
- [29] 崔芳, 袁芳, 张秀琴, 等. 心血管中大电导钙激活钾通道的研究进展. *生理科学进展*, 2013, **44**(4): 264-268
- Cui F, Yuan F, Zhang X Q, *et al.* *Prog Physiol Sci*, 2013, **44**(4): 264-268
- [30] 李蕊, 罗昌禄, 徐铭婧, 等. 低场强射频电磁辐射对幼年大鼠联合型学习记忆功能的影响. *广西医学*, 2019, **41**(11): 1394-1397

- Li R, Luo C L, Xu M J, *et al.* Guangxi Medical Journal, 2019, **41**(11): 1394-1397
- [31] Sandstrom M, Wilen J, Oftedal G, *et al.* Mobile phone use and subjective symptoms. Comparison of symptoms experienced by users of analogue and digital mobile phones. Occup Med (Lond), 2001, **51**(1): 25-35
- [32] 路国兵, 史长华, 李玉红, 等. 电磁辐射对大鼠海马NMDA受体NR1亚单位蛋白及其mRNA表达的影响. 中华行为医学与脑科学杂志, 2011, **20**(2): 111-114
- Lu G B, Shi C H, Li Y H, *et al.* Chinese Journal of Behavioral Medicine and Brain Science, 2011, **20**(2): 111-114
- [33] Zhao Z, Gu H. Transitions between classes of neuronal excitability and bifurcations induced by autapse. Sci Rep, 2017, **7**(1): 6760
- [34] Meny I, Burais N, Buret F, *et al.* Finite-element modeling of cell exposed to harmonic and transient electric fields. Magnetics, 2007, **43**: 1773-1776
- [35] 李刚, 李丹丹, 李媛媛, 等. 不同强度工频磁场对皮层神经元瞬时外向钾离子通道的影响. 生物化学与生物物理进展, 2011, **38**(11): 1036-1042
- Li G, Li D D, Li Y Y, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2011, **38**(11): 1036-1042
- [36] 李刚, 李丹丹, 李媛媛, 等. 不同强度工频磁场对神经元延迟整流钾通道特性的影响. 生物化学与生物物理进展, 2012, **39**(5): 458-463
- Li G, Li D D, Li Y Y, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2012, **39**(5): 458-463

The Effects of MCR-WPT Magnetic Field on Neurons K⁺ Channels in The Dentate Gyrus Region*

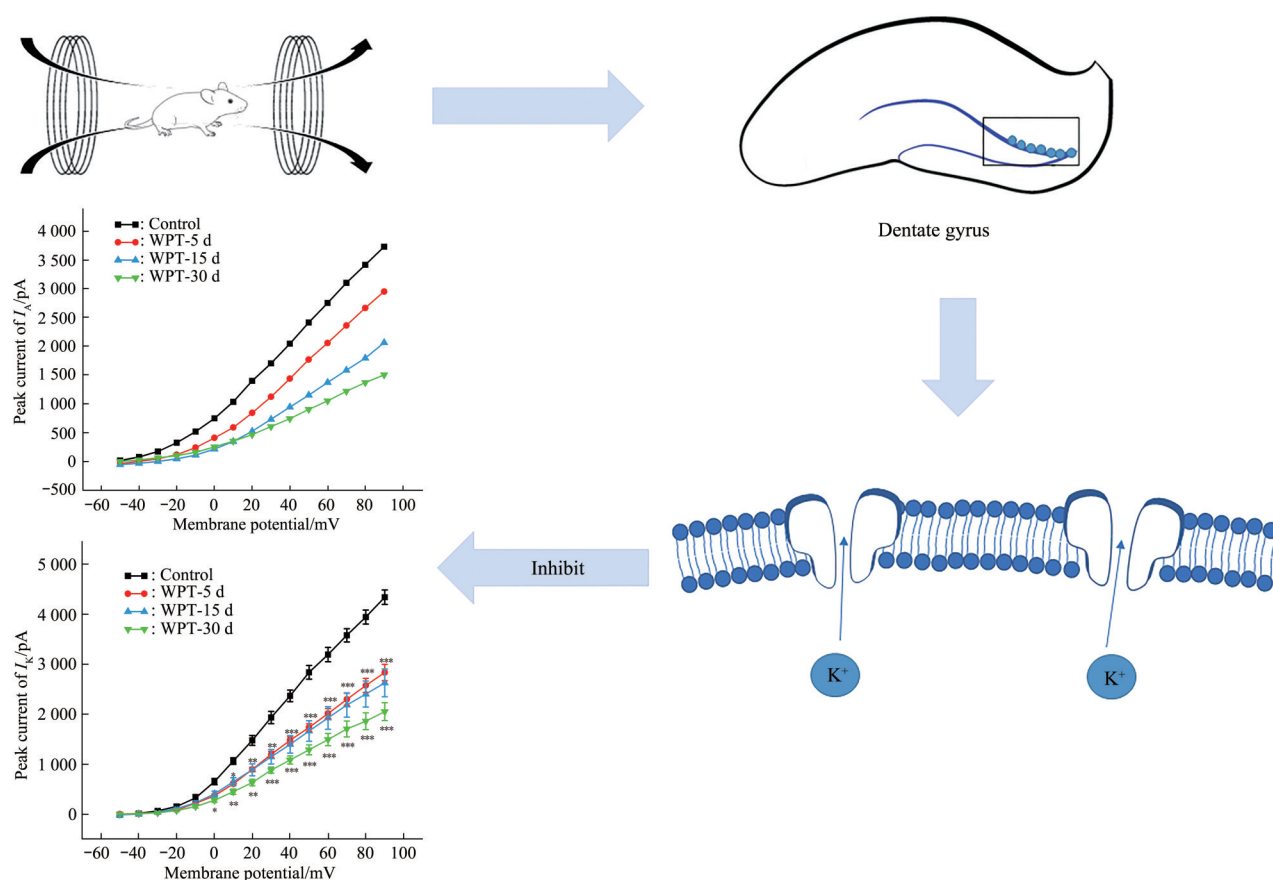
ZHAO Jun^{1,2,3)**}, ZHANG Bing-Qian^{1,2,3)}, ZHAO Yi-Hang^{1,2,3)}, WANG Xiao-Xuan^{1,2,3)}

⁽¹⁾College of Health Sciences and Biomedical Engineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

²⁾State Key Laboratory of Reliability and Intelligence of Electrical Equipment, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

³⁾Key Laboratory of Bioelectromagnetic and Neural Engineering of Hebei Province, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Graphical abstract



Abstract Objective Magnetically-coupled resonant wireless power transfer (MCR-WPT) has the advantages of large transmission distance, high transmission efficiency and penetration, which brings convenience to people's lives. However, the safety of bioelectromagnetic effects caused by MCR-WPT has attracted much

* The work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (51407058, 52077057).

** Corresponding author.

Tel: 86-13902119116, E-mail: ashunjun@126.com

Received: August 22, 2022 Accepted: January 4, 2023

attention. In this paper, the influence of MCR-WPT electromagnetic environment on the characteristics of neuronal K^+ channels in the dentate gyrus (DG) region of the mouse hippocampus was studied, in order to provide an experimental basis for the development and rational development and application of WPT technology.

Methods Mice were continuously irradiated for 5 h for 30 d, and the learning and memory ability, instantaneous outward K^+ channel current (I_A) and delayed rectification K^+ channel current (I_K) of neurons in the hippocampal DG region were compared and analyzed by the control group and the magnetic field exposure groups of 5 d, 15 d and 30 d. **Results** The activation process of transient outward potassium channels in the magnetic field exposure group was inhibited, and the activation characteristics of delayed rectified potassium channels shifted to the depolarization direction, which reduced the outflow of K^+ and enhanced the nerve excitability, but there was no significant change in the behavior of the magnetic field exposed group mice. **Conclusion** Long-term exposure to the electromagnetic environment of MCR-WPT altered the $I-V$ properties and kinetic properties of K^+ ion channels, inhibited I_A and I_K , and changed the frequency of neuronal action potential issuance, but these changes did not cause a decrease in learning memory capacity and cognitive dysfunction in mice.

Key words K^+ channel, $I-V$ characteristics, wireless power transfer, dentate gyrus area

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0400