

电磁脉冲暴露对幼龄雄性小鼠睾丸发育的影响

林艳云¹ 王亚峰² 高鹏¹ 郭奇彦¹ 胡俊峰¹
刘军叶¹ 郭国祯¹ 郎海洋¹ 曾丽华¹

¹ (空军军医大学军事预防医学系放射医学教研室 西安 710032)

² (海军总医院海军卫生防疫队 北京 101113)

摘要 将96只3周龄雄性BALB/c小鼠按体质量随机分为假暴露组和暴露组。暴露组小鼠每日接受场强200 kV/m、脉冲数400次电磁脉冲(Electromagnetic pulse, EMP)暴露,连续暴露30 d, 2 h/d,暴露期间观测小鼠体质量的变化。于照后第1、7、14、21、30和60天检测暴露后小鼠睾丸指数、精子数量、精子畸形率、精子凋亡及睾丸组织中肿瘤转移相关基因-1 (Metastasis tumor antigen 1, MTA-1)蛋白和信使核糖核酸(mRNA)表达量。结果表明:与假暴露组相比,暴露组小鼠体质量从照射第8天至第28天明显降低;睾丸指数于照后第21天至第60天明显降低;精子数量于照后第7天至第60天明显减少;精子畸形率从照后第1天至第30天时增高;生精细胞凋亡率在照后第1天和第60天时明显增高,但在照后第7天和第14天时明显降低;睾丸组织中MTA-1蛋白表达量于照后第1、7、14和60天时明显降低,且MTA-1 mRNA表达量也于照射后第1天至第21天时明显降低。结果提示一定参数的EMP暴露可能通过影响MTA-1表达水平而对幼龄雄性BALB/c小鼠睾丸发育造成损伤。

关键词 电磁脉冲, BALB/c小鼠, 睾丸, 精子, 肿瘤转移相关基因-1

中图分类号 Q64, TL71

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2018.rj.36.040202

Effects of electromagnetic pulse exposure on development of testicle in the growing male mice

LIN Yanyun¹ WANG Yafeng² GAO Peng¹ GUO Qiyan¹ HU Junfeng¹
LIU Junye¹ GUO Guozhen¹ LANG Haiyang¹ ZENG Lihua¹

¹(Department of Radiation Medicine, Faculty of Preventive Medicine, Airforce Military Medical University, Xi'an 710032, China)

²(Health and Epidemic Prevention Team, Navy General Hospital, Beijing 101113, China)

ABSTRACT Ninety-six mice aged 3 weeks were randomly divided into two groups: a group exposed to electromagnetic pulse (EMP) at 200 kV/m in 400 pulses for 30 d, 2 h/d, and a sham-exposure group. The body weights were measured during the exposure time. The testicular index; sperm count, sperm deformity rate,

基金资助: 国家自然科学基金项目(51677189、51437008)和陕西省自然科学基金项目(2014KTCQ03-02)资助

第一作者: 林艳云, 女, 1986年10月出生, 2012年毕业于第四军医大学, 现工作于空军军医大学军事预防医学系放射医学教研室, E-mail: 569884923@163.com

通信作者: 曾丽华, 博士, 副教授, E-mail: zengzou@fmmu.edu.cn; 郎海洋, 讲师, E-mail: lsealhy@fmmu.edu.cn

收稿日期: 初稿 2018-03-30; 修回 2018-06-04

Supported by National Natural Science Foundation of China (51677189, 51437008), and Natural Science Foundation of Shaanxi Province (2014KTCQ03-02)

First author: LIN Yanyun (female) was born in October 1986, and graduated from The Fourth Military Medical University in 2012. Now she is a research assistant in Airforce Military Medical University. E-mail: 569884923@163.com

Corresponding author: Ph.D. ZENG Lihua, associate professor, E-mail: zengzou@fmmu.edu.cn; LANG Haiyang, lecturer, E-mail: lsealhy@fmmu.edu.cn

Received 30 March 2018; accepted 4 June 2018

spermatogenic cells apoptosis; and metastasis tumor antigen 1 (MTA-1) protein and mRNA expression in testicles were measured at 1-, 7-, 14-, 21-, 30-, and 60-day time points after exposure. The results showed that body weights in the exposure group were significantly lower than those in the sham-exposure group on days 8~28 of EMP exposure ($p<0.05$); compared with that in the sham-exposure group, testicular index in the exposure group decreased significantly on days 21~60 after exposure; sperm count decreased on days 7~60 after exposure; the rate of sperm deformation increased on days 1~30 after exposure; apoptotic spermatogenic cells increased on days 1 and 60 but decreased on days 7 and 14 after exposure ($p<0.05$); MTA-1 protein expression in testicles decreased significantly at all time points after exposure; and mRNA expression decreased on days 1~21 after exposure. The reduced testicular indexes and sperm quality, as measured by the decreases in MTA-1 protein and mRNA, suggest that EMP exposure inhibits the development of testicles in growing male mice.

KEYWORDS Electromagnetic pulse (EMP), BALB/c mice, Testicle, Sperm, Metastasis tumor antigen 1 (MTA-1)

CLC Q64, TL71

在科技高度发达的现代社会, 电力、电信和电子设备的使用不断增多, 使得人类自出生之日起就暴露于各种复杂的电磁环境中, 因此, 电磁辐射对人类健康的影响成为辐射生物学者们关注的热点^[1-2]。电磁脉冲(Electromagnetic pulse, EMP)是一种场强强度高、前沿快、脉宽短、频带宽的电磁辐射, 在日常生活中被广泛应用。研究发现, 特定参数的电磁脉冲暴露可以造成生殖系统的损伤, 如性功能障碍、不孕不育、先天畸形和胚胎发育异常等。

雄性生殖器官睾丸的主要功能有产生精子、分泌雄性激素及维持雄性基本性征, 同时也是电磁辐射的敏感靶器官之一。以往的研究表明, 一定参数的电磁辐射暴露可以对雄性动物睾丸组织造成损伤, 如电磁辐射暴露可以导致雄性实验动物睾丸结构发生改变^[3]、精子存活率下降及活力降低^[4-5]、精子畸形率增加^[6-7]、精子线粒体基因组出现损伤^[8-10]、生精细胞数量减少以及生殖细胞凋亡增加等^[11-12]。

目前, 关于电磁辐射对生殖功能影响的研究, 主要的实验对象为成年人或成年动物, 仅有几篇文献关注未成年动物^[13-15]。未成年雄性动物的生殖系统正处于生长发育的关键时期, 睾丸精原干细胞处于不断更新状态, 对外界刺激更为敏感, 因此, 雄性动物睾丸组织如果在发育阶段受到电磁辐射等异常刺激, 可能会影响雄性动物成年后的生殖功能。肿瘤转移相关基因-1 (Metastasis tumor antigen 1, MTA-1)不仅在肿瘤的转移和侵袭过程中发挥着重要作用, 而且在正常组织, 尤其是睾丸组织发育过程中也起着重要作用。因此, 我们选择3周龄雄性BALB/c幼鼠为实验对象, 研究EMP暴露是否会通

过调控MTA-1蛋白表达水平, 进而对幼龄雄性小鼠睾丸发育造成影响。

1 材料与方法

1.1 材料

EMP发生器(西北核技术研究所); 示波器(Tektronix TDS7000B, 美国); 组织自动脱水机(Leica, 德国); 石蜡切片机(Leica, 德国); 精密电子天平(Sartorius, 德国); 倒置显微镜(Leica, 德国); 酶标仪(Bio-rad, 美国); 低温离心机(Hettich, 德国); PCR仪(ABI, 美国)。

多聚甲醛(TaKaRa, 日本); 蛋白酶K(Sigma, 美国); 脱氧核糖核酸酶I(Fermentas, 美国); MTA-1抗体(Abcam, 英国); RNAsiso Plus(TaKaRa, 日本); PrimerScript RT reagent Kit(TaKaRa, 日本)。

1.2 动物分组与暴露方法

雄性BALB/c幼鼠体质量为8~11 g, 3周龄, 共96只, 由空军军医大学实验动物中心提供[合格证号: scxk(军)2007-007]。将96只小鼠按体质量随机分为暴露组和假暴露组(对照组)两大组, 每组48只。每组再分成6个小组, 分别为照后1、7、14、21、30和60 d组, 每个小组8只小鼠。

将暴露组小鼠放入体积为16 cm×5.5 cm×4 cm的带孔有机塑料盒内, 每日15:00~17:00给予场强200 kV/m, 脉冲次数400次, 脉冲前沿3.5 ns, 脉宽15 ns, 重复频率0.1 Hz的EMP电磁脉冲暴露, 持续暴露30 d。假暴露组小鼠在EMP发生器中停留时间、声音刺激等均等同于暴露组。最后一次照射

后第 1、7、14、21、30 和 60 天, 采用颈椎脱臼法处死暴露组与假暴露组小鼠, 取双侧睾丸及附睾组织用于后续实验。

1.3 小鼠体质量检测

3 周龄雄性 BALB/c 小鼠经 2 d 适应性喂养, 在接受 EMP 暴露前对其体质量进行称量, 暴露期间, 每隔 4 d 对暴露组与假暴露组小鼠体质量进行称量, 检测小鼠体质量的变化情况。

1.4 小鼠睾丸指数的检测

分别于最后一次照射后第 1、7、14、21、30 和 60 天处死小鼠前 1 h 内, 对暴露组与假暴露组小鼠体质量进行称量; 处死后, 取双侧睾丸组织, 对小鼠双侧睾丸组织进行称量。小鼠睾丸指数(%)按下式计算: 睾丸指数=睾丸质量(g)/小鼠体质量(g)×100%。

1.5 精子数量和畸形率的检测

分别于最后一次照射后第 1、7、14、21、30 和 60 天处死小鼠, 取暴露组与假暴露组小鼠一侧附睾组织, 放入 37 °C 生理盐水中, 在 1 mL 生理盐水中剪碎后静置游离 20 min, 用 400 目筛网过滤上清液, 取 20 μL 滤液加入到 380 μL 精子稀释液中, 用血细胞计数板对精子数量进行检测。再取滤液推片, 经自然干燥, 甲醇固定 30 min, 及 2% 伊红染色 2 h 后, 对小鼠的精子畸形率进行检测, 每只小鼠计数 200 个完整精子的头部畸形数。

1.6 生精细胞凋亡原位检测

分别于最后一次照射后第 1、7、14、21、30 和 60 天处死小鼠, 取暴露组与假暴露组小鼠一侧附睾组织, 用二甲苯浸洗, 再经梯度酒精脱水后, 使用蛋白酶 K 工作液室温孵育 15 min, 漂洗 3 次, 再加入脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法 (Terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling, TUNEL) 反应混合液, 避光反应 1 h 后再漂洗 3 次, 最后在荧光显微镜下拍照, 计算单位面积上阳性细胞的个数百分比。

1.7 Western blotting 检测 MTA-1 蛋白表达量

分别于最后一次照射后第 1、7、14、21、30 和 60 天处死小鼠, 取暴露组与假暴露组小鼠的一侧

睾丸组织, 加入裂解液, 经 30 min 低温裂解后离心取上清液, 采用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。各组样本与缓冲液混匀, 100 °C 煮沸 5 min, 使蛋白变性。蛋白样本经电泳分离后, 采用湿转方法将蛋白转至聚偏氟乙烯膜。使用 5% 的脱脂奶粉封闭后孵育甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 和 MTA-1 抗体过夜, 次日二抗孵育 2 h 后进行发光成像。

1.8 Real-time PCR 检测 MTA-1 mRNA 表达量

引物基因序列 MTA-1 (Forward primer) GCTGAAGCAGGTAGTACG、MTA-1 (Reverse primer) CACACTGGATGAACTCTTCAC。提取最后一次照射后第 1、7、14、21、30 和 60 天小鼠一侧睾丸组织的总 RNA, 并检测其质量, 计算反转录 PCR 所需要的 RNA 浓度和溶液体积。采用 TaKaRa 公司的 PrimeScriptTM RT reagent Kit 反转录试剂盒, 按试剂盒说明书每 10 μL 实时定量反应液含 500 ng RNA 的要求, 将 RNA 反转成 cDNA, 最后采用 Real-time PCR 试剂盒配置 20 μL PCR 反应液, 扩增 MTA-1 和 GAPDH 的 mRNA。

1.9 统计分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS17.0 统计分析软件对检测数据进行分析, 两组之间采用完全随机两独立样本 *t* 检验, $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 EMP 暴露对小鼠体质量的影响

如图 1 所示, 自照射第 8 天至照射第 28 天, 暴露组小鼠体质量均明显低于假暴露组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。

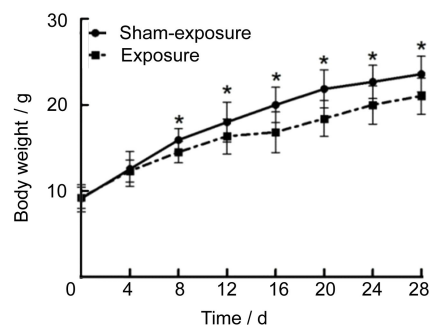


图 1 EMP 暴露期间小鼠体质量的变化
Fig.1 Body weight changes in mice during EMP exposure (* $p < 0.05$ vs. sham-exposure group, $n=8$)

2.2 EMP 暴露对小鼠睾丸指数的影响

由图 2 可以看出, EMP 暴露后第 14 天至第 60 天, 暴露组小鼠睾丸指数均低于假暴露组, 且在照后第 21、30 和 60 天时, 暴露组小鼠睾丸指数明显低于假暴露组($p<0.05$)。

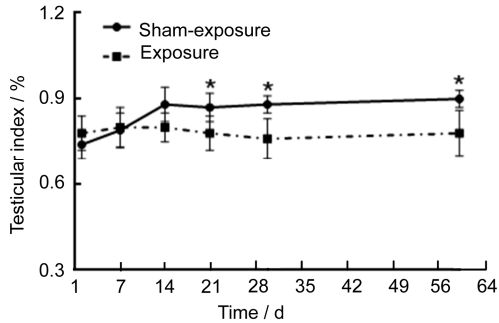


图 2 EMP 暴露后小鼠睾丸指数的变化
Fig.2 Testicular index changes in mice after EMP exposure ($*p<0.05$ vs. sham-exposure group, $n=8$)

2.3 EMP 暴露对小鼠精子数量、畸形率以及生精细胞凋亡的影响

如图 3 所示, 暴露组小鼠精子数量在暴露后第 7、14、30 和 60 天时均明显少于假暴露组($p<0.05$)。精子头部过大、过小、尖细、无勾、不规则形状等均属于精子畸形。如图 4 所示, 暴露组小鼠的精子畸形率在暴露后第 1、7、14、21 和 30 天时均明显升高, 与假暴露组相比差异具有统计学意义($p<0.05$)。

图 5 为睾丸组织 TUNEL 染色结果代表性图片, 绿色荧光为凋亡细胞, 由图 5 可见, 凋亡细胞主要分布于生精小管。

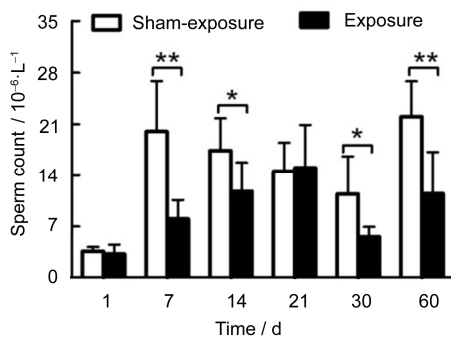


图 3 EMP 暴露后小鼠精子数量的变化
Fig.3 Sperm count changes in mice after EMP exposure ($*p<0.05$, $**p<0.01$ vs. sham-exposure group, $n=8$)

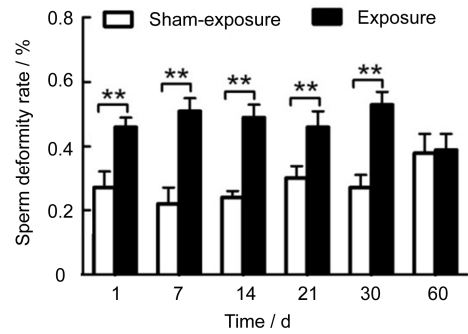


图 4 EMP 暴露后小鼠精子畸形率的变化
Fig.4 Changes in sperm deformity rate in mice after EMP exposure ($**p<0.01$ vs. sham-exposure group, $n=8$)

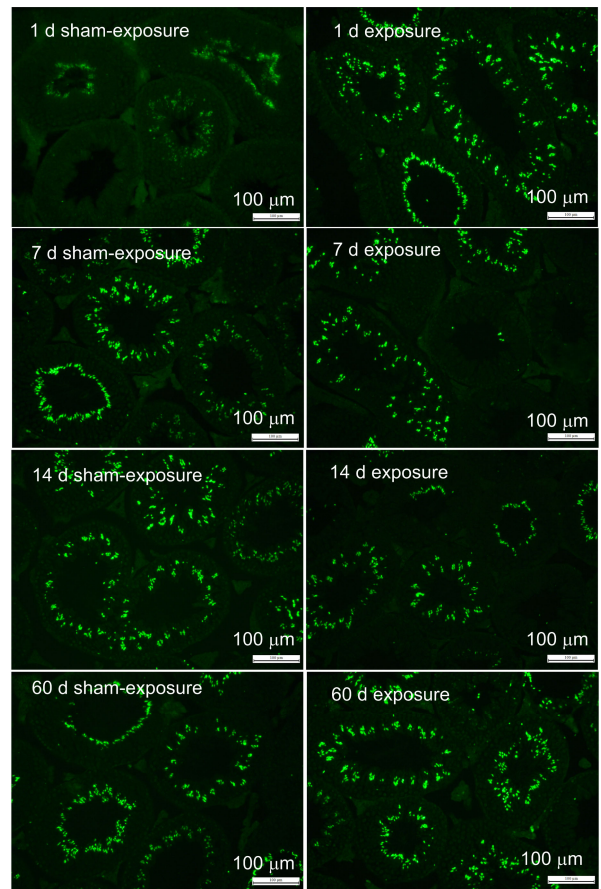


图 5 小鼠睾丸组织 TUNEL 染色结果(200×)
Fig.5 TUNEL staining in mouse testis (200×)

图 6 为染色图像分析结果, 由图 6 可知, 与假暴露组相比, 暴露组小鼠生精细胞凋亡率在照后第 1 天和 60 天时明显增加($p<0.05$), 但在照后第 7 天和 14 天时明显降低($p<0.05$)。

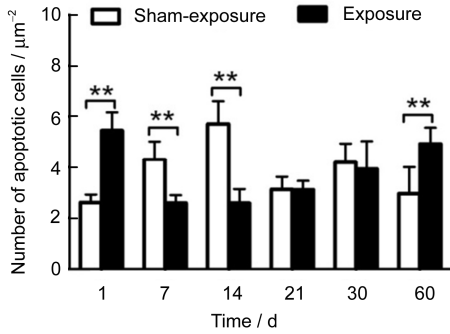


图 6 EMP 暴露后小鼠生精细胞的凋亡数量
Fig.6 Apoptotic number of spermatogenic cells in mice after EMP exposure (** $p < 0.01$ vs. sham-exposure group, $n=8$)

2.4 EMP 暴露对小鼠睾丸组织中 MTA-1 蛋白含量的影响

由图 7 和图 8 可以看出，暴露组小鼠睾丸组织

中 MTA-1 的含量在暴露后第 1、7、14 和 60 天时均明显低于假暴露组，且差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。

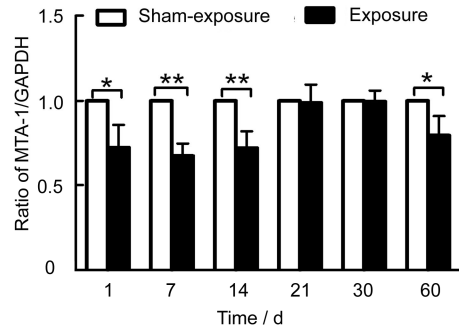


图 7 EMP 暴露后小鼠睾丸组织中 MTA-1 蛋白的相对含量
Fig.7 Relative contents of MTA-1 protein in mouse testes after EMP exposure (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. sham-exposure group, $n=8$)

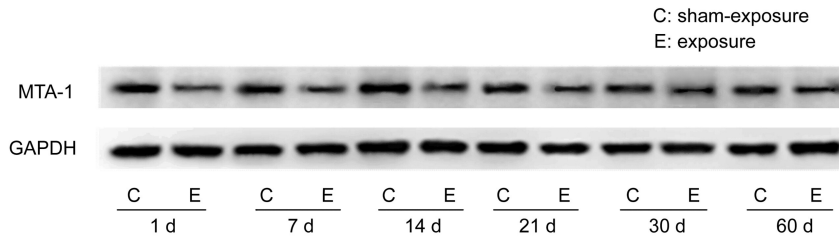


图 8 EMP 暴露后小鼠睾丸组织中 MTA-1 和 GAPDH 蛋白含量
Fig.8 Contents of MTA-1 and GAPDH proteins in mouse testes after EMP exposure

2.5 EMP 暴露对小鼠睾丸组织中 MTA-1 mRNA 表达量的影响

如图 9 所示，与假暴露组相比，EMP 暴露组小鼠睾丸中 MTA-1 mRNA 表达水平于照后第 1 天至第 60 天均呈下降趋势，且在照后第 1、7、14 和 21 天时明显低于假暴露组 ($p < 0.05$)。

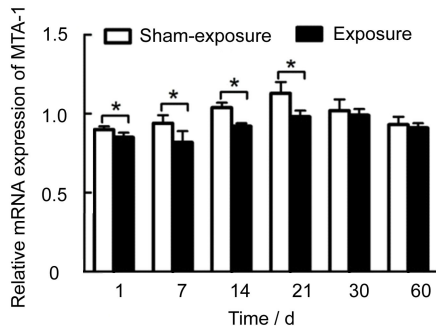


图 9 EMP 暴露后小鼠睾丸组织中 MTA-1 mRNA 的表达量
Fig.9 Contents of MTA-1 mRNA in mouse testes after EMP exposure (* $p < 0.05$ vs. sham-exposure group, $n=8$)

3 讨论

本文以 3 周龄的雄性 BALB/c 幼鼠为实验对象，研究 EMP 暴露对幼龄雄性小鼠睾丸发育的影响。首先检测 EMP 暴露对小鼠暴露期间体质量及照后睾丸指数的影响，实验结果显示，场强为 200 kV/m、脉冲次数为 400 次的 EMP 持续暴露 30 d，2 h/d，可以导致暴露期间小鼠体质量及睾丸指数明显降低，而睾丸是精子形成的部位，由这两项实验结果推测出，EMP 暴露可能会影响幼龄小鼠的精子生成和精子发育。

对暴露组与假暴露组小鼠的精子数量、畸形率和生精细胞凋亡率进行了检测，实验结果显示，暴露组小鼠精子数量从照后第 7 天开始减少，精子畸形率在照后第 1 天至第 30 天显著升高，由这两项实验结果可以得出，EMP 暴露可以影响精子的数量与质量。TUNEL 染色检测生精细胞凋亡率，结果显示，暴露组小鼠生精细胞凋亡率在照后第 1 天和第

60 天时明显升高,而在照后第 7 天和第 14 天时又明显降低。分析可能的原因是小鼠精原干细胞分化成精子约需要 5 周,且这个时间大致是恒定的,其中生精小管的横切面均是典型的从基膜到管腔的细胞组合,这种细胞组合既反映了沿生精小管精子的发生过程,也反映了精子形成周期性增多和减少的趋势。针对啮齿类动物的研究^[16]发现,实际精子的生成数量仅为理论预测的 25%~75%,因为在正常的精子形成过程中,也存在着生精细胞凋亡的现象。生殖系统通过细胞凋亡,来维持生精小管中精子数量的相对平衡,主要是为了促进精子正常发育和成熟,维持成熟精子的数量及保障睾丸正常功能等。TUNEL 法检测细胞凋亡的原理是标记断裂的 DNA 末端,而分裂期细胞的 DNA 在合成和复制过程中会暴露大量的 DNA 末端,这会被 TUNEL 法误认为是凋亡细胞。因此,使用 TUNEL 法检测细胞凋亡,缺陷是细胞分裂旺盛的组织会出现假阳性结果。针对生精细胞凋亡的 TUNEL 法检测结果显示:暴露后第 7 天和第 14 天,假暴露组小鼠睾丸组织中凋亡细胞数明显多于暴露组,结合上述检测原理分析,可能因为暴露后第 7 天和第 14 天正处在上一个生精周期的精子成熟并启动下一生精周期的阶段,这一阶段细胞分裂旺盛,由此可能造成标记的假阳性细胞增多。因此,还须采用其他方法检测 EMP 暴露对生精细胞凋亡的影响。

实验结果表明,EMP 暴露可造成幼龄雄性 BALB/c 小鼠睾丸指数下降、精子数量减少和精子畸形率增高等一系列生殖损伤性效应,导致这些生物效应发生的原因和机制有很多方面,如能量代谢异常、氧化应激损伤等^[17-19]。MTA-1 在多种恶性肿瘤细胞中均高表达,主要作用是增加肿瘤的侵袭和转移能力。长期以来,人们主要关注 MTA-1 在肿瘤转移相关调节中的作用,而忽视了它的生理功能。MTA-1 在雄性动物睾丸发育与精子发生过程中发挥着重要作用,在小鼠睾丸组织中,MTA-1 主要定位于粗线期精母细胞,与粗线期精母细胞同步发育,在小鼠生精细胞减数分裂阶段起着重要作用^[20-21]。因此,我们选择检测 MTA-1 蛋白和基因的表达量,研究 EMP 暴露是否通过影响小鼠睾丸组织中 MTA-1 蛋白表达量,进而造成睾丸发育损伤。实验结果表明,EMP 暴露后,睾丸组织中 MTA-1 蛋白和 mRNA 表达量的降低,在一定程度上可以影响受照小鼠的睾丸发育,使精子的数目减少、精子畸形率

增加等。

根据实验结果,一定参数的 EMP 暴露对幼龄雄性 BALB/c 小鼠睾丸发育能够造成损伤效应,且其作用机制可能与 MTA-1 蛋白和 mRNA 表达量的降低有关。目前,关于 MTA-1 蛋白在雄性生殖系统中的调控作用报道较少,鉴于其在精子发生中的重要作用,我们选择 MTA-1 蛋白作为研究对象,所得结果为进一步研究电磁辐射暴露对雄性动物生殖功能影响的作用机制提供一定的实验数据。

参考文献

- 1 Wdowiak A, Mazurek P A, Wdowiak A, *et al.* Effect of electromagnetic waves on human reproduction[J]. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2017, **24**(1): 13-18. DOI: 10.5604/12321966.1228394.
- 2 Knave B. Electric and magnetic fields and health outcomes: an overview[J]. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 1994, **20**(special): 78-89. PMID: 7846495.
- 3 Sepehrimanesh M, Kazemipour N, Saeb M, *et al.* Proteomic analysis of continuous 900 MHz radiofrequency electromagnetic field exposure in testicular tissue: a rat model of human cell phone exposure[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, **24**(15): 13666-13673. DOI: 10.1007/s11356-017-8882-z.
- 4 Yan J G, Agresti M, Bruce T, *et al.* Effects of cellular phone emissions on sperm motility in rats[J]. *Fertility and Sterility*, 2007, **88**(4): 957-64. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2006.12.022.
- 5 Çetkin M, Kızılkın N, Demirel C, *et al.* Quantitative changes in testicular structure and function in rat exposed to mobile phoneradiation[J]. *Andrologia*, 2017, **49**(10): e12761. DOI: 10.1111/and.12761.
- 6 Otitoloju A A, Obe I A, Adewale O A, *et al.* Preliminary study on the induction of sperm head abnormalities in mice, *mus musculus*, exposed to radiofrequency radiations from global system for mobile communication base stations[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2010, **84**(1): 51-54. DOI: 10.1007/s00128-009-9894-2.
- 7 Falzone N, Huyser C, Fourie F, *et al.* *In vitro* effect of pulsed 900 MHz GSM radiation on mitochondrial membrane potential and motility of human spermatozoa[J]. *Bioelectromagnetics*, 2008, **29**(4): 268-276. DOI: 10.1002/bem.20390.

- 8 Aitken R J, Bennetts L E, Sawyer D, *et al.* Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline[J]. *International Journal of Andrology*, 2005, **28**(3): 171-179. DOI:10.1111/j.1365-2605.2005.00531.x.
- 9 王水明, 王德文, 彭瑞云, 等. 电磁脉冲辐射对小鼠生精细胞超微结构的改变[J]. *生殖医学杂志*, 2003, **12**(4): 197-201.
WANG Shuiming, WANG Dewen, PENG Ruiyun, *et al.* Effect of electromagnetic pulse irradiation on ultrastructure of spermatogenic cells in mice[J]. *Journal of Reproductive Medicine*, 2003, **12**(4): 197-201.
- 10 Pandey N, Giri S, Das S, *et al.* Radiofrequency radiation (900 MHz)-induced DNA damage and cell cycle arrest in testicular germ cells in swiss albino mice[J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2017, **33**(4): 373-384. DOI: 10.1177/0748233716671206.
- 11 Odacı E, Hancı H, Yuluğ E, *et al.* Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on 60-day-old rat testis and epididymal sperm quality[J]. *Biotechnic & Histochemistry*, 2016, **91**(1): 9-19. DOI: 10.3109/10520295.2015.1060356.
- 12 Lee J S, Ahn S S, Jung K C, *et al.* Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice[J]. *Asian Journal of Andrology*, 2004, **6**(1): 29-34. PMID: 15064831.
- 13 Shokri S, Soltani A, Kazemi M, *et al.* Effects of Wi-Fi (2.45 GHz) exposure on apoptosis, sperm parameters and testicular histomorphometry in rats: a time course study[J]. *Cell Journal*, 2015, **17**(2): 322-331.
- 14 Ozlem N H, Nisbet C, Akar A, *et al.* Effects of exposure to electromagnetic field (1.8/0.9 GHz) on testicular function and structure in growing rats[J]. *Research in Veterinary Science*, 2012, **93**(2): 1001-1005. DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.10.023.
- 15 王亚峰, 曾丽华, 郭国祯, 等. 电磁脉冲暴露对雄性 BALB/c 幼鼠生殖系统发育的影响[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2013, **31**(5): 050201.
WANG Yafeng, ZENG Lihua, GUO Guozhen, *et al.* Effects of electromagnetic pulse exposure on the development of reproductive system of the BALB/c mice[J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2013, **31**(5): 050201.
- 16 Billig H, Furuta I, Rivier C, *et al.* Apoptosis in testis germ cells: developmental changes in gonadotropin dependence and localization to selective tubule stages[J]. *Endocrinology*, 1995, **136**(1): 5-12. DOI: 10.1210/endo.136.1.7828558.
- 17 Chauhan P, Verma H N, Sisodia R, *et al.* Microwave radiation (2.45 GHz)-induced oxidative stress: whole-body exposure effect on histopathology of wistar rats[J]. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2017, **36**(1): 20-30. DOI: 10.3109/15368378.2016.1144063.
- 18 Houston B J, Nixon B, King B V, *et al.* The effects of radiofrequency electromagnetic radiation on sperm function[J]. *Reproduction*, 2016, **152**(6): R263-R276. DOI: 10.1530/REP-16-0126.
- 19 吴涛, 林艳云, 郭奇彦, 等. 1.84 GHz 射频电磁辐射对 SD 大鼠睾丸能量代谢酶的影响及其抗氧化损伤作用[J]. *高电压技术*, 2016, **42**(8): 2571-2576. DOI: 10.13336/j.1003-6520.hve.20160812017.
WU Tao, LIN Yanyun, GUO Qiyan, *et al.* Effects of 1.84 GHz radiation-frequency electromagnetic radiation on energy metabolism and anti-oxidative damage of male SD rat testis[J]. *High Voltage Engineering*, 2016, **42**(8): 2571-2576. DOI: 10.13336/j.1003-6520.hve.20160812017.
- 20 Li W, Liu X P, Xu R J, *et al.* Immunolocalization assessment of metastasis-associated protein 1 in human and mouse mature testes and its association with spermatogenesis[J]. *Asian Journal of Andrology*, 2007, **9**(3): 345-352. DOI: 10.1111/j.1745-7262.2007.00245.x.
- 21 Li W, Zhang J, Liu X, *et al.* Correlation of appearance of metastasis-associated protein 1 (MTA-1) with spermatogenesis in developing mouse testis[J]. *Cell and Tissue Research*, 2007, **329**(2): 351-362. DOI: 10.1007/s00441-007-0412-8.