

Original Paper

Effects of low electromagnetic field on mice embryos development

Darabi MR (PhD)¹, Bayat PD (PhD)^{*2}

¹Assistant Professor, Department of Anatomy, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

²Associate Professor, Department of Anatomy, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Abstract

Background and Objective: Electromagnetic waves generated by electronic industries and the increasing use of electrical appliances have led to higher rise in chronic exposure to extremely-low-frequency electromagnetic field (ELF-EMF). This study was done to investigate the effects of low electromagnetic field on mice embryos development.

Materials and Methods: In this experimental study, eighty female NMRI mice were super ovulated and coupled with male mated over the night. Next morning the female mice with a vaginal plug were identified as pregnant mice. Animals allocated into 2 groups; control group was not exposed to EMF and animals in case group exposed to 50 Hz and amp; 1.2 mT EMF the pregnant mice were scarified by cervical dislocation at 24, 72, 81, 96, 110 and 120 hours. Embryos were subsequently obtained from the mice by flashing the fallopian tubule and uterus horn. Data were analyzed using SPSS-13.5, ANOVA and student's t-tests.

Results: The number of 2, 3-4 cells and 5-8 of embryo cells and blastocyst decreased in case group compared to controls, but these reduction were not significant. The number of morula in cases significantly reduced in comparison with control group ($P<0.05$). The average number of fragmented blastocyst in experimental groups significantly increased compared to control group ($P<0.05$). The number of inner cell mass and trophoectoderm in experimental group significantly reduced in comparison with controls ($P<0.05$).

Conclusion: The exposure of extremely-low electromagnetic field in pregnancy reduces the number of morula, inner cell mass and trophoectoderm.

Keywords: Low electromagnetic field, Mice, Pregnancy, Embryo

* **Corresponding Author:** Bayat PD (PhD), E-mail: bayatanat@yahoo.com.au

Received 16 Jan 2011

Revised 17 Jan 2012

Accepted 11 Apr 2012

تحقیقی

اثر امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف بر تکامل رویان موش

دکتر محمدرضا دارابی^۱، دکتر پروین دخت بیات^{۲*}

۱- استادیار گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اراک. ۲- دانشیار گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

چکیده

زمینه و هدف: افزایش استفاده از وسایل الکترونیکی تولید کننده امواج الکترومغناطیسی، سبب قرارگیری انسان در معرض این امواج شده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف در دوران بارداری بر تکامل رویان موش انجام شد. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۸۰ سر موش ماده از نژاد *NMRI* ۸-۶ هفته‌ای پس از تحریک تخمدان‌ها برای افزایش فولیکول در کنار موش‌های نر قرار گرفتند. صبح روز بعد با دیدن پلاک واژینال به طور مساوی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی در مقابل امواج الکترومغناطیسی با قدرت ۱/۲ میلی‌تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز قرار داده شدند. هر دو گروه موش‌ها در ساعات ۲۴، ۷۲، ۸۱، ۹۶، ۱۱۰ و ۱۲۰ حاملگی نخاعی شدند. سپس لوله‌های فالوپ و شاخ‌های رحم فلوشینگ گردید و رویان‌ها جمع‌آوری شدند. برای بررسی کیفیت رویان‌های در مرحله بلاستوسیست، به روش هوشست رنگ‌آمیزی شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری *SPSS-13.5* و آزمون‌های *ANOVA* و *student's t-test* تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: علی‌رغم کاهش رویان‌های ۲ سلولی، ۴-۳ سلولی و ۸-۵ سلولی و بلاستوسیست در گروه تجربی، اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و تجربی دیده نشد. اما در رویان‌های مرحله مورولا در مقایسه بین گروه کنترل و تجربی اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). تعداد متوسط بلاستوسیست‌های فراگماتته شده در گروه تجربی در ۱۲۰ ساعت اول حاملگی بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0/05$). تعداد سلول‌های توده درونی و تروفوکتودرم در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری یافت ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که قرارگیری موش‌های باردار در مقابل امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف سبب کاهش تعداد رویان‌ها در مرحله مورولا، کاهش تعداد سلول‌های توده درونی رویان و تروفوکتودرم می‌گردد.

کلید واژه‌ها: امواج الکترومغناطیسی ضعیف، موش، بارداری، رویان

* نویسنده مسؤول: دکتر پروین دخت بیات، پست الکترونیکی bayatanat@yahoo.com.au

نشانی: اراک، سردشت، دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی، تلفن ۰۸۶۱-۴۱۷۳۵۰۲، نامبر ۴۱۷۳۵۲۱
وصول مقاله: ۸۹/۱۰/۲۶، اصلاح نهایی: ۹۰/۱۰/۲۷، پذیرش مقاله: ۹۱/۱/۲۳

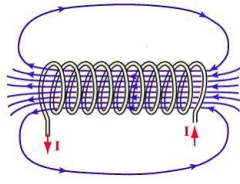
مقدمه

میدان‌های الکترومغناطیسی ممکن است در مراحل اولیه امبریون‌ز در ماهی‌ها، دوزیستان و پرندگان اختلال ایجاد کند (۳). در مطالعه‌ای نیز جنین پستانداران به امواج الکترومغناطیسی با فرکانس پایین یا بسیار پایین در شرایط طبیعی (*in vivo*) و آزمایشگاهی (*in vitro*) حساس گزارش شدند؛ اما نتایج این اثرات قطعی نیست (۴).

نتایج متفاوتی از مرگ اولیه جنین و ناهنجاری‌های جنینی تا تغییرات رفتاری بعد از تولد گزارش شده است. مطالعاتی اپیدمیولوژیک روی اثر امواج بر نتیجه حاملگی و تولد نوزاد اثرات ثابتی را نشان نداده است (۵). علی‌رغم انجام مطالعات اپیدمیولوژیک زیاد؛ اما اثر واقعی این امواج روی تولید مثل انسان (پستانداران) هنوز ناشناخته است و مطالعاتی که روی حساسیت‌های

میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار ضعیف از عوامل خطرناک محیطی است که نقش موثری و مهمی بر سلامت انسان دارد. امواج الکترومغناطیسی از میدان‌های الکترومغناطیسی عمود برهم تشکیل شده و می‌تواند از دستگاه‌های مختلف که با نیروی الکتریسته و مغناطیس کار می‌کنند؛ تولید گردد. از جمله این دستگاه‌ها انکوباتور، انواع میکروسکوپ و هود می‌باشند. این امواج می‌توانند بر بدن موجودات زنده اثر بگذارند. از جمله این اثرات احتمال سرطان در کودکان به خصوص لوسمی است. در بالغین علاوه بر سرطان بیماری‌های سایکولوژیک، نورولوژیک و قلبی عروقی هم گزارش شده است (۱) و کمتر به نقش آن در سلامتی تولید مثل توجه شده است (۲).

(شکل یک).



شکل ۱: دستگاه تولید میدان الکترومغناطیسی ضعیف

برای این منظور دو سلنویید با ابعاد مشابه اما تعداد دورهای ۱۷۸۰ و ۱۷۲۰ با یکدیگر سری شده و یک سلنویید طولی ۳۵۰۰ دور تشکیل شد. قطر و طول هر سلنویید به ترتیب ۲۰ و ۱۸ سانتی متر بود. سیم به کاررفته در سلنوییدها از نوع سیم مسی با قطر یک میلی متر بود. این سلنویید با یک منبع ولتاژ قابل تنظیم با فرکانس ۵۰ هرتز و یک آمپرسنج به طور سری بسته شد. دستگاه در گروه فیزیکی دانشگاه اراک طراحی و ساخته شد.

اندازه گیری شدت میدان مغناطیسی داخل سلنویید با

استفاده از تسلاسنج

سنسور تسلاسنج (Leybold Dioactic GMBH) در وسط دو سلنویید (نقطه قرارگیری حیوانات) قرار داده شد و شدت میدان مغناطیسی اندازه گیری گردید (۹).

ارزیابی رویانها

۲۴ و ۷۲ ساعت پس دیدن پلاک واژینال به ترتیب رویانهای ۱-۲ سلولی، ۳-۴ سلولی و ۵-۸ سلولی و بیشتر در زیر استریومیکروسکوپ (Nikon SMZ645 ساخت ژاپن) شمارش شدند. با این روش میزان تسهیم مورد بررسی قرار گرفت.

چنینها ۸۶، ۹۶، ۱۱۰ و ۱۲۰ ساعت پس از دیدن پلاک واژینال در زیر استریومیکروسکوپ مورد شمارش و ارزیابی قرار گرفتند.

مطالعه کیفیت رویانها با رنگ آمیزی دوگانه هوخست

به منظور ارزیابی بلاستوسیت‌های حاصل از رنگ آمیزی دوگانه اقدام به شمارش توده سلولی داخلی (mass cell inner) و تروفوکتودرم (trophoectoderm) گردید. در این روش از دو رنگ فلورسنت به ترتیب زیر استفاده شد.

۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر پروپیدیوم یواید (Sigma P-41170) قادر به نشاندار نمودن اسیدهای نوکلئیک در سلولهای با غشای آسیب دیده است و سلولهای نشاندار شده TE توسط میکروسکوپ فلورسانت به رنگ قرمز دیده شدند. سپس از غلظت ۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر رنگ بیس بنزیماید (Sigma B-2261) استفاده شد که قادر به عبور از غشای پلاسمای سلولهای سالم (ICM) می باشد و سلولهای سالم با نشاندار نمودن DNA آنها، توسط میکروسکوپ فلورسنت به رنگ آبی دیده شدند (۱۰).

ابتدا بلاستوسیتها تحت تاثیر آنزیم پروتئیناز دیواره شفاف خود را از دست دادند. سپس در محلول فسفات بافر سالین بدون

سیستمهای بیولوژیکی در برابر امواج ELF-EMF انجام گرفته است؛ در حوزه تولیدمثل پاسخگو نیست (۶). لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف در دوران بارداری بر تکامل رویان موش انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۸۰ سر موش ماده از نژاد NMRI ۶-۸ هفته‌ای (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) پس از تحریک تخمدانها برای افزایش فولیکول در کنار موشهای نر قرار گرفتند. موشها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند (۷). پروتکل کار روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

برای تحریک تخمدان (۸) به همه موشهای ماده ۵ IU (pregnant mare serum gonadotropin) PMSG (Folligon Intervet, Netherland) در ساعت ۱۳ به روش داخل صفاقی برای افزایش تعداد فولیکولهای تخمدانی در هر سیکل تحریک تزریق شد و پس از ۴۸ ساعت ۵ IU hCG (human chorionic gonadotropin) Pregnyl 1500 داروپخش، ایران) به آنها تزریق و همزمان با موشهای نر هم قفس شدند. صبح روز بعد پلاک واژینال کنترل شد و موشهای با پلاک واژینال مثبت به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی به دستگاه تولیدکننده امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف با قدرت ۱/۲ میلی تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز منتقل شد و در ۲۴، ۷۲، ۸۱، ۹۶، ۱۱۰ و ۱۲۰ ساعت پس از تزریق hCG برای به دست آوردن جنینهای ۱-۲ سلولی، ۳-۵ سلولی، ۵-۸ سلولی، مورولا و بلاستوسیت در دستگاه نگهداری شدند. پس از سپری شدن زمان موردنظر از دستگاه خارج شدند. گروه کنترل خارج از دستگاه نگهداری شد. سپس هر دو گروه به روش جابجایی مهره‌های گردنی کشته شدند و پس از باز کردن حفره شکم، لوله فالوپ و شاخ رحمی به طور کامل برداشته شد و در قطره‌های ۱۰۰ میکرولیتری از محیط کشت RPMI 1640 قرار داده شدند (۸). در هر دو گروه کنترل و تجربی به روش فلاشینگ رویانهای ۱-۲ سلولی، ۳-۴ سلولی، ۵-۸ سلولی، مورولا و بلاستوسیت با استفاده از استریومیکروسکوپ (Nikon SMZ645) جمع آوری و پس از ۲ بار شستشو تفکیک و شمارش گردیدند. برای گروه کنترل به جز قرارگیری در دستگاه تولیدکننده امواج، همه موارد فوق تکرار گردید.

دستگاه تولید میدان الکترومغناطیسی ضعیف

میدان الکترومغناطیسی سینوسی با اعمال یک جریان متناوب و مستقیم به یک سلنویید (سیم پیچ) به دست آمد که در داخل و خارج سلنویید میدانهای الکتریکی و مغناطیسی عمود بر هم بود و خطوط میدان مغناطیسی در داخل تقریباً موازی محور بودند

بلاستوسیسیت‌ها به وسیله میکروسکوپ اینورت فلورسانس (Nikon TS100 ساخت ژاپن) مورد ارزیابی قرار گرفتند. توده سلولی داخلی به رنگ آبی و سلول‌های تروفواکتودرم به رنگ قرمز مشاهده شدند. برای ارزیابی کیفیت تعداد توده سلولی داخلی و سلول‌های تروفواکتودرم در دو گروه کنترل و تجربی شمارش و با هم مقایسه شدند. برای بررسی کیفیت رویان‌ها، رنگ آمیزی در گروه‌ها هشت بار تکرار شد (شکل یک).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-13.5 و آزمون‌های آماری ANOVA و student's t-test تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردید.

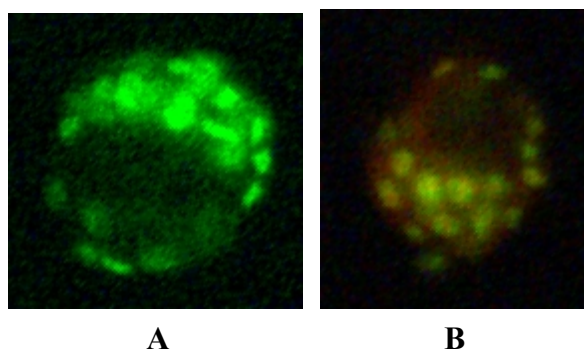
یافته‌ها

تعداد رویان‌ها در مراحل مختلف تکاملی در دو گروه تجربی و کنترل در جدول یک آمده است.

در مقایسه بین میانگین تعداد جنین‌هایی که به مرحله ۲ سلولی و ۳-۴ سلولی، ۵-۸ سلولی، مورولا، بلاستوسیسیت اولیه و بلاستوسیسیت‌های شکوفا شده رسیدند؛ فقط در گروه جنین‌های مرحله مورولا اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0/05$) (جدول یک).

در گروه تجربی تعداد رویان‌ها کمتر بود؛ ولی از نظر زمانی زودتر به مرحله تکامل رسیده بودند. در مقایسه بین میانگین تعداد رویان‌هایی که به مرحله بلاستوسیسیت رسیدند؛ از نظر زمانی اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). به طوری که رویان‌هایی که مادرانشان در طول حاملگی در مقابل امواج

کلسیم و منیزیم (PBS) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد شسته شدند. به مدت ۲۰ دقیقه در محلول $300 \text{ g/ml} \mu$ پروپیدوم یداید (Sigma P-41170) و $5 \text{ g/ml} \mu$ سیس بنزماید (Sigma B-2261, Hoescht 33342) آنکوبه شدند. پس از طی زمان آنکوباسیون در رنگ، برای حذف رنگ باقی‌مانده بلاستوسیسیت‌ها سه مرتبه در PBS و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد شستشو داده شدند و به سرعت در گلو تارالدئید ۲/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق فیکس شدند. سپس یک قطره کوچک گلیسرین را بر روی لام قرار دادیم و رویان رنگ آمیزی شده در آن قرار داده شد و به کمک پارافین جامد مکعب کوچکی به ضخامت قطر رویان و طول و عرض لامل تهیه و روی آن با لامل پوشانده شد.



شکل ۱: بلاستوسیسیت رنگ آمیزی شده با رنگ دوگانه هوخست (A) سلول‌های زنده جنین گروه تجربی به تفکیک مشخص است. (B) در گروه تجربی سلول‌های سازنده جنین به تفکیک دیده می‌شوند. حفره بلاستوسیسیت به صورت سیاه رنگ دیده می‌شود و در قطب جنینی سلول‌ها با تراکم بیشتر توده درونی قرار گرفته‌اند.

جدول ۱: مقایسه تعداد رویان‌های تک سلولی، ۲ سلولی، ۳-۴ سلولی، ۵-۸ سلولی، مورولا، بلاستوسیسیت و بلاستوسیسیت شکوفا شده در موش‌های باردار گروه کنترل و گروه قرار گرفته در معرض امواج الکترومغناطیس ضعیف

نوع جنین	تعداد رویان‌های گروه کنترل	تعداد رویان‌های گروه تجربی	p-value
تک سلولی	۱۰۲	۱۰۲	NS
۲ سلولی	۴۲	۱۰۷	NS
۳-۴ سلولی	۳۵	۱۱۲	NS
۵-۸ سلولی	۴۳	۱۰۲	NS
مورولا	۴۳	۱۰۱	۰/۰۲
بلاستوسیسیت	۳۷	۹۲	NS
بلاستوسیسیت فراگامته شده	۳۷	۱۰۵	NS

NS: non significant

جدول ۲: مقایسه میانگین تعداد کل رویان‌های رسیده به مرحله ۲ سلولی، ۳-۸ سلولی، مورولا، بلاستوسیت و بلاستوسیت‌های فراگامته شده از نظر زمانی در گروه تجربی و کنترل

نوع جنین	میانگین تعداد رویان ۷۲ ساعت		میانگین تعداد رویان ۸۱ ساعت		میانگین تعداد رویان ۹۶ ساعت		میانگین تعداد رویان ۱۱۰ ساعت	
	کنترل	تجربی	کنترل	تجربی	کنترل	تجربی	کنترل	تجربی
۲ سلولی	۱	۳	۰	۱	۴	۱	۶	۲
۳-۸ سلولی	۱	۱	۱	۱	۳	۵	۳	۰
مورولا	۵	۲	۵	۰	۱	۴	۱	۱
بلاستوسیت	۰	۰	۲	۰	۸	۵	۴	۱
بلاستوسیت فراگامته شده	۰	۱	۳	۱۱	۳	۳	۱	۱

جدول ۳: مقایسه میانگین تعداد رویان‌های مرحله بلاستوسیست، کل سلول‌ها، سلول‌های توده درونی و تروفواکتودرم و نسبت بین این دو گروه سلولی در گروه کنترل و تجربی با استفاده از رنگ‌آمیزی افتراقی دوگانه هوخست

p-value	میانگین و انحراف معیار	
	میانگین و انحراف معیار گروه تجربی	میانگین و انحراف معیار گروه کنترل
<۰/۰۵	۶/۶۴±۱/۳۴	۸/۲۲±۱/۵۹
۰/۰۱	۱۵/۷۵±۳/۴۱	۲۲/۸۸±۶/۲
۰/۰۱	۲۵/۷۴±۴/۸۶	۳۱/۶۷±۶/۰۵
۰/۰۲	۰/۶۲±۰/۱۲	۰/۴۲±۰/۱۴
۰/۰۱	۴۱/۴۹±۷/۲۳	۴۵/۵۶±۱۱/۳۸

جنین را تحریک کند که این امر موجب افزایش تعداد جنین‌های جذب شده، می‌شود (۸).

یافته‌های این مطالعات (۸ و ۱۱ و ۱۲) نتایج مطالعه ما را تایید می‌کنند؛ اما با توجه به زمان در معرض قرارگیری امواج، ممکن است نتایج متفاوت باشد.

در مطالعه حاضر جنین‌هایی که به مرحله بلاستوسیست رسیدند؛ تعداد سلول‌های سازنده جنین کمتری از گروه کنترل داشتند. همچنین تعداد سلول‌های توده درونی و تعداد سلول‌های تروفواکتودرم کاهش یافت و این کاهش سلولی در همه موارد ذکر شده معنی‌دار بود.

در مطالعه Bernabo و همکاران با استفاده از امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف (۱/۲ میلی‌تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز) اثر امواج نشان‌دهنده کاهش در تعداد سلول‌های بلاستوسیست بود؛ اما تفاوت آماری معنی‌داری در تعداد بلاستوسیست‌ها یافت نشد. همچنین امواج الکترومغناطیسی سینوزوئیدی در مرحله قبل از لانه‌گزینی به روش *in vivo* و *in vitro* روی رشد کلی رویان اثر معنی‌داری نداشت. تعداد جنین‌های زنده و زمان رشد تا مرحله بلاستوسیست در گروه تحت اثر امواج با گروه کنترل مشابه بود (۱۳).

در مطالعه Bernabo و همکاران (۱۳) گروه‌ها از هم تفکیک نشده بود. در حالی که در مطالعه حاضر مراحل مختلف تکامل از هم جدا شدند؛ ولی نتایج تقریباً مشابه است. زیرا در مطالعه ما هم فقط در گروه مورولا اختلاف معنی‌دار بود و در گروه‌های دیگر در تعداد جنین‌ها اختلاف معنی‌داری دیده نشد. اما در مورد تعداد سلول‌های بلاستوسیست در مطالعه ما اختلاف معنی‌دار است. در صورتی که در مطالعه Bernabo و همکاران (۱۳) اختلاف غیرمعنی‌دار وجود داشت. احتمالاً علت این تفاوت در نتیجه، تفاوت در نوع موش مورد استفاده است. همین‌طور در این مطالعه تعداد مورولا نسبت به گروه کنترل در گروه تجربی کاهش یافته است که می‌تواند به دلیل مانیپولاسیون بر روی تخمک و جنین و آسیب به DNA آنها باشد.

در مطالعه حاضر اثر امواج الکترومغناطیسی ضعیف نشان‌دهنده

قرار گرفتند؛ مرحله تکامل را سریع‌تر طی نمودند (جدول ۲).

در مقایسه میانگین تعداد کل سلول‌های سازنده رویان (TC)، سلول‌های توده درونی (IMC) و تروفواکتودرم (TE) و نسبت بین این دو گروه سلولی (IMC/TE) در مرحله بلاستوسیست، در دو گروه کنترل و تجربی اختلاف آماری معنی‌داری یافت نشد و تعداد سلول‌های بلاستوسیست، توده درونی جنین و تروفواکتودرم در گروه کنترل کمتر بود (جدول ۳).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که مواجهه موش‌های ماده با امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف با قدرت ۱/۲ میلی‌تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز سبب کاهش معنی‌دار تعداد رویان‌ها در مرحله ۲ سلولی، ۳-۴ سلولی، ۵-۸ سلولی، مورولا و بلاستوسیست می‌گردد.

در مطالعه Qiong و همکاران با استفاده از تشکیل *ch2AX foci* به‌عنوان یک تشخیص‌دهنده؛ گزارش شد که میدان الکترومغناطیسی با قدرت ۰/۵ میلی‌تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز در مرحله پیش از لانه‌گزینی در رویان موش در روش *in vivo* و *in vitro* می‌تواند به DNA صدمه زده و این آسیب باعث کاهش میزان تسهیم در جنین‌ها می‌گردد (۱۱).

در مطالعه Zhonghua و همکاران در گروهی از موش‌های باردار در معرض امواج الکترومغناطیسی ضعیف با قدرت ۱/۲ میلی‌تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز، تعداد نوزادان کاهش آماری معنی‌داری داشت و مرگ جنینی، سقط و ناهنجاری‌های ظاهری دیده شد (۱۲). در مطالعه Zhonghua و همکاران (۱۲) موش‌های مادر به فول ترم رسیدند و سپس نتایج بررسی شد. به همین دلیل آنها کاهش تعداد جنین را گزارش نمودند؛ اما در مطالعه حاضر اولین روزهای تکامل مطالعه و تعداد رویان‌ها تا مرحله بلاستوسیست بررسی شد؛ ولی نتایج هر دو مطالعه کاهش رویان را نشان می‌دهد.

در مطالعه Huuskonen و همکاران موش‌ها در مرحله قبل از لانه‌گزینی در مقابل امواج الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز قرار گرفتند و گزارش شد که قرارگیری در معرض امواج مغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز اثر مستقیمی روی مرحله اولیه تکامل در جنین موش در شرایط IVF نمی‌گذارد و فقط می‌تواند حالت سمی در

کمتر از گروه کنترل بود (۱۵).

تغییرات دیده شده ممکن است ناشی از اثر سمی امواج الکترومغناطیسی بر روی ژن‌ها باشد (۱۶). تحقیقات روی سلول نشان داده است که امواج الکترومغناطیسی در سلول موجب تغییرات در پلی آمین‌ها و فعال شدن بیان ژن C-MyC و CFOc می‌گردد (۱۷). پلی آمین‌ها ترکیباتی هستند که از طریق فعال نمودن بیان ژن C-MyC و CFOc در سنتز سلولی و دیفرانسیه شدن آن نقش دارند. بنابراین امواج الکترومغناطیسی با اثر گذاشتن بر روی این پروتئین‌ها بر تکثیر و دیفرانسیه شدن سلول‌ها موثرند. این مکانیسم همچنین احتمال افزایش تکثیر سلولی سرطانی کنترل نشده را به وسیله امواج بالا می‌برد (۱۸ و ۱۹).

امواج الکترومغناطیسی سبب استرس اکسیداتیو می‌گردد که احتمالاً منجر به افزایش صدمه سلولی و مرگ سلولی می‌شود (۲۰). اتفاقات پشت سرهم (سریالی) در مراحل تکامل طبیعی به وسیله جریان‌های داخلی یونی و میدان‌های الکتریکی هدایت می‌شوند. قطع این میدان‌ها در موجوداتی که در معرض امواج الکترومغناطیسی قرار می‌گیرند؛ اثر معکوسی بر این اتفاقات پشت سرهم گذاشته و سبب توقف فرایند طبیعی تکامل می‌شود (۲۱).

امواج الکترومغناطیسی فرایند متابولیسمی به خصوص سنتز عوامل کنترل کننده در مرحله اول تکامل جنینی را فعال می‌کند. در دو مطالعه که بر روی جنین موش کشت داده شده در شرایط *In vitro* انجام گرفت (۲۲ و ۲۳)؛ بعد از این که جنین‌ها در معرض امواج قرار داده شدند؛ آنها توانستند بدون استفاده از سرم یا عوامل رشد در محیط کشت به مرحله بلاستوسیست برسند. این یافته نشان می‌دهد که این امواج اثر تحریک کننده‌ای بر مرحله اول تکامل جنینی دارند و مقاومت جنین در مقابل شرایط نامساعد محیطی را بالا می‌برند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که قرارگیری موش‌های باردار در مقابل امواج الکترومغناطیسی بسیار ضعیف سبب کاهش رویان‌ها در مرحله مورولا، کاهش تعداد سلول‌های توده درونی جنین و تروفواکتودرم می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۳۰/۳۶۴) معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک بود.

کاهش غیرمعنی دار در تعداد سلول‌های بلاستوسیست بود. همچنین امواج الکترومغناطیسی ضعیف، در جنین‌های زنده در مرحله اول به تحریک رشد منجر گردید و در مراحل بعدی موجب تاخیر در رشد جنین‌ها (کاهش تعداد سلول‌ها در بلاستوسیست) شد.

در مطالعه Beraldi و همکاران (۱۴) جنین دو سلولی کشت شده در شرایط IVF در مقابل امواج الکترومغناطیسی با فرکانس بسیار پائین (قدرت ۶۰، ۱۲۰ و ۲۲۰ میکروتسلا و فرکانس ۵۰ هرتز) به مدت ۵ روز قرار گرفت. میزان جنین زنده در آخرین مرحله تکاملی قبل از لانه‌گزینی (مانند رفتن ۸ سلولی به مرحله بلاستوسیست) با تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.05$) کمتر از گروه کنترل بود و هرچه قدرت میدان بالاتر (۲۲۰ میلی تسلا) بود؛ آثار زودتر ظاهر گشت. اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه یافت شد. چنان که تعداد جنین‌های زنده نسبت به گروه کنترل در مورد جنین‌های حاصل از IVF اختلاف آماری معنی دار بارزی داشت ($P = 0.01$). کاهش جنین‌های زنده در شرایط IVF در مرحله کلیواژ نمایان شد. این نتایج نشان می‌دهد که جنین‌های حاصل از IVF نسبت به شرایط *in vivo* به میدان‌های الکترومغناطیسی بسیار ضعیف حساس‌ترند و این حساسیت در مرحله زودتری از تکامل نشان داده می‌شود (۱۴). این نتایج مشابه نتایج مطالعه حاضر است که نشان داد میانگین تعداد جنین‌ها زمانی که در مرحله قبل از مورولا هستند؛ اختلاف آماری معنی دار ندارند و با افزایش سن جنین آثار امواج خود را نشان داده و اختلاف بین گروه‌ها معنی دار می‌شود.

در مطالعه Bernabo و همکاران در مقایسه بین میانگین تعداد کل سلول‌های سازنده جنین (Total cell)، سلول‌های توده درونی (IMC) و تروفواکتودرم (TE) و نسبت بین این دو گروه سلولی (IMC/TE) در مرحله بلاستوسیست در دو گروه کنترل و تجربی؛ اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه یافت نشد و در همه گروه‌های تجربی نسبت به گروه‌های کنترل تعداد سلول‌ها کمتر بود (۱۳).

در مطالعه Zusman و همکاران جنین‌ها در میدان مغناطیسی با شدت ۲۰ میلی تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز قرار گرفتند. جنین‌ها در مرحله بلاستوسیست و قبل از لانه‌گزینی بودند و به مدت ۷۲ ساعت در محیط کشت قرار داده شدند. در ۵۰ درصد جنین‌ها توقف در مرحله بلاستوسیست شکوفا شده و مراحل بعدی دیده شد. علاوه بر این در بلاستوسیست‌های در معرض امواج، مرگ جنینی بیشتر بود. همچنین تاخیر رشد همراه با آشفستگی نظیر جنین‌های بهم چسبیده دیده شد. در مراحل آخر تکامل قبل از لانه‌گزینی تعداد جنین‌ها

aged rat brain. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(12):2762-70.

2. Huuskonen H, Lindbohm ML, Juutilainen J. Teratogenic and reproductive effects of low-frequency magnetic fields. *Mutat Res.*

References

1. Falone S, Mirabilio A, Carbone MC, Zimmiti V, Di Loreto S, Mariggio MA, et al. Chronic exposure to 50Hz magnetic fields causes a significant weakening of antioxidant defence systems in

- 1998 Apr;410(2):167-83.
3. Kuźna-Grygiel W, Gonet B, Jaborowska M, Kołodziejczyk L. Effect of electric power network frequency magnetic field on embryonic development of *Ascaris suum* (Nematoda). *Folia Biol* (Krakow). 2005;53(1-2):101-5.
 4. Tribukait B, Cekan E, Paulsson LE. Effects of pulsed magnetic fields on embryonic development in mice. In: Knave B, Widebeck PG, editors. *Work with display units*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. 1987; pp: 129-34.
 5. Knave B. Electric and magnetic fields and health outcomes--an overview. *Scand J Work Environ Health*. 1994;20 Spec No:78-89.
 6. Bernabò N, Tettamanti E, Pistilli MG, Nardinocchi D, Berardinelli P, Mattioli M, et al. Effects of 50 Hz extremely low frequency magnetic field on the morphology and function of boar spermatozoa capacitated in vitro. *Theriogenology*. 2007 Mar; 67(4):801-15.
 7. Borhani N, Rajaei F, Salehi Z, Javadi A. Analysis of DNA fragmentation in mouse embryos exposed to an extremely low-frequency electromagnetic field. *Electromagn Biol Med*. 2011 Dec; 30(4):246-52.
 8. Huuskonen H, Juutilainen J, Komulainen H. Development of preimplantation mouse embryos after exposure to a 50 Hz magnetic field in vitro. *Toxicol Lett*. 2001 Jun;122(2):149-55.
 9. Fabian D, Reháč P, Czikková S, Il'ková G, Baran V, Koppel J. Induced cell death of preimplantation mouse embryos cultured in vitro evaluated by comet assay. *Theriogenology*. 2003 Sep; 60(4):691-706.
 10. Frölen H, Svedenstål BM, Paulsson LE. Effects of pulsed magnetic fields on the developing mouse embryo. *Bioelectromagnetics*. 1993;14(3):197-204.
 11. Luo Q, Yang J, Zeng QL, Zhu XM, Qian YL, Huang HF. 50-Hertz electromagnetic fields induce gammaH2AX foci formation in mouse preimplantation embryos in vitro. *Biol Reprod*. 2006 Nov;75(5):673-80.
 12. Cao YN, Zhang Y, Liu Y. [Effects of exposure to extremely low frequency electromagnetic fields on reproduction of female mice and development of offsprings]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2006 Aug;24(8):468-70. [Article in Chinese]
 13. Bernabò N, Tettamanti E, Russo V, Martelli A, Turriani M, Mattoli M, et al. Extremely low frequency electromagnetic field exposure affects fertilization outcome in swine animal model. *Theriogenology*. 2010 Jun;73(9):1293-305.
 14. Beraldi R, Sciamanna I, Mangiacasale R, Lorenzini R, Spadafora C. Mouse early embryos obtained by natural breeding or in vitro fertilization display a differential sensitivity to extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutat Res*. 2003 Jul; 538(1-2):163-70.
 15. Zusman I, Yaffe P, Pinus H, Ornoy A. Effects of pulsing electromagnetic fields on the prenatal and postnatal development in mice and rats: in vivo and in vitro studies. *Teratology*. 1990 Aug; 42(2):157-70.
 16. Aitken RJ, Bennetts LE, Sawyer D, Wiklendt AM, King BV. Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *Int J Androl*. 2005 Jun;28(3):171-9.
 17. Horowitz M. From molecular and cellular to integrative heat defense during exposure to chronic heat. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2002 Mar;131(3):475-83.
 18. Shalloom JM, Di Carlo AL, Ko D, Penafiel LM, Nakai A, Litovitz TA. Microwave exposure induces Hsp70 and confers protection against hypoxia in chick embryos. *J Cell Biochem*. 2002;86(3):490-6.
 19. Albertini A, Zucchini P, Noera G, Cadossi R, Pace Napoleone C, Pierangeli A. Protective effect of low frequency low energy pulsing electromagnetic fields on acute experimental myocardial infarcts in rats. *Bioelectromagnetics*. 1999 Sep;20(6):372-7.
 20. Moustafa YM, Moustafa RM, Belacy A, Abou-El-Ela SH, Ali FM. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidant activities in human erythrocytes. *J Pharm Biomed Anal*. 2001 Nov; 26(4):605-8.
 21. Saunders RD, McCaig CD. Developmental effects of physiologically weak electric fields and heat: an overview. *Bioelectromagnetics*. 2005;Suppl 7:S127-32.
 22. Goodman EM, Greenebaum B, Marron MT. Effects of electromagnetic fields on molecules and cells. *Int Rev Cytol*. 1995; 158:279-338.
 23. Maloyan A, Palmon A, Horowitz M. Heat acclimation increases the basal HSP72 level and alters its production dynamics during heat stress. *Am J Physiol*. 1999 May;276(5 Pt 2):R1506-15.