

تأثیر میدان الکترومغناطیس با فرکانس خیلی پایین (ELF – EMF) روی مارکرهای زیستی استرس اکسیداتیو در رت‌های حامله

• دکتر حمیده قراملکی

PhD، دپارتمان علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
مجتمع پژوهشی شمال غرب کشور

hamideh.gharamaleki@gmail.com

• دکتر جعفر سلیمانی راد

استاد (PhD)، دپارتمان علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

• دکتر لیلا روشنگر

دانشیار (PhD)، دپارتمان علوم تشریح، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

• امیر منصور وطن خواه

کارشناس ارشد بیوشیمی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز مرکز تحقیقات علوم کاربردی دارویی، تبریز، ایران

• دکتر اکرم ولی پور

PhD، دپارتمان زیست شناسی، دانشگاه فرهنگیان، شهرکرد ایران

چکیده

زمینه و هدف: در دهه‌های اخیر تحقیقات جالبی در ارتباط با اثرات میدان‌های الکترومغناطیس روی استرس سلولی، مولکول‌های واکنشگر اکسیژن دار (ROS) و رادیکال‌های آزاد انجام شده است. از این رو محققان نگران اثرات EMF با فرکانس ۵۰ و ۶۰ Hz در سیستم‌های بیولوژی هستند. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات میدان الکترومغناطیس ۵۰ Hz روی پارامترهای استرس اکسیداتیو در رت‌های حامله می‌باشد.

مواد و روش کار: در گروه تیمار رت‌های حامله نژاد ویستار در معرض EMF، ۳ mT، به مدت ۲۱ روز، هر روز ۴ ساعت، قرار گرفتند. رت‌های حامله تحت شرایط یکسان گروه تیمار اما میدان خاموش به عنوان گروه شم (بررسی نقش استرس قرارگیری در محیط متفاوت از آزمایشگاه در نتایج حاصله) در نظر گرفته شدند و رت‌های حامله در شرایط اتاق به عنوان گروه کنترل استفاده شدند. پس از زایمان نمونه‌های خون و سرم مادران برای آنالیز بیوشیمیایی

Malondialdehyde (MDA)

Total Antioxidant Capacity (TAC)

و Glutathione Peroxidase (GPX) تهیه شدند.

نتایج: آنالیز بیوشیمیایی نشان داد سطح MDA و TAC در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ($P < 0.002$ و $P < 0.008$) افزایش معنی داری داشت، اما تفاوتی در سطح این مارکرها در بین گروه کنترل با شم مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی داری در سطح GPX در بین گروه‌ها مشاهده نشد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS v.19 و با استفاده از آزمون T- test انجام شد و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

بحث: نتایج پیشنهاد می‌کنند که میدان‌های الکترومغناطیسی استرس اکسیداتیو را با افزایش لیپید پراکسیداز و آنتی اکسیدان کل القاء کرده، که به عنوان بدام اندازنده‌های رادیکال آزاد هستند.

کلمات کلیدی: میدان الکترومغناطیس، رت‌های حامله، استرس اکسیداتیو

مقدمه

زندگی روی زمین در دریایی از میدان‌های الکترومغناطیسی (EMFs) طبیعی ظاهر شده است. در طی قرن اخیر این محیط

روی استرس سلولی، بیماری آلزایمر، مولکول‌های واکنشگر اکسیژن دار و رادیکال‌های آزاد انجام شده است [۹]. در سیستم‌های دفاعی، سوپراکسید دیس موتاز (SOD) *Superoxide dismutase*، کاتالاز (CAT) *Catalase* و گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) *Glutathione peroxidase*، اثرات H_2O_2 را با تبدیل به آب و اکسیژن خنثی می‌کنند. آنزیم اصلی خارج کننده H_2O_2 در سلول‌های پستانداران GPX است [۱۰]. GPX به عنوان دهنده الکترون رادیکال‌های پراکسیل (ROO) را از پراکسیدهای مختلف مانند H_2O_2 خارج می‌کند [۱۱].

یکی دیگر از ایندکس‌های استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدهاست، که به عنوان دژنراسیون پلی اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA) *Poly unsaturated fatty acids* در غشاهای سلولی در مسیر اتصال ROS شناخته شده‌اند. محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید مالون دی آلدئید (MDA) *Malondialdehyde* است [۱۲]. به علت ناپایداری رادیکال‌های آزاد و پیچیدگی تکنیک‌های در دسترس، اندازه گیری آن‌ها در ارگانسیم مشکل بوده و از آنجا که جداسازی اندازه گیری مولکول‌های اکسیدان و آنتی اکسیدان مختلف عملاً مشکل است، اندازه گیری *Total antioxidant capacity (TAC)* پیشنهاد شده است [۲۱]. مدارک پیشنهاد می‌کنند که توجه ویژه‌ای باید به حفاظت جنین‌ها و نوزادان در برابر فرکانس‌ها و شدت‌های مختلف EMFs شود. با توجه به مطالب عنوان شده هدف از این کار بررسی تاثیر *ELF - EMF* بر روی مارکرهای استرس اکسیداتیو *TAC*، *MDA* و *GPX* در رت‌های حامله بود.

مواد و روش کار

در این مطالعه ۱۸ رت ماده و ۹ رت نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم (۳ - ۲ ماهه) از حیوان خانه دپارتمان هیستولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شد. حیوانات در قفس‌های پلاستیکی در اتاق حیوانات با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، حرارت ۲۲ - ۲۰ درجه سانتی گراد، رطوبت ۶۰٪ - ۵۰، آب و غذای کافی نگهداری شدند. پس از جفت گیری رت‌های

طبیعی به شدت بوسیله طیف وسیع و در حال رشد EMF ساخته دست بشر و قرار گیری در معرض EMF ناشی از تولید، انتقال و استفاده از الکتریسیته که همه جا در زندگی مدرن وجود دارند افزایش یافته است [۱]. دانشمندان و پزشکان نگرانی‌هایی در مورد احتمال خطرات ناشی از قرار گیری در معرض میدان‌های الکترومغناطیسی به ویژه در فرکانس‌های ۵۰ و ۶۰ Hz عنوان کرده‌اند. مطالعات *In vitro* اثرات بالقوه *ELF - EMF* را روی تکثیر، آپوپتوز، تمایز و آسیب ژنی انجام داده‌اند [۲]. بیش از ۵۰ مطالعه در ارتباط با قرارگیری حیوانات در معرض EMFs در چند سال اخیر انجام شده است [۳]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که *ELF - EMF* می‌تواند رفتار و فعالیت سلول را با تاثیر روی فرآیندهای بیوشیمیایی و یا بیوفیزیکی تغییر دهند. واکنش‌های فیزیکی در سطح اتم اساس واکنش بین مولکول‌های زیستی در معرض *ELF - EMF* هستند، از این رو میدان می‌تواند به طور مغناطیسی روی باندهای شیمیایی بین اتم‌های مجاور تاثیر گذاشته و سطوح انرژی و جهت چرخش الکترون‌ها را تغییر دهد. این امر فعالیت، غلظت و طول عمر رادیکال‌ها را افزایش می‌دهد [۴، ۵]. اگر چه اکسیژن برای بیشتر واکنش‌های هوازی سلولی مهم است، اما می‌تواند واکنش‌های انتقال الکترون را تحت تاثیر قرار داده و سبب فعال شدن واسطه گره‌های توکسیک - غشایی و در نتیجه ایجاد رادیکال‌هایی مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن یا رادیکال هیدروکسیل شود. این رادیکال‌ها منجر به آسیب لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شوند. مولکول‌های واکنشگر اکسیژن دار (ROS) *Reactive Oxygen System* در پستانداران به وسیله آنتی اکسیدان‌های درونی اساساً *GSH* کنترل می‌شود [۶]. ROS واژه کلی است که به گروهی از اکسیدان‌ها یا رادیکال آزاد یا گونه‌های مولکولی قادر به تولید رادیکال‌های آزاد اطلاق می‌شود [۷]. مطالعات نشان می‌دهند که EMF منجر به افزایش تولید ROS می‌شود که این امر منجر به آسیب‌های غیرقابل برگشت می‌شود. تولید کنترل نشده ROS می‌تواند منجر به تجمع آن‌ها و ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌ها شود. از این رو سلول‌ها دارای مکانیسم دفاعی در برابر آسیب اکسیداتیو هستند [۸]. تحقیقات جالبی در ارتباط با اثرات میدان‌های مغناطیسی



Groups	TAC(mmolTrolox Equiv./L)	P - value	MDA (nmol/ml)	P - value	GPX (U/gr Hb)	P - value
Treatment	0.145 ± 0.02		3.2 ± 0.39		28.95 ± 7.43	0.85
Control	0.06 ± 0.04	0.002*	2.5 ± 0.36	0.008*	28.1 ± 7.87	
Sham	0.113 ± 0.08	0.06	2.2 ± 0.49	0.28	30.78 ± 4.07	0.47

جدول ۱: سطح MDA، TAC و GPX در گروه‌های تیمار، کنترل و شم. نتایج به صورت $\text{means} \pm \text{SD}$ نشان داده شده و $P < 0.05$ معنی دار می‌باشد.

در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ($P < 0.002$ و $P < 0.008$) افزایش معنی داری نشان داد، اما تفاوتی در سطح آن‌ها در بین گروه کنترل با شم مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی داری در سطح GPX در بین گروه‌ها مشاهده نشد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS v.19 و با استفاده از آزمون T - test انجام شد و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد قرار گیری در معرض EMF در دوران حاملگی سبب افزایش TAC و MDA در سرم مادران در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (جدول ۱).

یکی از قوی ترین فرضیه‌هایی که اثرات ELF - EMF را توضیح می‌دهد تغییر تعادل نرمال رادیکال‌های آزاد در ارگانیسم‌ها با افزایش عدم تعادل در میزان تولید مولکول‌هایی مانند آنیون سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل و تغییر مسیرهای نرمال حذف این مواد است [۱۶]. میدان‌های الکترو مغناطیسی موجب تغییر در متابولیسم ROS با افزایش تولید ROS یا کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌شوند. MFs در سلول‌ها نفوذ می‌کند و می‌تواند پتانسیل غشاء سلول و غلظت یون‌ها را تغییر دهد، که این امر ممکن است روی فرآیندهای رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها تاثیر بگذارد [۱۲]. فعالیت آنتی اکسیدان سلول‌های زنده ممکن است با قرار گیری در فرکانس‌ها و شدت‌های مختلف MF تغییر کند [۹].

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان MDA در گروه تیمار در مقایسه با کنترل افزایش معنی داری نشان می‌دهد، در همین

حامله با تشخیص پلاک واژینال مشخص شده و به ۳ گروه ۶ تایی شامل گروه کنترل، شم و تیمار تقسیم شدند. رت‌ها در گروه تیمار (آزمایش) در معرض میدان الکترو مغناطیس با شدت ۳mT و فرکانس ۵۰ Hz در دستگاه تولید کننده EMF قرار گرفتند. زمان قرار گیری رت‌های حامله در گروه تیمار روزانه به مدت ۴ ساعت در کل طول حاملگی (۲۱ روز) بود. رت‌ها در گروه شم در شرایط مشابه گروه تیمار اما در دستگاه خاموش تولید EMF قرار گرفتند، رت‌ها در گروه کنترل در شرایط استاندارد قرار گرفتند. پس از زایمان از تمام رت‌ها خونگیری از چشم انجام شده، خون و سرم آماده شده در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد برای آنالیز بیوشیمیایی و تعیین سطح MDA، TAC و GPX نگهداری شدند.

TAC با استفاده از کیت (Rel Assay) با روش کالریمتر اندازه گیری شد [۱۳].

MDA بر اساس واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBA)، میزان جذب با روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد و به صورت نانومول/ میلی لیتر محاسبه شد [۱۴].

فعالیت آنزیم GPX با کیت RANSEL شرکت RANDOX انگلستان و با روش اسپکتروفتومتری و بر اساس روش Paglia اندازه‌گیری شده و نتایج به صورت واحد در گرم هموگلوبین بیان گردید [۱۵].

داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و T - Test مورد آنالیز قرار گرفتند و $P \leq 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

آنالیز بیوشیمیایی نشان داد سطح TAC و MDA

حاملگی می‌تواند منجر به آسیب بافت‌های جنینی شود. در مطالعه حاضر میزان GPX بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداده است. در این ارتباط پیشنهاد شده که قرارگیری در ۵۰ Hz EMF، به صورت مزمن به مدت ۹۰ روز موجب تغییری در آنزیم‌های آنتی اکسیدان در خون موش‌ها نشده است. در آزمایشی مشابه گزارش شده است که EMF موجب استرس اکسیداتیو در خوکچه هندی نشده است [۲۴]. تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان به دنبال ۱۰ روز یا ۲ ماه قرارگیری در میدان مغناطیسی ۵۰ μ T - ۰/۵ مشاهده شده است. سطح کاتالاز، GPX و SOD در شش‌ها و کبد موش‌های در معرض EMF به مدت ۸ هفته افزایش یافته است [۲۵]. نتایج مختلف در مطالعات متفاوت می‌تواند به وسیله تفاوت در طول زمان قرارگیری، شدت و فرکانس میدان مغناطیسی توضیح داده شود.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر ارتباطی بین قرارگیری در ELF - EMFs و استرس اکسیداتیو را نشان می‌دهد، که می‌تواند موجب آسیب اندام‌های جنینی شود، بنابراین زنان در دوران حاملگی بایستی قرارگیری در معرض میدان‌های الکترومغناطیسی را به حداقل برسانند.

ارتباط میزان MDA در رت‌های قرار گرفته در میدان الکتریکی ۵۰ Hz افزایش داشته است [۱۷]. Akdage و همکاران نشان دادند که ELF - EMF باعث افزایش غلظت MDA در مغز رت‌ها می‌شود. همچنین Bediz و همکاران پیشنهاد کردند که قرارگیری طولانی مدت در ELF - EMF پراکسیداسیون لیپیدها را در مغز و سایر ارگان‌ها افزایش می‌دهد [۱۸]. Guler و همکاران نشان دادند سطح MDA در خوکچه هندی در معرض میدان الکتریکی افزایش یافته است [۱۹].

در مطالعه حاضر سطح TAC پلاسما در گروه تیمار در مقایسه با گروه‌های دیگر افزایش یافته بود ($P < 0.05$). در توافق با یافته هایمان Ghodbane و همکاران مشاهده کردند EMF تولید شده به وسیله MRI موجب افزایش معنی داری در TAC رت‌های نر می‌شود [۲۰]. Cenesiz و همکاران مشاهده کردند ۱۸۰۰ - ۹۰۰ MHz EMF، موجب افزایش معنی داری در میزان اکسیدان کل Total oxidant status (TOS) می‌شود اما سطح TAC هیچ افزایشی را نشان نمی‌دهد [۲۱]. Mark و همکاران افزایش در TAC در رت‌های حامله را نشان دادند [۲۲]. عدم تعادل اکسیدان - آنتی اکسیدان منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود [۲۳]. در این مطالعه نیز اختلال در تعادل MDA و TAC منجر به استرس اکسیداتیو شده است که در دوران

References

- 1- Ivancsits S, Pilger A, Diem E, Jahn O. 2005. Cell type- specific genotoxic effects of intermittent extremely low- frequency electromagnetic fields. *Mutat Res*, 583 (2): 184-188.
- 2- Rajaei F, Mahdi F, Ghasemi N, Sarreshtehdari M, Gheybi NA and Saraeisahneh MS. 2009. Effect of electromagnetic field on mice epididymis and vas deferens: A morphometric study. *J Gorgan University Med Science*, 1(1): 1-7.
- 3- Robert E. 1996. Teratogen update: electromagnetic fields. *Teratology*, 54 (6): 305-313.
- 4- Simko M, Mattsson MO. 2004. Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: possible immune cell activation. *J Cell Biochem*, 93: 83-92.
- 5- Rollwitz J, Lupke M, Simko M. 2004. Fifty- hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow-derived promonocytes and macrophages. *Biochem Biophys Acta*, 1674: 231-238.
- 6- Ciejska E, Kleniewska P, Skibska B, Goraca A. 2011. Effects of extremely low frequency magnetic field on oxidative balance in brain of rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 62(6): 657-661.
- 7- Winterbourn CC. 2008. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nature Chem Biol*, 4: 278-286.





- 8- Akbari A and Jelodar Gh. 2013. The effect of oxidative stress and antioxidants on men fertility. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 15(7): 1-7.
- 9- Repacholi M.H. 2001. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetic*, 7: 98-106.
- 10- Bindu M.P & Annamalai P.T. 2004. Binding proteins in a natural pre-ovulatory follicle from a woman with polycystic ovary. *Indian J Biochem Biophysic*, 41: 40-44.
- 11- Hashish A.H, El-Missiry M.A, Abdelkader H.I, Abou-saleh R.H. 2008. Assessment of biological changes of continuous whole body exposure to static and magnetic field and extremely low frequency electromagnetic fields in mice. *Ecotoxicology Enviromental Safety*, 71: 895-902.
- 12- Canseven Gulnihal A, Coskun S and Seyhan N. 2008. Effects of various extremely low frequency magnetic fields on the free radical processes, natural antioxidant system and respiratory burst system activities in the heart and liver tissues. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 45: 326-331.
- 13- Erel O. 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 37: 277-285.
- 14- Behari, J and Rajamani P. 2012. Electromagnetic field exposure effects (ELF-EMF and RFR) on fertility and reproduction. *BioInitiative Working Group*.
- 15- Paglia D.E, Valentine W.N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal Lab Clin Med*, 70: 158-169.
- 16- Drogue W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82: 47-95.
- 17- Hardell L, Sage C. 2008. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. *Biomed Pharmacotherapy*, 62(2): 104-109.
- 18- Goraca A, Ciejska E, Piechota A. 2010. Effects of extremely low frequency magnetic field on the parameters of oxidative stress in heart. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 61(3): 333-338.
- 19- Guler G, Turkozer Z, Seyhan N. 2007. Electric field effects on guinea pig serum. The role of free radicals. *Electromagen Biol Med*, 26: 207-222.
- 20- Ghodbane S, Lahbib A, Sakly M and Abdelmelek H. 2013. Review Article: Bioeffects of static magnetic fields: oxidative stress, genotoxic effects, and cancer studies. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research Internationa*, 3: 1-12.
- 21- Cenesiz M, Atakisi O, Akar A, Onbilgin G, Ormanci N. 2011. Effects of 900 and 1800MHz electromagnetic field application on electrocardiogram, nitric oxide, total antioxidant capacity, total oxidant capacity, total protein, albumin and globulin levels in guinea pigs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(3): 357-362.
- 22- Mark W, Cunningham J.R, Jennifer M.S, Crystal A.W and Chris B. 2013. Renal redox response to normal pregnancy in the rat. *American J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 304(6): 443-449.
- 23- Bast A, Haenen G.R, Doelman C.J. 1991. Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J Med*, 91 (3): 2S-S13.
- 24- Coskun S, Balabani B. 2009. Effects of continuous and intermittent magnetic fields on oxidative parameters In-vivo. *Neurochemical Research*, 34: 238-243.
- 25- Markkenen A. 2009. Effects of electromagnetic fields on cellular responses to agents causing oxidative stress and DNA damage. *Journal Radiat Biol*, 86:1088-1094.

