

تأثیر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین بر میزان باروری و بافت تخمدان موش سوری در مرحله‌ی پیش‌لانه‌گزینی

فاطمه صباغ زیارانی، نسیم برهانی، دکتر فرزاد رجایی، دکتر محمدحسین اسماعیلی

آزمایشگاه کشت سلولی و مرکز ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی قزوین؛ نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: دانشگاه
علوم پزشکی قزوین، گروه علوم تشریح، دکتر فرزاد رجایی؛ e-mail: frajaei@qums.ac.ir

چکیده

مقدمه: کاربرد وسیع دستگاه‌های مولد امواج الکترومغناطیسی بسیار قابل توجه است. دستگاه‌ها و تجهیزات زیادی با مشخصات تکنیکی گسترده تولیدکننده‌ی این امواج هستند. در مطالعه‌ی حاضر تأثیر امواج الکترومغناطیسی با شدت ۰/۵ میلی‌تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز بر باروری و بافت تخمدان موش سوری در مرحله‌ی پیش‌لانه‌گزینی مورد بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** ۸۰ موش سوری ماده به دو گروه تقسیم شدند. موش‌های گروه شاهد، در معرض میدان قرار نگرفتند و موش‌های گروه تجربی به مدت دو هفته، هفته‌ای ۶ روز و روزانه ۴ ساعت در معرض میدانی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۰/۵ میلی‌تسلا قرار داده شدند. در روز هشتم تحریک تخمک‌گذاری در موش‌های هر دو گروه انجام شد و برای جفت‌گیری در مجاورت موش‌های نر قرار داده شدند و صبح روز بعد موش‌های پلاک مثبت به عنوان موش‌های حامله تلقی شدند. در حین لانه‌گزینی، موش‌ها کشته و بلاستوسیست‌ها با روش فلاشینگ شاخ‌های رحمی خارج شدند. نمونه‌های تخمدان در هر دو گروه پس از طی مراحل آمادش بافتی با میکروسکوپ نوری بررسی شدند و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون تی و با معنی‌داری $p < 0/05$ تجزیه و تحلیل شد. یافته‌ها: درصد موش‌های پلاک مثبت در گروه در معرض میدان (۵۰٪) نسبت به گروه شاهد (۶۷/۵٪) کاهش یافته ولی این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. میانگین تعداد جنین در گروه شاهد $9 \pm 4/8$ و در گروه مورد $5/5 \pm 5/7$ بود. آزمون آماری، اختلاف معنی‌داری را بین میانگین رتبه‌ای دو گروه نشان داد ($P < 0/03$). اندازه‌ی فولیکول‌های اولیه‌ی تک لایه‌ای بر حسب میکرومتر در گروه مورد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نداشت ($12/17 \pm 1/79$ ، $12/33 \pm 1/53$ و $p > 0/01$). اگرچه تعداد کل فولیکول‌ها و فولیکول‌های اولیه‌ی تک‌لایه‌ای و اجسام زرد در گروه مورد نسبت به گروه شاهد افزایش داشت ولی این تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. نتیجه‌گیری: میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین در مدت زمان کوتاه بر باروری موش‌های ماده تأثیر منفی دارد ولی در مطالعه‌های بافت‌شناسی تغییری در بافت تخمدان دیده نشد.

واژگان کلیدی: میدان الکترومغناطیسی، باروری، تخمدان، موش

دریافت مقاله: ۸۷/۲/۱۶ - دریافت اصلاحیه: ۸۷/۶/۲۶ - پذیرش مقاله: ۸۷/۶/۳۰

مقدمه

در زندگی مدرن امروز میدان الکترومغناطیسی (EMF)^۱ یا به صورت طبیعی وجود دارد و یا توسط وسایل الکتریکی

مانند نمایشگرهای ویدئویی تولید می‌شود و قرارگیری در معرض آن اجتناب‌ناپذیر است.^۱ بحث‌هایی مبنی بر اثر سوء بیولوژیکی این میدان بر بدن انسان وجود دارد.^۲ باوجود پیشرفت‌های بسیار زیاد تکنولوژی در زمینه‌ی میدان‌های الکترومغناطیسی، اثر میدان‌های الکترومغناطیس بر بیولوژی

i- Electro Magnetic Field

بافت‌ها، جزو بحث برانگیزترین موضوعات است. استاندارد سلامت و بهداشت برای قرار گرفتن در معرض میدان‌های الکترومغناطیس در حدود ۲/۵ مگاهرتز اعلام و به عنوان استاندارد جهانی پذیرفته شده و میدان‌های الکترومغناطیسی بالاتر از این مقدار، خطرناک هستند.^۲ در سال‌های اخیر بیش از ۵۰ مطالعه برای بررسی اثر ناشی از پرتوتابی بر جانوران مختلف انجام شده است.^۲ یافته‌های این بررسی‌ها بیان‌گر افزایش هایپرپلوئیدی ناشی از القای شیمیایی در اووسیت‌های پستانداران،^۴ کاهش باروری،^۵ اختلال در اسپرمیوژن^{۶،۷} و کاهش تعداد جنین‌های زنده در موش است.^{۸-۱۰} همچنین مطالعه‌های آزمایشگاهی اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر تکثیر سلولی،^{۱۱} آپوپتوزیس،^{۱۲،۱۳} تمایز،^{۱۴} ژنوتوکسیسیتی^{۱۵} و تغییر در ژن‌های پروتوآنکوژن^{۱۶-۱۸} بررسی قرار داده‌اند. یافته‌های رودریگوئز و همکاران نشان داد که قرارگیری در معرض میدان الکترومغناطیسی موجب تغییر در مدت چرخه جنسی گاو می‌شود.^{۱۹} از طرف دیگر تعدادی از پژوهشگران نشان دادند که میدان‌های الکترومغناطیس بر گنادها و میزان باروری تأثیری ندارد؛ در همین راستا یولاند و همکاران با مطالعه‌ی اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر شاخص‌های باروری گزارش کردند که این امواج بر مقادیر هورمون‌های تولید مثلی تأثیر معنی‌داری ندارد.^{۲۰} همچنین هوسکون و ساستاموئین با به کارگیری میدان الکترومغناطیسی با شدت ۱۳۰ میکروتسلا هیچ تغییر معنی‌داری در سطح هورمون‌های استرادیول و پروژسترون مشاهده نکردند.^{۲۱} لیونستون و همکاران نشان دادند که پرتوتابی ۹۶-۲۴ ساعته به فیبروبلاست تخمدان همستر چینی در میدان ۶۰ هرتزی با شدت‌های ۳۰، ۳۰۰، ۳۰۰۰ و ۳ میکروآمپر بر سانتی‌متر، تغییری در میزان رشد و تولید مثل ایجاد نمی‌کند.^{۲۲} علاوه بر این، نشان داده شده که EMF با فرکانس پایین، اثر موتاژنیک بر مرگ و یا تکثیر سلولی ندارد.^{۲۳} سازوکار اثر EMFs بر رفتار سلول‌ها کاملاً شناخته شده نیست ولی فرضیه‌های متفاوتی وجود دارد؛ گروهی معتقدند که میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین (ELF-EMF)^۱ بر ساختار غشای سلولی و قابلیت نفوذپذیری آن نسبت به مولکول‌های کوچک اثرگذار است. برخی از مطالعه‌ها نشان داده‌اند که قرارگیری سلول‌های نورواندوکرین در معرض ELF-EMF با افزایش بیان

کانال‌های وابسته به ولتاژ کلسیمی، موجب افزایش ترابری یون کلسیم می‌شود که این پدیده افزایش تکثیر سلول‌ها را به همراه دارد.^{۲۴،۲۵} فرضیه‌ی جالب دیگری در خصوص اثر ELF-EMF وجود دارد و بیان می‌کند که میدان‌های مذکور با مداخله در واکنش‌های شیمیایی باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند.^{۲۶} در نهایت خاطر نشان می‌شود، مطالعه‌های اپیدمیولوژی موجود محدودیتی دارند که مانع از ترسیم یافته‌های واضح درباره‌ی اثر EMF بر تولید مثل انسان می‌شوند و تاکنون مدرک متقاعدکننده‌ای که بیان‌گر اثر سوء انواع مختلف میدان الکترومغناطیسی بر فرایند تولیدمثل در زنان حامله و پدرانی که در محیط کار و زندگی روزمره در معرض میدان قرار می‌گیرند، باشد موجود نیست.^{۲۷} بیشتر پژوهشگران بر این باورند که بهتر است مطالعه‌های دیگری در همه‌ی زمینه‌ها (محیط طبیعی، محیط آزمایشگاهی و اپیدمیولوژی) برای پر کردن خلاءهای موجود در اطلاعات حاضر، انجام شود.^{۲۸} با توجه به نقش تخمدان در باروری و کاربرد وسیع دستگاه‌های تولید کننده‌ی امواج الکترومغناطیس با فرکانس پایین مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر این امواج بر میزان باروری یعنی تعداد حاملگی‌ها و تعداد جنین‌های فلاش شده و همچنین ساختار میکروسکوپی بافت تخمدان موش سوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

ابتدا ۸۰ سر موش سوری ماده (با سن ۲ تا ۴ هفته) و ۲۰ سر موش سوری نر (با سن ۸ هفته) از نژاد NMRI از مؤسسه‌ی واکسن و سرم‌سازی رازی خریداری شدند و سپس به مدت یک هفته در حیوانخانه در درجه‌ی حرارت ۲۵°C و ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. موش‌های ماده به صورت تصادفی به دو گروه شاهد و مورد تقسیم شدند. موش‌های گروه مورد به مدت ۲ هفته، هفته‌ای ۶ روز و روزانه به مدت ۴ ساعت متوالی در معرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۰/۵ میلی‌تسلا قرار داده شدند.^{۲۹} در حالی که موش‌های گروه شاهد در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار نگرفتند. در روز هشتم، به هر یک از موش‌های گروه مورد و شاهد بر

جدول ۱- شاخص‌های عددی باروری و تخمدان به تفکیک در دو گروه مورد و شاهد

متغیر	شاهد	تجربی
اندازه‌ی فولیکول‌های اولیه‌ی تک لایه‌ای (میکرومتر)	۱۲/۳۲±۱/۵۳*	۱۲/۱۷±۱/۷۹
تعداد فولیکول‌های اولیه تک لایه‌ای	۱/۰۶±۰/۸۵	۱/۳±۰/۸۹
تعداد کل فولیکول‌ها	۱۳/۲۹±۴/۶۵	۱۴/۱۷±۲/۹۷
تعداد اجسام زرد	۱۰/۵۵±۳/۳۱	۱۰/۱۷±۲/۰۲
تعداد بلاستوسیت‌ها	۹±۴/۸	۵/۵±۵/۷†

* میانگین ± انحراف معیار؛ † P کمتر از ۰/۰۵

بحث

یافته‌ها نشان داد که درصد موش‌های پلاک مثبت، که در مطالعه، حاضر به عنوان موش‌های حامله تلقی شدند، در گروه مورد نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست. در تأیید این یافته اوانیشتی و همکاران نشان دادند که قرارگیری در معرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس بالا و شدت ۰/۰، ۰/۵ و ۵/۰ میلی‌تسلا، اثر سوء عمده‌ای در تولیدمثل و تکامل جنین ندارد.^{۳۱} در سال ۲۰۰۴، چانگ و همکاران، نشان دادند که پرتوتابی (میدان ۶۰ هرتزی با شدت ۸۳/۳ و ۵۰۰ میکروتسلا) بر موش‌های صحرایی ماده از روز ۶ تا ۲۱ بارداری و روزانه به مدت ۲۱ ساعت، هیچ تأثیر سوء بیولوژیک بر موش‌های مادر و نسل‌های اول و دوم ندارد.^{۲۹} در مقابل، زیمرمن و هنشل نشان دادند که پرتوتابی موش‌ها (از ۷ روز پیش از جفت‌گیری تا روز ۱۸ بارداری) موجب کاهش معنی‌داری در تعداد موش‌های حامله می‌شود.^۵ یافته‌های مطالعه‌ی آل - آخراس و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز نشان داد که قرارگیری موش‌های صحرایی نر در معرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۵ میکروتسلا سبب کاهش معنی‌داری در تعداد کل اسپرم‌ها می‌شود؛ همچنین آنها نشان دادند که تغییرات هورمون FSH در اثر این میدان ناچیز است ولی هورمون LH افزایش و هورمون تستوسترون، کاهش چشمگیری دارد. در مجموع، یافته‌ها نشان می‌دهد که پرتوتابی طولانی مدت می‌تواند موجب تغییر سود در باروری و تولید مثل پستانداران شود.^{۳۲} در بررسی‌های ما تغییر معنی‌داری در نسبت بارداری بین

اساس پروتکل امیلیانی و همکاران،^{۳۰} مقدار ۱۰ واحد PMSG (Folligon, Intevet, Holand) و حدود ۴۸ ساعت بعد ۱۰ واحد hCGⁱⁱ (Oregone, Holland) به صورت داخل صفاقی تزریق شد سپس موش‌های ماده از گروه شاهد و گروه مورد به مدت یک شب در مجاورت موش‌های نر قرار داده شدند و صبح روز بعد تشکیل پلاک واژینال بررسی شد. موش‌های پلاک مثبت به عنوان موش‌های حامله تلقی شده، در حدود ۱۰۲ ساعت پس از تزریق hCG به روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی بیهوش شدند و پس از باز کردن شکم، شاخ‌های رحم جدا شد و سپس جنین‌ها به روش flushing از شاخ‌های رحمی خارج شدند. در ادامه، تخمدان‌ها برداشته شد و پس از فیکساسیون، قالب‌گیری و برش‌گیری سریالی از هر نمونه ۵ برش انتخاب شدند (برش‌های شماره‌ی ۵، ۸، ۱۱، ۱۴ و ۱۷). پس از رنگ‌آمیزی (H&E)، از لام‌های میکروسکوپی تهیه شده با دوربین (Nikon, E 4500) عکس گرفته شد و عکس‌ها به کامپیوتر منتقل و با برنامه‌ی نرم‌افزاری Image Tool، قطر فولیکول‌های اولیه‌ی تک‌لایه‌ای در گروه‌های تجربی و شاهد اندازه‌گیری شد. سپس تعداد کل فولیکول‌ها، فولیکول‌های اولیه‌ی تک‌لایه‌ای و اجسام زرد شمارش شدند. در نهایت یافته‌ها با آزمون تی مقایسه گردید.

یافته‌ها

از ۴۰ موش گروه مورد، ۲۰ موش (۵۰٪) و از ۴۰ موش گروه شاهد، ۲۷ موش (۶۷/۵٪) پلاک مثبت بودند. آماري اختلاف معنی‌داری را بین توزیع پلاک واژنی در دو گروه نشان نداد. همان‌طوری که یافته‌ها نشان می‌دهند، تعداد جنین‌های فلاش شده از شاخ رحم در گروه مورد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۳$) مطالعه‌های میکروسکوپی بافت تخمدان نشان داد که میانگین اندازه فولیکول‌های اولیه تک لایه‌ای بر حسب میکرومتر در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته است ولی آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را در دو گروه نشان نداد. همچنین میانگین تعداد فولیکول‌های اولیه‌ی تک‌لایه‌ای، تعداد کل فولیکول‌های تخمدانی و تعداد اجسام زرد در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ولی این افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۱).

i- Pregnant Mare Serum Gonadotropine

ii- Human Chorionic Gonadotropine

گروه‌های شاهد و تجربی دیده نشد. اختلاف میان یافته‌های این گزارش، با مطالعه‌های دیگر می‌تواند به دلیل اختلاف در فرکانس و شدت میدان‌های انتخابی در مطالعه‌ها باشد. والبرگ و همکاران اعلام کرده‌اند که تفاوت در مدت زمان پرتودهی، رده‌ی سلولی و بافت پرتوتابی شده از جمله مواردی است که سبب می‌شود یافته‌های مختلفی در مطالعه‌های مختلف به دست آید.^{۲۳}

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میانگین تعداد بلاستوسیت‌ها به ازای هر مادر در گروه مورد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری دارد. در مطالعه‌ی هوسکون و همکاران در سال ۲۰۰۱ اعلام کردند که میدان مغناطیسی ۵۰ هرتزی باعث افزایش میزان مرگ و میر جنین‌های گروه مورد در روز اول، می‌شود.^{۲۴} علاوه بر این، قرارگیری در معرض امواج رادیویی با توان تابشی ۱۶۸ و ۱۰۵۳ وات بر سانتی‌متر مربع موجب کاهش معنی‌داری در تعداد جنین به ازای هر مادر می‌شود.^{۲۵} مویسن و همکاران نشان دادند که پرتوتابی پیوسته (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۳۰ میلی‌تسلا) بر موش‌های صحرایی ماده‌ی حامله از روز اول تا ۲۰ بارداری باعث کاهش تعداد جنین‌های زنده به ازای هر مادر می‌شود.^{۱۰} اوبدا و همکاران گزارش کردند که پرتوتابی (۱۰۰ هرتز و شدت ۱/۰ میکروتسلا) به جنین‌های جوجه در خلال ۴۸ ساعت اولیه‌ی انکوباسیون باعث افزایش مرگ در مراحل اولیه‌ی جنینی می‌شود.^{۲۶} کارئو و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶، موش‌های بارداری را روزانه به مدت ۸ ساعت در معرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱/۲ میلی‌تسلا قرار دادند. یافته‌ها نشان داد که سقط جنین و تعداد جنین‌های ناهنجار افزایش و تعداد جنین به ازای مادر کاهش قابل ملاحظه‌ای داشته است.^۷ یافته‌های مطالعه‌های ذکر شده همگی در راستای یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هستند ولی در مقابل، کووالسکی و همکاران پس از پرتوتابی ۵۰ هرتزی با شدت‌های ۰ (گروه sham)، ۷، ۷۰ و ۳۵۰ میکروتسلا به موش‌های ماده‌ی حامله (در روزهای ۱۲-۸ و ۷-۵ بارداری) روزانه به مدت ۲۲ ساعت، تغییری در میزان سقط جنین در مرحله‌ی بعد از لانه‌گزینی و تعداد جنین‌ها در مقایسه با گروه شاهد، مشاهده نکردند.^{۲۷} که تفاوت بین یافته‌های مطالعه‌ی حاضر و آن مطالعه می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع جانور مورد آزمایش و یا شدت میدان انتخاب شده باشد.

در بررسی‌های میکروسکوپی گروه مورد، اندازه و تعداد فولیکول‌های اولیه‌ی تک‌لایه‌ای، کل فولیکول‌های تخمدانی و

اجسام زرد در گروه مورد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان نداد. در تأیید یافته‌های بررسی حاضر یولاند و همکاران نیز با مطالعه‌ی اثر میدان‌های الکترو مغناطیسی بر شاخص‌های باروری گزارش کردند که این امواج بر مقادیر هورمون‌های تولید مثلی تأثیر معنی‌داری ندارد.^{۲۰} همچنین، هوسکون و ساستامونین با به کارگیری میدان الکترومغناطیسی با شدت ۱۳۰ میکروتسلا هیچ تغییر معنی‌داری در سطح هورمون‌های استرادیول و پروژسترون مشاهده نکردند.^{۲۱} لیوینستن و همکاران در سال ۱۹۸۹ نشان دادند که پرتوتابی ۹۶-۲۴ ساعته به فیبروبلاست تخمدان همستر چینی در میدان ۶۰ هرتزی با شدت‌های ۳۰، ۳، ۳۰۰، ۳۰۰۰ میکروآمپر بر سانتی‌متر، تغییری در میزان رشد و تولید مثل این سلول‌ها ایجاد نمی‌کند.^{۲۲} علاوه بر این، نشان داده شده که EMF با فرکانس پایین، اثر موتاژنیک بر مرگ و یا تکثیر سلولی ندارد.^{۲۳} یافته‌های این پژوهشگران با یافته‌ها مطالعه‌ی حاضر هم‌سو است ولی بررسی‌های هورمونی به علت محدودیت خونگیری در موش سوری و همچنین تهیه کیت‌های مربوط انجام نشد. در مقابل، تورس - جونیور و همکاران در سال ۲۰۰۸ اعلام کردند که شوک حرارتی اثر مخربی بر فولیکول‌های تخمدانی و اووسیت‌های گاو دارد و باعث تأخیر در تکامل بلاستوسیت‌ها می‌شود.^{۲۸} همچنین، در سال ۲۰۰۰، سکوی و همکاران، دریافتند میدان ۵۰ هرتزی تا روز سوم و پنجم کشت، تغییری در فولیکول‌ها ایجاد نمی‌کند. ولی این پژوهشگران در ادامه نشان دادند که میدان ۲۳ هرتزی سبب کاهش چشمگیری در تعداد فولیکول‌ها می‌شود. همچنین این پژوهشگران نشان دادند که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۳۳ هرتز، سبب آسیب‌های شدیدی در ساختمان آنتروم و همچنین کاهش میزان استرادیول آزاد شده و سنتز DNA سلول‌های گرانولوزا در این فولیکول‌ها می‌شود و در نهایت، اعلام کردند که ممکن است میدان مذکور از طریق کاهش توانایی رسیدن فولیکول‌ها به مراحل بالای تکاملی سبب عدم موفقیت در تولید مثل شود.^{۲۹} تفاوت یافته‌های پژوهشگران دیگر با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌تواند به دلیل تفاوت در فرکانس‌های میدان‌های مورد مطالعه باشد. به علاوه، در مطالعه‌ی حاضر فولیکول‌ها در محیط معمولی در معرض میدان قرار گرفتند در حالی که در مطالعه‌های دیگر فولیکول‌ها به صورت آزمایشگاهی و در محیط کشت در معرض میدان قرار گرفتند و از آن‌جا که به دنبال مواجهه با میدان، رادیکال‌های آزاد

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین در مدت دو هفته، با وجودی که بر ساختارهای میکروسکوپی تخمدان اثری ندارد با کاهش تعداد بلاستوسیست می‌تواند تأثیر منفی بر باروری داشته باشد.

تولید شده باعث آسیب بافت می‌شوند و این مواد می‌توانند به کمک مواد آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بدن مهار شوند، تأثیر تخریبی میدان در محیط معمولی کمتر است و به دلیل نبودن مواد آنتی‌اکسیدانی در محیط کشت اثر سوء میدان بر فولیکول‌های محیط کشت می‌تواند بیشتر باشد.

References

- Ahlbom IC, Cardis E, Green A, Linet M, Savitz D, Swerdlow A; ICNIRP (International Commission for Non-Ionizing Radiation Protection) Standing Committee on Epidemiology. Review of the epidemiologic literature on EMF and Health. *Environ Health Perspect* 2001; 109: 911-33.
- Robert E. Teratogen update: electromagnetic fields. *Teratology*. 1996; 54: 305-13.
- Adey WR. Biological effects of electromagnetic fields. *J Cell Biochem* 1993; 51: 410-6.
- Mailhes JB, Young D, Marino AA, London SN. Electromagnetic fields enhance chemically-induced hyperploidy in mammalian oocytes. *Mutagenesis* 1997; 12: 347-51.
- Zimmermann B, Hentschel D. Effect of static magnetic field (3.5) on the reproductive behavior of mice, on the embryo and fetal development and on selected hematologic parameters. *Digitale Bilddiagn* 1987; 7: 155-61 (German).
- Klug S, Hetscher M, Giles S, Kohlsmann S, Kramer K. The lack of effects of nonthermal RF electromagnetic fields on the development of rat embryos grown in culture. *Life Sci* 1997; 61: 1789-802.
- 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; 24: 468-70 (Chinese).
- Soeradi O, Tadjudin M K. Congenital anomalies in the offspring of rats after exposure of the testis to an electrostatic field. *Int J Androl* 1989; 9: 152-60.
- Tablado L, Prez-Sanchez F. Effects of exposure to static magnetic fields on the morphology and morphometry of mouse epididymal sperm. *Bioelectromagnetics* 1998; 19: 377-83.
- Mevissen M, Buntenkotter S, Loscher W. Effects of static and time-varying (50-Hz) magnetic fields on reproduction and fetal development in rats. *Teratology* 1994; 50: 229-37.
- De Mattei M, Caruso A, Traina GC, Pezzetti F, Baroni T, Sollazzo V. Correlation between pulsed electromagnetic fields exposure time and cell proliferation increase in human osteosarcoma cell lines and human normal osteoblast cells in vitro. *Bioelectromagnetics* 1999; 20: 177-82.
- Ruiz Gomez MJ, De la Pena L, Pastor JM, Martinez Morillo M, Gil L. 25 Hz electromagnetic field exposure has no effect on cell cycle distribution and apoptosis in U-937 and HCA-2/1cch cells. *Bioelectrochemistry* 2001; 53: 137-40.
- Simkó M, Kriehuber R, Weiss DG, Luben RA.. Effects of 50 Hz EMF exposure on micronucleus formation and apoptosis in transformed and nontransformed human cell lines. *Bioelectromagnetics* 1998; 19: 85-91.
- McLeod KJ, Collazo L. Suppression of a differentiation response in MC-3T3-E1 osteoblast-like cells by sustained, low-level, 30 Hz magnetic-field exposure. *Radiat Res* 2000; 153: 706-14.
- McCann J, Dietrich F, Rafferty C. The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. *Mutat Res* 1998; 411: 45-86.
- Phillips JL, Haggren W, Thomas WJ, Ishida-Jones T, Adey WR. Magnetic field-induced changes in specific gene transcription. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1132: 140-4.
- Morehouse CA, Owen RD. Exposure of Daudi cells to low-frequency magnetic fields does not elevate MYC steady-state mRNA levels. *Radiat Res* 2000; 153: 663-9.
- Zhou J, Li C, Yao G, Chiang H, Chang Z. Gene expression of cytokine receptors in HL60 cells exposed to a 50 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics* 2002; 23: 339-46.
- Rodriguez M, Petitclerc D, Burchard JF, Nguyen DH, Block E, Downey BR. Responses of the estrous cycle in dairy cows exposed to electric and magnetic fields (60 Hz) during 8-h photoperiods. *Anim Reprod Sci* 2003; 77: 11-20.
- Hjollund N H, Skotte J H. Extremely low-frequency magnetic fields and fertility a follow up study of couples planning first pregnancies. *Occup Environ Med* 1999; 56: 253-5.
- Huuskonen H, Saastamoinen V, Komulainen H, Laitinen J, Juutilainen J. Effects of low-frequency magnetic fields on implantation in rats. *Reprod Toxicol* 2001; 15: 49-59.
- Livingston GK, Witt KL, Gandhi OP, Chatterjee I, Roti Roti JL. Reproductive integrity of mammalian cells exposed to power frequency electromagnetic fields. *Environ Mol Mutagen* 1991; 17: 49-58.
- Brent RL. Reproductive and teratologic effects of low-frequency electromagnetic fields: a review of in vivo & in vitro studies using animal models. *Teratology* 1999; 59: 261-86.
- Wolf FI, Torsello A, Tedesco B, Fasanella S, Boninsegna A, D'Ascenzo M, et al. 50-Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redox mechanism. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1743: 120-9.
- Grassi C, D'Ascenzo M, Torsello A, Martinotti G, Wolf F, Cittadini A, et al. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca²⁺ channels and their role in

- modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. *Cell Calcium* 2004; 35: 307-15.
26. Lacy-Hulbert A, Metcalfe JC, Hesketh R. Biological responses to electromagnetic fields. *FASEB J* 1998; 12: 395-420.
27. Robert E. Intrauterine effects of electromagnetic fields-(low frequency, mid-frequency RF, and microwave): review of epidemiologic studies. *Teratology* 1999; 59: 292-8.
28. Leszczynski D. Rapporteur report: cellular, animal and epidemiological studies of the effects of static magnetic fields relevant to human health. *Prog Biophys Mol Biol* 2005; 87: 247-53.
29. Chung MK, Kim JC, Myung SH. Lack of adverse effects in pregnant/lactating female rats and their offspring following pre- and postnatal exposure to ELF magnetic fields. *Bioelectromagnetics*. 2004; 25: 236-44.
30. Emiliani S, Van den Bergh M, Vannin AS, Biramane J, Englert Y. Comparison of ethylene glycol, 1,2-propanediol and glycerol for cryopreservation of slow-cooled mouse zygotes, 4-cell embryos and blastocysts. *Hum Reprod* 2000; 15: 905-10.
31. Ohnishi Y, Mizuno F, Sato T, Yasui M, Kikuchi T, Ogawa M. Effects of power frequency alternating magnetic fields on reproductive and pre-natal development of mice. *J Toxicol Sci* 2002; 27: 131-8.
32. Al-Akhras MA, Darmani H, Elbetieha A. Influence of 50 Hz magnetic field on sex hormones and other fertility parameters of adult male rats. *Bioelectromagnetics* 2006; 27: 127-31.
33. Valberg PA, Kavet R, Rafferty CN. Can low-level 50/60 Hz electric and magnetic fields cause biological effects? *Radiat Res* 1997; 148: 2-21.
34. Huuskonen H, Juutilainen J, Komulainen H. Development of pre implantation mouse embryos after exposure to a 50 Hz magnetic field in vitro. *Toxicol Lett* 2001; 122: 149-55.
35. Juutilainen J. Effects of low-frequency magnetic fields on embryonic development and pregnancy. *Scand J Work Environ Health* 1991; 17: 149 -58.
36. Ubeda A, Trillo MA, Chacon L, Blanco MJ, Leal J. Chick embryo development can be irreversibly altered by early exposure to weak extremely-low-frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 385-98.
37. Kowalczyk CI, Robbins L, Thomas JM, Butland BK, Saunders RD. Effects of prenatal exposure to 50 Hz magnetic fields on development in mice: Implantation rate and fetal development. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 349-61.
38. Torres-Júnior JR, Pires Mde F, de Sá WF, Ferreira Ade M, Viana JH, Camargo LS, et al. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2008; 69: 155-66.
39. Cecconi S, Gualtieri G, Di Bartolomeo A, Troiani G, Cifone MG, Canipari R. Evaluation of the effects of extremely low frequency electromagnetic fields on mammalian follicle development. *Hum Reprod* 2000; 15: 2319-25.

Original Article

The Effects of Electromagnetic Field on Fertility and Mouse Gonads in Preimplantation Stage

Sabbagh Ziarani F, Borhani N, Rajaei F, Esmaili MH

Cell culture Lab, Infertility Research Centre, and Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Qazvin University Of Medical Sciences, Qazvin, I.R.Iran
e-mail: frajaei@qums.ac.ir

Abstract

Introduction: Considerable attention is focused on the effects of the electromagnetic field (EMF) due to its wide-ranging use in everyday life. Appliances and various equipments are sources of electromagnetic fields with a wide-range of technical characteristics. In this study we investigated the effect of EMF (50 Hz, 0.5 mT) on fertility and mouse gonads in preimplantation. **Materials and Methods:** Eighty female mice were divided in to 2 groups; the control group was not exposed to EMF, while the case group was exposed to 4 hours per day, to 50 Hz & 0.5 mT EMF 6 days a week, for 2 weeks. On the 8th day of exposure, female mice in both groups were superovulated and mated overnight. Next morning females with a vaginal plug were identified as pregnant mice; at the time of implantation, the pregnant mice were sacrificed and blastocysts were subsequently obtained from these mice by flushing the uterus horns. The samples of ovaries in all groups were taken and were processed for light microscopic studies, and the data was compared using t-test (SPSS, considering, and $P < 0.05$), significant. **Results:** The mean number of pregnant mice decreased in the EMF group (50%) as compared to the control group (67.5%), difference not significant. The mean number of fetuses per pregnancy was 9 ± 4.8 in the control group and 5.5 ± 5.7 in the experimental group, with significant decrease between the means of the 2 groups ($P < 0.03$). The analysis of the size of monolayer primary follicle in the EMF exposed groups did not show significant decrease compared to the control group (12.33 ± 1.53 , 12.17 ± 1.79 and $P > 0.810$). Although the total number of follicles, number of monolayer primary follicles and corpus luteum, increased in comparison to control group following there was no significant differences between them. **Conclusion:** The findings indicated that the EMF, following short periods of exposure, has negative effects on female mice fertility, whereas histological studies showed no changes in ovaries.

Keywords: EMF, Fertility, Ovary, Mouse