

## اثرات توأم میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و ویتامین A بر تکوین پوست جنین موش نژاد بालب سی

دکتر جواد بهارآرا<sup>۱\*</sup>، دکتر کاظم پریور<sup>۲</sup>، دکتر علیرضا اشرف<sup>۳</sup>، رویا رستمی<sup>۴</sup>

- ۱- استادیار، دکترای تخصصی زیست شناسی تکوینی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد، ایران
- ۲- استاد، دکترای تخصصی جنین شناسی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران، تهران، ایران
- ۳- استادیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی پزشکی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد، ایران
- ۴- کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت ۸۸/۵/۱۴، تاریخ پذیرش ۸۸/۷/۱۵

### چکیده

**مقدمه:** با توجه به گسترش روزافزون دستگاه‌های مولد میدان‌های الکترومغناطیسی در زندگی انسان بررسی اثرات زیستی این امواج مورد توجه وسیع پژوهش‌گران قرار گرفته است. ویتامین A نیز در دوران بارداری برای رشد و نمو طبیعی جنین بسیار ضروری است و کمبود یا مصرف بیش از حد آن سبب ایجاد ناهنجاری می‌شود. در پژوهش حاضر اثرات توأم میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم و ویتامین A بر تکوین پوست جنین موش نژاد بालب سی بررسی شده است.

**روش کار:** این مطالعه آزمایشگاهی تجربی است. ۱۸ موش بارداری به صورت تصادفی در ۳ گروه کنترل، شاهد آزمایشگاهی و تجربی تقسیم‌بندی شدند. در موش‌های تجربی در روز ۱۰/۵ حاملگی ویتامین A به میزان ۱۵۰۰۰ واحد بر کیلوگرم تزریق درون صفاقی شد. هم‌چنین در روزهای ۱۰-۱۲ بارداری در معرض میدان الکترومغناطیسی با شدت ۱۰۰ گاوس قرار گرفتند. کلیه نمونه‌ها در روز ۱۷/۵ بارداری تشریح و بررسی‌های ریخت شناسی و بافت شناسی انجام گردید.

**نتایج:** متوسط اندازه وزن جنین‌های تجربی نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). طول فرق سری نشیمنگاهی جنین‌های تجربی نیز نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش نشان داد ( $p < 0/001$ ). هم‌چنین ضخامت اپی‌درم پوست نمونه‌های تجربی نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش یافت ( $p < 0/05$ ); در حالی که متوسط تعداد سلول‌های بازال و خاردار و نیز متوسط تعداد فولیکول‌های مو در اپی‌درم پوست در جنین‌های تجربی در مقایسه با شاهد آزمایشگاهی کاهش نشان داد ( $p < 0/001$ ).

**نتیجه گیری:** در معرض قرار گیری توأم میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و ویتامین A بر تکوین جنین موش کوچک آزمایشگاهی و رشد و نمو اپی‌درم پوست آن اثرات عمیق می‌گذارد.

**واژگان کلیدی:** بालب سی، تکوین، میدان الکترومغناطیسی، پوست، ویتامین A

## مقدمه

در جهان امروز توسعه تکنولوژی فواید اقتصادی و اجتماعی بسیاری در پی داشته است، لیکن این توسعه تکنولوژی مدرن سلامتی انسان را به مخاطره انداخته است (۱). اگرچه اثرات بیولوژیک میدانهای الکترومغناطیس مورد مطالعه وسیع قرار گرفته اما مکانیسمهای فعالیت و اهمیت درمانی آنها هنوز به طور کامل شناخته نشده است. این پیچیدگی تا حدی به دلیل فرایندهای الکتروشیمیایی بدن انسان می باشد و این مسئله ضرورت هرچه بیشتر تحقیقات درمانی میدانهای الکترومغناطیسی را نشان می دهد (۲). از آن جا که پوست خارجی ترین لایه بدن را تشکیل می دهد برای بررسی اثرات میدانهای الکترومغناطیسی بسیار مناسب می باشد (۳). فانک کاهش میزان کلاژن خارج سلولی را تحت تاثیر میدان مغناطیسی گزارش نموده است (۴). بولاک نیز بر تاثیر میدانهای الکترومغناطیسی بر رشد و مهاجرت کراتینوسیت ها در محیط کشت تاکید دارد (۵). هم چنین اثرات این امواج در تسریع ترمیم زخم توسط اتاناسیوس واستراج گزارش شده است (۶، ۷). تجربیات مارکو نیز بر نقش میدانهای الکترومغناطیسی در تقسیم و تمایز سلول ها تاکید دارد (۸). هم چنین مطالعات نشان داده است که امواج الکترومغناطیس به علت تکثیر بیش از حد اپتلیوم ناحیه پستان، تومور ایجاد می نماید (۹). از طرف دیگر رتینوئیک اسید که فعال ترین متابولیت طبیعی و بیولوژیکی ویتامین A است، در فرآیند امبریونز نقش مهمی داشته و برای تمایز بافت های اپیتلیال ضروری است (۱۰). اثرات رتینوئیدها در رشد و تکثیر سلول های اپیتلیال پروستات توسط پیل بررسی شده است (۱۱). از آن جا که پوست نیز اندام هدف فعالیت رتینوئیدهاست، از این مواد در درماتولوژی و درمان بسیاری از بیماری های پوستی استفاده می شود (۱۲) و جلوگیری از ایجاد انواع تومورهای اپیتلیال از جمله این کاربردها است (۱۳). مطالعات فوتوزیک نیز نشان داده است که رتینوئیدها در پوست، تولید سبوم و شاخی شدن را سرکوب می نمایند (۱۴). فرناندز نیز گزارش کرده است که رتینوئیک اسید بر بیان

کراتین تاثیر داشته و تمایز اپی درم و فولیکول مو را تحریک می کند (۱۵). با توجه به این که امروزه تصور زندگی بدون الکتریسیته مقدور نیست و بسیاری از دستگاه های اطراف ما چه در منزل و چه در محیط کار، مولد میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم هستند و از طرف دیگر اثرات ویتامین A بر سلول ها و بافت ها، طی آزمایشات گوناگون نشان داده شده است و هم چنین علاوه بر مصرف آن به عنوان مکمل های غذایی، در درمان های کلینیکی نیز استفاده فراوان دارد، در پژوهش حاضر با به کارگیری هر دو عامل فوق الذکر، اثرات توأم آنها در تکوین پوست جنین موش نژاد بالب سی (Balb/C) بررسی شده است.

## روش کار

این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی به مدت یک سال، از فروردین تا اسفندماه ۱۳۸۷ در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی تکوین جانوری دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شده است. به منظور بررسی اثرات توأم میدان الکترومغناطیسی و ویتامین A بر پوست جنین، از موش های نژاد بالب سی که از مؤسسه سرم سازی رازی مشهد خریداری شده بود، استفاده گردید. این موش ها در اتاق پرورش حیوانات، با رطوبت ۶۰-۵۵ درصد و دمای حدود  $23 \pm 1$  درجه سانتی گراد و دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. قفس های آنها هر هفته دو بار شستشو و ضد عفونی می شدند و از غذای آماده استاندارد که از شرکت جوانه خراسان تهیه شده بود جهت تغذیه آنها استفاده شد. هم چنین آب به مقدار کافی توسط بطری شیشه ای در اختیار آنها قرار داده شد. برای تامین میدان الکترومغناطیسی مورد نیاز، از مدار ویژه مولد میدان الکترومغناطیس ۵۰ هرتز با شدت ۱۰۰ گاؤس استفاده شد. این مدار در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در طی تجربیات قبلی (بهار آرا- اشرف)، طراحی و ساخته شده است. این مدار شامل یک بوبین، ۳ رئوستا، خازن و آمپر متر است. برای ساخت بوبین، حول یک لوله از جنس PVC (Polyvinyl chloride)

مقادیر مناسب از سیم مسی، با توجه به محاسبه شدت میدان الکترومغناطیسی مورد نیاز، از رابطه  $B = \mu n I$  پیچانده شد. (B: شدت میدان مغناطیسی بر حسب تسلا،  $\mu: 4\pi \times 10^{-7}$ ؛ n: تعداد دور در واحد طول، I: شدت جریان). برای اطمینان از صحت شدت میدان مغناطیسی محاسبه شده توسط فرمول فوق الذکر، پس از برقراری جریان در مدار، با استفاده از گاؤس متر شدت میدان کنترل شد. ویتامین A، ساخت شرکت اسوه تهران و در ویال‌های ۱ میلی لیتری جهت تزریق به میزان ۱۵۰۰۰ واحد بر کیلوگرم، در روز ۱۰/۵ بارداری، به صورت درون صفاقی و در زیر هود لامینار (Telstar, Span) استفاده گردید. در این پژوهش از موش‌های نر و موش‌های ماده با کره با ۶ تا ۸ هفته سن و به وزن حدود ۳۰ گرم استفاده شد. آمیزش از نوع منوگامی بود و روز مشاهده پلاک واژینال، به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد. تعداد ۱۸ موش حامله به صورت تصادفی و مساوی در سه گروه ذیل تقسیم شدند:

۱- کنترل: موش‌های بارداری که در اتاق پرورش حیوانات در شرایط طبیعی نگهداری شدند.

۲- شاهد آزمایشگاهی: در موش‌های باردار این گروه در روز ۱۰/۵ حاملگی به میزان ۱۵۰۰۰ واحد بر کیلوگرم ویتامین A تزریق درون صفاقی انجام شد و هم‌چنین در روزهای ۱۰ تا ۱۲ حاملگی هر روز به مدت ۴ ساعت (۸ صبح تا ۱۲ ظهر) در شرایط آزمایشگاهی فاقد میدان الکترومغناطیسی قرار گرفتند.

۳- تجربی: در موش‌های باردار این گروه در روز ۱۰/۵ حاملگی به میزان ۱۵۰۰۰ واحد بر کیلوگرم ویتامین A تزریق درون صفاقی انجام شد و هم‌چنین در روزهای ۱۰ تا ۱۲ حاملگی (با توجه به زمان بحرانی رشد و نمو پوست جنین موش کوچک آزمایشگاهی) هر روز به مدت ۴ ساعت (۸ صبح تا ۱۲ ظهر) در محفظه بوبین سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم (۵۰ هرتز) با شدت ۱۰۰ گاوس قرار گرفتند. موش‌های باردار گروه‌های فوق در روز ۱۷/۵ بارداری تشریح و جنین‌های آنها از رحم خارج شد. پس از شستشو ابتدا بررسی ریخت‌شناسی، اندازه‌گیری وزن

با ترازوی آنالیتیکال (Sartorius, Germany)، طول فرق سری تا نشیمنگاهی (Crown Rump length-CRL) به وسیله کولیس انجام شد. سپس جنین‌ها، تثبیت، آبگیری و قالب‌گیری شدند و توسط میکروتوم (Microm, Germany) برش‌های سریالی ۶ میکرونی تهیه و در ادامه رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (Hematoxylin & Eosin Stain- H&E) انجام شد. پس از تهیه لام‌های دائمی، با فتو میکروسکوپ تحقیقاتی (Zeiss Germany)، اپی‌درم بخش پشتی پوست مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفت و در مقاطع سهمی میانی سه میدان دید یکسان در هر یک از نمونه‌ها تعیین و تعداد سلول‌ها در لایه‌های بازال و خاردار و هم‌چنین تعداد فولیکول‌های مو شمارش و ضخامت اپیدرم توسط گراتیکول خطی اندازه‌گیری شد. داده‌های کمی حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS و به وسیله آزمون‌های تی و آنالیز واریانس یک طرفه در سطح  $p < 0.05$  تجزیه و تحلیل گردید. محققین در مراحل مختلف تحقیق نظیر نگهداری حیوان، تابش دهی با امواج، بیهوش نمودن و تشریح حیوان متعهد به رعایت اصول اخلاقی پژوهش بودند.

## نتایج

آنالیز آماری یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر در مورد تغییرات وزن و طول فرق سری نشیمنگاهی، ضخامت اپی‌درم و تعداد سلول‌های بازال و خاردار و نیز تعداد فولیکول‌های مو مطابق ذیل گزارش می‌شود: بررسی‌های مورفولوژیک، وزن و CRL جنین‌ها هیچ‌گونه ناهنجاری مورفولوژیک نشان نداد، لیکن ارزیابی وزن جنین‌های شاهد آزمایشگاهی بر حسب گرم  $(0.92 \pm 0.0182)$  نسبت به کنترل  $(1.167 \pm 0.019)$  کاهش نشان داد ( $p < 0.001$ ). مقایسه متوسط اندازه وزن جنین‌های تجربی بر حسب گرم  $(0.9814 \pm 0.0205)$  نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش نشان داد ( $p < 0.05$ ). مقایسه طول فرق سری نشیمنگاهی جنین‌های شاهد آزمایشگاهی بر حسب میلی متر  $(20.0517 \pm 0.2311)$  نسبت به کنترل  $(22.0281 \pm 0.239)$  کاهش نشان داد ( $p < 0.001$ ). در حالی که مقایسه طول فرق

نشان داد ( $p < 0.001$ ) (جدول ۱).

سری نشیمنگاهی جنین‌های تجربی بر حسب میلی متر  
( $20.7545 \pm 0.1992$ ) نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش

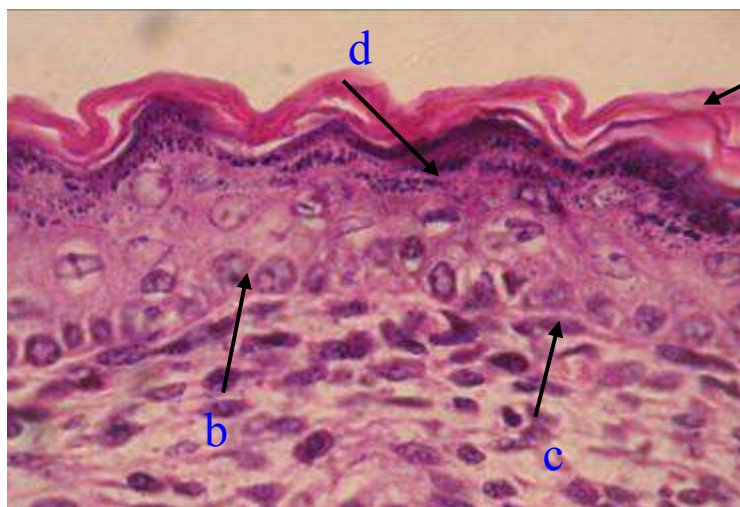
جدول ۱. مقایسه آماری متغیرهای مورد مطالعه بین جنین‌های تجربی، شاهد آزمایشگاهی و کنترل

P	کنترل		تجربی	
	میانگین (انحراف معیار)	شاهد آزمایشگاهی میانگین (انحراف معیار)	میانگین (انحراف معیار)	
$< 0.05$	$(0.5274) 18/5878$	$(0.2486) 17/3863$	$(0.4435) 18/3768$	ضخامت اپی‌درم (میکرون)
$< 0.001$	$(0.1296) 1/9059$	$(0.1571) 3/3103$	$(0.1163) 1/525$	تعداد فولیکول‌های مو
$< 0.001$	$(0.3130) 7/8566$	$(0.3191) 9/8494$	$(0.2115) 8/7187$	تعداد سلول‌های خاردار
$< 0.001$	$(0.3637) 11/65873$	$(0.4213) 15/4506$	$(0.2476) 11/6145$	تعداد سلول‌های بازال
$< 0.05$	$(0.019) 1/167$	$(0.0182) 0/92$	$(0.0205) 0/9814$	وزن (گرم)
$< 0.001$	$(0.239) 22/0281$	$(0.2311) 20/0517$	$(0.1992) 20/7545$	طول فرق سری نشیمنگاهی (میلی متر)

تعداد سلول‌های خاردار در اپی‌درم پوست جنین‌های شاهد  
آزمایشگاهی ( $9/8494 \pm 0.3191$ ) و کنترل ( $7/8566 \pm 0.3130$ )  
نیز افزایش نشان داد ( $p < 0.001$ ). لیکن متوسط تعداد  
سلول‌های خاردار ( $8/7187 \pm 0.2115$ ) در جنین‌های تجربی  
در مقایسه با شاهد آزمایشگاهی کاهش نشان داد  
( $p < 0.001$ ) (شکل ۱، جدول ۱).

در رابطه با تغییرات تعداد فولیکول‌های مو  
میانگین تعداد فولیکول‌های مو در اپی‌درم پوست پشتی  
جنین‌های شاهد آزمایشگاهی ( $3/3103 \pm 0.1571$ ) و کنترل  
( $1/9059 \pm 0.1296$ ) افزایش نشان داد ( $p < 0.001$ ). لیکن  
متوسط تعداد این فولیکول‌ها در جنین‌های  
تجربی ( $1/525 \pm 0.1163$ ) در مقایسه با شاهد آزمایشگاهی  
کاهش نشان داد ( $p < 0.001$ ) (جدول ۱).

در زمینه تغییرات ضخامت اپی‌درم، سلول‌های  
بازال و خاردار مقایسه آماری متوسط ضخامت اپی‌درم  
پوست جنین‌های شاهد آزمایشگاهی بر حسب میکرومتر  
( $17/3863 \pm 0.2486$ ) و کنترل ( $18/5878 \pm 0.5274$ ) کاهش  
نشان داد ( $p < 0.05$ ). هم‌چنین ضخامت اپی‌درم در پوست  
نمونه‌های تجربی بر حسب میکرومتر ( $18/3768 \pm 0.4435$ )  
نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش نشان داد ( $p < 0.05$ ).  
آنالیز مقایسه‌ای میانگین تعداد سلول‌های بازال  
( $15/4506 \pm 0.4213$ ) در اپی‌درم پوست جنین‌های شاهد  
آزمایشگاهی و کنترل ( $11/65873 \pm 0.3637$ ) افزایش نشان  
داد ( $p < 0.001$ ). هم‌چنین متوسط تعداد سلول‌های بازال  
( $11/6145 \pm 0.2476$ ) در جنین‌های تجربی در مقایسه با  
شاهد آزمایشگاهی کاهش نشان داد ( $p < 0.001$ ) میانگین



شکل ۱. مقطع عرضی از جنین ۱۷/۵ روزه موش، نمونه تجربی، درشت نمایی  $1000\times$  رنگ آمیزی H&E  
a: لایه شاخی      b: لایه خاردار      c: لایه بازال      d: لایه دانه دار

## بحث

ویتامین A را در وزن جنین‌ها تعدیل نموده و منجر به افزایش وزن جنین‌های تجربی شود. هرچند که مطالعات هاسکونن با مطالعه روی موش‌های صحرایی نژاد ویستار، گزارش نموده است که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر جنین موش‌های بارداری، هیچ‌گونه تغییری بر وزن بدن یا تعداد جنین‌های جذب شده ایجاد نمی‌کند، اما به هر حال وی عامل زمان را در تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی بر تکوین جانوران، مهم معرفی نموده است (۱۹). در تحقیق حاضر هم چنین ضخامت لایه اپی‌درم در گروه شاهد آزمایشگاهی نسبت به کنترل کاهش یافته است ولی مطالعات فرناندز و همکاران در سال ۲۰۰۷ نتایج دیگری را نشان داده است. وی گزارش می‌نماید که رتینوئیک اسید اثر تحریکی بر سلول‌های پوست جنین موش‌های بارداری نژاد ان-ماری (NMRI) داشته و تعداد کانون‌های هایپرپلاستیک افزایش می‌یابد (۱۰). لیکن همین محقق در سال ۲۰۰۶ گزارش کرده است که در تیمار موش‌های نژاد ان-ماری در روز ۱۱/۵، با رتینوئیک اسید، تغییری در هیستوژنز ایجاد نمی‌کند اما بر فعالیت تکثیری اپیدرم در حال تکوین اثر دارد (۱۵). مطالعات شیمیزو نیز نشان داده است که رتینوئیدها رشد سلول‌های سرطانی مری را در انسان و در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) مهار می‌نمایند (۲۰) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تصور می‌شود که نوع ماده مصرفی، زمان تیمار، دوز آن و حتی نژاد نمونه، در نتایج

گزارش‌های متعددی در ارتباط با اثرات میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین (۵۰ هرتز) بر سیستم‌های بیولوژیکی و سلامت انسان منتشر شده است (۱۶). هم چنین مطالعات فراوانی در ارتباط با نقش مهم ویتامین A بر رشد و نمو جنین صورت پذیرفته است، لیکن چون عوامل متعددی در طی بارداری بر رشد و نمو جنین موثرند، نتایج این تحقیقات یکسان نبوده است (۱۷). در پژوهش حاضر ویتامین A سبب کاهش در وزن و طول فرق سری-نشیمنگاهی جنین‌ها در گروه شاهد آزمایشگاهی نسبت به کنترل شد که با بعضی گزارش‌های قبلی مطابقت دارد. نیل در سال ۲۰۰۰ بیان کرده است که ویتامین A یک عامل مهارکننده شیمیایی است، زیرا مرگ سلولی و تمایز را القاء نموده و بر رشد سلول‌ها اثر ممانعت کننده دارد، پیشروی چرخه سلولی را در فاز G1 بلوکه می‌کند و به این وسیله در مهار تکثیر سلولی نقش دارند (۱۸). تصور می‌شود که هر یک از بافت‌های بدن به نوعی تحت تاثیر ویتامین A قرار می‌گیرند و احتمالاً اثر مهار ویتامین A بر سلول‌ها مانع از رشد بدن به میزان طبیعی شده و کاهش وزن را به دنبال دارد. هم چنین از آنجایی که در پژوهش حاضر به کارگیری توأم میدان الکترومغناطیسی و ویتامین A نیز افزایش وزن را نسبت به گروه شاهد آزمایشگاهی منجر شده است، به نظر می‌رسد میدان الکترومغناطیسی توانسته است اثرات کاهشی

یک آزمایش تاثیر گذار است و احتمالاً همین عوامل، بیان زن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. نتایج تحقیقات مذکور نشان می‌دهد که تاثیر ویتامین A در همه سلول‌ها نیز یکسان نیست. ولی این که در گروه تجربی افزایش ضخامت اپیدرم پوست نسبت به شاهد آزمایشگاهی مشاهده شد شاید به دلیل اثر گذاری میدان الکترومغناطیسی می‌باشد که با برخی مطالعات قبلی همسو می‌باشد. لو نیز گزارش کرده است که پرتوهای نوری پالسی در شرایط داخل بدن (In vivo) سبب افزایش بیان پروکلژن ۱ و ۳ شده و به این ترتیب ضخامت لایه درم در پوست موش‌های بालب سی افزایش یافت (۲۱). هم‌چنین اتاناسیوس برای مطالعه اثر میدان‌های الکترومغناطیسی پالسی بر ترمیم زخم، موش‌های نر نژاد ویستار را در معرض این میدان‌ها قرار داد و نتایج وی بیان‌گر آن است که افزایش ضخامت پوست می‌تواند به دلیل تاثیر این میدان‌ها بر پتانسیل غشای سلولی، کانال‌های یونی مختلف و تغییر در تولید آدنوزین تری فسفات (Adenosine Tri Phosphate-ATP) باشد (۶). از دیگر نتایج پژوهش حاضر کاهش در تعداد سلول‌های بازال در نمونه‌های گروه تجربی نسبت به نمونه‌های شاهد آزمایشگاهی می‌باشد که با گزارش لی مطابقت دارد. نتایج وی بیان‌گر آن است که میدان‌های الکترومغناطیسی، القا کننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در موش‌های نر نژاد بालب سی می‌باشند (۲۲). به هر حال اگرچه علت تناقض در بعضی نتایج را می‌توان به نوع و نژاد جانور مورد آزمایش، فرکانس و مدت زمان تابش امواج نسبت داد ولی این احتمال وجود دارد که میدان الکترومغناطیسی چنانچه در زمان‌های خاص تکوینی اعمال شود، می‌تواند اثرات ایجاد شده توسط ویتامین A را تغییر دهد زیرا در این پژوهش مشاهده شد که ضخامت اپیدرم در گروه شاهد آزمایشگاهی نسبت به کنترل کاهش یافته است اما در گروه تجربی که اثر توأم ویتامین و میدان الکترومغناطیسی وجود داشت، در مقایسه با شاهد آزمایشگاهی ضخامت اپی‌درم افزایش نشان داده است؛ در حالی که نتایج تحقیق احمدیان نشان داده است که درمان با میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم

باعث سرکوب تمایزات مربوط به اثرات رتینوئیک اسید در سلول‌های کارسینومای جنین موش صحرایی می‌شود. هم‌چنین تغییر در سنتز کلاژن به عواملی چون فرکانس، اجزای میدان الکتریکی، چگالی سلولی و نوع جانور استفاده شده در آزمایش بستگی دارد و مهم‌تر این که تاثیر میدان‌ها به زمان‌های تکوینی خاص محدود می‌شود (۲۳). هم‌چنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تعداد فولیکول‌های مو در پوست قسمت پشتی جنین در گروه شاهد آزمایشگاهی نسبت به کنترل افزایش یافته اما زمانی که ویتامین A و میدان الکترومغناطیسی به صورت توأم استفاده شد کاهش تعداد فولیکول‌های مو در نمونه‌های تجربی نسبت به شاهد آزمایشگاهی مشاهده گردید. از آنجا که در تکوین فولیکول‌های مو عوامل گوناگونی مانند هورمون‌ها، پروتئین‌های درگیر در مسیرهای سیگنال دهی و مولکول‌های مسئول تمایز و چسبندگی دخالت دارند (۱۷). به نظر می‌رسد، این فاکتورها تحت تاثیر ویتامین A قرار گرفته و افزایش تعداد فولیکول‌های مو را باعث می‌شوند. نتایج حاصل از تحقیق سایتو نیز بیان‌گر آن است که میدان‌های مغناطیسی بر فاکتورهای رونویسی، بعضی یون‌های فلزی، فاکتورهای رشد و ژن‌های هاکس که همگی در تکوین فولیکول مو نقش دارند تاثیر گذاری دارند (۲۴). فوتوزیک تاثیر رتینوئیدها بر مورفوژن مو در انسان و موش در شرایط برون تنی را وابسته به فاکتور  $TGF\beta 1$  می‌داند. این فاکتور یک تنظیم کننده بیولوژیکی چند کاره است که هم توانایی مهار رشد سلول‌های اپیتلیال و هم توانایی تحریک آپوپتوزیس در کراتینوسیت‌ها را دارد. هم‌چنین قادر به تقویت رشد مو در هنگام مورفوژن است، اما از آن جا که بسته به نوع شرایط محیطی، رتینوئیدها درایزوفرم‌های  $TGF\beta 1$  هم افزایش و هم کاهش ایجاد می‌کنند (۱۴) پس مشاهده نتایج مختلف پس از به کار بردن رتینوئیدها طبیعی به نظر می‌رسد. در شرایط محیطی مختلف و احتمالاً با تاثیر بر ژن‌ها، تغییرات هورمونی و دیگر فرایندهای سلولی نظیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، بروز نتایج متفاوت، طبیعی به نظر می‌رسد. در تحقیق حاضر به کار بردن ویتامین A در

## منابع

1. Kheifets L, Repacholi M, Saunders R, Deventer E. The sensitivity of children to electromagnetic fields. *Pediatrics* 2005; 116(2):303-13.
2. Digel I, Kurulgan E, Linder P, Kayser P, Porst D, Bream GJ, et al. Decrease in extracellular collagen crosslinking after NMR magnetic field application in skin fibroblasts. *Med Biol Eng Comput* 2007; 45: 91-7.
3. Meineke V, Müllen K, Ridi R, Cordes N, Köhn F, Mayerhofer A, et al. Development and evaluation of a skin organ model for the analysis of radiation effects. *Strahlenther Onkol* 2004; 180:102-8.
4. Funk RH, Monsees TK. Effect of electromagnetic fields on cells: physiological and therapeutical approaches and molecular mechanisms of interaction. *Cells Tissues Organs* 2006; 182:59-78.
5. Bullock AJ, Barker AT, Coulton L, MacNeil S. The effect of induced biphasic pulsed currents on re-epithelialization of a novel wound healing model. *Bioelectromagnetics* 2007; 28(1): 31-41.
6. Athanasiou A, Karkambounas S, Batistatou A, Lykoudis E, Katsaraki A, Kartsioni T, et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on secondary skin wound healing: An experimental study. *Bioelectromagnetics* 2007; 28(5): 362-8.
7. Strauch B, Patel MK, Navarro JA, Berdichevsky M, Yu HL, Pilla A. Pulsed magnetic field accelerate cutaneous wound healing in rats. *Plast Reconstr Surg* 2007; 120(2): 425-30.
8. Marko S, Markov. Magnetic field therapy: a review. *Electromagn Biol Med* 2007; 26(1): 1-23.
9. Fedrowitz M, Westermann J, Löscher W. Magnetic field exposure increases cell proliferation but does not affect melatonin levels in mammary gland of female Sprague dawley rats. *Cancer Res* 2002; 62(5):1356-63.
10. Fernandez RA, Perez-Martinez C, Espinosa-Alvarez J, Garcia Iglesias MJ. In vivo long-term effects of retinoic acid exposure in utero on induced hyperplastic epidermal foci in murine skin. *Journal Compilation* 2007; 18: 287-93.

گروه شاهد آزمایشگاهی سبب افزایش تعداد سلول‌های بازال و خاردار نسبت به گروه کنترل شد. این نتیجه با گزارشات یاشیمورا مطابقت دارد، وی در شرایط داخل بدن نشان داده است که رتینوئیک اسید سبب افزایش تکثیر و تمایز کراتینوسیت‌ها شد (۲۵). تجربیات رودریگوز نشان داده است در شرایط برون تنی، رتینول، رشد و تمایز سلول‌ها را به وسیله خاموش یا روشن کردن بعضی ژن‌های خاص کنترل می‌کند (۲۶). به نظر می‌رسد در توجیه مکانیسم پاسخ دهی سلول‌ها به تیمار توأم ویتامین A و میدان‌های الکترومغناطیسی باید به این موارد توجه کافی نمود. به هرحال به کارگیری توأم میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و ویتامین A در گروه تجربی باعث کاهش تعداد سلول‌های بازال و خاردار نسبت به شاهد آزمایشگاهی شده است که این موضوع مؤید اثرات تداخلی میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم با ویتامین A می‌باشد.

## نتیجه گیری

یافته‌های تحقیق حاضر بیان‌گر آن است که تیمار توأم میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و ویتامین A بر تکوین جنین و رشد و نمو اپی‌درم پوست اثرات عمیق می‌گذارد. لذا پیشنهاد می‌شود تا انجام مطالعات تکمیلی، زنان باردار شاغل در محیط‌های واجد دستگاه‌های مولد امواج الکترومغناطیس در مصرف ویتامین A در طی بارداری احتیاط‌های لازم را انجام داده و تحت نظر پزشک صورت پذیرد.

## تشکر و قدردانی

از مدیر محترم گروه زیست‌شناسی و همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد به ویژه سرکار خانم مژگان مددی که در اجرای این طرح پژوهشی همکاری نمودند تقدیر و سپاسگزاری می‌شود.

11. Peehl DM, Wong ST, Stamey TA. Vitamin A regulates proliferation and differentiation of human prostatic epithelial cells. *Prostate* 1993;23: 69-78.
12. Marill J, Idres N, Capron CC, Nguyen E, Chabot GG. Retinoic acid metabolism and mechanism of action: a review. *Curr Drug Metab* 2003; 4(1):1-10.
13. Baron JM, Heise R, Blaner WS, Neis M, Jousen S, Dreuw A, et al. Retinoic acid and its 4-Oxo metabolites are functionally active in human skin cells in vitro, *J Invest Dermatol* 2005; 125(1):143-53.
14. Foitzik K, Spexard T, Nakamura M, Halsner U, Paus R. Towards dissecting the pathogenesis of retinoid-induced hair loss: all-trans retinoic acid induces premature hair follicle regression (catagen) by upregulation of transforming growth factor- $\beta$ 2 in the dermal papilla. *J Invest Dermatol* 2005;124:1119-26.
15. Garcia-Fernandez RA, Perez-Martinez C, Alvarez JE, Navarrete A, Garcia-Iglesias MJ. Mouse epidermal development: effects of retinoic acid exposure in utero. *Vet Dermatol* 2006; 17: 36-44.
16. Manni V, Lisi A, Pozzi D, Rieti S, Serafino A, Giuliani L, et al. Effects of extremely low frequency (50HZ) magnetic field on morphological and biological properties of human keratinocytes. *Bioelectromagnetics* 2002; 23(4): 298-305.
17. Fernandez RA, Perez-Martinez C, Escudero-Diez A, Garcia Iglesias MJ. Effects of in utero retinoic acid exposure on mouse pelage hair follicle development. *Vet Dermatol* 2002; 13:157-63.
18. Niles RM. Recent advances in the use of vitamin A (retinoids) in the prevention and treatment of cancer. *Nutrition* 2000;16(11-12): 1084-9.
19. Huuskonen H, Juutilainen J, Komulainen H. Effects of low-frequency magnetic fields on fetal development in rats. *Bioelectromagnetics* 1993; 14(3): 205-13.
20. Shimizu M, Suzui M, Deguchi A, Lim JTE, Weinstein IB. Effects of acyclic retinoid on growth, cell cycle control, epidermal growth factor receptor signaling, and gene expression in human squamous cell carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10:1130-40.
21. Luo D, Cao Y, Wu D, Xu Y, Chen B, Xue Z. Impact of intense pulse light irradiation on Balb/C mouse skin-in vivo study on collagens, matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factor. *Lasers Med Sci* 2009; 24(1): 101-8.
22. Lee JS, Ahn SS, Jung KC, Kim YW, Lee SK. Effects of 60Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian J Androl* 2004; 6: 29-34.
23. Ahmadian S, Zarchi SR, Bolouri B. [The Effects of extremely low frequency pulsed electromagnetic field on collagen synthesis of rat skin: a biochemical and histological approach]. *Iran Biomed J* 2006; 10(1): 33-8.
24. Saito K, Suzuki H, Suzuki K. Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses. *Reprod Toxicol* 2006; 22(1):118-24.
25. Yoshimura K, Tsukamoto K, Okazaki M, Virador V, Lei T, Suzuki Y, et al. Effects of all-trans retinoic acid melanogenesis in pigmented skin equivalents and monolayer culture of melanocytes. *J Dermatol Sci* 2001; 27: 67-8.
26. Rodriguez A, Diez C, Ikeda S, Royo LJ, Caamano JN, Alonso-Montes C, et al. Retinoids during the in vitro transition from bovine morula to blastocyst. *Hum Reprod* 2006; 21(8): 2149-57.



## The synergetic effects of low frequency electromagnetic fields and vitamin A on the development of skin in Balb/C mice

Baharara J<sup>1\*</sup>, Parivar K<sup>2</sup>, Ashraf A<sup>3</sup>, Rostami R<sup>4</sup>

1-Assistant professor, PhD of Cell and Developmental Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

2- professor, PhD of Animal Embryology, Department of Biology, Faculty of Science, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran.

3-Assistant professor, PhD of Medical Physics, Department of Physic, Faculty of Science, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

4- MSc of Cell and Developmental Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Received 5 Aug, 2009 Accepted 7 Oct, 2009

### Abstract

**Background:** Noticing the daily advancement of the role of electromagnetic field generators in human life, examination of the biologic impacts of these waves has come to be extensively appreciated by researchers. During pregnancy, vitamin A is extremely essential for the development of fetus and its lack, insufficiency or excess can result in embryonic malformations. This study investigated the synergetic effects of vitamin A and extremely low frequency electromagnetic fields on the development of embryo skin in Balb/C mice.

**Materials and Methods:** This study was experimental in nature. Eighteen pregnant mice were divided into control, sham-exposed and experimental groups. The mice in the experimental group were given an intra-peritoneal injection of 15000 IU/kg vitamin A on the 10.5th day of gestation and were, then, exposed to a 50Hz electromagnetic field 4 hours a day from 10 through 12<sup>th</sup> day of gestation. The animals were dissected and investigated morphologically and histologically on 17.5th day of gestation.

**Results:** The results showed an increase in the mean weight of fetuses in the experimental group in comparison to the sham- exposed group ( $P<0/05$ ). Also, Crown-Rump of fetuses in the experimental group increased in comparison to those in the sham- exposed group ( $P<0/001$ ). Epidermis thickness increased significantly in experimental group in comparison to sham- exposed ( $P<0/05$ ), while the average number of basal, spinous cells and hair follicles decreased significantly in the experimental group compared to the sham- exposed ( $P<0/001$ ).

**Conclusion:** The findings indicate that vitamin A usage and synergetic exposure to low frequency electromagnetic fields (50Hz) profoundly affect the development and growth of skin epidermis in the fetus of Balb/C mouse.

**Keywords:** BALB/C mice, Development, Electromagnetic field, Skin, Vitamin A

\*Corresponding author;

Email:baharara@yahoo.com

Address: Student Affairs Vice Presidency, 42 Emamieh, Gahsem Abad, Mashhad, Iran.