Effects of long term exposure to low frequency electromagnetic fields on the cholinergic system in rat colon

M. Adampourezare* A. Bahaodini**

*M.Sc. in Animal Physiology, School of Science, Shiraz University, Shiraz, Iran
**Associate Professor of Animal Physiology, School of Science, Shiraz University, Shiraz, Iran

Abstract

Background: Acetylcholine is the most abundant neurotransmitter that is released from the enteric excitatory motor neurons. Acetylcholine binds to metabotropic muscarinic receptors in intestinal smooth muscle and causes increased bowel movements.

Objective: The aim of this study was to determine the effects of long term exposure to low frequency electromagnetic fields (EMF) on the cholinergic system in rat colon.

Methods: In this experimental study, twenty adult male rats were randomly divided into two groups: the experimental group was exposed to EMF at 1000μT and 50Hz for 140 days in a solenoid and the control group was subjected to sham exposure in which the solenoid did not generate a magnetic field. The isolated strips of the colon were inserted into organ bath and were linked to power lab A to D system force transducer and their mechanical activity were recorded in response to cumulative doses of acetylcholine. Data were analyzed using student T- test.

Findings: The mechanical response of the tissue to the drug in the experimental group (solenoid on) was significantly increased in some minutes compared to the control group (solenoid off).

Conclusion: With regards to the results, it seems that long-term exposure to low frequency electromagnetic fields leads to increased sensitivity of the cholinergic receptors.

Keywords: Electromagnetic Fields, Colon, Muscarinic Receptors

Corresponding Address: Mina Adampourezare, Tabriz, 29 Bahman Blvd., Tabriz University, School of Natural Science
Email: adampourezare@yahoo.com
Tel: +98-914-4114204
Received: 14 May 2013
Accepted: 26 Dec 2013

Archive of SID

www.SID.ir

اثر قرارگیری درازمدت در معرض میدان الکترومغناطیس با بسامد پایین بر فعالیت سیستم کولینرژیک در روده بزرگ موش

مینا آدمپورزارع* دکتر امین‌اله بهاء الدینی**

* کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم طبیعی دانشگاه شیراز
** دانشیار فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم طبیعی دانشگاه شیراز

آدرس نویسنده مسؤول: تبریز، بلوار ۲۹ بهمن، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، تلفن ۰۹۳۷۶۳۰۴۱۷۴
Email: adampourezare@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۵

چکیده

زمینه: استیل کولین فراوان‌ترین واسطه سیناپسی است که از سلول‌های عصبی حرکتی تحریکی انتریکی آزاد می‌شود. این واسطه سیناپسی با اتصال به گیرنده‌های موسکارینی متابوتروپیک موجود بر روی عضله‌های صاف روده باعث افزایش حرکت‌های روده می‌شود.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر قرارگیری دراز مدت در معرض میدان الکترومغناطیس با بسامد پایین بر فعالیت سیستم کولینرژیک در روده بزرگ جدا شده موش انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ به دو گروه مساوی تقسیم شدند: گروه آزمایش در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۱۰۰۰ میکروتسلا و بسامد ۵۰ هرتز به مدت ۱۴۰ روز در دستگاه سولنوئید روشن و گروه شاهد در شرایط مشابه گروه اول، دردستگاه سولنوئید خاموش قرار گرفتند. فعالیت‌های مکانیکی حلقه‌های جدا شده کولون که در حمام بافتی متصل به مبدل نیروی دستگاه Powerlab A to D قرارگرفتند و پاسخ تغییرات مکانیکی بافت به تجویز تجمعی داروی استیل کولین ثبت شد. داده‌ها با آزمون آماری تی تحلیل شدند.

یافته‌ها: بین پاسخ مکانیکی بافت به دارو در گروه آزمایش (سولنوئید روشن) نسبت به گروه شاهد (سولنوئید خاموش) در بعضی دقایق افزایش معنی‌دار آماری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد قرار گرفتن درازمدت در معرض میدان‌های الکترومغناطیس با بسامد پایین باعث افزایش حساسیت گیرنده‌های موسکارینی کولینرژیک می‌شود.

کلیدواژه‌ها: میدان‌های الکترومغناطیس، روده بزرگ، گیرنده‌های موسکارینی

مقدمه:

صنعتی شدن جامعه بشری و پیشرفت فن‌آوری و ساخت وسایل الکتریکی موجب شده است که امروزه انسان‌ها بیش از گذشته در معرض میدان‌های الکترومغناطیس قرار گیرند. وسایل الکتریکی خانگی، خطوط انتقال نیرو و میدان‌های الکتریکی از جمله مهم‌ترین تولید کننده‌های این گونه میدان‌ها هستند. با توجه به این موضوع بررسی اثرات این میدان‌ها از سال‌ها پیش مورد توجه محققین قرار گرفته است.[۱] مطالعه‌های انجام شده بر روی کارگران پست‌های توزیع و انتقال برق، حاکی از به وجود آمدن اختلال‌های ذهنی متنوع، مشکلات قلبی و عروقی، گوارشی و سیستم اعصاب مرکزی است.[۲] به طور کلی میدان‌های الکترومغناطیس با شدت‌های مختلف بر شیوع اختلال‌های زیر مؤثر هستند: تکامل جنینی، نازایی، بروز اختلال‌های عصبی و خواب، بیماری‌های گوارشی، قلبی- عروقی،

Archive of SID

www.SID.ir

نئوپلاسم‌های گوناگون از جمله بافت خون‌ساز، لنفاوی و غیره.[۳] از مهم‌ترین کاربردهای امواج الکترومغناطیس در پزشکی می‌توان به کاربرد آن در دستگاه‌های امآرآی، جهت جلوگیری از رشد سرطان در انسان، درمان تومور پروستات، ترمیم و بهبود استخوان و بافت‌های نرم اشاره کرد.[۴] تحقیق‌ها نشان داده‌اند این میدان‌ها در کاهش سلول‌های ساغری (Cajal) که سلول‌های ضربان‌ساز در روده‌اند، مهار کورتیکواستروئیدها، افزایش چسبندگی سلول‌ها و تفکیک سلول‌ها در متاستاز سرطانی نقش دارند. از طرف دیگر، این میدان‌ها بر عملکرد گیرنده‌های مختلف موجود در غشای سلول‌های ماهیچه صاف اندام‌های مختلف بدن نیز تأثیر می‌گذارند.[۵] میدان‌های الکترومغناطیس با بسامد پایین موجب تغییرات مورفولوژیک التهابی در روده می‌شوند.[۶] همچنین قرارگیری در معرض میدان‌های با بسامد رادیویی پایین باعث تعدیل نوروشیمیایی سیستم کولینرژیکی در هیپوکامپ می‌شود.[۷] تحقیق‌ها نشان داده‌اند که به منظور ارزیابی اثرات میدان الکترومغناطیس با شدت بین ۰/۳ تا ۳/۵ میلی تسلا می‌بایست اثرات این امواج بر روی پارامترهای اتصال به گیرنده سنجیده شود.[۸] همچنین در مطالعه‌های مشابه در زمینه اثرات این امواج بر غشای سلول و گیرنده‌ها، شدت میدان ۱ میلی تسلا پیشنهاد شده است.[۹و۱۰] لذا در مطالعه حاضر به منظور بررسی پاسخ مکانیکی بافت روده به این میدان‌ها از شدت ۱ میلی تسلا با بسامد ۵۰ هرتز استفاده شد. با توجه به این نکته که مطالعه‌های انجام شده در این زمینه اغلب سایر بافت‌ها را مورد هدف قرار داده‌اند، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر قرارگیری دراز مدت در معرض میدان الکترومغناطیس با بسامد پایین بر فعالیت سیستم کولینرژیک در روده بزرگ جدا شده موش انجام شد.

❋ مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه شیراز انجام شد، با توجه به مطالعه‌های مشابه تعداد ۲۰ سر رت نر با محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از نژاد ویستار به طور تصادفی انتخاب شدند. رت‌ها در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد و شرایط محیطی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند و از نظر مصرف آب و غذا در تمام دوره آزمایش محدودیتی نداشتند. پس از گذشت یک هفته، رت‌ها به طور تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی آزمایش و شاهد تقسیم شدند. گروه آزمایش به طور ۲۴ ساعته و به مدت ۱۴۰ روز دردستگاه سولنوئید روشن در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۱ میلی تسلا و بسامد ۵۰ هرتز قرار گرفتند. گروه شاهد به مدت ۱۴۰ روز در دستگاه سولنوئید خاموش قرار گرفتند. در طول مدت اعمال میدان الکترومغناطیس دما در ۲۲ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته می‌شد. برای تولید امواج الکترومغناطیس از دستگاه سولنوئید با منبع تغذیه ترانس خودکار متغیر استفاده شد که ورودی آن برق شهر (۵۰ هرتز و ۲۲۰ ولت) بود و ولتاژ جریان ورودی طوری تنظیم شد که شدت میدان ۱ میلی تسلا برقرار شود. شدت جریان ورودی به دستگاه به وسیله آمپرمتر و شدت میدان مغناطیسی توسط دستگاه تسلامتر اندازه‌گیری شد. رت‌ها بعد از ۱۴۰ روز، در دیسکاتور حاوی اتر قرار گرفتند و بعد از بی‌هوشی کامل، شکم حیوان باز شد و به سرعت قطعه‌های حدود ۱/۵ سانتی‌متری از روده بزرگ آن‌ها جدا شد. این قطعه‌ها به پتری دیش حاوی محلول کربس گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و بدون این که آسیبی به اپیتلیوم و عضله آن‌ها وارد شود، بافت‌های اضافی و چربی‌های اطراف آن‌ها جداسازی و به طور طولی به دو قلاب مخصوص مبدل نیرو وصل شدند. سپس میله‌ها به حمام بافتی (Organ Bath – ساخت کشور استرالیا) حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محلول کربس (محلول کربس حاوی $CaCl_2$: ۲/۵, KCL: ۴/۷, $KH2Po_4$: ۱/۲, $MgSo_4$: ۱/۲, $NaHCO_3$: ۲۵, NaCl: ۱۱۸, glucose: ۱۱ با PH=۷/۴ و خنثی)[۱۱] منتقل شدند. یکی از قلاب‌ها در حمام بافتی ثابت نگه داشته شد و قلاب دیگر بافت را به مبدل نیرو وصل می‌کرد. تغییرات انقباضی عضله روده به

Archive of SID

www.SID.ir

مبدل نیرو منتقل می‌شد و مبدل که به دستگاه Bridge Amplifier و سیستم Powerlab A to D (ساخت کشور استرالیا) متصل بود، تغییرات مکانیکی انقباض بافت را به علامت‌های الکتریکی تبدیل می‌کرد که توسط کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود. به منظور اندازه‌گیری تغییرات مکانیکی کشیدگی بافت، ابتدا حلقه‌های روده به مدت ۳۰ دقیقه تحت کشش پایه بافت (بنا به تجربه‌های قبلی ۰/۵ گرم) قرار گرفتند. در طول این مدت به منظور حفظ شرایط مناسب برای تغذیه بافت هر ۱۵ دقیقه یک بار محلول کربس تعویض می‌شد.[۱۲] در زمان اندازه‌گیری تغییرات مکانیکی، بافت در محلول کربس غوطه‌ور بود و دما توسط دستگاه Water Circulator و ترموستات در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داشته و به طور دایم با ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن هوادهی می‌شد.[۱۱] ابتدا حالت پایه (Baseline) ثبت گردید و سپس برای ارزیابی فعالیت سیستم کولینرژیک به عنوان آگونیست گیرنده‌های موسکارینی از استیل کولین با ۳ دوز مختلف (10^{-6}، 10^{-5}، 2×10^{-5} مولار) استفاده شد که بعد از ثبت کشش پایه به صورت تجمعی با فاصله ۱۰ دقیقه به درون اتاقک بافتی اضافه می‌شد. ارزیابی پاسخ بافتی قبل و بعد از تزریق دارو به وسیله دستگاه Powerlab A to D و نرم‌افزار Chart5 ثبت شد. داده‌ها با استفاده از قسمت تحلیل داده‌های این نرم‌افزار در بازه‌های ۲ دقیقه‌ای استخراج گردید. سپس پاسخ انقباضی به دارو در هر دو گروه در دقایق ۱، ۳، ۵، ۷، ۹ با استفاده از آزمون تی با در نظر گرفتن $P<0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار تجزیه و تحلیل شد. لازم به ذکر است به منظور حذف مقدار کشش پایه در هر سه گروه، از تغییرات کشش پاسخ به دارو کم گردید و سپس با هم مقایسه شدند.

❋ یافته‌ها:

از نظر پاسخ بافت به دوزهای مختلف دارو، میزان پاسخ‌دهی به استیل‌کولین در گروه آزمایش (سولنوئید روشن) نسبت به گروه شاهد (سولنوئید خاموش) در همه دقایق افزایش داشت (اعداد بزرگ‌تر نشان‌گر انقباض بیش‌تر است) و این افزایش در بعضی دقایق از لحاظ آماری معنی‌دار بود (جدول‌های شماره ۱ تا ۳).

جدول ۱- مقایسه میانگین پاسخ‌دهی روده به استیل کولین 10^{-6}مولار در دقایق مختلف بعد از کسر کشش پایه در گروه‌های آزمایش و شاهد

گروه / زمان (دقیقه)	آزمایش (تعداد=۱۰)	شاهد (تعداد=۱۰)	سطح معنی‌داری
۱	۶/۰۲±۰/۷۷	۶/۲۴±۱/۰۲	۰/۸۷
۳	۴/۵۶±۰/۴۹	۳/۵۵±۲/۲۲	۰/۳۶
۵	۲/۸۳±۰/۴۴	۱/۹۹±۰/۱۹	۰/۱۲
۷	۲/۵۳±۰/۲۳	۲/۲۶±۰/۸۹	۰/۵۶
۹	۲/۶۱±۰/۴۷	۱/۹۲±۰/۳۹	۰/۳۵

جدول ۲- مقایسه میانگین پاسخ‌دهی روده به استیل کولین 10^{-5}مولار در دقایق مختلف بعد از کسر کشش پایه در گروه‌های آزمایش و شاهد

گروه / زمان (دقیقه)	آزمایش (تعداد=۱۰)	شاهد (تعداد=۱۰)	سطح معنی‌داری
۱	۲/۷۲±۰/۷۳	۳/۵۲±۱/۱۰	۰/۵۵
۳	۲/۶۹±۰/۲۹	۱/۵۹±۰/۶۱	۰/۱۰
۵	۲/۶۱±۰/۳۴	۱/۲۴±۰/۴۸	۰/۰۳
۷	۱/۹۳±۰/۲۵	۰/۹۴±۰/۴۲	۰/۰۵
۹	۲/۳۱±۰/۴۸	۱/۲۵±۰/۹۱	۰/۱۵

جدول ۳- مقایسه میانگین پاسخ‌دهی روده به استیل کولین 2×10^{-5} مولار در دقایق مختلف بعد از کسر کشش پایه در گروه‌های آزمایش و شاهد

گروه / زمان (دقیقه)	آزمایش (تعداد=۱۰)	شاهد (تعداد=۱۰)	سطح معنی‌داری
۱	۲/۴۶±۰/۸۴	۲/۰۸±۱/۰۱	۰/۷۲
۳	۲/۲۶±۰/۳۱	۱/۵۲±۱/۴۵	۰/۲۸
۵	۲/۳۹±۰/۳۶	۰/۹۴±۰/۶۲	۰/۵۷
۷	۲/۱۳±۰/۴۲	۱/۵۶±۰/۸۲	۰/۵۱
۹	۱/۹۲±۰/۲۱	۰/۸۱±۰/۵۰	۰/۰۴

Archive of SID

www.SID.ir

❋ بحث و نتیجه‌گیری:

این تحقیق نشان داد که تحت تأثیر میدان الکترومغناطیس با شدت ۱ میلی تسلا و بسامد بسیار پایین (۵۰ هرتز) پاسخ‌دهی به دوزهای مختلف استیل کولین نسبت به گروه شاهد، افزایش انقباض نشان داد. به نظر می‌رسد این مطلب بیان‌گر این باشد که میدان الکترومغناطیس باعث افزایش حساسیت گیرنده‌های موسکارینی یا افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی در روده بزرگ می‌شود. این نتیجه با مطالعه کاوالیرز و همکاران مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادندکه قرارگیری در معرض میدان مغناطیسی عملکرد کانال‌های کلسیمی و توزیع کلسیم را تحت تأثیر قرار می‌دهد.[۱۳] هونگ در سال ۲۰۰۰ نشان داد که امواج الکترومغناطیس با بسامد بسیار پایین (ELF-MF) غلظت کلسیم داخل سلولی را در سلول‌های تومور PC-12 افزایش داد.[۱۴] کرانتیس نیز در سال ۱۹۹۶ نشان داد که میدان‌های الکترومغناطیس از طریق افزایش میزان حساسیت گیرنده‌های موسکارینی باعث اختلال‌هایی در فعالیت حرکتی کولون می‌شوند.[۱۵]

بنابراین به نظر می‌رسد، میدان‌های الکترومغناطیس باعث افزایش حساسیت گیرنده‌های موسکارینی می‌شوند. پیشنهاد می‌شود در آینده شدت مختلف امواج الکترومغناطیس در مدت زمان‌های مختلف بر روی فعالیت گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی استیل کولین مطالعه شود. همچنین اثر این امواج بر سلول‌های عصبی مهاری و میزان واسطه سیناپسی مهاری در روده بزرگ بررسی شود.

❋ سپاس‌گزاری :

از همکاری کارکنان دانشکده علوم طبیعی و حمایت‌های مالی دانشگاه شیراز در انجام این مطالعه قدردانی می‌شود.

❋ مراجع:

1. Selmaoui B, Lambrozo J, Touitou Y. Endocrin functions in young men exposed for one night to a 50-HZ magnetic field. A circadian study of pituitary, thyroid and adrenergic hormones. Life Sci 1997; 61 (5): 473-86

2. Hitchcock R.T, Atterson, RT Radio frequency and ELF Electromagnetic fields: A Handbook for health professionals. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold; 1995. 110-346

3. Christ A, Samaras T, Kingenbock A, Kuster N. Characterization of the electromagnetic near-field absorption in layered biological tissue in the frequency range from 30 MHz to 6.000 MHz. Phys Med Bio 2006 Oct 7; 51 (19): 4951-65

4. Puricelli E, Dutra NB, Ponzoni D. Histological evaluation of the influence of magnetic field application in autogenous bone grafts in rats. Head Face Med 2009 Jan 11; 5: 1

5. Dinar H, Renda N, Barlas M, et al. The effect of EMF stimulation on corticosteroids-inhibited intestinal wound healing. Tokai J Exp Clin Med 1993 Jun; 18 (1-2): 49-5

6. Keklikci U, Akpolat V, Ozekinici S, et al. The effect of extremely low frequency magnetic field on the conjuctiva and goblet cells. Curr Eye Res 2008 May; 33 (5): 441-6

7. Testylier G, Tonduli L, Malabiau R, Debouzy JC. Effects of exposure to low level radiofrequency fields on acetylcholine release in hippocampus of freely moving rats. Bioelectromagnetics 2002 May; 23 (4): 249-55

8. Varani K, Gessi S, Merighi S, et al. Alternation of A3 adenosine receptors in human neutrophils and low frequency electromagnetic filds. Biochem Pharmacol, 2003, vol. 66, pp.1897-1906

9. Antonini RA, Benfante R, Gotti C, et al. Extremely low- frequency electromagnetic field (ELF-EMF) doesnot affect the

Archive of SID

www.SID.ir

expression of alpha3, alpha5 and alpha7 nicotinic receptor subunit genes in SH- SY5Y neuroblastoma cell line. Toxicol lett 2006 Jul 14; 164 (3): 268-77

10. Masuda H, Gannes FP, Haro E, et al. Lack of effect of 50-Hz magnetic field exposure on the binding affinity of serotonin for the 5-HT 1B receptor subtype. Brain Res 2011 Jan 12; 1368: 44-51

11. Grasa L, Rebollar E, Arrueba MP, et al. The role of Ca +2 in the contractility of tabbit small intestine in vitro. J Physiol Pharmacol 2004 Sep; 55 (3): 639-50

12. Benabdallah H, Messaoudi D, Gharzouli K. The spontaneous mechanical activity of the circular smooth muscle of the rabbit colon in vitro. Pharmacol Res 2008 Feb; 57 (2): 132-41

13. Kavaliers M, Ossenkopp KP. Calcium channel involvement in magnetic field inhibition of morphine-induced analgesia. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1987 Sep; 336 (3): 308-15

14. Huang C, Ye H, Xu J, et al. Effect of extremely low frequency weak magnetic fields on the intracellular free calcium concentration in PC-12 tumor cells. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi 2000 Mar; 17 (1): 63-5

15. Krantis A, Rana K, Harding RK. The effects of gamma-radiation on intestinal motor activity and faecal pellet explution in the guinea pig. Dig Dis Sci 1996 Dec; 41 (12): 2307-16

Archive of SID

www.SID.ir