Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 20, No. 1, Mar-Apr 2012
Pages: 101-109

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۰ ، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱
صفحه: ۱۰۹-۱۰۱

بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی فرکانس پایین در رشد و بلوغ اووسیت موش در محیط آزمایشگاهی

فاطمه برزگری فیروزآبادی*[۱]، محبوبه میرحسینی[۲]

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه علمی زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران
۲- استادیار میکروبیولوژی، گروه علمی زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۲۶

چکیده

مقدمه: دستیابی به روش‌های نوین در افزایش درصد اووسیت‌های بالغ و لقاح یافته انسان و حیوانات در In vitro می‌تواند در درمان بعضی از مشکلات ناباروری برای انسان همچنین در تکثیر بسیاری از حیوانات اهلی و غیره اهلی در حال انقراض مورد استفاده قرار گیرد. بررسی اثر میدان‌های الکترومغناطیسی فرکانس پایین بعنوان روش نوین در رشد و بلوغ اووسیت موش در In vitro مطرح است. در این پروژه ما به بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی فرکانس پایین بر رشد و بلوغ اووسیت موش در In-vitro پرداختیم.

روش بررسی: در این مطالعه از میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس‌های ۵، ۵۰ و ۱۰۰ Hz با شدت ۲mT استفاده شد. گروه ۱ بعنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد که شامل ۳۵ فولیکول پری آنترال(اووسیت نابالغ) بود. گروه ۲، ۳ و ۴ گروه‌هایی بودند که به ترتیب در معرض میدان‌های ۵، ۵۰ و ۱۰۰ Hz با شدت ۲ mT قرار داده شدند.

نتایج: فولیکول‌های پره آنترال تیمار شده با فرکانس‌های ۵ و ۵۰ هرتز هیچ تغییرات معنی‌داری در قطر و میزان ماندگاری نشان ندادند. در مقابل افزایش معنی‌داری در قطر(۱۵۵µm)، قدرت زیست‌پذیری(۵۹٪) فولیکول‌ها، بلوغ اووسیت(۵۲٪) و GVBD (germinal vesicle breakdown)(۳۹٪) در فرکانس ۱۰۰ هرتز در دوره ۷۲ ساعته کشت بدست آمد که با گروه کنترل و دیگر گروه‌های آزمایشی مقایسه شده است($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: تاثیرات میدان مغناطیسی با فرکانس پایین بر روی بیان ژن و در نتیجه پدیده سنتز پروتئین، تقسیم، تکثیر و رفتار سلول هر چند که به صورت موقت باشد می‌تواند جهت افزایش درصد تخمک‌گذاری در محیط In vitro در کنار سایر فاکتورهای محیطی موثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: میدان مغناطیسی، فولیکول‌های پره آنترال، موش سوری

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۳۵۲۶۲۳۲۸۰۰، پست الکترونیکی: f.barzegary@gmail.com
-این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی دانشگاه پیام نور یزد، مرکز تفت می‌باشد.

www.SID.ir

مقدمه

واقعیت شگفت انگیز این است که سلول‌های زنده برای زنده ماندن متکی به فعالیت الکتریکی هستند و بافت‌های متشکل از آنها دامنه وسیعی از خصوصیات الکتریکی را نشان می‌دهند و همان تئوری اجزای الکتریکی در مورد آنها صادق است. سلول‌های زنده از بسیاری از خواص سیستم‌های الکتریکی استفاده می‌کنند بعنوان مثال نیروی الکتروموتیو(e.m.f) ایجاد می‌کنند و اختلاف پتانسیل(p.d) لازم را بین دو نقطه حفظ و در صورت لزوم اختلاف پتانسیل را زیاد و کم می‌کنند. جریان را یکسو می‌کنند دارای امپدانس هستند و بهتر از آن بار الکتریکی را ذخیره می‌کنند(خاصیت خازنی نشان می‌دهند)(۱،۲).

میدان الکترومغناطیسی فرکانس پایین با تاثیراتی که بر ارگان‌ها و قسمت‌های باردار سلول می‌گذارد سبب تغییرات الکتریکی درون سلولی و در نتیجه تغییر در رفتار سلول می‌شود. آزمایشات بسیاری تایید کرده است که این میدان‌ها با تاثیر بر کانال‌های کلسیم که بعنوان کانال‌های حساس به ولتاژ مطرح هستند، باعث تغییر در میزان کلسیم داخل سلولی شده و فعالیت آنزیم‌ها به ویژه کینازها که مسئول بیان ژن می‌باشند را تغییر می‌دهد در اثر این پدیده سنتز پروتئین، تقسیم، تکثیر و رفتار سلول تحت اثر این میدان‌ها تغییر می‌کند به این دلیل بسیاری از محققین معتقدند که اثر این میدان‌ها شبیه هورمون‌ها و پیام آورهای ثانویه می‌باشد. تحقیقات وسیعی در چند دهه اخیر پیرامون اثرات میدان‌های الکتریکی، مغناطیسی و الکترومغناطیسی بر روی سلول‌ها و موجودات زنده انجام شده است. برخی از این پژوهش‌ها مربوط به افزایش رشد و نمو و تکثیر سلول‌های گیاهی و جانوری می‌باشد، برخی دیگر مربوط به استفاده درمانی این میدان‌ها بعنوان مثال درمان زخم و شکستگی استخوان و همچنین برخی دیگر مربوط به بررسی اثرات سوء بهداشتی این میدان‌ها می‌باشد(۳،۴).

توسعه و بهبود شرایط کشت آزمایشگاهی برای بلوغ اووسیت در محیط Invitro، پیشرفتی در درمان ناباروری انسان و حیوانات محسوب می‌شود(۵). بلوغ اووسیت در محیط Invitro(IVM) به عنوان تکنیکی موثر برای کاهش قیمت و تقلیل اثرات جانبی تحریکات گنادوتروپین‌ها در لقاح Invitro(IVF) شناخته شده است. میزان باروری اووسیت آزمایشگاهی نسبت به اووسیتی که در محیط Invivo تحریک شده بسیار کمتر و کندتر است که نشان می دهد هنوز در این زمینه کارهای زیادی برای پژوهش وجود دارد(۶). به هر حال پتانسیل این تکنیک برای حفظ قابلیت باروری زنانی که در دوره درمان سرطان دچار نازایی می‌شوند دارای جنبه بسیار مهم و مهیج است همچنین دست‌یابی به این روش‌های نوین می‌تواند در تکثیر بسیاری از حیوانات اهلی و غیر اهلی(که نسل آنها در معرض انقراض است) مورد استفاده قرار گیرد(۶،۷). تحقیق و پژوهش در این زمینه از بیولوژی انسانی بسیار سخت و مشکل است. امروزه استفاده از مدل جوندگان پیشرفته‌ترین و عالی‌ترین سیستم را برای مطالعه در زمینه پیشرفت فولیکولی در محیط Invitro فراهم کرده است(۵،۹،۸). یافتن احتیاجات فولیکول‌ها برای رشد بهتر در محیط کشت in vitro می‌تواند به کم کردن موانع موجود بر سر راه درمان ناباروری کمک کند. در طی روند رشد و بلوغ اووسیت ژن‌های زیادی بیان می‌شوند و پروتئین‌سازی به شدت انجام می‌شود از این رو اگر بتوانیم با اعمال میدان مغناطیسی روند پروتئین سازی فولیکول‌های در حال رشد در محیط in vitro را تعدیل کنیم به طوری که این تغییرات باعث افزایش درصد فولیکول‌هایی شود که به مرحله بلوغ می‌رسند گامی موثر در جهت باروری آزمایشگاهی برداشته‌ایم از این رو در این تحقیق بر آن شدیم تا اثرات میدان مغناطیسی روی رشد فولیکولی را بررسی کنیم. دستاورد این پروژه این است که با مشاهده عملکرد میدان‌های الکترومغناطیس در بلوغ اووسیت موش می‌توان فرضیه بلوغ اووسیت در معرض این میدان‌ها را تایید یا رد نمود. در صورت مثبت بودن می‌توان از این روش بعنوان یک روش جدید در بلوغ اووسیت انسان و حیوان در In vitro استفاده کرد.

برای ارزیابی کیفیت فولیکول‌های کشت داده شده تاکید روی تفاوت‌های ساختاری فولیکول در حضور و عدم حضور این فاکتورها قرار گرفت و اثرات هر یک روی قطر فولیکولی، میزان

Archive of SID
www.SID.ir

زیست‌پذیری و درصد بلوغ اووسیت و گسیختگی وزیکول ژرمینال(Germinal Vesicle Breakdown) GVB بررسی شد.

روش بررسی

در این پروژه از محیط کشت TCM199 استفاده گردید تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایشات کاملا خالص و بدون آلودگی بودند و از شرکت سیگما(Sigma)، USA خریداری شدند.

موش‌های نژاد سوری ماده(۱۲-۱۰) از دانشگاه علوم پزشکی یزد تهیه و داخل لانه حیوانات تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. روش انتخاب موش‌ها به صورت تصادفی بود. تمام مراحل آزمایش طبق اصول اخلاقی انجام شد. موش‌ها در خوردن آب و غذا محدودیتی نداشتند. نمونه‌های ۶ تا ۸ هفته‌ای برای جدا کردن فولیکول‌های حاوی تخمک استفاده شد(۱۰).

موش‌ها به روش جابجایی گردن(با یک حرکت ناگهانی در ناحیه گردن و تخریب مرکز تنفس)، همان طور که Yding در سال ۱۹۹۹ شرح داد کشته شدند(۱۳). برای تهیه فولیکول‌های پره آنترال، تخمدان‌ها جدا و در داخل پتریدیش‌های کاملا استریل قرار داده شدند. پتریدیش‌ها در دمای اتاق با محیط کشت پایه Tcm199 همراه با مکمل‌های پیروات سدیم(۲mm)، گلوتامین (۲mm)، پنی‌سیلین(۷۵µg/ml) و استرپتومایسین (۵۰µg/ml) پر شده بودند(۶). از فولیکول‌های پره آنترال ابتدایی برای بلوغ در محیط کشت invitro استفاده شد. این فولیکول‌ها از موش‌های ۲ تا ۸ هفته‌ای جدا شدند. در این سن تنها تعداد اندکی از فولیکول‌ها به مرحله آنترال رسیده‌اند. و هنوز هیچ جسم زردی(corpora Lutea) تشکیل نشده است. در نتیجه جمعیت فولیکول‌های پره‌آنترال ابتدایی(دارای ۱ یا ۲ لایه سلول‌های گرانولوزا) نسبت به فولیکول‌های رسیده برتری دارد.

در ابتدا بافت‌های پیوندی موجود در محیط کشت جدا شد. تخمدان‌ها به ذرات ریز قطعه قطعه و کورتکس تخمدانی با استفاده از اسکاپل برداشته شد. فولیکول‌های پره انترال (۹۵±۵µm) با یک یا دو لایه از سلول‌های گرانولوزای اطراف اووسیت به همراه لایه پایه‌ای دست نخورده که حاوی سلول‌های تکا می‌باشد از برش‌های غشایی زیر میکروسکوپ جدا شدند. فولیکول‌های جدا شده حاوی اووسیت سالم مرکزی و یک لایه نازک از سلول‌های تکا در ۵ میلی‌لیتر محیط کشت TCM199 به همراه مکمل‌هایش داخل انکوباتور با درجه حرارت $37^{o}C$، رطوبت ۹۲٪ و میزانCo2 برابر ۵٪ کشت داده شدند.

گروه ۱ بعنوان گروه کنترل که شامل ۳۵ فولیکول ری‌آنترال(اووسیت نابالغ) بود(از ۱۲ موش با سن ۳ سال) که در محیط کشت M199 کشت داده شد. گروه۲، ۳ و ۴ گروه‌هایی بودند که شرایط کشت آنها شبیه گروه کنترل بود با این تفاوت که به ترتیب در معرض میدان‌های ۵، ۵۰ و ۱۰۰ Hz با شدت ۲ mT قرار داده شدند. اثرات فرکانس‌های متفاوت میدان الکترومغناطیسی بر روی میزان ماندگاری، قطر فولیکول‌ها، بلوغ اووسیت و گسیختگی وزیکول ژرمینال (GVBD) ارزیابی شد. فرکانس‌های ۵، ۵۰ و ۱۰۰ هرتز به مدت ۷۲ ساعت(هر روز ۲ ساعت) به محیط کشت‌های حاوی فولیکول‌های پره آنترال واجد اووسیت اعمال شد. برای ایجاد میدان مغناطیسی یکنواخت با شدت ثابت ۲ mT از دستگاه مولد امواج الکترومغناطیس استفاده شد. اندازه‌گیری قدرت دستگاه مولد امواج الکترومغناطیس توسط همکاران محترم رشته فیزیک و با استفاده از دستگاه تسلامتر صورت گرفت. هر چند میزان حرارت ایجاد شده در میدان‌های مغناطیس استفاده شده ناچیز بود ولی جهت حذف آنها سعی شد که دمای کلی محیط رشد فولیکول‌ها از $37^{o}C$ بالاتر نرود. آزمایشات گروه کنترل نیز به موازات انجام شد. در طول مدت ۷۲ ساعت، با استفاده از میکرومتر چشمی نصب شده بر روی میکروسکوپ انعکاسی قطر فولیکول‌ها اندازه‌گیری شد. در این مدت تعداد فولیکول‌های زنده و درصد آنها نیز مورد بررسی قرار گرفت. در پایان دوره کشت ۷۲ ساعته، توسط دو سوزن نازک، فولیکول‌ها با دقت پاره شدند تا وضعیت مورفولوژیکی اووسیت رشد یافته (Cumulus oophorus) بررسی شود. درصد اووسیت‌های بالغ و همچنین میزان گسیختگی وزیکول ژرمینال نیز بررسی و مقایسه شد.

حداقل و حداکثر طول(قطر) فولیکول‌ها توسط میکروسکوپ انعکاسی اندازه گیری شد. در اندازه‌گیری قطر فولیکول از سلول‌های تکا و اینترشتیشیال اطراف غشاء پایه صرف نظر شد

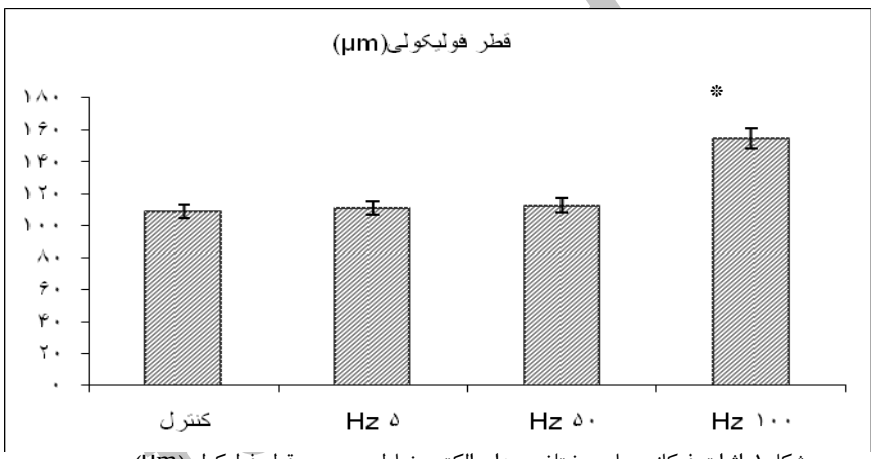
Archive of SID
www.SID.ir

و قطر متوسط هر فولیکول با میانگین گیری مقادیر حداقل و حداکثر بدست آمد. اثرات میدان‌های مختلف روی بلوغ اووسیت، گسیختگی وزیکول ژرمینال، تغییر قطر فولیکول‌ها و میزان ماندگاری آنها بوسیله ANOVA یکطرفه بررسی شد. درصدهای بدست آمده در تست ANOVA برای تعیین اختلافات معنی‌دار بین میانگین‌های گروه‌ها مقایسه شدند. Hoc tests Post برای مقایسه‌های چندگانه با درجه اطمینان ۹۵٪ استفاده گردید.P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. این پژوهش در زمستان ۱۳۸۹ در پارک علم و فناوری یزد انجام شد. روش مطالعه در این بررسی از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده است.

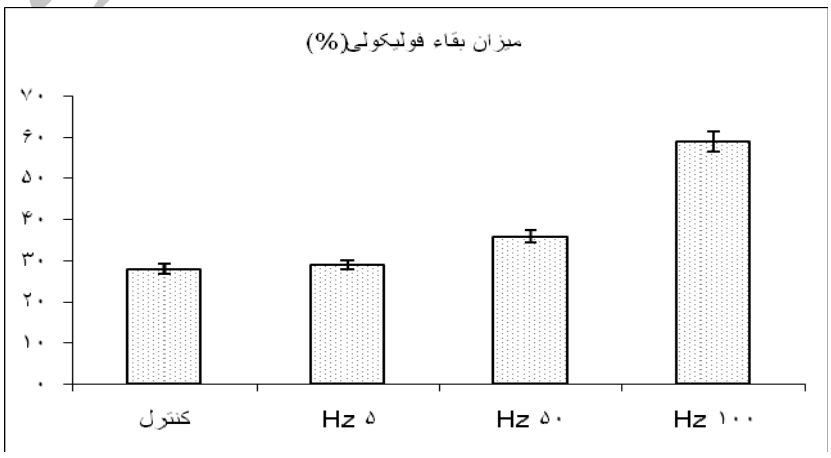
نتایج

اثرات میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس‌های مختلف بر میزان رشد فولیکول‌های کشت شده در محیط invitro

تغییرات مورفولوژیکی فولیکول‌های پره آنترال موش‌های نابالغ در طول یک دوره کشت ۷۲ ساعت در حضور فرکانس‌های متفاوت ۵، ۵۰ و ۱۰۰ هرتز با شدت ۲ میلی‌تسلا بررسی شد. در مدت دوره کشت، افزایش نسبتا خطی در اندازه فولیکول‌ها مشاهده شد. فولیکول‌های پره آنترال تیمار شده با فرکانس‌های ۵ و ۵۰ هرتز هیچ تغییرات معنی‌داری در قطر و میزان ماندگاری نشان ندادند. در مقابل افزایش معنی‌داری در قطر(۱۵۵µm)، قدرت زیست‌پذیری(۵۹٪) فولیکول‌ها، بلوغ اووسیت(۵۲٪) و GVBD(۳۹٪) در فرکانس ۱۰۰ هرتز در دوره ۷۲ ساعته کشت بدست آمد که با گروه کنترل و دیگر گروه‌های آزمایشی مقایسه شده است(P<۰/۰۵) آزمایش‌های بعدی با استفاده از این فرکانس انجام شده است.

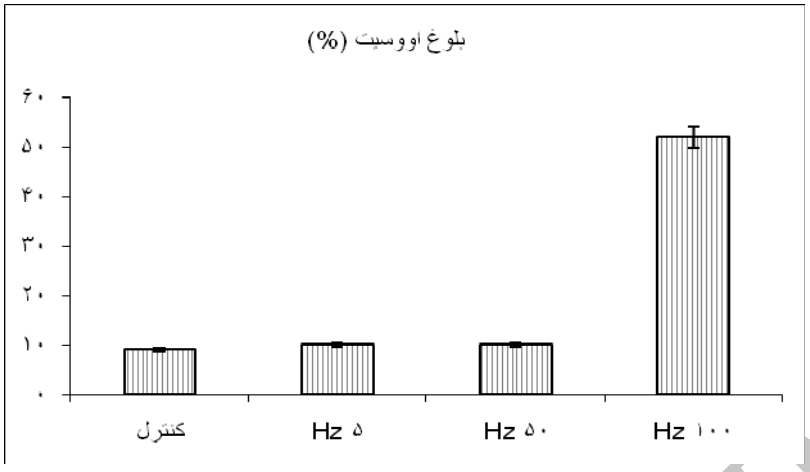


شکل۱: اثرات فرکانس‌های مختلف میدان الکترومغناطیسی روی قطر فولیکولی(µm)

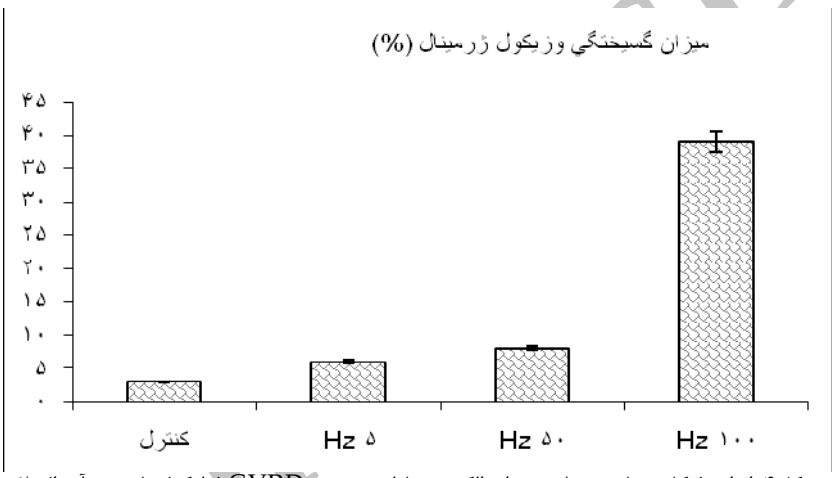


شکل۲: اثرات فرکانس‌های مختلف میدان الکترومغناطیسی روی درصد بقاء فولیکولی(٪)

www.SID.ir



شکل۳: اثرات فرکانس های مختلف میدان الکترومغناطیسی روی بلوغ اوسیت(٪)



شکل۴: اثرات فرکانس‌های مختلف میدان الکترومغناطیسی روی GVBD فولیکول‌های پره آنترال(٪)

بحث

بررسی اثرات میدان‌های مغناطیسی بر روی سیستم‌های زیستی سابقه طولانی دارد. تحقیقات ابتدایی بیشتر در بررسی تاثیر منفی این میدان بر روی سیستم‌های زیستی بوده و اکثرا مطالعات اپیدمولوژیکی بر روی انواع سرطان‌ها یا اختلالاتی که بوسیله این میدان‌ها در افرادی که در معرض آن هستند بوده است. ولی وقتی که دانشمندان به این مسئله پی بردند که جریان‌های اگزوژن می‌توانند بر جریان اندوژن اثر بگذارد کم کم استفاده از این میدان‌ها در تحریک سلول‌ها نظر بسیاری را بخود جلب کرد و تحقیقات بسیار زیادی در این زمینه انجام گرفت. امروزه از این میدان‌ها در افزایش محصولات کشاورزی، درمان شکستگی استخوان و پارگی پوست و همچنین درمان بعضی سرطان‌ها از آن استفاده می‌کنند(۱۶-۱۴).

نتایج این تحقیق مشابه نتایج مطالعه Goodman و همکارانش در سال ۱۹۹۵ است. این گروه در طی بررسی مکانیسم اثر میدان بر روی سلول پی بردند که این میدان‌ها با تاثیر بر نسخه‌برداری ژن‌ها باعث تغییر الگوی سنتز پروتئین می‌شوند. در توجیه این مطلب که چگونه این میدان‌ها با انرژی بسیار کمی که دارند توانایی ایجاد تغییر در بیان ژن‌ها را دارند، به مسئله انتقال پیام سلولی توجه کردند و با آزمایشاتی که انجام دادند به تاثیر این میدان‌ها بر غشا پلاسمایی و باز شدن کانال‌های عبور کلسیم توسط این میدان‌ها پی بردند. ورود کلسیم به عنوان یک پیامبر ثانویه به داخل سلول سبب به راه

www.SID.ir

انداختن آبشار آنزیمی درون سلول می‌شود که نهایتا باعث فعال شدن فاکتورهای بیان ژن می‌گردد(۱۷).

نتایج Yamaguchi و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز تایید کننده نتایج مطالعه حاضر است آنها گزارش کردند که این میدان‌ها با تاثیر در پتانسیل غشا سبب تغییر در ارتباطات بین سلولی(Gap Junction) می‌شوند. آنها با اشاره به تاثیر میدان بر شارژ یونی و مواد قطبی و تغییرات در کانال‌های غشایی به بررسی ترمودینامیکی تاثیر پرداختند و به مسئله اثر تعاونی در رابطه با بیوپلی مرها و تاثیر میدان توجه کردند(۱۸).

Bindi نیز در سال ۲۰۰۴ با انتشار مقاله‌ای به مسئله وجود اثر پنجره در فرکانس، شدت و زمان استفاده از میدان اشاره کرد و این اثرات را بر روی تکثیر سلولی، انتقال یونی، فعالیت آنزیم از جمله ATPase و افزایش غلظت بعضی از پروتئین‌های خاص موثر دانسته است(۱۹).

در مطالعه انجام شده توسط Cecconi و همکارانش در سال ۲۰۰۰ که اثرات امواج با شدت کم و با فرکانس‌های ۳۳ و ۵۰ هرتز را بر روی فولیکول‌ها به صورت In vitro بررسی کردند دریافتند که امواج با شدت کم و فرکانس ۳۳ هرتز سبب کاهش تشکیل آنتروم، نقصان تکثیر سلول‌های گرانولوزا، کاهش تولید ۱۷ بتا- استرادیول و ناتوانی اووسیت‌ها در کامل کردن بلوغ هسته‌ای گردید. اما مکانیسم دقیق این تاثیرات به خوبی مشخص نیست. کاهش در تکثیر سلولی و تولید ۱۷ بتا- استرادیول مو تواند مرتبط با فرایند آپوپتوز باشد(۲۰). اما گزارشات حکایت از آن دارند که امواج با وجود کاهش در تکثیر سلولی و تولید ۱۷ بتا- استرادیول فرایند آپوپتوز را در سلول‌های گرانولوزا القاء نمی‌کنند(۲۱). در مطالعه Sandra و همکارانش امواج با شدت کم و فرکانس ۵۰ هرتز تاثیر معنی‌داری بر روی قطر فولیکول‌های کشت داده شده نداشته و علت اختلاف نتایج این تحقیق با مطالعه Sandra ممکن است ناشی از عوامل مداخله کننده در شرایط In vitro باشد بطوری که امواج الکترومغناطیس در شرایط خاصی موجب افزایش رشد و بلوغ اووسیت شوند و در مواقع دیگر اثر عکس داشته باشد همانطوری که تضاد نتایج این مطالعه و تحقیق Sandra در سال ۲۰۰۰ نشان می‌دهد. مکانیسمی که نشان دهد چگونه امواج موجب این تاثیرات شده‌اند هنوز مشخص نیست اما فرضیاتی که می‌توان مطرح نمود شامل موارد زیر است.

اختلاف پتانسیل القایی توسط میدان مغناطیسی ممکن است کانال‌های یونی نظیر کانال کلسیم را فعال کند که پیامبر ثانویه مهمی است و می‌تواند پروتئین کیناز یا آبشار آنزیمی بخصوصی را در سلول فعال نماید(۲۲).

فعالیت مداوم کانال‌های یونی غشاء در فرکانس و ولتاژ خاصی انجام می‌شود و در صورت تداخل با سیگنال‌های میدان مغناطیسی پدیده رزونانس اتفاق می‌افتد و می‌تواند رفتار سلول(تقسیم، تکثیر و رشد) را تغییر دهد(۱۶،۲۳).

نواحی با فعالیت متابولیکی بالا از نظر الکتریکی منفی‌تر هستند در نتیجه در آن بافت جریان الکتریکی تولید می‌شود. بسیاری از مولفین این جریان را به عنوان سیستم راهنمایی و هدایت در فرآیندهای فیزیولوژیک در نظر می‌گیرند. اختلاف پتانسیل پیروالکتریک نمونه‌هایی از سیستم خود تنظیم بافت می‌باشد و رشد و تکثیر را کنترل می‌کند لذا تشدید یا تغییر در این پدیده باعث تاثیرات مثبت یا منفی در تقسیم، تکثیر و رشد سلول‌ها می‌شود(۲۴،۲۵).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که تاثیرات میدان مغناطیسی با فرکانس پایین بر روی بیان ژن و در نتیجه پدیده سنتز پروتئین، تقسیم، تکثیر و رفتار سلول هر چند که به صورت موقت باشد می‌تواند برای بهبود شرایط در محیط Invitro مفید واقع شود. در نتیجه کاربرد میدان مغناطیسی برای کشت‌های فولیکولی در شرایط Invitro جهت افزایش درصد تخمک‌گذاری می‌تواند در کنار سایر فاکتورهای محیطی موثر واقع شود. این مطالعه با امید ساخت و گسترش محیط مناسب کشت با استفاده از گونه موش خانگی انجام شد که مدل مناسبی برای ارزیابی اثرات ترکیبات مختلف روی توسعه و رشد فولیکولی در محیط Invitro است. آزمایشات زیادی برای بهبود بخشیدن به بلوغ Invitro لازم است انجام شود که امید می‌رود مطالعه حاضر کمکی در جهت هموارتر کردن مسیر باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

سپاسگزاری

از مسئولین پارک علم و فناوری یزد که در انجام این تحقیق همکاری‌های لازم را مبذول فرمودند همچنین از دانشگاه پیام نور به خاطر تامین اعتبار این طرح سپاسگزاری می‌گردد.

References:

1- Barnes PS. ***Effect of electromagnetic field on the rate of chemical reactions.*** Biophysics 1996; 41: 801-8.

2- Aaron RK, Boyan BD, Ciombor DM, Schwartz Z, Simon BJ. ***Stimulation of growth factor synthesis by electric and electromagnetic fields.*** Clin Orthop Relat Res 2004; 419: 30-37.

3- Tenforde TS, Kaune WT. ***Interaction of extremely low frequency electric and magnetic fields with humans.*** Health phys 1987; 53(6): 585-606.

4- Cossarizza A, Monti D, Bersani F, Cantini M, Cadossi R, Sacchi A, et al. ***Extremely low frequency pulsed electromagnetic fields increase cell proliferation in lymphocytes from young and aged subjects.*** Biochem Biophys Res Commun 1989; 160: 692-8.

5- Mitchell LMC, Kennedy R, Hartshorne GM. ***Effects of varying gonadotrophin dose and timing on antrum formation and ovulation efficiency of mouse follicles in vitro***. Hum Reprod 2005; 17(5): 1181-8.

6- Mahmoudi R, Subhani A, Pasbakhsh P, Abo L, aHsani F. Amiri I, et al. ***The effects of cumulus cells on in vitro maturation of mouse germinal vesicle stage oocytes.*** Ir J Reprod Med 2005; 3(2): 74-8.

7- Cheung A, Swann K, Carroll J. ***The ability to generate normal Ca2+ transients in response to spermatozoa develops during the final stages of oocytes growth and maturation.*** Hum Reprod 2000; 15(6): 1389-95.

8- Eppig JJ, O'Brien MJ. ***Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles.*** Biol Reprod 1996; 54(1): 197-207.

9- Eppig JJ, O'Brien MJ, Pendola FL, Watanabe S. ***Factors affecting the developmental competence of mouse oocytes grown in vitro: follicle stimulating hormone and insulin.*** Biol Reprod 1998; 59(6): 1445-53.

10- Abel MH, Wootton AN, Wilkins V, Huhtaniemi I, Knight PG, Charlton HM. ***The effect of a null mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene on mouse reproduction.*** Endocrinol 2000; 141(5): 1795-803.

11- Johnson LD, Albertini DF, McGinnis LK, Biggers JD. ***Chromatin organization, meiotic status and meiotic competence acquisition in mouse oocytes from cultured ovarian follicles.*** Reprod Fertil 1995; 104(2): 277-84.

12- Cecconi SN, Rucci ML, Scaldafferi MP, Mascuilli G, Rossi C, Moretti M, et al. ***Thyroid hormone effects on mouse oocyte maturation and granulosa cell aromatase activity.*** J Endocrinol 1999; 140 (4): 1783-8.

13- Yding CL, Andersen A, Leonardsen J, Ulloa-Aguirre L, Barrios-De-Tomasi L, Moore E. ***FSH -induced resumption of meiosis in mouse oocytes: effect of different isoforms.*** J Mol Human Reprod 1999; 5(8): 726-31.

14- Ventura C, Maioli M, Pintus G, Gottardi G, Bersani F. ***Elf-pulsed magnetic fields modulate opioid peptide gene expression in myocardial cells.*** Cardiovasc Res 2000; 45(2): 1054-64.

Archive of SID

www.SID.ir

15- Lai H, Carino MA, Horita A, Guy AW. ***Effects of a 60 Hz magnetic field on central cholinergic systems of the rat.*** Bioelectromagnetics 2005; 14(3): 5-15.

16- Chang WH, Chen LT, Sun JS, Lin FH. ***Effect of pulse-burst electromagnetic field stimulation on osteoblast cell activities.*** Bioelectromag 2004; 25 (6): 457-65.

17- Goodman EM, Greenbaun B, Marron MT. ***Effects of EMF on molecules and cells.*** Inter Rev Cytol 1995; 158(1): 279-83.

18- Yamaguchi C. ***Lymphocytes and low-frequency electromagnetic fields.*** FASEB J 2002; 6(3): 2667-74

19- Binhi VN, Goldman RJ. ***Ion-protein dissociation predicts "windows" in electric field-induced wound-cell proliferation.*** Biochem Biophys Acta 2000; 1474 (2): 147-56.

20- Cecconi S, Gualtieri G, Di Bartolomeo A, Troiani G, Cifone MG, Canipari R. ***Evaluation of low extremely low frequency electromagnetic field on mammalian follicle development.*** Hum Reprod 2000; 15(11): 2319-25.

21- McGee E, Spears N, Minami S, Hsu SY, Chun SY, Billig H, et al. ***Preantral ovarian follicles in serum-free culture: suppression of apoptosis after activation of the cyclic guanosine 3, 5- monophosphate pathway and stimulation of growth and differentiation by follicle-stimulating hormone.*** Endocrin 1997; 138(6): 2417-24.

22- Fedrowitz M, Westermann J, Loscher W. ***Magnetic field exposure increases cell proliferation but does not affect melatonin levels in the mammary gland of female Sprague Dawley rats.*** Cancer Res 2002; 62(5): 1356-63.

23- Conti P, Gigante GE, Alesse B, Cifone MG, Fieschi C, Reale M, et al. ***A role for Ca2~ in the effect of very low frequency electromagnetic fields on the blastogenesis of human lymphocytes.*** FEBS Lett 1985; 181(1): 28-32.

24- Wu SK, Vendola J, Zhou O, Bondy CA. ***Androgen and follicle stimulating hormone interactions in primate ovarian follicle development.*** J Clin Endocrinol Metabol 2001; 84(7): 2951-56.

25- Chung MK, Lee SJ, Kim YB, Park SC, Shin DH, Kim SH, et al. ***Evaluation of spermatogenesis and fertility in F1 male rars after in utero and neonatal exposure to extremely low frequency electromagnetic fields.*** Asian J Androl 2005; 7(2): 189-94.

Archive of SID

www.SID.ir

Evaluation of the Effect of Low-Frequency Electromagnetic Fields on in Vitro Growth and Maturation of Mouse Oocytes

***Barzegari Firouzabadi F(MSc)*[*1], Mirhosaini M(PhD)*[2]**

[1,2]*Department of Biology, Payamenoor University, Tehran, Iran*

Received: 2 Jun 2011 ***Accepted:*** 17 Nov 2011

Abstract

Introduction: Access to modern methods for increasing the percentage of in vitro human and animal mature oocytes can be useful in the treatment of some forms of human infertility as well as proliferation of many domestic and wild animals which generation is endangered. Effect of low- frequency electromagnetic fields on in vitro growth and maturation of mouse oocytes is recently considered as a new approach. In this study we evaluated the effect of low- frequency electromagnetic field on in vitro growth and maturation of mouse oocyte.

Methods: In this study electromagnetic fields with frequencies of 5, 50 and 100 Hz and 2mT intensity were used. For observation of the effect of electromagnetic field four groups were selected: Group 1 as control group, which included 35 prenatal follicles (immature oocytes). Groups 2, 3 and 4were exposed to 5, 50 and 100 Hz electromagnetic fields, respectively.

Results: Prenatal follicles exposed to 5 and 50 Hz frequencies showed no significant changes in diameter and survival rates. In contrast at a frequency of 100 Hz in 72-hour culture period a significant increase in diameter(155µm), follicles livability power(59%), oocyte maturation(52%) and GVBD(39%) was shown in comparison to other experimental groups and control group($P < 0.05$).

Conclusion: Low-frequency magnetic field effects gene expression and thus protein synthesis, cell division, proliferation and behavior. Although this effect can be temporary, it can increase the percentage of ovulation for *in vitro* environment along with other environmental factors.

Keywords: Magnetic Field, Prenatal Follicles, Mouse

This paper should be cited as:

Barzegari Firouzabadi F, Mirhosaini M. ***Evaluation of the effect of low-frequency electromagnetic fields on in vitro growth and maturation of mouse oocytes***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci; 20(1): 101-9.

Corresponding author: Tel: +98 352 6232800, Email: f.barzegary@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir