

مطالعه استریولوژیک بافت پروستات بدنبال اثر میدان الکترومغناطیسی در رت های نر بالغ

عبدالرحمن حاج دزفولیان^{۱*}، اسرافیل منصوری^۲، محمدجواد طهماسبی بیرگانی^۳

۱- دانشیار گروه بافت شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز ۲- مربی دانشگاه آزاد اسلامی بابل ۳- استادیار گروه فیزیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

سابقه و هدف: استریولوژی شاخه ای از ریاضی کاربردی است که با استفاده از مشاهدات دو بعدی اجزای مختلف بافتی را در سطح ماکروسکوپی و میکروسکوپی به صورت کمی و سه بعدی بررسی می نماید. میدانهای الکترومغناطیسی به علت دارا بودن انرژی بالا همانند پرتوهای یونیزان از طریق ایجاد رادیکال آزاد اثرات تخریبی ایجاد می کند. در سالهای اخیر اثرات این میدانها بر قسمت های مختلف بدن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه ۱۲ سر موش صحرایی بالغ از نژاد ویستار بصورت تصادفی انتخاب و به دو گروه مساوی شاهد و آزمایش تقسیم شدند. گروه مورد آزمایش بمدت ۳۰ روز متوالی هر روز ۶ ساعت در میدان الکترومغناطیسی به شدت ۱/ میلی تسلا قرار گرفت. پس از پایان دوره آزمایش، حیوانات توسط دی اتیل اتر بیهوش گردیده، پروستات آنها برداشته و در محلول فیکساتور قرار داده شد. پس از آن پروستات ها در آگار قالب گیری و بدنبال آن مراحل دیگر مورد نیاز برای این مطالعه انجام شد. سپس از روش کاولیری برای تعیین حجم استفاده گردید. **یافته ها:** حجم کل پروستات در گروه شاهد و آزمایش به ترتیب $۱۰۲/۵۷۰$ و $۱۴۰/۶۳۰$ میلی متر مکعب و حجم بخش غده ای در گروه شاهد و آزمایش به ترتیب $۳۷/۷۴۰$ و $۸۲۵۰/۴۱$ میلی متر مکعب و وزن کل پروستات در گروه شاهد و آزمایش به ترتیب ۳۲۰۰ و ۳۹۱۷ گرم بدست آمد.

نتیجه گیری: در این بررسی میدان الکترومغناطیسی بر روی حجم پروستات تاثیری نداشت.

واژه های کلیدی: میدان الکترومغناطیسی، استریولوژی، پروستات.

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هشتم، شماره ۱، زمستان ۱۳۸۴، صفحه ۷-۱۱

مقدمه

میدانهای الکتریکی متغیر با زمان تولید میدانهای مغناطیسی نموده و میدانهای الکترومغناطیسی را ایجاد می نمایند (۱). بررسی آثار بیولوژیکی میدانهای الکترومغناطیسی اساس تحقیقات بیوالکترومغناطیسی به شمار می آیند (۲ و ۳). تحریک سلولها توسط میدان های الکتریکی یا الکترومغناطیسی ضعیف یا قوی می تواند در روند تکثیر سلولی، انتقال یونی، فعال شدن بسیاری از آنزیم ها و افزایش غلظت بعضی از پروتئین های داخل سلولی تأثیر بگذارد (۴). میدانهای الکترومغناطیسی با تأثیر بر بارهای الکتریکی غشاء روی نفوذپذیری غشای سلول نیز اثر می گذارند. همچنین این میدانها

می توانند منجر به پاسخ های سلولی نظیر توزیع مجدد پروتئینهای سراسری غشاء، شکل گیری مجدد ساختار میکروفیلاننت ها و تغییرات غلظت کلسیم داخل سلولی شوند (۵). تحقیقات نشان داده اند که تأثیر میدان ها بر انتقالات یونی و غلظت کلسیم داخل سلولی از طریق تأثیر بر اتصالات شکافی (Gap junction) می باشد (۶). میدان های الکترومغناطیسی بعلاوه دارا بودن انرژی بالا سبب بالا رفتن درجه حرارت موضعی در محل برخورد امواج شده و

□ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۳۸۸ از اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اهواز تامین شده است.

همانند پرتوهای یونیزان از طریق ایجاد رادیکال های آزاد اثرات تخریبی خود را ایجاد می کنند(۷). رادیکال های آزاد با حمله بر لیپید ها و تغییر دادن ماهیت آنها و شکستن اتصالات پروتئینی باعث آسیب غشاء سلول می شوند(۸و۹).

این رادیکالها با پراکسیداسیون لیپیدها سبب پیدایش مشتقات اسید چرب با زنجیر کوتاه و محصول فرعی مالون دی آلدئید می شوند که این ماده می تواند باعث انجام واکنش هایی در سلول گردد که نهایتاً منجر به اکسیداسیون اسیدهای آمینه، ایجاد اتصالات پروتئین - پروتئین و شکست در رشته DNA و در نتیجه بروز ناهنجاری های مختلف گردد(۱۰). در این مطالعه اثرات میدان الکترومغناطیسی بر روی قسمتهای مختلف بافت پروستات به روش استریولوژیک که اطلاعات کمی و آماری به ما می دهد بررسی گردید.

مواد و روشها

تعداد ۲۰ سر از موشهای صحرایی آزمایشگاهی (رت) بالغ و جوان از نژاد Wistar در محدوده سنی ۸-۱۰ هفته و محدوده وزنی 110 ± 5 گرم از مؤسسه رازی حصارک کرج تهیه شد. از این حیوانات ۱۲ تا بصورت تصادفی انتخاب و جهت سازگاری با محیط حیوانات، به مدت یک هفته با دسترسی آزادانه به آب و غذا در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت 22 ± 3 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس حیوانات به دو گروه مساوی ۶ تایی تقسیم و در قفسهای انفرادی با حفظ شرایط ذکر شده قرار داده شدند.

گروه اول بعنوان گروه شاهد و گروه دوم بعنوان گروه آزمایش در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار گرفتند. حیوانات در گروه آزمایش در داخل قفسه پلاستیکی شفاف به شکل لوله با ابعاد 10×30 سانتی متر که در آن سوراخهایی به منظور ورود و خروج هوا تعبیه شده قرار گرفتند. برای قرار دادن حیوانات در معرض میدان الکترومغناطیسی از دو لوله با مشخصات ذکر شده استفاده گردید که در داخل هر لوله ۳ سر موش قرار داده شد. سپس لوله ها در دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی متناوب قرار داده شدند. شدت میدان الکترومغناطیسی ۰/۱ میلی تسلا و فرکانس آن ۵۰ هرتز بود. شدت

میدان بوسیله گوس متر مدل IDR-fw5170 ساخت آمریکا که از $G0/1$ تا $G10$ را کالیبره می کرد کالیبره شده و حیوانات مورد آزمایش بمدت ۳۰ روز متوالی بمدت ۶ ساعت در روز از ۸ صبح تا ۲ بعدازظهر در داخل میدان قرار داده شدند و در تمام موارد قبل از شروع آزمایش دستگاه از نظر شدت و فرکانس توسط گوس متر کالیبره می شد(۱۱).

در طول مدت آزمایش حیوانات گروه کنترل نیز به همین مدت در داخل لوله های پلاستیکی در مدت زمانی مشابه حیوانات گروه آزمایش دور از میدان الکترومغناطیسی قرار داده شدند. در تمام طول دوره آزمایش حیوانات چه در گروه آزمایش و چه در گروه کنترل از نظر درجه حرارت (23 ± 2 سانتی گراد) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تحت شرایط یکسانی قرار گرفته و آب و غذا آزادانه در دسترس حیوانات قرار گرفته شد. در پایان دوره آزمایش، حیوانات هر دو گروه توسط دی اتیل اتر بیهوش و پس از باز کردن جدار قدامی از خط وسط، پروستات آنها خارج و در نرمال سالین شستشو داده شد(۱۲).

غدد پروستات با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شده و وزن مرطوب آنها ثبت شد. سپس غدد پروستات کد گذاری شده و به منظور ثبوت بافتی در فیکساتیو بوئن بمدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. در طی این مدت ماده فیکساتور چند بار تعویض گردید (۱۳و۱۴). پس از ۲۴ ساعت نمونه ها در آگار ۷٪ قالب گیری و برای محاسبه حجم کل، حجم بخش غده ای و غیر غده ای پروستات به قسمتهای مساوی بصورت سریال با فاصله ثابت ۱ میلیمتر از یکدیگر برش داده شد(۱۵و۱۶).

جهت تهیه نمونه های میکروسکوپی، برشها را پس از تمیز کردن قطعات آگار از اطرافشان با حفظ جهت قدامی خلفی و نظم و ترتیب آنها که هنگام برش بدست آمده بود علامت گذاری و در سبدهای مجزا از یکدیگر قرار داده شدند. فرایند بافتی با روش دستی و با توجه به ظرافت نمونه ها انجام گردید(۱۷). بعد از تریم کردن از هر قالب پارافینی ۱ مقطع به ضخامت ۷ میکرومتر تهیه، سپس مقاطع به روی رک چوبی قرار داده و برای مدت ۱۲ ساعت در فور و در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد قرار داده شدند تا آلومین منعقد شده و نمونه کاملاً بر روی لام چسبانیده شد. پس از خشک

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه وزن پروستات در گروه آزمایش علی رغم مقداری افزایش نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری نداشت. احتمالاً این افزایش وزن جزئی بدلیل افزایش قطر عروق و مقدار خونی که در عروق جریان دارد بوده است (۲۰ و ۲۱). در مطالعه Chang و همکاران (۱۳) وزن بدن حیوان و نیز وزن اندام جنسی مثل بیضه بدنبال اثر میدان الکترومغناطیسی در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری نشان نداد که با مطالعه حاضر مطابقت داشته است.

همچنین در سال ۱۳۸۲ نیکروش و همکارانش گزارش دادند که ریشه خلفی عصب سیاتیک ضایعه دیده در میدان الکترومغناطیسی به شدت ۱/۱ میلی تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز به مدت ۴ ساعت در روز و در مدت ۱۰ روز کاهش نورونی چشمگیری را نسبت به گروه کنترل نشان داد و در تخمین حجم با استفاده از تکنیک استریولوژیکی نشان دادند که حجم نورونها در دو گروه تفاوت معنی داری نداشت (۲۲). این گزارش با کل نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشته است.

در مطالعه حاضر گرچه نسبت حجم قسمت غده ای گروه آزمایش به حجم قسمت غده ای گروه کنترل اختلاف معنی داری نداشته است، ولی در گروه آزمایش مقداری افزایش حجم دیده می شود که احتمالاً بدلیل فضاهایی که در بین سلولها و قسمت آسینار بخش غده ای و نیز واکوئلها که در لابلاهی سلولهای آسینار تحت اثر میدان الکترومغناطیس بوجود می آید است شاید این اثر را نیز بتوان به رادیکالهای آزاد نسبت داد چراکه اثر تخریبی رادیکالهای آزاد بر غشای پلاسمایی مورد تأیید برخی محققان قرار گرفته است (۸). در مطالعات دیگر نشان داده شد که میدان الکترومغناطیسی باعث افزایش رشته کلاژن و همچنین تکثیر فیبروبلاست می شود (۲۳ و ۲۴ و ۲۰ و ۲۱).

در مطالعه حاضر نسبت حجم بخش غیر غده ای (فیبروماسکولار) گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل نیز اختلاف معنی داری نشان نداد. اما همانند دو مورد قبلی در گروه آزمایش مقداری افزایش حجم را نسبت به گروه کنترل می توان ملاحظه کرد که احتمالاً بدلیل افزایش تکثیر رشته ها و فیبروبلاست ها

شدن لامها، مقاطع با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. محاسبه حجم با استفاده از قانون کاوالیری، به عنوان استاندارد طلایی و رایج ترین روش مورد استفاده در استریولوژی برای محاسبه حجم مرجع انجام گرفت (۱۵ و ۱۳). در این روش سری برشهای موازی با فاصله ثابت (یک میلی متری) تهیه گردید، سپس با محاسبه مجموع سطح مقطع تمام مقطع و ضرب کردن در ضخامت بین مقاطع حجم محاسبه می شود (۱۹ و ۱۸). سپس داده ها با استفاده از روشهای آماری آنالیز واریانس و t-test توسط نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل صورت گرفت.

یافته ها

در این بررسی متوسط وزن پروستات در گروه آزمایش (۰/۳۹۱۷ گرم) هیچگونه تفاوت معنی داری با گروه شاهد (۰/۳۲۰۰ گرم) نداشت. متوسط حجم بخش غده ای در گروه شاهد ۱۰۲/۵۷۰۰ میلیمتر مکعب و در گروه آزمایش ۱۱۹/۰۴۱۷ میلیمتر مکعب بوده که از لحاظ آماری تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود نداشت و متوسط حجم بخش غیرغده ای در گروه شاهد ۳۷/۷۴۰۰ میلی متر مکعب و در گروه آزمایش ۴۱/۸۲۵۰ میلی متر مکعب بوده که هیچگونه تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود نداشت. همچنین نسبت حجمی بخش غیرغده ای به بخش غده ای پروستات در گروههای شاهد و آزمایش به ترتیب ۰/۳۸۵۰۰ میلی متر مکعب و ۰/۳۶۵۰۰ میلی متر مکعب بوده که این تفاوت از لحاظ آماری معنی داری نبود. همچنین نسبت حجمی بخش غیرغده ای به حجم کل پروستات در گروههای شاهد و آزمایش که به ترتیب ۰/۲۶۸۳۳ میلی متر مکعب و ۰/۲۵۶۶۷ میلی متر مکعب بوده که هیچگونه تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

همچنین نسبت حجمی بخش غده ای به حجم کل پروستات در گروههای شاهد و آزمایش که به ترتیب ۰/۷۱۸۳۳ میلی متر مکعب و ۰/۷۳۳۳۳ میلی متر مکعب بوده ولی از لحاظ آماری تفاوت معنی دار نبود. نتایج حاصل نشان داد که متوسط حجم کل پروستات در گروه شاهد ۱۴۰/۶۳۰۰ میلی متر مکعب و در گروه آزمایش ۱۶۰/۷۵۶۷ میلی متر مکعب بوده که از لحاظ آماری این تفاوت معنی دار نبود.

است. نتایج مربوط به مقایسه حجم بخش غیر غده ای به بخش غده ای در دو گروه نشان داد که نسبت حجمی در دو گروه اختلاف معنی داری نداشت. اما مقداری افزایش نسبت حجمی در گروه کنترل دیده می شود که احتمالاً به این دلیل است که بخش غیر غده ای نسبت به بخش غده ای افزایش حجم خیلی کمتری به دنبال میدان الکترومغناطیسی داشته و همین دلیل باعث شده نسبت حجمی در گروه کنترل بیشتر باشد.

در این مطالعه با توجه به مقایسه نسبت حجمی بخش غیر غده ای به کل پروستات در دو گروه، اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود نداشت. همچنین در مقایسه نسبت حجمی بخش غده ای به کل پروستات باز هم اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده نگردید و مقدار افزایشی که در گروه آزمایش دیده می شود احتمالاً بدلیل افزایش حجم بیشتر بخش غده ای نسبت به بخش

دیگر پروستات یعنی بخش غیر غده ای می باشد. در این بررسی مقایسه حجم کل پروستات در دو گروه اختلاف معنی داری را نشان نداد ولی مقداری افزایش حجم در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود که احتمالاً با توجه به مشاهدات قبلی و دلایلی که درباره قسمت های دیگر این مطالعه ذکر شد می تواند در این مورد هم مصداق داشته باشد. در کل می توان نتیجه گیری کرد که میدان الکترومغناطیسی با شدت ۰/۱ میلی تسلا تأثیری بر روی حجم بخش غده ای، غیر غده ای و یا حجم کل پروستات ندارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کلیه کارکنان بخش بافت شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، تشکر می کنیم.

References

1. Halliday D, Robert R. Physics, 2nd ed, Krane Oregon State Univ 1973; pp: 814-17.
2. Brighton CT, Pollacks SR. Electrical properties of bone and cartilag experimental effects and clinical applications. New york, Grune and Stratton Inc 1979; pp: 590-8.
3. Becker RO, Marino AA. Electromagnetism and life. State Univ of New york Press, Albang 1982; pp: 100-89.
4. Berg H. Problems of weak eletromagnetic field effects in cell biology. AADED J 1999; 48 (2): 355-60.
5. Repacholi MH, Greenbaum B. Interaction of static and electromagnetic and magnetic fields with living system: Health effects and research needs. Bioelectromagnetics 1999; 20(3): 133-60.
6. Fear EC, Stuchly MA. Modeling assemblies of biological cells exposed to electric fields. IEEE Trans Bio Med; 45(10): 1259-71.
7. Mclauchlan KA. A possible mechanism for the effects of electromagnetic field on biological cells. J Sci Technol 1998; 48 (12): 46-8.
8. Barnothy M. Magnetic and human. J Science 1988; 24(2): 1302-8.
9. Robbins SA, Kumar V. Basic pathology, 7th ed, W. B. Saunders Co 1987; pp: 39-45.
10. Ames J, Imlay A, linn S. Electromagnetic field and human. J Science 1989; 1(7): 25-7.
11. Ottani V, Depasquale V, Govoni P, Franchi M, Zaniol P. Effects of pulsed extremely-low frequency magnetic fields on skin wounds in the rat. Bioelectromagnetic 1988; 9(1): 53-62.
12. Harkness JE, Wagner JE. The biology and medicine of rabbits and rodents, 2nd ed, Lab Febiger 1983; pp: 43-52, 88-9.

13. Chang MK, Lee SL, Kim YB, Park SC, Shin DH, Kim SH, Kim JC. Evaluation of spermatogenesis and fertility in male rat after utero and neonatal extremely low frequency electromagnetic fields. *Asian J Androl* 2005; 7(2): 189-94.
14. Baulieu EE, lasnitzki I, Robel P. Metabolism of testosterone and action of metabolites on prostate glands grown in organ culture. *Nature Lond* 1968; 219: 1155-60.
15. AL Akhras MA, Elbetieha A, Hasan MK, AL Omani I, Darmani H, Albissa B. Effects of extremely low frequency field on fertility of adult male and female rats. *Bioelectromagnetics* 2001; 22: 340-4.
16. Warren FW, Daminiq GH. *Anatomy & dissection of the rat*, 3rd ed, New York, Basingstoke, W.H. Freeman 1997; pp: 70-1.
17. Dezfulian AR. Application of designed based stereology in histopathology and toxipathology. *Liverpool University Press* 1995; pp: 41- 90.
18. Gibsone F, Dezfulian AR. An investigation of the lamb as possible animal model of human IU GR, using stereological techniques to estimate the number of cells in the lamb neocortex. *The University of Liverpool* 1996.
19. Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, et al. The New stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *A PMIS* 1988; 96: 857-81.
۲۰. نیکروش م ر، بهنام رسولی م، مهدوی شهیری ن، پوربخشی م. بررسی اثرات میدان الکترومغناطیس بر حفظ نورونهای گانگلیونهای ریشه خلفی عصب سیاتیک ضایعه دیده در رت. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان تابستان ۱۳۸۲*; ۱۰(۲): ۲۵-۲۹.
21. Oren M, Tepper MJ, Callaghan EI, et al. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2. *FASEB J* 2004; 18: 1231-3.
22. Okano H, Gmirov J, Ohkubo C. Biphasic effects of static magnetic fields on cutaneous microcirculation in rabbits. *Bioelectromagnetics* 1999; 20: 161-71.
23. Yamamoto Y, Ohsaki Y, Goto T, Nakasima A, Lijima T. Effects of static magnetic fields on bone formation in rat osteoblast cultures. *J Dent Res* 2003; 82(12): 962-6.
24. Cleary SF, Liu LM, Graham R, Diegelmann RF. Modulation of tendon fibroplasia by exogenous electric currents. *Bioelectromagnetics* 1988; 9(2): 183-94.

* آدرس نویسنده مسئول: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی، گروه بافت شناسی، تلفن: ۰۶۱۱-۳۳۶۵۵۵۸.

adezfulian@yahoo.com