

بررسی اثرات زیستی تصویربرداری تشدید مغناطیسی بر باروری موش نر بالغ

ایوب رستم زاده^۱، سیدهای انجم روز^{۱*}، فردین فتحی^۱، محمدجعفر رضایی^۱، دائم روشنی^۲، معصومه رضایی^۳، شعله شاه غیبی^۳

(۱) گروه علوم تشریح و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

(۲) گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

(۳) گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۸

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۱

چکیده

مقدمه: امروزه استفاده از امواج الکترومغناطیس در پزشکی به خصوص در دستگاه های تشخیصی مانند تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI) افزایش یافته و گزارشات متفاوتی از آثار بیولوژیک آن ارائه شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات MRI ۱/۵ تسلا بر روی باروری و پارامترهای تولیدمثلی موش نر بود.

مواد و روش ها: ۴۰ راس موش بالغ نر نژاد NMRI به طور تصادفی به دو گروه مساوی کنترل و آزمایش تقسیم شدند. موش های گروه آزمایش در طی ۳ هفته، هر هفته ۱ بار و هر بار به مدت ۳۶ دقیقه در معرض امواج MRI ۱/۵ تسلا قرار گرفتند. سپس روزهای ۱ و ۳۵ بعد از آخرین تابش، ۱۰ سر از موش ها برای انجام IVF و ۱۰ سر نیز جهت مطالعات In vivo مورد استفاده قرار گرفتند. تاثیر امواج MRI بر وزن بیضه، طول مدت بارداری، تعداد جنین های به دنیا آمده، تعداد اسپرم و قدرت باروری بررسی گردید. داده های دو گروه با آزمون های آماری ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شدند.

یافته های پژوهش: مطابق این مطالعه یک روز بعد از تابش MRI وزن بیضه، تعداد بچه های به دنیا آمده، میزان پیشرفت تکامل جنین های دو سلولی و تعداد اسپرم موش ها در گروه آزمایش کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$) هم چنین تعداد جنین های رسیده به مرحله بلاستوسیست در گروه آزمایش کاهش معناداری داشت ($P < 0.05$). در حالی که ۳۵ روز بعد از تابش بین تمام پارامترهای ذکر شده در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل از لحاظ آماری تفاوت معناداری وجود نداشت ($P > 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه به نظر می رسد که تابش MRI ۱/۵ تسلا در یک روز بعد از تابش اثرات مخربی را بر روی قدرت باروری موش دارد، اما این اثرات ۳۵ روز بعد از تابش برگشت پذیر می باشند.

واژه های کلیدی: میدان های الکترومغناطیس، MRI، اسپرم، باروری

*نویسنده مسئول: گروه علوم تشریح و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

Email: hadianjamrooz@gmail.com

مقدمه

افزایش استفاده از وسایل الکتریکی باعث شده است که انسان امروزی به طور قابل توجهی در معرض تابش میدان های الکترومغناطیس طبیعی و مصنوعی قرار گیرد. طیف الکترومغناطیس دارای محدوده فرکانسی بسیار گسترده ای بوده که شامل رادیو فرکانس ها، مایکروویوها، تشعشعات مادون قرمز، نور مرئی، تشعشعات فرابنفش، اشعه ایکس و اشعه گاما می باشد و تقسیم بندی آن ها بر اساس طول موج یا فرکانس منبع تولیدکننده آن است (۱،۲). از جمله دستگاه های مولد امواج الکترومغناطیس می توان به تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI)، تلفن همراه و لپ تاپ اشاره کرد که استفاده از آن ها امری اجتناب ناپذیر است. در این میان استفاده از MRI که در اوایل دهه ۱۹۷۳ توسط پاول لاترپور معرفی شد، رشد قابل توجهی را در حیطه پزشکی داشته است (۳). MRI به دلیل نداشتن اشعه ایکس یونیزان و داشتن قدرت فضایی بالا یکی از بهترین دستگاه های تشخیصی برای پایش و بررسی وضعیت بیماری های مختلف است که می تواند اطلاعاتی ارزشمندی را در مورد وضعیت شیمیایی و فیزیولوژیک ارگان ها و آناتومی آن ها فراهم نماید (۴). در این روش از سه میدان اصلی شامل میدان مغناطیسی ثابت (B₀)، میدان رادیوفرکانس (RF) و میدان مغناطیسی گرادیانی متغییر با زمان برای تولید تصویر از داخل بدن استفاده می شود (۵). هر یک از این میدان ها نقش مجزایی در تشکیل تصویر دارند، برای مثال، میدان مغناطیسی ثابت باعث راستاگیری اسپین های مغناطیسی پروتون های موجود در مولکول آب و هم چنین تحریک حرکت تقدیمی لارمور می شود که سیگنال مورد نیاز برای تشکیل تصویر را فراهم می کند. میدان RF باعث می شود اسپین هایی که راستاگیری کرده اند جهت تولید سیگنال تحریک شوند و گرادیان های مغناطیسی متغییر با زمان موقعیت اطلاعات داخل سیگنال ها را کدگذاری می کنند (۳). فرکانس میدان های سه گانه به نوع سیستم بستگی دارد، مثلاً در یک سیستم ۰/۵ تسلا مقدار امواج رادیوفرکانس به کار رفته برابر ۲۱ مگاهرتز و در یک

سیستم ۱/۵ تسلا این مقدار برابر ۶۴ مگاهرتز است (۵). به طور کلی اساس تصویرگیری MRI بر مبنای اندازه گیری میزان پاسخ پروتون های داخل بافت ها در حضور یک میدان مغناطیسی بزرگ خارجی است. خطرات بالقوه MRI می تواند در نتیجه هر کدام از میدان های آن رخ دهد. اگر چه اثرات بیولوژیکی این میدان ها به طور مجزا مورد بررسی قرار گرفته است، اما علاوه بر هم سو نبودن این گزارشات (۳)، اطلاعات در مورد خطرات بالقوه ترکیب هر سه میدان بر روی بافت ها اندک است. مطالعات متعددی اثرات هر یک از این میدان ها را بر روی بافت های بیولوژیک گزارش کرده اند، به طوری که نشان داده شده است میدان ثابت می تواند باعث تاخیر در رشد، خروج کلسیم از غشای عصبی و جلوگیری از متابولیسم طبیعی شود. میدان RF نیز می تواند باعث افزایش نفوذپذیری سد خونی-مغزی، تولید رادیکال های آزاد، انتقالات یونی، آسیب های کروموزومی و تغییر برخی از پروتئین های غشایی و درون سلولی شوند. از اثرات بیولوژیک میدان های گرادیانی متغییر با زمان می توان به فلاش های نوری-بینایی، تحریک سیستم هدایتی قلب و تحریک اعصاب محیطی اشاره کرد (۶-۹). مطابق گزارشاتی که از کار بر روی حیوانات صورت گرفته است، تابش میدان مغناطیسی ثابت MRI ۰/۳۵ تسلا به موش در اواسط حاملگی باعث کاهش طول سری-کفلی (CRL) جنین می شود (۱۰). Behr و همکاران نیز نشان دادند که تابش میدان های B₀ و TVM هیچ گونه اثری را بر روی مرگ و میر، میزان هاچینگ و بقای رویان جوجه ندارد (۱۱)، اما Yip و همکاران مشاهده کردند که تابش میدان مغناطیسی ثابت MRI ۱/۵ تسلا بر روی تکامل رویان جوجه به شکل معنی داری تا ۶ روز بعد از تابش باعث افزایش ناهنجاری ها و میزان مرگ و میر رویان های مورد آزمایش شد (۱۲). دیگر محققان نیز گزارش کردند که تابش موش های حامله با میدان مغناطیسی ثابت ۴/۷ تسلا به مدت ۸ ساعت در روزهای ۹ و ۱۲ حاملگی باعث کاهش وزن جنین، تعداد اسپرم و CRL می شود در حالی که میزان مرده زایی را افزایش می دهد (۵). در گزارش Tyndail

صبح روز بعد حدود ساعت ۹ موش های ماده از نظر وجود پلاک واژینال بررسی شدند و در صورت مثبت بودن در قفس های جداگانه تا زمان زایمان نگهداری شدند. پس از تأیید باروری، موش های گروه آزمایش در طی ۳ هفته، هر هفته ۱ بار و هر بار به مدت ۳۶ دقیقه تحت تاثیر امواج دستگاه MRI قرار گرفتند. برای تابش از دستگاه ابررسانا (Siemens Magnetom (ESSENZA, Germany) با شدت ۱/۵ تسلا و فرکانس 64MHz استفاده شد. در طول اسکن، شدت گرادیان برابر ۲۳ mT/m و آهنگ جذب اختصاصی برابر ۰/۱۵ W/kg بود. مطابق دستورالعمل های سازمان غذا و دارو (FDA) در این شرایط دمای اضافی به حیوانات منتقل نمی شود، زیرا افزایش دما برای تابش به تمام بدن در محدوده SAR برابر با W/kg ۰/۸ یا بالاتر رخ می دهد (۱۶). فرمول SAR که دستگاه از آن برای تخمین میزان گرمای جذب شده در بافت استفاده می کند به طور خلاصه به شکل زیر می باشد:

$$SAR = P(1/M) \times (\tau/TR) = 190 \text{ w}(1/1.2\text{kg}) \times (4\text{msec}/4000\text{msec}) = 0.15 \text{ W/kg}$$

پارامترهای فرمول فوق عبارتند از: P برابر قدرت پالس (بر حسب وات) که توسط دستگاه از کویل ها دریافت می شود، M برابر جرم جسم مورد تابش (بر حسب کیلوگرم)، τ برابر فاکتور کاری پالس (بر حسب میلی ثانیه) و TR برابر مدت زمان اعمال یک پالس RF تا اعمال پالس بعدی برای هر برش (بر حسب میلی ثانیه).

جهت تابش MRI ابتدا موش ها را در یک محفظه پلاستیکی با درپوش کارتونی (جهت جلوگیری از هر گونه امواج الکترومغناطیس مزاحم) قرار گرفته و سپس در مرکز دستگاه گذاشته شدند (شکل شماره ۱). موش های گروه کنترل نیز در محفظه پلاستیکی به مرکز MRI منتقل گردیدند، اما دور از اتاق مگنت نگه داری شدند. یک روز بعد از آخرین تابش، ۱۰ سر از موش ها جهت بررسی In vivo در داخل قفس های مجزا کنار موش های ماده تأیید شده از لحاظ باروری قرار گرفتند و ۱۰ سر دیگر برای انجام IVF به روش جا به جایی گردنی کشته شدند. در موش های گروه

و همکاران میدان های MRI ۱/۵ تسلا باعث ایجاد ناهنجاری های چشمی در طی تکامل شد به طوری که میزان آن ها ۱۵ تا ۲۷ درصد بیشتر از گروه شاهد بود (۱۳). هر چند که در تحقیقات مذکور تنها یکی از میدان های MRI و بیشتر بر روی بافت های کاملاً رشد یافته استفاده شده است، اما گزارشی در رابطه با اثرات ترکیبی هر سه نوع میدان MRI بر روی سلول های جنسی، به خصوص در مراحل تولید، بلوغ و قدرت باروری آن ها وجود ندارد. به طور خلاصه با توجه به مطالعات انجام شده ملاحظه می شود که میدان های به کار رفته در MRI هر یک به طور مجزا باعث ایجاد آثاری در موجودات زنده می گردند که این اثرات به به شدت میدان، مدت زمان تابش، فرکانس میدان و بافت مورد آزمایش بستگی دارد (۱۴، ۶). مطابق قانون برگونیه و تربیانڈو سلول های جوان، بنیادی تر و نابالغ خصوصاً در حال تقسیم نسبت به اشعه حساس تر هستند (۱۵). از آن جایی که بیضه دارای سلول های با قدرت میتوز و میوز بالا است و بیماران زیادی در سنین مختلف به خصوص جوانی و بلوغ جهت تشخیص بیماری هایی مانند دیسک کمر و فتق کانال اینگوینال تحت تاثیر میدان الکترومغناطیسی ۱/۵ تسلا قرار داده می شوند، لذا هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ترکیبی میدان های الکترومغناطیسی MRI ۱/۵ تسلا (شدت مورد استفاده در اغلب دستگاه های MRI تشخیصی)، بر روی قدرت باروری موش های نر نژاد NMRI بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه از ۴۰ راس موش بالغ نر نژاد NMRI با سن ۶ تا ۸ هفته و وزن تقریبی 30 ± 5 گرم که از انستیتو پاستور تهران خریداری شده بود، استفاده شد. موش ها به مدت ۲ هفته در آزمایشگاه حیوانات در شرایط استاندارد، یعنی درجه حرارت ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۰ تا ۵۵ درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا، جهت سازگاری با شرایط محیط نگهداری شدند. موش ها به طور تصادفی به دو گروه مساوی کنترل و آزمایش تقسیم شدند. جهت تأیید باروری موش های هر دو گروه به مدت یک شب در کنار موش های ماده قرار گرفتند.

انجام لقاح آزمایشگاهی: در این مرحله اسپرم موش های گروه آزمایش (تابش دیده) و گروه کنترل تحت لقاح آزمایشگاهی قرار گرفتند، به این ترتیب که تعداد مساوی از اسپرم های هر دو گروه که به طریق Swim up در کناره های قطره جمع شده بودند با سمپلر برداشته شد و به قطره های حاوی تخمک ها اضافه گردید. سپس محیط حاوی اسپرم و تخمک به مدت ۴ تا ۵ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. در طی این مدت هسته اسپرم وارد تخمک شده و پیش هسته های نر و ماده با استفاده از استریومیکروسکوپ قابل تشخیص بودند. ۴ تا ۵ ساعت بعد از اضافه کردن اسپرم، تخمک هایی که احتمال می رفت که لقاح یافته باشند به داخل پتری دیش محتوی ۵ قطره محیط کشت KSOM انتقال داده شدند. تخمک ها بعد از شست و شو در ۴ قطره کناری نهایتاً به قطره پنجم که در وسط پتری دیش بود، منتقل گردیدند. ۲۴ ساعت بعد از لقاح تعداد جنین های دو سلولی (و احتمالاً ۴ سلولی) توسط استریومیکروسکوپ شمارش و ثبت شدند. پایش تکامل جنین ها تا رسیدن به مرحله بلاستوسیست در روزهای بعد ادامه داشت. جهت بررسی وضعیت برگشت پذیر بودن یا نبودن اثرات احتمالی امواج MRI بر باروری موش ها، ۳۵ روز بعد از تابش نیز تمام مراحل قید شده در بالا تکرار گردید.

جهت مقایسه متغیرهای وزن بیضه، تعداد اسپرم، طول مدت بارداری و تعداد بچه های به دنیا آمده در گروه ها با توجه به نتایج آزمون Kolmogorov-Smirnov از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. هم چنین برای مقایسه قدرت باروری گروه ها در *In vitro* از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. سپس آزمون های تعقیبی با تست Tukey آنالیز گردید. تمام آزمون های آماری با استفاده از نرم افزار Stata vol.12 انجام گردید و سطح معنی دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

یک روز بعد از تابش: نتایج به دست آمده نشان داد وزن بیضه و تعداد اسپرم در موش هایی که امواج MRI را به مدت ۳۶ دقیقه دریافت کرده بودند، نسبت

In vivo، طول مدت بارداری و تعداد جنین های به دنیا آمده بررسی و ثبت گردید. در گروه *In vitro* تاثیر امواج MRI بر وزن بیضه، تعداد اسپرم و قدرت باروری بررسی گردید. بعد از کشتن موش ها و باز کردن حفره صفاقی، بیضه آن ها توسط ترازوی دیجیتال (Sartorius; model-BL210S) وزن شد و ثبت گردید.

جمع آوری اسپرم ها: جهت جمع آوری اسپرم، دم اپیدیدیم و مجرای وازدفران موش ها جدا شد و به داخل پتری دیش محتوی محیط کشت HTF که قبلاً در انکوباتور به تعادل رسیده بود، منتقل گردید. سپس، دم و اپیدیدیم و مجرای وازدفران به قطعات کوچک تر تقسیم گردید و به مدت ۱ ساعت جهت ظرفیت دار شدن در داخل انکوباتور (Memmert Co., Germany) ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵ درصد CO₂ قرار گرفت. شمارش اسپرم ها به کمک لام نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۴۰، انجام شد. برای اطمینان بیشتر، شمارش اسپرم برای هر نمونه ۳ بار تکرار شد.

جمع آوری تخمک ها: برای القای تکثیر و تکامل تخمک ها در هر موش، هورمون PMSG (Folligon, Intervet, Holland) به میزان ۵ واحد بین المللی (IU) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. به منظور القای فرآیند تخمک گذاری ۴۸ تا ۵۰ ساعت بعد از تزریق هورمون PMSG، ۵ واحد هورمون HCG (Chorulon, Intervet, Holland) نیز به صورت داخل صفاقی به هر موش تزریق شد. ۱۲ ساعت قبل از جداسازی تخمک ها محیط های کشت HTF و KSOM قطره گذاری شدند و روی آن ها با روغن معدنی پوشیده شد و در انکوباتور نگه داری شدند. روز جداسازی، موش های ماده ای که ۱۲ ساعت از تزریق هورمون hCG آن ها گذشته بود به روش جا به جایی مهره های گردنی کشته شدند و مجموعه تخمک و سلول های کومولوس از ناحیه آمپولای لوله های رحمی هر دو طرف آن ها جمع آوری گردید و به داخل پتری دیش محتوی محیط کشت HTF که قبلاً در انکوباتور به تعادل رسیده بود، انتقال داده شدند.

به گروه کنترل کاهش معنی دار داشت. تعداد بچه های به دنیا آمده در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل نیز کاهش معنی داری پیدا کرده بود ($P < 0.05$) (جدول شماره ۱). هم چنین طول مدت بارداری موش های ماده ای که با موش های نر تابش شده با MRI جفت گیری کرده بودند نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری داشت ($P < 0.05$). به طوری که زایمان موش های گروه آزمون تقریباً ۶ روز تاخیر داشت (شکل شماره ۲). بررسی سیر تکاملی جنین های دو سلولی در روزهای مختلف در گروه تابش دیده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$) (جدول شماره ۲). از طرف دیگر، تعداد جنین های رسیده به مرحله بلاستوسیست در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کمتر بود (جدول شماره ۲) در حالی که تعداد جنین های مرده نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$) (جدول شماره ۲) (شکل شماره ۳).

سی و پنج روز بعد از تابش: آنالیز داده های حاصل از وزن بیضه، تعداد اسپرم و هم چنین تعداد بچه های به دنیا آمده ۳۵ روز بعد از تابش نشان داد که بین گروه آزمایش و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود ندارد. هم چنین طول مدت بارداری موش های ماده ای که با موش های نر تابش شده با MRI جفت گیری کرده بودند نسبت به گروه کنترل از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$) (شکل شماره ۲). داده های حاصل از مطالعات IVF به کمک استریومیکروسکوپ نیز نشان داد که میزان پیشرفت تکاملی جنین های دو سلولی، تعداد جنین های رسیده به مرحله بلاستوسیست در روزهای مختلف در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل تقریباً برابر بوده و از لحاظ آماری تفاوت معنی داری نداشتند ($P > 0.05$). علاوه بر این در مقایسه تعداد جنین های مرده گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۱. مقایسه میانگین وزن (بر حسب گرم)، میانگین تعداد اسپرم (در هر میلی لیتر) و میانگین تعداد بچه های به دنیا آمده (بر حسب سر) در گروه کنترل و آزمایش در روزهای ۱ و ۳۵ بعد تابش امواج MRI

گروه ها	کنترل		آزمایش	
	روز ۱ (Mean±SD)	روز ۳۵ (Mean±SD)	روز ۱ (Mean±SD)	روز ۳۵ (Mean±SD)
وزن بیضه (گرم)	۰/۱۱۷۱±۰/۰۱۵	۰/۱۲۵۱±۰/۰۱۵	۰/۰۹۱۲±۰/۰۱۳*	۰/۱۲۰۲±۰/۰۱۲
تعداد اسپرم (×106)	۳۶/۱۷۷±۰/۶۴	۲۵/۵۴۴±۰/۵۶	۲۲/۰۶۱±۰/۰۳۲*	۲۲/۲۲۲±۰/۱۵
تعداد بچه های به دنیا آمده (سر)	۱۳/۵۵±۰/۳۳	۱۳/۵۵±۰/۵۲	۸/۵۵±۰/۵۸*	۱۱/۶۶±۱/۰۰

* $P < 0.05$ = اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل یک روز بعد از تابش

جدول شماره ۲. نتایج کمی سیر تسهیم (کلیواژ) در جنین های حاصل از دو گروه کنترل و آزمایش در یک روز بعد از تابش

مرده (Mean±SD)	بلاستوسیست (Mean±SD)	دو سلولی (Mean±SD)	متغیرها گروه ها
۱۰/۰۰±۰/۲۲	-	۷۹/۵۵±۰/۴۷	روز اول
۱۴/۷۷±۰/۲۶	-	۸/۸۸±۰/۹۱	روز دوم
۱۸/۸۸±۰/۱۰	۱۸/۸۸±۰/۳۵	۶/۴۴±۰/۸۸	روز سوم
۳۰/۶۶±۰/۴۴	۶۰/۵۵±۰/۰۰	۲/۵۵±۰/۶۶	روز چهارم
۱۶/۵۵±۰/۸۳***	-	۴۲/۳۳±۰/۰۸*	روز اول
۲۳/۶۶±۰/۹۰***	-	۷/۳۳±۰/۵۷*	روز دوم
۳۰/۳۳±۰/۴۱***	۴/۰۰±۰/۲۴**	۳/۱۱±۰/۳۱*	روز سوم
۳۸/۷۷±۰/۲۰	۲۳/۶۶±۰/۴۱**	۳/۰۰±۰/۲۴*	روز چهارم

* $P < 0.05$ = نشان دهنده کاهش معنی دار سرعت تسهیم جنین های گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل

** $P < 0.05$ = نشان دهنده کاهش معنی دار تعداد بلاستوسیست های گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل

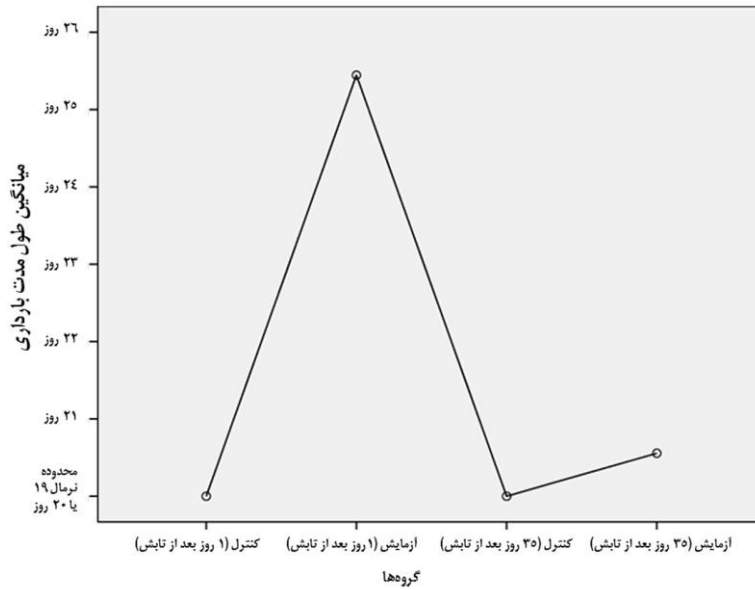
*** $P < 0.05$ = نشان دهنده افزایش معنی دار تعداد جنین های مرده در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل

جدول شماره ۳. نتایج کمی سیر تسهیم در جنین های حاصل از دو گروه کنترل و آزمایش در سی و پنج روز بعد از تابش

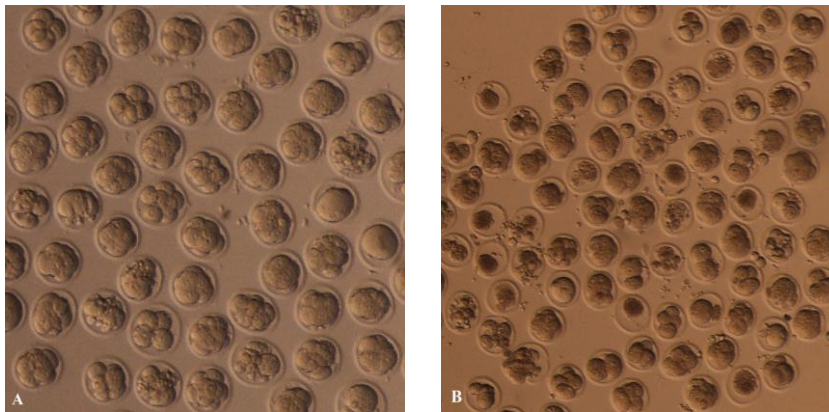
مرده (Mean±SD)	بلاستوسیست (Mean±SD)	دو سلولی (Mean±SD)	متغیرها گروه ها
۴/۶۶±۰/۹۰	-	۴۸/۳۳±۰/۷۵	روز اول
۶/۳۳±۰/۲۲	-	۳/۳۳±۰/۴۱	روز دوم
۱۲/۳۳±۰/۹۶	۸/۶۶±۰/۷۴	۳/۰۰±۰/۷۳	روز سوم
۲۷/۶۶±۰/۳۷	۳۸/۰۰±۰/۲۸	۱/۰۰±۰/۸۶	روز چهارم
۶/۰۰±۰/۱۲	-	۳۱/۶۶±۰/۳۲	روز اول
۱۳/۰۰±۰/۶۶	-	۶/۳۳±۰/۲۹	روز دوم
۱۸/۶۶±۰/۹۰	۶/۶۶±۰/۲۹	۲/۶۶±۰/۰۰	روز سوم
۳۵/۳۳±۰/۹۶	۲۲/۳۳±۰/۶۴	۱/۸۰±۰/۸۰	روز چهارم



شکل شماره ۱. نحوه قرارگیری محفظه پلاستیکی حاوی موش ها جهت تابش امواج دستگاه MRI ۱/۵ تسلا



شکل شماره ۲. طول مدت بارداری موش های ماده ای که با موش های نر کنترل و تابش شده با MRI جفت گیری کرده بودند. نمودار نشان می دهد طول مدت بارداری موش های ماده ای که با موش های نر تابش شده در یک روز بعد از تابش جفت گیری کرده اند ۶ روز به تاخیر افتاده است که معنی دار می باشد، اما بعد از گذشت ۳۵ روز تاخیر معنی داری مشاهده نشد.



شکل شماره ۳. تصویر استریومیکروسکوپ از جنین ها در محیط KSOM در روز دوم بعد از IVF (A). جنین های گروه کنترل که سیر تکاملی مطلوبی را نشان می دهند. (B) جنین های گروه آزمایش که اغلب در مرحله دو سلولی باقی مانده و تعداد زیادی از آن ها دچار فراگمتاسیون و مرگ شده اند.

بحث و نتیجه گیری

جنین های رسیده به مرحله بلاستوسیست، و هم چنین افزایش طول مدت بارداری موش ها و تعداد جنین های مرده در محیط کشت می گردد. این در حالی است که مطالعات بسیار اندکی در زمینه اثرات میدان

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که یک روز بعد از تابش MRI به صورت ترکیبی با شدت ۱/۵ تسلا و فرکانس ۶۴ MHz به مدت ۳۶ دقیقه باعث کاهش وزن بیضه، تعداد اسپرم، تعداد بچه های به دنیا آمده، سیر تسهیم جنین های دو سلولی و تعداد

های MRI به صورت ترکیبی بر روی باروری و به طور کلی سیستم های بیولوژیک صورت گرفته است. در این راستا Carnes و همکاران گزارش کردند که قرار گرفتن موش ها در معرض میدان ۴/۷ تسلا باعث افزایش معنی دار در تعداد مرگ و میر جنین ها و کاهش تولید روزانه اسپرم می شود (۱۷). هم چنین Narra و همکاران در سال ۱۹۹۶ گزارش کردند که قرارگیری موش های نر در معرض میدان مغناطیسی ثابت ۱/۵ تسلا به مدت ۳۰ دقیقه باعث کاهش تعداد اسپرم های بیضه و ایجاد ناهنجاری های قابل توجهی در شکل سر اسپرم می شود. این محققین هم چنین نشان دادند که بقای رویان هایی که در مرحله دو سلولی تابش دیده بودند، ۰/۵۶ درصد کمتر از رویان های گروه کنترل بود که با یافته های مطالعه ما هم خوانی دارد (۱۸). علاوه بر بررسی اثرات میدان های موجود حاصل از دستگاه MRI مطالعات فراوان دیگری در زمینه اثرات میدان های الکترومغناطیسی حاصل از منابع دیگر به صورت مجزا بر روی باروری صورت گرفته است که شامل میدان مغناطیسی ثابت ضعیف، میدان مغناطیسی متغیر با زمان و میدان RF است. این میدان های الکترومغناطیسی به ترتیب در تجهیزاتی مانند کابل های فشار قوی (۱۹)، کامپیوتر خانگی (۲۰) و تلفن همراه وجود دارند. مطالعه Wdowiak و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داد که تابش امواج تلفن همراه در مردان باعث کاهش تعداد اسپرم، کاهش تحرک آن، افزایش اسپرم غیرطبیعی و نهایتاً کاهش باروری می گردد (۲۱) که بعضی از این نتایج با یافته های پژوهش حاضر هم سو است. در سال ۲۰۱۱، Saadeldin و همکاران نیز اثرات تابش میدان مغناطیسی ۱ گاوس با فرکانس ۵۰ هرتز را به مدت ۲۱ روز روی باروری رت های نر بررسی کردند. در این مطالعه یکی از گروه ها را بلافاصله بعد از تابش و گروه دیگر را ۴۸ روز بعد از آخرین تابش (دوره اسپرماتوژنز رت) مورد ارزیابی قرار دادند و مشاهده کردند که ۱ روز بعد از تابش وزن بیضه ها و مقدار اسپرم در گروه تابش شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشته است ($P < 0.05$)، در حالی که این تغییرات بعد از ۴۸ روز به حالت نرمال

بازگشتند. این محققین نشان دادند که میدان مغناطیسی از لحاظ بیولوژیکی برای عملکرد بیضه سمی بوده و باعث القای استرس اکسیداتیو بر روی فرآیند اسپرماتوژنز می شود (۲۲). نتایج مطالعه Saadeldin و همکاران از لحاظ مشاهده تغییرات بیضه ۱ روز بعد از تابش و برگشت پذیر بودن این تغییرات بعد از یک دوره اسپرماتوژنز با یافته های مطالعه حاضر هم خوانی دارد. بر اساس گزارش Desai و همکاران امواج رادیوفرکانس با اثر بر آنزیم های غشای پلاسمایی اسپرم باعث تولید سوپراکسیداز سلولی در مایع منی شده و فعالیت آنزیم فسفوکیناز C (در تحرک اسپرم نقش دارد) را کاهش می دهد و از این طریق توانایی زنده ماندن، تعداد اسپرم و تحرک آن ها را کاهش می دهد (۲۳). لذا این گزارش می تواند افزایش طول مدت بارداری در *In vivo* و کاهش تعداد بلاستوسیست ها در *In vitro* که از نتایج پژوهش حاضر است را توجیه کند.

امواج RF از طریق افزایش دمای ناحیه مورد تابش باعث ایجاد ناهنجاری می شوند (۲۴،۹). مطالعات بر روی افراد داوطلب نشان داد که در محدوده SAR ۱/۱ وات بر کیلوگرم، حداکثر دمای ناحیه اسکروتال ناشی از تابش امواج RF دستگاه MRI برابر ۳۴/۲ درجه سانتی گراد بود و این مقدار کمتر از حد آستانه ای است که بتواند از طریق اثرات گرمایی باعث ایجاد ناهنجاری شود (۲۴،۲۵). در مطالعه ما نیز میزان SAR در محدوده پایین تر از حد آستانه بود ($SAR = 0.15$ W/kg) و چنان چه امواج RF در تغییرات مشاهده شده نقشی داشته باشند، احتمالاً از طریق مکانیسم دیگری اعمال شده است. در این راستا، مطالعات نشان می دهد امواج RF دارای اثرات غیر گرمایی نیز هستند که می توانند ناشی از تولید رادیکال آزاد باشد (۲۶،۹،۲۵،۲۶). رادیکال های آزاد نیز به نوبه خود باعث فسفریلاسون و فعال سازی برخی از پروتئین های پیام رسان مانند هیستون کینازها و کراتین کینازها می شوند که در نتیجه این تغییرات، سرعت تولید ROS به طور قابل توجهی افزایش یافته و مسیر کاسپاز-۳ را در سلول اسپرم فعال کرده که در نتیجه آن مرگ آپوپتوتیک در

طی اسپرمتوژنز یا دوره بلوغ اسپرم رخ داده و باروری را تحت تاثیر قرار می دهد(۲۷).

از طرف دیگر، نشان داده شده است سطح 6-OHMS در ادرار افرادی که بیش از ۲۵ دقیقه در معرض امواج RF تلفن همراه قرار می گیرند، کاهش می یابد. این متابولیت نشان دهنده سطح سرمی هورمون ملاتونین غده پینه آل است که به عنوان یک عامل آنتی اکسیدان شناخته می شود و از پروکسیداسیون مایع در شبکیه چشم، مغز و حتی اسپرم انسان محافظت می کند. از آن جایی که ملاتونین تولید ROS را مهار می کند، کاهش سطح آن می تواند عاملی برای تخریب و مرگ سلول باشد(۹،۲۸)، لذا می تواند توجهی برای کاهش تعداد اسپرم ها و وزن بیضه در گروه آزمون مطالعه حاضر باشد.

مکانیسم هایی فیزیکی تعامل بین بافت و میدان مغناطیسی MRI می توانند از چند مسیر باعث ایجاد اثرات بیولوژیک شوند که عبارتند از: ۱) جریان های القایی در بافت ها که باعث اختلال در انتقال سیگنال اعصاب می شوند، به طوری که مطالعات بر روی میمون ها نشان داده است موج T در تست ECG دچار تغییرات قابل توجهی می شود، ۲) اختلال در واکنش های شیمیایی به خصوص افزایش جفت های رادیکالی و فرار آن ها از ترکیب دوباره با یکدیگر و ۳) تولید گونه های اکسیژن واکنش گر که باعث شکست DNA و

کاهش پروتامیناسیون می شود و این حوادث بیوشیمیایی بر تعداد اسپرم و قدرت حرکت آن اثر می گذارد(۲۹).

در پایان با توجه به یافته های این پژوهش در مورد اثرات امواج سه گانه دستگاه MRI و حجم بالای آزمون های تصویربرداری در جهان(۲۰) میلیون در سال-روزانه بیش از ۵۰ هزار آزمون(۳۰) و هم چنین افزایش غیرضروری درخواست های MRI برای بیماران(۳۱)، توصیه می شود که درخواست این آزمون ها برای بیمار با دقت بیشتری صورت گیرد. از طرف دیگر، از دزیمر مغناطیسی برای پایش و ثبت وضعیت تابش گیری کارکنان MRI(همانند آن چه در رادیوگرافی و CT اسکن لحاظ شده است) استفاده گردد(۳۲). علاوه بر این امید است که با شناخت بهتر عوارض جانبی سیستم های MRI نه تنها سطح آگاهی در طراحی های آینده این دستگاه ارتقاء یابد، بلکه سطح اپراتوری صحیح و ایمن نیز مرتفع گردد.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان جهت حمایت های مالی در انجام پروژه قدردانی به عمل می آید.

References

1. Kovacic P, Somanathan R. Electromagnetic fields mechanism, cell signaling, other bioprocesses, toxicity, radicals, antioxidants and beneficial effects. *J Recept Sig Trans Res* 2010;30:214-26.
2. Gharamaleki H, Parivar K, Rad JS, Roshangar L, Shariati M. Effects of electromagnetic field exposure during the prenatal period on biomarkers of oxidative stress and pathology of testis and testosterone level of adult rats in F-1 generation. *Acta Endocrinol* 2014; 10: 577-87.
3. Schenck JF. Physical interactions of static magnetic fields with living tissues. *Prog Biophys Mol Biol* 2005;87:185-204.
4. Novotny EJ. Metabolic brain imaging by magnetic resonance. *Future Neurol* 2006;1:659-63.
5. Dewilde J, Rivers AW, Price DL. A review of the current use of magnetic resonance imaging in pregnancy and safety implications for the fetus. *Prog Biophys Mol Biol* 2005;87:335-53.
6. Hartwig V, Giovannetti G, Vanello N, Lombardi M, Landini L, Simi S. Biological effects and safety in magnetic resonance imaging a review. *Int J Environ Res Public Health* 2009;6:1778-98.
7. Consiglio N. MRI and patient safety. *Can J Med Radiat Technol* 2006;37:5-9.
8. Schaefer DJ, Bourland JD, Nyenhuis JA. Review of patient safety in time varying gradient fields. *J Magn Res Imag* 2000;12:20-9.
9. Formica D, Silvestri S. Biological effects of exposure to magnetic resonance imaging an overview. *Bio Med Eng* 2004;3:1-12.
10. Heinrichs WL, Fong P, Flannery M, Heinrichs SC, Crooks LE, Spindle A, et al. Midgestational exposure of pregnant BALBc mice to magnetic resonance imaging conditions. *Magn Res Imag* 1988;6:305-13.
11. Behr KP, Tiffe HW, Hinz KH, Lüders H, Friederichs M, Ryll M, et al. The effect of magnetic resonance treatment on chicken embryos. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 1991;98:149-52.
12. Yip YP, Capriotti C, Talagala SL, Yip JW. Effects of MRI exposure at 1.5 T on early embryonic development of the chick. *J Magn Res Imag* 1994;4:742-8.
13. Tyndall DA, Sulik KK. Effects of magnetic resonance imaging on eye development in the C57BL/6J mouse. *Teratology* 1991;43:263-75.
14. Kangarlu A, Robitaille ML. Biological effects and health implications in magnetic resonance imaging. *Concepts Magn Res* 2000;12:321-59.
15. Beltranpardo E, Jonsson KI, Wojcik A, Haghdoost S, Harmsringdahl M, Bermudezcruz RM, et al. Effects of ionizing radiation on embryos of the tardigrade *milnesium cf. tardigradum* at different stages of development. *Plos One* 2013;8:61-8.
16. Magin RL, Lee JK, Klintsova A, Carnes KI, Dunn F. Biological effects of long duration, high field (4 t) MRI on growth and development in the mouse. *J Magn Res Imag* 2000;12:140-9.
17. Carnes KI, Magin RL. Effects of in utero exposure to 4.7 T MR imaging conditions on fetal growth and testicular development in the mouse. *Magn Res Imag* 1996;14:263-74.
18. Narra VR, Howell RW, Goddu SM, Rao DV. Effects of a 1.5 -Tesla static magnetic field on spermatogenesis and embryogenesis in mice. *Invest Radiol* 1996;31:586-90.
19. Fernie KJ, Reynolds SJ. The effects of electromagnetic fields from power lines on avian reproductive biology and physiology a review. *J Toxicol Environ Health Crit Rev* 2005;8:127-40.
20. Gye MC, Park CJ. Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system. *Clin Exp Rep Med* 2012;39:1-9.
21. Wdowiak A, Wdowiak L, Wiktor H. Evaluation of the effect of using mobile phones on male fertility. *Ann Agr Environ Med* 2007;14:169-72.
22. Saadeldin IM, Fadel AM, Hamada MM, El-Badry AA. Effects of exposure to 50 Hz, 1 Gauss magnetic field on reproductive traits in male albino rats. *Acta Vet Brno* 2011;80:107-11.
23. Desai NR, Kesari KK, Agarwal A. Pathophysiology of cell phone radiation oxidative stress and carcinogenesis with focus on male reproductive system. *Rep Biol Endocrinol* 2009;7:1-9.

24. Shellock FG. Radiofrequency Energy- Induced Heating During MR Procedures: A Review. *J Magn Res Imag* 2000;12:30-6.
25. Challis LJ. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics* 2005;26:98-106.
26. Lantow M, Schuderer J, Hartwig C, Simko M. Free radical release and HSP70 expression in two human immune-relevant cell lines after exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation. *Radiat Res* 2006;165:88-94.
27. Kesari KK, Behari J. Evidence for mobile phone radiation exposure effects on reproductive pattern of male rats role of ROS. *Electromagn Biol Med* 2012;31:213-22.
28. Fejes I, Zavaczki Z, Szollosi J, Koloszar S, Daru J, Kovacs L, et al. Is there a relationship between cell phone use and semen quality? *Arch Androl* 2005;51:385-93.
29. Sirmatel O, Sert C, Sirmatel F, Selek S, Yokus B. Total antioxidant capacity, total oxidant status and oxidative stress index in the men exposed to 1.5 T static magnetic field. *Gen Physiol Biophys* 2007;26:86-90.
30. Schenck JF. Safety of strong, static magnetic fields. *J Magn Res Imag* 2000;12:2-19.
31. Rankey D, Leach JL, Leach SD. Emergency MRI utilization trends at a tertiary care academic medical center baseline data. *Acad Radiol* 2008;15:438-43.
32. Acri G, Testagrossa B, Causa F, Tripepi MG, Vermiglio G, Novario R, et al. Evaluation of occupational exposure in magnetic resonance sites. *Radiol Med* 2014;119:208-13.

Assessment of Potential Effects of Magnetic Resonance Imaging on Adult Male Mouse Fertility

Rostamzadeh A¹, Anjamrooz H^{1*}, Fathi F¹, Rezaie M¹, Roshani D², Rezaie M³, Shahkhaibi S³

(Received: February 27, 2015

Accepted: January 31, 2015)

Abstract

Introduction: Currently, the use of electromagnetic waves in medicine, especially in diagnostic devices such as magnetic resonance imaging (MRI) has increased and many of its biological effects have been reported. The aim of this study was to investigate the adverse effects of 1.5 T MRI on fertility and reproductive parameters of male mice.

Materials & methods: Forty NMRI adult male mice were randomly divided into two groups of control and experimental. The mice in the experimental group were exposed to MRI at 1.5T for 36 minutes once a week for a period of 3 weeks. Then, in the 1st day and 35th day after the final exposure, 10 mice were used for IVF and 10 mice for In vivo studies. MRI effects on testis weight, the duration of pregnancy, the number of newborns, sperm count, and fertility were evaluated. The obtained data

were analyzed by using ANOVA and Tukey's tests.

Findings: According to the present study, one day after MRI exposure, testis weight, sperm count, and the number of born children were significantly decreased in the experimental group ($P < 0.05$). Moreover, a significant number of the embryos failed to develop to the blastocyst stage. In contrast, 35 days after exposure, no statistically significant difference was found ($P > 0.05$).

Discussion & Conclusion: Based on the results of the present study, it seems that although the MRI at 1.5T has adverse effects on fertility and reproductive parameters of the adult male mice, these side-effects are reversible.

Keywords: Electromagnetic fields, MRI, Sperm, Fertility

1. Dept of Anatomical Sciences and Genetics, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

2. Dept of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

3. Dept of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

* Correspondin author Email: Hadi-Anjamrooz@muk.ac.ir