دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و یکم، شماره ۱، صفحه ۵۳ - ۴۰ (فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۷)
Iran South Med J 2018; 21(1): 40-53

بررسی اثر میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین بر یادگیری و حافظه بینایی و ساختار آناتومیکی مغز در میمون‌های رزوس نر

الهه تکیه (phD)[1*]، معصومه کاظمی (phD)[1]، حسن توکلی (phD)[1]، مهدی صابری (phD)[2]، حسین قناعتی (phD, MD)[3]، مصطفی حاجی‌نصرالله (DVM)[4]، مریم صالحی (phD)[1]، حامد علی‌یاری (phD)[5]، هدایت صحرایی (phD)[1**]

[1] مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، تهران، ایران
[2] گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، تهران، ایران
[3] گروه رادیولوژی، مرکز تصویربرداری پزشکی بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[4] مرکز تحقیقات حیوانات، مرکز تحقیقات زیست پزشکی تولید مثل، پژوهشکده بیوتکنولوژی رویان، تهران، تهران، ایران
[5] دانشکده مهندسی پزشکی، برق و مکاترونیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قزوین، قزوین، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۲/۶- پذیرش مقاله: ۹۶/۷/۳)

چکیده

زمینه: انسان در جوامع مدرن در معرض سطوح قابل ملاحظه‌ای از انتشار میدان‌های الکترومغناطیس (EMF) با فرکانس‌های مختلف قرار دارد. اثرات نوروبیولوژیکی میدان‌های الکترومغناطیس موضوع بحث و تحقیقات بسیار گسترده‌ای در طول چند دهه گذشته بوده است. بنابراین ما اثرات EMF را برروی یادگیری بینایی و تغییرات آناتومیکی نواحی هیپوکمپ و پره فرونتال (PFA) را در میمون‌های رزوس نر مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، ۴ میمون رزوس نر گونه ماکاکا مولاتا در معرض میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس‌های ۵ و ۳۰ هرتز با شدت ۰/۷ میکروتسلا به مدت ۳۰ روز، روزانه ۴ ساعت قرار داده شدند. تغییرات حافظه و یادگیری بینایی یک هفته قبل و یک هفته بعد از دوره پرتودهی با استفاده از باکس طراحی شده که حیوانات را برای به‌دست آوردن پاداش به چالش می‌کشد، مورد آزمایش قرار گرفت. همچنین تغییرات آناتومیکی مغز میمون‌ها با استفاده از تکنیک تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI) یک هفته قبل و یک هفته بعد از پرتودهی اسکن شد. میمون‌ها با تزریق داخل عضلانی کتامین هیدروکلراید (۲۰-۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین (۰/۴-۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و با استفاده از دستگاه تصویربرداری در سه سطح کرونال، آگزیال و ساجیتال در فاز T2 و اسلایس‌های با ضخامت ۳ میلی‌متر اسکن شدند. تغییرات آناتومیکی نواحی هیپوکمپ و پره فرونتال با تکنیک حجم سنجی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: قرارگیری در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۳۰ هرتز موجب کاهش تعداد پاسخ‌های صحیح در فرایند یادگیری و تأخیر در شکل‌گیری حافظه در دو میمون مورد آزمایش شد. در حالی که فرکانس ۵ هرتز تأثیری بر تغییرات یادگیری و حافظه بینایی نداشت. هیچ تغییر آناتومیکی در ناحیه پره فرونتال و هیپوکمپ در هر دو فرکانس مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۳۰ هرتز موجب اختلال در فرایند یادگیری و حافظه بینایی می‌شود، که احتمالاً این تغییرات را از طریق تأثیر بر فاکتورهای دیگری به غیر از تغییر در ساختار و آناتومی مغزی اعمال می‌کند.

واژگان کلیدی: میدان الکترومغناطیس، هیپوکمپ، ناحیه پره فرونتال، میمون ماکاک مولاتا، یادگیری بینایی

** قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قزوین، دانشکده مهندسی پزشکی، برق و مکاترونیک

Email: hsahrei1343@gmail.com
***ORCID: 0000-0002-7968-5991**
****ORCID: 0000-0001-9235-0013**

مقدمه

بشر در دنیای امروز با بسیاری از آلودگی‌های محیطی، آلودگی‌های آب، خاک و هوا گرفته تا آلودگی‌های نوری، صدا و امواج بسیار گوناگون مواجه هست. میدان‌های الکترومغناطیس، یکی از این فاکتورهای محیطی است که می‌تواند اثرات بسیار گسترده‌ای بر روی فعالیت‌های زیستی موجودات زنده داشته باشد (۱).

میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین (ELF-EMF)، محدوده‌ای از میدان‌های الکترومغناطیس هستند که فرکانس‌های ۱ تا ۳۰۰ هرتز را در بر می‌گیرند و به‌وسیلهٔ منابع مختلفی از جمله خطوط نیرو نزدیک مناطق شهری، دستگاه‌های الکتریکی خانگی، دستگاه‌های پزشکی و شبکه‌های انتقال نیرو فشار قوی تولید می‌شوند (۲ و ۳). میانگین خروجی میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین در مناطق عمومی شهری بین ۰/۰۵ تا ۰/۲ میکروتسلا می‌باشد، شدت‌هایی در حد چند میکروتسلا بالاتر ممکن است در زیر خطوط نیرو با ولتاژ بالا تولید شود و محدوده‌های باز هم بالاتر (در حد میلی تسلا) به‌وسیلهٔ چندین وسیله الکتریکی خانگی می‌تواند تولید شود (۴). اثرات بیولوژیکی ELF-EMF به‌ویژه آنهایی که در فیزیولوژی انسان مؤثر هستند هنوز به طور کامل مشخص نشده است. در سال‌های اخیر مطالعات بسیار زیادی در زمینه آثار متفاوت امواج الکترومغناطیس بر ارگان‌های مختلف در رده‌های مختلف موجودات زنده صورت گرفته است اما همچنان نتیجه‌گیری مشخص و واحدی از این مطالعات به‌دست نیامده است. چندین مطالعه نشان داده‌اند که میدان‌های الکترومغناطیس می‌تواند اثرات مثبت و درمانی را بر روی بازسازی استخوان (۵ و ۶)، بهبود زخم در بیماران مبتلا به زخم دیابتی (۷)، استئوآرتریت (۸)، کاهش فشار خون در بیماران دارای فشار خون (۹) و بهبود آسیب نخاعی تروماتیک (۱۰) داشته باشد. از طرف دیگر این فرضیه پذیرفته شده است که ELF-EMF ممکن است ریسک ابتلا به سرطان، سرطان خون کودکان، سمیت ژنتیکی، بیماری آلزایمر و اختلال در عملکرد نورون‌های حرکتی را افزایش دهد (۱۱).

یکی از مهم‌ترین اثرات میدان‌های الکترومغناطیس مورد توجه دانشمندان، اثر این میدان‌ها بر تغییرات شناختی و رفتاری است و یکی از مهم‌ترین عملکردهای رفتاری و شناختی که مورد توجه است، حافظه و یادگیری می‌باشد. ولی نتایج مطالعات اخیر در این باره بسیار ناهماهنگ و حتی متناقض است. تعدادی از مطالعات گذشته اثرات منفی میدان‌های الکترومغناطیس را برروی حافظه نشان داده‌اند (۱۲ و ۱۳) و این درحالی است که مطالعات دیگر نشان داده‌اند که میدان‌های الکترومغناطیسی موجب بهبود عمکرد حافظه و یادگیری شده (۱۴ و ۱۵)، و یا تغییری در چگونگی فرایندهای شناختی همانند یادگیری و حافظه ایجاد نمی‌کند (۱۶). نتایج ضد و نقیض و بحث برانگیز حاصل از این مطالعات، می‌تواند به‌دلیل عدم استفاده از یک دستگاه استاندارد و مشخص به منظور تولید میدان، و یا به‌دلیل استفاده از روش‌های متفاوت بررسی و مطالعه بر گونه‌های متفاوت جانوران باشد.

از مهم‌ترین بخش‌های مغز که مسئول شکل‌گیری یادگیری و حافظه می‌باشند، می‌توان به هیپوکمپ و ناحیه پره فرونتال (پیش پیشانی در لب پیشانی) اشاره

کرد. مرکز چرخه حافظهٔ کوتاه مدّت در هیپوکمپ و چرخه حافظه بلندمدّت در لب پیشانی قرار دارد (۱۹-۱۷). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که آسیب مغزی ایجاد شده در میمون‌ها ممکن است اثرات رفتاری بسیار متفاوتی را نسبت به میمون‌های دیگر ایجاد کنند، زیرا آسیب ساختاری و بافتی مغز می‌تواند سازمان‌بندی و در نهایت عملکردهای اساسی مغز را تغییر دهد (۲۰). همچنین برخی مطالعات نشان داده‌اند که بیماران با اختلالات رفتاری دچار تغییرات ساختاری در نواحی ویژه‌ای از مغز خود هستند، برای مثال نشان داده شده است بیماران دچار اوتیسم دارای حجم و ساختار متفاوتی در نواحی ویژه‌ای از مغز در مقایسه با افراد سالم هستند که تأثیر مستقیمی بر شکل‌گیری اختلالات رفتاری دارد (۲۱ و ۲۲). مدل‌های حیوانی مطالعات با تمرکز بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و عملکردی نشان داده‌اند که میدان‌های الکترومغناطیسی می‌تواند باعث نقص‌های پیشرفته در یادگیری وابسته به عملکرد هیپوکمپ شوند که می‌تواند ناشی از ایجاد تغییر در ساختار این نواحی باشد (۲۳ و ۲۴).

با توجه به مطالعات انجام شده بر روی عملکردهای مختلف حیواناتی مانند مگس سرکه (دروزوفیلا ملانوگاستر) و موش صحرایی، برای سنجش و بررسی عملکردهای عالی‌تر مربوط به انسان نیاز به مطالعه بر روی حیوانات تکامل یافته‌تر احساس می‌شود که یکی از بهترین نمونه‌های قابل بررسی و مطالعه، میمون‌ها هستند که بیشترین تشابه را از نظر عملکردهای عالی‌تر مغز همانند عملکردهای ادراکی-شناختی، حافظه و یادگیری، خشم و غیره نسبت به انسان دارند و نتایج حاصل از این مطالعات می‌تواند به راحتی به انسان تعمیم داده شود. با توجه به گسترش روزافزون استفاده از منابع تولید کننده میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین و وجود نتایج ضد و نقیض حاصل از مطالعات گذشته، بنابراین در تحقیق حاضر توجه ما به تأثیر این محدوده از میدان‌های الکترومغناطیس بر تغییرات رفتاری از جمله حافظه و یادگیری بینایی و همچنین تغییرات آناتومیکی در نواحی ویژه‌ای از مغز به‌ویژه هیپوکمپ و پره فرونتال معطوف شده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد مطالعه

در این مطالعه مداخله‌ای، ۴ میمون‌های نر نژاد رزوس گونه male rhesus macaques (Macaca mulatta) با محدودهٔ سنی ۳ تا ۵ سال و محدودهٔ وزنی ۳ تا ۶ کیلوگرم مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. میمون‌ها در مرکز نگهداری حیوانات، مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله نگهداری شدند. شرایط نگهداری استاندارد برای همه حیوانات رعایت شد: دمای مکان نگهداری به طور ثابت ($۲۳\pm۲^{o}C$) حفظ شد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، میزان کافی آب و ۳ وعده غذای کافی در اختیار حیوانات قرار گرفت. حیوانات در قفس‌های جداگانه‌ای نگهداری شدند. نظافت قفس‌ها و محل نگهداری حیوانات به صورت مرتب و هفته‌ای دوبار انجام پذیرفت. همه میمون‌ها قبل از ورود به آزمایشگاه در برابر بیماری‌های هاری (Rabies)، کزاز (Tetanus)، دیفتری (Diphtheria)، سیاه سرفه (Pertussis) و فلج اطفال (Poliomyelitis) واکسینه شدند.

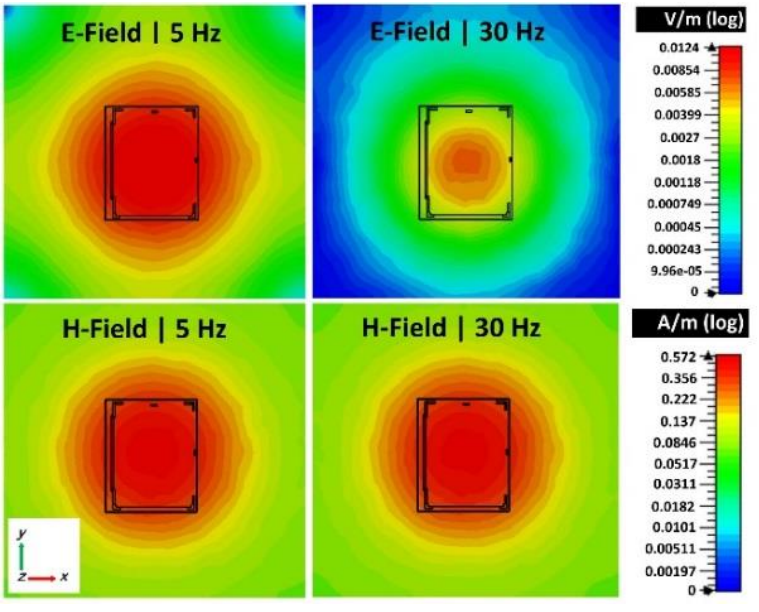
به دلیل استفاده از مداخله‌گر میدان‌های

الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین، میمون‌ها در قفس‌هایی از جنس تفلون که علاوه بر داشتن شرایط خاص نگهداری حیوان از جمله استحکام، قابلیت جابه‌جایی، قابلیت شستشو و همچنین داشتن شرایط خاص برای انجام آزمایشات علمی، دارای بیشترین ویژگی انتقال و کمترین مقاومت (permittivity 2.08 ε) در برابر امواج است، نگهداری شدند.

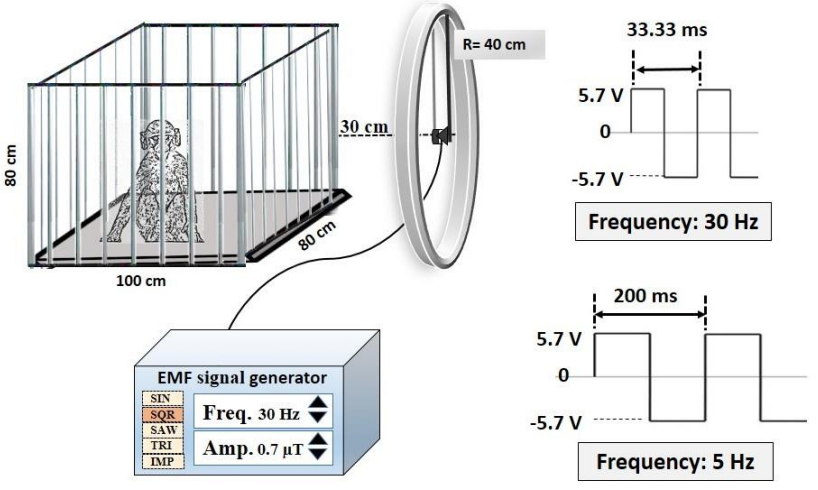
سیستم مبدل میدان الکترومغناطیس

در این مطالعه به منظور ایجاد میدان‌های الکترومغناطیس به صورت تابشی با فرکانس‌های ۵ و ۳۰ هرتز و با شدت ۰/۷ میکروتسلا، یک منبع تولید میدان الکتریکی (سیگنال ژنراتور) و یک آنتن مبدل میدان مغناطیسی طراحی و ساخته شد. به منظور بررسی امواج در داخل قفس یک مدل ابتدایی برای آنتن در نظر گرفته شد و شبیه سازی‌های لازم جهت تست یکنواختی میدان در داخل قفس انجام پذیرفت (شکل ۱).

در نهایت آنتنی که در این پروژه مورد استفاده قرارگرفت یک آنتن دایره‌ای شکل با شعاع ۴۰ سانتی‌متر دارای ۴۰ دور سیم پیچ مسی می‌باشد. آنتن در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از قفس حاوی میمون قرارگرفت. میمون‌ها به راحتی در داخل قفس حرکت کرده در حالی که در معرض میدان ساتع شده توسط آنتن قرار می‌گرفتند. دامنه و تایمینگ پالس‌ها شامل: ±۵/۷ ولت (V) و ۲۰۰ میلی ثانیه (ms) برای فرکانس ۵ هرتز و ±۵/۷ ولت (V) و ۳۳/۳۳ میلی‌ثانیه (ms) برای فرکانس ۳۰ هرتز، بود (شکل ۲).



شکل ۱) شبیه‌سازی توزیع میدان الکتریکی (E) و مغناطیسی (H) در داخل و اطراف قفس (مستطیل در مرکز هر شکل).



شکل ۲) نمای شماتیک ازپالس مربعی ایجاد شده توسط یک سیگنال ژنراتور وانتقال به یک آنتن دایره‌ای شکل به شعاع ۴۰ سانتی‌متر. قفس حاوی میمون در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از قفس قرار گرفته و در معرض پرتو قرار می‌گیرد.

روند کلی انجام مطالعه

به منظور بررسی و سنجش اثرات میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس‌های ۵ و ۳۰ هرتز و شدت ۰/۷ میکرو تسلا، دو میمون A و B برای فرکانس ۳۰ هرتز و دو میمون C و D برای فرکانس ۵ هرتز در نظر گرفته شدند. طول مدت پرتودهی یک ماه، روزانه ۴ ساعت (۱۲–۸ صبح) در نظر گرفته شد. بررسی‌های رفتاری و آناتومیکی، قبل از موج دهی و بعد از موج‌دهی در مورد تمام میمون‌ها انجام پذیرفت.

سنجش یادگیری و حافظه بینایی

به منظور سنجش میزان یادگیری و حافظه بینایی در حیوانات به روش زیر عمل شد: ابتدا باکس مخصوصی از جنس پلکسی گلاس شفاف که حیوانات قادر به دیدن داخل آن باشند طراحی شد. این باکس دارای دریچه‌ای است که حیوان را برای رسیدن به محتوای درون آن به چالش کشیده و یادگیری آن را می‌سنجد. درون باکس غذای مورد علاقه حیوان که قبلاً به صورت محدود به عنوان پاداش به حیوان داده شده (تا برای حیوان به صورت پاداش تعریف شود) قرار گرفت. میمون‌ها بعد از ۱۷ ساعت گرسنگی وارد آزمایش می‌شدند. تست در اتاق ویژه انجام تست‌های رفتاری میمون‌ها در مرکز نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله انجام شد. باکس غذا به صورت عمودی از بیرون به صورت متحرک در فاصله ۱۰ سانتی‌متری از قفس متصل می‌شد (۲۵) (شکل ۳).

شکل ۳) باکس طراحی شده به منظور سنجش میزان یادگیری و حافظه بینایی و باز کردن درب ظرف و دست‌یابی به پاداش توسط میمون

بعد از باز کردن درب، گذاشتن پاداش و بستن درب ظرف در جهت مناسب در مقابل دید حیوان، باکس در اختیار حیوان قرار می‌گرفت. درب باکس به وسیله فنری محکم به بدنه متصل بوده و حیوان باید یاد می‌گرفت برای رسیدن به پاداش باید درب باکس را به سمت بیرون با یک دست باز نگه داشته و با دست دیگر پاداش را بردارد. در صورت رها کردن درب و عدم نگهداری آن توسط میمون، دست‌یابی به پاداش امکان‌پذیر نبود (یافتن درب باکس، یافتن جهت باز کردن درب، نحوهٔ باز کردن درب، باز نگه داشتن درب و دسترسی به پاداش با دست دیگر، از مهارت‌های مورد نیاز برای دست‌یابی به پاداش بود). این فرایند (به مدت ۷ روز و ۵ کار آزمایی (trial) در هر روز) قبل از شروع پرتودهی انجام پذیرفت. تعداد تکرار مورد نیاز برای یادگیری در هر میمون ثبت و مورد بررسی قرار می‌گرفت. اولین یادگیری حیوان (باز کردن صحیح درب ظرف و دسترسی به پاداش) ثبت شد. فرایند ذکر شده برای تمام میمون‌ها (با وجود باز کردن صحیح) تکرار شد و از نقطه‌ای که میمون در تمامی دفعات بعدی به سرعت و از روش صحیح به پاداش دست یافته بود فرایند تبدیل یادگیری به حافظه ثبت شد. بعد از سپری شدن زمان پرتودهی مجدداً همین پروسه آزمایشی تکرار شد با این تفاوت که جهت باز کردن درب باکس تغییر کرد و حیوان مجددا مجبور به یادگیری بود.

انجام تصویربرداری با استفاده از تکنیک تصویربرداری تشدید مغناطیسی (Magnetic Resonance Imaging (MRI) تصویربرداری از مغز میمون‌ها در مرکز تصویربرداری بیمارستان امام خمینی یک هفته قبل و یک هفته بعد از اتمام پرتودهی انجام پذیرفت. میمون‌ها با تزریق داخل عضلانی کتامین هیدروکلرید (۲۰-۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین (۰/۴-۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. تصویربرداری با استفاده از دستگاه تصویربرداری 3-Tesla (Siemens ،Erlangen) در سه محور آگزیال، ساجیتال و کرونال با پروتوکل T2 weighted و ضخامت ۳ میلی‌متر از مغز میمون‌ها انجام پذیرفت. با توجه به بافت‌های هدف مورد مطالعه (هیپوکمپ و پره فرونتال) فاز T2 تصاویر بر اساس اطلس مغز میمون‌های رزوس (۲۶)، شناسایی، آنالیز و گزارش شد.

به منظور سنجش حجم در بافت‌های مورد نظر از نرم‌افزار Image J (NIH ،Maryland ،USA) استفاده شد. عکس‌های ثبت شده در نرم‌افزار image J انتخاب و باز شد. توالی بافت مورد نظر از ابتدا تا انتهای قابل رؤیت در تصاویر انتخاب شده و تمامی تصاویر پشت سرهم الصاق (Stack) شده و سطح هر مقطع تصویری را می‌سنجیم. در مرحله پایانی به منظور اندازه‌گیری حجم بافت مورد نظر تمامی سطوح اندازه‌گیری شده در ضخامت برش‌های انجام شده در هنگام تصویربرداری (۳ میلی‌متر) ضرب شده و در نهایت باهم جمع شده و حجم نهایی بافت مورد نظر به‌دست آمد (۲۹-۲۷).

یافته‌ها

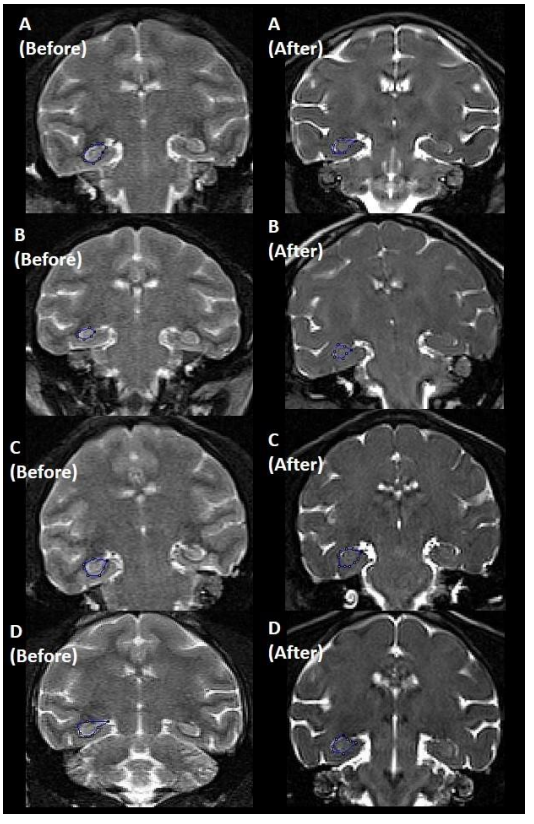
تأثیر میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین بر تغییرات یادگیری و حافظه بینایی

به منظور بررسی تأثیر میدان‌های الکترومغناطیس بر یادگیری و حافظه، آزمایش ۷ روز قبل از دوران پرتودهی و ۷ روز بعد از دوران پرتودهی، در هرروز ۵ کارآزمایی و در مجموع ۳۵ کارآزمایی قبل و ۳۵ کارآزمایی بعد از پرتودهی تست انجام شد. تعداد پاسخ‌های صحیح قبل و بعد از پرتودهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که قرار گرفتن در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۳۰ هرتز منجر به ایجاد تأخیر در شکل‌گیری یادگیری بینایی و کاهش تعداد پاسخ‌های صحیح در دورهٔ بعد از پرتودهی در مقایسه با قبل از پرتودهی می‌شود، همچنین منجر به ایجاد تأخیر در شکل‌گیری حافظه بینایی ناشی از این یادگیری در میمون‌های A و B در مقایسه با دورهٔ قبل از پرتودهی می‌شود. در حالی که قرار گرفتن در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵ هرتز تأثیری بر یادگیری و حافظه بینایی میمون‌های C و D نداشت (جدول ۱).

جدول ۱) تأثیر میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس ۳۰ و ۵ هرتز بر تغییرات یادگیری و حافظه بینایی در میمون‌های رزوس

میمون	مرحله کارآزمایی (trial)	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۵	روز ۶	روز ۷	مجموع پاسخ‌های صحیح
A	قبل از پرتودهی	_	۵t	۲t	+	+	+	+	۲۵
	بعد از پرتودهی	_	_	۵t	۴t	+	+	+	۱۸
B	قبل از پرتودهی	_	_	۳t	۳t	+	+	+	۲۱
	بعد از پرتودهی	_	_	۵t	۴t	۲t	+	+	۱۶
C	قبل از پرتودهی	_	_	_	۴t	۲t	۲t	+	۱۵
	بعد از پرتودهی	_	_	_	۵t	۴t	+	+	۱۳
D	قبل از پرتودهی	_	_	_	_	_	۵t	+	۹
	بعد از پرتودهی	_	_	_	_	۵t	۲t	+	۱۰

جدول ۱) تأثیر میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس ۳۰ و ۵ هرتز بر تغییرات یادگیری و حافظه بینایی در میمون‌های رزوس (M monkeys، 30 Hz: J) و (G monkeys، 5Hz: I). تست به مدت یک هفته و روزانه ۵ کارآزمایی قبل و بعد از پرتودهی انجام پذیرفت و در صورت پاسخ صحیح در اولین کارآزمایی پاسخ به صورت (+) نشان داده شده است.



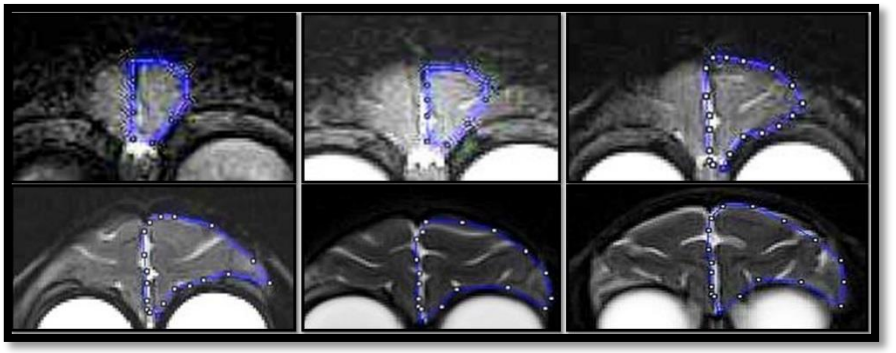
شکل ۴) برش کرونال و نمایش ناحیه هیپوکمپ در میمون‌های A، B، C و D یک هفته قبل از پرتودهی (سمت چپ تصویر) و یک هفته پس از اتمام پرتودهی (سمت راست تصویر)، هیپوکمپ چپ در تصاویر با خط چین آبی مشخص شده است.

تأثیر میدان الکترومغناطیس بر تغییرات آناتومیکی در مغز میمون‌ها

تصویربرداری از مغز میمون‌ها با استفاده از روش تصویربرداری با تشدید مغناطیسی (MRI)، یک هفته قبل از شروع دوران پرتودهی و یک هفته بعد از اتمام دوران پرتودهی انجام شد. حجم سنجی هیپوکمپ (چپ و راست) و پره فرونتال (چپ و راست) در مقطع کرونال با استفاده از نرم افزار Image J بررسی و گزارش شد. نتایج نشان داد که پرتودهی با فرکانس‌های ۵ و ۳۰ هرتز تغییری در جنبه‌های آناتومیکی نواحی هیپوکمپ و فرونتال در میمون‌های رزوس ندارد (شکل‌های ۴ و ۵ و جدول ۲).

جدول ۲) مقایسه مقادیر حجم ناحیه پره فونتال چپ و راست و همین طور هیپوکمپ چپ و راست (میلی‌متر مکعب (mm^3)) قبل و بعد از پرتودهی در میمون‌های A، B، C و D

نواحی مغزی	A(30 Hz)		B(30 Hz)		C(5 Hz)		D(5 Hz)	
	قبل از پرتودهی	بعد از پرتودهی	قبل از پرتودهی	بعد از پرتودهی	قبل از پرتودهی	بعد از پرتودهی	قبل از پرتودهی	بعد از پرتودهی
هیپوکمپ چپ (mm^3)	۲۸۹/۲۵	۲۸۵/۲۵	۲۵۹	۲۹۲/۷۵	۲۹۱/۷۵	۲۹۰	۳۳۳/۷۵	۳۳۹/۲
هیپوکمپ راست (mm^3)	۲۹۲/۵	۲۹۰/۲۵	۲۴۶/۷۵	۲۵۴/۲۵	۳۵۰/۷	۳۶۳/۷۵	۳۴۱/۲۵	۳۴۳/۵
چپ PFA(mm^3)	۵۹۸۹/۲۵	۵۹۲۲/۱	۴۱۷۶	۴۱۸۰/۰۵	۶۲۱۱/۵	۶۲۳۲/۵	۶۲۰۸/۵	۶۲۱۴/۶
راست PFA (mm^3)	۵۹۰۲/۵	۵۹۱۳	۴۱۱۲/۲۵	۴۱۳۵/۰۵	۶۱۹۰/۵	۶۲۰۸/۵	۶۲۱۷/۵	۶۲۲۵/۵



شکل ۵) نمایش برش مغز میمون‌ها در مقطع کرونال و نمایش مجموعه ناحیه پره فرونتال در مقاطع متوالی

بحث

این مطالعه نشان داد که پرتودهی با فرکانس ۳۰ هرتز (شدت ۰/۷ میکروتسلا)، به مدت یک ماه، ۴ ساعت در روز، در میمون‌ها منجر به اختلال در یادگیری و حافظه بینایی می‌شود و این در حالی است که فرکانس ۵ هرتز تأثیری بر این فرایند نداشت. لازم به ذکر است در اکثر مطالعات انجام شده در زمینه اثرات بیولوژیکی ELF-EMF، میدان‌هایی با شدت‌های بالاتر از شدت متوسط میدان‌هایی که انسان در محیط‌های باز و داخل منزل در معرض آن قرار دارد، مورد مطالعه قرار گرفته است. به علاوه بیشتر مطالعات در محیط خارج از بدن (in vitro) و یا حیوانات آزمایشگاهی دیگر مانند مگس سرکه، موش‌های آزمایشگاهی و غیره انجام شده است (۳۲-۳۰). بنابراین مطالعه برروی میمون‌ها از این جهات که نزدیکی و قرابت بسیاری با انسان‌ها دارند از اهمیت بسیار بالایی می‌تواند برخوردار باشد. به علاوه تعداد زیادی از مطالعات قبلی میدان‌های الکتریکی و یا مغناطیسی را به تنهایی و جداگانه مورد مطالعه قرار داده‌اند در حالی که میدان‌های موجود در محیط زندگی انسان غالباً به صورت ترکیب همزمان میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی به صورت تابشی وجود دارد (۳۵-۳۳). این کمبودها مارا به انجام مطالعه‌ای در مدل میمون‌ها، با استفاده از یک سیستم تابشی وابسته به زمان و با یک شدت میدانی که مشابه محدوده شدت موجوددر محیط اطراف زندگی جوامع امروزیست، ترغیب کرد. تعداد مطالعات در زمینه اثرات ELF-EMF برروی فرایندهای شناختی بویژه یادگیری و حافظه بسیار محدود است و نتایج حاصل از این مطالعات بسیار متناقض بوده و یک جمع‌بندی نهایی وجود ندارد از جمله: مطالعات قبلی نشان داده‌اند که پرتودهی مزمن (۱۶ ساعت در روز به مدت دو هفته ۵۰ هرتز، ۱/۵ و ۱ میلی تسلا) منجر به اختلال معنی‌دار در یادگیری اجتنابی غیرفعال (passive avoidance learning) و حافظه در موش‌های نر بالغ می‌شود (۳۶). همچنین مطالعات قبلی نشان داده‌اند که قرار گرفتن کوتاه مدت در معرض تک موج (۶۰دقیقه، ۵۰ هرتز، ۸ میلی تسلا) موجب اختلال در یادگیری اجتنابی غیرفعال در موش‌های نرو ماده می‌شود (۳۷). همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شد که EMF (۱۲ ساعت در روز به مدت ۷ تا ۱۰ روز، ۵۰ هرتز، ۱میلی تسلا) حافظه تشخیص شی را در موش‌ها دچار اختلال می‌کند (۳۸). به علاوه قرار گرفتن در معرض ELF (۴ ساعت در روز به مدت ۴ هفته، ۵۰ هرتز، ۲ میلی تسلا) منجر به ایجاد اثرات شبه اضطرابی بر حافظه کوتاه مدت در

موش‌ها می‌شود که در نتیجه باعث ایجاد اختلال در شکل‌گیری یادگیری وحافظه می‌شود (۳۹). این نتایج درحالی است که در مطالعه دیگری نشان داده شد که قرار گرفتن در معرض EMF (۶۰ روز، ۵۰ هرتز، ۰/۴ میلی تسلا) موجب بهبود اختلال در یادگیری و آسیب‌های پاتولوژیک در بیماران مبتلا به آلزایمر می‌شود (۱۵).

این تفاوت در نتایج به‌دست آمده در بررسی‌های رفتاری ممکن است به این دلیل باشد که رفتارهای شکل گرفته ناشی از فعالیت مناطق مختلف مغز و سیستم‌های انتقال دهنده عصبی بسیار متفاوت کنترل می‌شود. به نظر می‌رسد که EMF/ELF برروی تمامی نواحی مغزی اثرات یکسان و مشابه‌ای ندارد، همچنین تفاوت‌های به‌دست آمده در مطالعات به فرکانس‌ها و شدت‌های متفاوت میدان، نوع و گونه آزمودنی و نوع تست رفتاری طراحی و مطالعه شده وابسته است. اما این مشخص است که سیستم عصبی مرکزی یک عضو الکتریکی است و ایجاد یک جریان الکتریکی اضافه بر این سیستم الکتریکی ممکن است منجر به ایجاد اختلال در عملکرد صحیح این سیستم شود. اساس نوروبیولوژیکال چنین تغییراتی هنوز به طور کامل مشخص نشده است، با این حال از فرضیات اثبات شده در مورد مکانیسم‌های اثر میدان‌های الکترومغناطیس بر حافظه، می‌توان به تغییر در سیستم کولینرژیک در کورتکس فرونتال و هیپوکمپ (۴۰)، تغییر در تراکم خارهای دندریتی هیپوکمپ (۴۱) و همچنین فعالیت نابجای گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA اشاره کرد (۴۰).

از جنبه عصب شناختی علوم رفتاری، شکل‌گیری فرایندهای شناختی همانند توجه، یادگیری و حافظه، یک حلقه کاملاً پیچیده و در هم تنیده‌ای از ساختار مغزی و عملکردهای مغز است. در این اصل پذیرفته شده بیان می‌شود که ساختارهای اناتومیکی موجب شکل‌گیری رفتار شده و رفتارهای تغییر یافته موجب تغییرات ساختاری در مغز می‌شود. ارتباط بین ساختار و عملکرد نشانه‌ای از این حقیقت است که پردازش‌های عصبی اطلاعات ورودی به سیستم عصبی مرکزی وابسته به ترتیب و نحوهٔ شکل‌گیری سلول‌های عصبی در مدارهای مغزی، ارتباطات سیناپسی، ارتباطات آنها با سلول‌های گلیا است (۴۲). ما در این مطالعه به دنبال یاقتن علل ایجاد تغییرات رفتاری به‌ویژه تغییر در یادگیری و حافظه در میمون‌ها در اثر میدان‌های الکترومغناطیس بوده‌ایم. در همین رابطه، با داشتن این فرضیه، که EMF می‌تواند با عملکردهای طبیعی، مدارهای عصبی ویژه‌ای در نواحی خاصی از مغز تداخل کرده و در نتیجه منجر به ایجاد تغییرات ساختاری و در نهایت ایجاد تغییرات پایدار در عملکردهای رفتاری شود، ساختار آناتومیکی مغز میمون‌ها (هیپوکمپ و ناحیه پره فرونتال) را قبل و بعد از اتمام پرتودهی مورد بررسی ماکروسکوپیک قرار دادیم. همان‌طور که در مطالعات قبلی نشان داده شده است که هیپوکمپ و پره فرونتال نقش محوری و اصلی در شکل‌گیری یادگیری و حافظه دارند بنابراین هرگونه تغییر در ساختار این نواحی می‌تواند منجر به تغییر در عمکرد آنها شود.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که قرار گرفتن در معرض میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس‌های ۳۰ و ۵ هرتز (شدت ۰/۷) تغییر پایدار و آناتومیکی در ساختار مغز حیوانات ایجاد نمی‌کند و این درحالی است که میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۳۰ هرتز می‌تواند موجب ایجاد اختلال در یادگیری و حافظه بینایی در میمون‌های رزوس شود که این تغییر ناشی از تغییر

اناتومیکی در مغز حیوانات نبوده، بلکه می‌تواند در اثر تغییر در فاکتورهای بسیار پیچیدهٔ دیگری از جمله سیستم نورواندکرینی بدن ایجاد شده باشد. با این حال ما نمی‌توانیم بدون انجام مطالعات دقیق‌تر تغییرات میکروآناتومیکال نواحی مختلف مغزی، به جمع‌بندی و نتیجه‌گیری جامع و دقیق‌تری برسیم.

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) انجام شد. بدینوسیله از حمایت مرکز مذکور قدردانی می شود.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Repacholi MH, editor An overview of WHO's EMF project and the health effects of EMF exposure. Proceedings of the International Conference on Non-Ionizing Radiation at UNITEN (ICNIR 2003) Electromagnetic Fields and Our Health; October 2003: 20-22.

2.Lacy-Hulbert A, Metcalfe JC, Hesketh R. Biological responses to electromagnetic fields. FASE J. 1998;12(6):395-420.

3.Legros A, Modolo J, Brown S, et al. Effects of a 60 Hz Magnetic Field Exposure Up to 3000 μT on Human Brain Activation as Measured by Functional Magnetic Resonance Imaging. PloS one. 2015;10(7):1-27.

4.Gajšek P, Ravazzani P, Grellier J, et al. Review of Studies Concerning Electromagnetic Field (EMF) Exposure Assessment in Europe: Low Frequency Fields (50 Hz–100 kHz). International Journal of Environmental Research and Public Health. 2016;13(9):875.

5.Hannay G, Leavesley D, Pearcy M. Timing of pulsed electromagnetic field stimulation does not affect the promotion of bone cell development. Bio electro magnetics. 2005;26(8):670-6.

6.De Mattei M, Caruso A, Traina GC, et al. Correlation between pulsed electromagnetic fields exposure time and cell proliferation increase in human osteosarcoma cell lines and human normal osteoblast cells in vitro. Bio electro magnetics. 1999;20(3):177-82.

7.Baker LL, Chambers R, DeMuth SK, et al. Effects of electrical stimulation on wound healing in patients with diabetic ulcers. Diabetes care. 1997;20(3):405-12.

8.Trock DH, Bollet AJ, Dyer RH, et al. double-blind trial of the clinical effects of pulsed electromagnetic fields in osteoarthritis. Journal of rheumatol. 1993;20:456-60.

9.Okano H, Ohkubo C. Modulatory effects of static magnetic fields on blood pressure in rabbits. Bio electro magnetics. 2001;22(6):408-18.

10.Benzel EC, Hart BL, Ball PA, et al. Magnetic resonance imaging for the evaluation of patients with occult cervical spine injury. Journal of neurosurgery. 1996;85(5):824-9.

11.Hardell L, Sage C. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. Biomedicine & pharmacotherapy. 2008;62(2):104-9.

12.Mostafa RM, Mostafa YM, Ennaceur A. Effects of exposure to extremely low-frequency magnetic field of 2 G intensity on memory and corticosterone level in rats. Physiology & behavior. 2002;76(4-5):589-95.

13.Hao D, Yang L, Chen S, et al. Effects of long-term electromagnetic field exposure on spatial learning and memory in rats. Neurological Sciences. 2013; 34(2):157-64.

14.Liu T, Wang S, He L, et al. Chronic exposure to low-intensity magnetic field improves acquisition and maintenance of memory. Neuroreport. 2008;19(5):549-52.

15.Liu X, Zuo H, Wang D, Peng R, Song T, Wang S, et al. Improvement of spatial memory

disorder and hippocampal damage by exposure to electromagnetic fields in an Alzheimer's disease rat model. PloS one. 2015;10(5):e0126963.
16.Akhtary Z, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, et al. Effects of extremely low-frequency electromagnetic fields on learning and memory and anxiety-like behaviors in rats. Koomesh 2011;12(4):435-46. (Persian)
17.Delaney RC, Rosen AJ, Mattson RH, et al. Memory function in focal epilepsy: a comparison of non-surgical, unilateral temporal lobe and frontal lobe samples. Cortex 1980;16(1):103-17.
18.Wheeler MA, Stuss DT, Tulving E. Toward a theory of episodic memory: the frontal lobes and autonoetic consciousness. Psychological bulletin. 1997; 121(3): 331-54.
19.Prabhakaran V, Narayanan K, Zhao Z, et al. Integration of diverse information in working memory within the frontal lobe. Nature neuroscience. 2000; 3(1):85-90.
20.Kolb B, Fantie B. Development of the child's brain and behavior. Handbook of clinical child neuropsychology: Springer; 1997; 17-41.
21.Rojas DC, Peterson E, Winterrowd E, et al. Regional gray matter volumetric changes in autism associated with social and repetitive behavior symptoms. BMC psychiatry. 2006; 6(1):56.
22.Hazlett HC, Poe M, Gerig G, et al. Magnetic resonance imaging and head circumference study of brain size in autism: birth through age 2 years. Archives of general psychiatry. 2005; 62(12): 1366-76.
23.Koivisto M, Krause CM, Revonsuo A, et al. The effects of electromagnetic field emitted by GSM phones on working memory. Neuroreport. 2000;11(8): 1641-3.
24.Rola R, Raber J, Rizk A, Otsuka S, VandenBerg SR, Morhardt DR, et al. Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice. Experimental neurology. 2004; 188(2): 316-30.
25.Lyons DM, Buckmaster PS, Lee AG, et al. Stress coping stimulates hippocampal neurogenesis in adult monkeys. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010; 107(33): 14823-7.
26.Saleem KS, Logothetis NK. Atlas of the rhesus monkey brain in stereotaxic coordinates: a combined mri and histology: Academic Press; 2006.
27.Shanthi V, Singh D. Estimation of Hippocampus Volume from MRI Using ImageJ for Alzheimer's Diagnosis. Atlas Journal of Medical & Biological Sciences 2011; 1 (1): 15–20.
28.Morey RA, Gold AL, LaBar KS, et al. Amygdala volume changes in posttraumatic stress disorder in a large case-controlled veterans group. Archives of general psychiatry. 2012; 69(11):1169-78.
29.Shamy JL, Habeck Ch, Hof PR, et al. Volumetric correlates of spatiotemporal working and recognition memory impairment in aged rhesus monkeys. Cerebral cortex 2011; 21(7): 1559-73.
30.Agarwal A, Desai NR, Makker K, et al. Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an in vitro pilot study. Fertility and sterility. 2009; 92(4): 1318-25.
31.Atli E, Ünlü H. The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the fecundity of Drosophila melanogaster. Turkish Journal of Biology. 2007; 31(1):1-5.
32.McKay BE, Persinger MA, Koren SA. Exposure to a theta-burst patterned magnetic field impairs memory acquisition and consolidation for contextual but not discrete conditioned fear in rats. Neuroscience Letters. 2000;292(2):99-102.
33.Chung YH, Lee YJ, Lee HS, et al. Extremely low frequency magnetic field modulates the level of neurotransmitters. The Korean journal of physiology & pharmacology. 2015;19(1): 15-20.
34.Davanipour Z, Sobel E. Long-term exposure to magnetic fields and the risks of Alzheimer's disease and breast cancer: Further biological research. Pathophysiology. 2009;16(2): 149-56.
35.J O. de LorgeJ. D. Grissett. Behavioral effects in monkeys exposed to extremely low frequency electromagnetic fields .International Journal of Biometeorology 1977; 21(4): 357- 65.

36.Nooshinfar E, Rezaei-Tavirani M, Khodakarim S. Long-term exposure to low frequency electro-magnetic fields of 50-and 217-Hz leads to learning and memory deficits in mice. Journal of Paramedical Sciences. 2012; 3(3): 30 -37

37.Foroozandeh E, Ahadi H, Askari P, et al. Effects of single, brief exposure to an 8 mT electromagnetic field on avoidance learning in male and female mice. Psychology & Neuroscience. 2011;4(1): 143-48

38.Zhao QR, Lu JM, Yao JJ, et al. Neuritin reverses deficits in murine novel object associative recognition memory caused by exposure to extremely low-frequency (50 Hz) electromagnetic fields. Scientific reports. 2015; 5: 11768.

39.He L, Shi H, Liu T, Xu Y, et al. Effects of extremely low frequency magnetic field on anxiety level and spatial memory of adult rats. Chinese medical journal. 2011;124(20): 3362-6.

40.Manikonda PK, Rajendra P, Devendranath D, et al. Influence of extremely low frequency magnetic fields on Ca 2+ signaling and NMDA receptor functions in rat hippocampus. Neuroscience letters. 2007; 413(2): 145-9.

41.Liu X, Zuo H, Wang D, et al. Improvement of spatial memory disorder and hippocampal damage by exposure to electromagnetic fields in an Alzheimer's disease rat model. PloS one. 2015; 10(5): e0126963.

42.Zatorre RJ, Fields RD, Johansen-Berg H. Plasticity in gray and white: neuroimaging changes in brain structure during learning. Nature neuroscience. 2012; 15(4): 528-36.

Original Article

The Effect of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields on Visual Learning, Memory and Anatomical Structures of the Brain in Male Rhesus Monkeys

E. Tekieh (phD)[1*], M. Kazemi (phD)[1], H. Tavakoli (phD) [1], M. Saberi (phD)[2], H. Ghanaati (MD, phD)[3], M. Hajinasrollah (DVM)[4], M. Salehi (phD)[1], H. Aliyary (phD)[5], H. Sahraei (phD)[1**]

[1] Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of pharmacy, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Department of Radiology Medical Imaging Center, Imam Khomeini Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] Animal core facility, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Tehran, Iran
[5] Department of Electrical, Biomedical and Mechatronics Engineering, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran.

(Received 26 Apr, 2017 Accepted 25 Sep, 2017)

Abstract

Background: Humans in modern societies are exposed to substantially elevated levels of electromagnetic field (EMF) emissions with different frequencies. The neurobiological effects of EMF have been the subject of debate and intensive research over the past few decades. Therefore, we evaluated the effects of EMF on visual learning and anatomical dimensions of the hippocampus and the prefrontal area (PFA) in male Rhesus monkeys.

Materials and Methods: In this study, four rhesus monkeys of Macaca mulatta species were irradiated by 0.7 microtesla ELF-EMF either at 5 or 30 Hz, 4 h a day, for 30 days. Alterations in visual learning and memory were assessed before and after irradiation phase by using a box designed for challenging animals for gaining rewards. Furthermore, the monkeys' brains were scanned by MRI technique one week before and one week after irradiation. The monkeys were anesthetized by intramuscular injection of ketamine hydrochloride (10–20 mg/kg) and xylazine (0.2–0.4 mg/kg), and scanned with a 3-Tesla Magnetom, in axial, sagittal, and coronal planes using T2 weighted protocol with a slice thickness of 3 mm. The anatomical changes of hippocampus and the prefrontal area (PFA) were measured by volumetric study.

Results: Electromagnetic field exposure at a frequency of 30 Hz reduced the number of correct responses in the learning process and delayed memory formation in the two tested monkeys. Meanwhile, ELF-EMF at 5 Hz had no effect on the visual learning and memory changes. No anatomical changes were observed in the prefrontal area and the hippocampus at both frequencies.

Conclusion: ELF-EMF irradiation at 30 Hz adversely affected visual learning and memory, probably through factors other than changes in brain structure and anatomy.

Key words: electromagnetic field, hippocampus, prefrontal area, macaca mulatta monkey, visual learning

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Tekieh E, Kazemi M, Tavakoli H, Saberi M, Ghanaati H, Hajinasrollah M, Salehi M, Aliyary H, Sahraei H. The Effect of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields on Visual Learning, Memory and Anatomical Structures of the Brain in Male Rhesus Monkeys. Iran South Med J 2018; 21(1): 40-53

Copyright © 2018 Tekieh, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[**]*Address for correspondence:* Department of Electrical, Biomedical and Mechatronics Engineering, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran. Email: hsahrei1343@gmail.com
*ORCID: 0000-0002-7968-5991
** ORCID: 0000-0001-9235-0013