

مقاله پژوهشی

تأثیر امواج الکترومغناطیس تلفن همراه بر حافظه فضایی، اضطراب و مرگ نورونی در هیپوکمپ در موش‌های نر مدل اختلال استرس پس از سانحه

مریم علیمحمدی^۱، کتابه ابراری^{۱*}، افسانه گودرزی^۲

۱. گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران

۲. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

پذیرش: ۹ دی ۱۴۰۳

دریافت: ۲ آذر ۱۴۰۳

چکیده

زمینه و هدف: امروزه انسان در دریایی از امواج الکترومغناطیس با منشا طبیعی یا مصنوعی غوطه‌ور است و در عین حال زندگی پر استرسی را متحمل می‌شود. هدف این مطالعه بررسی اثر همزمان امواج الکترومغناطیس تلفن همراه و ابتلا به اختلال استرس پس از سانحه بر حافظه فضایی است. **روش‌ها:** ۴۰ سر موش صحرایی به ۴ گروه دست نخورد، گروه بیمار، گروه امواج و گروه بیمار + امواج تقدیم شدند. برای ایجاد اختلال استرس پس از سانحه از مدل تک استرس طولانی مدت استفاده گردید و برای ایجاد امواج الکترومغناطیس تلفن همراه، از یک گوشی تلفن همراه استفاده شد. مدت تابش تلفن همراه ۲۸ روز و روزانه ۵۰ دقیقه بود. ارزیابی حافظه فضایی با ماز آبی موریس و اضطراب با تست میدان باز انجام شد. سنجش میزان بیان ژن‌های BCL₂ و BAX و بافت هیپوکمپ، با RT-qPCR انجام شد.

یافته‌ها: حافظه فضایی در گروه‌های بیمار و بیمار + امواج معنی‌داری در مقایسه با گروه دست‌نخورده کاهش یافت و اضطراب به‌طور معنی‌داری بیشتر شد. دریافت مزمن امواج تلفن همراه، تفاوت معنی‌داری در عملکرد حیوانات در ماز آبی و تست میدان باز در مقایسه با کنترل ایجاد نکرد. نسبت بیان ژن BAX به BCL₂ در گروه بیمار و گروه بیمار + امواج دست‌نخورده بود.

نتیجه‌گیری: تابش امواج تلفن همراه، طی ۲۸ روز و روزانه ۵۰ دقیقه، به‌تهابی تاثیری بر حافظه فضایی و اضطراب موش‌ها و همین‌طور شاخص‌های مرگ نورونی در هیپوکمپ آن‌ها نداشت. همچنین این امواج تاثیری بر تغییر پارامترهای فوق ناشی از اختلال استرس پس از سانحه نداشت.

واژه‌های کلیدی: اختلال استرس پس از سانحه، امواج الکترومغناطیس، تلفن همراه، مرگ نورونی، هیپوکمپ

مقدمه

و واکنش پذیری (مثل مبهوت شدن، احساس تنفس، مشکل در تمرکز، مشکل در به خواب رفتن یا ماندن در خواب) می‌باشند [۲]. از ویژگی‌های برجسته‌ی این بیماری اختلال حافظه است که به عنوان علامت تشخیصی نیز به کار برده می‌شود. مطالعات بالینی بیماران مبتلا نشان داده است که آن‌ها دو اختلال مهم در رابطه با حافظه دارند: اول تجربه مجدد و مداوم و قایع ترومایی و دوم اجتناب از حرکت‌هایی که موجب تروما شده‌اند. بیماران خاطرات ناخوانده حادثه ترومایی را دائم‌آمدآوری می‌کنند و در عین حال توانایی به خاطر آوردن جنبه‌های مهمی از خاطرات مربوط به ترومایی را ندارند. بیماران توانایی خاموشی

اختلال استرس پس از سانحه یک پاسخ تأخیری یا طولانی مدت ناشی از یک رویداد استرس‌زا با ماهیت فوق العاده تهدیدکننده یا فاجعه‌آمیز (مثل جنگ، تصادف شدید) است [۱]. علائم اختلال معمولاً در عرض ۳ ماه پس از حادثه آسیب‌زا یا دیرتر شروع می‌شوند، بیشتر از یکماه طول می‌کشند، و آنقدر شدید هستند که فعالیت‌های روزانه فرد را مختل می‌کنند. علائم این اختلال شامل حداقل یک علامت تجربه مجدد (مثلاً تکرار خاطرات یا رویاهای مربوط به رویداد)، حداقل یک علامت اجتنابی (مثلاً دوری از مکان‌ها، رویدادها یا اشیایی که یادآور تجربه ترومایی هستند) و حداقل دو علامت برانگیختگی

فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز تأثیر معنی‌دار بر حافظه و یادگیری نداشته‌اند [۱۰]. در یک مطالعه دیگر امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز به مدت ۲ ساعت در روز و به مدت ۵ هفته موجب کاهش معنی‌داری در سرعت شناسی موش در ماز آبی شده و تأثیر بر رهایش ناقلان عصبی، بیان ژن، ساختار نهایی پروتئین‌ها، استرس اکسیداتیو و مرگ نورونی در این اثر دخیل دانسته شده‌اند [۱۱].

در زندگی امروزه، مواجهه مکرر با حوادث کنترل نشده می‌تواند موجبات ابتلا به اختلالات روانی ناتوان‌کننده همچون اختلال استرس پس از سانحه را فرهم کند. از طرفی، استفاده از تلفن همراه امری اجتناب‌ناپذیر و روزافزون شده است. مارگو^۱ در تحقیقی که بر روی بیماران انجام داد به این نتیجه رسید که استفاده طولانی مدت از تلفن همراه، باعث افزایش شدت علائم بیماری‌های متفاوتی مانند آزارایم، میگرن، سرطان و غیره خواهد شد و می‌تواند بر اضطراب، بی‌خوابی، افسردگی افراد تأثیر بگذارد [۱۲]. هدف این تحقیق، بررسی اثر امواج الکترومغناطیس تلفن همراه بر حافظه فضایی موش‌های مبتلا به اختلال استرس پس از سانحه و سپس بررسی رخداد مرگ نورونی در هیپوکمپ آنهاست.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایشگاهی

تعداد ۴۰ سرموش بزرگ نر نژاد ویستار با وزن ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم از دانشگاه بقیه الله (ع) تهیه گردید. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، در محدوده‌ی دمایی حدود ۲۰–۲۴ درجه سانتیگراد، رطوبت ۴۰–۵۰ درصد و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. آزمایش‌ها مطابق با موازین بین‌المللی اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاه و مصوب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه خوارزمی با شناسه اخلاق IR.KHU.REC.1402.067 انجام شده است.

طراحی آزمایش

حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه ۱) گروه دست نخورده، حیوانات تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و تحت آموزش و سنجش حافظه فضایی و تست میدان باز قرار گرفتند. گروه ۲) گروه بیمار، حیوانات با مدل

حافظه ترومایی ناخوشایند را ندارند [۳]. تغییرات ساختاری یا عملکردی هیپوکمپ در پاتوفیزیولوژی اختلال استرس پس از سانحه مشاهده شده است. از ویژگی‌های بارز این اختلال کاهش حجم هیپوکمپ، تغییر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عدم تكافوی میزان پاک کننده‌های رادیکال آزاد جهت مقابله با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در هیپوکمپ می‌باشد.

امواج الکترومغناطیسی از میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی ساخته شده‌اند. امواج را به ترتیب افزایش فرکانس، به امواج رادیویی، ریزموچ، فروسخ، نور مرئی، فرابینفش، پرتو ایکس و گاما تقسیم‌بندی می‌کنند [۴] و براساس میزان انرژی و قدرت نفوذ در ماده، به دو گروه پرتوهای یونساز و غیر یونساز دسته‌بندی می‌کنند. پرتوهای یونیزه کردن اتم‌های هوا و یا توان حین عبور از هوا، توانایی یونیزه کردن اتم‌های هوا و یا توان آسیب به باندهای شیمیایی بافت را دارند. پرتوهای غیر یونیزه مثل مایکروویو و پرتوهای رادیویی، انرژی کافی به منظور یونیزاسیون مواد را ندارند و امروزه کاربرد بسیار زیادی دارند. بخشی از این امواج وقتی در هوا یا محیط مادی پراکنده می‌شوند، جذب شده و به گرما تبدیل می‌شوند. پرتوها بر فیزیولوژی ساختارهای بدن اثرات متعدد مضر و مفیدی دارند. کاربردهای درمانی امواج در مواردی مثل تسکین درد، رفع بی‌خوابی و غیره مشخص شده است. تفاوت در این نتایج حاصل تفاوت در نوع، خصوصیات، نحوه کاربرد و در حساسیت و تأثیرپذیری متفاوت بافت‌ها است [۵].

امواج ناشی از تلفن همراه در فرکانس‌های ۳ کیلوهرتز تا ۳۰۰۰ گیگاهرتز در زمرة امواج فرکانس رادیویی غیریونیزه قرار می‌گیرند، اثر تخریبی روی بافت‌های زنده نداشته و فقط منجر به افزایش دمای ناحیه‌ای بدن می‌شوند. نگرانی‌ها درباره اثرات امواج تلفن همراه بر سلامت انسان، با رشد بیش از حد استفاده از تلفن‌های همراه بیشتر شده است [۶]. امواج تلفن همراه می‌توانند در ۵۲ درصد موارد منجر به افزایش و در ۱۷ درصد منجر به کاهش فعالیت نورونی مغز گردند [۷]. میدان‌های مغناطیسی ۷۰۰ مگاهرتز می‌توانند منجر به دگرگونی در فعالیت‌های الکتریکی هیپوکمپ مغز موش شوند [۸]. موش‌های صحرایی که تحت تأثیر امواج با فرکانس ۲۴۵۰ مگاهرتز قرار می‌گیرند از نظر یادگیری و حافظه دچار تغییرات محسوس می‌شوند [۹]. در یک مطالعه گذشته امواج با

^۱ Maregu

تست حافظه گرفته شد. پارامترهای تأخیر زمانی رسیدن به محل سکو، میانگین مدت زمان سپری شده در ربع هدف و تعداد دفعات ورود به ربع هدف سنجیده شد [۱۵]. ثبت داده‌ها، تجزیه و تحلیل اطلاعات و حرکات مختلف حیوان توسط دوربین متصل به رایانه مجهز به نرم افزار اتوویژن نسخه ۵ صورت گرفت.

تست میدان باز

یک جعبه حاوی فضای مربع شکلی به ابعاد $50 \times 50 \times 50$ و دارای دیواره پلکسی گلس وجود دارد که کف آن به ۱۶ مربع مساوی تقسیم شده است. حیوانات از یک گوشه جعبه در آن رها شده و ۵ دقیقه آزادانه در این فضا جستجو می‌کردند. تعداد دفعات عبور از مربع مرکزی و تعداد گذر از خطوط بین مربع‌ها به صورت دستی ارزیابی شد.

استخراج هیبوکمپ

پس از بیهوش نمودن حیوانات با دی‌اکسی‌اتر، سر حیوان با گیوتین جدا و مغز کاملاً سالم خارج می‌شد و بعد، هیبوکمپ از دو نیمکره استخراج می‌شد.

روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز RT-qPCR

نمونه‌های بافتی پس از افزودن تراپیزول هموژنیزه شدند و پس از افزودن کلروفرم ورتكس گردیدند. استخراج RNA از نمونه‌های هیبوکمپ، با استفاده از کیت RNX-Plus (سیناژن تهران)، بر اساس پروتکل کیت، انجام شد. با استفاده از کیت، از RNA نمونه‌های مورد نظر cDNA سنتز گردید. ساخت prime script RT RNA با استفاده از کیت cDNA از روی Primer Blast (Takara, japan) reagent موردنظر توسط برنامه Primer Blast بررسی گردید. سنتز پرایمر توسط شرکت پیشگام انجام شد (جدول ۱).

روش آنالیز آماری

داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین ارائه و آنالیز داده‌های آماری به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شده است. از آنالیز واریانس یک‌طرفه، آنالیز واریانس دو‌طرفه و آزمون آماری تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های

تک‌استرس طولانی مدت به اختلال استرس پس از سانحه مبتلا شدند. ۳) گروه امواج، حیوانات به مدت ۴ هفته، در معرض ۵۰ تماس در روز از تلفن همراه (هر کدام یک دقیقه و در حالت بی صدا) قرار داده شدند [۱۳]. ۴) گروه بیمار به همراه دریافت امواج، حیوانات مبتلا به اختلال استرس پس از سانحه شده و مشابه گروه امواج تحت تابش قرار گرفتند. گروه‌های ۲ تا ۴ پس از ۴ هفته، تحت آموزش و سنجش حافظه فضایی و تست میدان باز قرار گرفتند. مراحل انجام آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.

مدل تک‌استرس طولانی مدت:

از مدل تک‌استرس طولانی مدت جهت القاء اختلال استرس پس از سانحه در موش استفاده شد. این روش در سه مرحله صورت گرفت. در مرحله اول، حیوانات به مدت ۲ ساعت در مقید‌کننده بی‌حرکت نگه داشته شدند. در مرحله دوم، بلا فاصله پس از خارج کردن حیوانات از مقید‌کننده، به مدت ۲۰ دقیقه در ظرفی استوانه‌ای شکل، جهت شناخت اجباری قرار داده شدند. در آخر، حیوانات از ظرف آب خارج شده و در فضای گرم قرار می‌گرفتند تا خشک شوند، و حدود ۱۵ دقیقه بعد از شنا، با دی‌اکسی‌اتر بی‌هوش می‌شدند [۱۴].

نحوه تابش امواج گوشی تلفن همراه

از یک دستگاه موبایل نوکیا مدل ۶۱۵۱ به سال ساخت ۲۰۰۶ و مشخصات ابی جی اس ام ۱۹۰۰-۹۰۰ و جی اس ام ۱۸۰۰ جهت القای امواج به حیوانات استفاده شد. موش‌ها به مدت ۴ هفته در اتاقکی قرار داده می‌شدند و گوشی تلفن همراه در بین قفس‌ها قرار می‌گرفت. حیوانات ۵۰ تماس بی‌پاسخ یک‌دقیقه‌ای در روز از تلفن همراه در حالت بی صدا و با فواصل ۱۵ ثانیه دریافت کردند [۱۳].

ماز آبی موریس

حیوانات به مدت ۴ روز و روزی ۴ بار، تحت آموزش قرار گرفتند. از موقعیت‌های مختلف به صورت تصادفی داخل آب رها شده و به آن‌ها اجازه داده می‌شد به مدت یک دقیقه کاوش کنند و جایگاه سکوی مخفی را یاد گرفته و به خاطر سپارند. شاخص‌های مدت زمان یافتن سکو، مسافت طی شده و سرعت شنا ارزیابی می‌شد. روز پنجم، دراستخر بدون سکو، از آن‌ها

جدول ۱- توالی پرایمر زن های مورد نظر توسط برنامه Primer Blast

محصول (bp)	توالی	زن
۱۴۱	GCTACAGGGTTTCATCCAGG TTGTTGTCCAGITCATCGCC	BAX-پیشرو BAX-معکوس
۱۰۲	GAGTACCTGAACCAGGCATCT	BcL2-پیشرو
۲۱۷	GAAATCAAACAGAGGTCGCA TATCCTCACCAATG ACTCCTA C AG TTG TTCTGGCTCTC	BcL2-معکوس TBP-پیشرو TBP-معکوس

۳- مکرر برای بررسی وجود پایداری و اختلاف معنادار بین گروههای آزمایشی استفاده شد. همچنین از آزمون تکمیلی توکی برای تعیین تفاوت بین هر کدام از گروهها استفاده شد.

نتایج روز تست حافظه

تأثیر زمانی رسیدن به محل سکو

آنالیز واریانس یک طرفه مشخص کرد که اختلاف معناداری بین گروهها وجود دارد $[F(۳,۹) = ۰/۶۸۴, p = ۰/۷۲۷]$. در همه گروهها، از روز اول تا چهارم آموزش، مقدار مسافت طی شده کاهش معنی داری پیدا کرد (نمودار ۱ج).

مکرر برای بررسی وجود پایداری و اختلاف معنادار بین گروههای آزمایشی استفاده شد. همچنین از آزمون تکمیلی توکی برای تعیین تفاوت بین هر کدام از گروهها استفاده شد.

یافته ها

یافته های ماز آبی موریس، روزهای آموزش: مدت زمان یافتن سکو

آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که بین گروههای مختلف $[F(۳,۹) = ۳/۱۵۴, p = ۰/۰۵]$ و بین روزهای آموزش تفاوت معنی داری وجود دارد $[F(۳,۹) = ۰/۰۰۱, p = ۵/۶۳۳]$. اما در برهم کنش روز و گروه تفاوت معنی داری وجود ندارد $[F(۳,۹) = ۰/۳۸۲, p = ۱/۰۸۱]$. آنالیز تکمیلی توکی نشان داد که تنها در روز چهارم آموزش تاخیر زمانی یافتن سکو در گروههای بیمار و بیمار امواج دیده به طور معنی داری از گروه دست نخورده بیشتر بود ($p < 0/۰۵$). حیوانات همه گروهها قادر به یادگیری ماز بودند. بطوریکه مدت زمان یافتن سکو از روز اول تا چهارم، کاهش معنی داری پیدا کرد (نمودار ۱الف).

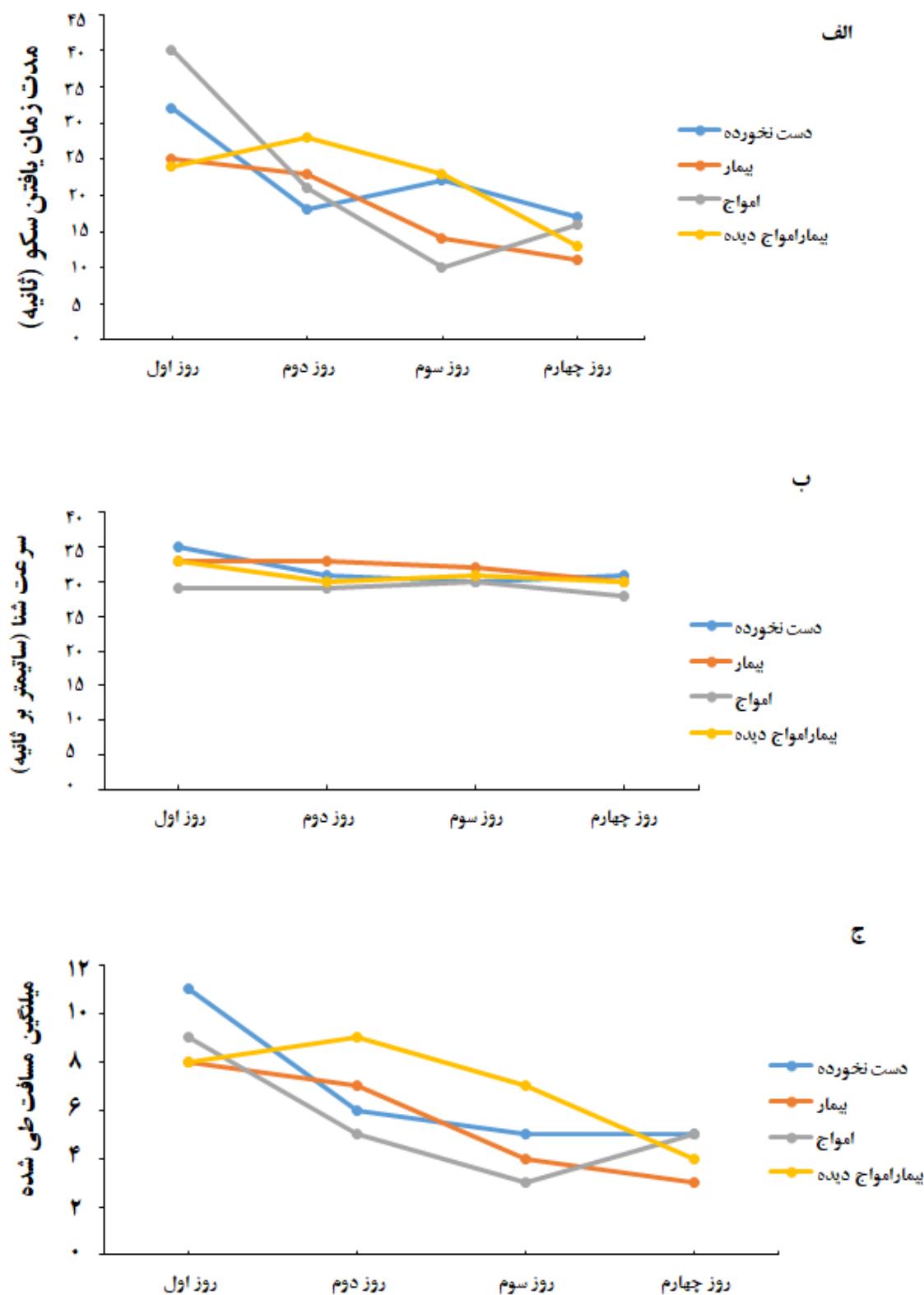
سرعت شنا

آنالیز، اختلاف معناداری برای گروهها $[۰/۲۵۳, p = ۱/۳۸]$ ، روزها $[۰/۲۹۳, p = ۱/۲۵]$ و برهم کنش گروهها و روزها $[۰/۹۸۶, p = ۰/۲۴۹]$ نشان نداد (نمودار ۱ب).

۲- میانگین مدت زمان سپری شده در ربع هدف
براساس نتایج آنالیز واریانس یک طرفه بین گروهها، اختلاف معنی دار است $[F(۳,۲۶) = ۳/۶۱۵, p = ۰/۰۲۶]$. گروه بیمار و گروه بیمار امواج دیده در مقایسه با گروه دست نخورده مدت زمان کمتری در ربع هدف سپری کرده اند ($p < 0/۰۵$). گروه امواج اختلاف معنی داری با گروه دست نخورده نداشت. همچنین گروه بیمار و گروه بیمار امواج دیده نیز اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (نمودار ۲ب).

۳- تعداد دفعات ورود به ربع هدف
آزمون آنالیز واریانس یک طرفه اختلاف معناداری بین چهار گروه مورد آزمایش نشان نداد $[۰/۱۳۵, p = ۰/۰۲۳]$ ($F(۳,۲۶)$ (نمودار ۲ج).

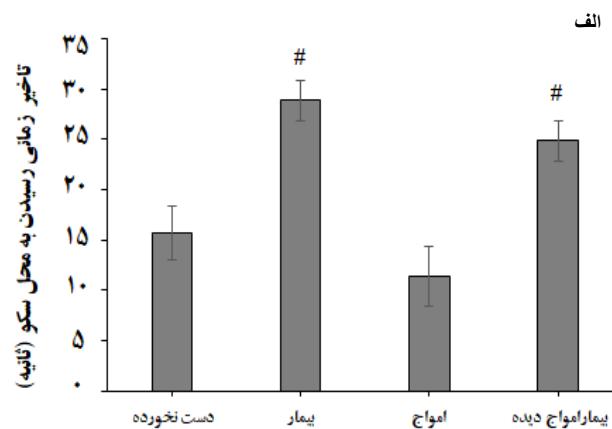
میانگین مسافت طی شده در طول روزهای آموزش آنالیز بیانگر وجود اختلاف معنادار برای گروهها $[۰/۰۴۲, p = ۰/۹۴۳]$ و بین روزهای آموزش $[۰/۰۰۰, p = ۶/۴۵۶]$ است ولی از نظر برهم کنش بین گروهها و روزها اختلاف معناداری وجود ندارد



نمودار ۱ - نتایج روزهای آموزش در ماز آبی موریس. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین نمایش داده شده‌اند. الف- مقایسه گروه‌های مختلف در مدت زمان یافتن سکو، ب- مقایسه گروه‌های مختلف از نظر مدت زمان سرعت شنا، ج- مقایسه گروه‌های مختلف از نظر میانگین مسافت طی شده.

تعداد دفعات گذر از مربع مرکزی در تست میدان باز

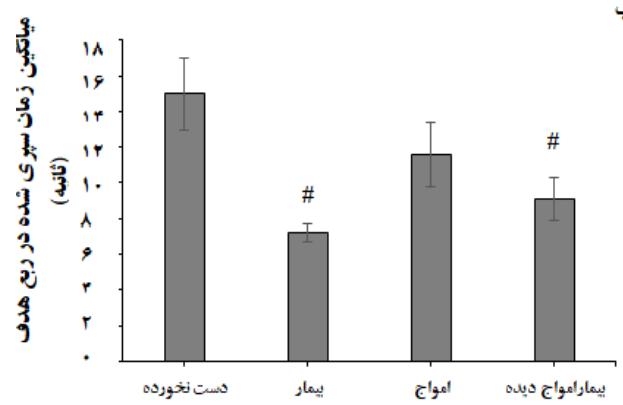
نتایج آزمون واریانس یک طرفه حاکی از وجود اختلاف معنی داری در بین گروه هاست $[F(3,26) = 7.917, p = 0.001]$. گروه های بیمار و بیمار امواج دیده در مقایسه با گروه دست نخورده تعداد دفعات کمتری از مربع مرکزی عبور کرده اند (به ترتیب $p \leq 0.01$ و $p \leq 0.01$). گروه امواج اختلاف معنی داری با گروه دست نخورده نداشت. گروه های بیمار و بیمار امواج دیده نیز اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (نمودار ۳الف).



تعداد دفعات عبور از خطوط جانبی میدان باز

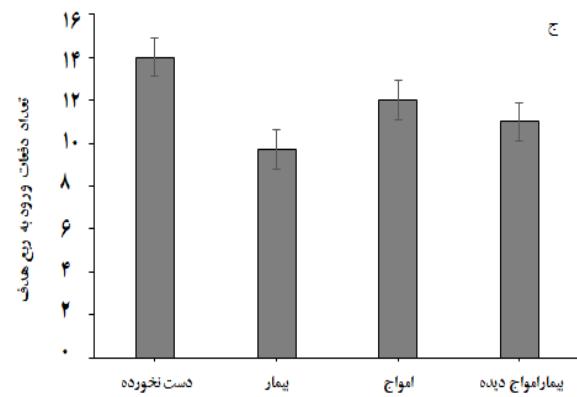
آزمون واریانس یک طرفه اختلاف معنی داری در گروه های مختلف نشان می دهد $[F(3,22) = 3.022, p = 0.048]$.

آزمون توکی نشان داد گروه های بیمار و بیمار امواج دیده به طور معناداری کمتر از گروه دست نخورده از خطوط جانبی زمین باز عبور کرده اند (به ترتیب $p \leq 0.05$ و $p \leq 0.01$). گروه امواج اختلاف معنی داری با گروه دست نخورده نداشت. گروه های بیمار و بیمار امواج دیده نیز اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (نمودار ۳ب).



میزان بیان ژن ها

پس از پایان آزمایشات رفتاری، مغز حیوانات خارج و از هر گروه تعداد ۳ با ۴ حیوان بطور تصادفی انتخاب شد و هیپوکمپ آنها جدا شد. هیپوکمپ ها سریع در ازت مایع فریز شدند و سپس به منظور انجام آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمراز، ریبو نوکلئیک اسید هیپوکمپ های راست و چپ گروه ها استخراج شد. پس از انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز، محصول آن BCL₂ و BAX بر روی ژل برده شد و نتایج آن به صورت کمی مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز واریانس یک طرفه برای بیان ژن BCL₂ بیانگر تفاوت معنی داری بین گروه های مورد آزمایش است $[F(1,10) = 4.432, p = 0.032]$. آزمون تکمیلی توکی اختلاف معنی داری از نظر بیان ژن BCL₂ بین گروه های دست نخورده و گروه های بیمار و بیمار امواج دیده ($p < 0.01$) نشان داد. از این نظر، گروه های امواج با دست نخورده و همچنین گروه های بیمار و بیمار امواج دیده با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند. آنالیز بیان ژن BAX بیانگر تفاوت معنی داری بین گروه های آزمایش است.

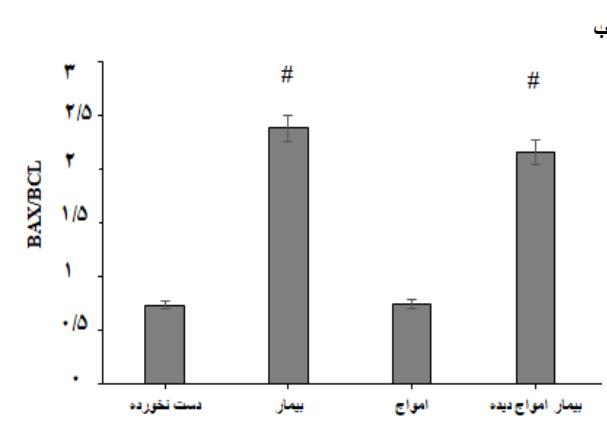
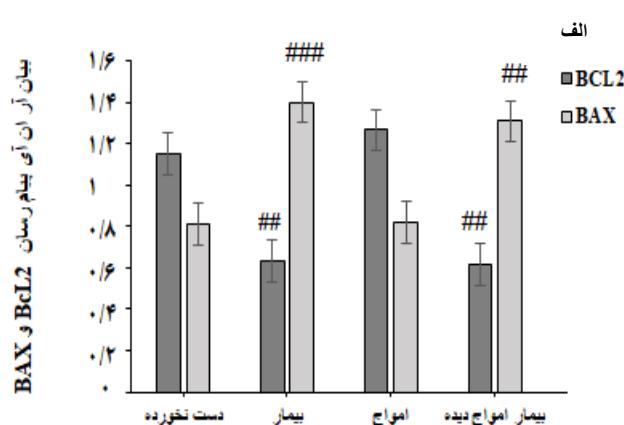


نمودار ۲- نتایج روز تست حافظه در ماز آبی موریس. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین نمایش داده شده اند. الف- مقایسه گروه های مختلف در مدت زمان پیدا کردن محل سکو، ب- مقایسه گروه های مختلف از نظر مدت زمان سپری شده در ربع هدف. ج- مقایسه گروه های مختلف از نظر تعداد دفعات ورود به ربع هدف.

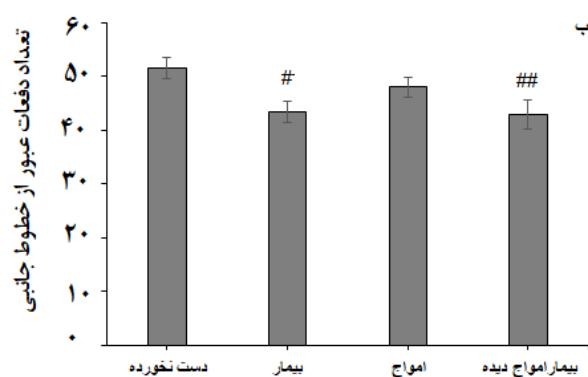
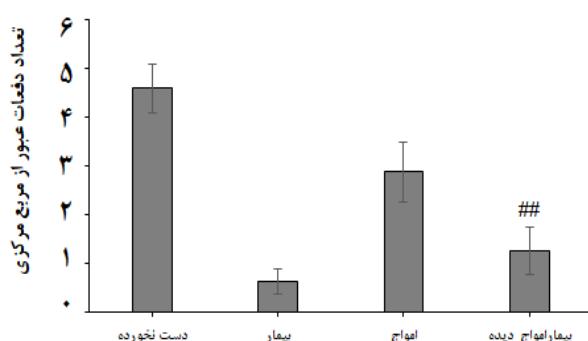
#: تفاوت معنی دار با گروه دست نخورده با $p < 0.05$.

بحث

بررسی حافظه فضایی در حیوانات با استفاده از ماز آبی موریس انجام شد. در طی روزهای آموزش، مدت زمان یافتن سکو برای همه گروه‌ها کاهش معنی‌داری یافت و این نشان داد که هر گروه، در مقایسه با روز اول آموزش خودش، بهتر عمل کرده و قادر به یادگیری محل سکو بوده است. در مطالعه مشابهی که بر روی موش‌های بالغ ویستار انجام شد مشخص شد که در طی ۶ روز آموزش و ۴ بار در روز، گروه‌های دارای بیماری اختلال استرس پس از سانحه هم همانند گروه دست‌نخورده توانایی یادگیری محل سکو را داشتند [۱۶].



نمودار ۴- بررسی بیان ژن‌ها توسط RT-qPCR. الف- ژن‌های BCL2 و BAX. ب- مقایسه نسبت BAX به Bcl2. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نمایش داده شده‌اند (۳=تعداد). #: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.05$. ##: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.01$. ###: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.001$.



نمودار ۳- نتایج تست میدان باز. الف- مقایسه تعداد دفعات گذر از مریع مرکزی. ب- مقایسه تعداد دفعات عبور از خطوط جانبی. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نمایش داده شده‌اند. #: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.05$. ##: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.01$. ###: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.001$.

نمودار ۴- بررسی بیان ژن‌ها توسط RT-qPCR. الف- ژن‌های BCL2 و BAX. ب- مقایسه نسبت BAX به Bcl2. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نمایش داده شده‌اند (۳=تعداد). #: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.05$. ##: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.01$. ###: تفاوت معنی‌دار با گروه دست‌نخورده با $p < 0.001$.

آزمون تکمیلی توکی اختلاف معنی‌داری از نظر بیان ژن BAX بین گروه‌های دست‌نخورده با گروه بیمار ($p < 0.001$) و بیمار امواج دیده ($p < 0.01$) نشان داد. ازین نظر، گروه‌های امواج با دست‌نخورده و همچنین گروه‌های بیمار و بیمار امواج دیده با BAX بیکاری اختلاف معنی‌داری نداشتند (نمودار ۴الف). نسبت BAX به Bcl2 نیز در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشت. آزمون تکمیلی نشان داد که نسبت BAX به Bcl2 در گروه‌های بیمار و بیمار امواج دیده افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دست‌نخورده دارد ($p < 0.05$). ازین نظر، گروه‌های امواج با دست‌نخورده و همچنین گروه‌های بیمار و بیمار امواج دیده با بیکاری اختلاف معنی‌داری نداشتند [$p = 0.05$] (نمودار ۴ب).

[۱۹]. اما یک مطالعه انجام شده نشان داده است که میدان مغناطیسی ۶۰ هرتزی به مدت ۲ بار در هر روز هر بار به مدت یک ساعت و در ۳ روز متوالی، حافظه موش‌های صحرایی را دچار تغییر کرده است [۹]. به نظر می‌رسد که تغییر در پروتکل به کار گرفته شده یعنی مدت زمان و تعداد دفعات تابش امواج، نوع امواج الکترومغناطیس ساطع شده از انواع مختلف تلفن‌های همراه می‌تواند در اختلاف نتایج به دست آمده موثر باشد.

یادگیری حیوانات گروه‌های بیمار امواج دیده در مقایسه با گروه بیمار نشان می‌دهد که حیوانات هر دو گروه در روزهای آموزش مشابه با یکدیگر عمل کردند و از آنجایی که هر دو گروه کاهش زمان از روز اول تا چهارم آموزش خودشان را داشتند، این حیوانات اختلالی در یادگیری نداشتند. مقایسه یادگیری حیوانات گروه بیمار امواج دیده با گروه امواج نشان داد که گروه بیمار امواج دیده نسبت به گروه امواج مدت زمان بیشتری را صرف یافتن محل سکو کرده‌اند. تست حافظه در روز پرپوپ نشان می‌دهد که گروه بیمار امواج دیده همانند گروه بیمار عمل کرده و از این نظر بین آن‌ها اختلاف معناداری وجود ندارد. اما مقایسه گروه‌های بیمار امواج دیده و امواج از این نظر نشان می‌دهد که حیوانات گروه بیمار امواج دیده مدت زمان بیشتری را برای یافتن جایگاه قبلی سکو صرف کرده‌اند و همچنین این مقایسه نشان می‌دهد که گروه بیمار امواج دیده مدت زمان کمتری را در ربع هدف سپری کرده‌اند.

تحقیقات دقیقاً مشابه در این راستا وجود ندارد، اما گزارش‌های مبنی بر اثرگذاری استفاده درازمدت از تلفن همراه بر اختلالات مغزی زمینه‌ای وجود دارد. نحوه استفاده از تلفن همراه و طول مدت بکارگیری آن بشدت در بروز علائم بیماری موثر است. یانگ جیان و همکاران که اثر تابش درازمدت امواج تلفن همراه را در افسردگی و اضطراب بیمارانی که دچار آسیب‌های تروماتیک مغزی شده‌اند بررسی کرده‌اند، یافته‌ند که تابش امواج منجر به بهبود اختلال اضطراب و افسردگی در بیماران گردید [۲۱]. مارگو در تحقیقی به این نتیجه رسید که استفاده طولانی مدت از تلفن همراه باعث افزایش شدت علائم در بیماری‌های متفاوتی مانند آلزایمر، میگرن، نایاروری، سرطان، نقص چشم و غیره خواهد شد و می‌تواند بر اضطراب، بی‌خوابی، افسردگی تأثیر بگذارد [۱۲]. ارتباط بین علائم روانپزشکی با نزدیکی محل سکونت با ایستگاه مخباراتی و اشکال مختلف استفاده از تلفن همراه (نگه داشتن تلفن همراه نزدیک به بدن،

همچنین در مطالعه‌ای دیگر که از روش ترومای زیر آب جهت القای این بیماری استفاده شده بود نیز گروه بیمار قادر به یادگیری محل سکو در طی آموزش، بود [۱۷]. اما وجود تأخیر زمانی بیشتر در حیوانات گروه‌های بیمار و بیمار امواج دیده نسبت به گروه دست‌نخورده نشان داد که توانایی یادگیری در حیوانات بیمار به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. باتوجه به وجود اختلاف معنی‌دار بین حیوانات دچار بیماری و گروه دست‌نخورده، در تست حافظه، مشخص شد که حیوانات بیمار، تأخیر زمانی بیشتری در یافتن محل سکو داشته‌اند و همین‌طور مدت زمان کمتری را در ربع هدف سپری کرده‌اند. این نتایج در راستای سایر مطالعات است که نشان می‌دهد حافظه حیوانات بیمار دچار اختلال می‌گردد [۱۸].

بررسی‌ها نشان می‌دهد که امواج تلفن همراه می‌تواند در ۵۲ درصد موارد منجر به افزایش و در ۱۷ درصد منجر به کاهش فعالیت نورونی مغز گردد [۷]. مطالعات مشابه پیشنهاد می‌نماید که میدان‌های مغناطیسی ۷۰۰ مگااهرتز می‌تواند منجر به دگرگونی در فعالیت‌های الکتریکی هیبوکمپ مغز موش گردد [۸].

در ایران در حال حاضر از جی‌اس‌ام استفاده می‌شود. در این سیستم، انجام ارتباطات رادیویی بین گوشی‌های تلفن همراه و آنتن‌های بی‌تی‌اس با استفاده از پرتوهای الکترومغناطیسی در فرکانس‌های ۹۰۰ و ۱۸۰۰ مگااهرتز صورت می‌گیرد [۱۹]. حیواناتی که در معرض درازمدت امواج تلفن همراه قرار گرفتند، همانند گروه‌های دیگر قادر به یادگیری محل سکو در طی روزهای آموزش بودند. بدین معنی که اختلاف معنی‌داری بین روز اول و روز چهارم آموزش در حیوانات این گروه وجود داشت. اما مقایسه تأخیر زمانی یافتن سکو در روز چهارم آموزش نسبت به گروه دست‌نخورده نشان داد که توانایی یادگیری آن‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه دست‌نخورده ندارد. مشابه نتیجه تحقیق حاضر، مطالعه جدیدی و همکاران نیز نشان داد که تابش ۴۵ دقیقه‌ای یک روزه امواج ۹۵۰ مگااهرتزی تاثیری بر توانایی یادگیری حیوانات نداشت [۲۰]. نتایج ارزیابی حافظه فضایی حیواناتی که در معرض تابش امواج بودند، در تست حافظه، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را در شاخص‌های تأخیر زمانی یافتن محل سکو و زمان سپری شده در ربع هدف با گروه کنترل نشان نداد. در همین راستا، تعدادی از مطالعات، تأثیر امواج الکترومغناطیس را بر عملکرد حافظه تأیید نکرده‌اند

ارتباط مستقیمی بین علائم بیماری اختلال پس از سانحه و کاهش حجم هیپوکمپ وجود دارد. عوامل متعددی منجر به القا مرگ نورونی و تخریب بافت هیپوکمپ می‌شود و تعداد نورون‌های آن را می‌کاهند [۲۴]. نتایج این مطالعه نشان داد که نسبت بیان دو ژن *BCL2* به *BAX* در گروه‌های بیمار و بیمارامواج دیده در مقایسه با گروه دست‌نخورده بطور معنی‌داری بیشتر است. این نسبت در گروه امواج در مقایسه با گروه دست‌نخورده اختلاف معناداری نشان نداد. تفاوتی در گروه‌های امواج و بیمارامواج دیده وجود نداشت، بنابراین تابش مزمن امواج در حیوانات بیمار اثر تقویت‌کننده‌ای در مرگ نورونی هیپوکمپ حیوانات مبتلا نداشت. با وجود مطالعات متعددی که در مورد اثرات میدان‌های الکترومغناطیس بر عملکرد ساختارهای مغزی انجام شده، بسیاری از جنبه‌های این اثرات ناشناخته باقی مانده است. قرارگیری درازمدت در معرض امواج الکترومغناطیس باعث القا مرگ نورونی در ساختار هیپوکمپ می‌شود در واقع میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین می‌تواند به کاهش سلول‌های هرمی‌شکل ناحیه هیپوکمپ و کاهش دندربیت نورون‌های هیپوکمپ، تغییر در سنتز نوروتنسمیترها در پایانه‌های عصبی و گانگلیونی منجر شود [۲۵].

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر مشخص شد که حیوانات مبتلا به اختلال استرس پس از سانحه، در حافظه فضایی دچار اختلال شدند. تابش امواج تلفن همراه در حیوانات سالم و دچار بیماری تاثیری بر یادگیری و حافظه فضایی نداشت. اضطراب در حیوانات بیمار افزایش پیدا کرد ولی امواج تلفن همراه در حیوانات سالم یا مبتلا، نتوانست براین علائم رفتاری تاثیرگذار باشد. ابتلا به بیماری با افزایش نسبت بیان *BAX* به *BCL2* می‌تواند موجب القا مرگ نورونی در بافت هیپوکمپ شده باشد. این شاخص‌ها در حیواناتی که امواج تلفن همراه را به تنها بی دریافت کردند، تحت تاثیر قرار نگرفت. بعارت دیگر، تابش مزمن امواج در حیوانات بیمار اثر تقویت‌کننده‌ای در مرگ نورونی هیپوکمپ حیوانات مبتلا نداشت.

داشتن دو یا چند تراشه و هرگز خاموش نکردن تلفن حتی در حین خواب، در تحقیقات پیشین، مشاهده شد و قرار گرفتن در معرض تابش الکترومغناطیسی تلفن همراه و سایر وسایل الکترونیکی مستقل از جنسیت، تحصیل و وضعیت سیگارکشیدن با علائم روانپردازی همراه است. این علائم عبارتند از: تحریک‌پذیری، افسردگی، ازدستدادن حافظه، سرگیجه، کاهش میل جنسی، سردرد، اختلال در خواب، ضعف و خستگی [۲۶].

تست رفتاری دیگری که مورد ارزیابی قرار گرفت تست میدان باز بود. بدین‌منظور پارامترهای تعداد دفعات عبور از مربع مرکزی و تعداد گذر از خطوط بین مربع‌ها مورد سنجش قرار گرفتند. گروه‌های بیمار و بیمارامواج دیده دفعات کمتری از مربع مرکزی و خطوط جانبی میدان در مقایسه با گروه دست‌نخورده عبور کردند. رفتار کاوشنگرانه در حیوانات گروه‌های بیمار و بیمارامواج دیده نسبت به حیوانات سالم کاهش یافت و به نوعی اضطراب در حیوانات بیمار افزایش یافت. این موضوع در راستای مطالعات قبلی می‌باشد که نشان می‌دهد حیوانات گروه بیمار علائم ترس و اضطراب را نشان داده و رفتار جستجوگرانه کمتری دارند [۲۳].

پارامترهای تعداد دفعات عبور از مربع مرکزی و تعداد گذر از خطوط بین مربع‌ها در آزمون میدان باز، در حیواناتی که در معرض تابش امواج بودند تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشتند. به‌این‌معنی که رفتار کاوشنگرانه و ترس و اضطراب حیوانات تحت تأثیر تابش امواج نگرفته است. این نتیجه مغایر با مطالعات گذشته است که نشان دادند که تابش امواج ۲۸۵۰ مگاهرتزی به مدت ۲۸ روز و هر روز، ۴ ساعت ببروی حیوانات باعث افزایش ترس و اضطراب می‌گردد. البته در تحقیق یانهپی‌هائو و همکاران مشخص شد که تابش طول موج الکترومغناطیسی ۳۰۰ کیلوولت بر متر به مدت ۱۴ روز روی موش‌های ترانس ژن، تأثیری بر علائم شب‌اضطرابی نداشته است [۲۷].

عملکرد حیوانات گروه بیمارامواج دیده در تست میدان باز در مقایسه با گروه بیمار مشابه یکدیگر بود و اختلاف معناداری بین آن‌ها دیده نشد و این امر یعنی رفتار کاوشنگرانه در حیوانات هر دو گروه کاهش پیدا کرده بود. اما مقایسه بین گروه‌های بیمارامواج دیده و امواج نشان داد که حیوانات گروه امواج رفتار کاوشنگرانه بیشتری داشتند.

تعارض در منافع

نویسنده‌گان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسنده‌گان

م.ع.: انجام مطالعه؛ ک.ا.: آنالیز داده‌ها، نگارش و نظارت بر حسن اجرای مطالعه؛ ا.گ.: انجام آزمایشات بیوشیمیایی مولکولی.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشنامه از پایان‌نامه مریم علیمحمدی در مقطع کارشناسی ارشد با شماره ثبت IR.KHU.REC.۱۴۰۲.۰۶۷ می‌باشد.

ملاحظات مالی

این پژوهش با حمایت مالی محقق انجام شد.

فهرست منابع

- [1] Sherin JE, Nemeroff CB, Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. *Dialogues Clin Neurosci* 13 (2011) 263-278.
- [2] Angstman KB, Marcellin A, Gonzalez CA, Kaufman TK, Maxson JA, Williams MD, The impact of posttraumatic stress disorder on the 6-month outcomes in collaborative care management for depression. *J Prim Care Community Health* 7 (2016) 159-164.
- [3] Goodman J, Leong KC, Packard MG, Emotional modulation of multiple memory systems: implications for the neurobiology of post-traumatic stress disorder. *Rev Neurosci* 23 (2012) 627-643.
- [4] Griffiths DJ, Introduction to electrodynamics. 5th ed. Cambridge University Press, 2023: 180-185.
- [5] Mahdavi SM, Sahraei H, Yaghmaei P, Tavakoli H, Effects of electromagnetic radiation exposure on stress-related behaviors and stress hormones in male wistar rats. *Biomol Ther (Seoul)* 22 (2014) 570-576.
- [6] Hardell L, Sage C, Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. *Biomed Pharmacother* 62 (2008) 104-109.
- [7] Beason RC, Semm P, Responses of neurons to an amplitude modulated microwave stimulus. *Neurosci Lett* 333 (2002) 175-178.
- [8] Tattersall JE, Scott IR, Wood SJ, Nettell JJ, Bevir MK, Wang Z, Effects of low intensity radiofrequency electromagnetic fields on electrical activity in rat hippocampal slices. *Brain Res* 904 (2001) 43-53.
- [9] Lai H, Carino MA, Ushijima I, Acute exposure to a 60 Hz magnetic field affects rats' water-maze performance. *Bioelectromagnetics* 19 (1998) 117-122.
- [10] Dubreuil D, Jay T, Edeline JM, Does head-only exposure to GSM-900 electromagnetic fields affect the performance of rats in spatial learning tasks? *Behav Brain Res* 129 (2002) 203-210.
- [11] Wiholm C, Lowden A, Kuster N, Hillert L, Arnetz BB, Akerstedt T, Moffat SD, Mobile phone exposure and spatial memory. *Bioelectromagnetics* 30 (2009) 59-65.
- [12] Maregu N, Long term exposure of mobile phone radiation and human health. *J Inform Eng App* 6 (2016) 22-30.
- [13] Narayanan SN, Kumar RS, Potu BK, Nayak S, Mailankot M, Spatial memory performance of Wistar rats exposed to mobile phone. *Clinics (Sao Paulo)* 64 (2009) 231-234.
- [14] Yamamoto S, Morinobu S, Takei S, Fuchikami M, Matsuki A, Yamawaki S, Liberzon I, Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder. *Depress Anxiety* 26 (2009) 1110-1117.
- [15] Broussard JI, Acion L, De Jesús-Cortés H, Yin T, Britt JK, Salas R, Repeated mild traumatic brain injury produces neuroinflammation, anxiety-like behaviour and impaired spatial memory in mice. *Brain Inj* 32 (2018) 113-122.
- [16] Mohammadi-Farani A, Pourmotabbed A, Ardeshirizadeh Y, Effects of HDAC inhibitors on spatial memory and memory extinction in SPS-induced PTSD rats. *Res Pharm Sci* 15 (2020) 241-248.
- [17] Richter-Levin G, Acute and long-term behavioral correlates of underwater trauma--potential relevance to stress and post-stress syndromes. *Psychiatry Res* 79 (1998) 73-83.
- [18] Jovanovic T, Ressler KJ, How the neurocircuitry and genetics of fear inhibition may inform our understanding of PTSD. *Am J Psychiatry* 167 (2010) 648-662.
- [19] Yang Z, Dang D, Cheng X, Mo J, Zhou X, Fang Y, Peng Y, Analysis of Electromagnetic Radiation of Mobile Base Stations Co-located with High-Voltage Transmission Towers. *Symmetry* 15 (2023) 1252.
- [20] Jadidi M, Firoozabadi SM, Rashidy-Pour A, Bolouri B, Fathollahi Y, Sajadi AA, Does whole body exposure to GSM-950 MHz electromagnetic fields affect acquisition and consolidation of spatial information in rats? *Int J Radiat Res* 7 (2009) 57-62.
- [21] Zhu Y, Jin W, Liu H, Peng D, Ding Z, Tang Z, Effects of electromagnetic fields from mobile phones on depression and anxiety after titanium mesh cranioplasty among patients with traumatic brain injury. *Brain Inj* 30 (2016) 66-73.
- [22] Silva DF, Barros WR, Almeida MC, Rêgo MA, Exposure to non-ionizing electromagnetic radiation from mobile telephony and the association with psychiatric symptoms. *Cad Saude Publica* 31 (2015) 2110-2126.
- [23] Kwon CY, Lee B, Kim SH, Efficacy and underlying mechanism of acupuncture in the treatment of posttraumatic stress disorder: A systematic review of animal studies. *J Clin Med* 10 (2021) 8.
- [24] Hao Y, Liu W, Xu Z, Jin X, Ye Y, Yu C, High-power electromagnetic pulse exposure of healthy mice: Assessment of effects on mice cognitions, neuronal activities, and hippocampal structures. *Front Cell Neurosci* 16 (2022) 89-94.
- [25] Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Ucok K, Kaplan S, Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol Ind Health* 25 (2009) 377-384.

Research paper

Effect of cell phone electromagnetic waves on spatial memory, anxiety and hippocampal apoptosis in male PTSD modeled wistar rats

Maryam Alimohammadi¹, Kataneh Abrari^{1*}, Afsaneh Goudarzi²

1. Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran

*2. Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine,
Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Received: 22 November 2024

Accepted: 29 December 2024

Abstract

Background and Aim: Nowadays, humans are immersed in a sea of electromagnetic waves of natural or artificial origin and at the same time lead a stressful life. The aim of this study is to investigate the simultaneous effect of mobile phone electromagnetic waves and post-traumatic stress disorder (PTSD) on spatial memory.

Methods: For this study, 40 rats were divided into 4 groups: naive group, PTSD group, electromagnetic wave group, and electromagnetic wave + PTSD group. A single long-term stress model was used to induce PTSD, and a cell phone was used to induce cell phone electromagnetic waves. The duration of cell phone radiation was 28 days and 50 min per day. Spatial memory was assessed with the Morris water maze. The anxiety was evaluated by open field test. The expression levels of Bcl2 and BAX genes in hippocampal tissue were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR).

Results: Spatial memory was significantly reduced in the naive and electromagnetic wave + PTSD groups compared to the naive group whereas the anxiety was significantly increased. Chronic exposure to mobile phone waves did not significantly alter the performance of animals in the water maze and open field test compared to controls. The ratio of Bax to Bcl-2 gene expression was higher in the naive and electromagnetic wave PTSD groups than the naive group.

Conclusion: Cell phone radiation, for 28 days and 50 minutes a day, did not have a synergistic effect with post-traumatic stress disorder on spatial memory and anxiety in rats, as well as indicators of neuronal death in their hippocampus.

Keywords: Post-traumatic stress disorder, electromagnetic waves, cell phone, Neural apoptosis, hippocampus

Please cite this article as follows:

Alimohammadi M, Abrari K, Goudarzi A, Effect of cell phone electromagnetic waves on spatial memory, anxiety and hippocampal apoptosis in male PTSD modeled wistar rats. *Iran J Physiol Pharmacol* 8 (2024) 158-168.

*Corresponding authors: k.abrari@khu.ac.ir (ORCID: 0000-0002-8056-9218)