Nova Biologica Reperta 7(2): 169-176 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.2.169

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۲، صفحات ۱۶۹ الی ۱۷۶ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر بیان آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش

شهین اسمعیل‌نژاد و فرهاد مشایخی
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان
مسئول مکاتبات: فرهاد مشایخی، mashayekhi@guilan.ac.ir

چکیده. مایع آمنیوتیک یک مؤلفه ضروری برای تکوین جنین و بلوغ آن طی بارداری است. در بسیاری از مطالعات غربالگری، میزان پروتئین‌های مایع آمنیوتیک به‌عنوان بیومارکر برای ناهنجاری‌های وابسته به بارداری، تعیین می‌شود. آلفافیتوپروتئین، پروتئینی مهم در مایع آمنیوتیک و پلاسما است که توسط کیسه زرده و کبد طی دوران جنینی تولید می‌شود. غلظت آلفافیتوپروتئین در سرم جهت غربالگری سندرم‌های مختلف بررسی می‌شود. گزارش شده است که میدان‌های الکترومغناطیسی بیان ژن را در جنین و بالغین تغییر می‌دهند. هدف از این پژوهش بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی ۵۰ هرتز/۱ میلی‌تسلا بر بیان آلفافیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش است. نمونه مایع آمنیوتیک از موش‌های حامله در روزهای بارداری ۱۶ و ۱۸ بدست آمد. بیان نسبی آلفافیتوپروتئین توسط وسترن بلاتینگ مطالعه شد. نتایج افزایش معنی‌داری در بیان نسبی آلفافیتوپروتئین در نمونه‌های مایع آمنیوتیک تیمار (EMF) در مقایسه با گروه شم و کنترل نشان داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میدان الکترومغناطیسی بیان نسبی آلفافیتوپروتئین را در مایع آمنیوتیک افزایش می‌دهد. همچنین پیشنهاد می‌شود که میدان الکترومغناطیسی بیان آلفافیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک را با تأثیر بر بیان ژن آلفافیتوپروتئین و یا نفوذپذیری سدهای خونی جفتی، تغییر می‌دهد.

واژه‌های کلیدی. اثرات زیستی، بیان پروتئین، تکوین جنینی، میدان مغناطیسی، وسترن بلات

The effects of electromagnetic fields on alpha-fetoprotein expression in the amniotic fluid of mouse embryo

Shahin Esmaeilnezhad & Farhad Mashayekhi
Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan
Corresponding Author: Farhad Mashayekhi, mashayekhi@guilan.ac.ir

Abstract. Amniotic fluid (AF) is essential for fetal development and maturation during pregnancy. The levels of proteins in AF have been determined in many studies to screen for potential biomarkers of pregnancy-associated abnormalities. Alpha-fetoprotein (AFP) is a major AF and plasma protein produced by the yolk sac and the liver during the fetal period. APF serum concentrations are commonly used for screening of many syndromes. Electromagnetic fields (EMFs) were reported to change gene expression in the embryo and in adults. The aim of this research was to assess the effects of 50hertz/1millitesla EMFs on AFP expression in the AF in the mouse embryo. AF samples were obtained from pregnant mice in gestational days 16 and 18. AFP relative expression was studied by western blotting. The results of this study showed that AFP relative expression increases in the EMF-treated AF as compared with either SHAM or control groups. It is concluded that EMF increases the AFP relative expression in the AF. It is also suggested that EMF may change the AFP expression in the AF by altering the expression of genes, including AFP, and/or by affecting the permeability of blood barriers.

Keywords: biological effects, embryonic development, magnetic field, protein expression, Western blot

Received 10.06.2019/ Revised 20.02.2020/ Accepted 29.02.2020/ Published 01.07.2020

دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۰/ اصلاح: ۱۳۹۸/۱۲/۰۱/ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۰/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۴/۱۱

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]

[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]

مقدمه

انسان‌ها به میزان زیادی در محل کار و منازل در معرض انواع میدان‌های الکترومغناطیسی (Electromagnetic fields (EMFs)) قرار دارند؛ از این‌رو ایمنی در برابر این میدان‌ها به یک مسئله مهم در سلامت تبدیل شده است (Gye & Park, 2012). میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر بسیاری از عملکردهای سلولی ازجمله بیان ژن، تکثیر، تمایز سلولی و خواص بیوفیزیک غشای سلولی مانند نفوذپذیری به یون Ca^{2+}، تأثیر می‌گذارد (Destefanis et al., 2015). بررسی‌ها مشخص کرده است که میدان الکترومغناطیسی می‌تواند با افزایش استرس اکسیداتیو موجب ایجاد اختلالات هیستوپاتولوژیک در اندومتر رحم موش شود (Guney et al., 2007). میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر بافت نفوذ می‌کند و بر اعمال سلولی ازجمله رونویسی RNA، سنتز DNA، بیان پروتئین، فسفریلاسیون پروتئین، حرکات میکروویلی‌ها، تکثیر، تمایز و آپاپتوز سلولی تأثیر می‌گذارد (Wei et al., 2016; Martens et al., 2018). همچنین نشان داده شده است که میدان الکترومغناطیسی باعث کوتاه شدن دوره جنینی و تغییر در غلظت برخی هورمون‌ها در سرم خون جنین جوجه می‌شود (Pawlak et al., 2018).

مایع آمنیوتیک (Amniotic fluid (AF)) مایع غلیظ و شفافی است که حفره آمنیوتیک را پر می‌کند. مایع آمنیوتیک برای تکوین جنین و بلوغ آن طی بارداری ضروری است (Underwood et al., 2005; Tong et al., 2009). تعیین مقدار مایع آمنیوتیک یک موضوع مهم در فیزیولوژی جنین و جفت و ابزاری مهم برای مراقبت‌های کلینیکی جنین است (Schrimmer & Moore, 2002). ترکیب بیوشیمیایی مایع آمنیوتیک طی دوران بارداری تغییر می‌کند و پروتئین‌های موجود در این مایع تغییرات فیزیولوژیک و پاتولوژیکی در جنین و مادر را منعکس می‌کند (Shan et al., 2012). بررسی‌ها نشان داده است که جنین منبع اصلی ترکیبات موجود در مایع آمنیوتیک است؛ به همین دلیل میزان ترکیبات موجود در مایع آمنیوتیک به‌منظور غربال‌گری بیومارکرهای مرتبط با ناهنجاری‌های دوران بارداری در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است (Tong et al., 2009).

آلفا-فیتوپروتئین (Alpha-Fetoprotein (AFP)) گلیکوپروتئینی حاوی ۵۹۱ اسیدآمینه با وزن مولکولی ۷۰ کیلودالتون است (Mizejewski, 2001). این پروتئین، پروتئین اصلی پلاسمای جنین است که در ابتدا توسط سلول‌های کیسه زرده و سپس توسط سلول‌های کبد، کلیه‌ها و دستگاه گوارش جنین تولید می‌شود (Hong et al., 1998). آلفا-فیتوپروتئین فراوان‌ترین پروتئین در سرم جنین است که در ماه سوم بارداری غلظت آن به حداکثر ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌رسد (Tomasi, 1977). نقایص لوله عصبی، ناهنجاری‌های کروموزومی و سایر ناهنجاری‌های جنینی را می‌توان با افزایش میزان آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک تشخیص داد (Mizejewski, 2002). بین تکثیر سلولی و تولید آلفا-فیتوپروتئین رابطه نزدیکی وجود دارد (He & Keel, 1994)؛ لذا آلفا-فیتوپروتئین یکی از بیومارکرهای تومور شناخته شده است که جهت تشخیص و نظارت بر درمان تومورهای بدخیم سلول‌های بنیادی و بدخیمی‌های سلول‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Morimoto et al., 1988). آلفا-فیتوپروتئین اعمال متعددی انجام می‌دهد؛ بر طبق فرضیه‌ای با توجه به شباهت ساختاری آن با آلبومین، در انتقال اجزای سرم ازجمله اسیدهای چرب، استروئیدها و فلزات سنگین نقش دارد و به‌عنوان آنالوگ جنینی آلبومین عمل می‌کند (Mizejewski, 2002). آلفا-فیتوپروتئین و آلبومین دو پروتئین مهم و اصلی پلاسما هستند که طی دوره تکوین در مایع مغزی-نخاعی یافت می‌شوند. نشان داده شده است آلفا-فیتوپروتئین طی دوره تکوین رویان در مغز حضور دارد و در روز ۱۵/۵ جنینی در موش صحرایی این پروتئین در مناطق دمی مغز (Caudal Regions)، به‌ویژه در مناطقی همچون هیپوتالاموس، آمیگدال و هیپوکامپ که در این زمان در حال تمایز هستند، حضور دارد و غلظت آن بعد از روز ۱۹/۵ جنینی همزمان با افزایش شدید در غلظت آلبومین سرم کاهش پیدا می‌کند. در مغز غلظت اولئیک اسید آزاد با آلفا-فیتوپروتئین به صورت معکوس در ارتباط است؛ آلفا-فیتوپروتئین مانع از افزایش بیان GAP-43 ناشی از حضور اولئیک‌اسید در سلول‌های عصبی می‌شود که نشان می‌دهد این پروتئین با مهار اثر نوروتروفیک اولئیک اسید، تأثیر آلبومین سرم بر رشد مغز را تعدیل می‌کند (García-García et al.,2015). آلفا-فیتوپروتئین تمایل بالایی برای اتصال به استروژن‌ها دارد، بر طبق پژوهشی در مورد تمایز جنسی مغز جوندگان مشخص شده است که این پروتئین از مغز ماده‌ها در برابر اثرات استروژن محافظت می‌کند (Bakker et al., 2006).

بسیاری از مطالعات تأثیرات میدان‌های الکترومغناطیسی را بر موجودات زنده نشان داده‌اند و با توجه به اهمیّت آلفا-فیتوپروتئین در وقایع تکوینی، هدف از این پژوهش بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی ۱ میلی‌تسلا (۵۰ هرتز) بر بیان آلفا-فیتوپروتئین مایع آمنیوتیک جنین موش است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های مایع آمنیوتیک

موش‌های آزمایشگاهی نژاد Balb/c از انیستیتو پاستور تهران خریداری شد و در اتاق حیوانات دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان و در قفس‌هایی به ابعاد ۳۰×۴۰×۴۰ (عرض×طول×ارتفاع) سانتی‌متر نگهداری شدند. طی دوره نگهداری، دمای اتاق حیوانات بین ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سیکل شبانه روزی به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید. در طی این دوره، غذای مخصوص موش از شرکت بهپرور واقع در تهران خریداری شد.

جهت جفتگیری، موش‌های نر و ماده به صورت تصادفی انتخاب و به مدت ۱۰ ساعت در طول شب در یک قفس قرار داده شدند. مشاهده پلاک واژینال به‌عنوان روز اول جنینی (E0) درنظرگرفته شد. همه روش‌های به‌کارگرفته شده مطابق قانون کار با حیوانات سال ۱۹۸۶ هلسینکی اجرا شد.

برای ایجاد میدان الکترومغناطیسی از سولنوئید با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی‌تسلا استفاده شد. ۳۰ موش باردار Balb/c در دو روز جنینی ۱۵ و ۱۷ به سه گروه تیمار (EMF) کنترل (Control) و شم (SHAM) تقسیم شدند (۱۰ موش در هر گروه). با توجه به دوره اندام‌زایی، دو روز جنینی ۱۵ و ۱۷ که مایع آمنیوتیک تولید شده دارای حجم مناسب برای سنجش است انتخاب شد. گروه تیمار به مدت ۵ ساعت در داخل سولنوئید روشن (۵۰ هرتز /۱ میلی‌تسلا) در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار داده شد. در محیط زندگی معمولی‌ترین فرکانس مورد استفاده توسط دستگاه‌ها بین ۵۰ تا ۶۰ هرتز و شدت جریان آن‌ها نیز بین ۶ تا ۱۰ آمپر متغییر است، لذا شدت میدان الکترومغناطیسی حاصل از این دستگاه‌ها بسته به شدت جریان و فاصله از دستگاه بین ۱ تا ۸ میلی‌تسلا متغییر است (Salzinger, 1994). همچنین براساس پژوهش انجام شده در مورد تأثیر میدان الکترومغناطیسی ۱ میلی‌تسلا بر بیان ژن‌های reelin و Dab1 در کورتکس مغز در حال تکوین جنین (Hemmati et al., 2014)، این شدت از میدان جهت بررسی مورد نظر انتخاب شد. گروه شم به مدت ۵ ساعت داخل سولنوئید خاموش قرار داده شد و گروه کنترل داخل سولنوئید قرار داده نشد. موش‌های باردار ۲۴ ساعت بعد از قرارگیری گروه تیمار در معرض میدان الکترومغناطیسی، در روزهای جنینی ۱۶ و ۱۸ بارداری، بعد از بیهوش شدن با کلروفرم، تشریح شدند و مایع آمنیوتیک جنین‌ها جمع‌آوری شد. بلافاصله پس از جمع‌آوری مایع آمنیوتیک، جهت جداسازی باقی‌مانده‌های سلولی و سلول‌های تخریب شده، نمونه‌های مایع آمنیوتیک به مدت ۱۰ دقیقه با دور RPM ۱۲۰۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و سپس در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین توسط روش وسترن بلاتینگ بررسی شد.

انجام روش وسترن بلاتینگ

برای انجام وسترن بلاتینگ پروتئین‌های مایع آمنیوتیک (50 µg/lane) توسط ژل ۱۰ درصد SDS-پلی آکریل‌آمید جداسازی شد و بر روی غشای پلی‌وینیلیدین دی‌فلوراید انتقال داده شد (Bio-Rad Laboratories Ltd. Hertfordshire, UK). غشاها توسط بافر فسفات‌سالین حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ (Tween 20) و شیرخشک ۵ درصد بلاک شد و توسط آنتی‌بادی مونوکلونال آنتی-آلفا فیتوپروتئین موش (ab46799) (Abcam, Cambridge, UK) (رقت: 1:1,000) و آنتی‌بادی مونوکلونال آنتی-بتا توبولین موش (به‌عنوان کنترل بارگزاری) (Abcam plc, Cambridge, UK) (1:10,000 dilution) تیمار شد و سپس با آنتی‌بادی ثانویه کنژوگه شده با پراکسیداز ترب‌کوهی تیمار شد. با استفاده از سیستم پیشرفته Chemiluminescence Western blotting detection system، پروتئین‌های Immunoreactive قابل مشاهده شدند (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ).

آنالیز دانسیتومتری با اسکن ایمونوبلات‌ها و آنالیز تصاویر انجام شد. تصاویر با استفاده از دوربین دیجیتال متصل به میکروسکوپ (Pixel Cooled CCD Camera, Princeton Instruments) گرفته شد. آنالیز تصاویر و اندازه‌گیری شدت و مقادیر باندهای پروتئینی با استفاده از نرم‌افزار تحلیل‌گر تصویر Metaview V. 4.0، انجام شد.

آنالیز آماری

نتایج ارائه شده به صورت "میانگین ± خطای استاندارد میانگین (SEM)" بیان شده است. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شده است تا اختلاف بین گروه‌ها بررسی شود. تنها مقادیر با $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شده است.

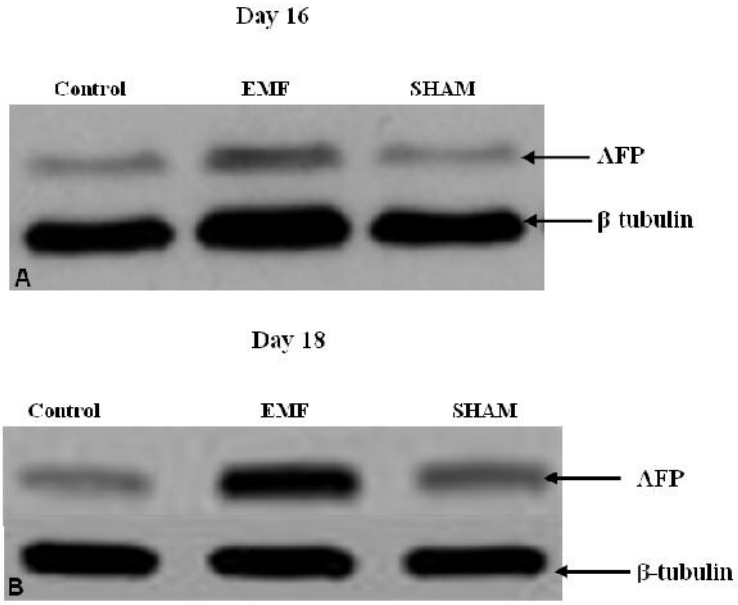
نتایج

بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک در روزهای جنینی ۱۶ و ۱۸ در گروه‌های تیمار، شم و کنترل توسط روش وسترن بلاتینگ تعیین شده است (شکل ۱). بیان نسبی گروه تحت میدان الکترومغناطیسی (تیمار)، شم و کنترل در روز جنینی ۱۶ به ترتیب ۳/۷۲ ± ۲۱/۱۳، ۲/۰۵ ± ۱۱/۲۵ و ۱/۸۵ ± ۱۱/۳۸ (شکل ۲ و جدول ۱) و در روز جنینی ۱۸ به ترتیب ۵/۹۵ ± ۵۹/۵۰، ۳/۵۸ ± ۲۳/۶۳ و ۳/۹۲ ± ۲۳/۲۵ است (شکل ۳ و جدول ۱). افزایش معنی‌داری در بیان نسبی آلفا-

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]

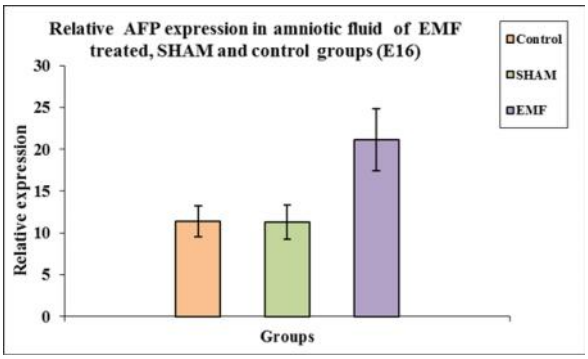
فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک در گروه تحت میدان الکترومغناطیسی در مقایسه با گروه شم و کنترل مشاهده شده است (P <۰/۰۵) (جدول ۱).

نتایج این مطالعه نشان داده است که بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش در گروه تحت میدان الکترومغناطیسی در مقایسه با گروه شم و کنترل افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در روز جنینی ۱۶ افزایش معنی‌داری را در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل (P < 0.0001) و شم (P < 0.0001) نشان داده است. بیان نسبی این پروتئین در روز جنینی ۱۸ افزایش معنی‌داری را در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل (P < 0.0001) و شم (P < 0.0001) نشان داده است. گرچه تغییرات معنی‌داری در بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین بین گروه‌های شم و کنترل در روز جنینی ۱۶ (P = 0.90) و روز جنینی ۱۸ (P = 0.84) مشاهده نشده است.



شکل۱- بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش تحت میدان الکترومغناطیسی(EMF) در روزهای جنینی ۱۶ (A) و ۱۸ (B) بین گروه‌های تیمار، شم و کنترل. بیان پروتئین β-Tubulin (50KDa) به‌عنوان کنترل بارگذاری پروتئین تعیین شد.

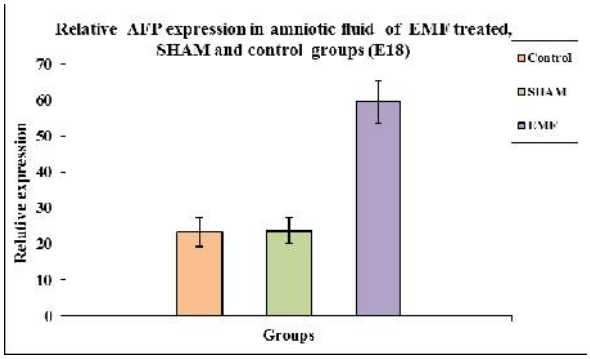
Fig. 1. Relative expression of Alpha-fetoprotein in amniotic fluid in the mouse embryo under the electromagnetic field (EMF) on embryonic days 16 (A) and 18 (B) between control, SHAM and EMF-treated groups. The expression of β-tubulin (50KDa) protein was determined as a control of protein loading.



شکل۲- بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش در روز جنینی ۱۶. بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در روز جنینی ۱۶ افزایش معنی‌داری را در گروه تیمار (تحت میدان) در مقایسه با گروه کنترل و شم نشان می‌دهد (*= P < 0.05).

Fig. 2. Alpha-fetoprotein relative expression in amniotic fluid in the mouse embryo on embryonic day 16. The relative expression of Alpha-fetoprotein in the embryonic day 16 showed a significant increase in the emf-treated group (under the field) as compared with the control and SHAM groups (*= P <0.05).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]



شکل۳- بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش در روز جنینی ۱۸. بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در روز جنینی ۱۸ افزایش معنی‌داری را در گروه تیمار (تحت میدان) در مقایسه با گروه کنترل و شم نشان می‌دهد ($P < 0.05$ =*).

Fig. 3. Alpha-fetoprotein relative expression in amniotic fluid in the mouse embryo on embryonic day 18. The relative expression of Alpha-fetoprotein in the embryonic day 18 showed a significant increase in the emf-treated group (under the field) compared with the control and SHAM groups (*= P <0.05).

جدول۱- بیان نسبی آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش در روز جنینی ۱۶ و ۱۸.

Table 1. Relative expression of Alpha-fetoprotein in amniotic fluid in the mouse embryo on embryonic days 16 and 18.

		Average	SD	P value	
Embryonic day 16	**EMF**	21.13	3.72	**EMF - Control**	1.11×10^{-05}
	SHAM	11.25	2.05	**EMF - SHAM**	1.24×10^{-05}
	Control	11.38	1.85	**SHAM - Control**	0.90
Embryonic day 18	**EMF**	59.50	5.95	**EMF - Control**	8.82×10^{-10}
	SHAM	23.63	3.58	**EMF - SHAM**	7.24×10^{-10}
	Control	23.25	3.92	**SHAM - Control**	0.84

بحث

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که میدان‌های الکترومغناطیسی بر روی موجودات زنده در حال رشد تأثیر دارند. کاهش تعداد سلول‌های لیدیگ و افزایش آپاپتوز در سلول‌های لوله منی‌ساز و سلول‌های زاینده در معرض میدان الکترومغناطیسی مشاهده شده است (Saygin et al., 2011). طبق مطالعات انجام شده میدان الکترومغناطیسی در موش صحرایی موجب کاهش جمعیت سلول‌های زایای اسپرماتوگونی می‌شود (Ozguner et al., 2002). بررسی‌ها مشخص کرده است که میدان الکترومغناطیسی روی لانه‌گزینی و تکوین جنین اثر می‌گذارد (Gye & Park, 2012). طبق بررسی‌های انجام شده مشخص شده است که میدان الکترومغناطیسی ۱ میلی‌تسلا موجب افزایش بیان ژن‌هایی چون *IL20RA*، *PSMC2* و ژن *USP2* و کاهش در بیان ژن‌هایی از جمله ژن‌های *CCL27* و *DNMT3A* در سلول‌های مونوسیت انسان می‌شود، این ژن‌ها در اعمالی چون متابولیسم، فرایندهای فیزیولوژیک، انتقال سیگنال، تکوین، پاسخ به تحریک و همئوستاز سلولی دخیل هستند (Lupke et al., 2006). بیان دو کموکین التهابی MCP-1 و RANTES در مونوسیت‌های انسانی قرارگرفته در معرض میدان ۱ میلی‌تسلا کاهش می‌یابد (Di Luzio et al., 2001). میدان الکترومغناطیسی موجب افزایش بیان *C-fos* در محیط کشت می‌شود (Campbell-Bechler et al., 1998). همچنین مشخص شده است که میدان الکترومغناطیسی ۰/۱ میلی‌تسلا با افزایش بیان mRNA ژن *C-fos* در جنین موش بر تکوین جنین اثرگذار است (Shi et al., 2005). پژوهشی در سال ۲۰۰۶ مشخص کرده است که میدان الکترومغناطیسی فرکانس رادیویی،

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]

۱/۸ گیگا هرتز موجب افزایش بیان ژن *Map2* در نورون‌های موش صحرایی می‌شود (Zhao et al., 2006). طبق پژوهشی در سال ۲۰۰۸ مشاهده شده است که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس مشابه بر رونویسی برخی ژن‌ها در نورون‌های موش صحرایی اثر می‌گذارد. این میدان موجب افزایش در بیان ژن‌های *Mbp* و *Plp*، و همچنین موجب کاهش در بیان *Egr-1* می‌شود (Zhang et al., 2008). بررسی‌ها در سال ۲۰۰۹ مشخص کرده است که میدان الکترومغناطیسی با شدت ۶ میلی‌تسلا، موجب افزایش بیان ژن‌های *p53* و *bax* و کاهش بیان ژن‌های *hsp70* و *bcl-2* می‌شود (Tenuzzo et al., 2009).

بررسی‌ها مشخص کرده است که میدان‌های الکترومغناطیسی می‌توانند دمای بافت مغز را تا بیش از ۱ درجه سانتی‌گراد افزایش دهند، که موجب افزایش برگشت‌پذیر در نفوذپذیری سد خونی-مغزی می‌شود (Stam, 2010). مطالعات *in vitro* مشخص کرده است که میدان‌های الکترومغناطیسی تغییراتی را در نفوذپذیری سدهای خونی-مغزی ایجاد می‌کند و موجب اختلال در انتقال فعال یون‌های سدیم، پتاسیم و یون کلسیم توسط غشای سلولی می‌شود (Bortkiewicz, 2001).

مطالعه *in vivo* نشان داده است که میدان الکترومغناطیسی می‌تواند بیان ژن لوسیفراز را با فعال‌سازی پروموتر hsp70 در ماهیچه‌های چهارسر موش تغییر دهد (Rodríguez-De la Fuente et al., 2012). میدان الکترومغناطیسی موجب کاهش غلظت پلاسمایی کلسترول و فسفولیپید می‌شود و بیان mRNA ژن دی‌آسیل گلیسرول آسیل‌ترانسفراز ۲ (DGAT2) را در کبد کاهش می‌دهد (Hori et al., 2012). بیان ژن لوسیفراز در سلول‌های INER-37 قرارگرفته در معرض میدان الکترومغناطیسی در مقایسه با کنترل افزایش می‌یابد (Heredia-Rojas et al., 2010). مشخص شده است که میدان الکترومغناطیسی موجب القاء تغییرات مولکولی طی تمایز سلول‌های بنیادی عصبی جنینی می‌شود که ممکن است مرتبط با مکانیسم‌های پس از رونویسی تنظیم‌کننده همئوستازسلولی باشد (Ma et al., 2014). میدان الکترومغناطیسی موجب کاهش سطح بیان *β –Catenin* و *c-Fos* در کبد جنین مرغ می‌شود درحالی‌که بیان *GAPDH* بدون تغییر باقی می‌ماند (Lahijani et al., 2011).

تأثیر میدان الکترومغناطیسی بر جنین در حال تکوین در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است. پیشنهاد شده است که میدان الکترومغناطیسی ۱ میلی‌تسلا بیان reelin و Dab1 را در کورتکس مغز در حال تکوین جنین افزایش می‌دهد. این دو ژن در مهاجرت سلول‌های عصبی نقش مهمی را ایفا می‌کنند که می‌توان نتیجه گرفت میدان الکترومغناطیسی با تغییر در بیان ژن‌های reelin و Dab1 در کورتکس در حال تکوین، بر مهاجرت سلول‌های عصبی تأثیر می‌گذارد (Hemmati et al., 2014). در پاسخ به میدان الکترومغناطیسی تغییرات معنی‌داری در بیان پروتئین cyclin D1، p21CIP1 و p16INK4a در سلول‌های مایع آمنیوتیک مشاهده شده است. این پروتئین‌ها در چرخه سلولی نقش دارند (Lange et al., 2004). به خوبی مشخص شده است که سطح بیان آلفا-فیتوپروتئین با بسیاری تغییرات بیولوژیک و پاتولوژیک جنین در ارتباط است و در شرایط خاص بالینی و ژنتیکی سطح این پروتئین در مایع آمنیوتیک تغییر می‌کند (Darouich et al., 2015).

نتیجه گیری

در این تحقیق نشان داده شده است که میدان الکترومغناطیسی ۱ میلی‌تسلا موجب افزایش بیان آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش می‌شود که این امر ممکن است به دلیل تغییر در بیان ژن کدکننده آلفا-فیتوپروتئین و یا تغییر در نفوذپذیری این پروتئین در سد خونی-جفتی یا جنینی-مادری بوده باشد. برای نتیجه‌گیری صحیح‌تر لازم است میزان بیان آلفا-فیتوپروتئین در سطح RNA و همچنین میزان بیان آن در سرم خون جنین و مادر مطالعه شود.

سپاسگزاری

این مطالعه در گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان انجام شد. بدین‌وسیله از همکاری آزمایشگاه‌های بیولوژی تکوین و ژنتیک این دانشکده قدردانی می‌شود. از دانشگاه گیلان جهت حمایت مالی تشکر می‌شود.

REFERENCES

Bakker, J., De Mees, C., Douhard, Q., Balthazart, J., Gabant, P., Szpirer, J. & Szpirer, C. 2006. Alpha-fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens. Nat. Neurosci. 9: 220-226.

Bortkiewicz, A. 2001. A study on the biological effects of exposure mobile-phone frequency EMF. Med. Pr. 52: 101-106.

Campbell-Beachler, M., Ishida-Jones, T., Haggren, W. & Phillips, J.L. 1998. Effect of 60 Hz magnetic field exposure on *c-fos* expression in stimulated PC12 cells. Mol. Cell Biochem. 189: 107-111.

Darouich, A.A., Liehr, T., Weise, A., Schlembach, D., Schleußner, E., Kiehntopf, M. & Schreyer, I. 2015. Alpha-fetoprotein and its value for predicting pregnancy outcomes - a re-evaluation. J. Prenat. Med. 9: 18-23.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]

[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]

[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]

Destefanis, M., Viano, M., Leo, C., Gervino, G., Ponzetto, A. & Silvagno, F. 2015. Extremely low frequency electromagnetic fields affect proliferation and mitochondrial activity of human cancer cell lines. Int. J. Radiat. Biol. 91: 964-972.

Di Luzio, S., Felaco, M., Barbacane, R.C., Frydas, S., Grilli, A., Castellani, M.L., Macrì, M.A., Di Gioacchino, M., Merlitti, D., De Lutiis, M.A., Masci, S., Di Giulio, C., Cacchio, M. & Reale, M. 2001. Effects of 50 Hz sinusoidal electromagnetic fields on MCP-1 and RANTES generated from activated human macrophages. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 14: 169-172.

García-García, A.G., Polo-Hernández, E., Tabernero, A. & Medina, J.M. 2015. Alpha-fetoprotein (AFP) modulates the effect of serum albumin on brain development by restraining the neurotrophic effect of oleic acid. Brain Res. 1624: 45-58.

Guney, M., Ozguner, F., Oral, B., Karahan, N. & Mungan, T. 2007. 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C. Toxicol. Ind. Health. 23: 411-420.

Gye, M.C. & Park, C.J. 2012. Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system. Clin. Exp. Reprod. Med. 39: 1-9.

He, Y. & Keel, B.A. 1994. Biochemical characterization of bovine alpha-fetoprotein and comparison with human alpha-fetoprotein. Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol. 108: 327-336.

Hemmati, M., Mashayekhi, F., Firouzi, F., Ashori, M. & Mashayekhi, H. 2014. Effects of electromagnetic fields on reelin and Dab1 expression in the developing cerebral cortex. Neurol. Sci. 35: 1243-1247.

Heredia-Rojas, J.A., Rodríguez de la Fuente, A.O., Alcocer González, J.M., Rodríguez-Flores, L.E., Rodríguez-Padilla, C., Santoyo-Stephano, M.A., Castañeda-Garza, E. & Taméz-Guerra, R.S. 2010. Effect of 60 Hz magnetic fields on the activation of hsp70 promoter in cultured INER-37 and RMA E7 cells. In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. 46: 758-763.

Hong, S.M., Yu, E., Ahn, H. & Kim, O.J. 1998. Alpha-fetoprotein producing renal cell carcinoma: a case report. J. Korean Med. Sci. 13: 321-324.

Hori, T., Harakawa, S., Herbas, S.M., Ueta, Y.Y., Inoue, N. & Suzuki, H. 2012. Effect of 50 Hz electric field in diacylglycerol acyltransferase mRNA expression level and plasma concentration of triacylglycerol, free fatty acid, phospholipid and total cholesterol. Lipids Health Dis. 11: 68-73.

Lahijani, M.S., Farivar, S. & Khodaeian, M. 2011. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on the histology, apoptosis, and expression of *c-Fos* and *β-catenin* on the livers of preincubated white Leghorn chicken embryos. Electromagn. Biol. Med. 30: 158-169.

Lange, S., Viergutz, T. & Simkó, M. 2004. Modifications in cell cycle kinetics and in expression of G1 phase-regulating proteins in human amniotic cells after exposure to electromagnetic fields and ionizing radiation. Cell Prolif. 37: 337-349.

Lupke, M., Frahm, J., Lantow, M., Maercker, C., Remondini, D., Bersani, F. & Simkó, M. 2006. Gene expression analysis of ELF-MF exposed human monocytes indicating the involvement of the alternative activation pathway. Biochim. Biophys. Acta. 1763: 402-412.

Ma, Q., Deng, P., Zhu, G., Liu, C., Zhang, L., Zhou, Z., Luo, X., Li, M., Zhong, M., Yu, Z., Chen, C. & Zhang, Y. 2014. Extremely low-frequency electromagnetic fields affect transcript levels of neuronal differentiation-related genes in embryonic neural stem cells. PLoS One. 9: e90041.

Martens, A.L., Reedijk, M., Smid, T., Huss, A., Timmermans, D., Strak, M., Swart, W., Lenters, V., Kromhout, H., Verheij, R., Slottje, P. & Vermeulen, R.C.H. 2018. Modeled and perceived RF-EMF, noise and air pollution and symptoms in a population cohort. Is perception key in predicting symptoms? Sci. Total Environ. 639: 75-83.

Mizejewski, G.J. 2001. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. Exp. Biol. Med. 226: 377-408.

Mizejewski, G.J. 2002. Biological role of α-fetoprotein in cancer: prospects for anticancer therapy. Expert Rev. Anticancer Ther. 2: 709-735.

Morimoto, H., Tanigawa, N., Inoue, H., Muraoka, R., Hosokawa, Y. & Hattori, T. 1988. Alpha-fetoprotein-producing renal cell carcinoma. Cancer 61: 84-88.

Ozguner, I.F., Dindar, H., Yagmurlu, A., Savas, C., Gokcora, I.H. & Yucesan, S. 2002. The effect of electromagnetic field on undescended testis after orchiopexy. Int. Urol. Nephrol. 33: 87-93.

Pawlak, K., Nieckarz, Z., Sechman, A., Wojtysiak, D., Bojarski, B. & Tombarkiewicz, B. 2018. Effect of a 1800 MHz electromagnetic field emitted during embryogenesis on chick development and hatchability. Anat. Histol. Embryol. 47: 222-230.

Rodríguez-De la Fuente, A.O., Alcocer-González, J.M., Heredia-Rojas, J.A., Rodríguez-Padilla, C., Rodríguez-Flores, L.E., Santoyo-Stephano, M.A., Castañeda-Garza, E. & Taméz-Guerra, R.S. 2012. Effect of 60 Hz electromagnetic fields on the activity of hsp70 promoter: an *in vivo* study. Cell Biol. Int. Rep. 19: e00014.

Salzinger, k. 1994. Behavioral effects of electromagnetic fields in animal. Biological effects of Electric and Magnetic fields. New York Academic Press, 1st ed. pp: 315-319.

Saygin, M., Caliskan, S., Karahan, N., Koyu, A., Gumral, N. & Uguz, A. 2011. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. Toxicol. Ind. Health. 27: 455-463.

Schrimmer, D.B. & Moore, T.R. 2002. Sonographic evaluation of amniotic fluid volume. Clin. Obstet. Gynecol. 45: 1026-1038.

Shan, L., Fan, Y., Li, H., Liu, W., Gu, H., Zhou, F. & Yuan, Z. 2012. Proteomic analysis of amniotic fluid of pregnant rats with spina bifida aperta. J. Proteomics. 75: 1181-1189.

Shi, Y., Bao, X., Huo, X., Shen, Z. & Song, T. 2005. 50-Hz magnetic field (0.1-mT) alters *c-fos* mRNA expression of early post implantation mouse embryos and serum estradiol levels of gravid mice. Birth Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol. 74: 196-200.

Stam, R. 2010. Electromagnetic fields and the blood-brain barrier. Brain Res. Rev. 65: 80-97.

Tenuzzo, B., Vergallo, C. & Dini, L. 2009. Effect of 6mT static magnetic field on the *bcl-2*, *bax*, *p53* and *hsp70* expression in freshly isolated and in vitro aged human lymphocytes. Tissue Cell. 41: 169-179.

Tomasi Jr, T.B. 1977. Structure and function of alpha-fetoprotein. Annu. Rev. Med. 28: 453-465.

Tong, X.L., Wang, L., Gao, T.B., Qin, Y.G., Qi, Y.Q. & Xu, Y.P. 2009. Potential function of amniotic fluid in fetal development novel insights by comparing the composition of human amniotic fluid with umbilical cord and maternal serum at mid and late gestation. J. Chin. Med. Assoc. 72: 368-373.

Underwood, M.A., Gilbert, W.M. & Sherman, M.P. 2005. Amniotic fluid: not just fetal urine anymore. J. Perinatol. 25: 341-348.

Wei, J., Tong, J., Yu, L. & Zhang, J. 2016. EMF protects cardiomyocytes against hypoxia-induced injury via heat shock protein 70 activation. Chem. Biol. Interact. 248: 8-17.

Zhang, S.Z., Yao, G.D., Lu, D.Q., Chiang, H. & Xu, Z.P. 2008. Effect of 1.8 GHz radiofrequency electromagnetic fields on gene expression of rat neurons. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi 26: 449-452.

Zhao, R., Zhang, S.Z., Yao, G.D., Lu, D.Q., Jiang, H. & Xu, Z.P. 2006. Effect of 1.8 GHz radiofrequency electromagnetic fields on the expression of microtubule associated protein 2 in rat neurons. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi 24: 222-225.

*****

How to cite this article:

Esmaeilnezhad, Sh. & Mashayekhi, F. 2020. The effects of electromagnetic fields on alpha-fetoprotein expression in the amniotic fluid of mouse embryo. Nova Biologica Reperta 7: 169-176. (In Persian).

اسمعیل‌نژاد، ش. و مشایخی، ف. ۱۳۹۹. اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر بیان آلفا-فیتوپروتئین در مایع آمنیوتیک جنین موش. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۱۷۶-۱۶۹.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.8.2]

[DOI: 10.52547/nbr.7.2.169]