

تأثیر پرتوهای الکترومغناطیسی تلفن همراه بر توان زیستی، جنبش و یکپارچی DNA اسپرم انسان (مطالعه آزمایشگاهی)

آیدا فراهانی (MSc)^۱- الیکا معرفت پور (MSc)^۱- دکتر علی حمیدی مدنی (MD)^۲- دکتر رویا فرجی (MD)^۳- دکتر آبین حیدر زاده (MD)^۴

*دکتر محمد هادی بهادری (PhD)^۱

نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات سلوالی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

پست الکترونیک: bahadori.mh@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۲۱

چکیده

مقدمه: گواه رو به رشد مستندی درباره اثر امواج تلفن همراه بر سلامت انسان وجود دارد. با این وجود بررسی اندکی بر این اثر تلفن همراه به صورت مشخص بر بقاء و حرکت اسپرم انسان انجام شد و تأثیر امواج تلفن همراه بر ویرانی DNA اسپرم ارزیابی نشده است.

هدف: تعیین تأثیر تلفن همراه بر بقاء، حرکت و غلظت، چتالی DNA به روش فلوروستن برای تشخیص تراکم غیرطبیعی کروماتین اسپرم.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع تجزیه بوده و نمونه‌های مایع منی از ۱۸ مرد بارور مراجعت کننده به مرکز درمان ناباروری الزهرا (س) تهیه و پس از مایع شدن، هر نمونه به دو گروه مساوی کنترل (نمونه بدون تأثیر امواج) و گروه آزمایش (نمونه در فاصله یک سانتی‌متری امواج تلفن همراه در شرایط مکالمه و روش بدون هیچگونه مانعی به مدت ۱۰ دقیقه) تقسیم شدند. شاخص‌های اسپرم بر مبنای استانداردهای WHO صورت گرفت و غلظت، حرکت (III، II، I)، بقاء و همچنین تخریب DNA هر دو گروه با رنگ‌آمیزی آکریدین اورانٹ (AO) ارزیابی شد. نتایج با آزمون‌های آماری ANOVA یک‌طرفه و توکی با نرم‌افزار SPSS ۱۶ تجزیه و تحلیل و p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج: گروه مورد تاثیر بطور معنی داری حرکت جلو رونده تندرست، حرکت جلو رونده آهسته و میزان بقاء اسپرم را کاهش داده و همچنین بطور معنی داری باعث تحرک اسپرم‌های بدون تحرک و غیرطبیعی می‌شود ($p < 0/05$). افزون بر آن رنگ‌آمیزی آکریدین اورانٹ نشان داد که نمونه‌های گروه مورد تاثیر تخریب DNA بیشتری شامل اسپرم‌های زرد و قرمز در برابر اسپرم‌های سبز در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهند.

نتیجه گیری: امواج الکترومغناطیس تلفن‌های همراه در محیط آزمایشگاهی بطور معنی‌دار بقاء و تحرک اسپرم را کاهش می‌دهد. همچنین، گروه‌های در معرض تاثیر تخریب DNA بیشتری در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهند.

کلید واژه‌ها: تلفن همراه / توان زیستی / دی ان ای

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و چهارم شماره ۹۳، صفحات: ۲۹-۳۵

مقدمه

عوامل محیطی باشد^(۲). از عوامل محیطی ویرانگر، قرارگیری عمومی و شغلی در معرض امواج الکترومغناطیسی است. این امواج با بسامد پایین در جهان منتشر می‌شوند و در ۲۰ سال گذشته با میدان‌های مغناطیسی ایجاد شده از آنها در دسته عوامل مخرب قرار گرفته‌اند^(۳). شواهد نشان می‌دهد که قرارگیری در معرض امواج الکترومغناطیسی با فرکانس پایین می‌تواند بر سلامتی فرد اثر مخربی داشته باشد^(۴). امواج الکترومغناطیسی با اثر بر ژن‌ها^(۵) باعث تغییر ساختار و

ناباروری، ناتوانی زوج‌ها در باردار شدن پس از یک سال آمیزش جنسی منظم و بدون پیشگیری یا ناتوانی فرد در نگهداری حاملگی برای تولد زنده تعریف می‌شود و نزدیک ۱۳-۱۸ درصد زوج‌ها نابارورند^(۱). ۴۰ تا ۵۰ درصد علل ناباروری مربوط به فاکتورهای زنانه، حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد مربوط به فاکتورهای مردانه و ۱۰ تا ۳۰ درصد علل، مشترک بین زنان و مردان یا ایدیوپاتیک است. علل ناباروری مردان ممکن است بر اثر ناهنجاری‌های مادرزادی یا تحت تاثیر

۱. مرکز تحقیقات سلوالی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. گروه اورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳. گروه زنان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۴. گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

که امواج الکترومغناطیس تلفن همراه اثری بر بیضه ندارد (۱۸) بنابراین، با توجه به استفاده گسترده از تلفن همراه در فعالیت روزمره و نتایج متناقض در مورد اثر امواج تلفن همراه بر اسپرم و این که بیشتر مطالعات بر نمونه‌های جانوری بوده و همچنین، مطالعه‌ای درمورد اثرات امواج موبایل بر تمامیت DNA اسپرم انسان گزارش نشده، لذا در این تحقیق اثر امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه بر جنبه‌های مورفولوژی، بقاء و تمامیت DNA اسپرم انسان بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

الف- نمونه‌گیری: در این مطالعه تجربی، نمونه‌های مایع منی از مردان مراجعه کننده به مرکز درمان ناباروری آموزشی _درمانی الزهر(اس) با رعایت نکته خودداری از آمیزش جنسی به مدت ۲ تا ۵ روز به صورت خود تحریکی در ظرف یکبار مصرف استریل دهانه گشاد غیرسمی با گرفتن رضایت‌نامه کتبی، گردآوری شد. سپس، برای مایع شدن، این نمونه‌ها به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه‌هایی بر اساس استانداردهای سازمان بهداشت جهانی وارد مطالعه شدند که متغیرهای طبیعی شامل حجم ۱/۵ میلی لیتر، تعداد کل مساوی و بیشتر از ۳۹ میلیون در هر انزال، غلظت مساوی و بیشتر از ۱۵ میلیون در هر میلی لیتر، تحرک مساوی و بیشتر از ۴۰٪، حرکت رو به جلو مساوی و بیش از ۳۲٪، بقا، مساوی و بیش از ۵۸٪ و مورفولوژی مساوی و بیش از ۴٪ داشتند (۱۹) هر نمونه مایع منی پیش از آزمایش به دو بخش مساوی گروه شاهد (بدون قرارگیری در برابر امواج تلفن همراه) و گروه آزمایش (در معرض امواج تلفن همراه مدل نوکیا ۲۲۲۰ در وضعیت مکالمه به مدت ۱۰ دقیقه با فاصله یک سانتی‌متر بدون هیچ‌گونه مانع فیزیکی تقسیم شدند. سپس نمونه‌ها به شرح زیر آنالیز شدند:

تحرک اسپرم: برای بررسی تحرک اسپرم، پس از مایع شدن نمونه، ۱۰ میکرومتر از نمونه انزال هموژن را بر روی لام شیشه‌ای قرار داده و با لام $22 \times 22\text{ mm}$ پوشانده و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $40\times$ در چندین میدان میکروسکوپی، تعداد اسپرم‌های متحرک دارای حرکت

کارکرد غشای سلول (۶)، متابولیسم آن (۷)، تولید رادیکال‌های آزاد (۸)، بروز سرطان و آسیب ایمونولوژی (۹)، و بروز مشکل در عملکرد دستگاه‌های تناسلی (۱۰) می‌شود. در این بین افرادی هستند که به اثرات سوء امواج میدان‌های الکترومغناطیسی بر روی سلامت مردم اعتراض می‌کنند در حالی که بعضی از محققین بیان می‌کنند که هیچ نتیجه قابل اندازه‌گیری در رابطه با اثرات سوء میدان‌های الکترومغناطیسی وجود ندارد (۱۱). تلفن همراه ابزاری تولیدکننده امواج الکترومغناطیس است که استفاده از آن در سال‌های اخیر نه در بزرگسالان بلکه در کودکان هم به سرعت گسترش پیدا کرده است و عموماً در شرایط نزدیک به بدن انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۲). فرکانس در تلفن‌های همراه بین ۱۸۰۰-۸۰۰ MHz بوده و در محدوده امواج رادیویی و غیریونیزان است. افزون بر آن این گوشی‌ها انتقال‌دهنده‌های رادیوفرکانس (RF) با پیشینه توان بین $0/2$ تا $0/3$ وات هستند که قدرت میدان RF و همچنین قرارگیری در معرض RF با فاصله گرفتن از تلفن به سرعت پایین می‌آید (۱۳). از سوی دیگر بررسی‌ها نشان می‌دهد که تلفن همراه عاملی مهم در ناباروری مردانه تلقی می‌شود. در این راستا پریور و همکاران نشان دادند هنگامی که موش‌های آزمایشگاهی بالغ در معرض میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین قرار می‌گیرند، در روند اسپرماتوژن آنها تغییراتی ایجاد می‌شود. این تغییر افزایش تعداد اسپرماتوسیت‌های ثانویه و تخریب بافت بینایینی بیضه است (۱۴). مطالعه مایلانکوت و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر مایع منی موش صحرایی نشان داد که امواج تابشی از گوشی همراه تاثیری بر تعداد اسپرم ندارد اما منجر به افزایش چشمگیر پراکسیداسیون لیپیدی در بیضه و اپی‌دیدیم می‌شود (۱۵) ولوویاک و همکاران (۱۰) به این نتیجه رسیدند که در افرادی که از تلفن همراه استفاده می‌کنند درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی و حرکت اسپرم کاهش می‌یابد. بعلاوه، yan و همکاران (۱۶) نشان دادند که این امواج تحرک، بقا و درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی را کاهش می‌دهند. مطالعه‌ای مشابه، مدت اثر تلفن همراه را کاهش داد و باعث افزایش آسیب‌پذیری DNA اسپرم و کاهش متغیرهای اسپرم شد (۱۷). از سوی دیگر دستاج و همکاران نشان دادند

(محلول متانل - اسیداستیک گلاسیال به نسبت ۱:۳) به مدت یک شب ثابت و سپس با محلول آکریدین اورانژ ۰/۲ درصد در بافر سیترات فسفاته با $pH = ۲/۵$ به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی می شدند. پس از خشک شدن، لامها با میکروسکوپ فلورسنت در محدوده طول موج ۴۵۰-۴۹۰ نانومتر (Olympus IX71, japan) مشاهده می شدند. اسپرم های با سر سبز، سالم و اسپرم های با سر زرد یا قرمز، دناتوره و ناسالم تلقی می شدند. در هر لام ۱۰۰ اسپرم شمارش شده و درصد اسپرم های دو رشته ای و تک رشته ای تعیین می شد.

آزمون آماری: داده های کمی گروه های شاهد و آزمایش با آزمون های آماری ANOVA یک طرفه و تست توکی بررسی و با نرم افزار SPSS ۱۶ تجزیه و تحلیل و عدد p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی شد.

نتایج

میانگین سنی مردان شرکت کننده در این آزمایش $9/13 \pm ۳/۴$ ساله و همگی متاهل بوده اند. در این آزمایش متوسط حجم مایع منی $۱/۸$ میلی لیتر و متوسط $pH = ۷/۱$ بود. جدول ۱ نشان می دهد که توان تحرک اسپرم ها در گروه تحت تاثیر میدان الکترومغناطیس گوشی همراه، $64/46$ میلیون در میلی لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل ($73/94$ میلیون در میلی لیتر) کاهش معنی دار نشان داده است. همچنین، نتایج، مقایسه با گروه کنترل ($12/63 \pm ۴/۱۷$) در گروه II داشت. در مقایسه با گروه کنترل ($22/81 \pm ۲/۰۳$) در برابر $28/8 \pm ۱/۴۳$ برای گرید IV و $27/64$ در برابر $2/18 \pm ۳/۲۵$ برای گرید III) در حالی که تعداد اسپرم گروه آزمایش ($14/۰۱ \pm ۲/۶۶$) افزایش معنی دار در ارتباط با توان زیستی (میزان بقاء) اسپرم ها، با رنگ آمیزی تریپان بلو و فراوانی نسبی اسپرم های زنده در گروه آزمایش ($85/۴۶$) کاهش معنی دار نشان داد.

تمامیت DNA اسپرم: نتایج در مورد تمامیت DNA

پیشرونده سریع و رو به جلو (گرید IV)، حرکت آهسته پیشرونده و رو به جلو (گرید III)، حرکت درجا یا چرخشی (گرید II) و اسپرم های فاقد تحرک (گرید I) شمارش، سپس، درصد اسپرم های متحرک و غیر متحرک (برای هر نمونه) ثبت شد (۱۹).

تراکم اسپرم: برای تعیین تراکم اسپرم، 10 میکرولیتر از مایع منی به ۹۹۰ میکرولیتر آب قطر اضافه و کاملا هموژن و یکنواخت شد. سپس، 10 میکرولیتر از آن را بر لام نویار (پوشیده شده با لامل) ریخته و برای ثابت شدن، به مدت ۱۵ دقیقه در محیط مرطوب قرار داده شد. شمارش اسپرم ها به کمک میکروسکوپ نوری و با استفاده از عدسی $\times ۴۰$ در مربع های ویژه لام نویار انجام و تعداد اسپرم در هر میلی لیتر مایع منی بر اساس تعداد مربعات مورد شمارش و ضربی فاکتور رقت انجام شد (۱۹).

ارزیابی میزان بقاء (زنده بودن): برای تمایز اسپرم های مرده از زنده به ۲۰۰ میکرولیتر مایع منی، ۱۵۰ میکرولیتر PBS اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه با دور $۶۰/۰$ سانتی فوریه شده و به رسوب حاصل، ۱۵۰ میکرولیتر PBS اضافه، سپس به سوسپانسیون بدست آمده به نسبت مساوی (۱:۱) با محلول تریپان بلوی ۲ درصد رقیق و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه نگهداری می شد. سپس، 10 میکرولیتر از این مخلوط هموژن را روی لام گذاشته و با میکروسکوپ نوری اسپرم های زنده (بدون رنگ) و اسپرم های مرده (رنگ آبی تیره) تفکیک و شمارش می شدند. در هر لام تعداد 100 اسپرم ارزیابی می شود.

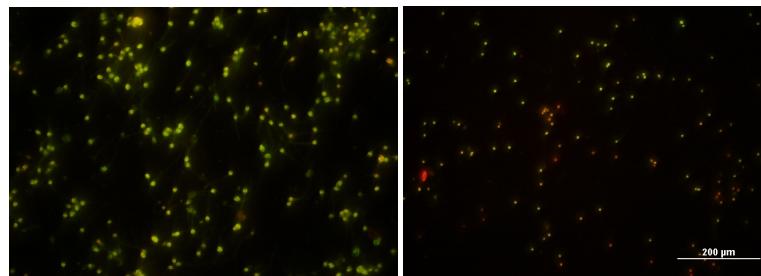
بررسی تمامیت DNA اسپرم: برای بررسی تمامیت DNA از لحاظ تمایز DNA دو رشته ای سالم از DNA تک رشته ای دناتوره شده از رنگ آمیزی آکریدین اورانژ استفاده شد (۲۰). این رنگ آمیزی، کاربرد رنگ متاکروماتیک فلورسنت است که به شکل اختصاصی اسیدهای هسته ای (DNA) دو رشته ای را از اسیدهای هسته ای تک رشته ای جدا می کند. بدین ترتیب که از نمونه های اسپرم گروه شاهد و آزمایش در مرحله اول گسترش تهیه شده، سپس این گسترش در درجه حرارت اتاق خشک می شود. آنگاه گسترش ها در محلول فیکساتیو کاربونی

جدول ۱. میانگین درصد حرکت و بقاء در دو گروه کنترل و تابش تلفن همراه

گروه	میانگین حرکت اسپرم (%) \pm SD (%)				میانگین بقاء (%) \pm SD (%)
	IV	III	II	I	
کنترل	۱/۶ \pm ۰/۰۶	۴/۱۷ \pm ۰/۶۳	۲/۱۸ \pm ۰/۲۵	۲/۸/۸ \pm ۰/۲۳	۹/۴۸ \pm ۰/۴۶
در معرض امواج تلفن همراه	۳/۱۲ \pm ۰/۹۷	۲/۶۶ \pm ۰/۰۱	۱/۹۴ \pm ۰/۲۷	۲۲/۸۱ \pm ۰/۰۳	۷/۸۴ \pm ۰/۵۱

اسپرم‌های گروه آزمایش حاوی DNA تکرشته‌ای و دناتوره می‌باشند. همچنین در مقایسه گروه شاهد با گروه آزمایش، اسپرم‌های ۲ رشته‌ای سالم (سبز رنگ) به تعداد بیشینه دیده می‌شوند. (شکل ۱، A, B-۱)

سالم در مقابل DNA تکرشته‌ای دناتوره نشان داد که اسپرم‌هایی که تحت تاثیر امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه قرار گرفته‌اند در مقایسه با گروه کنترل حاوی تعداد بیشتری اسپرم به رنگ قرمز و زرد هستند. این رنگ نشان می‌دهد که



شکل ۱: الف(راست)- تمامیت DNA اسپرم انسان در گروه کنترل. همان‌طور که در شکل نشان داده می‌شود اکثر اسپرم‌ها سبز رنگ (حاوی DNA رشته‌ای سالم هستند. شکل ب (چپ) اسپرم گروهی که در معرض امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه قرار گرفته‌اند و همان‌طور که ملاحظه می‌شود اکثر اسپرم‌ها به رنگ زرد و نارنجی دیده می‌شود که بیانگر DNA دناتوره شده و همچنین DNA تکرشته‌ای می‌باشد. رنگ‌آمیری آکریدین اورانژ و بزرگنمایی $\times 200$ (تصویر به صورت رنگی در فایل الکترونیک مقاله قابل رویت می‌باشد)

اسپرم‌های گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل با نتایج تحقیق آگاروال و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد (۱۷). این پژوهشگران نشان دادند امواج الکترومغناطیسی ناشی از تلفن همراه با کاهش معنی‌دار پارامترهای اسپرم شامل حرکت، بقا و تخریب DNA اسپرم همراه است. آنان، همچنین، افزایش معنی‌داری در بالا رفتن توان کل آنتی‌اکسیدان و گونه‌های فعال اکسیژن نشان دادند اما ارتباط معنی‌داری بین تخریب DNA و میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدان پیدا نشد. باید توجه داشت که تمامیت DNA انسانی یکی از متغیرهای مهم کیفیت اسپرم در پیش‌بینی ناباروری محسوب می‌شود (۲۲). یافته‌های مطالعه کاهش بقا و افزایش تخریب تمامیت DNA را در گروه آزمایش نشان داده این رخداد نشان‌گر این نکته است که آسیب ناشی از امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه موجب تخریب DNA و بدنبال آن از بین رفتن توان زیستی اسپرم می‌شود و این نکته با یافته‌های مطالعه بلکه مار و همکاران (۲۰۱۰) هماهنگ است. یافته‌های این آزمایش با

بحث و نتیجه‌گیری

امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه نوکیا مدل ۲۲۲۰ در محیط آزمایشگاهی بر متغیرهای اسپرم انسان اثر سوء و مخرب دارد. یافته‌های ما نتایج مطالعه آگاروال و همکاران (۲۰۰۹) را تایید می‌کند. همچنین، این نتایج نشان داد که کاهش معنی‌دار حرکت اسپرم‌ها با ایجاد استرس اکسیداتیو حاصل از امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه ارتباط معنی‌داری دارد (۱۷). همچنین، در این مورد مکوندی و همکاران مطالعه‌ای (۲۰۱۳) انجام دادند. آنان با قرار دادن گوشی همراه در محفظه‌ای چوبی و در فاصله ۲/۵ سانتی‌متری مایع منی اثر گرمایی گوشی همراه را حذف و مشاهده کردند که اسپرم‌های متحرک و کارکردی کاهش معنی‌داری یافتند (۲۱). این مطالعه بدون حذف اثر گرمایی این نتایج را تایید می‌کند. در این راستا ولویاک و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند در استفاده از تلفن همراه حرکت و درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی کاهش می‌یابد (۱۰). در مطالعه ما به علت کاهش معنی‌دار بقای

اسپرم انسان به صورت *in vivo* انجام شده است. آنان نشان دادند افرادی که در طی شباهه روز مدت بیشتری از تلفن همراه استفاده می‌کنند در آنان، تحرک، بقاء و درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی کاهش می‌یابد. در مطالعه مشابهی با کاهش مدت اثر تلفن همراه، افزایش آسیب‌پذیری DNA اسپرم و کاهش متغیرهای اسپرم دیده شده است (۱۷). از سوی دیگر دستاچ و همکاران نشان دادند که امواج الکترومغناطیس ساطع شده از تلفن‌های همراه اثری بر بیضه ندارد (۱۸). یکی از مشکلات این نوع مطالعات تعیین ریزبینانه میزان صحبت افراد با تلفن همراه است. برخی پژوهشگران براین باورند که گوشی‌های تلفن همراه افروزن بر امواج الکترومغناطیس از راه تولید و ایجاد گرما می‌توانند اثرات سوء خود را اعمال کنند (۲۱). از سوی دیگر پاره‌ای مطالعات نشان داده‌اند که این امواج با تولید گونه‌های فعال اکسیژن بر فسفولیپیدهای غشایی اثر گذاشته و توانایی بقاء آنان را کاهش می‌دهد (۲۸) یا این‌که همان‌طور که دی لولیس گزارش کرده این امواج با تکه‌تکه کردن DNA باعث کاهش حرکت اسپرم می‌شود (۲۴). از نقاط قوت مطالعه تاثیر مستقیم امواج الکترومغناطیس تلفن همراه بر مایع منی شسته نشده انسانی بود که نمونه‌های تحت تاثیر امواج را با مایع منی خود فرد سنجیدیم و این نکته از نقاط قوت این مطالعه است. بدیهی است توجه به سازوکارهای مولکولی در مطالعات آینده می‌تواند نکته‌های پنهان‌تر اثرات زیانبار امواج تلفن‌های همراه بر اسپرم را روشن سازد. امواج الکترومغناطیس تلفن‌های همراه در محیط آزمایشگاهی می‌تواند باعث کاهش گرید حرکتی III و IV اسپرم‌های مایع منی شوند. همچنین، نتایج کاهش معنی‌دار میزان بقای اسپرم و افزایش تخریب DNA را در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. لذا با توجه به استفاده گسترده گوشی‌های تلفن همراه توسط انسان اطمینان از آثار سوء و محافظت از آن بایسته است. نویسنده‌گان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تصاد منافعی ندارند.

1. Lammarrone E, Balet R, Lower AM, Gillott C, Grudzinskas JG. Male infertility. Best Proct Res Clin Obstet Gynoecol 2003;17 211-229.

آزمایش تخریب اثر آرسنیک بر اسپرم توسط بلکومار مطابقت دارد (۲۳). از طرف دیگر دی لولیس و همکاران (۲۰۰۹) به روش تانل نشان دادند که امواج الکترومغناطیس تأیید شده از تلفن همراه باعث شکست DNA اسپرم شده و ارتباط معنی‌دار بین تکه شدن DNA و کاهش تحرک اسپرم بدست آمد (۲۴). این مطالعه با رنگ‌آمیزی آکریدین اورانٹ که روش سیتوشیمیایی معتبری است تمامیت DNA اسپرم را بررسی کرد. این روش می‌تواند بخوبی اسپرم با DNA طبیعی دو رشته‌ای (شکل ۱، الف) را با اسپرم دارای DNA تک رشته‌ای یا دناتوره (شکل ۱، ب) به علت ویژگی متاکروماتیکش مقایسه کند (۲۵). ارزیابی توان MTT زیستی با یکی از روش‌های ائوزین نگروزین، تریپان‌بلو و پروپیدیوم یوداید برای تفکیک اسپرم مرده از زنده انجام می‌شود (۲۶). این مطالعه به علت کار بر مایع منی شسته نشده مشابه بررسی آکاروال بوده و اهمیت این جستار به خاطر وجود اسپرم‌های مرده و نابلغ و همچنین وجود لکوسیت‌هایی است که موجب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن شده و افزایش اثر زیانبار امواج الکترومغناطیسی می‌شود. از سوی دیگر فالزون و همکاران (۲۰۰۸) نمونه اسپرم بالغ که با استفاده از فایکول از اسپرم‌های مرده جدا شده بود را در زمان‌های گوناگون زیر تاثیر امواج الکترومغناطیس قرار دادند و لی تفاوت معنی‌داری در حرکت سریع، آهسته، حرکت درجا و اسپرم بدون تحرک در مقایسه با گروه شاهد بدست نیاوردن (۲۶). در حالی که مطالعه ما نشان داد که امواج الکترومغناطیس باعث افزایش درصد اسپرم‌های با حرکت درجا می‌شود و با کاهش تعداد اسپرم‌های غیرمتحرک همراه است. این یافته با نتایج مطالعه ارگول (۲۰۰۶) تطبیق دارد و به نظر می‌رسد که امواج الکترومغناطیس تاثیر مثبتی بر اسپرم زنده غیرمتحرک دارد (۲۷). مطالعه ما با بررسی اسپرم‌های شده گروه آزمایش، افزایش معنی‌داری در آنومالی اسپرم در بخش‌های سر، تکه میانی و دم در مقایسه با گروه کنترل شان داد از سوی دیگر، پاره‌ای از بررسی‌ها بر بیضه و پارامترهای

منابع

- Zegers-Hochscild F, Adamson GD, De mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S. International committee for monitoring

- assisted reproductive technology (ICMART) and the world health organization(Who) revised glossary of ART terminology. *Fertil Steril.* 2009; 92: 1520-1524.
3. Lacy-Hulbert A, Metcalfe JC, Hesketh R. Biological responses to electromagnetic fields. *FASEB J* 1998; 12:395-420.
 4. Sun W, Gan Y, Fu Y, Lu D, Chiang H. An incoherent magnetic field inhibited EGF receptor clustering and phosphorylation induced by a 50-Hz magnetic field in cultured FL cells . *Cell physiol biochem* 2008; 22: 507-514.
 5. Yelizarov S, Raskmark P, Kwee S. The effects of radiofrequency fields on cell proliferation are non-thermal .*bioelectrochem bioenerg* 1999; 48:177-180.
 6. Verschaeve L, Heikkinen P, Verheyen G, Van Gorp U, Boonen F, Vander Plaetse F. et al. Investigation of co-genotoxic effects of radiofrequency electromagnetic fields in vivo. *Radiat Res* 2006; 165: 598-607.
 7. Donato A, Ceci P, Cannava A, Tomei F, Naro F. Low power microwave interaction with phospholipase C and D signal transduction pathways in myogenic cells. *Cell Biol Int* 2004; 28 683-688.
 8. Spadaro JA, Bergstrom WH. In vivo and in vitro effects of a pulsed electromagnetic field on net calcium flux in rat calvarial bone. *Calcif Tissue Int* 2002; 70: 496-502.
 9. Lantow M, Schuderer J, Hartwig C, SimkoM .Free radical release and HSP70 expression in two human immune-relevant cell lines after exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation. *Radiat Res* 2006; 165: 88-94.
 10. Wolwiak A, Wdowiak L, Wiktor H. Evaluation of the effect of using mobile phones on male fertility. *Ann Agric Environ Med* 2007; 14(1): 169-172.
 11. Kizilay A, Ozturan O, Erdem T, Kalcio glu MT, Miman MT. Effects of chronic exposure of electromagnetic fields from mobile phones on hearing in rats. *Auris Nasus Larynx* 2003; 30 239-245.
 12. Zareen N, Yunus Khan M, Minhas LA. Derangement of chick embryo retinal differentiation caused by radiofrequency electromagnetic fields: *Congenit Anom* 2009; 49: 15-19.
 13. WHO. Electromagnetic fields and public health: mobile telephones and their base stations. 2014; <http://www.who.int/peh-emf/publications/facts/fs296/en/>
 14. Parivar K, Nabiuni M Golkestanian N. Effect of low frequency electromagnetic fields on the spermatogenesis and blood serum protein of bulb/c mice. *J Cell Tissue* 2011; 2(1): 47-56.
 15. Mailankot M, Kunnath AP, Jayalekshmi H, Koduru B, Valsalan R, Radiofrequency electromagnetic radiation (RF-EMR) from GSM (0.9/1.8 GHz) mobilw phones induces oxidative stress and reduces sperm motility in rats. *Clinics (Sao Paulo)*, 2009; 64(6): 561-5.
 16. Yan JG, Agresti M, Bruce T, Yaan YH, Granlund A, Matloub HS. Effects of cellular phone emissions on sperm motility in rats. *Fertil Steril* 2007; 88(4): 957-964.
 17. Agarwal A, Desai NR, Makker K, Varghese A, Mouradi R, Sabanegh E, et al. Effects of radiofrequency electro magnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an in vitro pilot study . *Fertil Steril* 2009; 92(4): 1318-1325.
 18. Dasdag S, Zulkuf Akdag M, Aksen F, Yilmaz F, Bashan M, Mutlu Dasdag M, et al. Whole body exposure of rats to microwaves emitted from a cell phone does not affect the testes. *Bioelectromagnetics*. 2003; 24(3): 182-188.
 19. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Cambridge university press (2010), fifth edition, New York.1-23.
 20. Tejada AL, Mitchell JC, Norman A, Marik JJ, et al. Test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange(AO) fluorescence. *Fertil Steril* 1984; 42: 87-91.
 21. Macvandi S, yazdizadeh, H, Yazdizadeh M, Zaker V, Madidi M. Effect of electromagnetiv radiation emitted cell phone on human sperm parameter, in vitro. *IJOGI*. 2013; 16(64): 19-25.
 22. Momeni HR, Eskandari N. Effect of vitamin E on sperm parameters and DNA integrity in sodium arsenite- treated rats. *Iran J Reprod Med* 2012; 10(3): 249-256.
 23. Balakumar B, Ramanathan K, Kumaresan S, Suresh R. DNA damage by sodium arsenite in experimental rats: ameliorative effects of antioxidant vitamins C and E. *Ind G Sci Tech* 2010; 3(3): 322-327.
 24. De Luliis GN, Newey RJ, King BV, Aitken RJ. Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro. *PloS One* 2009; 4(7): e6446.
 25. Petersen CG, Vagnini LD, Mauri AL, Massaro FC, Cavagna MC, Baruffi RLR, Oliveira JBA, Franco Jr JG. Relationship between DNA damage and sperm head birefringence. *Reprod BioMed Online* 2011; 22 (6) , 583-589.
 26. Falzone N, Huyser C, Fourie F, Toivo T, Leszczynski D, Franken D. In vitro effect of pulsed 900 MHz GSM radiation on mitochondrial membrane potential and motility of human spermatozoa. *Bioelectromagnetics* 2008; 29 (4) : 268-76.
 27. Erogul O, Oztas E, Yildirim I, Kir T, Aydur E, Komesli G, Irkilata HC, Irmak MK, Peker AF. Effects of electromagnetic radiation from a cellular phone on human sperm motility: an in vitro study. *Arch Med Res.* 2006; 37 (7) :840-3.
 28. wirleitner B, Vanderzwalmen P, Stecher A, Spitzer D, Schuff M, Schwerda D, et al. Dietary supplementation of antioxidants improves semen quality of IVF patients in terms of motility, sperm count and nuclear vacuolization. *Int J Vitam Nutr Res* 2012; 82(6): 391-8.

The Effects of Cellular Phone Electromagnetic Exposure on Human Sperm Viability, Motility and DNA Integrity(in Vitro Study)

Farahani A (MSc)¹ - Maresfatpour E (MSc)¹- Hamidi Madani A (MD)²- Faraji R (MD)³ - Heidarzadeh A (MD, MPh)⁴ -
*Bahadori MH (PhD)¹

***Corresponding Address:** Master of Science, Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Email: bahadori.mh@gmail.com

Received: 19 Nov/2014 Accepted: 1/jan/2015

Abstract

Introduction: There has been growing public concern on the effects of electromagnetic radiation (EMR) emitted by cellular phones on human health. Although few studies showed cell phone usage may have a detrimental effect on human sperm motility and viability, the harmful effects of cell phone radiation on sperm DNA has not been evaluated.

Objective: This study aimed to determine the effects of cell phone radiation on sperm viability, motility, and count and DNA damage by a fluorescence method and evaluate abnormal chromatin condensation.

Materials and Methods: This is an experimental study in which semen samples were collected from 18 fertile males presenting to an infertility center. Each sample was divided equally into two aliquots: control group (sample not exposed) and exposure group (sample exposed to cell phone by 1 centimeter distance for 10 minutes continuously). Sperm parameter was performed based on WHO standard criteria and we determined the mean of concentration, motility (I, II, III and IV), and viability of each group and DNA damage evaluated with acridine orange (AO) staining. Data were analyzed by one-way ANOVA, followed by Tukey's test using SPSS version 16 software.

Results: The results indicated that exposure group showed a significant decrease in the rapid progressive, slow progressive sperm movement and viability. It also increases the no-motility category of sperm movement and abnormal sperm significantly ($p<0.05$). However, the AO staining showed that the exposure group samples had a greater DNA damage as well as yellow and red to green sperm, compared to control group.

Conclusion: We can conclude that electromagnetic waves emitted from cell phones may lead to a significant decrease in sperm viability and motility. Also, the exposure samples exhibited a greater DNA damage, compared to the controls.

Conflict of interest: non declared

Keywords: Acridine Orange/ DNA/ Mobile Telephone

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 94, Pages: 29-35

Please cite this article as: Farahani A, Maresfatpour E, Hamidi Madani A, Faraji R, Heidarzadeh A, Bahadori MH. The Effects of Cellular Phone Electromagnetic Exposure on Human Sperm Viability, Motility and DNA Integrity(in Vitro Study). J of Guilan University of Med Sci 2015; 24(94):29 - 35. [Text in Persian]

1. Cellular and molecular research center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
2. Department of Urology, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rasht, Iran
3. Department of Gynecology, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rasht, Iran
4. Department of Community Medicine, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.