

اثر آنتی اکسیدانی ویتامین C در کاهش آسیب های کروموزومی القا شده توسط میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین در اریتروسیت های مغز استخوان موش کوچک آزمایشگاهی

جواد بهار آرا^{۱*}، فرهنگ حداد^۲ Ph.D.، علیرضا اشرف^۳ Ph.D.، ریحانه صادق مقدم عباسپور^۴ M.Sc.

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳- گروه فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، ایران

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد، رشته تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: baharara@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۹/۲۷

چکیده

هدف: در پژوهش حاضر اثر آنتی اکسیدانی ویتامین C در کاهش آسیب های کروموزومی القا شده توسط میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین در اریتروسیت های مغز استخوان موش نر کوچک آزمایشگاهی بررسی شده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی ۴۸ موش نر بالغ نژاد بلب سی به صورت تصادفی به چهار گروه مساوی کنترل، آزمون ۱، آزمون ۲ و آزمون ۳ تقسیم شدند. موش های گروه کنترل در شرایط طبیعی نگهداری شدند و به نمونه های گروه آزمون ۱ و آزمون ۳ ویتامین C با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ روز متوالی درون صفاقی تزریق شد. نمونه های گروه آزمون ۳ از روز پنجم دریافت ویتامین به مدت ۴ روز و هر روز ۴ ساعت در معرض امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس قرار گرفتند. نمونه های گروه آزمون ۲ نیز به مدت ۴ روز و هر روز ۴ ساعت در معرض امواج فوق الذکر قرار داده شدند. کلیه موش های گروه های مختلف تشریح و آزمون میکرونوکلئوس روی اریتروسیت های پلی کروماتیک مغز استخوان موش ها انجام شد. داده های کمی حاصل با نرم افزار SPSS و آزمون آماری واریانس یک طرفه در سطح $p < 0.05$ تحلیل شد.

نتایج: فراوانی میکرونوکلئوس ها در اریتروسیت های پلی کروماتیک مغز استخوان موش های گروه آزمون ۳ (0.276 ± 0.107) در مقایسه با گروه آزمون ۲ (0.881 ± 0.929) کاهش معنی داری ($p < 0.001$) نشان داد.

نتیجه گیری: ویتامین C سبب کاهش آسیب های کروموزومی القاء شده توسط امواج الکترومغناطیس با فرکانس پایین در اریتروسیت های پلی کروماتیک مغز استخوان موش نر بالغ نژاد بلب سی می شود.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، بلب سی، امواج الکترومغناطیس، اریتروسیت، ویتامین C

مقدمه

با توجه به استفاده روز افزون دستگاه‌های مولد امواج الکترومغناطیس نظیر یخچال، تلویزیون، مایکروفرها، نمایشگرهای کامپیوتری، لامپ‌های هالوژن و ... در زندگی روزمره، مطالعه اثرات زیستی این امواج بر رشد و نمو موجودات زنده و به ویژه سلامت انسان در سال‌های اخیر کانون توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است (۲۱). برخی مشاهدات بیان‌گر آن است که امواج الکترومغناطیس بر ارگانسیم‌های موجودات زنده اثر داشته و عملکرد بافت‌ها و فرایندهای بیوشیمیایی، بیوفیزیکی و فیزیولوژیکی را در سلول‌های آن‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهند و در نهایت سبب ایجاد بیماری‌های گوناگونی نظیر لوسمی کودکان، تومورهای مغزی، نقص سیستم ایمنی و آلرژی می‌شوند (۳ و ۴). چون آسیب DNA در سلول‌های سوماتیک می‌تواند منجر به رشد سرطان و یا مرگ سلول شود و در سلول‌های زاینده منجر به جهش و انتقال آن به نسل‌های بعدی گردد، بررسی اثرات امواج الکترومغناطیس بر محتوای ژنتیکی سلول‌ها، از جمله زمینه‌های مطالعات مهمی هستند که در چند سال‌های اخیر به آن توجه شده است (۵ و ۶). مطالعات متعدد بر روی لنفوسیت‌های خون محیطی انسان و سلول‌های پستانداران نشان داده است امواج الکترومغناطیس با ایجاد استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد گونه اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) سبب نقص سیستم آنتی اکسیدان‌تی بدن شده و اثرات ژنوتوکسیک نظیر ناپایداری کروموزومی و آنیوپلوئیدی در DNA را افزایش می‌دهند (۷ و ۸). ایجاد میکرونوکلئوس یکی از نشانه‌های آسیب کروموزومی است که امروزه به عنوان یک بیواندیکاتور ساده و حساس برای شناسایی آسیب‌های کروموزومی در تحقیقات کوتاه مدت آزمایشگاهی استفاده می‌شود (۹). گروهی از محققین فیبروبلاست‌های انسان را در معرض میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین قرار دادند و افزایش معنی‌داری در شکست‌های DNA مشاهده نمودند (۱۰). در تجربه‌ی دیگر با تاثیر امواج الکترومغناطیس با فرکانس پایین (۵۰ هرتز) بر اریتروسیت‌های مغز استخوان موش کوچک آزمایشگاهی، تعداد میکرونوکلئوس‌ها افزایش یافته است (۱۱). تحقیقات نشان داده است مصرف روزانه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی آسیب‌هایی که بر اثر استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شوند را کاهش می‌دهد. در این میان مصرف میوه جات و سبزیجات تازه که شامل کاروتنوئیدها، ویتامین C، ترکیبات فنولی نظیر

فلاونوئیدها و ... می‌باشند، اهمیت ویژه دارد (۱۲ و ۱۳). ویتامین C یکی از ویتامین‌های محلول در آب است که نقش مهمی در سیستم ایمنی و زنجیره آنتی اکسیدان‌تی که در برابر آسیب اکسیداتیو قرار می‌گیرد، بر عهده دارد (۱۴). گزارش‌های متعددی از عملکرد این ویتامین در جلوگیری از ایجاد آسیب‌های DNA و احتمال ابتلا به سرطان و بیماری‌های قلبی منتشر شده است (۱۴ و ۱۵). مطالعات نشان داده است که ویتامین C با دوز مناسب در کاهش تعداد میکرونوکلئوس‌های القایی توسط مواد ژنوتوکسیک مانند ترکیب سلنیوم و سیسپلاتین، کیپروترون استات، آلبندازول و تفلوترین نقش دارد (۱۶، ۱۷ و ۱۸). لیکن در تجربه‌ی دیگری مشاهده شده است ویتامین C در دوزهای بالا (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر) اثر ژنوتوکسیک دارد (۱۹).

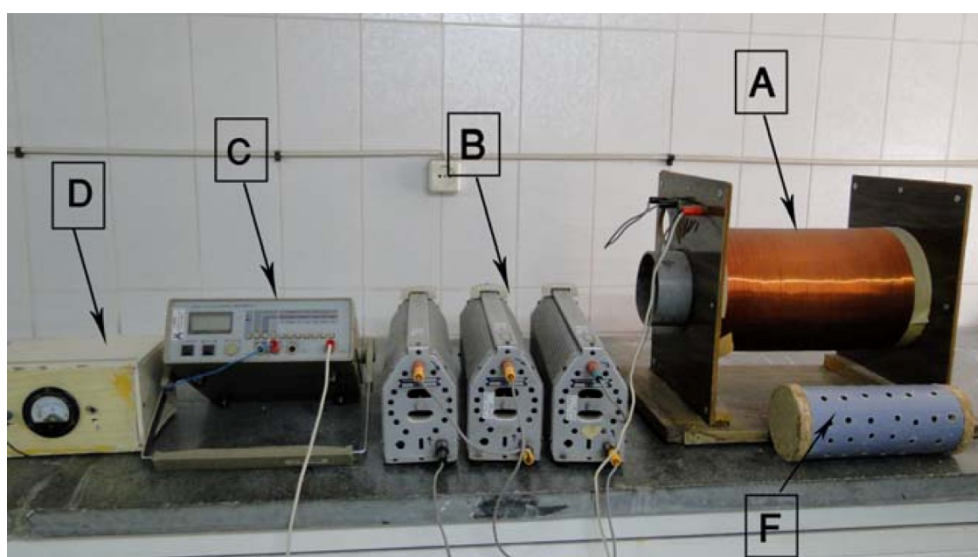
با توجه به اینکه تاکنون اثر آنتی اکسیدان‌تی ویتامین C در کاهش آسیب‌های القا شده توسط میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین مورد مطالعه قرار نگرفته است، در پژوهش حاضر اثر آنتی اکسیدان‌تی ویتامین C در مهار آسیب‌های کروموزومی القا شده توسط میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و با شدت ۵۰ گاؤس در اریتروسیت‌های مغز استخوان موش نر کوچک آزمایشگاهی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در آن جهت بررسی اثر آنتی اکسیدان‌تی ویتامین C بر اریتروسیت‌های پلی کروماتیک مغز استخوان از موش‌های نر بالغ نژاد بلب سی که حدود ۲۵ تا ۳۰ گرم وزن داشتند و از موسسه سرم سازی رازی مشهد خریداری شده بودند به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده گردید. موش‌ها در اتاق پرورش حیوانات در شرایط طبیعی با رطوبت حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد و دمای حدود 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی) در قفس‌های پلی‌کربن نگه‌داری می‌شدند. حیوانات توسط غذای آماده استاندارد که از شرکت جوانه خراسان خریداری شده بود، تغذیه و آب به مقدار کافی در اختیار آن‌ها قرار داشت. برای تولید امواج الکترومغناطیس مورد نظر از مدار ویژه مول میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاؤس استفاده شد (طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌شناسی تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد توسط بهارآرا و اشرف) که شامل بوبین، ۳ رنوستا، خازن و آمپر متر بود (شکل ۱). برای ساخت

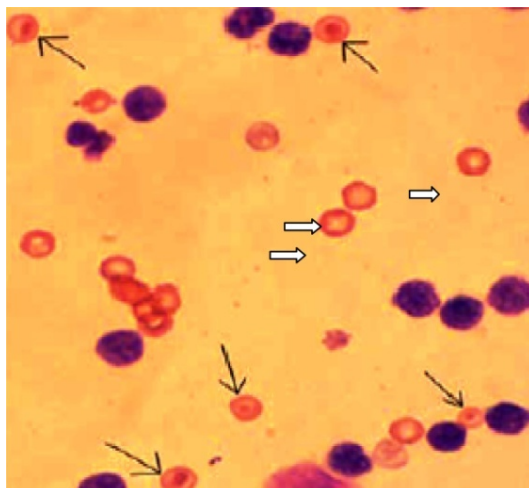
پایان دوره تیمار، کلیه موش ها به وسیله کلروفرم کشته و سپس استخوان های ران هر دو پا خارج و مغز استخوان به آرامی توسط تزریق ۱/۵ میلی لیتر محلول سرم جنینی گاوی (Fetal Bovine Serum)(GIBCO,Japan) خارج و در لوله آزمایش جمع آوری شد. لوله حاوی سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه در ۹۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (Kakusan,Japan) شد. سپس مایع رویی دور ریخته، به اندازه یک قطره نگاه داشته و مخلوط شد تا محلول یکنواخت گردد. در ادامه با پیپت پاستور مکند یک قطره از محلول روی لام قرار داده و گسترش تهیه شد و به مدت ۴۸ ساعت با متانول تثبیت گشت. برای رنگ آمیزی گسترش های تهیه شده از رنگ های مای گرانوالد وگیمسا (Merk,Germany) به روش Schmid استفاده شد (۲۰). در این رنگ آمیزی اریتروسیت های پلی کروماتیک به خوبی به رنگ صورتی و میکرونوکلئوس آن‌ها به صورت یک هسته کوچک ارغوانی در سیتوپلاسم دیده می‌شود که به سهولت به وسیله تست میکرونوکلئوس قابل تشخیص است. در هر لام تهیه شده تعداد میکرونوکلئوس ها در ۱۰۰۰ اریتروسیت پلی کروماتیک به وسیله میکروسکوپ نوری (Nikon, Japan)، شمارش گردید. داده های کمی حاصل به کمک نرم افزار spss و آزمون واریانس یک طرفه در سطح $p < 0.05$ تحلیل گردید. مجریان پژوهش در کلیه مراحل تحقیق نظیر نگهداری حیوان، تابش دهی با امواج، بیهوش نمودن و تشریح حیوان متعهد به رعایت اصول اخلاقی پژوهش بودند.

بویین، حول یک لوله از جنس PVC مقادیر مناسب از سیم مسی با توجه به محاسبه شدت میدان الکترومغناطیسی مورد نیاز از رابطه $B = \mu n I$ پیچانده شد (B: شدت میدان مغناطیسی بر حسب تسلا، $\mu = 4\pi \times 10^{-7}$ ، n: تعداد دور در واحد طول، I: شدت جریان). برای اطمینان از صحت شدت میدان مغناطیسی محاسبه شده توسط فرمول فوق الذکر پس از برقراری جریان در مدار، با استفاده از گاؤس متر شدت میدان کنترل شد. برای انجام تجربیات ۴۸ موش به طور تصادفی به چهار گروه مساوی کنترل (موش های این گروه در اتاق پرورش حیوانات و در شرایط طبیعی نگه داری می شدند)، آزمون ۱ (به موش های این گروه ویتامین C با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ روز متوالی درون صفاقی تزریق انجام شد) (۱۶)، آزمون ۲ (نمونه های این گروه در ۴ مرحله و در هر مرحله تعداد ۳ موش در یک محفظه ویژه از جنس PVC جای داده شدند و در بخش میانی بویین به مدت ۴ روز و هر روز ۴ ساعت (از ساعت ۹ صبح الی ۱۳ همان روز) در معرض امواج الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاؤس قرار داده شدند) (۱۱) و آزمون ۳ (به موش های این گروه در ۴ مرحله و در هر مرحله ۳ موش ویتامین C با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ روز متوالی درون صفاقی تزریق انجام شد و از روز پنجم دریافت ویتامین این موش ها که دسترسی کافی به آب و غذا داشتند در بخش میانی بویین به مدت ۴ روز و هر روز ۴ ساعت (۹ تا ۱۳) در معرض امواج الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاؤس قرار داده شدند) تقسیم شدند (۱۶). پس از

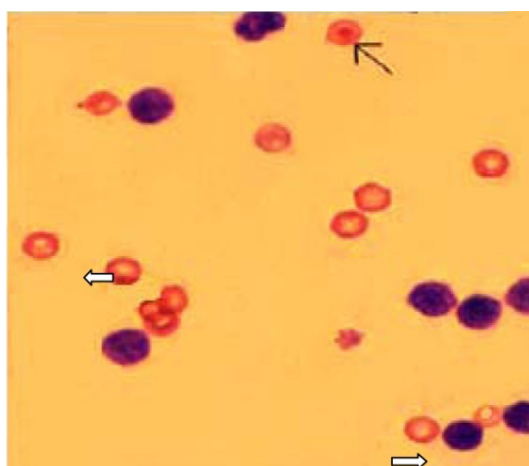


شکل ۱: سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی

A بویین، B رئوستا، C آمپر متر، D خازن، F لوله پلاستیکی برای قرار دادن موش ها در دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی



شکل ۲: نمایش اریتروسیت پلی کروماتیک واجد میکرونوکلئوس (→) و اریتروسیت پلی کروماتیک فاقد میکرونوکلئوس (⇨) از نمونه‌های کنترل (موش‌های این گروه در اتاق پرورش حیوانات و در شرایط طبیعی نگه‌داری می‌شدند) در گسترش مغز استخوان موش نر بالغ نژاد بальب سی (بزرگ نمایی $1000\times$). رنگ آمیزی مای گرانوالد - گیمسا.

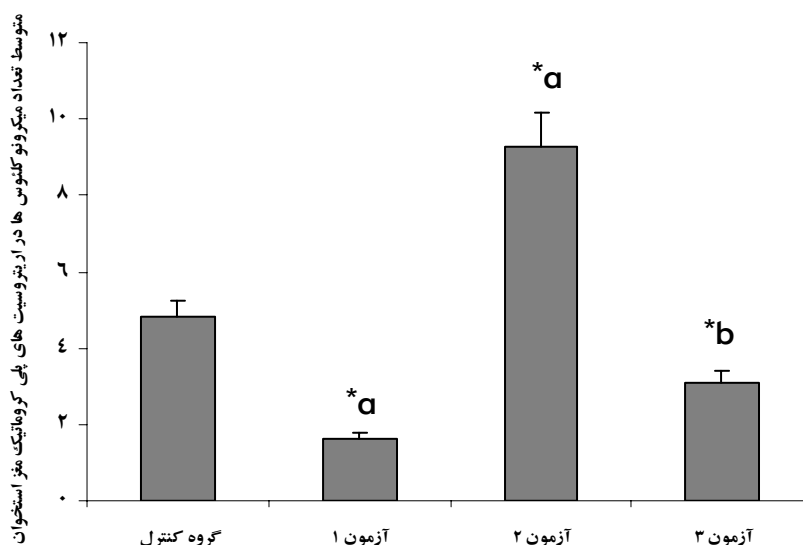


شکل ۳: نمایش اریتروسیت پلی کروماتیک واجد میکرونوکلئوس (→) و اریتروسیت پلی کروماتیک فاقد میکرونوکلئوس (⇨) از نمونه‌های آزمون ۳ (به موش‌های این گروه در ۴ مرحله و در هر مرحله ۳ موش ویتامین C با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ روز متوالی درون صفاقی تزریق انجام شد و از روز پنجم دریافت ویتامین این موش‌ها که دسترسی کافی به آب و غذا داشتند در بخش میانی بویین به مدت ۴ روز و هر روز ۴ ساعت در معرض امواج الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاؤس قرار داده شدند) در گسترش مغز استخوان موش نر بالغ نژاد بальب سی (بزرگ نمایی $1000\times$). رنگ آمیزی مای گرانوالد - گیمسا.

نتایج

گروه کنترل ($4/799 \pm 0/434$) کاهش معنی‌دار ($p < 0/001$) مشاهده شد. هم‌چنین میانگین تعداد میکرونوکلئوس‌ها در اریتروسیت‌های پلی کروماتیک گروه آزمون ۳ ($3/107 \pm 0/276$) در مقایسه با گروه آزمون ۲ ($9/29 \pm 0/881$) و گروه کنترل ($4/799 \pm 0/434$) کاهش معنی‌داری ($p < 0/001$) نشان داد (نمودار ۱).

میانگین تعداد میکرونوکلئوس‌ها در اریتروسیت‌های پلی کروماتیک مغز استخوان گروه آزمون ۲ ($9/29 \pm 0/881$) در مقایسه با گروه کنترل ($4/799 \pm 0/434$) افزایش معنی‌داری ($p < 0/001$) نشان داد. از طرفی از مقایسه میانگین تعداد این میکرونوکلئوس‌ها در گروه آزمون ۱ ($1/62 \pm 0/143$) نسبت به



نمودار ۱: مقایسه متوسط تعداد میکرونوکلیوس ها در اريتروسیت های پلی کروماتیک مغز استخوان موش نر بالغ نژاد بآلب سی در گروه های کنترل (شرایط طبیعی)، آزمون ۱ (تیمار توسط تزریق ویتامین C)، آزمون ۲ (در معرض امواج الکترومغناطیس) و آزمون ۳ (تیمار توام با امواج الکترومغناطیس و ویتامین C). a مقایسه با گروه کنترل، b مقایسه با گروه آزمون ۲. $Mean \pm SEM$ ($P < 0.001$)

می کنند، مطابقت دارد. چنان که دمسیا و همکاران (۲۲) گزارش کرده است تحت تاثیر امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۹۱۰ مگا هرتز تعداد میکرونوکلیوس ها در اريتروسیت های پلی کروماتیک موش صحرایی در مقایسه با گروه شاهد سه برابر شده است. هم چنین مطالعه ناهاس و همکاران (۲۳) روی موش های نر سوئسی نیز بیان گر آن است که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین (۵۰ هرتز) سبب افزایش وابسته به دوز تعداد اريتروسیت های پلی کروماتیک میکرونوکلیوس دار می گردد. با تاثیر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین (۵۰ هرتز) بر اريتروسیت های موش کوچک آزمایشگاهی، تعداد میکرونوکلیوس ها افزایش یافته است (۱۱).

نتیجه حاصل از پژوهش حاضر با برخی گزارشات تناقض دارد. طبق گزارش ویجا یالاکسمی و همکاران (۲۴) تحت تاثیر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۴۲ گیگا هرتز به مدت ۳۰ دقیقه افزایش معنی دار تعداد میکرونوکلیوس ها در اريتروسیت های پلی کروماتیک موش های کوچک آزمایشگاهی رخ نمی دهد. هم چنین پیکارد و همکاران (۲۵) نیز با در معرض قرار دادن موش های ماده به مدت پانزده دقیقه تحت پرتوهای الکترومغناطیس نشان داده است که اختلاف معنی داری در تعداد میکرونوکلیوس ها ایجاد نمی شود. به نظر می رسد علت اصلی تناقض در نتایج مطالعات مختلف بیشتر به تغییر شرایط مطالعه به ویژه تغییر فرکانس، شدت و طول مدت پرتو دهی، نوع حیوان

بحث

با صنعتی شدن جوامع استفاده از دستگاه های مولد امواج الکترومغناطیس نظیر لوازم الکترونیکی، یخچال، تلویزیون، مایکروفرها، نمایشگرهای کامپیوتر، موبایل و ... بیش از پیش شده و همین امر سبب ایجاد نگرانی هایی برای سلامت انسان ها شده است. هم چنین برای کاهش و یا جلوگیری از اثرات زیستی این امواج، جوامع بشری به دنبال راه حل هستند (۲۱). گزارش های متعددی در ارتباط با اثرات میدان های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین بر سیستم های بیولوژیکی و سلامت انسان منتشر شده است (۲۱). هم چنین در این پژوهش با استفاده از سیستم مولد میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین ۵۰ هرتز، با مطالعه اثرات این امواج در ایجاد آسیب های کروموزومی از طریق آزمون میکرونوکلیوس و تعیین تعداد میکرونوکلیوس ها در اريتروسیت های پلی کروماتیک مغز استخوان موش نر بالغ نژاد بآلب سی مشخص شده است که در شرایط این تجربه، تحت تاثیر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس تعداد میکرونوکلیوس ها افزایش معنی داری یافتند. این نتیجه با برخی گزارش های علمی منتشر شده قبلی که ارتباط بین پرتو دهی میدان الکترومغناطیسی و افزایش انواع آسیب های کروموزومی نظیر ناپایداری کروموزومی، افزایش شکست و بست های کروموزومی، افزایش تعویض کروماتیدهای خواهری و افزایش تعداد میکرونوکلیوس ها را بیان

و نوع میدان مغناطیسی مورد استفاده (ثابت یا متناوب) بستگی دارد.

در مورد چگونگی تاثیر گذاری میدان های الکترومغناطیسی بر سیستم های بیولوژیک تا کنون پیشنهاد های متعددی ارائه شده است. به عنوان مثال می توان به اثر امواج الکترومغناطیس بر الگو برداری و فاکتور های نسخه برداری و نیز تاثیر این امواج در تشدید هتروکروماتینی شدن هسته های سلولی اشاره نمود (۲۶، ۲۷ و ۲۸). زویرسکا- کرسزالا و همکاران نیز اثر این امواج در کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان‌تی نظیر کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز را پیشنهاد نموده اند (۲۹). هم چنین گزارش شده است که اثرات ژنوتوکسیک RF-EMF می توانند از طریق ایجاد رادیکال های آزاد و واکنش با مکانیسم ترمیم DNA ایجاد شوند (۳۰). زمیسولونی و همکاران (۳۱) نیز تشکیل رادیکال های آزاد را تحت تاثیر امواج الکترومغناطیس دلیل اصلی اثرات مخرب این امواج گزارش نموده اند. بیان شده است که رادیکال های آزاد اکسیژن سبب نقص سیستم آنتی اکسیدان‌تی بدن شده و آسیب به DNA و احتمال ابتلا به سرطان را افزایش می دهند (۸). هم چنین در پژوهش حاضر با بررسی توام تاثیر امواج الکترومغناطیس و تزریق صفاقی ویتامین C مشخص شده است که تعداد میکرونوکلئوس ها در اریتروسیت های پلی کروماتیک کاهش معنی داری می یابد. ویتامین ها به عنوان آنتی اکسیدان‌ت برای سلامتی لازم هستند. تاثیر مثبت ویتامین C در سیستم آنتی اکسیدان‌تی کبد، کلیه ها و مغز استخوان موش صحرایی نشان داده شده است (۳۲). ویتامین C یک ویتامین محلول در آب است که نقش مهمی در سیستم ایمنی و زنجیره آنتی اکسیدان‌تی که در برابر آسیب اکسیداتیو قرار می گیرد، بر عهده دارد (۳۳). این ویتامین از تشکیل لیپید پراکسید جلوگیری می کند. لیپید پراکسید باعث آسیب به DNA می شود و آسیب به DNA سبب ایجاد جهش و افزایش احتمال ابتلا به سرطان ها می شود (۳۴).

تاکنون مطالعات زیادی انجام شده است که همگی نقش آنتی ژنوتوکسیکی ویتامین C را متذکر شده اند. به عنوان مثال سیدیکویی و همکاران (۳۵) بیان کرده اند ویتامین C، اثرات ژنوتوکسیک نورجسترل را در لنفوسیت های خون محیطی انسان کاهش می دهد. هم چنین در تجربه ی دیگری با تاثیر ویتامین C اثرات مخرب ترکیب سیسپلاتین و سلنیوم را بر سلول های مغز استخوان موش بهبود بخشیده شده است (۱۸). نقش آنتی

موتازنی ویتامین C در کاهش آسیب های القایی توسط آلبندازول در مغز استخوان موش صحرایی نیز بیان شده است (۱۷). ابدو و همکاران (۱۵) نیز نشان داده اند که ویتامین های A، C و E نقش آنتی اکسیدان‌تی داشته و اثرات ژنوتوکسیک ایجاد شده توسط تفلوترین را کاهش می دهند. کیپروترون استات یک ماده ژنوتوکسیک است که باعث افزایش تعویض کروماتید های خواهری (Exchange Sister Chromatid) می شود. ویتامین C اثر سوء این ماده را بهبود می بخشد (۱۶).

به نظر می رسد اثر آنتی ژنوتوکسیکی ویتامین C از طریق ممانعت از فعالیت رادیکال های آزاد انجام می شود و از اکسیداسیون جلوگیری می کند، چنان که شیلیا و همکاران (۳۶) بیان نموده اند که رادیکال های آزاد اکسیژن به عنوان یک موتازن بسیاری از سرطان ها، باعث ایجاد نقص در سیستم ایمنی می شوند. DNA هدف موتازن ها و کارسینوژن ها است که تغییر در ساختار DNA، جهش و مرگ سلولی را سبب می شود و رادیکال های آزاد نیز باعث افزایش آسیب به DNA می شوند (۳۷). لذا آسیب اکسیداتیو در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو نسبت به ظرفیت آنتی اکسیدان‌تی است که به سطح آنتی اکسیدان‌ت ها و آنزیم های آنتی اکسیدان‌تی بستگی دارد. استرس اکسیداتیو با ایجاد رادیکال های آزاد گونه اکسیژن فعال (ROS) باعث تغییر در DNA می شود (۳۸). غیر فعال شدن رادیکال های آزاد، سلول های بدن را از اثرات مخرب این ترکیبات مصون می دارد. از آنجا که ترکیبات اکسیدان‌ت و رادیکال های آزاد بسیار فعال و ناپایدار هستند، تمایل زیادی به واکنش با مولکول هایی نظیر پروتئین، کربوهیدرات و DNA دارند. آنتی اکسیدان‌ت ها رادیکال های آزاد اکسیژن را قبل از تماس با DNA غیر فعال می سازند و از اکسیداسیون جلوگیری می کنند (۱۹).

نتیجه حاصل از پژوهش حاضر با تجربیات نفیک (۱۹) که بیانگر اثرات مخرب ویتامین C است مغایرت دارد. علت این مغایرت می تواند دوز مصرفی باشد. او مشاهده کرده است ویتامین C در دوز های بالا (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) اثر ژنوتوکسیک دارد. او علت اثرات ژنوتوکسیک ویتامین C در دوز بالا را این طور بیان کرده است که ویتامین C در دوز های بالا در عملکرد رشته های دوک نقص ایجاد کرده و فرآیند میتوز و تفکیک کروموزوم ها با اختلال انجام و کروموزوم های جامانده ایجاد می شوند. این نقایص بیشتر در مراحل آنافاز و تلوفاز مشاهده می شوند. باید توجه داشت که مقدار آسیب های وارد

5. Yaguchi H, Yoshida M, Ding GR, Shingu K, et al. Increased chromatid-type chromosomal aberrations in mouse m5s cells exposed to power-line frequency magnetic fields. *Int.J.Radiat. Biol.* 2000; 76(12): 1677-1684.
6. Vijayalaxmi Obe G. Controversial cytogenetic observations in Mammalian somatic cells exposed to radiofrequency radiation. *Radiat.Res.* 2004; 162(5): 481-496.
7. Mashevich M, Folkman D, Kesar A, Barbul A, et al. Exposure of human peripheral blood lymphocytes to electromagnetic fields associated with cellular phones leads to chromosomal instability. *Bioelectromagnetics.* 2003; 24(2): 82-90.
8. Sgambato A, Ardito R, Faraglia B, Boninsegna A, et al. Resveratrol, a natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage. *Mutat. Res.* 2001; 496(1-2): 171-180.
9. Scarfi MR. The cytokinesis-block micronucleus assay: experimental procedure and application in bioelectromagnetics research. *Mutat. Res.* 2004; 27(6): 460-466.
10. Ivancsits S, Diem E, Pilger A, Hugo W, et al. Induction of DNA strand breaks by intermittent exposure to extremely-low-frequency electromagnetic fields in human diploid fibroblasts. *Mutat. Res.* 2002; 519(1-2): 1-13.
11. Baharara J, Haddad F, Ashraf AR, Khandehroo E. The effect of extremely low frequency electromagnetic field (50Hz) on induction of chromosomal damages on bone marrow erythrocytes of male Balb/C mouse. *A.M.U.J.* 2008; 11(2): 19-26.
12. Miranda-Vilela AL, Resck IS, Grisolia CK. Antigenotoxic activity and antioxidant properties of organic and aqueous extracts of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb). pulp. *Genet.Mol.Biol.* 2008; 31(4): 956-963.
13. Lutsenko AE, Carcamo MJ, Golde WD. Vitamin C prevents DNA mutation induced by oxidative stress. *J.Biol.Chem.* 2002; 277(30): 16895-16899.
14. Siddigie YH, Beg T, Afzal M. Anticlastogenic effects of ascorbic acid against the genotoxic damage induced by Norethynodrel. *Adv. Environ. Biol.* 2007; 1(1): 27-32.
15. Abdou HS, Salah SH, Abdel Rahim EA. The ability of vitamin A, C and E as antioxidants against the genotoxic potential of Tefluthrin. *Aust.J.Basic & Appl.Sci.* 2009; 3(4): 4190-4198.
16. Siddigie YH, Ara G, Beg T, Afzal M. Effect of vitamin C on Cyproterone Acetate induced genotoxic damage in mice. *J.Biol.Sci.* 2006; 1(1): 69-73.
17. Alkan FU, Sener SU. Lack of the antimutagenic effect of ascorbic acid on the genotoxicity of

شده توسط رادیکال‌های آزاد و تحت تاثیر فاکتورهای محیطی و حضور آنتی اکسیدان‌های دیگر می‌تواند در اثر بخشی این ویتامین تاثیر داشته باشد (۴).

با توجه به تجربیات بیان شده می‌توان نتیجه گرفت که ویتامین C با دوز مناسب آسیب‌های کروموزومی القا شده توسط امواج الکترومغناطیس با فرکانس پایین را با ممانعت از تشکیل رادیکال‌های آزاد کاهش می‌دهد.

نتیجه گیری

یافته‌های پژوهش حاضر بیانگر آن است که ویتامین C نقش آنتی ژنوتوکسیکی داشته و باعث کاهش آسیب‌های کروموزومی القا شده توسط امواج الکترومغناطیس با فرکانس پایین (۵۰ هرتز) در اربیتروسیت‌های پلی کروماتیک موش نر بالغ نژاد بالب سی می‌شود. لذا با توجه به اینکه دستگاه‌های مولد امواج الکترومغناطیس در زندگی روزمره، بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرند ضرورت دارد ضمن شناسایی راهکارهای مقابله با اثرات مخرب این امواج، با استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان‌تی نظیر ویتامین C آسیب‌های ژنتیکی ایجاد میکرونوکلسوس در اربیتروسیت‌ها را کاهش دهیم. باید توجه داشت که هر گونه استفاده از این ویتامین نیز باید با نظر پزشک و رعایت دوز مناسب باشد.

تشکر و قدردانی

از کارشناسان آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد وهم چنین سرکار خانم الهه ودایع که در اجرای این طرح پژوهشی با کد ۱۱۱۳۰۵۱۴۸۸۱۰۰۱ همکاری نمودند، تقدیر و سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Baharara J, Parivar K, Ashraf A, Rostami R. The synergetic effects of low frequency electromagnetic fields and vitamin A on the development of skin in Balb/C mice. *A.M.U.J.* 2010; 12(4): 10-18.
2. Koyama S, Nakahara T. Effects of high frequency electromagnetic fields on micronucleus formation in CHO-K1 cells. *Mutat. Res.* 2003; 541(1-2): 81-89.
3. Hardell L, Sage C. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. *Biomed Pharmacother.* 2008; 62(2): 1-6.
4. Artenie V, Maniu CL, Artenie R, Caunic M. Electromagnetic field influence on some antioxidant enzymes from rat blood serum. *Genet.Mol. Biol.* 2007; 44(2): 104-109.

- Albendazole in mouse bone marrow cells. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 2009; 53(3): 493-497.
18. Blasiak J, Kowalik J. Protective action of vitamin C against DNA damage induced by selenium –cisplatin conjugate. *Genet. Mol. Biol.* 2001; 48(1): 233-240.
19. Nefic H. The genotoxicity of vitamin C in vitro. *Bosne. J. Med. Sci.* 2008; 8(2): 141-146.
20. Schmid W, Von Ledebur M. The micronucleus test: methodological aspects. *Mutat. Res.* 1973; 19(1): 109-117.
21. Manni V, Lisi A, Pozzi D, Rieti S, et al. Effects of extremely low morphological and biological properties of human keratinocytes. *Bioelectromagnetics.* 2002; 23(4): 298-305.
22. Demisia G, Vlastos D, Matthopoulos DP. Effect of 910 MHz electromagnetic field on rat bone marrow. *J. Sci. W.* 2004; 4(2): 48-54.
23. Nahas SM, Oraby HA. Micronuclei formation in somatic cells of mice exposed to 50 Hz electric fields. *J. Environ. Mol. Mutagen.* 2006; 13(2): 107-111.
24. Vijayalaxmi Logani MK, Bhanushali A, Ziskin MC, Prihoda TJ. Micronuclei in peripheral blood and bone marrow cells of mice exposed to 42 GHz electromagnetic millimeter waves. *Radiat. Res.* 2004; 161(3): 341-345.
25. Pickard WF, Bisht KS, Prihoda TJ, Meltz ML. Frequency of micronuclei in the blood and bone marrow cells of mice exposed to ultrawideband electromagnetic radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 1999; 75 (1): 115-120.
26. Tipping DR. Observation on the effects of low frequency electromagnetic fields on cellular transcription in *Drosophila* larva reared in field free condition. *Bioelectromagnetics.* 1999; 20(2): 129-131.
27. Baharara J, Parivar K, Oryan Sh, Ashraf A. The effects of long-term exposure with simulating cell phone waves on gonads of female Balb/C mouse. *J. Reprod. Infertil.* 2004; 5(3): 226-227.
28. Baharara J, Parivar K, Oryan Sh, Ashraf A. Effects of low frequency electromagnetic fields on gonads and fertility of female Balb/C mouse. *A. M. U. J.* 2006; 9(2): 1-11.
29. Zwirska-Korczala K, Jochem J, Adamczyk – Sowa M, Sowa P, et al. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on cell proliferation in 3T3-L1 preadipocytes an in vitro study. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005; 56(6): 101-108.
30. Shuang Ni, Pan Pan Ye, YiBo Yu, Lixia Sun. Electromagnetic noise inhibits radio frequency radiation – induced DNA damage and reactive oxygen species increase in human lens epithelial cells. *Mol. Vis.* 2008; 14(114): 964-969.
31. Zmyslong M, Jahre JM. The role of free radicals in mechanisms of biological function exposed to weak constant and net magnetic fields. *Med. Pr.* 1998; 49(2): 177-186.
32. Farombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate –induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Hum. Exp. Toxicol.* 2006; 25(5): 251-259.
33. Konopacka M. Role of vitamin C in oxidative DNA damage. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* 2004; 58(1-2): 343-348.
34. Attri J, Dhawan V, Mahmood S, Pandhi P, et al. Effect of vitamin C supplementation on oxidative DNA damage in an experimental model of lead – induced hypertension. *Ann. Nutr. Metab.* 2003; 47(6): 294-301.
35. Siddique YH, Ara G, Beg T, Afzal M. Additive action of vitamin C and E against norgestrel induced genotoxicity. *Biomed. Res.* 2007; 18(3): 155-160.
36. Sheila SD, Valerie LO, Sucharita K. Base–excision repair of oxidative DNA damage. *Nature.* 2007; 447(7147): 941-950.
37. Reiter M, Rupp M, Baumeister P, Zieqer S, et al. Antioxidant effects of Quercetin and coenzyme Q10 in mini organ culture of human nasal mucosa cells. *Anticancer Research.* 2009; 29(1): 33-39.
38. Sahar M, Awad S. Health risks of electromagnetic radiation from mobile phone on brain of rat. *J. Appl. Sci. Res.* 2008; 4(12): 1994-2000.

The Antioxidant Effect of Vitamin C on Decreasing the Induced Chromosomal Damages by Low-Frequency Electromagnetic Field on Bone Marrow Erythrocytes of Male Balb/C Mouse

Baharara J, Ph.D.^{1*}, Haddad F, Ph.D.², Ashraf AR, Ph.D.³,
Sadegh Moghaddam Abbaspour R, M.Sc.⁴

1. Department of Biology, Faculty of Science, Mashhad branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

2. Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

3. Department of Physics, Faculty of Science, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

4. M.Sc. of Cell & Developmental Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

* Email corresponding author: baharara@yahoo.com

Received: 18 Dec. 2011

Accepted: 20 Feb. 2012

Abstract

Aim: In the present study, the antioxidant effect of vitamin C on decreasing the induced chromosomal damages by low-frequency electromagnetic field on bone marrow erythrocytes of male Balb/C mouse has been investigated.

Material and Methods: In this experimental study, 48 adult male mouse (Balb/C) were randomly divided into four equal groups: control, test 1, test 2 and test 3. Control group were kept in normal conditions and the mice in test1 and test3 groups were intraperitoneally injected with 50 mg / kg of vitamin C for 8 consecutive days. Then the mice of test 3 and test 2 groups after the fifth day were exposed to electromagnetic waves with frequency of 50 Hz and intensity of 50 Gauss for 4 days and 4 hours per day. The mice in all different groups were sacrificed and micronucleus test were performed on the bone marrow polychromatic erythrocytes. The data were analyzed using spss software and ANOVA test at level $p < 0.05$.

Results: The frequency of micronucleus in bone marrow polychromatic erythrocytes of test3 group (3.107 ± 0.276) in comparison with test 2 group (9.29 ± 0.881) showed a significant reduction ($p < 0.001$).

Conclusion: Vitamin C caused significant decrease in induced chromosomal damages by low-frequency electromagnetic waves in bone marrow polychromatic erythrocytes of adult male Balb/C mouse.

Keywords: Antioxidant, Balb/ C, Electromagnetic Waves, Erythrocytes, Vitamin C