

## اثر مهارى عصاره چای سبز *Camellia sinensis* در کاهش تراوتوژنیسته القایی میدان

### الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر کبد و طحال جنین موش نژاد Balb/C

جواد بهارآرا<sup>۱</sup>، ناصر مهدوی شهری<sup>۲</sup>، سعیده ظفر بالانژاد<sup>۳</sup>، عصمت کمره<sup>۴</sup>

۱. دانشیار زیست شناسی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

۲. استاد بافت شناسی-جنین شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

۳. مربی زیست شناسی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

۴. کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی-تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم پایه

#### چکیده

**زمینه و هدف:** بسیاری از پژوهش‌ها بر تشکیل رادیکال‌های آزاد توسط میدان‌های الکترومغناطیس تاکید دارند. چای سبز غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها است و آنتی-اکسیدان‌ها می‌توانند اثرات رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند. در این پژوهش اثر عصاره چای سبز در کاهش تراوتوژنیسته القایی میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس بر کبد و طحال جنین موش نژاد Balb/C مورد مطالعه قرار گرفته است.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، ۲۴ سر موش ماده‌ی باردار نژاد Balb/C به ۴ گروه کنترل، شاهد آزمایشگاهی (دستگاه خاموش)، گروه تجربی ۱ (میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاوس)، گروه تجربی ۲ (تیمار با عصاره‌ی چای سبز + میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاوس)، تقسیم شدند. سپس از جنین‌های ۱۹ روزه پس از اندازه‌گیری وزن و طول فرق سری نشیمنگاهی، مقاطع بافتی کبد و طحال جهت مطالعات بافت‌شناسی با میکروسکوپ نوری تهیه شد. داده‌های کمی حاصل، به کمک نرم افزار SPSS-16 و آزمون‌های آماری ANOVA و توکی در سطح  $(p < 0/05)$  تحلیل گردید.

**یافته‌ها:** در بررسی مقاطع بافتی، متوسط تعداد لنفوسیت‌های طحال نمونه‌های تجربی ۱ نسبت به شاهد آزمایشگاهی کاهش معنی‌دار نشان داد  $(p = 0/001)$ ، در حالی که متوسط تعداد لنفوسیت نمونه‌های تجربی ۲ نسبت به تجربی ۱ افزایش معنی‌دار نشان داد  $(p = 0/001)$ . متوسط تعداد هیاتوسیت‌های کبدی در نمونه‌های تجربی ۲ نسبت به نمونه شاهد آزمایشگاهی کاهش معنی‌دار نشان داد  $(p = 0/004)$  و متوسط تعداد هیاتوسیت‌های کبدی در نمونه‌های تجربی ۲ نسبت به تجربی ۱ کاهش معنی‌دار داشت  $(p = 0/042)$ .

**نتیجه‌گیری:** مصرف چای سبز توانسته آسیب‌های القایی در بسیاری از سلول‌ها تحت تاثیر میدان‌های الکترومغناطیس را جبران نماید ولی مصرف آن در دوران بارداری به علت تغییر در تعداد برخی سلول‌ها توصیه نمی‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** چای سبز، کبد، طحال، میدان الکترومغناطیس، موش Balb/C

#### مقدمه

ساختار کلی بافت طحال تاثیر عمیقی ندارد، ولی باعث افزایش تعدادی از سلول‌های این بافت می‌شود. مطالعات نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌ها با تخریب و کاهش رادیکال‌های آزاد از اثرات نامطلوب این عوامل مخرب بر بدن جلوگیری می‌کنند و چای سبز نیز غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی کاتچین "از بین برنده قوی رادیکال‌های آزاد در محیط‌های آزمایشگاهی" است. تجربیات فراوانی در مورد خواص ضدسرطانی چای سبز انجام شده است، از جمله مطالعه بر روی اندازه تومورها و رنگ‌زایی در سرطان مثانه موش‌هایی که با N-بوتیل (۱) و ۴-هیدروکسی بوتیل‌نیتروزامین و چای سبز به مدت ۱۴ تا ۲۴ هفته تیمار شده بودند، بیانگر اثرات پلی‌فنل‌ها در جلوگیری از پیشرفت سرطان می‌باشد. چای سبز هم‌چنین دارای خواص ضد آلرژی، مهارکنندگی تشکیل پلاک در مغز، کاهش گلوکز، کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول خون، تحریک کاتابولیسم چربی در کبد و افزایش مصرف انرژی در بدن است. با استفاده از کاتچین چای سبز می‌توان اثرات تخریبی اکسیداتیو حاصل از مایکروویو بر بافت قلبی را کاهش داد. مطالعه تاثیر کاتچین چای سبز بر روی فعالیت‌های آنزیمی و بیان ژن‌های سیستم‌های

انسان در زندگی روزمره و مدرن امروزی به ناچار در معرض انواع مختلفی از عوامل مضر و مخرب فیزیکی، شیمیایی و محیطی قرار دارند و تولید رادیکال‌های آزاد و جهش در DNA از تاثیرات سوء این عوامل است. این موضوع زمینه بروز بسیاری از اختلالات انسانی از قبیل سرطان، پیری، ایسکمی و تصلب شرایین را فراهم می‌کند. یکی از عوامل فیزیکی موثر، میدان‌های الکترومغناطیس است. در دنیای پیشرفته امروزی انبوهی از دستگاه‌های مولد میدان‌های الکترومغناطیس مانند وسایل برقی خانگی، رادیو، تلویزیون و تلفن‌های همراه در زندگی انسان‌ها وجود دارد. برخی مطالعات نشان داده است که میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین باعث القای آسیب‌های کروموزومی در اریتروسیت‌های پلی‌کروماتیک مغز استخوان موش نژاد Balb/C می‌شود. مطالعات نشان داده است که تحت امواج با فرکانس ۱۵-۸ گیگاهرتز با شدت یک وات افزایش معنی‌دار در تولید فاکتور نکروزیس توموری در لنفوسیت‌های T طحالی ایجاد می‌شود؛ امواج سلول‌های T را تحت تاثیر قرار داده و توانایی آن‌ها را در تقسیم افزایش می‌دهد. برخی پژوهش‌ها بیانگر آن است که امواج تلفن همراه بر

۲۰۰ عصاره هیدروالکلی چای سبز بر گلوکز خون و وزن موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرویتوزوتوسین نشان دادند بهترین دوز موثر بر فعالیت‌های بدنی مدل‌های آزمایشگاهی، دوز ۱۰۰ mg/kg می‌باشد.<sup>۱۴</sup> در مطالعات تاثیر چای سبز بر کبد و بافت قلب بیشتر از میزان دوز ۱۰۰ mg/kg استفاده شده است.<sup>۱۵</sup> با توجه به این که در اکثریت مقالات دوز عصاره تزریقی mg/kg ۱۰۰ در نظر گرفته شده است، لذا ما نیز در آزمایشات خود از این دوز استفاده کردیم. عصاره هیدروالکلی چای سبز به روش خیساندن (Maceration) تهیه شد. برای تهیه مقادیر مورد استفاده، مقدار کافی از پودر خشک عصاره هیدروالکلی چای سبز پس از توزین در آب مقطر به صورت سوسپانسیون تهیه و روزانه عصاره به روش درون صفاقی تزریق شد. قبل از هر بار تزریق، موش‌ها توزین و تزریق براساس mg/kg صورت گرفت. موش‌های حامله مذکور به صورت تصادفی به ۴ گروه به شرح ذیل تقسیم شدند:

گروه کنترل: موش‌های بارداری که در اتاق پرورش حیوانات در شرایط طبیعی نگهداری شدند.

گروه شاهد آزمایشگاهی (Sham exposed): موش‌های باردار این گروه در روزهای ۱۹-۹ بارداری هر روز به مدت ۴ ساعت (۸-۱۲ صبح) در شرایط آزمایشگاهی و درون دستگاه مولد میدان الکترومغناطیس در وضعیت خاموش قرار داده شدند.

گروه تجربی ۱: موش‌های باردار این گروه در روزهای ۱۹-۹ حاملگی هر روز به مدت ۴ ساعت (۸-۱۲ صبح) در معرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس قرار گرفتند.

گروه تجربی ۲: موش‌های باردار این گروه در روزهای ۱۹-۹ بارداری در معرض میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس به مدت ۴ ساعت (۸-۱۲ صبح) در روز و تزریق درون صفاقی (۱۰۰ mg/kg) عصاره هیدروالکلی چای سبز قرار گرفتند.

در کلیه مراحل نگهداری، انجام تیمار و تشریح حیوانات، به رعایت اصول اخلاقی توجه دقیق و کامل شده است. برای هر گروه حداقل ۶ موش باردار در نظر گرفته شد. کلیه موش‌های باردار در روز ۱۹ بارداری توسط کلروفورم بیهوش و جنین آن‌ها از رحم خارج شد. پس از بررسی‌های ریخت‌شناسی، با ترازوی دیجیتال (Sartorius, Germany) با دقت gr ۰/۰۱ توزین و طول فرق‌سری-نشیمنگاهی به وسیله کولیس اندازه‌گیری شد. سپس کبد و طحال آن‌ها به طور کامل از بدن خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید، سپس آب‌گیری و قالب‌گیری انجام شد و توسط میکروتوم (Microtome, Germany) برش‌های سریال ۶ میکرونی تهیه گردید و به روش هماتوکسیلین-ائوزین هاریس رنگ‌آمیزی و لام دائمی تهیه شد. در مطالعه مقاطع عرضی با میکروسکوپ نوری ابتدا وضعیت کلی بافت بررسی سپس تعداد هپاتوسیت‌ها و مگاکاریوسیت‌های کبدی و تعداد گلبول‌های قرمز فاقد هسته، لنفوسیت‌ها و مگاکاریوسیت‌های طحال شمارش شد. برای جلوگیری از هر گونه خطا در شمارش تعداد سلول‌های فوق‌الذکر، در بخش‌های ساعت ۳، ۶، ۹، ۱۲ و مرکز میدان دید شمارش صورت گرفت. نتایج گروه‌های تجربی ۱، ۲، شاهد آزمایشگاهی

آنتی‌اکسیداتیو در کبد رت‌هایی که هم‌زمان با مصرف چای سبز به مدت ۱۵ دقیقه در طی ۱۶ روز در معرض مایکروویو با فرکانس ۲/۴۵ گیگاهرتز قرار گرفته بودند، نشان داده است که میزان آسیب‌های وارده به کبد در این گروه همانند گروه کنترل بوده و اختلاف معنی‌دار ندارد.<sup>۱۱</sup> برخی مطالعات نشان داده است که اثرات ژنوتوکسیک ناشی از در معرض قرارگیری سلول‌های خون محیطی با امواج فرابنفش A، ۶۰ دقیقه پس از مصرف چای سبز به شدت کاهش می‌یابد.<sup>۷</sup>

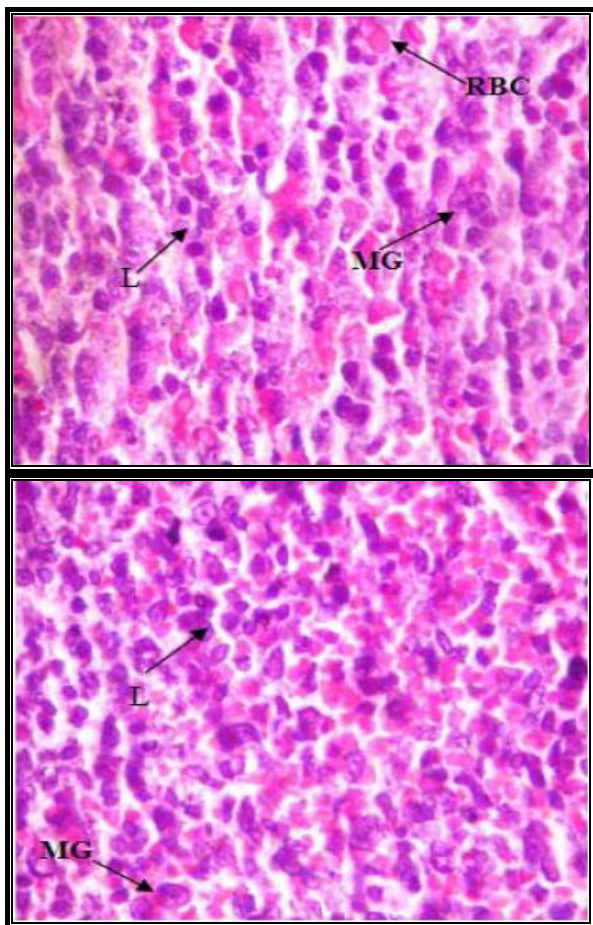
همان‌گونه که اشاره شد میدان‌های الکترومغناطیس تاثیرات زیادی بر بدن و رشد و نمو جنینی دارند و چای سبز به علت خواص آنتی‌اکسیداتیو می‌تواند سبب ایجاد تعادل و توازن بسیار مطلوبی در بدن شود. لذا با توجه به عدم وجود مطالعه قبلی در این زمینه در پژوهش حاضر تلاش شده است که اثرات عصاره چای سبز در کاهش آسیب‌های تراژونیک القایی توسط میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس بر کبد و طحال جنین موش نژاد Balb/C مورد مطالعه قرار گیرد.

## روش کار

این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی است که در سال‌های ۹۰-۱۳۸۹ در آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شد. ۲۴ سر موش نژاد Balb/C از موسسه سرم‌سازی رازی مشهد خریداری و در اتاق پرورش حیوانات تکثیر و در درجه حرارت  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت ۷۰-۶۵ درصد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های پلی‌کربن با درپوش سیمی ضد زنگ که هر هفته ۲ بار شستشو و ضدعفونی می‌شدند، نگهداری شدند. برای تغذیه آن‌ها از غذای آماده استاندارد استفاده گردید. آب کافی توسط بطری شیشه‌ای در اختیار آن‌ها قرار داده شد. برای اطمینان از بلوغ موش‌ها از حیوانات ۳-۲/۵ ماهه با وزن ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. آمیزش موش‌های نر و ماده مونوگامی بوده و روز مشاهده درپوش واژنی در جنس ماده به عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد.

سیستم مولد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز موجود در آزمایشگاه تحقیق جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد (طراحی و ساخته شده توسط بهارآرا و اشرف) مورد استفاده قرار گرفت. جهت مشابهت فرکانس موج به کار رفته با شرایط موجود در منازل، ادارات و کارخانجات از فرکانس پایین استفاده شد. برخی مطالعات نیز نشان داده است که افزایش رادیکال‌های آزاد به عملکرد ژنوتوکسیکی امواج الکترومغناطیس بر روی DNA و سلول‌های بنیادی خونساز مربوط می‌باشد.<sup>۱۲</sup> بر این اساس کبد و طحال به عنوان بخشی از سیستم خون‌ساز در این پژوهش مورد مطالعه قرار گرفت. مدت زمان مواجهه با امواج نیز از روز ۱۹-۹ بارداری تعیین شد. زیرا تکوین سیستم خون‌ساز صرف نظر از کیسه زرده، با تکوین کبد از روز ۱۰ جنینی (با احتساب دوره بارداری ۲۱ روز) آغاز و تا بدو تولد و حتی بعد از آن ادامه دارد.<sup>۱۳</sup> لذا مدت تیمار در فاصله زمانی ۱۹-۹ بارداری انتخاب شده است. در پژوهش حاضر عصاره چای سبز با دوز ۱۰۰ mg/kg استفاده شده است. مهدی‌زاده و همکاران با مطالعه تاثیر دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و

داد که متوسط تعداد مگاکاریوسیت‌های کبدی در گروه‌های تجربی ۲ نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار یافته است ( $p=0/001$ )، در حالی که متوسط تعداد هپاتوسیت‌های کبدی در گروه‌های تجربی ۲ نسبت به گروه‌های شاهد آزمایشگاهی کاهش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/004$ )، در طحال متوسط تعداد مگاکاریوسیت‌های جنین‌های تجربی ۲ نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/001$ )، هم‌چنین متوسط تعداد گلبول‌های قرمز جنین‌های تجربی ۲ نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/001$ ).



تصویر ۲: مقطع سه‌می-میانی از طحال مین ۱۹ روزه شاهد آزمایشگاهی (بالا) و تجربی ۱ (پایین). درشت‌نمایی  $1000\times$ ، رنگ آمیزی H&E  
RBC: گلبول قرمز، MG: مگاکاریوسیت، L: لنفوسیت

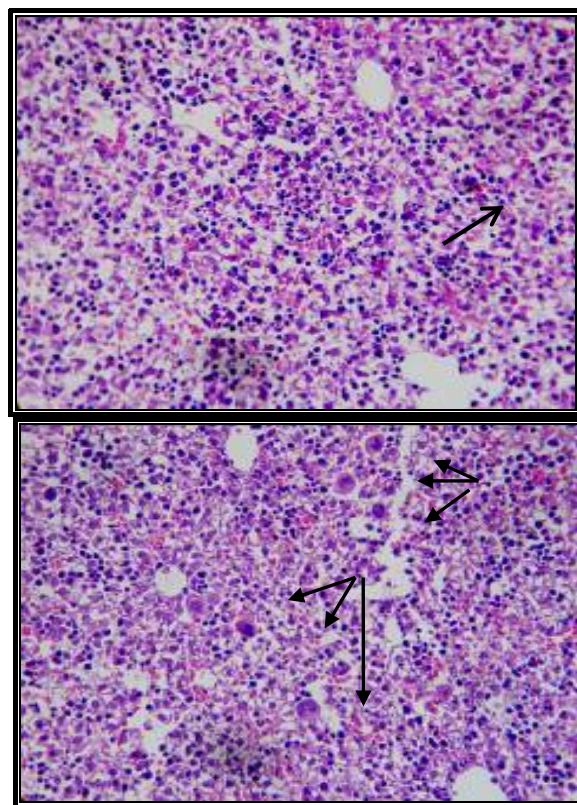
در بررسی مقاطع بافتی کبد و طحال گروه تجربی ۲، متوسط تعداد هپاتوسیت‌های کبدی نسبت به جنین‌های گروه تجربی ۱ کاهش معنی‌دار داشت ( $p=0/042$ )، در حالی که در طحال متوسط گلبول‌های قرمز جنین‌ها در گروه تجربی ۲ نسبت به جنین‌های تجربی ۱ و متوسط تعداد لنفوسیت‌های جنین‌ها در گروه تجربی ۲ نسبت به جنین‌ها در گروه تجربی ۱ افزایش معنی‌دار داشت ( $p=0/001$ ) (جدول شماره ۱) (نمودار شماره ۱ و ۲).

و کنترل با یکدیگر مقایسه و داده‌های کمی حاصل از تجربیات نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 و آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و توکی در سطح  $p < 0/05$  تحلیل گردید.

### یافته‌ها

مقایسه آماری نتایج حاصل از نمونه‌های کنترل و شاهد آزمایشگاه هیچ‌گونه تغییر معنی‌دار نشان نداد ( $p > 0/05$ )، لذا در ادامه گروه‌های تجربی با شاهد آزمایشگاهی مقایسه شد.

مقایسه آماری اندازه طول فرق‌سری-نشیمنگاهی جنین‌های تجربی ۱ نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/008$ ) هم‌چنین مقایسه وزن جنین‌های تجربی ۱ نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/002$ )، بررسی مقاطع بافتی کبد و طحال نشان می‌دهد که متوسط تعداد مگاکاریوسیت‌های کبدی در گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار یافته است ( $p=0/001$ ) (تصویر شماره ۱).



تصویر ۱: مقطع طولی از کبد مین ۱۹ روزه شاهد آزمایشگاهی (پایین) و تجربی ۱ (بالا)، افزایش تعداد مگاکاریوسیت در گروه تجربی ۱ در این مقاطع قابل رویت است ( $p=0/001$ )، درشت‌نمایی  $400\times$  رنگ آمیزی H&E

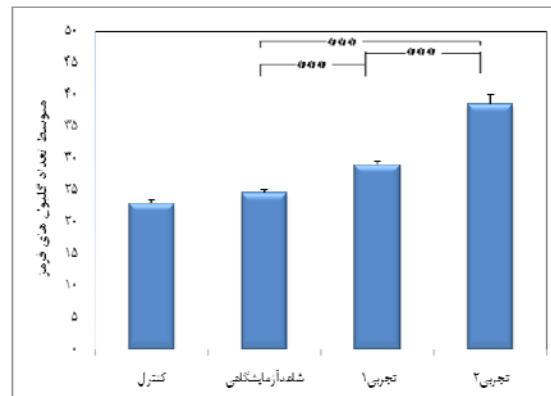
در طحال جنین‌های گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار در متوسط تعداد مگاکاریوسیت‌ها و گلبول‌های قرمز مشاهده شد ( $p=0/001$ )، در حالی که تعداد لنفوسیت‌ها در جنین‌های گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد آزمایشگاهی کاهش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/001$ ) (تصویر شماره ۲). مقایسه آماری وزن جنین‌های تجربی ۲ با شاهد آزمایشگاهی افزایش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/013$ )، بررسی مقاطع بافتی کبد و طحال نشان

جدول ۱: مقایسه آماری داده‌های کمی در گروه‌های کنترل، شاهد آزمایشگاهی، تجربی ۱ (تیمار تمت میدان الکترومغناطیس)، تجربی ۲ (تیمار توام میدان الکترومغناطیس و

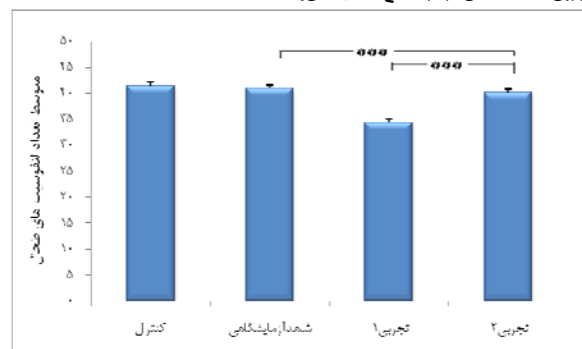
شاخص	گروه	عصاره‌ی چای سبز			
		کنترل	شاهد آزمایشگاهی	تجربی ۱	تجربی ۲
میانگین مقدار وزن (g)	۱/۰۵±۰/۱۸	۱/۱۴±۰/۱۹	۱/۳۷±۰/۰۶	۱/۳۳±۰/۰۲	
میانگین اندازه طول فرق سری-نشیمگاهی (mm)	۱۹/۹۵±۲/۰۹	۲۰/۸۵±۱/۶۵	۲۳/۱۴±۱/۵۲	۲۱/۴۴±۲/۲۷	
میانگین تعداد مگا کاربوسیت‌های کبدی	۳/۳۴±۱/۸۷	۳/۲۴±۱/۶۹	۴/۲۳±۱/۶۷	۴/۱۱±۱/۹۱	
میانگین تعداد هیاتوسیت‌های کبدی	۲۰/۶±۶/۹۶	۲۱/۷۲±۷/۳۶	۲۱/۰۸±۷/۲۴	۱۸/۹۸±۷/۳۸	
میانگین تعداد مگا کاربوسیت‌های طحال	۱/۴۲±۱/۰۷	۱/۶۷±۱/۰۹	۲/۱۹±۱/۰۶	۲/۱۳±۱/۲۶	
میانگین تعداد لنفوسیت‌های طحال	۴۱/۴۳±۷/۵۳	۴۰/۹۷±۷/۰۷	۳۴/۲۹±۷/۷۷	۴۰/۱۱±۷/۳۳	
میانگین تعداد گلبول‌های قرمز طحال	۲۲/۸۷±۵/۶۱	۲۴/۵۲±۶/۴۱	۲۸/۹۱±۶/۵۲	۳۸/۵۵±۱۲/۸۸	

در جدول فوق Mean±SEM نشان داده شده است. "\*\*\*\*" و "\*\*\*\*" به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ می‌باشند.

طبیعی برگردانده شد. برخی مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اگر موش‌های باردار در روزهای ۵، ۶، ۷، بارداری به مدت ۱۰ ساعت با میدان الکترومغناطیسی با شدت ۱۲۰ گاوس و فرکانس ۱۰۰ هرتز و شکل موج سینوسی کامل شده مواجه شوند، وزن جنین‌ها، جفت‌ها و CR (Crown Rump) افزایش می‌یابد<sup>۱۶</sup> که با نتایج این پژوهش تطابق دارد. در حالی که برخی مطالعات دیگر این مطابقت را نشان نمی‌دهند از آن جمله Negishi و همکاران با قرار دادن موش‌های صحرایی در معرض میدان‌های الکترومغناطیسی با شدت ۷، ۷۰، ۳۵۰ میکروتسلا به مدت ۲۲ ساعت در روز در طی دوران بارداری در روزهای ۱۵-۸ جنینی و اندازه‌گیری میزان رشد و اندام‌زایی آن‌ها در روز ۲۰ جنینی، در چندین مورد تفاوت‌هایی را در کاهش وزن کبد و کلیه و یا پایین بودن وزن جنین‌های نر و ماده در ۷۰ میکروتسلا مشاهده نمود.<sup>۱۷</sup> برخی مطالعات نیز نشان داده است که استفاده از ویتامین A و میدان الکترومغناطیس با فرکانس بسیار کم بر رشد و نمو اثر تاخیری داشته و باعث کاهش وزن جنین، طول اندام حرکتی و تراکم سلول-های غضروفی جنین جوجه می‌شود.<sup>۱۸</sup> در پژوهش‌ها اشاره شده است که عوامل متعددی در ایجاد اثرات بیولوژیک میدان‌های الکترومغناطیس دخالت دارند و مهم‌ترین آن‌ها عبارت از مشخصات فیزیکی میدان، مدت زمان در معرض قرارگیری، نوع بافت و مرحله رشد نموی نمونه آزمایشگاهی می‌باشند.<sup>۱۹</sup> در مطالعه حاضر شمارش سلول‌های کبد و طحال، افزایش گلبول‌های قرمز و مگا کاربوسیت‌ها در جنین‌های گروه تجربی ۱ را نشان داد. این نتیجه با مطالعه انجام شده توسط Forgacs در موش‌های نر که در معرض مایکروویو (۱۸۰۰ مگاهرتز) صورت گرفته، مطابقت دارد. در مطالعه مذکور هیچ نوع تغییرات بافتی در اندام‌های تناسلی مشاهده نشد. اما تعداد گلبول‌های قرمز خون افزایش نشان داده است.<sup>۲۰</sup> برخی مطالعات نیز نشان داده است که افزایش رادیکال‌های آزاد به عملکرد ژنوتوکسیکی امواج الکترومغناطیس بر روی DNA و سلول‌های بنیادی خون‌ساز مربوط می‌باشد، که تأییدی بر تأثیر امواج بر کبد و طحال به عنوان بخشی از سیستم خون‌ساز است.<sup>۲۱</sup> این یافته هم‌چنین با نتایج گزارش در مورد اثرات امواج الکترومغناطیس با فرکانس کم و نیز اثرات مایکروویو بر سیستم خون‌ساز موش کوچک آزمایشگاهی مطابقت دارد.<sup>۲۱</sup> نفیسی و همکاران، موش‌های صحرایی نژاد ویستار را در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس‌های بالا و پایین به ترتیب ۱۱۰ کیلوهرتز و ۱۰ هرتز



نمودار ۱: مقایسه آماری میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در گروه‌های کنترل و تجربی \*\*\*\* معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱ می‌باشد.



نمودار ۲: مقایسه آماری میانگین تعداد لنفوسیت‌ها در گروه‌های کنترل و تجربی \*\*\*\* معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱ می‌باشد.

## بحث

در مطالعه حاضر هیچ گونه ناهنجاری مورفولوژیکی در جنین‌های ۱۹ روزه و یا تغییر ساختار و وضعیت کلی بافت‌های مذکور مشاهده نشده است. ولی مقایسه جنین‌های گروه تجربی ۱ که در معرض میدان الکترومغناطیس قرار گرفته بودند با شاهد آزمایشگاهی افزایش در وزن، طول فرق سری-نشیمگاهی، متوسط تعداد مگا کاربوسیت‌های کبدی و طحال را نشان داد در حالی که در گروه تجربی ۲ که هم‌زمان با تیمار با میدان الکترومغناطیس عصاره چای سبز را نیز دریافت نمودند، این افزایش به میزان کمتری مشاهده شد. هم‌چنین تأثیر تزریق عصاره چای سبز در تعداد لنفوسیت‌های طحال مشاهده شد زیرا عصاره چای سبز کاهش ناشی از اثر میدان الکترومغناطیس را جبران نموده و تعداد سلول‌ها به اندازه

بودند سطح مواد معدنی نظیر آهن، منگنز و روی تغییر یافت، ولی چای سبز سطح این مواد را به اندازه طبیعی خود بازگرداند.<sup>۲۸</sup> پژوهشگران تاثیر EGCG (Epigallocatechin-3-Gallat) را بر روی تکثیر و مراحل چرخه سلولی رده سلولی کبد انسانی (Hepg2)، بررسی و نتایج وی نشان داده است که EGCG تکثیر Hepg2 را به وسیله القا آپوپتوز و بلوکه کردن مراحل پیشرفت چرخه سلولی در فاز G1 مهار می‌کند.<sup>۲۹</sup> با توجه به تجربیات بیان شده می‌توان نتیجه گرفت که چای سبز از طریق تخریب رادیکال‌های آزاد، مهار استرس اکسیداتیو، مهار تخریب DNA، مهار اتصال عوامل سرطانزا به گیرنده‌های مربوطه، جلوگیری از تشکیل فاکتورهای تحریک کننده ایجاد و انتشار سلول‌های سرطانی، القا آپوپتوز در سلول‌های آسیب دیده، کنترل چرخه سلولی، تغییر در رونویسی ژن‌ها، تغییر در تاخوردگی پروتئین‌ها و تولید پروتئین‌های شوک گرمایی و یا بلوکه کردن آنزیم‌های معینی می‌تواند در کاهش آسیب‌های کروموزومی القایی ناشی از میدان‌های الکترو مغناطیس موثر باشد.<sup>۳۰</sup> در برخی مطالعات دیگر تخریب رادیکال‌های آزاد توسط کاتچین علت اصلی معرفی شده است.<sup>۳۱</sup> مصرف خوراکی چای سبز با دوز ۲۰۰۰ mg/kg در مدت ۲۸ روز هیچ گونه آسیب و یا مسمومیتی در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی ایجاد ننموده است.<sup>۳۲</sup> به نظر می‌رسد تفاوت مرحله رشد و نمو و نوع حیوان و نحوه مصرف علت تفاوت در نتایج باشد ولی جنین موش‌های صحرایی که در مراحل اندام‌زایی در معرض چای سبز بوده‌اند، علائم مسمومیت خفیف و ملایمی را نشان می‌دهند.<sup>۳۳</sup> هم‌چنین در گزارشی ارتباط بین مصرف چای سبز توسط مادران باردار و تولد نوزادانی با ناهنجاری‌هایی در رشد و نمو لوله عصبی نشان داده شده است. احتمالاً مصرف چای سبز غنی از کاتچین و اپی‌مراهیش به دلیل سد شدن عمل آنزیم دهیدروفلوات‌ردوکتاز سبب پایین آمدن تراز اسید فولیک در بدن می‌شود، بنابراین مصرف آن برای زنان باردار و زنانی که تمایل به بارداری دارند، توصیه نمی‌شود.<sup>۳۴</sup> نتایج مطالعه حاضر بیانگر این است که عصاره چای سبز از افزایش مگاکاریوسیت‌های کبدی و طحال، افزایش وزن و طول جنین‌ها یا کاهش لنفوسیت‌های طحال در نتیجه تیمار با میدان‌های الکترومغناطیس به دلیل القا آپوپتوز، فعال‌سازی کاسپازها، مهار پروتئین‌کیناز، کنترل چرخه سلولی و مهار تکثیر سلولی جلوگیری کرده است به این دلیل مصرف آن برای جامعه رادیولوژیست‌ها، کارمندان صدا و سیما و مخبرات بیش از سایر افراد جامعه توصیه می‌شود. ولی اثر افزایشی در تعداد گلبول‌های قرمز و اثر کاهشی در تعداد هپاتوسیت‌ها را نیز نشان داده است. بنابراین مصرف آن در دوران بارداری به علت ایجاد تغییر در این سلول‌ها توصیه نمی‌شود و نیاز به مطالعات تکمیلی دارد.

### سپاسگزاری

از مدیر محترم گروه زیست‌شناسی و نیز کارشناسان محترم آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در اجرای طرح پژوهشی خانم عصمت کمره با کد ۱۱۱۳۰۵۱۷۸۹۱۰۰۶ همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌نمایم.

با شدت ۷۰۰ میلی‌گاوس به مدت ۲ روز، روزی ۲ ساعت قرار داده و کاهش معنی‌دار در تعداد لنفوسیت‌ها در فرکانس‌های بالا گزارش نمودند،<sup>۳۵</sup> که با نتایج حاضر مطابقت نشان می‌دهد. Amara تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی را در افزایش تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و پروتئین‌ها گزارش نموده است. هم‌چنین تجربیات نشان داده است که در موش‌های صحرایی که به مدت ۳۰ روز در معرض میدان الکترومغناطیس ثابت قرار گرفتند، این شاخص‌ها به جز هماتوکریت افزایش معنی‌دار نشان داده است در صورتی که وزن موش‌ها کاهش یافته است.<sup>۳۶</sup> هم‌چنین در موش‌های صحرایی نژاد ویستار که ۵ روز متوالی هر روز به مدت ۱ ساعت در معرض میدان مغناطیسی ثابت با شدت ۱۲۸ میلی-تسلا قرار گرفتند افزایش در هماتوکریت، هموگلوبین، غلظت ترانسفرین پلاسما و غلظت هموگلوبین گلبول‌ها و کاهش در غلظت آهن پلاسما و نیز افزایش در گلبول‌های سفید و قرمز مشاهده شد.<sup>۳۷</sup> در دو مطالعه فوق افزایش گلبول‌های قرمز با پژوهش حاضر مطابقت دارد ولی افزایش گلبول‌های سفید و کاهش وزن با نتایج این پژوهش ناسازگار است. به نظر می‌رسد تفاوت در نوع حیوان، مرحله رشد و نمو، مدت تیمار و نوع میدان، علت بروز این تفاوت‌ها باشد. در برخی مطالعات پیشنهاد شده است که امواج در نتیجه فعال کردن یک مکانیسم مولکولی، باعث القا فعالیت آبخشاری (Extracellular-signal-Regulated Kinase) ERK می‌شود و بنابراین باعث تحریک رونویسی و فرایندهای سلولی دیگر می‌گردد. هم‌چنین مشاهده شده است که امواج اثراتشان را روی سیستم‌های بیولوژیکی به وسیله تولید یا افزایش گونه اکسیژن واکنش‌گر ROS (Reactive Oxygen Species) اعمال می‌کنند. ROS به عنوان یک واسطه در تعداد زیادی از اثرات بیولوژیکی شامل آسیب DNA و القا موتاسیون نقش دارد.<sup>۳۸</sup> از دیگر نتایج افزایش وزن کمتر در گروه تحت تاثیر میدان الکترومغناطیس که هم‌زمان عصاره چای سبز را دریافت نمودند در مقایسه با گروه تحت تاثیر میدان به تنهایی می‌باشد، که احتمالاً به دلیل تزریق عصاره است. Sae-tan در طی آزمایشی نشان داد که افزودن ۱۳۰ میلی‌گرم از پودر چای سبز در آب خوراکی موش‌های صحرایی نری که با رژیم ۵۰ درصد ساکارز و ۵۰ درصد کره تغذیه شده‌اند باعث، کاهش وزن در مدت دو روز می‌شود.<sup>۳۹</sup> کاهش وزن ممکن است به دلیل کاهش تراکم چربی بدن باشد که در موش‌های صحرایی اسپراگو پس از ۱۴ روز تیمار با چای سبز نیز مشاهده شده است.<sup>۴۰</sup> مقایسه لنفوسیت‌ها در گروه‌های شاهد و تجربی نشان می‌دهد که چای سبز توانسته کاهش این سلول‌ها را در نتیجه اثر میدان الکترومغناطیس جبران نماید زیرا چای سبز سبب افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی پلاسما، کاهش پراکسیدهای پلاسمایی و کاهش القا تخریب اکسیداتیو DNA در لنفوسیت‌های انسانی گردیده و فرایندهای آنتی‌اکسیداتیو را بهبود می‌بخشد.<sup>۴۱</sup> که با نتایج حاصل از پژوهش Kilicalp سازگاری دارد. وی نشان داد که در سلول‌های کبد و بیضه خوک‌هایی که در معرض امواج الکترومغناطیسی ۹۰۰ مگاهرتز قرار گرفته

## References

- Katiyar S, Craig A, Elmets B and Santosh K. Green tea and skin cancer: Photoimmunology, angiogenesis and DNA repair. *J Nutr Biochem* 2007; 18(5): 287-29.
- Kili alp D, Deger Y, Cinar A. Effects of green tea on electrocardiography of guinea pigs exposed to electromagnetic field emitted by mobile phones. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009; 15(6): 823-28.
- Verschaeve L. Genetic damage in subjects exposed to radiofrequency radiation. *Mutat Res* 2009; 681(2-3): 259-70.
- Baharara J, Haddad F, Khandehrou A. [The effect of extremely low frequency electromagnetic field (50Hz) on induction of chromosomal damages on bone marrow erythrocytes of male Balb/C mouse] Persian. *AMUJ* 2008; 11(2): 19-26.
- Baharara J, Haddad F, Shariat zade MA, Amirahmadi M. [The genotoxic effects of mobile phone waves on induction of chromosomal damages in embryos of Balb/C mice] Persian. *Behbood J* 2010; 14(4): 295-304.
- Rajaei F, Farokhi M, Ghasemi N and Pahlevan A. Effects of extremely low-frequency magnetic field on mouse epididymis and deferens ducts. *Iran J Reprod Med* 2009; 7(2): 85-89.
- Malhomme H, Seagrove S, Mehta A, et al. Using natural dietary sources of antioxidants to protect against ultraviolet and visible radiation-induced DNA damage: An investigation of human green tea ingestion. *J Photochem Photobiol B* 2010; 101(2): 169-173.
- Sagara Y, Miyata Y, Nomata K, et al. Green tea polyphenol suppresses tumor invasion and angiogenesis in N-butyl-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced bladder cancer. *J Canep* 2010; 34(3): 350-354.
- Lambert JD, Elias R. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501(1): 65-72.
- Kim MJ, Rhee M. Green tea catechins protect rats from microwave induced oxidative damage to heart tissue. *J Med Food* 2004; 7(3): 299-304.
- Kim MJ, Choi JH, Yang JA, et al. Effects of green tea catechin on enzyme activities and gene expression of antioxidative system in rat liver exposed to microwaves. *Nutr Res* 2002; 22(6): 733-744.
- Calvente I, Fernandez MF, Villalba J, et al. Exposure to electromagnetic field (non-ionizing radiation) and its relationship with childhood leukemia: A systematic review. *Sci Total Environ* 2010; 408(16): 3062-9.
- Tavassoli M. Embryonic and fetal hemopoiesis: An overview. *Blood Cells* 1991; 17(2): 269-81.
- Mehdizade M. Effect of green tea (*Camellia sineis* L) extract on blood glucose and body weight in male induced diabetic Rats. *J Gorgan Uni Med Sci* 2009; 11(1): 8-12.
- Kumaran VS, Ayagam K, Kalaieselvi P. Sencece mediated redox imbalance in cardiac tissue, antioxidant rejuvenating potential of green tea extract. *Nutri* 2009; 25(7-8): 847 -854.
- Parivar K, Golestanian N, Modaressi M. The effects of electromagnetic fields on development of mouse embryos. *J Sci.Univ Teach Educat* 1994; 6(1-2): 1-18.
- Negishi T, Imai S, Itabashi M, et al. Studies of 50HZ circularly polarized magnetic fields of up to 350 microtesla on reproduction and embryo fetal-development in rats. *Bioelectromagnetics* 2002; 23(5): 87-93.
- Baharara J, Saboori M. [The effects of concurrent use of vitamin A and very low frequency electromagnetic field (50HZ) on limb bud development in chick embryo] persian. *Zah J Res Med Sci (ZJRMS)* 2011; 13(2): 7-12.
- Cecconi S, Gualtieri Di, Bartoiani G, et al. Evaluation of the effect of extremely low frequency electromagnetic field on mammalian follicle development. *Hum Reprod* 2000; 15(11): 2319-25.
- Forgacs Z, Somosy Z, Kubinyi G, et al. Effect of whole-body 1800MHz GSM-like microwave exposure on testicular steroidogenesis and histology in mice. *J reprod toxicol* 2006; 22(1): 111-117.
- Baharara J, Parivar K, Ashraf AL and Majidi B. [The effects of mobile phone waves (940MHz) on embryonic development of hematopoiesis system in Balb/C mouse] Persian. *Shahr-e-kord Uni Med Sci J* 2008; 10(1): 1-8.
- Nafisi S, Pourfatollah AA, Mirahmadian M, et al. Acute effect of pulsed electromagnetic fields resulting from significant frequencies of high and low triangular waves on white blood. *Global Veterinaria* 2010; 5(6): 362-365.
- Amara S, Abdelmelek H, Ben Salem M, et al. Effects of static magnetic field exposure on ematological and biochemical parameters in rats. *Braz Arch Biol Techn* 2006; 49(6): 889-895.
- Elferchichi M, Abdelmelek H, Sakly M. Effects of sub-acute exposure to static magnetic field on iron status and hematopoiesis. *Turk J Hematol* 2007; 24(2): 64-68.
- Okano H. Effects of static magnetic fields in biology: role of free radicals. *Front Biosci* 2008; 13(1): 610-25.
- Sae-tan S, Grove KM, Lambert JD. Laboratory studies on weight control and prevention of metabolic syndrome by green tea. *Pharmacol Res* 2011; 64(2): 146-54.
- Ishii T, Mori T, Ichikawa T, et al. Structural characteristics of green tea catechins for formation of protein carbonyl in human serum albumin. *Bioorg Med Chem* 2010; 18(14): 4892-96.
- Kilicalp D, Dede S, Aslan Y. Effects of green tea on mineral levels of liver and testis of Guinea pigs electromagnetic field emitted by mobil phones. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 2009; 4(2): 86-92.
- Ye P, Zhang S, Zhao L, et al. Tea polyphenols exerts anti-hepatitis B virus effects in a stably HBV-transfected cell line. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2009; 29(2): 169-172.
- Khurana VG, Teo C, Kundi M, et al. Cell phones and brain tumors: A review including the long-term epidemiologic data. *Surgical Neurology* 2009; 72(3): 205-214.
- Sharangi AB. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*camellia sinensis* L.). *food Res International* 2009; 42(5-6): 529-535.

32. Morita O, Knapp GF, Tamaki Y, et al. Effects of green tea catechin on embryo/fetal development in rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(6): 1296-1303.
33. Wang CC, Chu KO, Chong WS, et al. Tea epigallocatechin-3-gallat increases 8-isoprostane level and induces caudal regression in developing rat embryos. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(4): 519-527.
34. Pastore RL, Fratellone P. Potential healths benefits of green tea (*camellia sinensis*). *Explore (NY)* 2006; 2(6): 531-538.

## ***The Inhibitory Effect of Green Tea Extract on Damage Teratogenic Inducing The Inhibitory Effect of Green Tea Extract on Inducing Teratogenicity by Low Frequency Electromagnetic Field on Liver and Spleen in Balb/C Mouse Embryo***

**Javad Baharara,<sup>1</sup> Naser Mahdavi-Shahri,<sup>2</sup> Saeedeh Zafar-Balanejad,<sup>3</sup> Esmat Kamareh<sup>4</sup>**

**Background:** There are some studies that emphasize on the production of free radicals by electromagnetic fields. Green tea is rich in natural antioxidants and antioxidants can neutralize the adverse effects of free radicals. The objective of this study in this research was to show the inhibitory effect of green tea extract on inducing teratogenicity by low frequency electromagnetic field using 50 HZ frequency and 50 Gauss intensity on liver and spleen in Balb/C mouse embryos.

**Materials and method:** In this experimental study, 24 Balb/C pregnant mice were randomly divided into four groups: control, sham exposed (Off unit), experimental-1 (Electromagnetic field with 50 Gauss intensity) and experimental-2 (treatment by green tea extract + electromagnetic field with 50 Gauss intensity). Then after measurement of weight and CR of embryos in day 19, histological sections of their liver and spleen, they were prepared for histological studies with light microscope. The quantitative data were analyzed by ANOVA and post hoc Tukey test, using of SPSS-16 software at the level of  $p < 0.05$

**Results:** In studying of histological sections, the average number of lymphocytes in spleen of experimental group 1 compared with sham exposed embryos showed significant decrease ( $p=0.000$ ). While the average number of lymphocytes in experimental group 2 compared with experimental group 1 showed an statistically significant increase ( $p=0.000$ ). The number of hepatocytes in liver, in experimental group 2 compared with sham exposed embryos showed a statistically significant decrease ( $p=0.004$ ). The number hepatocytes in liver of experimental group 2 compared with experimental group 1 showed significant decrease ( $p=0.042$ ).

**Conclusion:** Consuming green tea can compensate induced teratogenicity of low frequency electromagnetic field but its usage was not recommended during pregnancy because of change in the number of the cells.

**Keywords:** Green Tea, Liver, Spleen, Electromagnetic Field, Balb/C mice

1. Associated Professor of Animal Developmental Biology, Islamic Azad University, Mashhad branch, Mashhad, Iran.
2. Professor of Biology, Islamic Azad University, Mashhad branch, Mashhad, Iran.
3. Instructor of Biology, School of Sciences, Islamic Azad University, Mashhad branch, Mashhad, Iran.
4. Msc in Cell & Developmental Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.