

Effect of Static Magnetic Field on Male Sperm Parameters

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Ghafelebashi M.S.¹ MSc,
Maghami P.*¹ PhD,
Shahverdi A.H.² PhD,
Dorani D.³ PhD,
Sabaghian M.⁴ PhD,
Maroufizadeh S.⁵ PhD

How to cite this article

Ghafelebashi M.S, Maghami P, Shahverdi A.H, Dorani D, Sabaghian M, Maroufizadeh S. Effect of Static Magnetic Field on Male Sperm Parameters. Modares Journal of Biotechnology. 2020;11(3):279-285.

ABSTRACT

According to the formation and evolution of life along with static magnetic fields, permanent exposure has given the adaptive ability to beings. Therapeutic magnetism is one of the branches of complementary medicine which uses the low intensity and non-harmful magnetic fields to the body. By studying in infertile couples (20% male factor), the only cause of infertility and in 50% of cases, it is considered as an intermediate factor. One of the influential factors in infertility in men is sperm. In the present study, normal specimens in the magnetic field under the intensities of 1, 6, and 12 millitesla and at 1, 3, and 5h intervals. Sperm movement rate was evaluated by CASA, as well as sperm viability, by eosin staining of Necrosin and morphology by staining Papanicola. The results of this step on normal sperm showed a significant reduction in the sperm movement, which was not affected by the field. Morphological studies also show that sperm motility is not affected by the magnetic field. The survival rate of sperm was affected by the magnetic field that significantly reduced, and the sperm morphology remained unchanged.

Keywords Magnetic Field; Male Infertility; Sperm Parameters

CITATION LINKS

[1] Biological effects of magnetic fields [2] Systematic review of the etiology of the infertility on Iranian domestic published articles between 1999 and 2013 [3] The biology of infertility: Research advances and clinical challenges [4] Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system [5] Orientation of bull sperms in static magnetic fields [6] Analysis of anisotropic diamagnetic susceptibility of a bull sperm [7] Protective effects of vitamins C and E on spermatogenesis of 1.5 Tesla magnetic field exposed rats [8] Effects of 50 Hz extremely low frequency magnetic field on the morphology and function of boar spermatozoa capacitated in vitro [9] A preliminary study of oscillating electromagnetic field effects on human spermatozoon motility [10] Involvement of mitochondrial activity in mediating ELF-EMF stimulatory effect on human sperm motility [11] MagnetoSperm: A microrobot that navigates using weak magnetic fields [12] Effect of magnetized extender on sperm membrane integrity and development of oocytes in vitro fertilized with liquid storage boar semen [13] The effect of a magnetic field on trout (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) sperm motility parameters and fertilisation rate [14] WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [15] Cell shape and plasma membrane alterations after static magnetic fields exposure [16] Oxford handbook of reproductive medicine and family planning [17] Effect of electromagnetic field on the polymerization of microtubules extracted from rat brain [18] The diamagnetic susceptibility of the tubulin dimer [19] Evidences of the static magnetic field influence on cellular systems [20] Effect of 7 mT static magnetic field and iron ions on rat lymphocytes: apoptosis, necrosis and free radical processes [21] The clearance of apoptotic cells in the liver is mediated by the asialoglycoprotein receptor [22] Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems [23] Effects of exposure to static magnetic fields on the morphology and morphometry of mouse epididymal sperm [24] On the significance of the time constants of magnetic field sensitivity in animals [25] Comparison of four fluorochromes for the detection of the inner mitochondrial membrane potential in human spermatozoa and their correlation with sperm motility

¹Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute, Tehran, Iran

³Department of Physics, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴Department of Andrology, Royan Institute, Tehran, Iran

⁵Department of Nursing and Midwifery, School of Nursing and Midwifery, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

*Correspondence

Address: Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Postal code: 1477893855
Phone: +98 (21) 44863213
Fax: +98 (21) 44865777
maghami@srbiau.ac.ir

Article History

Received: May 15, 2019

Accepted: August 9, 2020

ePublished: September 20, 2020

تاثیر میدان مغناطیسی استاتیک بر پارامترهای اسپرم مردان

متین سادات قافله‌بازی MSc

گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

پروانه مقامی PhD

گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

عبدالحسین شاهرودی PhD

پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

داود دورانیان PhD

گروه فیزیک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

مرجان صباغیان PhD

گروه آندروولوژی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

سامان معروفی‌زاده PhD

گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

چکیده

با توجه به شکل‌گیری و تکامل حیات در کنار میدان‌های مغناطیسی استاتیک، مواجهه دایمی توانایی سازش را به موجودات داده است. مغناطیس‌درمانی از شاخه‌های طب مکمل محسوب می‌شود که با استفاده از میدان‌های مغناطیسی با شدت پایین و غیرمضر به بدن صورت می‌گیرد. با مطالعه روی زوج‌های نابارور، ۲۰٪ عامل مردانه، تنها علت ناباروری است و در ۵۰٪ موارد به‌عنوان یکی از عوامل مدخل‌کننده محسوب می‌شود. یکی از عوامل تاثیرگذار مربوط به ناباروری در مردان مربوط به اسپرم است. در تحقیق حاضر، نمونه‌های نرمال تحت میدان مغناطیسی در شدت‌های ۱، ۶، ۱۲ میلی‌تسلا و در بازه‌های زمانی ۱، ۳ و ۵ ساعت قرار گرفتند. بررسی‌های میزان حرکت اسپرم توسط نرم‌افزار کاسا و همچنین میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها توسط رنگ‌آمیزی اتوزین‌نکروزین و نیز ریختی توسط رنگ‌آمیزی پاپانیکولا انجام گرفت. نتایج این مرحله روی اسپرم‌های نرمال نشان‌دهنده کاهش معناداری در حرکت اسپرم‌هایی که تحت اثر میدان نبودند، مشاهده شد. همچنین بررسی‌های ریختی نشان‌دهنده عدم تاثیر میدان مغناطیسی بر ریختی اسپرم است. در آزمایش‌های زنده‌مانی، اسپرم‌هایی که تحت اثر میدان مغناطیسی نبودند، با کاهش معناداری همراه بود و نیز ریختی اسپرم بدون تغییر است.

کلیدواژه‌ها: میدان مغناطیسی، ناباروری مردان، پارامترهای اسپرم

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۱۹

*نویسنده مسئول: maghami@srbiu.ac.ir

مقدمه

با پیشرفت علم و فناوری و گسترش استفاده از میدان‌های مغناطیسی در صنعت، پژوهش، پزشکی و غیره، امروزه با بهره‌گیری از نوسانات حاصل از میدان‌های مغناطیسی ایجادشده در راستای بهبود امراض و برای درمان، از مغناطیس‌درمانی استفاده می‌شود [1]. در حال حاضر ۱۵٪ از زوج‌هایی در سنین باروری با مشکلات باروری روبه‌رو هستند و در مسائل مربوط به ناباروری نیمی از مشکلات مربوط به ناباروری در مردان است. در سال‌های اخیر با توجه به افزایش رشد ناباروری استفاده از روش کمک‌باروری افزایش یافته

است و نیز اولین بار در سال ۱۹۸۷/ویس بر/ون با این روش متولد شد. تاکنون پیشرفت‌های فراوانی در روش‌های کمک‌باروری صورت گرفته است [2].

ناباروری در مردان را می‌توان به‌صورت یک سندروم چندفاکتوری تعریف کرد که طیف وسیعی از اختلالات را در بر می‌گیرد. اصطلاح ناباروری در مردان بیانگر یک سندرم بالینی مشخص نیست، بلکه به مجموعه‌ای از ناتوانی‌های جنسی مردانه اطلاق می‌شود که به‌وسیله عوامل مختلف ایجاد شده‌اند و هر کدام علایم مختص به خود را دارند. با توجه به اینکه آنالیز مایع منی با سهولت بیشتری انجام می‌گیرد، ناباروری در زوج‌ها با علت مردانه سریع‌تر تشخیص داده می‌شود [3].

مطالعات متعددی در خصوص میزان و چگونگی تاثیر میدان مغناطیسی روی اسپرم صورت گرفته است که می‌توان به بررسی تاثیر امواج الکترومغناطیس بر اسپرماتوژنز، با قراردادن موش‌های صحرایی در معرض میدان مغناطیسی ۱/۵ تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز اشاره کرد که با ارزیابی تحرک اسپرم، افزایش شدت میدان مغناطیسی باعث کاهش معنادار حرکت اسپرم می‌شود [4].

همچنین اسپرمی که به‌طور ثابت تحت میدان مغناطیسی با شدت ۱/۷ تسلا قرار گرفته است، نسبت به میدان به‌طور عمودی جهت‌گیری می‌کند. به‌طوری که در شدت میدان ۱ تسلا حدود ۱۰۰٪ اسپرم‌ها نسبت به میدان جهت‌گیری عمودی نشان می‌دهند. دلیل جهت‌گیری اسپرم را نسبت به میدان، وجود اجزای دیامگنتیک سلولی (غشای سلولی، DNA در سر، میکروتوبول در دم) بیان نمود [5، 6]. در سال ۲۰۰۹ با قراردادن حیوانات در معرض میدان ۱۰ میلی‌تسلا به‌مدت ۳۰ دقیقه در هر روز به‌مدت ۲ هفته متوجه کاهش ۸۹/۹۰٪ در تعداد اسپرم و کاهش ۹۶/۵۴٪ در حرکت اسپرم شدند [7].

همچنین بارون باتهپه ۳۰ نمونه منی از ۶ گراز و قراردادن داخل طبقات مختلف انکوباتور که دارای میدان مغناطیس (۲، ۳۲ و ۸۶mG) و فرکانس محیطی ۶۰-۵۰ هرتز هستند، بازه زمانی بین ۱ تا ۲۴ ساعت تغییرات به‌وجودآمده در حرکت جلورونده اسپرم را بررسی کردند و با کاهش چشمگیر در میزان حرکت جلورونده اسپرم بعد از گذشت ۳ ساعت به‌طور چشمگیری کاهش یافت، در حالی که در مدت زمان یک ساعت در حضور شدت‌های کم میدان حرکت اسپرم افزایش نشان داد [8].

در بررسی‌هایی که توسط یوریو روی اسپرم انسان انجام گرفت، نشان‌دهنده افزایش حرکت اسپرم در میدان باشدت ۵ میلی‌تسلا و فرکانس ۵۰ هرتز است [9]. وی در سال ۲۰۱۰، علت افزایش حرکت را حاصل افزایش در سطح پتانسیل غشاء میتوکندری و در نتیجه بالارفتن سطح ATP، ADP، AMP، NAD عنوان کرد که منجر به افزایش پارامترهای جنبشی اسپرم می‌شود [10].

مطالعات اخیر که توسط خلیل در حوزه میدان‌های استاتیک مغناطیسی و با بهره‌گیری از فناوری نانو انجام گرفت، مربوط به ساخت ربات‌های سرعت‌دهنده اسپرم است. در این روش سلول زنده

چنس پلکسی‌گلس قرار گرفت و روی چهار میله رزوه‌شده به طول ۴۰ سانتی‌متر قرار گرفته‌اند، ساخته شد. با نزدیک و یا دور کردن صفحات آهنربا از یکدیگر شدت میدان مغناطیسی متفاوتی ایجاد می‌شود. برای این مطالعه شدت‌های ۱، ۶ و ۱۲ میلی‌تسلا بررسی شد. علت انتخاب این شدت‌ها را می‌توان به مطالعات گذشته [5-7, 9, 11-13] در خصوص میزان حساسیت اسپرم در محدوده‌های تعیین‌شده در بازه‌های مغناطیسی و زمانی اشاره کرد (شکل ۱).

جدول ۱) معیار انتخاب اسپرم نرمال: N=۹۰

مشخصات نرمواسپرمیک	Mean±SD	حداقل	حداکثر
سن (سال)	۳۴/۹۱±۵/۷	۲۵	۴۵
غلظت اسپرم‌ها (ml×۱۰ ^۳)	۶۶/۵۶±۱۷/۵۵	۹۵	۴۰
مجموع حرکت اسپرم‌ها (%)	۶۲/۹۱±۹/۴۲	۸۵	۴۰
حرکت پیشرونده اسپرم (%)	۳۹/۲۶±۱۱/۷۳	۵۵	۲۹
ریختی نرمال (%)	۴/۰۲±۱/۳۰۸	۴	۸
pH	۷/۷۸ ± ۰/۷	۷/۲	۷/۹



شکل ۱) دستگاه طراحی و ساخته‌شده همراه تسلا متر برای اندازه‌گیری شدت مغناطیسی

به‌منظور اندازه‌گیری شدت میدان مغناطیسی که توسط صفحات آهنربا ایجاد شده است، از دستگاه تسلا متر Tangential پروپدار ساخت شرکت آلمان در محدوده قابل اندازه‌گیری در شدت‌های ۱ تا ۱۰ میلی‌تسلا استفاده شد. با دور یا نزدیک کردن این صفحات از یکدیگر میدان‌هایی با شدت‌های متفاوتی ایجاد می‌شود که نمونه داخل میدان را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

۵ میکرولیتر از نمونه اسپرم ابتدا روی لام گذاشته و در زیر میکروسکوپ مشاهده شد و برای هر نمونه، ۵-۶ میدان میکروسکوپی بررسی و برای تعیین نتیجه، درصد کل غلظت و درصد تحرک اسپرم‌ها، از نرم‌افزار کاسا (CASA; Computer Assisted Semen Analysis) استفاده شد که بررسی انواع حرکت پیش‌رونده، غیرپیش‌رونده و بدون تحرک را بررسی می‌کند [14].

بررسی اسپرماتوزوئیدهای زنده و مرده با استفاده از روش رنگ‌آمیزی ائوزین-نکروزین انجام شد. ابتدا ۱۰ میکرولیتر از نمونه اسپرم را روی لام قرار داده و ۲۰ میکرولیتر رنگ ائوزین-نکروزین به آن افزوده و

اسپرم در تیوب‌هایی در مقیاس میکروسکوپی از جنس تیتانیوم و آهن قرار می‌گیرند و با اعمال میدان مغناطیسی که توسط سیم پیچ هلمهولتز میدان با شدت ۵ میلی‌تسلا و فرکانس ۴۵ هرتز را اعمال می‌کنند، اسپرم‌هایی که به خوبی شنا نمی‌کنند یا حرکتشان به‌قدری ضعیف است که امکان رسیدن به تخمک را ندارند، از نظر حرکت به‌طور نسبی بهبود می‌یابند [11].

مطالعاتی که تنها با اعمال محیط میدان مغناطیسی آهنربا صورت گرفته در حوزه ساختار و شکل اسپرم گراز و توانایی بارورسازی توسط اسپرم مغناطیس شده است که توسط لی انجام شد و با اعمال میدان‌های با شدت ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ گوس توسط آهنربای نئودیم در بازه زمانی ۴۸، ۱۲۰ و ۱۶۸ ساعت تأثیر روی غشای پلاسمایی در اسپرم‌های زنده تحت میدان ۴۰۰۰ گوس در مدت ۱۲۰، ۱۶۸ ساعت در مقایسه با میدان‌های ۲۰۰۰ و ۶۰۰۰ گوس انجام گرفت. همچنین آسیب غشاء آکروزوم در شدت‌های ۴۰۰۰، ۶۰۰۰ در مدت ۱۶۸ ساعت در مقایسه با ۲۰۰۰ گوس کاهش پیدا کرد [12].

با توجه به اهمیت میتوکندری و تأثیر پتانسیل غشاء میتوکندری در حرکت اسپرم بررسی غشاء میتوکندری اسپرم در بازه‌های فوق صورت گرفت و عدم تغییر غشاء میتوکندری در ۲۰۰۰ گوس و در مدت ۱۶۸ ساعت صورت گرفت. در نهایت در میزان باروری اسپرم مغناطیس شده تغییر مشاهده شد [12].

ارزیابی‌های مشابهی نیز توسط فورمیکس انجام شد و بررسی میزان بارورسازی ماهی‌های *Salmo trutta* و میزان تأثیرپذیری حرکت، شکل و DNA اسپرم تحت میدان‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌تسلا توسط آهنربا در مدت ۱۲ روز انجام شد. نتایج نشان داد که حرکت اسپرم تحت میدان مغناطیسی افزایش یافت، با توجه به اینکه در شکل و DNA اسپرم تغییری ایجاد نشد [13].

مطالعه حاضر با هدف پاسخ به این پرسش انجام گرفت که تفاوت بین نمونه‌های اسپرم تحت شدت میدان مغناطیسی و خارج از میدان مغناطیسی مشخص شود و تأثیر میدان در بهبود یا تخریب اسپرم بررسی شود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در پژوهشگاه رویان انجام شد، مایع منی ۹۰ نفر مرد مراجعه‌کننده به پژوهشگاه رویان، پس از ۳ الی ۴ روز خودداری از مقاربت و با رضایت کامل مبنی بر آزمایش‌های تجربی، جمع‌آوری شد. نمونه این افراد به‌دنبال ارزیابی حجم، رنگ، میزان چسبندگی (Viscosity)، شمارش اسپرم، زمان مایع‌شدن (Liquefaction Time)، pH، تحرک، ریخت‌شناسی و توان زنده‌مانی بر اساس معیارهای استاندارد سازمان بهداشت جهانی (WHO; World Health Organization) طبیعی شناخته شده [14] و برای مطالعه حاضر در نظر گرفته شده است (جدول ۱).

طراحی و ساخت مولد میدان مغناطیسی در آزمایشگاه فیزیک پلاسمای دانشگاه علوم و تحقیقات انجام گرفت. این طراحی توسط دو صفحه آهنربا با ابعاد ۲۵×۲۱ سانتی‌متری که درون قاب‌هایی از

نتایج

بر اساس جدول ۲، درصد تحرک کلی اسپرم، برای نمونه داخل میدان مغناطیسی نسبت به نمونه خارج از میدان دارای ثبات در تحرک بوده است و نمونه خارج از میدان با کاهش تحرک در اسپرم همراه بوده است. به بیان دیگر، میدان مغناطیسی بر حرکت اسپرم تأثیرگذار است که این میزان با تغییر در شدت نیز رابطه مستقیم دارد ($p < 0.05$). با توجه به نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه، به‌طور کلی با افزایش میزان شدت، مقادیر متغیرهای دخیل در حرکت به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت. نتایج آزمون تعقیبی دانکن بیانگر آن است که میانگین حرکات در شدت ۱۲ میلی‌تسلا به‌صورتی معنی‌دار بالاتر از شدت‌های ۱ و ۶ میلی‌تسلا بود ($p < 0.05$). در سایر متغیرها، هرچند میانگین متغیرهای مورد مطالعه با افزایش میزان شدت، افزایش یافت، اما این اختلاف‌ها به‌لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$).

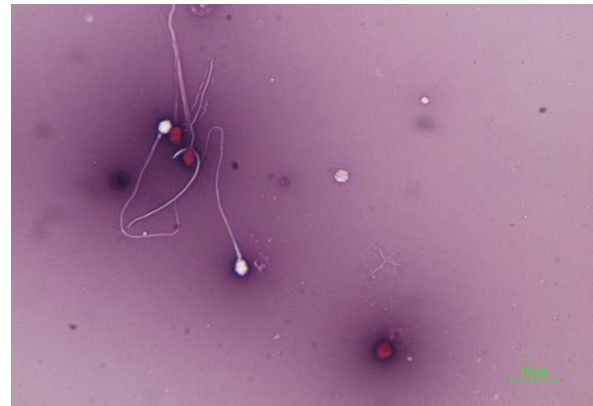
جدول ۲ بررسی حرکت کل در نرمواسپرمیک در سه شدت ۱، ۶ و ۱۲ میلی‌تسلا در مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت میزان درصد حرکت کل اسپرم (Mean±SD)

میزان شدت (میلی‌تسلا)	زمان (ساعت)	گروه نرمواسپرمیک		p-value
		داخل میدان مغناطیسی	خارج میدان مغناطیسی	
۱	۰	۵۲/۹۶±۹/۴۸		-
	۱	۵۱/۹۹±۹/۸۹	۴۷/۲۲±۹/۶۸	۰/۰۱
	۳	۴۹/۸۶±۱۱/۴۸	۴۱/۴۷±۱۰/۴۰	<۰/۰۰۱
	۵	۴۴/۲۳±۱۱/۲۱	۳۹/۹۲±۱۱/۷۳	۰/۰۱۲
۶	۰	۵۴/۷۹±۱۰/۰۰		-
	۱	۵۵/۷۳±۹/۲۲	۴۹/۱۹±۱۱/۲۸	<۰/۰۰۱
	۳	۵۱/۱۶±۱۰/۳۳	۴۲/۲۴±۸/۵۰	<۰/۰۰۱
	۵	۴۵/۸۳±۱۱/۵۶	۳۲/۳۵±۸/۸۳	<۰/۰۰۱
۱۲	۰	۵۶/۲۹±۹/۵۹		-
	۱	۵۳/۱۵±۱۰/۲۰	۵۳/۱۵±۱۰/۲۰	<۰/۰۰۱
	۳	۴۸/۳۱±۱۲/۰۳	۴۸/۳۱±۱۲/۰۳	<۰/۰۰۱
	۵	۴۳/۰۲±۹/۴۱	۴۳/۰۲±۹/۴۱	<۰/۰۰۱

نتایج آماری حاصل از ارزیابی حرکت، زنده‌مانی و ریختی نشان‌دهنده رابطه مستقیم بین شدت و میزان تأثیرگذاری روی اسپرم است در واقع اگر عامل دیگر یعنی زمان را هم دخیل بر این موضوع بدانیم، می‌توان گفت که با تغییر در شدت و افزایش زمان نگهداری، هرچه مقدار شدت بیشتر باشد، در گذر زمان سبب پایداری بیشتر اسپرم خواهد شد.

درصد اسپرم‌های زنده تحت تأثیر میدان مغناطیسی استاتیک در شدت یک میلی‌تسلا و مدت زمان یک ساعت در گروه خارج میدان برابر ۵۳/۹±۳۰/۱۳ و داخل میدان ۵۴/۸۰±۹/۲۵ است. همچنین در مدت زمان مشابه اسپرم‌های تحت تأثیر میدان مغناطیس ۱۲ میلی‌تسلا با میانگین ۵۷/۲۰±۱۱/۳۸ در مقابل نمونه خارج میدان ۵۴/۱۰±۶۷/۱۷ تفاوت معناداری را نسبت به یکدیگر (نمونه خارج میدان) نشان نمی‌دهند. در صورتی که در بقیه شدت‌های مغناطیسی، کاهش معناداری در زنده‌مانی اسپرم‌ها نسبت به نمونه

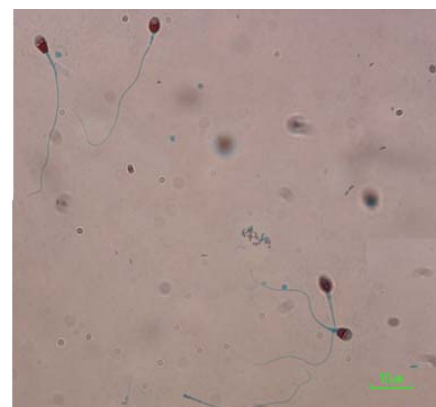
مخلوط شده و سپس اسمیر تهیه شد. بعد از خشک‌کردن، میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها با شمارش ۲۰۰ اسپرم در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. اسپرم‌هایی که رنگ به خود جذب کرده بودند، اسپرم مرده و اسپرم‌هایی که رنگ نگرفته بودند به‌عنوان اسپرم زنده در نظر گرفته شدند [14] (شکل ۲).



شکل ۲ رنگ‌آمیزی اتوزین‌نکروزین: اسپرم صورتی: اسپرم مرده و اسپرم سفید: اسپرم زنده

درصد ناهنجاری‌های ریخت‌شناسی با استفاده از رنگ‌آمیزی پاپانیکولاو (Papanicolaou) تعیین شد. پس از تهیه اسمیر، لام مورد نظر در الکل اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه تثبیت و سپس در آب شست‌وشو داده شد. در ادامه محلول رنگ همتوکسیلین هاریسن (Harris Hematoxylin) به مدت ۱۰ ثانیه رنگ‌آمیزی و پس از شست‌وشو در آب، از اسید الکل به مدت ۵ ثانیه عبور داده شد. عبور از الکل اتانول ۹۶٪ به مدت ۲۰ ثانیه، رنگ‌آمیزی با اورانژ Orange-6: -OG6 به مدت ۱۲ ثانیه، عبور از الکل اتانول ۹۶٪ به مدت ۲۰ ثانیه، سپس رنگ‌آمیزی با اتوزین‌آزو (Azo-Eosin) به مدت ۲ ثانیه، عبور از الکل اتانول ۹۶٪ به مدت ۲۰ ثانیه و عبور از الکل اتانول ۱۰۰٪ به مدت ۲۰ ثانیه جزء مراحل بعدی رنگ‌آمیزی بود [14] (شکل ۳).

داده‌های حاصل به‌وسیله نرم‌افزار SPSS 22، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در این مطالعه از آزمون t برای آنالیز پارامترهای اسپرم استفاده شد.



شکل ۳ بررسی ریختی با استفاده از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا

واقع سلول اسپرمی که ویژگی‌های حرکت یا منابع انرژی نداشته باشد، قدرت حرکت به سمت جلو ندارد و در نتیجه نمی‌تواند لقاحی صورت دهد. تاکنون دو مسیر متابولیکی برای تولید انرژی در اسپرم شناخته شده است: گلیکولیز و فسفریلاسیون اکسیداتیو^[16]؛ اگرچه فسفریلاسیون اکسیداتیو به‌عنوان مسیر موثرتری در ساخت ATP نقش دارد. به همین دلیل میتوکندری نیز نقش کلیدی را در میزان سطح انرژی دارد. در سلول اسپرم تنها بخش کوچکی از دم اسپرم (بخش میانی یا گردن) حاوی میتوکندری است، فسفریلاسیون اکسیداتیو تنها محدود به همین ناحیه از سلول است و برای تامین انرژی سایر قسمت‌های سلول، مسیر گلیکولیز به‌کار می‌رود. در واقع زمانی که یک سلول در مواجه با میدان مغناطیسی قرار می‌گیرد، میتوکندری‌هایی که مسئول سنتز ATP هستند از سمت هسته سلول به سمت غشاء سلول گسترش می‌یابند و با تحریک تنفس سلولی (شاخص متابولیسم سلولی) ترشح کلاژن و در نتیجه چسبندگی سلولی و اسکلت سلولی تغییر می‌کند^[17]. یکی از بزرگ‌ترین ساختارهای موجود در سیستم‌های زنده میکروتوبول‌ها هستند که باعث جهت‌گیری اختصاصی در میدان با توجه به خاصیت دو قطبی دایمروتوبولین و جهت‌گیری ویژه آن در میدان تعیین‌کننده هستند. مورد دیگر پلیمریزه‌شدن و دیپلیمریزه‌شدن آنها است؛ با توجه به اینکه همواره تعادلی بین واحدهای دایمر توبولین و میکروتوبول‌ها برقرار است و با اعمال میدان مغناطیسی، ثابت تعادل این واکنش را به سمت تولید میکروتوبول‌ها پیش می‌برد^[18]. واحدهای توبولین در مقایسه با میکروتوبول‌ها خاصیت مغناطیسی کمتری دارند از سویی میکروتوبول‌ها خود به‌عنوان یک عامل همسانگرد سبب جهت‌گیری سلول‌ها می‌شود؛ بنابراین سایر عناصر سلولی مانند ماکرومولکول‌ها و نیز خود غشای سلولی می‌توانند به‌عنوان هدف‌های دیگر میدان مغناطیسی عمل کرده و سبب جهت‌گیری سلول شوند^[19]. در مطالعات انجام‌گرفته در خصوص میزان تأثیرپذیری حرکت اسپرم نسبت به میدان مغناطیسی خارجی به بررسی‌هایی که توسط مور و همکاران موید جهت‌گیری سر و دم اسپرم گاو و تحت میدان مغناطیسی انجام شد^[5, 6]. همچنین در بیشتر موارد به تأثیر میدان‌های الکترومغناطیس در حرکت اسپرم انسان به کاهش حرکت در شدت‌های بالا و افزایش حرکت در شدت‌های پایین اشاره می‌شود که در این راستا به مطالعات پیرو و همکاران می‌توان اشاره کرد^[9, 10]. همچنین در مطالعاتی که توسط اسپرم ماهی انجام گرفت، حاکی از اثربخشی مغناطیس بر حرکت است. در این تحقیق با حذف میدان الکتریکی و ایجاد مولد میدان مغناطیسی تنها توسط آهنربا بر تحرک اسپرم انسان مورد بررسی قرار گرفت^[13]. در مطالعه صورت‌گرفته میزان تحرک اسپرم در داخل میدان مغناطیسی استاتیک در شدت‌های ۱، ۶ و ۱۲ میلی‌تسلا در بازه زمانی ۵ ساعت با تغییر نسبت به نمونه خارج میدان همراه بود و کاهش حرکت را در گروه خارج میدان بیان می‌کند.

در برخورد با میدان مغناطیسی در خصوص نقش بقاء و یا عدم آن همواره دو رویکرد متفاوت وجود دارد. برخی به نقش محافظتی

داخل میدان در بازه‌های زمانی فوق نشان می‌دهد ($p < 0.05$) که در جدول ۳ نشان داده شده است.

درصد تغییر ریختی اسپرم‌های نرمواسپرمیک که تحت تأثیر میدان قرار گرفته با گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفت که در هیچ یک از شدت‌ها و زمان‌های تعیین شده تغییرات ریختی مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۳) بررسی زنده‌مانی اسپرم (نرمواسپرمیک) در سه شدت ۱، ۶ و ۱۲ میلی‌تسلا در مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت (Mean±SD)

میزان شدت (میلی‌تسلا)	زمان (ساعت)	گروه نرمواسپرمیک		p-value
		داخل میدان مغناطیسی	خارج میدان مغناطیسی	
۱	-	70/17 ± 8/88		-
	۱	54/80 ± 9/20	53/03 ± 9/53	0/139
	۳	51/43 ± 8/02	45/47 ± 8/34	<0/01
۵	-	46/40 ± 8/32		-
	۱	47/40 ± 8/32	39/07 ± 7/52	<0/01
	۳	47/40 ± 8/32	39/07 ± 7/52	<0/01
۶	-	60/29 ± 9/11		-
	۱	60/52 ± 9/11	50/00 ± 8/92	<0/01
	۳	50/77 ± 8/86	48/00 ± 8/10	<0/01
۱۲	-	51/23 ± 8/84		-
	۱	51/23 ± 8/84	40/48 ± 8/00	<0/01
	۳	51/23 ± 8/84	40/48 ± 8/00	<0/01

جدول ۴) بررسی ریختی اسپرم (نرمواسپرمیک) در سه شدت ۱، ۶ و ۱۲ میلی‌تسلا در مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت (Mean±SD)

میزان شدت (میلی‌تسلا)	زمان (ساعت)	گروه نرمواسپرمیک		p-value
		داخل میدان مغناطیسی	خارج میدان مغناطیسی	
۱	-	4/17 ± 1/32		-
	۱	3/873 ± 0/973	3/53 ± 0/973	0/057
	۳	3/73 ± 1/202	3/13 ± 1/224	0/26
۵	-	3/77 ± 1/223		-
	۱	3/77 ± 1/223	3/40 ± 1/003	0/094
	۳	3/77 ± 1/223	3/40 ± 1/003	0/094
۶	-	4/13 ± 0/26		-
	۱	3/70 ± 1/19	3/71 ± 1/216	0/730
	۳	3/87 ± 1/28	3/45 ± 1/43	0/051
۱۲	-	3/26 ± 1/104		-
	۱	3/26 ± 1/104	3/32 ± 1/37	0/642
	۳	3/26 ± 1/104	3/32 ± 1/37	0/642

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی‌های صورت گرفته چگونگی تأثیر میدان مغناطیسی بر حرکت و مهاجرت سلولی مکانیسم‌هایی را معرفی می‌کنند. ازجمله این موارد می‌توان به اسکلت سلولی، جهت‌گیری میکروتوبول‌ها، تحریک ساخت ATP توسط میتوکندری اشاره کرد^[15].

حرکت اسپرم ازجمله موارد ضروری در باروری است و مهم‌ترین پارامتر در ارزیابی توانایی لقاح اسپرم‌های انزالی به‌شمار می‌رود. در

سهم نویسندگان: متین سادات قافله‌بازی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۲۰٪)؛ پروانه مقامی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۴۰٪)؛ عبدالحسین شاهوردی (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۲۵٪)؛ داود دورانیان (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی (۵٪)؛ مرجان صباغیان (نویسنده پنجم)، پژوهشگر کمکی (۵٪)؛ سامان معروفی‌زاده (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۵٪)

منابع مالی: موردی بیان نشده است.

منابع

- 1- Barnothy MF. Biological effects of magnetic fields. Springer; 2013.
- 2- Mohebbi SF, Ali Mohammadzadeh K. Systematic review of the etiology of the infertility on Iranian domestic published articles between 1999 and 2013. Med Sci. 2016;26(1):1-5. [Persian]
- 3- Matzuk MM, Lamb DJ. The biology of infertility: Research advances and clinical challenges. Nat Med. 2008;14:1197-1213.
- 4- Gye MC, Park CJ. Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system. Clinical and experimental reproductive medicine. 2012;39(1):1-9.
- 5- Emura R, Ashida N, Higashi T, Takeuchi T. Orientation of bull sperms in static magnetic fields. Bioelectromagnetics. 2001;22(1):60-5.
- 6- Emura R, Takeuchi T, Nakaoka Y, Higashi T. Analysis of anisotropic diamagnetic susceptibility of a bull sperm. Bioelectromagnetics. 2003;24(5):347-55.
- 7- Monfared AS, Jorsaraei SG, Abdi R. Protective effects of vitamins C and E on spermatogenesis of 1.5 Tesla magnetic field exposed rats. J Magn Reson Imaging. 2009;30(5):1047-51.
- 8- Bernabò N, Tettamanti E, Pistilli MG, Nardinocchi D, Berardinelli P, Mattioli M, Barboni B. Effects of 50 Hz extremely low frequency magnetic field on the morphology and function of boar spermatozoa capacitated in vitro. Theriogenology. 2007;67(4):801-15.
- 9- Iorio R, Scrimaglio R, Rantucci E, Monache SD, Di Gaetano A, Finetti N, et al. A preliminary study of oscillating electromagnetic field effects on human spermatozoon motility. Bioelectromagnetics. 2007;28(1):72-5.
- 10- Iorio R, Delle Monache S, Bennato F, Di Bartolomeo C, Scrimaglio R, Cinque B, et al. Involvement of mitochondrial activity in mediating ELF-EMF stimulatory effect on human sperm motility. Bioelectromagnetics. 2011;32(1):15-27.
- 11- Khalil ISM, Dijkslag HC, Abelman L, Misra S. MagnetoSperm: A microrobot that navigates using weak magnetic fields. Appl Phys Lett. 2014;104:223701.
- 12- Lee SH, Park CK. Effect of magnetized extender on sperm membrane integrity and development of oocytes in vitro fertilized with liquid storage boar semen. Anim Reprod Sci. 2015;154:86-94.
- 13- Formicki K, Szulc J, Korzelecka-Orkisz A, Tański A, Kurzydowski JK, Grzonka J, et al. The effect of a magnetic field on trout (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) sperm motility parameters and fertilisation rate. J Appl Ichthyol. 2015;31(51):136-46.
- 14- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th Edition. Geneva: WHO; 2010.

میدان‌های مغناطیسی از طریق مهار آپوپتوز اشاره می‌کنند [20]. در مقابل عده‌ای با القای آپوپتوز در اثر درمان با میدان مغناطیسی ثابت برای افزایش بازده درمان استفاده می‌کنند [21]. حیات در سلول به‌طور مستقیم وابسته به میزان فعالیت و عملکرد میتوکندری است که در صورت کاهش در میزان فعالیت، میزان زنده‌مانی نیز کاهش می‌یابد اما به‌طور مشخصی نشانه‌ای بر مرگ سلولی نیست؛ بلکه موید کاهش تمایل سلول برای تولید انرژی بوده است. آنزیم‌هایی که در میتوکندری وجود دارند و در تولید NADH و به‌دنبال آن ATP شرکت دارند در واقع آنزیم‌هایی هستند که مواد حد واسط آنها را دی‌کال‌های آزاد بوده که تحت تاثیر میدان مغناطیسی استاتیک قرار می‌گیرند. در مطالعات صورت‌گرفته در خصوص میزان زنده‌مانی سلول اسپرم تحت میدان الکترومغناطیس کاهش در میزان حیات و همچنین افت در میزان تحرک را مشاهده کردند [22]. با توجه به تغییرات در سطح پتانسیل غشاء میتوکندری میزان زنده‌مانی مشهود است و همچنین عدم آپاپتوز با توجه به حفظ ریختی تایید می‌شود؛ بنابراین نقش میدان مغناطیسی در میزان زنده‌مانی و حیات سلول اثبات شد.

میزان تاثیرگذاری میدان‌های مغناطیسی بر شکل سلول‌های مختلف متفاوت است که می‌توان علت این تاثیرپذیری را منوط به نوع سلول، مدت زمان تحت تاثیر و نیز شدت میدان دانست که با تاثیر روی آرایش منظم فسفولیپیدی است که از نظر دیامغناطیسی، ناهمسانگرد هستند و تمایل به جهت‌گیری عمودی نسبت به خطوط میدان را پیدا کرده‌اند، اشاره کرد [23]. در حقیقت نیروی حاصل از میدان سبب برهم‌خوردن تعادل فشار هیدرواستاتیکی در عرض غشای دولایه فسفولیپیدی شده و این عدم تعادل منجر به تغییر شکل شده و تغییر در گیرنده‌هایی غشایی را موجب می‌شود که در نتیجه با تغییر در رفتار طبیعی سلول همراه است [24]. از طرفی تغییرات ریختی را می‌توان به علت آپاپتوز در سلول عنوان کرد که حاکی از فشردگی سریع سیتوپلاسم و کروماتین، قطعه‌قطعه‌شدن DNA و ایجاد حباب در غشای سلول و در نتیجه آن قطعه‌قطعه‌شدن سلول و تشکیل اجسام آپاپتوتیک که هر یک دارای بخشی از سیتوپلاسم مواد هسته‌ای و اندامک‌ها بوده که توسط غشای سیتوپلاسمی احاطه شده است؛ در صورتی که در مطالعات صورت‌گرفته روی اسپرم‌های تحت شرایط الکترومغناطیسی با تغییر در اشکال و ساختار اسپرم و همچنین واکنش‌های آکروزومی را مشاهده کردند که می‌توان علت این تغییر در ساختار را مربوط به شدت و مدت زمان تحت میدان بیان کرد [25].

در این مطالعه تغییرات ریختی در اسپرم تحت میدان مغناطیسی ثابت مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی: با قدردانی و سپاس از اساتید محترم، کارشناسان و پژوهشگران پژوهشگاه رویان، کارشناسان آزمایشگاه اسپرم بیولوژی که همکاری شایانی را در انجام این تحقیق به عهده داشتند.

تاییدیه اخلاقی: موردی بیان نشده است.

تعارض منافع: موردی بیان نشده است.

lymphocytes: apoptosis, necrosis and free radical processes. *Bioelectrochemistry*. 2002;57(2):107-11.

21- Dini L, Autuori F, Lentini A, Oliverio S, Piacentini M. The clearance of apoptotic cells in the liver is mediated by the asialoglycoprotein receptor. *Febs Letters*. 1992;296(2):174-8.

22- Rosen AD. Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems. *Cell Biochem Biophys*. 2003;39(2):163-73.

23- Tablado L, Pérez-Sánchez F, Núñez J, Núñez M, Soler C. Effects of exposure to static magnetic fields on the morphology and morphometry of mouse epididymal sperm. *Bioelectromagnetics*. 1998;19(6):377-83.

24- Fuller M, Dobson J. On the significance of the time constants of magnetic field sensitivity in animals. *Bioelectromagnetics*. 2005;26(3):234-7.

25- Marchetti C, Jouy N, Leroy-Martin B, Defossez A, Formstecher P, Marchetti P. Comparison of four fluorochromes for the detection of the inner mitochondrial membrane potential in human spermatozoa and their correlation with sperm motility. *Human Reprod*. 2004;19(10):2267-76.

15- Chionna A, Dwikat M, Panzarini E, Tenuzzo B, Carlà EC, Verri T, et al. Cell shape and plasma membrane alterations after static magnetic fields exposure. *European Journal of Histochemistry*. 2003;47(4):299-308.

16- McVeigh E, Homburg R, Guillebaud J. *Oxford handbook of reproductive medicine and family planning*. Oxford: OUP Oxford; 2013.

17- Taghi M, Gholamhosein R, Saeed RZ. Effect of electromagnetic field on the polymerization of microtubules extracted from rat brain. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2012;6(3):251-4.

18- Bras W, Torbet J, Diakun GP, Rikken GLJA, Diaz JF. The diamagnetic susceptibility of the tubulin dimer. *J Biophys*. 2014;2014:985082.

19- Albuquerque WWC, Pedrosa Brandão Costa RM, de Salazar e Fernandes T, Lúcia Figueiredo Porto A. Evidences of the static magnetic field influence on cellular systems. *Prog Biophys Mol Biol*. 2016;121(1):16-28.

20- Jajte J, Grzegorzczak J, Zmysłony M, Rajkowska E. Effect of 7 mT static magnetic field and iron ions on rat