

Research Paper

Effect of Long-term Exposure to Extremely Low-frequency Electromagnetic Fields on β -amyloid Deposition and Microglia Cells in an Alzheimer Model in Rats



Alireza Komaki¹, Iraj Salehi¹, Arman Keymoradzadeh², Masoumeh Taheri Azandaryani¹, *Zoleikha Golipoor³

1. Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
2. Student Research Committee, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.
3. Cellular and Molecular Research Center, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.



Citation Komaki A, Salehi I, Keymoradzadeh A, Taheri Azandaryani M, Golipoor Z. Effect of Long-term Exposure to Extremely Low-frequency Electromagnetic Fields on β -amyloid Deposition and Microglia Cells in an Alzheimer Model in Rats. Journal of Guilan University of Medical Sciences. 2021; 30(3):218-229. <https://doi.org/10.32598/JGUMS.30.3.1609.2>

doi <https://doi.org/10.32598/JGUMS.30.3.1609.2>



Received: 19 Jul 2021
Accepted: 17 Sep 2021
Available Online: 01 Oct 2021

Keywords:
Alzheimer, Extremely Low-Frequency Magnetic Fields (ELF-EMF), β -Amyloid protein, Microglial cell

ABSTRACT

Background Recently, researchers have considered extremely low-frequency electromagnetic fields (ELF-EMFs), as one of the non-invasive therapies, in the treatment of many severe neurological disorders, including Alzheimer Disease (AD). AD is a progressive neurodegenerative disease characterized by the deposition of amyloid plaques in the brain. However, the increase in microglial cells increases phagocytosis and the destruction of amyloid plaques. Therefore, the present study aimed to investigate the amount of β -amyloid precursor deposition and the number of microglia cells in the animal model of AD before and after exposure to ELF-EMFs.

Objective The aim of this study was to investigate the deposition of beta amyloid precursor and the number of microglial cells in the Alzheimer's animal model before and after exposure to magnetic waves.

Methods Fifty male adult rats were randomly grouped into 5: The control group, the ELF-EMFs group, the AD group, the treatment group 1, and the treatment group 2. After the study period, the animals were killed for immunohistochemistry assessment to detect and compare the deposition of β -amyloid and the production of allograft inflammatory factor 1 (Iba1) protein.

Results Exposure to ELF reduced the deposition of β -amyloid and increased microglia cells. However, these changes were not different between the control and ELF-EMFs groups ($P < 0.001$).

Conclusion ELF-EMF can reduce the formation of β -amyloid plaques and induce the proliferation of microglia cells. Therefore, they can be used to treat brain damage caused by Alzheimer disease.

Extended Abstract

1. Introduction

A

lzheimer Disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease caused by the deposition of amyloid plaques and neurofibrillary tangles in the brain [1]. β -Amyloid

protein is the most abundant protein compound in neurotic plaques [2]. However, microglial cells enhance phagocytosis and amyloid plaque degradation in the nervous system [3]. There is evidence that magnetic fields can cause AD and other neurological conditions in humans [4, 5]. It has been reported that the effects of magnetic fields can vary depending on the physical characteristics of the field (electric, magnetic, or electromagnetic), the frequency (low,

*** Corresponding Author:**

Zoleikha Golipoor, PhD.

Address: Cellular and Molecular Research Center, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

Tel: +98 (912) 2239929

E-Mail: masoomeh_golipoor@yahoo.com; zoliekhagolipoor@gums.ac.ir

medium, high), the wave oscillation (pulsed or constant waves), and the duration of exposure [6]. On the other hand, other studies have shown the positive effects of magnetic fields, such as a decrease in inflammation, increased differentiation of stem cells into neurons, the proliferation of glial cells, and synaptic plasticity in the dentate gyrus [7]. This study aimed to assess β -amyloid deposition and microglia amount in the brains of male rats that had been treated with magnetic fields before and after the AD model induction.

2. Methods

This experimental study was performed at Hamadan University of Medical Sciences' Embryology Lab and Neurophysiological Research Center, Hamadan City, Iran. The rats were divided into five groups at random. First, the control group was not exposed to magnetic fields or amyloid injections. Second, the magnetic field group (Extremely Low-Frequency Magnetic Fields [ELF-EMF]) was exposed to the magnetic field without β -amyloid. Third, the AD group, which underwent stereotaxic surgery and received β -amyloid, but were not exposed to the magnetic field. Fourth, the treatment model before AD. They underwent magnetic field one week before surgery and β -amyloid injection and were treated for two months after surgery "AD + EMFs before AD". Fifth, the treatment group after AD model "AD + EMFs after AD". They were treated with a magnetic field for two months after surgery and β -amyloid injection. Following tissue preparation and immunohistochemistry techniques, β -amyloid and allograft inflammatory factor 1 (Iba1) were assessed. Microglial cells were observed directly using fluorescent microscopy and ImageJ software [8]. Data were analyzed by 1-way ANOVA and tukey post hoc test in SPSS v. 16. The significance level was considered as $P < 0.001$.

3. Results

Compared to the AD group that received β -amyloid injection alone, the amount of β -amyloid protein was significantly reduced in the "AD + EMFs before AD" and "AD + EMFs after AD" groups, indicating that the magnetic field reduces β -amyloid deposition. There were no significant differences between the "AD + EMFs before AD" and "AD + EMFs after AD" groups. Immunohistochemical analysis also revealed a significant increase in microglial cells in both study groups using antibodies against Iba1. Moreover, microglial cell count increased significantly in two months in the "AD + EMFs before AD" and "AD + EMFs after AD" groups compared to the AD group. Still, there was no difference between the "AD + EMFs before AD" and "AD + EMFs after AD" groups.

4. Discussion and Conclusion

The results revealed that electromagnetic fields significantly reduced β -amyloid plaques. In other words, it played a positive role in treating AD. In addition, another study by Auxiliary et al. showed that exposure to a magnetic field would induce incremental and long-term synaptic enhancement [9]. Also consistent with the present study results, Liotti et al. showed an increase in memory and learning following exposure to a magnetic field after 4 weeks of exposure to a 50-Hz magnetic field for 1 or 4 hours. They reported for the first time that chronic exposure to a magnetic field has a positive effect on the acquisition and maintenance of spatial memory [10]. In addition, the results of Ji et al. study showed that long-term RF-EMF exposure has beneficial effects on reducing β -amyloid deposition, which confirms our results [11].

According to the present study, the number of microglial cells increased in the AD group, and that increase was greater in the "AD + EMFs before AD" and "AD + EMFs after AD" groups. EMFs could reduce some of the most well-known proinflammatory cytokines, such as Tumor Necrosis Factor (TNF)- α , Interleukin (IL)-1 β , and IL-6 in N9 microglia. These data suggest that EMFs have an anti-inflammatory effect on microglial cells and protect neurons from hypoxic damage [12]. This finding indicates that EMFs may be used to treat cerebral ischemia. One study reports that ELF-EMF (50 Hz, 1 mT) inhibits the nuclear factor kappa B signaling pathway for regulating chemokine production and glial cell growth and preventing inflammation [13]. Gao et al. found that ELF-EMF could activate the Notch signaling pathway [7]. They discovered that neural stem cells proliferation and differentiation in cerebral ischemia are closely related to the Notch pathway [14]. This event is associated with increased synaptic plasticity in the dentate gyrus [7]. Also, consistent with our study, the results of Duong et al. study showed that EMF has a positive effect on the survival of microglial cells [15]. Based on the study results, magnetic waves can reduce the formation of β -amyloid plaques and treat AD, but they cannot prevent it. Waves can also activate microglia and increase their activity. In conclusion, magnetic waves may be used to eliminate β -amyloid plaques and treat AD.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of the Hamadan University of Medical Sciences (Code: IR.UMSHA.REC.1396.17).

Funding

This study was supported by the Hamadan University of Medical Sciences' Embryology Lab and Neurophysiological Research Center.

Authors' contributions

Conceptualization, visualization, project administration, and resources, methodology, editing, review, investigation, and supervision, original draft preparation: All authors; Data collection and formal analysis: Zoleikha Golipoor.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Vice-Chancellor for Hamadan University of Medical Sciences for the support and cooperation.

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر میدان مغناطیسی با فرکانس پایین بر میزان بتا آمیلوئید و تعداد سلول‌های میکروگلی در موش‌های صحرایی مدل آلزایمری

علی‌رضا کمکی^۱، ایرج صالحی^۱، آرمان کی‌مرادزاده^۲، معصومه طاهری^۱، زلیخا گلی‌پور چوشلی^۳

۱. مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.
۳. مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.

چکیده

میتا اخیراً میدان مغناطیسی، به عنوان یکی از روش‌های درمانی غیرتهاجمی، در درمان بسیاری از اختلالات شدید عصبی از جمله آلزایمر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. بیماری آلزایمر بیماری نورودژنراتیو پیش رونده‌ای است که به علت رسوب پلاک‌های آمیلوئید در مغز ایجاد می‌شود. از سویی دیگر افزایش سلول‌های میکروگلی باعث افزایش فاگوسیتوز و از بین رفتن پلاک‌های آمیلوئید می‌شود. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان رسوب پیش‌ساز بتا‌آمیلوئید و تعداد سلول‌های میکروگلی در مدل حیوانی آلزایمر قبل و بعد از قرارگیری در معرض امواج مغناطیسی انجام شده است.

هدف مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان رسوب پیش‌ساز بتا‌آمیلوئید و تعداد سلول‌های میکروگلی در مدل حیوانی آلزایمر قبل و بعد از قرارگیری در معرض امواج مغناطیسی انجام شده است.

روش‌ها ۵۰ سر موش صحرایی نر به صورت تصادفی در ۵ گروه، تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی شامل گروه کنترل، گروه میدان مغناطیسی، گروه آلزایمر، گروه درمان با میدان مغناطیسی قبل از مدل آلزایمر و گروه درمان با میدان مغناطیسی بعد از مدل آلزایمر بودند. بعد از دوره مطالعه، حیوانات جهت ایمونوهیستوشیمی برای تشخیص و مقایسه میزان رسوب بتا‌آمیلوئید و تولید پروتئین Iba1 قربانی شدند.

یافته‌ها نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تماس با ELF-EMF باعث کاهش میزان رسوب بتا‌آمیلوئید و افزایش سلول‌های میکروگلی می‌شود. از طرفی این تغییرات در دو گروه درمان با میدان مغناطیسی قبل از مدل آلزایمر، و گروه درمان با میدان مغناطیسی بعد از مدل آلزایمر تفاوت معناداری نداشته است.

نتیجه‌گیری امواج مغناطیسی به دنبال تکثیر سلول‌های میکروگلی باعث کاهش شکل‌گیری پلاک‌های بتا‌آمیلوئید شدند. بنابراین می‌توانند در درمان آسیب‌های مغزی ناشی از بیماری آلزایمر به کار گرفته شوند.

تاریخ دریافت: ۲۸ تیر ۱۴۰۰
تاریخ پذیرش: ۲۶ شهریور ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۰۹ مهر ۱۴۰۰

کلیدواژه‌ها:

بیماری آلزایمر،
β-آمیلوئید، میدان
مغناطیسی با فرکانس
پایین، میکروگلی

مقدمه

نوریتیک را تشکیل می‌دهد از نظر هیستوپاتولوژی، تشکیل پلاک‌های نوریتیک و کلافه‌های نوروفیبریلاری از ویژگی‌های مهم بیماری‌های آمیلوئیدی به شمار می‌رود [۴]. از سویی دیگر افزایش میکروگلی در سیستم عصبی باعث افزایش فاگوسیتوز و از بین رفتن پلاک‌های آمیلوئید می‌شود [۵].

مطالعات نشان داده شده است که در سال ۲۰۱۰، ۳۵ میلیون نفر از جمعیت سرتاسر جهان مبتلا به بیماری آلزایمر بوده‌اند. پیش‌بینی می‌شود که این مقدار به ۶۵ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰

بیماری آلزایمر بیماری نورودژنراتیو پیش‌رونده‌ای است که به علت رسوب پلاک‌های آمیلوئید و کلافه‌های نوروفیبریلاری^۱ در مغز ایجاد می‌شود [۱]. این بیماری با از دست دادن سلول‌های عصبی در نواحی از مغز مثل هیپوکامپ، همراه است [۴-۲]. پروتئین بتا‌آمیلوئید بیشترین ترکیب پروتئینی پلاک‌های

1. Amyloid plaque deposits & neurofibrillary tangles

* نویسنده مسئول:

دکتر زلیخا گلی‌پور چوشلی

نشانی: رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی.

تلفن: ۲۲۳۹۹۲۹ (۹۱۲) ۹۸+

رایانامه: masoomeh_golipoor@yahoo.com; zoliekhagolipoor@gums.ac.ir

و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در این مطالعه از ۵۰ سر رت نر^۲ تهیه شده از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی همدان، با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم که به طور تصادفی در ۵ گروه قرار گرفتند برای مطالعه استفاده شد. تعداد رت‌ها در هر گروه ۱۰ سر بوده است.

تزریق بتا آمیلوئید

ابتدا حیوان‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین حیوانی و زایلازین بیهوش شدند. بعد از بیهوشی حیوان در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند و از طریق جراحی استریوتاکسی^۳ و با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون [۱۵] تزریق درون بطنی داروی Amyloid beta-peptid(1-42)-human (5µg) (Tocris Bioscience, UK) با غلظت ۵ میکرولیتر به صورت یک طرفه در ناحیه بطن چپ (AP: 1.2 mm; ML: 2 mm; DV:) [۱۶، ۱۷] صورت گرفت.

گروه‌های مورد مطالعه

گروه کنترل: این گروه تحت هیچ میدان مغناطیسی و تزریق β آمیلوئید قرار نگرفتند. گروه میدان مغناطیسی (ELF-EMF):^۴ این گروه بدون دریافت β آمیلوئید فقط تحت میدان مغناطیسی قرار گرفتند. گروه آلزایمر^۵: گروهی که تحت استروئوتاکسی جراحی شدند و β آمیلوئید در بطن چپ دریافت کردند، ولی تحت میدان مغناطیسی قرار نگرفتند. گروه electromagnetic fields قبل از مدل آلزایمر (EMFs befor AD): حیواناتی که یه هفته قبل از جراحی و تزریق بتا آمیلوئید، تحت میدان مغناطیسی قرار گرفتند و بعد از جراحی نیز دو ماه تحت درمان بودند. گروه elec-tromagnetic fields بعد از مدل آلزایمر (EMEs after AD): حیوانات بعد از جراحی و تزریق بتا آمیلوئید تحت درمان با میدان مغناطیسی به مدت دو ماه قرار گرفتند.

قرارگیری در میدان مغناطیسی

طراحی و ساخت میدان الکترومغناطیسی

به منظور ایجاد میدان الکترومغناطیسی، یک میدان مغناطیسی سینوسی با یک سیم پیچ مغناطیسی گرد ساخته شده از سیم مسی ۱۰۰۰ دور (۰/۵۰ میلی‌متر) ایجاد شد. به طوری که میدان الکترومغناطیسی ۵۰۰ میکروتسلا ایجاد کرد. جریان الکتریکی سیستم نیز از طریق برق شهر (با فرکانس ۵۰ هرتز) تأمین شد. در نهایت درون سلنوئید میدان الکترومغناطیسی تقریباً یکنواختی با شدت ۵۰۰ میکرو تسلا ایجاد شد. این مطالعه در سه مرحله

۱۱۵ میلیون نفر در سال ۲۰۵۰ افزایش خواهد یافت. افزایش شیوع این اختلال لزوم وجود روش‌های درمانی مؤثر در این زمینه را تأیید می‌کند. روش درمانی میدان مغناطیسی در دهه‌های اخیر، به عنوان یکی از پرکاربردترین روش‌های درمانی غیرتهاجمی، در درمان و کاهش علائم بسیاری از اختلالات شدید عصب‌شناختی و روانی مانند پارکینسون، صرع، افسردگی و اسکیزوفرنیا مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین در حال حاضر این روش درمانی به عنوان یکی از گزینه‌های احتمالی در درمان بیماری آلزایمر مورد توجه پژوهشگران و درمانگران قرار گرفته است، اما اطلاعات موجود پیرامون این موضوع اندک است [۶، ۷].

جریان الکتریکی مورد استفاده در کشورهای مختلف برای راه‌اندازی وسایل برقی، دارای بسامد ۵۰ یا ۶۰ هرتز است. این جریان الکتریکی می‌تواند در سیم‌های حامل جریان یا وسایل الکتریکی، یک میدان مغناطیسی کم‌بسامد را به وجود آورد. در سال‌های اخیر گزارشی مبتنی بر اثر میدان‌های مغناطیسی کم‌بسامد بر میزان رسوب بتا آمیلوئید به چاپ رسیده است [۸]. مطالعات میدان مغناطیسی بر بیماری آلزایمر چندجانبه است [۹]. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند قرارگیری در معرض میدان مغناطیسی ریسک ابتلا به بیماری آلزایمر و اختلالات سیستم اعصاب مرکزی را در انسان افزایش می‌دهد [۸، ۱۰، ۱۱]. در مدل‌های حیوانی نیز وابسته به خصوصیات میدان (الکتریکی، مغناطیسی یا الکترومغناطیسی)، استاتیک یا فرکانس متغیر (پایین، متوسط، بالا)، نوسان امواج (امواج پالسی یا امواج ثابت)، شدت و قدرت میدان، و همچنین مدت قرارگیری در معرض میدان نتایج متفاوتی مانند کاهش قدرت دفاعی بدن، مشکلات تولید مثلی گزارش شده است [۱۲]. از سوی دیگر مطالعات دیگری حاکی از نقش مثبت میدان مغناطیسی بوده است که بیانگر کاهش روند التهاب، تمایز سول‌های بنیادی به سلول‌های عصبی، تکثیر سلول‌های گلیال و افزایش پلاستیسیته سیناپسی در شکنج دندانه‌ای بوده است [۱۳]. با توجه به اینکه میدان مغناطیسی نقشی در ایجاد پلاک‌های بتا آمیلوئید در مطالعه قبلی نداشتند [۱۴] هدف مطالعه حاضر بررسی میزان رسوب بتا آمیلوئید و تعداد سلول‌های میکروگلی مغز موش‌های نر صحرایی مدل آلزایمری که تحت درمان با میدان مغناطیسی قبل و بعد از ایجاد مدل آلزایمر قرار رفتند بوده است.

روش‌ها

این مطالعه از نوع مطالعات تجربی بود که در آزمایشگاه جنین‌شناسی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد.

حیوانات

حیوانات در اتاق آزمایشگاه حیوانات که دارای سیستم تهویه مناسب جهت تنظیم دمای استاندارد $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ، رطوبت ۷۰ درصد

2. Sprague Dawley (SD)
3. Sterotaxic Surgery: Stereotaxic apparatus. Stoelting, USA
4. Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields (ELF-EMF)
5. Alzheimer

TBS درصد به مدت ۲۴ ساعت دردمای ۴ درجه انکوبه کردیم. آنتی‌بادی اولیه به طور جداگانه شامل Anti- β amyloid (ORB10087) و Anti-Iba1 (Ionized calcium binding adaptor molecule 1) (ORB336635) بوده است. بعد از اضافه کردن آنتی‌بادی ثانویه Anti-rabbit antibody (sigma) به مدت ۱ ساعت، رنگ آمیزی هسته با (۴۰۶۴۰۳)، DAPI (1 μ g/ml) (USA) صورت گرفت. بتا آمیلوئید و سلول‌های Iba1، بعد از آماده‌سازی بافت و تکنیک IHC مستقیماً توسط میکروسکوپ فلوروسنت و نرم‌افزار Image G مشاهده شد و بعد از Merg کردن با هسته‌های مربوط به آن‌ها شمارش سلولی، سلول‌های Iba1 و بتا آمیلوئید بافت صورت گرفت [۲۰].

تحلیل آماری

داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و روش آنالیز تحلیل واریانس یک‌طرفه آنووا و آزمون توکی تعقیبی بوده است. سطح معناداری در این پژوهش $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان رسوب پلاک‌های بتا آمیلوئید

نتایج بافتی ما حاکی از افزایش میزان پروتئین بتا آمیلوئید در گروه Alzheimer بوده است (۶۰/۲۵ درصد). افزایشی در

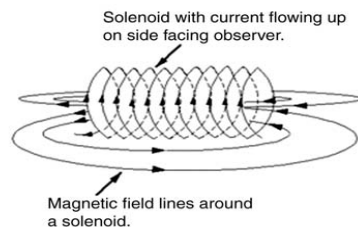
طراحی و ساخت میدان الکترومغناطیسی، در معرض قرار دادن حیوانات با این میدان‌ها و انجام تست‌های آزمایشگاهی به اجرا درآمد [۱۸، ۱۴].

در معرض قرار دادن حیوانات با میدان‌های الکترومغناطیسی

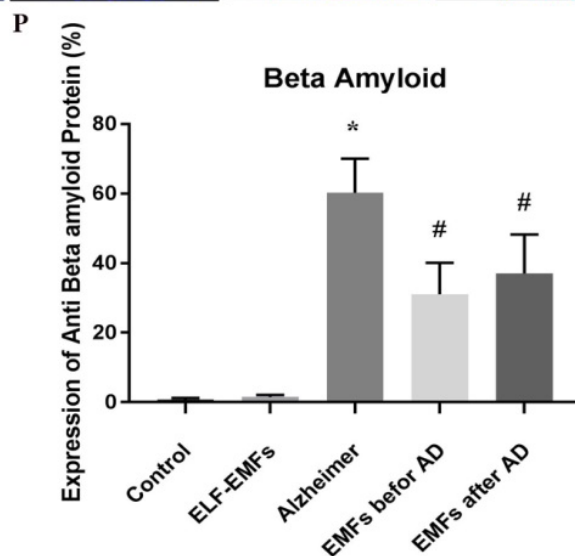
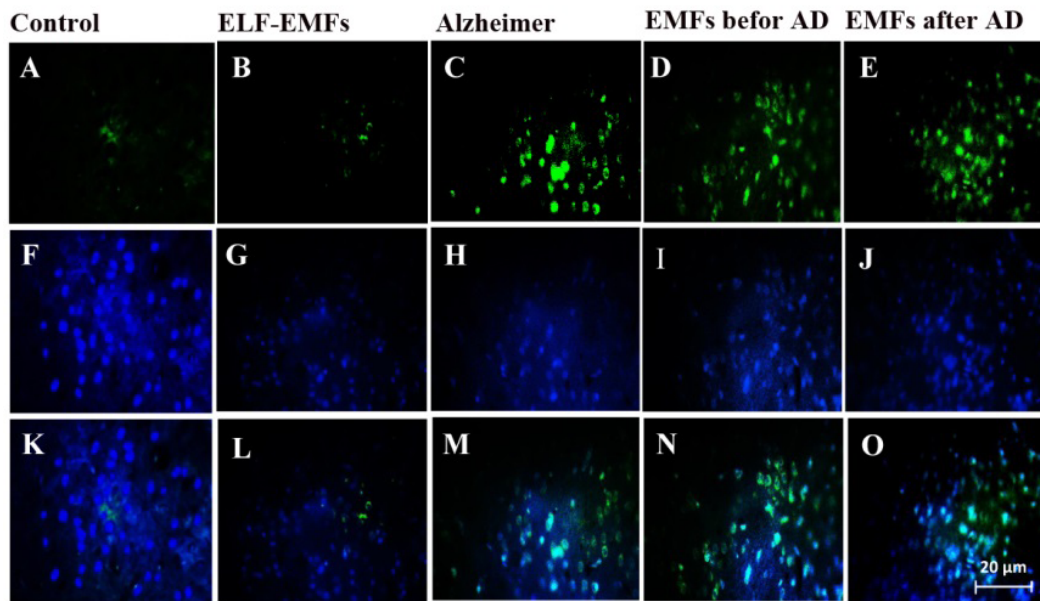
در مرحله دوم تابش دهی به موش‌های گروه آزمون به مدت ۶۰ و ۶۷ (گروه درمان قبل از مدل آلزایمر) روز و هر روز به مدت ۲ ساعت انجام شد [۱۹]. موش‌های گروه کنترل نیز در شرایطی که جریان سلنوئید قطع بود هر روز به مدت دو ساعت درون سلنوئید قرار داده شدند (تصویر شماره ۱).

ایمونوهیستوشیمی (IHC) و بررسی تعداد پیش‌ساز بتا آمیلوئید و سلول‌های میکروگلی در گروه‌های مورد مطالعه

پس از پرفیوژن با پارافمالدئید ۴ درصد، تهیه مقاطع بافتی از قشر مغز به ضخامت ۵ میکرون، جهت بررسی پیش‌ساز بتا آمیلوئید و میکروگلی، به فاصله هر ۲۰ مقطع یک مقطع انتخاب شد. ۳ حیوان جهت شمارش پلاک‌های بتا آمیلوئید و سلول میکروگلی و از هر حیوان پنج مقطع با شرایط ذکر شده انتخاب شدند. پس از گذاشتن لام‌ها در محلول سدیم سترات در دمای ۱۲۰ درجه سانت گراد دستگاه اتوکلاو و شست‌وشو ۳ بار با محلول Tris، و انجام مرحله blocking با به کارگیری BSA; Sigma جهت رنگ کردن برش‌ها آن‌ها را با آنتی‌بادی اولیه رقیق شده BSA/ ۰/۳



تصویر ۱. سیستم مواجهه با امواج الکترومغناطیسی. گروه‌های مورد آزمون در داخل قفس‌هایی در وسط این سلنوئیدها قرار داده شدند گروه کنترل نیز در شرایطی مشابه، درون این سلنوئیدها، اما بدون میدان الکترومغناطیسی قرار گرفتند [۲۸]



مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

تصویر ۲. میزان رسوب آنتی‌بادی علیه بتا‌آمیلوئید بافت مغز در گروه‌های آزمایشی نتایج نشان‌دهنده افزایش بتا‌آمیلوئید در گروه‌هایی که تزریق بتا‌آمیلوئید داشته‌اند و کاهش رسوب بتا‌آمیلوئید در گروه‌های درمان با میدان مغناطیسی بوده است. رنگ‌آمیزی بتا‌آمیلوئید Iba1 (A-E) رنگ‌آمیزی هسته با DAPI (F-J)، Merge (K-O) (P) درصد حضور پروتئین بتا‌آمیلوئید در بافت مغز بعد از شمارش آنتی‌بادی علیه بتا‌آمیلوئید در گروه‌های آزمایشی. مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شده است

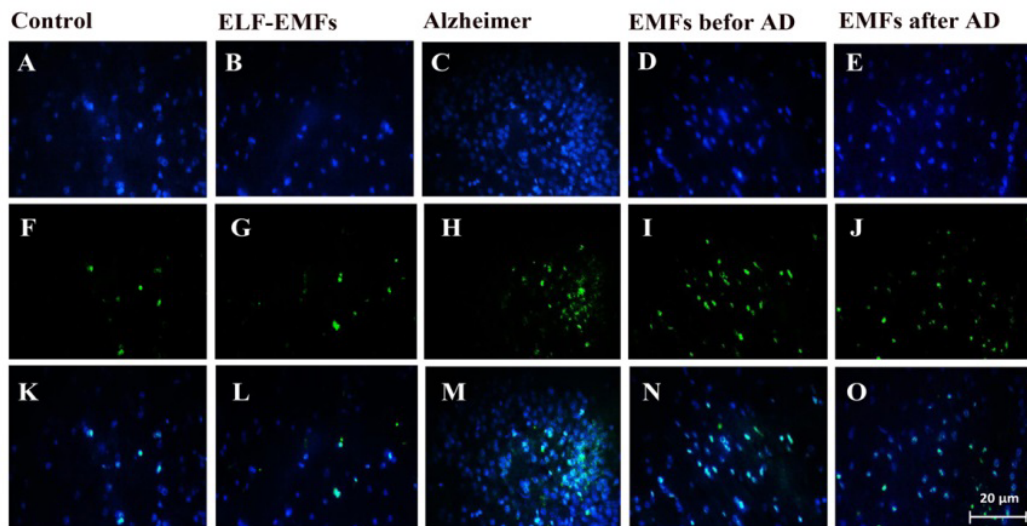
* $P < 0.001$ مقایسه با گروه کنترل و ELF-EMFs؛ # $P < 0.001$ مقایسه با گروه Alzheimer

درصد (تصویر شماره ۲)، ($F_{(7/19)} = 41/85$ ، $P < 0.001$) ولی اختلاف معناداری در بتا‌آمیلوئید در دو گروه درمان EMFs before AD و EMFs after AD وجود نداشت (تصویر شماره ۲).

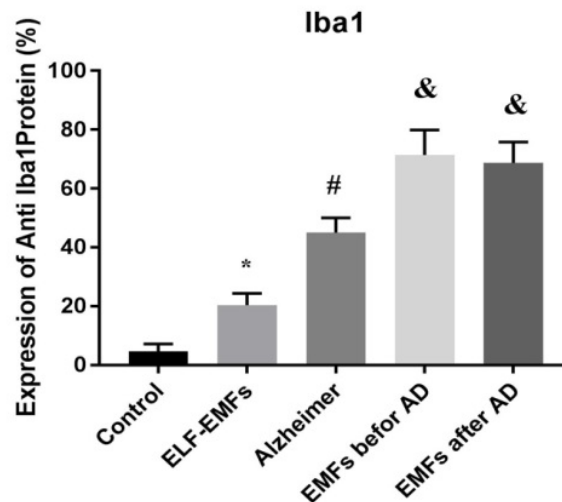
میزان سلول‌های میکروگلی

مطالعات بافتی نشان‌دهنده افزایش میزان سلول‌های میکروگلی در مغز بوده است (گروه Control: ۵/۴ درصد، گروه ELF-EMFs: ۱۹/۵ درصد). مطالعه ایمونوهیستوشیمی با استفاده از

میزان بتا‌آمیلوئید در گروه‌های Control و ELF-EMFs دیده نشد (Control: ۰/۷۵ درصد، ELF-EMFs: ۱/۵ درصد). نتایج ما نشان داد در هر دو گروه درمانی (EMFs before AD و EMFs after AD) که در معرض میدان مغناطیسی قرار گرفتند، میزان پروتئین بتا‌آمیلوئید به طور معناداری نسبت به گروهی که به‌تنهایی تزریق بتا‌آمیلوئید داشته‌اند (Alzheimer) کاهش یافته است که نشان‌دهنده نقش میدان مغناطیسی در کاهش بتا‌آمیلوئید بوده است (EMEs after AD: ۳۷ درصد، EMFs before AD: ۳۱ درصد)



P



مجله دانشکده علوم پزشکی گیلان

تصویر ۳. میزان رسوب آنتی‌بادی علیه Iba1 بافت مغز در گروه‌های آزمایشی نشان‌دهنده افزایش میکروگلی به دنبال افزایش بتا‌آمیلوئید (رنگ آمیزی هسته با DAPI (A-E)، رنگ آمیزی آنتی Iba1 (F-J)، Merge (K-O))

(P) درصد حضور میکروگلی در بافت مغز در گروه‌های آزمایشی بعد از شمارش آنتی‌بادی علیه Iba1. مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شده است. $P < 0.001$ مقایسه با گروه کنترل؛ $P < 0.001$ مقایسه با گروه Alzheimer؛ $P < 0.001$ مقایسه با گروه ELF-EMFs؛ $P < 0.001$ مقایسه با گروه Alzheimer

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری آلزایمر یک بیماری مغزی تحلیل‌رونده‌ای است که غیر قابل برگشت بوده و به تدریج حافظه و مهارت‌های شناختی را تخریب می‌کند. این بیماری با تشکیل تجمعات بتا‌آمیلوئیدی نامحلول و همچنین از بین رفتن سیناپس و مرگ نورون‌ها همراه است [۲۱، ۲۰، ۱۷]. بر اساس اطلاعات به‌دست‌آمده از مطالعات در خصوص اثرات بیولوژیکی میداین الکترومغناطیسی بر مغز، اخیراً تحقیقات مربوط به تأثیرات آسیب‌رسان این میداین بر روی سیستم اعصاب مرکزی به یکی از موضوعات مهم در تحقیقات علوم پزشکی تبدیل شده است. اکثر مطالعات بر نقش این میداین بر القای بیماری‌های

آنتی‌بادی علیه Iba1 نشان داد که در گروه‌های مورد مطالعه به دنبال افزایش بتا‌آمیلوئید، افزایش میکروگلی نیز صورت گرفت و در گروه‌های تحت درمان، بعد از دو ماه میزان سلول‌های میکروگلی افزایش معناداری در مقایسه با گروه Alzheimer داشته است (گروه Alzheimer: ۴۸ درصد، EMFs before AD: ۷۹/۵ درصد، EMFs after AD: ۷۱ درصد) (تصویر شماره ۲) $(F(4/14) = 10.5/9.43, P < 0.001)$. ولی تفاوت معناداری در دو گروه درمان EMFs before AD و EMFs after AD دیده نشد (تصویر شماره ۳).

است خطر بیماری آلزایمر را افزایش دهد [۲۳]. در مقابل نتایج ما نشان داده است که EMF سلول‌های میکروگلی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و می‌تواند باعث فعال شدن سلول‌های میکروگلی شود. آزمایش‌های بافت‌شناسی در مطالعه حاضر نشان داد که تعداد سلول‌های میکروگلی در گروه آلزایمر افزایش یافته و این افزایش در گروه‌های درمان بیشتر بوده است. EMF قادر به کاهش برخی از شناخته‌شده‌ترین سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند TNF- α ، IL-1 β و IL-6 در میکروگلی N9 بودند. این نتایج یک اثر محافظتی از EMF‌ها در آسیب هیپوکسی در سلول‌های شبه‌نورون و یک اثر ضدالتهابی در سلول‌های میکروگلی را نشان می‌دهد که EMF می‌تواند یک روش درمانی بالقوه را در شرایط ایسکمی مغزی نشان دهد [۲۵]. مطالعه دیگری گزارش داد که ELF-EMF (۵۰ هرتز، ۱ mT) مسیر پیام‌رسانی فاکتور هسته‌ای κ B را برای تنظیم تولید شیمیوکین و رشد سلول‌های گلیال و جلوگیری از روند التهابی مهار می‌کند [۲۶]. مطالعه گائو^{۱۴} و همکارانش نشان داد که ELF-EMF می‌تواند مسیر سیگنالینگ Notch را ارتقا دهد [۱۳] که از سویی نشان داده شد که تکثیر و تمایز NSC‌های درون زار ارتباط تنگاتنگی با مسیر سیگنال‌دهی Notch در ایسکمی مغزی دارد [۲۶]. این امر با افزایش پلاستیسیته سیناپسی در شکنج دندان‌دار مرتبط است [۱۳]. همچنین منطبق با مطالعه ما نتیجه مطالعه‌ای که توسط دونگ^{۱۵} و همکاران انجام شد نشان داد EMF تأثیر مثبتی در زنده‌مانی سلول‌های میکروگلی دارد [۱۷]. EMF با تداخل در افزایش سطح Ca²⁺ و ROS درون‌سلولی ناشی از محرومیت از اکسیژن - گلوکز^{۱۶}، سلول‌های میکروگلی انسان را از مرگ سلولی ناشی از OGD محافظت می‌کند و باعث افزایش میکروگلی می‌شود. بنابراین درمان غیرتهاجمی اشعه EMF ممکن است از نظر بالینی برای کاهش آسیب مغزی هیپوکسی ایسکمیک مفید باشد [۲۷، ۲۸].

داده‌های این مطالعه نشان داد که امواج مغناطیسی باعث کاهش شکل‌گیری پلاک‌های بتا آمیلوئید و درمان بیماری آلزایمر می‌شوند، ولی نقش پیشگیری در بیماری آلزایمر نداشتند. همچنین امواج باعث تکثیر و القای میکروگلی‌ها می‌شود. این استراتژی می‌تواند باعث افزایش به‌کارگیری امواج مغناطیسی در درمان آسیب‌های مغزی و از بین بردن پلاک‌های بتا‌آمیلوئید و درمان بیماری آلزایمر باشد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان قرار گرفته است (کد اخلاق IR.UMSHA.REC.1396.17).

14. Gao
15. Duong
16. Oxygen-Glucose Deprivation (OGD)

نورودژنراتیو پرداخته‌اند، در مقابل برخی از مطالعات بر قرارگیری در این میدان برای جلوگیری از بیماری‌های نورودژنراتیو و یا نقش درمانی میدان مغناطیسی در بیماران متمرکز هستند [۱۳، ۲]. در مجموع مطالعات انجام‌شده در خصوص تأثیر قرارگیری در میدان مغناطیسی بر حافظه و یادگیری اندک و گاه متناقض هستند. مطالعه حاضر نشان داد که قرارگیری در معرض میدان الکترومغناطیسی باعث کاهش معنی‌دار پلاک‌های بتا‌آمیوئید می‌شود. به عبارتی نقش مثبت در درمان بیماری آلزایمر داشت. به علاوه مطالعه دیگری از کمکی و همکارانش در سال ۲۰۱۴ نشان داد قرارگیری در معرض میدان مغناطیسی موجب القای افزایشی و تقویت سیناپسی طولانی‌مدت می‌شود [۲۰]. همچنین منطبق با نتیجه مطالعه حاضر، لیوتی و همکاران در مطالعه انجام‌شده در سال ۲۰۰۸ افزایش در حافظه و یادگیری را به دنبال قرارگیری در میدان مغناطیسی بعد از ۴ هفته قرارگیری در میدان مغناطیسی با شدت ۵۰ هرتز برای ۱ یا ۴ ساعت نشان دادند. آن‌ها برای اولین بار گزارش کردند که تماس مزمن با میدان مغناطیسی باعث اثرات مثبت بر کسب و حفظ حافظه فضایی می‌شود [۱۹]. به علاوه نتیجه مطالعه جی^۶ و همکاران نشان داده است که تماس طولانی‌مدت RF-EMF اثرات مفیدی بر کاهش رسوب بتا‌آمیوئید دارد که نتایج ما را تأیید می‌کند [۱۷]. همچنین مطالعه‌ای جدید حاکی از تأثیر مثبت میدان مغناطیسی در بهبود اختلالات یادگیری و حافظه در موش‌های مبتلا به آلزایمر بوده است [۲۱، ۱۳]. از طرفی نتایج مطالعه‌ای که توسط سان^۷ و همکاران صورت گرفت برخلاف نتایج ما بوده است. آن‌ها نشان دادند که میدان مغناطیسی هیچ تأثیری در سطح APP^۸ و CTF β ^۹ بهبود بیماری آلزایمر نداشته است [۶]. همچنین مطالعه ژانگ^{۱۰} و همکاران نشان داد که EMF نه تأثیری در شناخت و حافظه دارد، نه در تشکیل بتا‌آمیوئید نقش دارد [۲۲]. با توجه به معنادار نبودن میزان رسوب بتا‌آمیوئید در دو گروه درمان، مطالعه ما نشان داد که میدان مغناطیسی نقش پیشگیری‌کننده‌ای در تشکیل پروتئین بتا‌آمیوئید ندارد که می‌توان آن را به مدت‌زمان کم قرارگیری در معرض میدان مغناطیسی قبل از آلزایمر در گروه آزمایش نسبت داد. نتایج مطالعه پارک^{۱۱} و همکاران نیز نشان داد که قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی ممکن است تأثیر فیزیولوژیکی قابل توجهی در پردازش A β سلول‌های عصبی در کوتاه‌مدت نداشته باشد [۱]. مطالعه کاپلان^{۱۲} و همکاران نشان داده‌اند که EMF منجر به تشکیل رادیکال آزاد اکسیژن^{۱۳} در سلول‌ها می‌شود که می‌تواند سنتز پیش‌سازهای پروتئین β -آمیوئید را در یک مسیر واسطه استرس اکسیداتیو تقویت کند. به این ترتیب EMF سطح ROS و β -آمیوئید را در این سلول‌ها تقویت می‌کند و ممکن

6. Ji
7. Son
8. Amyloid β -protein precursor
9. C-terminal fragment
10. Zhang
11. Park
12. Kaplan
13. Reactive oxygen species

حامی مالی

این مطالعه با حمایت آزمایشگاه جنین شناسی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی، تجسم، مدیریت پروژه و منابع، روش‌شناسی، ویرایش، بررسی، تحقیق و نظارت، آماده‌سازی پیش‌نویس اصلی: همه نویسندگان؛ گردآوری داده‌ها و تحلیل صوری: زلیخا گلی‌پور.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از اساتید محترم گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب دانشگاه علوم پزشکی همدان تقدیر و تشکر می‌کنند.

References

- [1] Park J, Kwon JH, Kim N, Song K. Effects of 1950 MHz radiofrequency electromagnetic fields on A β processing in human neuroblastoma and mouse hippocampal neuronal cells. *Journal of Radiation Research*. 2018; 59(1):18-26. [DOI:10.1093/jrr/rxx045] [PMID] [PMCID]
- [2] Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002; 297(5580):353-6. [DOI:10.1126/science.1072994] [PMID]
- [3] Praticò D, Uryu K, Leight S, Trojanowski JQ, Lee VM. Increased lipid peroxidation precedes amyloid plaque formation in an animal model of Alzheimer amyloidosis. *The Journal of Neuroscience*. 2001; 21(12):4183-7. [DOI:10.1523/JNEUROSCI.21-12-04183.2001] [PMID] [PMCID]
- [4] Chen WW, Blurton-Jones M. Concise review: Can stem cells be used to treat or model Alzheimer's disease? *Stem Cells*. 2012; 30(12):2612-8. [DOI:10.1002/stem.1240] [PMID] [PMCID]
- [5] Wang Q, Xu Y, Chen JC, Qin YY, Liu M, Liu Y, et al. Stromal cell-derived factor 1 α decreases β -amyloid deposition in Alzheimer's disease mouse model. *Brain Research*. 2012; 1459:15-26. [DOI:10.1016/j.brainres.2012.04.011] [PMID]
- [6] Son Y, Jeong YJ, Kwon JH, Choi HD, Pack JK, Kim N, et al. 1950 MHz radiofrequency electromagnetic fields do not aggravate memory deficits in 5xFAD mice. *Bioelectromagnetics*. 2016; 37(6):391-9. [DOI:10.1002/bem.21992] [PMID] [PMCID]
- [7] Ji Jeong Y, Kang GY, Hwa Kwon J, Choi HD, Pack JK, Kim N, et al. 1950 MHz electromagnetic fields ameliorate A β pathology in Alzheimer's disease mice. *Current Alzheimer Research*. 2015; 12(5):481-92. [DOI:10.2174/156720501205150526114448] [PMID] [PMCID]
- [8] Del Giudice E, Facchinetti F, Nofrate V, Boccaccio P, Minelli T, Dam M, et al. Fifty Hertz electromagnetic field exposure stimulates secretion of β -amyloid peptide in cultured human neuroglioma. *Neuroscience Letters*. 2007; 418(1):9-12. [DOI:10.1016/j.neulet.2007.02.057] [PMID]
- [9] Ahmad RHMA, Fakhoury M, Lawand N. Electromagnetic field in Alzheimer's disease: A literature review of recent preclinical and clinical studies. *Current Alzheimer Research*. 2020; 17(11):1001-12. [DOI:10.2174/1567205017666201130085853] [PMID]
- [10] Arendash GW, Mori T, Dorsey M, Gonzalez R, Tajiri N, Borlongan C. Electromagnetic treatment to old Alzheimer's mice reverses β -amyloid deposition, modifies cerebral blood flow, and provides selected cognitive benefit. *PLoS One*. 2012; 7(4):e35751. [DOI:10.1371/journal.pone.0035751] [PMID] [PMCID]
- [11] Karimi A, Ghadiri Moghaddam F, Valipour M. Insights in the biology of extremely low-frequency magnetic fields exposure on human health. *Molecular Biology Reports*. 2020; 47(7):5621-33. [DOI:10.1007/s11033-020-05563-8] [PMID]
- [12] Otto M, von Mühlendahl KE. Electromagnetic Fields (EMF): Do they play a role in Children's Environmental Health (CEH)? *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2007; 210(5):635-44. [DOI:10.1016/j.ijheh.2007.07.007] [PMID]
- [13] Gao Q, Leung A, Yang YH, Lau BWM, Wang Q, Liao LY, et al. Extremely low frequency electromagnetic fields promote cognitive function and hippocampal neurogenesis of rats with cerebral ischemia. *Neural Regeneration Research*. 2021; 16(7):1252-7. [DOI:10.4103/1673-5374.301020] [PMID] [PMCID]
- [14] Golipoor Z, Komaki A, Salehi I, Alizadeh A, Faraji N, Sadeghian RS. Comparison of the effect of long term exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields with different value on learning, memory, anxiety and β -amyloid deposition in adult rats. *Basic and Clinical Neuroscience*. 2021; [In Press]. [DOI:10.32598/bcn.2021.1204.2]
- [15] Hawrylycz M, Baldock RA, Burger A, Hashikawa T, Johnson GA, Martone M, et al. Digital atlas and standardization in the mouse brain. *PLoS Computational Biology*. 2011; 7(2):e1001065. [DOI:10.1371/journal.pcbi.1001065] [PMID] [PMCID]
- [16] Cetin F, Yazihan N, Dincer S, Akbulut G. The effect of intracerebroventricular injection of beta amyloid peptide (1-42) on caspase-3 activity, lipid peroxidation, nitric oxide and NOS expression in young adult and aged rat brain. *Turkish Neurosurgery*. 2013; 23(2):144-50. [DOI:10.5137/1019-5149.JTN.5855-12.1] [PMID]
- [17] Nasiri E, Alizadeh A, Mohammadi Roushandedeh A, Gazor R, Hashemi-Firouzi N, Golipoor Z. Melatonin-pretreated adipose-derived mesenchymal stem cells efficiently improved learning, memory, and cognition in an animal model of Alzheimer's disease. *Metabolic Brain Disease*. 2019; 34(4):1131-43. [DOI:10.1007/s11011-019-00421-4] [PMID]
- [18] Foroozandeh E, Ahadi H, Askari P, Sattari Naeini M. Effects of single, brief exposure to an 8 mT electromagnetic field on avoidance learning in male and female mice. *Psychology & Neuroscience*. 2011; 4(1):143-8. [DOI:10.3922/j.psns.2011.1.016]
- [19] Liu T, Wang S, He L, Ye K. Chronic exposure to low-intensity magnetic field improves acquisition and maintenance of memory. *Neuroreport*. 2008; 19(5):549-52. [DOI:10.1097/WNR.0b013e3282f8b1a0] [PMID]
- [20] Komaki A, Khalili A, Salehi I, Shahidi S, Sarihi A. Effects of exposure to an extremely low frequency electromagnetic field on hippocampal long-term potentiation in rat. *Brain Research*. 2014; 1564:1-8. [DOI:10.1016/j.brainres.2014.03.041] [PMID]
- [21] Akbarnejad Z, Esmaeilpour K, Shabani M, Asadi-Shekaari M, Saeedi goraghani M, Ahmadi-Zeidabadi M. Spatial memory recovery in Alzheimer's rat model by electromagnetic field exposure. *International Journal of Neuroscience*. 2018; 128(8):691-6. [PMID]
- [22] Zhang Y, Liu X, Zhang J, Li N. Short-term effects of extremely low frequency electromagnetic fields exposure on Alzheimer's disease in rats. *International Journal of Radiation Biology*. 2015; 91(1):28-34. [PMID]
- [23] Kaplan S, Deniz OG, Önger ME, Türkmen AP, Yurt KK, Aydın I, et al. Electromagnetic field and brain development. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2016; 75(Pt B):52-61. [DOI:10.1016/j.jchemneu.2015.11.005] [PMID]
- [24] Vincenzi F, Ravani A, Pasquini S, Merighi S, Gessi S, Setti S, et al. Pulsed electromagnetic field exposure reduces hypoxia and inflammation damage in neuron-like and microglial cells. *Journal of Cellular Physiology*. 2017; 232(5):1200-8. [DOI:10.1002/jcp.25606] [PMID]

- [25] Kim SJ, Jang YW, Hyung KE, Lee DK, Hyun KH, Jeong SH, et al. Extremely low-frequency electromagnetic field exposure enhances inflammatory response and inhibits effect of antioxidant in RAW 264.7 cells. *Bioelectromagnetics*. 2017; 38(5):374-85. [DOI:10.1002/bem.22049] [PMID]
- [26] Zhang K, Guo L, Zhang J, Rui G, An G, Zhou Y, et al. tDCS accelerates the rehabilitation of MCAO-induced motor function deficits via neurogenesis modulated by the Notch1 signaling pathway. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2020; 34(7):640-51. [DOI:10.1177/1545968320925474] [PMID]
- [27] Duong CN, Kim JY. Exposure to electromagnetic field attenuates oxygen-glucose deprivation-induced microglial cell death by reducing intracellular Ca^{2+} and ROS. *International Journal of Radiation Biology*. 2016; 92(4):195-201. [PMID]
- [28] Salehi I, Sani KG, Zamani A. Exposure of rats to Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields (ELF-EMF) alters cytokines production. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2013; 32(1):1-8. [DOI:10.3109/15368378.2012.692343] [PMID]