

اثر میکروویو بر تغییرات میکرونوکلیئوس و شاخص تقسیم هسته‌ای در لنفوسیت‌های موش

علی صفری واریانی* دکتر سید باقر مرتضوی** دکتر علی خوانین*** دکتر سید محمد مؤذنی**** دکتر انوشیروان کاظم‌نژاد*****

The effect of microwave on micronucleus induction and nuclear division index changes on Balb/c mice lymphocytes

A Safari Varyani❖ SB Mortazavi A khavanin SM Moazeni A kazemnegad

دریافت: ۸۵/۷/۲۱ پذیرش: ۸۶/۸/۲۳

*Abstract

Background: Biological effects of microwave radiation on living creatures have been the focus of many investigations over the last decade and the influence of different wave parameters such as frequency, power, exposure time, and modulation has been elucidated.

Objective: The main purpose of the present study was to investigate the effect of microwave radiation on alterations of micronucleus induction and nuclear divisions index under different conditions.

Methods: A total of 48 Balb/c mice divided in eight groups (7 as cases and 1 as control) were exposed to microwave generator while restrained in specially designed Plexiglas chamber. Later, the frequency of micronucleus in binucleated lymphocytes and NDI was evaluated using micronucleus assay on mouse lymphocytes.

Findings: Microwave radiation at different conditions (frequency, power, modulation and exposure time) showed no significant effect on frequency of micronucleus, however, the nuclear division index was significantly decreased under such conditions.

Conclusion: Based on data found in our study, the microwave radiation as we used during the present work, caused significant effect on nuclear division index in mouse lymphocytes.

Keywords: Microwave, lymphocyte, micronucleus, nuclear division index, mice

* چکیده

زمینه: در سال‌های اخیر مطالعه‌های زیادی در مورد اثرات سلولی میکروویو در موجودات زنده انجام شده است و اثرات فرکانس، توان زمان پرتوگیری و مدولاسیون امواج بر بافت‌های مختلف بررسی شدند.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر فرکانس، توان، مدولاسیون و زمان پرتوگیری بر تغییرات میکرونوکلیئوس و شاخص تقسیم هسته‌ای در لنفوسیت‌های موش انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۴ در تهران انجام شد. در این تحقیق ۴۸ سر موش نر دو ماهه از نژاد Balb/c در شرایط مختلف در معرض میکروویو قرار گرفتند. سپس با استفاده از روش ارزیابی میکرونوکلیئوس، میانگین میکرونوکلیئوس و شاخص تقسیم هسته‌ای در گروه‌های مواجهه و شاهد ارزیابی شد.

یافته‌ها: میکروویو سبب ایجاد تغییر در میانگین میکرونوکلیئوس و شاخص تقسیم هسته‌ای در گروه‌های مواجهه نسبت به گروه شاهد شد. تغییرات میکرونوکلیئوس در گروه‌های مواجهه نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود، ولی تفاوت شاخص تقسیم هسته‌ای در گروه‌های مواجهه نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود و میکروویو سبب کاهش شاخص تقسیم هسته‌ای در لنفوسیت شد.

نتیجه‌گیری: میکروویو در شرایط به کار رفته در این تحقیق سبب تغییر میکرونوکلیئوس در لنفوسیت‌ها نمی‌شود، اما شاخص تقسیم هسته‌ای لنفوسیت‌ها را کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: میکروویو، لنفوسیت، میکرونوکلیئوس، شاخص تقسیم هسته‌ای، موش

* دانشجوی دوره دکتری بهداشت حرفه‌ای دانشگاه تربیت مدرس و عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

** دانشیار گروه بهداشت حرفه‌ای دانشگاه تربیت مدرس

*** استادیار گروه بهداشت حرفه‌ای دانشگاه تربیت مدرس

**** دانشیار گروه آمار حیاتی دانشگاه تربیت مدرس

آدرس مکاتبه: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده بهداشت و پیراپزشکی، تلفن ۰۱-۳۳۳۶۰۰۱-۵

* مقدمه:

در جهان امروز میکروویو کاربردهای فراوانی در عرصه‌های گوناگون دارد. استفاده گسترده در رادارهای نظامی، سیستم‌های ارتباطی پلیس، فرستنده‌های قوی ماهواره‌ای و تلویزیونی، تلفن‌های همراه، گرم کننده‌های خانگی و صنعتی و استفاده‌های پزشکی از عمده‌ترین کاربردهای آن است.^(۱) این امواج می‌توانند اثرات سوئی در ارگان‌های زنده ایجاد نمایند^(۲،۳) که در اثر جذب انرژی میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی توسط بافت‌هاست. یکی از شاخص‌های این اثرات، تعیین میزان جذب ویژه امواج در بدن موجودات زنده است، ولی اندازه‌گیری آن فرآیند خاص و مشکلی دارد.^(۴)

بخشی از اثرات میکروویوها از قبیل اثر بر چشم، تخمدان و گردش خون ناشی از گرمای جذب شده در بدن موجودات زنده است. اما اثر بر فعالیت‌های الکتریکی زیستی ژن‌ها که در توان‌های پایین و فرکانس‌های مختلف ایجاد می‌شوند، غیر حرارتی است.^(۵) در این راستا بعضی از محققان نشان داده‌اند که میکروویو با توان پایین سبب اثرات سلولی می‌شوند،^(۶) ولی محققان دیگر نشان داده‌اند که این امواج با توجه به انرژی بسیار کم فوتون آنها قادر به ایجاد اثرات سلولی نیستند.^(۷) به هر حال در مورد اثرات سلولی میکروویو در توان‌های پایین توافق نظر وجود ندارد.^(۸،۹) این در حالی است که در سال‌های اخیر افراد بسیاری به صورت حرفه‌ای و غیر حرفه‌ای در معرض این امواج با توان پایین قرار گرفته‌اند. آزمون‌های مختلفی جهت بررسی اثرات ژنوتوکسیک امواج غیر یون‌ساز وجود دارد. یکی از روش‌های آزمایشگاهی، آزمون میکرونوکلئوس است که در سلول‌های مختلف بدن موجودات زنده قابل انجام است و با سرعت و دقت کافی آسیب‌های وارده به سلول‌ها را مشخص می‌کند.^(۱۰)

در این روش همزمان می‌توان شاخص تقسیم هسته‌ای را نیز مورد ارزیابی قرار داد. این شاخص نشان دهنده اثر عوامل زیان‌آور بر تکثیر سلولی (اثر

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۴ در دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام شد. در این مطالعه ۴۸ سر موش Balb/c نر دو ماهه در ۸ گروه ۶ تایی بررسی شدند. یک گروه به عنوان شاهد و ۷ گروه به عنوان گروه مواجهه در نظر گرفته شدند.

برای پرتودهی اتاقکی شامل دو بخش درونی و بیرونی طراحی شد. بخش درونی به شکل استوانه و به قطر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر از جنس پلکسی گلاس بود که در مرکز آن آنتن نصب شد. بخش بیرونی اتاقک مکعبی به ابعاد ۱۱۰ سانتی‌متر بود که به منظور پیشگیری از انعکاس امواج سطح درونی آن با هرمنهایی از جنس اسفنج اندود شده با گرافیت با ابعاد معین پوشیده شد.^(۱۱) دستگاه مولد امواج شامل نوسان‌ساز، تقویت کننده و آنتن، پس از آزمایش کالیبره شدند.

گروه‌های مواجهه به مدت ۸ ساعت در روز به شرح زیر در معرض میکروویو قرار گرفتند:

گروه ۱ (فرکانس ۹۵۰ مگاهرتز، توان ۵ وات و زمان تابش یک هفته)، گروه ۲ (فرکانس ۹۵۰ مگاهرتز، توان ۵ وات و زمان تابش دو هفته)، گروه ۳ (فرکانس ۹۵۰ مگاهرتز، توان ۵ وات و زمان تابش ۴ هفته)، گروه ۴ (فرکانس ۹۵۰ مگاهرتز، توان ۵ وات، مدلاسیون ۲۰۰ کیلوهرتز و زمان تابش ۲ هفته)، گروه ۵ (فرکانس ۸۹۰ مگاهرتز، توان ۵ وات و زمان تابش دو هفته)، گروه ۶ (فرکانس ۹۵۰ مگاهرتز، توان ۳ وات و زمان تابش دو هفته) و گروه ۷ (فرکانس ۸۹۰ مگاهرتز، توان ۵ وات و زمان تابش دو هفته).

در طول مدت پرتودهی، دمای اتاقک پرتودهی در محدوده ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد ثابت شد. پس از اتمام زمان پرتودهی، آزمایش میکرونوکلئوس مطابق

۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر Cytochalasin-B اضافه شد و پلیت‌ها دوباره در انکوباتور گاز کربنیک قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت سلول‌ها برداشته شده و به کمک دستگاه سایتواسپین روی لام‌ها قرار داده شدند. پس از خشک شدن لام‌ها در هوا، سلول‌ها به وسیله متانول مطلق ثابت شدند و نفوسیت‌ها توسط محلول گیمسا ده درصد رنگ‌آمیزی شدند. شمارش سلول‌های دو هسته‌ای دارای میکرونوکلوئوس توسط میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ انجام شد. تعداد سلول‌های دو هسته‌ای دارای میکرونوکلوئوس به ازای هر هزار سلول دو هسته‌ای هر نمونه تعیین و میانگین تعداد میکرونوکلوئوس در هر گروه به عنوان یک شاخص تعریف شد. جهت تعیین شاخص تقسیم هسته‌ای (NDI) ۵۰۰ سلول از هر نمونه شمارش و تعداد سلول‌های یک، دو، سه و چهار هسته‌ای مشخص شد. شاخص NDI با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$NDI = \frac{m_1 + 2(m_2) + 3(m_3) + 4(m_4)}{N}$$

در رابطه فوق m_1, m_2, m_3, m_4 به ترتیب تعداد سلول‌های یک، دو، سه، چهار هسته‌ای و N تعداد کل سلول‌های شمارش شده است. در نهایت داده‌ها با نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

* یافته‌ها:

میانگین شاخص میکرونوکلوئوس در گروه‌های ۸ گانه به ترتیب ۱۲/۶، ۱۴/۱۶، ۱۴/۳۳، ۱۳/۵، ۱۳/۸۳، ۱۳/۳۳، ۱۳ و ۱۲ بود و اختلاف بین هر یک از گروه‌های مواجهه نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود (جدول شماره ۱).

روش Cytokinesis-block بر روی موش‌ها انجام شد.^(۹) یعنی ابتدا موش‌ها به روش قطع نخاع کشته و با الکل ۷۵ درصد ضدعفونی شدند. سپس در اتاق کشت و زیر هود لامینار، طحال موش‌ها به روش جراحی خارج و در محیط کشت قرار داده شد.

با تزریق ۲ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI1640 (Gibco) در طحال، محتوای سلولی آن استخراج شد. محصول این مرحله توسط پیپت پاستور به آرامی بر روی ۲ تا ۳ میلی‌لیتر فایکول در لوله فایکون قرار گرفت و توسط دستگاه میکروسانتریفوژ با شتاب g ۷۰۰ و زمان ۱۵ دقیقه جداسازی شد. لایه تشکیل شده بین فایکول و محیط کشت با پیپت پاستور استخراج و به لوله‌های فالكون حاوی ۳ میلی‌لیتر محیط کشت انتقال یافت و مجدداً توسط دستگاه میکروسانتریفوژ با شتاب g ۳۵۰ و زمان ۵ دقیقه جداسازی شد. پلاک نفوسیتی تشکیل شده در انتهای لوله در ۴ میلی‌لیتر محیط کشت حل شد و مجدداً توسط دستگاه میکروسانتریفوژ با شتاب g ۳۵۰ و زمان ۵ دقیقه جداسازی شد. برای اطمینان بیش‌تر فرآیند مرحله آخر یک بار دیگر تکرار گردید. پلاک سلولی حاصل در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت حل شد و به وسیله لام نئوبار تعداد سلول‌ها شمارش شد. تعداد سلول‌ها با رقیق‌سازی به یک میلیون در واحد حجم رسید. پس از جداسازی نفوسیت‌ها، ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت سلول و ۲۰ میکرولیتر محلول FCS (Gibco) و ۵ میکرولیتر محلول فیتوهم‌گلوکونین PHA (Gibco) به هر یک از نمونه‌ها افزوده شد. پلیت کشت در انکوباتور گاز کربنیک (گاز کربنیک ۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از اطمینان از تکثیر سلول‌های نفوسیت، هفده و نیم ساعت بعد از آغاز کشت سلولی به هر نمونه

جدول ۱- میانگین شاخص میکرونوکلئوس در گروه‌های مورد آزمایش به ازای ۱۰۰۰ سلول لنفوسیت دوهسته‌ای

گروه	شرایط پرتودهی		
	فرکانس (مگاهرتز)	توان (وات)	زمان (هفته)
۱	۹۵۰	۵	۱
۲	۹۵۰	۵	۲
۳	۹۵۰	۵	۴
۴	۹۵۰	۵	۲
۵	۸۹۰	۵	۲
۶	۹۵۰	۳	۲
۷	۸۹۰	۳	۲
۸	گروه شاهد		

میانگین NDI در گروه‌های مورد مطالعه به ترتیب ۱/۱۰، ۱/۱۲، ۱/۱۸، ۱/۱۲، ۱/۱۶، ۱/۱۲، ۱/۱۴ و ۱/۳ و اختلاف بین گروه‌های مواجهه نسبت به گروه شاهد از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (جدول شماره ۲).

جدول ۲- مقادیر میانگین NDI در گروه‌های مواجهه و شاهد

گروه	شرایط پرتودهی		
	فرکانس (مگاهرتز)	توان (وات)	زمان (هفته)
۱	۹۵۰	۵	۱
۲	۹۵۰	۵	۲
۳	۹۵۰	۵	۴
۴	۹۵۰	۵	۲
۵	۸۹۰	۵	۲
۶	۹۵۰	۳	۲
۷	۸۹۰	۳	۲
۸	گروه شاهد		

* بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که افزایش زمان پرتوگیری با میکروویو سبب افزایش میانگین میکرونوکلئوس در گروه‌های مواجهه نسبت به گروه شاهد می‌شود، اما این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود. نتایج این مطالعه با

نتایج مطالعه زئوتی مارتلیا و همکاران مطابقت دارد. در مطالعه مذکور لنفوسیت‌های خون انسان به مدت ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه به صورت آزمایشگاهی در معرض میکروویو با فرکانس ۲/۴۵ گیگاهرتز و ۷/۷ گیگاهرتز و توان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع قرار داده شدند و میانگین میکرونوکلئوس با افزایش زمان مواجهه با پرتو افزایش یافت و این تغییرات در زمان‌های ۳۰ دقیقه و ۶۰ دقیقه از نظر آماری معنی‌دار بود.^(۲) البته روند افزایش میکرونوکلئوس از زمان ۱۵ تا ۶۰ دقیقه در مطالعه حاضر از نظر آماری معنی‌دار نبود که به نظر می‌رسد علت آن توان کم به کار گرفته شده باشد. همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شد که میکروویو با فرکانس ۳۸۰، ۹۰۰ و ۱۸۰۰ مگاهرتز با مدولاسیون ۰/۷۳ و ۳/۱ مگاهرتز می‌تواند در شاخص تعویض کروماتین خواهری (SCE) لنفوسیت‌های خون انسان تغییرات معنی‌داری ایجاد کند.^(۱۱) محققان دیگر نیز گزارش کردند که میکروویو با فرکانس ۹۳۵/۵ مگاهرتز و دانسیته توان ۴/۵ وات نمی‌تواند تغییرات معنی‌داری در SCE لنفوسیت‌های خون انسان که به صورت آزمایشگاهی در معرض امواج الکترومغناطیس قرار گرفته‌اند به وجود آورد.^(۱۲) این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر هماهنگی دارد.

نتایج آزمایش‌های NDI در مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه با میکروویو با فرکانس ۹۵۰ مگاهرتز و توان ۵ وات به مدت یک هفته سبب کاهش شاخص تقسیم هسته‌ای می‌شود. افزایش زمان مواجهه به دو و چهار هفته باعث کاهش معنی‌دار NDI در گروه نسبت به گروه شاهد شد. اما این شاخص در بین گروه‌های در معرض امواج با افزایش زمان تابش افزایش یافت. بنابراین میانگین NDI با افزایش زمان تابش میکروویو افزایش می‌یابد و افزایش توان نیز سبب افزایش شاخص تقسیم هسته‌ای می‌شود. اما به طور کلی تابش این امواج شاخص تقسیم سلولی را کاهش می‌دهد.

داشته و از ترمیم مولکول‌ها جلوگیری نمایند. این فرآیند سبب بروز آسیب در سلول‌های مورد مواجهه با میکروویو به صورت غیرمستقیم می‌شود.^(۱۵) شرایط متفاوت تابش نیز می‌تواند سبب افزایش درجه حرارت در بدن موجودات زنده و بروز اثرات ژنوتوکسیک شود. تغییرات حرارتی به شرایط فیزیولوژیکی، توانایی سیستم تنظیم دمای موجودات و گرمای ویژه هر بافت بستگی دارد که این متغیرها در حیوان‌های مختلف متفاوت است.^(۵) میکروویو در شرایط به کار گرفته شده در این مطالعه، در میزان میکرونوکلئوس در گروه‌های مختلف نسبت به گروه شاهد افزایش ایجاد نمود اما این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود.

* مراجع:

1. Garaj-Vrhovac V. Micronucleus assay and lymphocyte mitotic activity in risk assessment of occupational exposure to microwave radiation. *Chemosphere* 1999 Dec; 39(13): 2301-12
2. Zotti-Martelli L, Peccatori M, Scarpato R, Migliore L. Induction of micronuclei in human lymphocytes exposed in vitro to microwave radiation. *Mutat Res* 2000 Dec 20; 472(1-2): 51-8
3. Moriyama E, Salzman M, Broadwell RD. Blood-brain barrier alternation after microwave-induced hyper thermal is purely a thermal effect: I. Temperature and power measurements. *Surg Neurol* 1991 Mar; 35(3): 177-82
4. Garaj VV, Vojrodić S, Fucic A, Kubelka D. Effect of 415 MHz frequency on human lymphocyte genome. *Proceedings IRPA g congress, 15-19th May 2006; Vienna, Austria*: 3: 604-6
5. Michaelson SM. Biological effects of radiofrequency radiation: concepts and criteria. *Health Phys* 1991 Jul; 6 (1): 3-14

نتایج آزمایش NDI در گروه‌های مواجهه با مایکروویو با توان ۳ و ۵ وات در فرکانس‌های ۹۵۰ و ۸۹۰ مگاهرتز نشان داد که NDI نسبت به گروه شاهد کاهش می‌یابد، اما افزایش فرکانس در بین گروه‌های مواجهه سبب کاهش معنی‌دار در NDI نمی‌شود. همچنین در گروه‌های مواجهه با فرکانس‌های ثابت (۹۵۰ و ۸۹۰ مگاهرتز) و توان متغیر (۳ و ۵ وات)، افزایش توان سبب کاهش معنی‌دار در NDI نخواهد شد. نتایج نشان داد که مایکروویو با فرکانس ۹۵۰ مگاهرتز، توان ۵ وات، مدولاسیون ۲۰۰ کیلوهرتز و زمان تابش ۲ هفته می‌تواند سبب کاهش معنی‌دار در NDI شود. اما در مقایسه با گروهی که در معرض امواج با همین شرایط و بدون مدولاسیون قرار داشتند، تغییرات در شاخص مزبور معنی‌دار نبود. کیوی و همکاران نشان دادند که میکروویو با فرکانس ۹۶۰ مگاهرتز و با جذب ویژه ۰/۲۱ و ۰/۲۱ میلی‌وات بر کیلوگرم سبب کاهش تکثیر سلول‌ها می‌شود و این کاهش وابسته به زمان تابش است.^(۱۴،۱۳) همچنین مطالعه دیگری نشان داد که میکروویو با فرکانس ۲/۵۴ و ۷/۷ گیگاهرتز و توان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌وات بر متر مربع در گردش رشد سلولی تأثیری ندارند.^(۲) مطالعه‌ای دیگر نشان داد که در جذب ویژه پایین، افزایش سریع رشد سلول‌ها را خواهیم داشت، ولی با ادامه زمان پرتودهی رشد سلول‌ها کاهش می‌یابد.^(۱۳) بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میکروویو می‌تواند بر روند رشد سلول‌ها مؤثر باشد و فرکانس، توان، جذب ویژه و زمان مواجهه باید مورد توجه قرار گیرند.

فوتون‌های میکروویو به علت انرژی کم قادر به ایجاد شکست در مولکول‌ها نیستند. بنابراین برای توضیح ایجاد آسیب‌های سلولی توسط این امواج باید به اثرات پرتوهای یون‌ساز زمینه در موجودات زنده اشاره نمود. آسیب‌های به وجود آمده توسط پرتوهای یون‌ساز از طریق فرآیند ترمیم در مولکول‌ها جبران می‌شود. به نظر می‌رسد میکروویوها می‌توانند بر پدیده ترمیم اثر سوء

6. Frochlich H. The biological effects microwave and related questions. *Ad Electronics Electron Phys* 1980; 53: 85-9
7. Mase A, Collier M, Slaets D, Verschaeve L. Cytogenetic effect of Microwave from mobile communication frequency (954 MHz). *Electro-Magnetobiol.* 1995; 15: 91-8
8. Kerbacher JJ, Meltz ML, Erwin DN. Influence of radiofrequency radiation on chromosome aberrations in CHO cells and its interaction with DNA-damaging agents. *Radiat Res.* 1990 Sep; 123(3): 311-9
9. Fenech M. The cytokinesis-block micronucleus technique: to detailed description of method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutat Res* 1993 Jan; 285(1): 35-44
10. EHP-24 WGCL Wedge Absorber. Available at: <http://www.emctest.com>
11. Antono Poulos A, Eisenbrandt H, Obe G. Effects of high frequency electromagnetic field on human lymphocytes in vitro. *Mutat Res* 1997 Dec 12; 395(2-3): 209-14
12. Mase A, Collier M, Van Grop U, et al. Cytogenetic effects of 935.2 MHz (GSM) Microwave alone and in combination with mitomycin C. *Mutat Res* 1997 Sep 18; 393(1-2): 151-6
13. Kwee S, Raskmark P. Changes in cell proliferation due to environmental non-ionizing radiation, microwave radiation. *Bioelectrochem Bioenerg* 1998; 44: 251-5
14. Kwee S, Rasmak P. Changes in cell proliferation due to environmental non-ionizing radiation: I. EIE Electromagnetic field. *Bioelectrochem Bioenerg* 1995; 36: 109-14
15. Brocklehurst B, Mclauchlan KA. Free radical mechanism for the effects of Environmental electromagnetic fields on biological systems. *Int J Radiat Biol* 1996 Jan; 69(1): 3-24
16. Chou CK, Bassen H, Osepchuk J, et al. Radio frequency electromagnetic exposure: tutorial review on experimental dosimetry. *Bioelectromagnetics* 1996; 17(3): 195-208
17. Mann K, Roschke J. Effects of pulsed high frequency electromagnetic fields on human sleep. *Neuropsychobiology* 1996; 33(1): 41-7