

Investigating the effects of low-frequency electromagnetic field on HT-29 cancer cell line

Sadooghi SD*

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.

Received February 19, 2012; Accepted September 9, 2013

Abstract:

Background: Colon cancer is the most common digestive cancer and also the fourth cause of cancer death around the world. On the other hand, many processes can be affected by electromagnetic fields and such fields may have different effects on cells. The aim of this study was to investigate the effect of low-frequency electromagnetic field on HT-29 cancer cell line.

Materials and Methods: HT-29 and L929 cell lines were cultured in RPMI medium containing fetal bovine serum and antibiotics. Cells were exposed to 50 Hz electromagnetic field with intensities of 50, 200 and 400 gauss for 3 hours. Growth, proliferation and morphological changes were photographed using an inverted microscope. MTT assay was used to quantify cell viability.

Results: Viability percent of HT-29 (81.097 ± 2.703) and L929 (89.375 ± 3.672) cell lines in the vicinity of electromagnetic field with intensity of 50 gauss was not significantly decreased compared to the control group. Viability percent of HT-29 (30.807 ± 4.479) and L929 (35.179 ± 4.137) cell lines in the vicinity of electromagnetic field with intensity of 200 gauss was significantly decreased compared to the control group. Moreover, viability percent of HT-29 (18.391 ± 3.091) and L929 (23.046 ± 3.513) cell lines in the vicinity of electromagnetic field with intensity of 400 gauss was significantly decreased compared to the control group.

Conclusion: Electromagnetic field with frequency of 50 Hz and intensities of 200 and 400 gauss has an inhibitory effect on the growth and proliferation as well as a cytotoxic effect on HT-29 and L929 cell lines.

Keywords: HT-29, Cancer, Electromagnetic field, MTT assay

* Corresponding Author.

Email: Damoon.Sadughi@gmail.com

Tel: 0098 915 302 6313

Fax: 0098 511 501 3950

Conflict of Interests: **No**

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences November, 2013; Vol. 17, No 5, Pages 413-421

Please cite this article as: Sadooghi SD. Investigating the effects of low-frequency electromagnetic field on HT-29 cancer cell line. *Feyz* 2013; 17(5): 413-21.

بررسی اثرات میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رده سلول‌های سرطانی کولون (HT_29)

*۱

سید دامون صدوقی

خلاصه:

سابقه و هدف: سرطان کولون شایع‌ترین سرطان دستگاه گوارش و همچنین چهارمین دلیل مرگ بر اثر سرطان در جهان می‌باشد. از سوی دیگر بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو می‌تواند تحت تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی قرار بگیرد و میدان الکترومغناطیسی ممکن است اثرات متفاوتی بر سلول‌ها داشته باشد. هدف اصلی این پژوهش بررسی اثرات میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رده سلول‌های سرطان کولون (HT-29) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 در محیط RPMI حاوی سرم جنین گاوی (FBS) و آنتی-بیوتیک کشت گردیدند. سلول‌ها به مدت ۳ ساعت در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس قرار گرفتند. میزان رشد و تکثیر و همچنین تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده با میکروسکوپ معکوس، عکس برداری شد. و میزان زنده بودن سلول‌ها به روش آزمون MTT تعیین شد.

نتایج: درصد زنده ماندن سلول‌های HT-29 ($81/09 \pm 2/703$) و L929 ($89/37 \pm 3/772$) پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاوس نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. درصد زنده ماندن سلول‌های HT-29 ($30/807 \pm 4/479$) و L929 ($35/179 \pm 4/137$) پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. درصد زنده ماندن سلول‌های HT-29 ($18/391 \pm 3/091$) و L929 ($23/046 \pm 3/513$) پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۴۰۰ گاوس نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس اثر مهاری بر رشد و تکثیر رده سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 داشته و همچنین دارای اثر کشندگی بر سلول‌های مذکور می‌باشد.

واژگان کلیدی: HT-29، سرطان، میدان الکترومغناطیس، تست MTT

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۲، صفحات ۴۲۱-۴۱۳

مقدمه

تومور مجموعه‌ای از سلول‌هاست که به دلیل رشد و تقسیم خارج از کنترل سلول‌ها ایجاد می‌شود. سلول‌های سرطانی از جهات مختلفی از جمله تنظیم رشد، شکل ظاهری، ویژگی‌های غشایی، پروتئین‌ها و بیان ژن‌ها با سلول‌های طبیعی تفاوت دارند [۱]. سرطان کولون نوعی بدخیمی است که از نظر تعداد بیماران مبتلا، سومین و از نظر تعداد مرگ و میر، چهارمین رتبه را در جهان دارد. این سرطان اغلب به شکل پولیپ در سطح جداره داخلی روده ایجاد می‌شود که منشا آن پوشش داخلی روده بزرگ است. این توده‌ها معمولاً غیر سرطانی هستند، ولی اگر درمان نشوند، ممکن است به سرطان کولون تبدیل شوند [۲].

^۱ کارشناسی ارشد بیولوژی سلولی - تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه زیست‌شناسی، مشهد، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

مشهد، خیابان راهنمایی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۰۹۱۵۳۰۲۶۳۱۳ | دهنده: ۰۵۱۱۵۰۱۳۹۵۰

پست الکترونیک: damoon.sadughi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۶/۱۸

دو نوع از شاخص‌ترین این پولیپ‌ها، آدنوما و هایپرپلاستیک هستند. پولیپ‌های هایپرپلاستیک از شایع‌ترین پولیپ‌ها می‌باشند که معمولاً ۵ میلی‌متر قطر دارند ولی اگر قطر آنها به بیش از ۱ سانتی‌متر برسد، باید از لحاظ سرطانی بودن بررسی شده و برداشته شوند. پولیپ‌های آدنومایی به سه گروه لوله‌ای، پرزی و لوله‌ای - پرزی تقسیم می‌شوند. پولیپ‌های آدنومایی دارای استعداد بیشتری در سرطانی شدن هستند. هرچه قطر آدنوم‌ها افزایش یافته و پرزی-تر باشند، احتمال سرطانی شدن در آن‌ها بیشتر می‌شود. طبق آمارها و تجربه‌های به‌دست آمده، سرطان کولون یکی از بهترین نوع سرطان در انسان بوده که با اقدامات پیشگیری و غربال‌گری در مورد آن توانسته‌اند تا ۹۰ درصد از بروز آن جلوگیری نمایند [۵-۳]. تلاش‌های متعددی جهت درمان مؤثر این نوع سرطان انجام شده است و روش‌های درمانی آن شامل جراحی، شیمی درمانی، پرتودرمانی، هورمون درمانی و ایمنی درمانی می‌باشد که در بیشتر موارد جراحی مؤثرترین روش درمانی است، ولی این نوع بدخیمی معمولاً متاستاتیک می‌شود که بیان‌گر اهمیت سایر روش‌های درمانی است [۶]. در دهه‌های اخیر استفاده از جریان الکتریسیته در

۱۰ درصد سرم جنین گاوی FBS در فلاسک‌های ۵۰ cc کشت سلولی با درب فیلتردار استریل (ساخت شرکت JET BIOFIL کانادا) که حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط بودند، کشت داده شدند و در هر فلاسک 5×10^5 سلول ریخته شد. سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۰ درصد و دی اکسید کربن ۵ درصد قرار داده شدند [۲۱]. برای تأمین میدان الکترومغناطیس از یک سیستم ویژه که دارای شرایط مناسب انکوباسیون (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۰ درصد) می‌باشد، استفاده شد (طراحی و ساخت با کمک و همکاری گروه زیست‌شناسی و گروه فیزیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد). این سیستم از یک سیم‌پیچ مسی که توسط جریان برق متناوب شهری تغذیه می‌شود، تشکیل شده است. در مسیر جریان برق شهری با فرکانس ۵۰ هرتز و ولتاژ ۲۲۰ ولت، سه رئوستا قرار دارد که شدت جریان برق ورودی به سیم‌پیچ توسط آن‌ها تنظیم می‌گردد. این سیم‌پیچ قادر به تأمین شدت میدان الکترومغناطیس بین ۱۰ تا ۴۰۰ گاوس می‌باشد. (تصویر شماره ۱). ۲۴ ساعت بعد از زمان کشت، سلول‌ها به مدت ۳ ساعت در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس قرار گرفتند و تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده توسط میکروسکوپ معکوس، عکس برداری شد. سلول‌ها در حالت طبیعی دارای مورفولوژی ستاره‌ای شکل می‌باشند. تحلیل رفتگی (کوچک شدگی) و افزایش اندازه واکوئل، کاهش سیتوپلاسم و پیگمانته شدن هسته، نشانه‌ای از تغییرات مورفولوژیک و در نتیجه نشانه‌ای از مرگ سلول‌ها می‌باشد. این دو تغییر یعنی تحلیل رفتگی و پیگمانته شدن هسته از نشانه‌های مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) می‌باشد [۲۲].



تصویر شماره ۱- سیستم مولد میدان الکترومغناطیس و انکوباسیون (A) سیم پیچ مولد میدان الکترومغناطیس، (B) سیستم انکوباسیون، (C) رئوستا، (D) ولت سنچ، (E) خازن

بررسی میزان زنده بودن سلولی با روش MTT به منظور بررسی اثرات میدان الکترومغناطیس بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی و طبیعی از روش MTT استفاده شد. این

جهان گسترش چشم‌گیری یافته و به عنوان یکی از شاخص‌های جوامع پیشرفته درآمده است. به همین خاطر محققین توجه خود را بر اثرات میدان‌های الکترومغناطیس بر سلول‌ها، متمرکز نموده‌اند. برخی مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباط بین قرارگیری در معرض میدان الکترومغناطیس و وقوع چندین نوع سرطان را نشان داده‌اند [۸،۷]. میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس پایین می‌توانند منجر به بالا رفتن دمای بافت‌ها و سلول‌ها گردند. این افزایش دما نسبت به دمای طبیعی بدن می‌تواند منجر به مرگ سلولی شود [۹]. همین‌طور گزارش شده است که مواجهه کوتاه مدت موش صحرایی باردار با میدان الکترومغناطیس باعث ایجاد اثرات تراتوژنیک در جنین در حال تکامل شده است [۱۰]. برخی از محققین معتقدند که تشعشعات الکترومغناطیسی با فرکانس کم همانند امواج یونیزان عمل کرده و با القا جهش، سبب تخریب DNA می‌شوند [۱۱]. به طور کلی میدان‌های الکترومغناطیسی موجود در محیط با طولانی کردن پایداری رادیکال‌های آزاد احتمال آسیب DNA را افزایش می‌دهند و یا با اثر بر واکنش‌های شیمیایی و مولکول‌های باردار مجاور غشا، عملکرد سلول‌ها را تغییر می‌دهند [۱۲]. میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس پایین، می‌توانند بر روی رشد سلولی [۱۳]، مورفولوژی و شکل سلولی [۱۴]، سرطان‌زا بودن [۱۵]، تمایز سلولی [۱۶] و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی [۱۷]، مؤثر باشند. بر اساس مطالعات انجام شده، قرارگیری در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین منجر به افزایش استرس اکسیداتیو در جنین‌های جوجه [۱۸]، سلول‌های کشت شده پستانداران [۱۹] و اریتروسیت‌های انسانی [۲۰] می‌شود. تاکنون در مورد اثرات میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رشد رده سلول‌های سرطانی HT-29 گزارشی منتشر نشده است. بنابراین، در این مطالعه تغییرات مورفولوژیک و درصد زنده ماندن رده سلول‌های سرطانی HT-29 در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس بررسی شده و با تغییرات مورفولوژیک و درصد زنده ماندن رده سلول‌های طبیعی L929 (سلول فیبروبلاست موش) مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

بررسی مورفولوژی

برای بررسی مورفولوژی رده سلول‌های سرطانی HT-29 (Human Caucasian Colon Adenocarcinoma) و سلول‌های طبیعی L929 در محیط کشت RPMI (Roswell Park Memorial Institute) حاوی L-گلوتامین، پنی‌سیلین (۱۰۰ یونیت بر میلی‌لیتر)، استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و

(ویرایش ۲۰) به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و در صورت وجود اختلاف معنی دار میان گروه‌ها و به منظور تفکیک گروه‌هایی که با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند، از آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی داری $P < 0.05$ استفاده شد.

نتایج بررسی مورفولوژی

بر اساس مشاهدات مورفولوژیک رده سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 با میکروسکوپ معکوس، مشخص شد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس تغییر محسوسی در شکل و حالت سلول‌ها ایجاد نکرده است. اما در شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس سلول‌ها از بستر خود جدا شده و از حالت دوکی به صورت گرد درآمده بودند و گرانولاسیون سلولی در سلول‌ها مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

نتایج آزمون MTT

جذب نوری به دست آمده از خانه‌های حاوی سلول‌هایی که در مجاورت میدان الکترومغناطیس بودند، با جذب نوری خانه‌های شاهد مقایسه شده و درصد سلول‌های زنده با فرمول زیر محاسبه گردید.

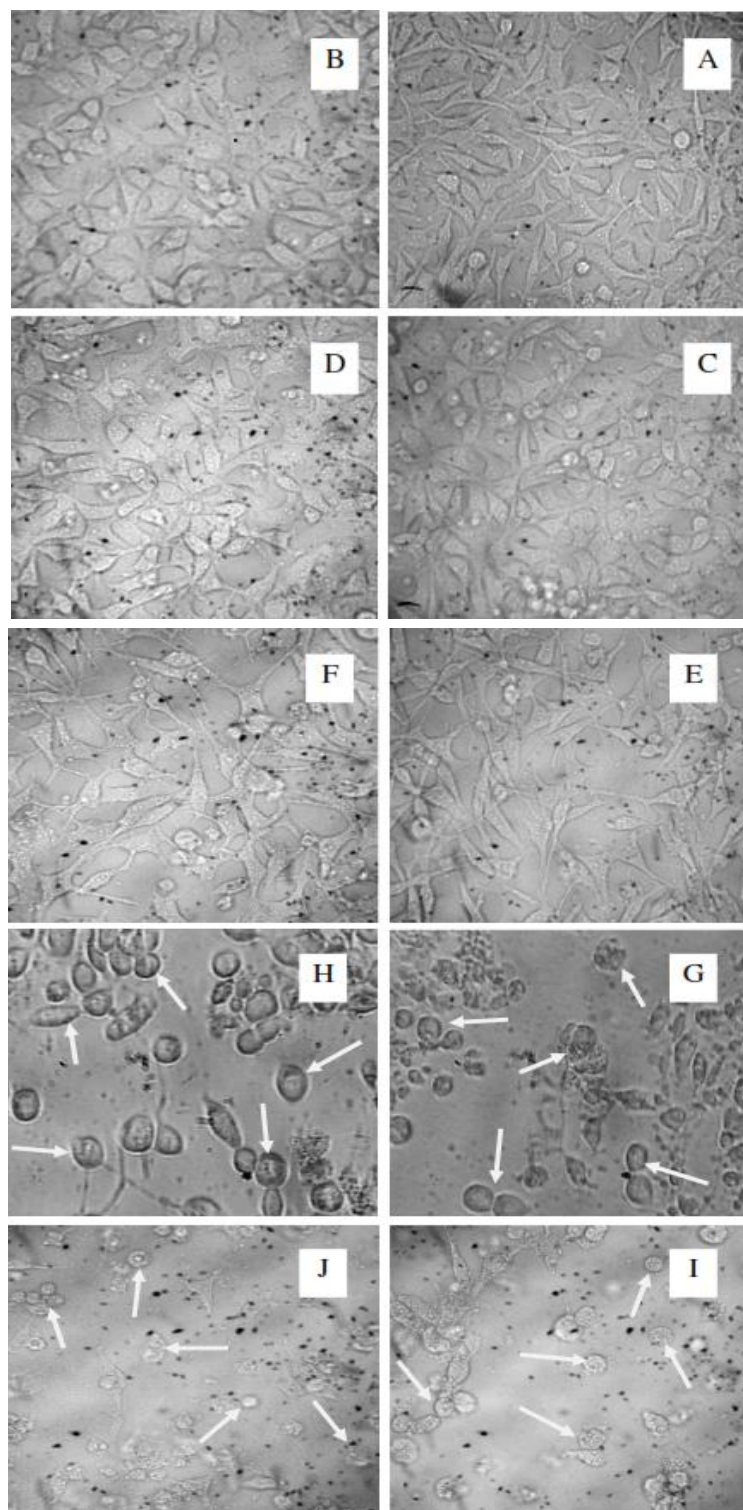
$$100 \times \frac{\text{میانگین جذب نوری سلول‌های در مجاورت میدان الکترومغناطیس}}{\text{میانگین جذب نوری سلول‌های شاهد}} = \text{درصد سلول‌های زنده}$$

مقایسه درصد زنده ماندن رده سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس نسبت به گروه شاهد معنی دار نبود ($P > 0.05$). مقایسه درصد زنده ماندن رده سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 پس از قرارگیری در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس به حالت خاموش (سیم پیچ خاموش ولی سیستم محفظه انکوباسیون روشن) نسبت به گروه شاهد نیز معنی دار نبود ($P > 0.05$). همچنین، درصد زنده ماندن رده سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$) (جدول شماره ۱، ۲).

روش یک تست متابولیک رقابتی میتوکندریایی است و بر اساس شکستن نمک تترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده استوار است. از هر رده سلولی (HT-29 و L929)، پس از انجام پاساژ، یک سوسپانسیون سلولی در محیط کشت تهیه شده و در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت داده شد. سلول‌ها ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند تا به بستر خود بچسبند. در این آزمون برای هر یک از گروه‌های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و هر یک از گروه‌هایی که در معرض میدان الکترومغناطیس بودند ۱ پلیت ۹۶ خانه‌ای در نظر گرفته شد؛ بدین صورت که در هر خانه از پلیت ۹۶ خانه‌ای، حاوی ۵۰۰۰ سلول باشد. ۵ پلیت ۹۶ خانه‌ای با مشخصات زیر به دست آمد که ۴۸ خانه از آن به رده سلول‌های سرطانی HT-29 و ۴۸ خانه دیگر به سلول‌های طبیعی L929 تعلق داشت: (۱) گروه شاهد (نگهداری در شرایط طبیعی انکوباتور)؛ (۲) گروه شاهد آزمایشگاهی (۳ ساعت در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس به حالت خاموش ولی سیستم انکوباسیون روشن)؛ (۳) گروه تجربی ۱ (۳ ساعت در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس)؛ (۴) گروه تجربی ۲ (۳ ساعت در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس)؛ و (۵) گروه تجربی ۳ (۳ ساعت در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۴۰۰ گاوس). بعد از قرار گرفتن سلول‌ها در معرض میدان الکترومغناطیس، محیط کشت پلیت‌ها تخلیه شده و به جای آن ۱۸۰ میکرولیتر محیط کشت تازه همراه با ۲۰ میکرولیتر رنگ MTT (۳، ۴، ۵ دی متیل تیازول ۲ یل ۲،۵ دی فنیل تترازولیوم) اضافه شد و برای مدت ۴ ساعت در انکوباتور گذاشته شدند. پس از آن محیط کشت حاوی رنگ MTT تخلیه شده و ۲۰۰ میکرولیتر DMSO و ۲۵ میکرولیتر بافر گلايسين جایگزین آن شد و جذب نوری هر خانه توسط دستگاه Elisa reader (Stat Fax 303 Plus) در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۴، ۲۳]. مراحل اخیر برای تمامی پلیت‌ها صورت گرفت. تمامی مراحل پژوهش ۲ بار تکرار شد و از اعداد به دست آمده از خانه‌های متعلق به هر رده سلولی میانگین گرفته شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS



تصویر شماره ۲- (A سلول‌های L929 (شاهد)، (B سلول‌های HT-29 (شاهد)، (C سلول‌های L929 (شاهد آزمایشگاهی)، (D سلول‌های HT-29 (شاهد آزمایشگاهی)، (E سلول‌های L929 (در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاوس)، (F سلول‌های HT-29 (در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاوس)، (G سلول‌های L929 (در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس)، (H سلول‌های HT-29 (در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس)، (I سلول‌های L929 (در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۴۰۰ گاوس)، و (J سلول‌های HT-29 (در معرض میدان الکترومغناطیس با شدت ۴۰۰ گاوس، بزرگنمایی $\times 20$). در تصاویر فوق فلش‌ها نشان‌دهنده تغییرات مورفولوژیک می‌باشد که در آن سلول‌ها از حالت طبیعی (دوکی شکل)، به حالت کروی درآمده و کوچک شده‌اند. همچنین، گرانولاسیون سلولی در آن‌ها مشاهده گردید که تمامی این شرایط نشانه‌ای از مرگ سلول‌هاست.

جدول شماره ۱- نتایج آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey برای درصد زنده ماندن سلول‌های سرطانی HT-29

شاهد	شاهد آزمایشگاهی	گروه تجربی ۱ (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس)	گروه تجربی ۲ (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس)	گروه تجربی ۳ (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۴۰۰ گاوس)
Viability of HT-29	٪۱۰۰	٪۹۸/۱۴۸	٪۸۱/۰۹۷	٪۱۸/۳۹۱
Standard deviation	۱/۹۴۱	۳/۲۲۴	۲/۷۰۳	۳/۰۹۱
ANOVA (P)	-	۰/۵۴۹	۰/۳۵۱	۰/۰۱۲
Tukey (P)	-	۰/۵۰۷	۰/۲۹۱	۰/۰۰۸

* معنی‌داری در سطح ($P < 0.05$)

جدول شماره ۲- نتایج آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey برای درصد زنده ماندن سلول‌های طبیعی L929

شاهد	شاهد آزمایشگاهی	گروه تجربی ۱ (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس)	گروه تجربی ۲ (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس)	گروه تجربی ۳ (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۴۰۰ گاوس)
Viability of L929	٪۱۰۰	٪۹۳/۰۸۵	٪۸۹/۳۷۵	٪۲۳/۰۴۶
Standard deviation	۲/۱۰۵	۲/۲۹۷	۳/۶۷۲	۳/۵۱۳
ANOVA (P)	-	۰/۴۹۹	۰/۲۱۷	۰/۰۰۵
Tukey (P)	-	۰/۴۷۳	۰/۲۳۷	۰/۰۰۲

* معنی‌داری در سطح ($P < 0.05$)

بحث

در این پژوهش رده سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس قرار گرفتند و میزان رشد و تکثیر آنها بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس نتوانست تغییرات مورفولوژی محسوسی در سلول‌های طبیعی و سرطانی ایجاد کند و کاهش درصد زنده ماندن سلول‌های طبیعی L929 و سلول‌های سرطانی HT-29 نسبت به گروه‌های شاهد معنی‌دار نبود ($P > 0.05$)؛ بنابراین می‌توان گفت میزان آسیبی که میدان الکترومغناطیس بر سلول‌های طبیعی و سرطانی دارد، با میزان شدت آن رابطه مستقیم دارد. در این پژوهش سلول‌های طبیعی و سرطانی ۳ ساعت در مجاورت میدان الکترومغناطیس قرار گرفتند و طبق مطالعات صورت گرفته میزان آسیبی که میدان الکترومغناطیس می‌تواند بر سلول‌ها داشته باشد رابطه مستقیمی با زمان و حتی فاصله سلول‌ها از منبع میدان الکترومغناطیس دارد [۲۵]. بنابراین شدت ۵۰ گاوس قدرت کافی برای تخریب سلول‌ها را نداشته است. ممکن است اگر سلول‌ها مدت بیشتری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس قرار گیرند، هم تغییرات مورفولوژی و هم درصد مرگ آنها افزایش یابد. در شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس، هم تغییرات مورفولوژی محسوسی در سلول‌های طبیعی و سرطانی ایجاد شد و هم درصد زنده ماندن سلول‌های

طبیعی L929 و سلول‌های سرطانی HT-29 نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). در شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس چون فاصله سلول‌ها از منبع میدان الکترومغناطیس و زمان قرارگیری آنها در مجاورت میدان الکترومغناطیس تغییری نکرده است، بنابراین افزایش شدت میدان الکترومغناطیس توانسته درصد زنده ماندن سلول‌های طبیعی و سرطانی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد کاهش دهد. مهم‌ترین دلایلی که می‌توان برای اثبات نتایج این پژوهش داشت، این است که با افزایش شدت میدان الکترومغناطیس میزان بیان ژن کاهش می‌یابد و جهت-یابی سلولی و هم‌چنین واکنش سلول - سلول مختل می‌شود و اینها عواملی هستند که احتمالاً منجر به ایجاد اختلال در توازن سیگنال-های موثر در تقسیم و تکثیر سلولی می‌شوند [۲۶]. در سال‌های اخیر طبق مطالعات انجام شده وسایل الکتریکی خانگی و مهم‌تر از آن دکل‌های فشار قوی و امواج تلفن همراه، میدان‌های مغناطیسی بسیار قوی ایجاد می‌کنند که حتی بسیار قوی‌تر و پرنرزی‌تر از شدت‌های استفاده شده در این پژوهش هستند و طبق مطالعات انجام شده یکی از اثرات مخرب امواج الکترومغناطیس بر روی سلول‌ها پیشبرد آنها به سمت آپوپتوز و حتی نکروز است و هرچه شدت این میدان و فاصله از منبع مولد میدان بیشتر باشد اثرات تخریبی بیشتری بر سلول‌ها اعمال می‌کند [۲۷]. Lahijani و همکاران در مطالعه‌ای با بررسی اثرات میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز بر روی جنین جوجه نشان دادند میدان

میدان الکترومغناطیس غلظت رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهند و به‌طور غیرمستقیم سبب آسیب DNA و سلول‌های سرطانی در میدان الکترومغناطیسی ۰/۴ میکرو تسلا می‌گردند [۳۶]. ژن‌های ترمیم‌کننده، به‌طور طبیعی پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی را می‌سازند که خاصیت ترمیم‌کننده ژن‌های آسیب دیده یا جهش یافته را دارند. میدان الکترومغناطیس با آسیب به DNA باعث موتاسیون در ژن‌های ترمیم‌کننده می‌شوند؛ بنابراین نمی‌توانند نواقص و جهش‌های ژن‌های دیگر را بازسازی کنند و اگر این جهش در ژن‌های دخیل تقسیم سلولی ایجاد شود منجر به افزایش تقسیم سلولی و حتی متاستاز می‌شود [۳۷]. یکی از ژن‌های ترمیم‌کننده، ژن BRCA-1 است که بر روی کروموزوم 17q21 قرار دارد. این ژن پروتئینی می‌سازد که می‌تواند ژن‌های ژن‌های جهش یافته را ترمیم کند و پروتئین مذکور می‌تواند شکستگی‌های دو رشته DNA را تعمیر نماید. سرطان پستان ایجاد شده در موش‌های صحرایی ماده توسط میدان الکترومغناطیس با شدت‌های بالا را به موتاسیون ایجاد شده در ژن ترمیم‌کننده BRCA-1 نسبت داده‌اند [۳۸]. از مقایسه نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با گزارشات و مطالب ذکر شده به این نتیجه می‌رسیم که میدان الکترومغناطیس به‌صورت‌های مختلفی می‌تواند باعث مهار رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی شود. می‌تواند با تخریب اکسیداتیو DNA سلول‌های سرطانی، باعث مهار تکثیر سلولی شود. همچنین، می‌تواند با مهار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی و کاهش تحمل سلول‌ها نسبت به فرایندهای اکسیداتیو اثر خود را به عنوان یک عامل تخریبی اعمال کند. میدان الکترو-مغناطیس می‌تواند بر ساختار آنزیم‌های غشا سلول‌های سرطانی و حتی سلول‌های طبیعی تاثیر مهاری القا کند. شاید یکی از علت‌های مهار تکثیر سلولی توسط میدان الکترومغناطیس افزایش غلظت رادیکال‌های آزاد ایجاد شده توسط خود میدان الکترومغناطیس باشد. طبق مطالعات انجام شده، نانو ذرات مغناطیسی درون سلولی غلظت رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهند و همچنین میدان الکترومغناطیس می‌تواند باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و طبیعی شود. با توجه به نتایج این پژوهش میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس منجر به مرگ سلول‌های طبیعی و سرطانی می‌شود. بنابراین، نمی‌توان از آن جهت درمان سرطان و کشتن سلول‌های سرطانی استفاده کرد، زیرا همراه با سلول‌های سرطانی سلول‌های طبیعی هم تخریب می‌شوند. یافتن روش‌هایی که با حداقل آسیب به سلول‌های طبیعی، سلول‌های سرطانی را تخریب کند، می‌تواند در مهار انواع سلول‌های سرطانی موثر باشد. شاید بتوان با استفاده از ذرات کوچک مغناطیسی (ذرات اکسید آهن) سلول‌های سرطانی را نشان‌دار کرد؛

الکترومغناطیس می‌تواند منجر به تولید کیست‌های کبدی با باندهای فیبروتیک، هیپاتیت انسدادی شدید و ادم شود. در این مطالعه افزایش تخریب غشای سلولی از آسیب‌های ناشی از میدان الکترومغناطیس عنوان شد [۲۸]. نشان شده است که فیبروبلاست‌های انسانی در معرض تشعشعات الکترومغناطیس با فرکانس کم دچار تخریب اکسیداتیو DNA می‌شوند [۲۹]. Grassi و همکاران احتمال تاثیر تشعشعات الکترومغناطیس با فرکانس کم بر روی سلول‌های سرطانی را به‌جای تخریب DNA، تاثیر بر ساختار آنزیم‌های غشا سلولی و نفوذپذیری مولکول‌های کوچک معرفی می‌کنند [۳۰]، در حالی‌که بیان شده است که سلول‌های سرطانی در معرض امواج الکترومغناطیس با فرکانس کم با آزادسازی سیتوکاین و رادیکال‌های آزاد گونه اکسیژن فعال و گونه نیتروژن فعال، سبب ناپایداری مولکول‌های زیستی شده و این مواد بر مسیرهای انتقال پیام درون سلولی و تنظیم بیان ژن‌های مخصوص پاسخ التهابی، رشد سلول، تمایز، تکثیر و پاسخ استرس سلولی تاثیر می‌گذارند [۳۱]. Henry و Narendra اثرات میدان الکترو-مغناطیس با شدت ۰/۰۱ میلی‌تسلا و با فرکانس ۵۰ هرتز به‌مدت ۲۴ ساعت را برای ارزیابی میزان شکست مولکولی DNA در سلول‌های مغزی موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که میدان الکترومغناطیس می‌تواند منجر به افزایش آپوپتوز و نکروز در سلول‌های مغزی شود. این افزایش در مرگ و میر سلولی می‌تواند به‌دلیل ایجاد رادیکال‌های آزاد توسط میدان الکترومغناطیس باشد که باعث شکست DNA و مرگ سلول‌های عصبی می‌شود [۳۲]. McCormick و همکاران متوجه شدند که زمان تقسیم سلول‌ها در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین، بیشتر از زمان معمول است و سلول‌های تقسیم‌شونده قبل از اینکه فرآیند کامل شود، تخریب می‌شوند. آنها پیشنهاد دادند که تقسیم سلولی به این دلیل کند می‌شود که میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم مانع از شکل‌گیری و عملکرد دوک‌های میتوزی می‌گردد [۳۳]. گزارش شده است که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس دارای اثر مهاری بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک جوجه است و تعداد و طول انشعابات عروقی را کاهش می‌دهد [۳۴]. Balanejad و همکاران افزایش اثر مهاری را پامایسین توام با میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۴۰۰ گاوس بر آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوئیک جنین جوجه را گزارش کردند. به عقیده آنها میدان الکترومغناطیس سینوسی با فرکانس کم می‌تواند سبب کاهش تقسیم سلول‌های آندوتلیال عروق خونی شود و همچنین رشد و نمو اولیه جنین جوجه را مهار کند [۳۵]. به‌علاوه، بیان شده است که نانو ذرات

سرطانی HT-29 و سلول‌های طبیعی L929 دارد. به نظر می‌رسد قرارگیری مستقیم سلول‌های سرطانی و طبیعی در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت‌های فوق می‌تواند منجر به مهار رشد و تکثیر و حتی منجر به مرگ آنها شود. نتایج گویای این مطلب است که میدان الکترومغناطیس می‌تواند سلول‌های سرطانی را مهار کند، بنابراین یافتن راهی که بتوان به وسیله آن بدون آسیب رساندن به سلول‌های طبیعی، سلول‌های سرطانی را مهار کرد، می‌تواند روشی موثر در مهار انواع سلول‌های سرطانی از جمله سرطان کولون باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی اساتید محترمی که در انجام این پژوهش مرا یاری نموده‌اند، به ویژه سرکار خانم دکتر نژاد شاهرخ آبادی و سرکار خانم دکتر ظفربالانژاد تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

- [1] Yu Z, Li W, Liu F. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis by genistein in colon cancer HT-29 cells. *Cancer Lett* 2004; 215(2): 159-66.
- [2] Gertler R, Rosenberg R, Schuster T, Friess H. Defining a high-risk subgroup with colon cancer stages I and II for possible adjuvant therapy. *Eur J Cancer* 2009; 45(17): 2992-9.
- [3] Oliveira IB, Santarino TA, Enache C, Nunes J, Laranjinha RM, et al. Human Colon Adenocarcinoma HT-29 cell: Electrochemistry and Nicotine Stimulation. *Bioelectrochemistry* 2013; 89(25): 139-48.
- [4] Goel A, Boland CR, Chauhan DP. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by dietary curcumin in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Lett* 2001; 172(2): 111-8.
- [5] Byron K, Brita B, Philip M, David P, Kaedi R, et al. Garvin Induction of apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cells by 13-cis-retinoic acid and vitamin E succinate. *Nutrition Res* 2006; 26(4): 186-92.
- [6] Ren MR, Hur JS, Kim JY, Park KW, Park SC, Seong CN, et al. Anti-proliferative effects of Lethariella zahlbruckneri extracts in human HT-29 human colon cancer cells. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(9): 2157-62.
- [7] Blackman CF. Can EMF exposure during development leave an imprint later in life? *Electromagn Biol Med* 2006; 25(4): 217-25.
- [8] Belpomme D, Irigaray P, Hardell L. Electromagnetic fields as cancer-causing agents. *Environmental Research* 2008; 107(2): 289-90.
- [9] Juutilainen J. Developmental effects of electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2005; 7(12): 107-15.

به صورتی که تمام بافت و سلول‌های سرطانی را احاطه کنند و با ایجاد میدان مغناطیسی با فرکانس کم و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس در اطراف آنها منجر به افزایش دما در سلول‌ها و در نهایت منجر به مرگ سلول‌های سرطانی شد. و از آنجایی که فقط سلول‌های سرطانی نشان‌دار می‌شوند به سلول‌های طبیعی اطراف آسیب کمتری می‌رسد. با این روش می‌توان درجه حرارت سلول‌های نشان‌دار را چندین درجه بالاتر از دمای طبیعی بدن برد و در نتیجه سلول‌های نشان‌دار (سرطانی) تخریب می‌شوند.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس اثر مهاری بر رشد و تکثیر و همچنین دارای اثر کشندگی بر رده سلول‌های

- [10] Ming-Juan Y, Jun-Ye L, Ya-Feng W, Hai-yang L, Xia M, Li-Yan Z, et al. Effects of electromagnetic pulse on polydactyly of mouse fetuses. *Theriogenology* 2013; 80(1): 18-23.
- [11] Reese JA, Jostes RF, Frazier ME. Exposure of mammalian cells to 60-Hz magnetic or electric fields: Analysis for DNA single-strand breaks. *Bioelectromagnetics* 1988; 9(2): 237-47.
- [12] Barnes FS. Some engineering models for interactions of electric and magnetic fields with biological systems. *Bioelectromagnetics* 1992; Suppl 1: 67-85.
- [13] Manni V, Lisi A, Rieti S, Serafino A, Ledda M, Giuliani L, et al. Low Electromagnetic Field (50Hz) Induces Differentiation on Primary Human Oral Keratinocytes (HOK). *Bioelectromagnetics* 2004; 25(2): 118-26.
- [14] Rajaei F, Borhani N, Sabbagh-Ziarani F, Mashayekhi F. The Effects of ELF-EMF on Fertility and Height of Epithelium in Mice Endometrium and Fallopian Tube in Pre-implantation Stage. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao* 2010; 8(1): 56-60.
- [15] Sul AR, Park SN, Suh H. Effects of Electromagnetic Fields on Structure and Function of Rat Glioma Cell Line. *Res J Microbiol* 2006; 1(2): 124-35.
- [16] Ruiz-Gómez MJ, Martínez-Morillo M. Electromagnetic Fields and the Induction of DNA Strand Breaks. *Electromagn Biol Med* 2009; 28(2): 201-14.
- [17] Borhani N, Rajaei F, Salehi Z, Javadi A. Analysis of DNA Fragmentation in Mouse Embryos Exposed to an Extremely Low Frequency Electromagnetic Field. *Electromagn Biol Med* 2011; 30(4): 246-52.

- [18] Lahijani MS, Tehrani DM, Sabouri E. Histopathological and Ultrastructural Studies on the Effects of Electromagnetic Fields on the Liver of Preincubated white Leghorn Chicken Embryo. *Electromagn Biol Med* 2009; 28(4): 391-413.
- [19] Hook GJ, Spitz DR, Sim JE, Higashikubo R, Baty JD, Moros EG, et al. Evaluation of Parameters of Oxidative Stress after in Vitro Exposure to FMCW and CDMA Modulated Radio Frequency Radiation Fields. *Radiat Res* 2004; 162(5): 497-504.
- [20] Dachà M, Accorsi A, Pierotti C, Vetrano F, Mantovani R, Guidi G, et al. Studies on the Possible Biological Effects of 50 Hz Electric and/or Magnetic Fields: Evaluation of some Glycolytic Enzymes, Glycolytic Flux, Energy and Oxidative Potentials in Human Erythrocytes Exposed in Vitro to Power Frequency Fields. *Bioelectromagnetics* 1993; 14(4): 383-91.
- [21] Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a micro culture tetrazolium assay. *Cancer Res* 1988; 48(3): 589-601.
- [22] Nezhad Shahrokhbabadi KH, Tavakol Afshari J, Rakhshandeh H, Borouk A. Study of cytotoxicity effect of total saffron extract on hepatocarcinoma cell line (HepG₂). *Med Sci J Islamic Azad Univ* 2009; 19(3): 154-9. [in Persian]
- [23] Mossmann T. Rapid colorimetric assay of cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Immun Method* 1983; 65(1-2): 55-63.
- [24] Stockert JC, Blázquez-Castro A, Cañete M, Horobin RW, Villanueva A. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochemica* 2012; 114(8): 785-96.
- [25] Erdal N, Gürgül S, Çelik A. Cytogenetic effects of extremely low frequency magnetic field on wistar rat bone marrow. *Mutat Res* 2007; 630(1-2): 69-77.
- [26] Pacini S, Vannelli GB, Barni T, Ruggiero M, Sardi I, Pacini P, et al. Effect of 0.2 T static magnetic field on human neurons: Remodeling and inhibition of signal transduction without genome instability. *Neurosci Lett* 2008; 267(3): 185-8.
- [27] McNamee JP, Bellier PV, McLean JR, Marro L, Gajda GB, Thansandote A. DNA damage and apoptosis in the immature mouse cerebellum after acute exposure to a 1 mT, 60 Hz magnetic field. *Mutat Res* 2002; 513(1-2): 121-33.
- [28] Lahijani MS, Tehrani DM, Sabouri E. Histopathological and Ultrastructural Studies on the Effects of Electromagnetic Fields on the Liver of Preincubated white Leghorn Chicken embryo. *Electromagn Biol Med* 2009; 28(4): 391-413.
- [29] Calvente I, Fernandez M, Villalba J, Olea N, Nuñez M. Exposure to electromagnetic fields (non-ionizing radiation) and its relationship with childhood leukemia: a systematic review. *Sci Total Environ* 2010; 408(16): 3062-9.
- [30] Grassi C, D'Ascenzo M, Torsello A, Martinotti G, Wolf F, Cittadini A, et al. Effects of 50Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca²⁺ channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. *Cell Calcium* 2004; 35(4): 307-15.
- [31] Simko M. Induction of cell activation processes by low frequency electromagnetic fields. *ScientificWorldJournal* 2004; 4 Suppl 2: 4-22.
- [32] Henry L, Narendra P. Magnetic-Field-Induced DNA Strand Breaks in Brain Cells of the Rat. *Environ Health Perspect* 2004; 112(20): 687-94.
- [33] McCormick DL, Boorman GA, Findlay JC, Hailey JR, Johnson TR, et al. Chronic toxicity/oncogenicity evaluation of 60 Hz (power frequency) magnetic fields in B6C3F1 mice. *Toxicologic Pathol* 2011; 27(3): 279-85.
- [34] Baharara J, Ashraf A, Balanejad S. The inhibitory effect of low frequency electromagnetic field (50Hz) on angiogenesis in chorioallantoic membrane of chick. *Zahedan J Res Med Sci* 2010; 12(2): 8-12. [in Persian]
- [35] Balanejad S, Parivar K, Baharara J, Mohseni Kochesfahani H. Effect of Combined rapamycin and of low frequency electromagnetic field on angiogenesis. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 11(3): 70-6. [in Persian]
- [36] Binhi V. Do naturally occurring magnetic nanoparticles in the human body mediate increased risk of childhood leukaemia with EMF exposure? *Int J Radiation Biol* 2008; 84(22): 569-79.
- [37] Furgason J, Bahassi EM. Targeting DNA repair mechanisms in cancer. *Pharmacol Ther* 2013; 137(3): 298-308.
- [38] Hogervorst FB, Nederlof PM, Gille JJ, McElgunn CJ, Grippeling M, Prunel R, et al. Large genomic deletions and duplications in the BRCA1 gene identified by a novel quantitative method. *Cancer Res* 2003; 63(7): 1449-53.