

بررسی اثرات میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رده سلول‌های سرطانی MCF-7

سید دامون صدوقی^۱، سعیده ظفربالانژاد^۲، خدیجه نژاد شاهرخ آبادی^۳، جواد بهارآرا^۴

تاریخ دریافت 1393/01/20 تاریخ پذیرش 1393/03/19

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان پستان از شایع‌ترین سرطان‌ها در زنان می‌باشد. هدف اصلی این مطالعه بررسی اثرات میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رده سلول سرطانی MCF-7 می‌باشد.

مواد و روش کار: سلول‌های سرطانی MCF-7 و طبیعی L929 در محیط RPMI حاوی سرم جنین گاوی (FBS) و آنتی‌بیوتیک کشت گردیدند. سلول‌ها به مدت ۳ ساعت در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاؤس قرار گرفتند. میزان رشد و تکثیر و همچنین تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده با میکروسکوپ معکوس عکس‌برداری شد؛ و میزان زنده‌بودن سلول‌ها به روش آزمون MTT تعیین شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری Spss (ویرایش ۲۰) به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تحلیل شدند.

یافته‌ها: درصد زنده ماندن سلول‌های MCF-7 ($87/985 \pm 5/38$) و L929 ($93/726 \pm 4/28$) پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاؤس نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. درصد زنده ماندن سلول‌های MCF-7 ($41/342 \pm 8/27$) و L929 ($44/649 \pm 3/39$) پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاؤس نسبت به شاهد، کاهش معنی‌داری یافت. درصد زنده ماندن سلول‌های MCF-7 ($24/381 \pm 5/98$) و L929 ($30/627 \pm 7/55$) پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۴۰۰ گاؤس نسبت به شاهد، کاهش معنی‌داری یافت.

نتیجه‌گیری: میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاؤس اثر مهاری بر رشد و تکثیر و همچنین دارای اثر کشندگی بر رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929 دارد.

واژه‌های کلیدی: MCF-7، سرطان، میدان الکترومغناطیس، آزمون MTT

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و پنجم، شماره پنجم، ص ۴۵۲-۴۴۴، مرداد ۱۳۹۳

آدرس مکاتبه: مشهد، خیابان راهنمایی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، تلفن: ۰۹۱۵۳۰۲۶۳۱۳

Email: Damoon.Sadughi@Gmail.com

مقدمه

ایجاد مقاومت‌های درمانی نیز می‌شود (۲). از اوایل قرن بیستم با افزایش روزافزون کاربرد وسایل برقی میزان تشعشعات الکترومغناطیس به‌خصوص تشعشعات با فرکانس کم در محیط پیرامون ما افزایش یافته است. به‌طورکلی میدان‌های الکتریکی ایجاد شده با ولتاژهای مختلف و میدان‌های مغناطیسی حاصل از آن را میدان الکترومغناطیسی گویند (۳). این امواج در محیط با طول‌موج و فرکانس معین با سرعت نور منتشر می‌شوند که به تشعشعات الکترومغناطیسی معروف هستند.

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان ۴۰ تا ۴۴ ساله می‌باشد. شیوع سرطان سینه در کشورهای درحال توسعه در حال افزایش است و در بسیاری از نقاط دنیا به‌صورت شایع‌ترین بیماری بدخیم در بین بانوان در آمده است (۱). سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی غیر جلدی در آمریکاست به‌طوری‌که سالانه در این کشور حدود ۴۰۰۰۰ نفر و در کل دنیا ۴۰۰۰۰۰ نفر بر اثر سرطان پستان از بین می‌روند. در این میان مصرف گسترده داروهای رایج ضدسرطان از قبیل تاکسان و آنتراسیکلین‌ها موجب

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

^۲ دکترای تخصصی بیولوژی سلولی - تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

^۳ دکترای تخصصی ژنتیک ملکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

^۴ دکترای تخصصی بیولوژی سلولی - تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

گلوتامین، پنی‌سیلین (۱۰۰ یونیت بر میلی‌لیتر)، استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS^۳) در فلاسک‌های کشت سلولی با درب فیلتر دار استریل (۵۰ cc) ساخت شرکت JET BIOFIL کانادا) که حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط بودند، کشت داده شدند و در هر فلاسک ۵×۱۰^۵ سلول ریخته شد. سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۰ درصد و دی‌اکسید کربن ۵ درصد قرار داده شدند (۸). برای تأمین میدان الکترومغناطیس از یک سیستم ویژه که دارای شرایط مناسب انکوباسیون (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۰ درصد) می‌باشد، استفاده شد (با کمک و همکاری گروه زیست‌شناسی و گروه فیزیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد طراحی و ساخته شده است) 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 رثوستا 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. (شکل 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 با میکروسکوپ معکوس عکس‌برداری شد. سلول‌ها در حالت طبیعی دارای مورفولوژی ستاره‌ای شکل می‌باشند. تحلیل رفتگی (کوچک شدن) و افزایش اندازه واکوتل، کاهش سیتوپلاسم و پیگمانه شدن هسته نشانه‌ای از تغییرات مورفولوژیک و در نتیجه نشانه‌ای از مرگ سلولی می‌باشد. این دو تغییر یعنی تحلیل رفتگی و پیگمانه شدن هسته از ویژگی‌های نهایی مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) می‌باشد (۹).

بررسی میزان زنده بودن سلولی با روش *MTT assay*:

به‌منظور بررسی اثر میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی از روش *MTT assay* استفاده شد این روش یک تست متابولیک رقابتی میتوکندریایی است و بر اساس شکستن نمک تترازولیم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده استوار است. از هر رده سلولی (MCF-7 و L929)، پس از انجام پاساژ، یک سوسپانسیون سلولی در محیط کشت تهیه 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 شدت میدان الکترومغناطیس (۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰) ۱ پلیت ۹۶

میزان جذب و نفوذ انرژی تشعشعات الکترومغناطیسی به فرکانس، نوع تشعشعات و نوع بافتی که آن را جذب می‌کند، بستگی دارد (۴). بر اساس نوع تأثیری که تشعشعات الکترومغناطیسی بر موجودات زنده می‌گذارند، آن‌ها را به دو گروه تقسیم‌بندی کرده‌اند: الف) امواج یونیزان. به‌طور مستقیم و غیرمستقیم اثرات بیولوژیکی داشته، سبب تخریب مولکول DNA و آسیب به مواد ژنتیکی می‌شوند و برای سلامتی انسان و موجودات زنده بسیار خطرناک هستند نظیر اشعه گاما. ب) امواج غیر یونیزان. با فرکانس پایین، طول موج بلند و قدرت نفوذ کم است که ظاهراً انرژی کافی برای شکستن پیوندهای شیمیایی مولکول‌ها و اتم‌ها را ندارند (۴). برای میدان‌های الکترومغناطیسی ۲ مکانیزم وجود دارد. الف) مکانیسم‌های گرمایی که مربوط به گرم شدن بافت‌ها هستند که در نتیجه تبدیل انرژی الکتریکی به انرژی گرمایی ایجاد می‌شود. ب) مکانیسم‌های غیر گرمایی که به‌طور مستقیم با خود میدان وابسته است. به‌این‌ترتیب که جریان‌های الکتریکی با فرکانس پایین با تحریک‌پذیری غشاء تداخل ایجاد کرده و آستانه تحریک غشا را کاهش می‌دهند (۵). برخی از محققین معتقدند که تشعشعات الکترومغناطیسی با فرکانس کم همانند امواج یونیزان عمل کرده و با القا جهش، سبب تخریب DNA می‌شوند (۶). به‌طور 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 غشاء، عملکرد سلول‌ها را تغییر می‌دهند (۷). تاکنون در مورد اثرات میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر رشد رده سلول‌های سرطانی MCF-7 گزارشی منتشر نشده است. بنابراین در این مطالعه میزان رشد و زنده بودن رده سلول‌های سرطانی MCF-7 در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاوس بررسی شده است. همچنین میدان الکترومغناطیس موردنظر بر میزان رشد و زنده بودن سلول‌های طبیعی L929 (سلول فیبروبلاست موش) به‌عنوان سلول غیر سرطانی نیز بررسی و با اثرات میدان الکترومغناطیس بر سلول‌های سرطانی MCF-7 مقایسه شد.

مواد و روش کار

بررسی مورفولوژی:

در بررسی مورفولوژی رده سلول‌های سرطانی MCF-7^۱ و سلول‌های طبیعی L929 در محیط کشت RPMI^۱ حاوی L-۱

^۱ Michigan Cancer Foundation - 7

^۲ Roswell Park Memorial Institute

^۳ Fetal Bovine Serum

سرطانی MCF-7 و در ۴۸ خانه دیگر به سلول‌های طبیعی L929 تعلق داشت.

خانه‌ای در نظر گرفته شد. بدین صورت که در هر خانه از پلیت ۹۶ خانه‌ای ۵۰۰۰ سلول موجود باشد. ۵ پلیت ۹۶ خانه‌ای با مشخصات زیر بدست آمد که ۴۸ خانه از آن به رده سلول‌های

گروه شاهد	گروه شاهد آزمایشگاهی	گروه تجربی ۱	گروه تجربی ۲	گروه تجربی ۳
در شرایط طبیعی (در انکوباتور)	۳ ساعت در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس به حالت خاموش (سیم پیچ)	۳ ساعت در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس با هرتز و ۵۰ فرکانس	۳ ساعت در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس با هرتز و ۵۰ فرکانس	۳ ساعت در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس با هرتز و ۵۰ فرکانس
سلول‌های طبیعی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929	خاموش ولی سیستم محفظه انکوباسیون روشن)	شدت ۵۰ گاؤس	شدت ۲۰۰ گاؤس	شدت ۴۰۰ گاؤس

توسط دستگاه Elisa reader (Stat Fax 303 Plus) در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۱،۱۰). مراحل اخیر برای تمامی پلیت‌ها صورت گرفت. تمامی مراحل پژوهش ۲ بار تکرار شد و از اعداد بدست آمده از خانه‌های متعلق به هر رده سلولی میانگین گرفته شد و داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری Spss (ویرایش ۲۰) به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تحلیل شدند.

بعد از قرار گرفتن سلول‌ها در مجاورت میدان الکترومغناطیس، محیط کشت پلیت‌ها خالی و بجای 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 و ۴ ساعت در انکوباتور گذاشته شدند. پس از آن محیط کشت حاوی رنگ MTT خالی و ۲۰۰ میکرولیتر DMSO (Dimethylsulfoxid) و ۲۵ میکرولیتر بافر گلاسیس جایگزین آن شد و جذب نوری هر خانه



شکل (۲): Elisa reader (Stat Fax 303 Plus) جهت سنجش تست MTT



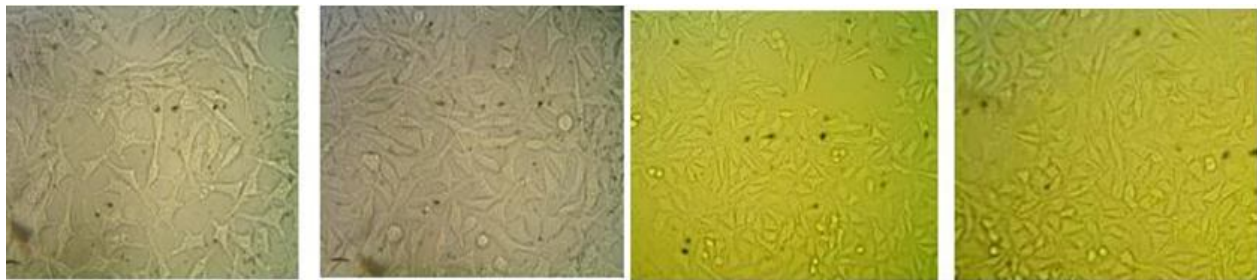
شکل (۱): سیستم مولد میدان الکترومغناطیس و انکوباسیون به ترتیب از راست به چپ شامل: سیم پیچ مولد میدان الکترومغناطیسی، سیستم انکوباسیون، رئوستا، آمپر متر، خازن

محسوسی در شکل و حالت سلول‌ها ایجاد نکرده است؛ اما در شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاؤس سلول‌ها از بستر خود جدا شده و از حالت دوکی به صورت گرد درآمدند و گرانولاسیون سلولی در آن‌ها دیده شد.

یافته‌ها

بررسی مورفولوژی:

براساس مشاهده رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929 با میکروسکوپ معکوس، مشخص گردید میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاؤس تغییر قابل

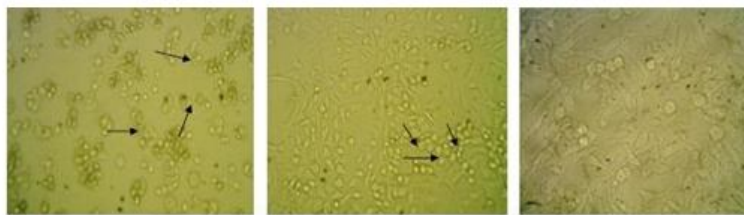


شکل ۴ سلول‌های L929 (شاهد) (۲۰X)

شکل ۳ سلول‌های MCF-7 (شاهد) (۲۰X)

شکل ۶ سلول‌های L929 (شاهد آزمایشگاهی) (۲۰X)

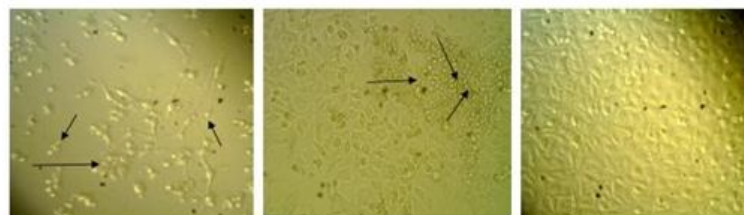
شکل ۵ سلول‌های MCF-7 (شاهد آزمایشگاهی) (۲۰X)



شکل ۹ سلول‌های MCF-7 (در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس) (۲۰X)

شکل ۸ سلول‌های MCF-7 (در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس) (۲۰X)

شکل ۷ سلول‌های MCF-7 (در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاوس) (۲۰X)



شکل ۱۲ سلول‌های L929 (در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس) (۲۰X)

شکل ۱۱ سلول‌های L929 (در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس) (۲۰X)

شکل ۱۰ سلول‌های L929 (در مجاورت میدان الکترومغناطیس با شدت ۵۰ گاوس) (۲۰X)

آزمون MTT:

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

در تصاویر فوق فلش‌ها نشان دهنده تغییرات مورفولوژیک می‌باشد. بدین صورت که سلول‌ها از حالت طبیعی ستاره‌ای شکل، به حالت کروی درآمده و کوچک شده‌اند و گرانولاسیون سلولی در آن‌ها مشاهده می‌شود که تمامی این شرایط نشانه‌ای از مرگ سلولی می‌باشد.

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

(سیم‌پیچ خاموش ولی سیستم محفظه انکوباسیون روشن) نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود. درصد زنده ماندن رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929 پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس و ۴۰۰ گاوس نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت.

مقایسه درصد زنده ماندن رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929 پس از قرارگیری در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گاوس نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود. مقایسه درصد زنده ماندن رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929 پس از قرارگیری در مجاورت سیستم مولد میدان الکترومغناطیس به حالت خاموش

جدول (۱): نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey برای درصد زنده ماندن سرطانی MCF-7

شاهد	شاهد	۵۰ گروه تجربی ۱ (فرکانس هرتز و شدت ۵۰ گاؤس)	۵۰ گروه تجربی ۲ (فرکانس هرتز و شدت ۲۰۰ گاؤس)	۵۰ گروه تجربی ۳ (فرکانس هرتز و شدت ۴۰۰ گاؤس)
درصد زنده ماندن MCF-7 سلول‌های	۱۰۰٪	۸۷/۹۸۵٪	۴۱/۳۴۲٪	۲۴/۳۸۱٪
انحراف معیار	۲/۰۹	۵/۳۸	۸/۲۷	۵/۹۸
آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)	P-Values = ۰/۷۹۱	P-Values = ۰/۳۷۹	P-Values = ۰/۰۳۷*	P-Values = ۰/۰۱۹*
آزمون تعقیبی Tukey	P-Values = ۰/۶۲۳	P-Values = ۰/۱۰۸	P-Values = ۰/۰۲۱*	P-Values = ۰/۰۱۱*

* معنی‌داری در سطح (P < ۰/۰۵)

جدول (۲): نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey برای درصد زنده ماندن سلول‌های طبیعی L929

شاهد	شاهد آزمایشگاهی	۵۰ (فرکانس هرتز و شدت ۵۰ گاؤس)	۲ (فرکانس هرتز و شدت ۲۰۰ گاؤس)	۳ (فرکانس هرتز و شدت ۴۰۰ گاؤس)
درصد زنده ماندن طبیعی L929 سلول‌های	۱۰۰٪	۹۵/۱۵۸٪	۴۴/۶۴۹٪	۳۰/۶۲۷٪
انحراف معیار	۱/۸۹	۲/۹۳	۳/۳۹	۷/۵۵
آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)	P-Values = ۰/۵۹۷	P-Values = ۰/۲۹۷	P-Values = ۰/۰۲۲*	P-Values = ۰/۰۱*
آزمون تعقیبی Tukey	P-Values = ۰/۵۲۳	P-Values = ۰/۲۶۷	P-Values = ۰/۰۱۷*	P-Values = ۰/۰۰۷*

* معنی‌داری در سطح (P < ۰/۰۵)

بحث

شده بر روی لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها اثرات ژنوتوکسیک را نشان نمی‌دهند در حالی که برخی مطالعات دیگر بر روی فیبروبلاست‌ها، ملانوسیت‌ها، سلول‌های پستانی و سلول‌های گرانولوزای موش‌های صحرایی اثرات قابل توجه میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس‌های مختلف را نشان داده‌اند (۱۳). براساس بررسی‌های انجام شده روی جنین‌های جوجه، میدان الکترومغناطیسی می‌تواند این پاسخ به هیپوکسی را در سلول‌های سرطانی کاهش دهد. این پدیده منجر به کاهش آنژیوژنز و کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی

در این پژوهش رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929 در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ گاؤس قرار گرفتند و میزان رشد و تکثیر آن‌ها بررسی شد. در سال‌های اخیر دیده شده است که میدان‌های الکترومغناطیس دارای اثرات متفاوت بر سیستم‌های انسانی هستند. برخی از مطالعات افزایش آسیب‌های DNA را در سلول‌های متفاوت جانوری گزارش کرده‌اند (۱۲). مطالعات انجام

می‌شود (۱۴). کالونت معتقد است که فیبروبلاست‌های انسانی در معرض تشعشعات الکترومغناطیس با فرکانس بسیار کم دچار تخریب اکسیداتیو DNA می‌شوند (۱۵). گراسی احتمال تأثیر تشعشعات الکترومغناطیس با فرکانس کم بر روی سلول‌های سرطانی را به جای تخریب DNA تأثیر بر ساختار آنزیم‌های غشا سلول و نفوذپذیری مولکول‌های کوچک معرفی می‌کند (۱۶). در حالی که سیمکو معتقد است که سلول‌های سرطانی در معرض امواج الکترومغناطیس با فرکانس بسیار کم با آزاد سازی 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 تأثیر می‌گذارند (۱۷). فالونه در مطالعه‌ای بر روی سلول‌های نوروبلاستوما SH-SY5Y انسانی در معرض تشعشعات الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز، کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی و کاهش تحمل سلول‌ها نسبت به فرایندهای اکسیداتیو را عنوان کرده است (۱۸). بینهی در گزارش دیگری بیان نمود که نانو ذرات مغناطیسی درون سلولی غلظت رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهند و به‌طور غیرمستقیم سبب آسیب DNA و سلول‌های سرطانی در میدان الکترومغناطیسی ۰/۴ میکرو تسلا می‌گردد (۱۹). یوشی‌کاوا تغییر در فعالیت آنزیم‌ها و پایداری و بقای بیشتر رادیکال‌های آزاد توسط میدان الکترومغناطیسی را مؤثر می‌داند، از نظر وی میدان الکترومغناطیسی با پایداری رادیکال‌های آزاد نیتریک اکساید درون سلولی سبب ایجاد تغییر در هدایت علائم سلولی می‌گردد (۲۰). برخی نیز اثرات ژنوتوکسیکی تشعشعات میدان‌های مغناطیسی را به تشکیل اکسی رادیکال‌ها نسبت می‌دهند، همان‌طور که می‌دانیم گونه اکسیژن فعال یا ROS (Reactive Oxygen Species) برای فرایندهای سلولی مضر است و سبب پراکسیداسیون چربی اندامک‌های متصل به غشا و تخریب پروتئین‌های غشایی و در نهایت تخریب سلول می‌گردد. به‌نظر می‌رسد میدان‌های الکترومغناطیسی با افزایش میزان و انتشار رادیکال‌های آزاد احتمال آسیب‌های اکسیداتیو را افزایش می‌دهند (۲۱). امواج الکترومغناطیسی با فرکانس کم بدون شک می‌توانند به درون سلول‌ها نفوذ کنند و با DNA و یا هر ترکیب دیگری در سلول واکنش دهند (۲۲). به نظر می‌رسد که افزایش رادیکال‌های آزاد در مراحل فیزیولوژیکی و سلولی متفاوت می‌تواند بر بیان ژن‌ها، آزاد سازی کلسیم از مخازن سلولی، رشد و مرگ سلولی تأثیر بگذارد (۲۳). سیمکو نیز افزایش القا آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پس از قرارگیری در معرض تابش‌های ۵۰ هرتز

میدان مغناطیسی ۱ میلی‌تسلا را مشاهده نمود (۲۴). تجربیات دیگری نشان داده که سلول‌های سرطانی در معرض همزمان ۰/۴ تا ۱ میکروتسلا میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۶۰ هرتز دچار افزایش آپوپتوز می‌شوند (۲۵). برخی از محققان نیز معتقدند که امواج الکترومغناطیس به تنهایی باعث ایجاد وقایع ژنتیکی نمی‌شوند بلکه عملکرد ژنوتوکسیک سایر عوامل فیزیکی و شیمیایی محیطی از قبیل کارسینوژن‌ها را افزایش می‌دهند. به هر حال امواج الکترومغناطیس در تشخیص و درمان بسیاری از سرطان‌ها استفاده می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهد که این امواج سبب القا کاهش رشد سلول‌ها و افزایش آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شوند (۱۹). طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ انجام شد متوجه شدند که زمان تقسیم سلول‌ها در مجاورت میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم از زمان معمول آن بیشتر است همچنین سلول‌های تقسیم شونده در بعضی مواقع درست قبل از اینکه فرآیند کامل شود از هم واپاشیده می‌شود. محققان پیشنهاد دادند که تقسیم سلولی به این دلیل کند می‌شود که میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم مانع از شکل‌گیری و عملکرد دوک‌های میتوزی می‌گردد (۲۶). از مقایسه نتایج بدست آمده در این پژوهش با گزارشات و مطالب ذکر شده در ابتدای بحث 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 به‌عنوان یک عامل تخریبی اعمال کند. میدان الکترومغناطیس می‌تواند بر ساختار آنزیم‌های غشا سلول‌های سرطانی و حتی سلول‌های طبیعی تأثیر 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 (۱۹). همچنین میدان الکترومغناطیس می‌تواند باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و طبیعی شود. با توجه به تمامی پژوهش‌های انجام شده در مورد اثر میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۵۰ گوس و با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گوس می‌تواند منجر به کاهش رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی پستان شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه دریافتیم که میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاؤس اثر مہاری بر رشد و تکثیر و همچنین دارای اثر کشندگی بر رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و سلول‌های طبیعی L929 دارد. گرچه نظریات ضد و نقیض در مورد اثرات امواج الکترومغناطیس وجود دارد، اما می‌توان گفت قرارگیری مستقیم سلول‌های طبیعی در میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ گاؤس منجر به مرگ آن‌ها می‌شود و همچنین می‌توان از اثر

کشندگی این امواج الکترومغناطیس برای درمان بسیاری از سرطان‌ها بویژه سرطان پستان استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه اساتید محترمی که در انجام این پژوهش مرا یاری نموده‌اند، به ویژه دوستان و همکاران در آزمایشگاه تحقیقاتی تکوین سلولی تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از پدر و مادر عزیزم سپاسگزارم که همیشه مشوق و پشتیبان من هستند.

References:

- O' Hara M, Kiefer D, Farrell K, Kemper K. Areview of 12 commonly used medicinal herbs. Arch Fam Med 1998; 7: 523-36.
- Alvaro MA, Edith AP. Treatment options for breast cancer resistant to anthracycline and taxane. Mayo Clin Proc 2009; 84: 533-45.
- Kundi M, Hardell L, Sage C, Sobel E. Electromagnetic fields and the precautionary principle. Environ Health Perspect 2009;117(11):A484-5.
- Khurana VG, Teo C, Kundi M, Hardell L, Carlberg M. Cell phones and brain tumors: a review including the long-term epidemiologic data. Surg neurol 2009; 72: 205-14.
- Litvak E, Foster KR, Repacholi MH. Health and safety implications of exposure to electromagnetic fields in the frequency range 300 Hz to 10 MHz. Bioelectromagnetics 2002;23(1):68-82.
- Reese J, Jostes R, Frazier M. Exposure of mammalian cells to 60-Hz magnetic or electric fields: Analysis for DNA single-strand breaks. Bioelectromagnetics 1988; 9: 237-47.
- Barnes FS. Some engineering models for interactions of electric and magnetic fields with biological systems. Bioelectromagnetics 1992; 53: 67-85.
- Alley MC, Scudiero DA, Monks A. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a micro culture tetrazolium assay. Cancer Res 1998; 48: 589-601.
- Shahrokh Abady Kh. Evaluation of cytotoxicity effect of total Saffron extract on HepG2 cell line. Thesis on Genetic 2003; 8: 65-33. (Persian)
- Mossman T. Rapid colorimetric assay of cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Immun Method 1983; 65: 55-63.
- Rapaport L, Robinson C. Cell titer 96 and titer 96 AG, non radioactive cell proliferation assay. Promega Notes Magazine 1993; 44: 46-7.
- Ivancsits S, Diem E, Pilger A, Rüdiger HW, Jahn O. Induction of DNA strand breaks by intermittent exposure to extremely-low-frequency electromagnetic fields in human diploid fibroblasts. Mutat Res 2002;519(1-2):1-13.
- Ivancsits S, Pilger A, Diem E, Jahn O, Rudiger HW. Cell type-specific genotoxic effects of intermittent extremely low-frequency electromagnetic fields. Mutat Res 2005; 583: 184-8.
- Di Carlo AL, Mullins JM, Litovitz TA. Thresholds for electromagnetic field-induced hypoxia protection: evidence for a primary electric field effect. Bioelectrochemistry 2000; 52: 9-16.
- 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.
16. 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: 307-15.
17. Simkó M. Induction of cell activation processes by low frequency electromagnetic fields. *ScientificWorld J* 2004; 4: 4-22.
18. Falone S, Grossi MR, Cinque B, D'Angelo B, Tettamanti E, Cimini A, et al. Fifty hertz extremely low-frequency electromagnetic field causes changes in redox and differentiative status in neuroblastoma cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(11):2093-106.
19. Binhi V. Do naturally occurring magnetic nanoparticles in the human body mediate increased risk of childhood leukaemia with EMF exposure? *Int J Radiat Biol* 2008;84(7):569-79.
20. Yoshikawa T, Tanigawa M, Tanigawa T, Imai A, Hongo H, Kondo M. Enhancement of nitric oxide generation by low frequency electromagnetic field. *Pathophysiology* 2000; 7: 131-5.
21. Regoli F, Gorbi S, Machella N, Tedesco S, Benedetti M, Bocchetti R, et al. Pro-oxidant effects of extremely low frequency electromagnetic fields in the land snail *Helix aspersa*. *Free Radic Biol Med* 2005 Dec 15;39(12):1620-8.
22. Blank M, Goodman R. Electromagnetic fields stress living cells. *Pathophysiology* 2009; 16: 71-8.
23. Dai Q, Shu XO, Li H, Yang G, Shrubsole MJ, Cai H, et al. Is green tea drinking associated with a later onset of breast cancer? *Annals epidemiology* 2010; 20: 74-81.
24. Simko M, Kriehuber R, Weiss D, Luben R. Effects of 50 Hz EMF exposure on micronucleus formation and apoptosis in transformed and nontransformed human cell lines. *Bioelectromagnetics* 1998; 19: 85-91.
25. Löscher W, Mevissen M. Animal studies on the role of 50/60-Hertz magnetic fields in carcinogenesis. *Life sciences* 1994; 54: 1531-43.
26. McCormick DL, Boorman GA, Findlay JC, Hailey JR, Johnson TR, Gauger JR, et al. Chronic toxicity/oncogenicity evaluation of 60 Hz (power frequency) magnetic fields in B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol* 2011; 27: 279-85.

INVESTIGATING THE EFFECTS OF LOW FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELD ON MCF-7 CANCER CELL LINE

Seyed Damoon Sadooghi^{1*}, Saide Zafar Balanezhad², Khadijeh Nezhad Shahrokh Abadi³,
Javad Baharara⁴

Received: 9 Apr , 2014; Accepted: 9 Jun , 2014

Abstract

Background & Aims: Breast cancer is the most common cancer in women. The aim of this study was to investigate the effects of electromagnetic field on MCF-7 cancer cell line.

Materials & Methods: MCF-7 cell lines and L929 cell line were cultured in RPMI medium that contain fetal bovine serum and antibiotics. Cells for three hours were exposed to 50 Hz electromagnetic field with intensities of 50, 200 and 400 Gauss. Growth and proliferation and morphological changes were photographed by inverted microscope. Cell viability was quantitated by MTT assay. The obtained data were statistically analyzed by SPSS software and compared with each other by ANOVA and post hoc Tukey.

Results: Viability percent of MCF-7 (87.985 ± 5.38) and L929 (93.726 ± 4.28) cell line that were vicinity of electromagnetic field with intensity of 50 gauss was not significantly compared to control. Viability percent of MCF-7 (41.342 ± 8.27) and L929 (44.649 ± 3.39) cell line that were vicinity of electromagnetic field with intensity of 200 gauss was significant compared to control. Viability percent of MCF-7 (24.381 ± 5.98) and L929 (30.627 ± 7.55) cell line that were vicinity of electromagnetic field with intensity of 400 gauss was significant compared to control.

Conclusion: Electromagnetic field with frequency of 50 Hz and intensities of 200 and 400 Gauss was inhibitory effect on the growth and proliferation of MCF-7 and L929 cell line.

Keywords: MCF-7, Cancer, electromagnetic field, MTT assay

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran, Tel: +98 9153026313

Email: damoon.sadughi@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2014; 25(5): 452 ISSN: 1027-3727

¹ Master in Animal Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran (Corresponding Author)

² PhD, in Animal Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran

³ PhD in Molecular Genetics, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran

⁴ PhD in Animal Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran