دانشگاه جامع امام حسین(ع)
دانشکده و پژوهشکده فنی و مهندسی

مجله علمی-پژوهشی «علوم و فناوری‌های پدافند غیرعامل»
سال اول، شماره ۱، پائیز ۱۳۸۹: ص ۴۹-۵۲

Available online:
www.adst.ir

تأثیر پرتو مایکروویو بر روی رشد سلول‌های زنده

ضرغام رستمی[۱*]، مجید حامدیان[۲]، میرلطیف موسوی[۳]

۱- استادیار، گروه مخابرات، دانشکده و پژوهشکده فناوری اطلاعات و ارتباطات، دانشگاه جامع امام حسین (ع)

۲- مربی، گروه زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه جامع امام حسین(ع)

۳- دانشیار، گروه زیست، دانشگاه شاهد

E-mail: 32023202ZARGHAM Rostami@yahoo.com

(دریافت: ۸۸/۷/۱۸ ، پذیرش: ۸۸/۱۱/۱۰)

چکیده

افزایش چشمگیر به‌کارگیری امواج مایکروویو بویژه در تبادل اطلاعات، از جمله ارتباطات شخصی، عمومی، نظامی و پزشکی، ما را بر آن داشت که به تحقیقاتی پیرامون آثار بیولوژیکی این نوع امواج بپردازیم. در این تحقیق، سلول لاین کلیه میمون سبز آفریقایی را در حالات مختلف استراحت و رشد، تحت تأثیر امواج مایکروویو با توان ثابت در زمان‌های مختلف قرار دادیم و آسیب سلولی و رشد سلولی را قبل و بعد از پرتودهی به دقت بررسی کردیم. آزمایش‌ها حاکی از این بود که این امواج بر روی سلول‌های در حال استراحت هیچ‌گونه تأثیری ندارند؛ ولی سلول‌های در حال رشد را کاملاً تحت تأثیر قرار داده و رشد آنها را به‌طور موقت متوقف و با افزایش زمان پرتودهی، رشد را به‌طور کامل قطع می‌کنند. در نهایت، با توجه به گزارش‌های مربوط به اثر پرتودهی در تغییرات تعدادی از مولکول‌های دخیل در چرخه رشد سلول نظیر P53، Cyclin-D1، PCNA، HSP (Heat shock proteins)، سازوکارهای احتمالی توقف رشد را مورد بحث قرار داده‌ایم.

کلیدواژه‌ها: رشد سلولی؛ امواج مایکروویو؛ اثرات بیولوژیکی

Effect of Microwave Radiations on Cell Proliferation

Z. Rostami[*], M. Hamedian, M. L. Mousavi
Imam Hossein University, Tehran, Iran
E-mail: 32023202zarghamrostami@yahoo.com

Abstract

Increased uses of microwave radiation in communication systems like mobile phones, radars and satellites, have pushed us to do some experimental studies on the biological effects of such radiations. Experiments were performed on cell line of Vero (African green monkey kidney cell), which were exposed to constant power electromagnetic fields with a frequency of about 9 GHz in rest (G1) and growth situations. The cells are exposed to varying field strengths at different times.The cytopathic effects (CPE) and cell proliferation before and after exposure are monitored. Experiments reveals that electromagnetic fields did not affect on cells in rest situation, but arrest the cell cycle transiently in proliferating ones. At prolonged exposure time, damaged cells were not repaired or were destroyed, so more faulty cells were produced. As some molecules like P53, cyclin-D1, PCNA and HSP (Heat shock proteins), probable mechanisms of growth stoppage are discussed.

Keywords: Cell Proliferation; Microwave Radiation

۱. مقدمه

طیف امواج الکترومغناطیسی شامل محدوده وسیعی از امواج یون‌ساز و غیر یون‌ساز است که از فرکانس‌های بی‌نهایت پایین (ELF) با طول موج بلند تا اشعه γ با فرکانس‌های بسیار بالا و طول موج بسیار کوتاه را شامل می‌شود. محدوده‌ای از این امواج الکترومغناطیسی که بسیار حائز اهمیت بوده و از کاربردهای بسیار گسترده‌ای برخوردار است، امواج مایکروویو می‌باشد. این امواج در بخش‌های مختلف صنایع مانند تلفن‌های همراه، ارتباطات ماهواره‌ای، کوره‌های مایکروویو و سیستمهای راداری کاربرد دارد.

امروزه از این امواج در پزشکی جهت کاردیولوژی، اورلوژی، جراحی، افتالمولوژی و همچنین در تشخیص‌های طبی همانند تشخیص سرطان و غیره استفاده می‌کنند [۲]. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در رابطه با آثار بیولوژیک امواج مایکروویو انجام گرفته است. با این وجود آثار منتشر شده در زمینه چگونگی سازوکار عمل این امواج در سیستم‌های بیولوژیکی بسیار اندک است [۳-۴].

پیشتر تصور اکثر پژوهشگران برآن بوده که آثار بیولوژیکی امواج رادیویی و مایکروویوی صرفاً به دلیل وجود آثار گرمایی است و به همین دلیل هنوز هم یکی از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری امواج مایکروویوی بر اساس معیار جذب ویژه[1] توسط ماده می‌باشد [۵-۶]. مطالعات جدید آزمایشگاهی[2] بر روی سلول‌های زنده حاکی از تأثیر این امواج بر روی رشد سلول‌های پستانداران است [۱، ۷، ۸، ۹، ۱۰]. گزارش‌های دیگری آثار غیر حرارتی[3] این امواج بر روی سلول‌های زنده را مورد تاکید قرار داده‌اند. [۱، ۱۱، ۱۲،۱۳، ۱۴].

با توجه به موارد فوق و اهمیت روز افزون موضوع در این تحقیق سعی شده است که تاثیر تابش امواج مایکروویو بر روی سلولهای در حال رشد در آزمایشگاه مورد مطالعه قرار گیرد.

۲. مواد و روش‌ها

سلول مورد استفاده در این تحقیق، لاین کلیه میمون سبز آفریقایی تهیه شده از بانک سلول انستیتو پاستور تهران بود. سلول‌ها ابتدا در آزمایشگاه با محیط DMEM[4] (شرکت بهار افشان) کشت و سپس جهت استفاده در کارهای بعدی ذخیره‌سازی شد. سلولها جهت انجام آزمایشات از نیتروژن مایع خارج و با محیط DMEM حاوی ۵ درصد سرم جنین گاو (FCS) (شرکت Gibco انگلستان) رشد داده شد و سپس مراحل مختلف کار به ترتیب زیر بر روی آن انجام گرفت:

۲-۱. پرتو دهی سلول‌ها با امواج مایکروویو در مرحله استراحت:

سلول‌ها طی پنج مرحله در میکروپلیت‌های مختلف حاوی پنج درصد سرم جنین گاو رشد داده شدند و پس از کامل شدن تک لایه[5] و ورود سلولها به مرحله استراحت به دلیل ممانعت تماسی[6]، سلولها در زمان‌های مختلف با توان و فرکانس ثابت در معرض امواج مایکروویو قرار داده شدند (جدول (۱)). در ادامه با تعویض محیط رشد و محیط نگاهدارنده (محیط فاقد سرم) جهت نگهداشتن سلولها در فاز G1، سلول‌ها به مدت حداقل ۵ روز از نظر آسیب سلولی[7] زیر نظر قرار گرفت.

جدول ۱. پرتو دهی سلول‌ها در فاز**G1** با امواج مایکروویو با فرکانس **GHz** ۹ و توان **mW** ۱۰۰ در فاصله ۱۰ میلی‌متری

مراحل تست	مدت زمان (دقیقه)
مرحلهٔ اول	۳۰
مرحلهٔ دوم	۹۰
مرحلهٔ سوم	۳۰ (با تغییر ظرف سلول)
مرحلهٔ چهارم	۶۰ (با استفاده از ظرف مرحلهٔ سوم)
مرحلهٔ پنجم	۶۰ (ظرف بزرگتر از مرحلهٔ سوم وچهارم)

1- Specific Absorption Rate (SAR)
2- Invitro
3- Non-Thermal

4- Dulbeccos Modified Eagels Medium
5- Monolayer
6- Contact inhibition
7- Cytopathic Effect

۲-۲. پرتو دهی سلول‌ها با امواج مایکروویو در مرحله رشد

طی چهار مرحله سلول را در میکروپلیت و پلیت ۹۰ میلی‌متری (مراحل ششم، هفتم، هشتم و نهم) کشت داده و به محض چسبیدن سلول‌ها به کف و شروع رشد آنها در کمتر از پنج ساعت (قبل از ورود به مرحله S) با برداشتن حداکثر محیط رویی، سلول‌ها را مطابق جدول (۲) در معرض امواج مایکروویو قرار دادیم.

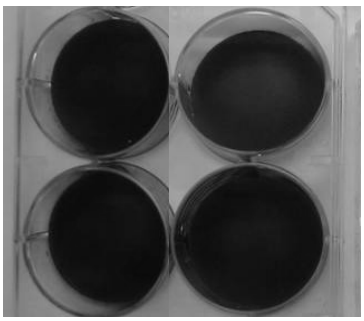
جدول ۲. پرتودهی سلول‌ها در مرحله رشد با امواج مایکروویو با فرکانس **GHz** ۹ و توان **mW** ۱۰۰

مراحل تست	فاصلهٔ بین سلول تا منبع موج برحسب میلی متر	مدت زمان (دقیقه)
مرحلهٔ ششم	۱۰	۶۰
مرحلهٔ هفتم	۲۰۰	۶۰
مرحلهٔ هشتم	۲۰۰	۲۴۰
مرحلهٔ نهم	۲۰۰	۱۲۰

در پایان زمان موج‌دهی به محض اینکه سلول‌های شاهد تک لایه را کامل نمودند کلیه میکروپلیت‌ها را ثابت و رنگ‌آمیزی نموده و از سلولهای رنگ‌آمیزی شده با لنز ماکرو عکسبرداری شد.

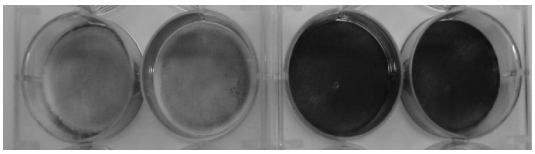
۳. نتایج و بحث

نتایج بدست امده نشان داد که پنج مرحله پرتودهی امواج مایکروویو با توان و فرکانس ثابت ولی زمانهای متفاوت بر روی سلول‌هایی که رشدشان متوقف شده بود هیچ‌گونه آسیب سلولی وارد نمی‌کنند (شکل (۱)).

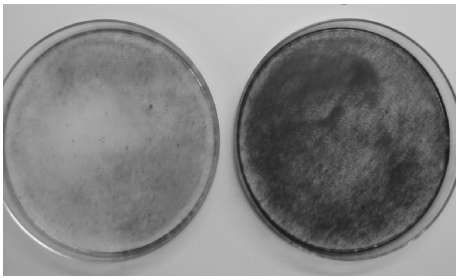


شکل ۱. تست و شاهد (به ترتیب از راست به چپ)

نتایج مربوط به سه مرحله پرتودهی با توان و فرکانس ثابت و زمان متفاوت نشانگر این بود که سلول‌های در حال رشد در اثر پرتودهی به‌طور موقت رشدشان متوقف شده و با توقف پرتودهی دوباره به‌رشد خود ادامه می‌دهند (شکل‌های (۲) و(۳)).

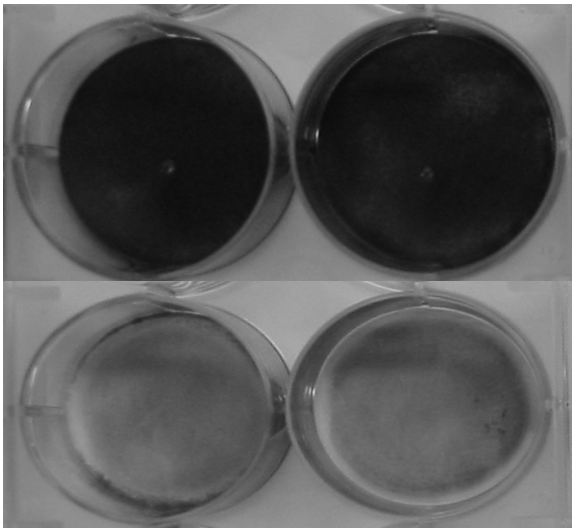


شکل ۲. شاهد و تست (به ترتیب از راست به چپ)



شکل ۳. شاهد و تست (به ترتیب از راست به چپ)

ادامه این آزمایشات نشان داد که اگر سلول‌های در حال رشد به‌طور طولانی‌مدت در معرض امواج مایکروویو قرار گیرند، رشد آنها به‌طور کامل متوقف و پس از مدتی از بین خواهند رفت (شکل (۴)، مرحله هشتم).



شکل ۴. شاهد (بالا) و تست (پائین)

نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج حاصل از گزارش‌های قبلی مطابقت داشت. اقایان کاو و ولیزارو[1] در مطالعات خود نشان دادند که تابش امواج الکترومغناطیس تأثیر منفی بر روی رشد و تکثیر سلولهای اپی‌تلیال جنین انسانی داشته است [۱]. موانع با ضخامت کم، مانند لایه‌های نازک پلی‌استایرن که از ضریب ثابت عایقی کمتری برخوردار هستند، مانع عبور امواج مایکروویو شده و بنابراین، این روش موج‌دهی می‌تواند آزمونی جهت کنترل مواد مختلف از نظر عبور امواج مایکروویو و حفاظت در مقابل آنها باشد.

مطالعات قبلی حاکی از ان است که تابش امواج مایکروویو، سلول را دچار استرس نموده و سبب تخریب بعضی از پروتئین‌های سلول می‌شود. مشخصاً یکی از آثار استرس، بالا رفتن میزان پروتئین‌های HSP[2] می‌باشد [۱].

از آنجائی‌که بالا رفتن میزان پروتئین‌های HSP تأثیر مهاری بر روی کینازهای وابسته به سیکلین[3] دارد و این کینازها نقش کلیدی در پروسه‌های چرخه سلولی ایفا می‌کنند، لذا می‌توان چنین استنباط کرد که مهار Cdkها توسط HSPها عامل توقف رشد سلول می‌شود. آزمایش‌ها حاکی از آن است که توقف رشد سلول موقتی بوده و بعد از حذف استرس از سلول، سلول‌ها مجدداً به رشد و تکثیر خود ادامه می‌دهند که احتمالاً دلیل بر این است که پروتئین‌های HSP کار دیگرشان کمک به ترمیم پروتئین‌های آسیب دیده می‌باشد [۱].

برای پی بردن به این که رشد سلول دقیقاً درچه مقطعی از چرخه سلولی متوقف می‌شود نیاز به آزمایش‌های دقیق‌تری دارد. ولی از آنجائیکه تابش موج در مرحله G1 صورت می‌گیرد فلذا این مسئله احتمالا باعث تخریب سایکلین‌های فاز G1 از جمله Cyclin-D و نهایتاً عوامل همانندسازی ماده ژنتیکی مانند PCNA می‌شود که نهایتاً باعث فعال‌شدن G1 Check point شده و مانع از خروج سلول از G1 به S می‌شود [۱]. در حال حاضر این تنها استدلال این مقاله برای تأخیر رشد سلول در اثر تابش امواج مایکروویو می‌باشد.

اگر تابش امواج به سلول‌ها ادامه یابد سلول‌های آسیب‌دیده قادر به ترمیم پروتئین‌های خود (PCNA, Cyclin-D1, P53) نبوده و چرخه سلولی ادامه نمی‌یابد و سلول در همان مرحله باقی می‌ماند [۱] که این مسئله با آزمایش مرحله هشتم به اثبات رسید.

از آنجائی‌که امواج مایکروویو با فرکانس‌های نزدیک به تلفن‌های همراه می‌توانند بر روی سلول‌های در حال رشد در invitro تأثیر بگذارند، احتمالاً میدان‌های ناشی از این امواج (در صورت تماس طولانی مدت) در invivo نیز باید بتوانند بر روی سلول‌های در حال رشد شامل مغز استخوان [(گلبول‌های قرمز، سفید، پلاکت‌ها) با عوارضی همانند کم‌خونی، خونریزی، کاهش ایمنی و غیره]، سلول‌های گوارشی (با عوارضی همانند اسهال، سوءتغذیه و غیره) و سلول‌های جنسی تأثیر بگذارند.

در حال حاضر با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که افراد در استفاده از تلفن‌های همراه باید دقت بیشتری نموده و از مکالمه طولانی مدت با آنها دوری نمایند و صرفاً جهت ارسال پیام‌های کوتاه از آن استفاده نمایند. ضمناً در حال حاضر مکانیزم ملکولی تاثیر امواج مایکروویو بر روی سلول‌های یوکاریوتی به‌طور کامل شناخته شده نمی‌باشد و برای رسیدن به این مهم نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد.

۴. مراجع

[1] Kwee, S.; Velizarov, S. Electromagneto. Biology 2002, 433-437.
[2] Ross, A.; Stuchly, M.; Vander Vorst, A. IEEE trans. Microwave Theory tech., 2002, 50(3), 963.
[3] Repacholi, M. H. Bioelectromagnetics, 1998, 19(1),1-19.
[4] Foster, K. R. IEEE Eng. Med. Biol., 1996, 15(4), 50-56.
[5] International Commission on Non-Ionizing Radiation protection, Health Phys. 1998, 74, 494-522.
[6] IEEE Standards Coordinating Committee 28, (ANSI/IEEE C 95.1-1999), IEEE, Newyork, 1999.
[7] Kwee, S.; Raskmark, P. Bioelectrochem. Bioenery. 1995, 36, 109-114.
[8] Kwee, S.; Raskmark, P. Bioelectrochem. Bioenery. 1998, 44, 251-255.
[9] Kwee, S.; Raskmark, P. "Radiofrequency Electromagnetic Fields and cell Proliferation in Electricity and Magnetism in Biology and Medicine" F. Bersani, ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, Newyork, 187-190, 1999.
[10] Kwee, S. "The Effect of Radio Frequency Electromagnetic Fields on Growth of Human Cells" International Scientific Conference, 2001.
[11] Kwee, S.; Raskmark, P.; Velzaror, S. Electromag-Netobilogy 2001, 20(2), 141-152.
[12] Velizaror, S.; Raskmark, P.; Kwee, S. Bioelec-Trochem. Bioenerg. 1999, 48, 177-180.
[13] Celis, J. E.; Madsen, P.; Nielsen, S.; Celis, A. Leakemia Res. 1986, 10(3), 237-249.
[14] Kwee, S. "Exposur to Microwave Fields can Induce Changes in Cell Cycle Proteins."Th Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, Moui, Hawaii-2003.

1- Kwee & Velizarov
2- Heat shock Proteins
3- Cyclin Dependent Kinase=CDK