

اثر امواج الکترومغناطیس تلفن همراه با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز روی فعالیت‌های زیستی سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از بافت چربی

زینب السادات احمدی^۱، دکتر داریوش شهبازی گهروی^۲، دکتر بتول هاشمی بنی^۳، مجتبی کربلایی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: همان طور که استفاده از تلفن همراه در حال افزایش است، نگرانی‌های عمومی در رابطه با اثرات زیان‌آور تابش‌های گسیل شده از این ابزار نیز در حال رشد می‌باشد؛ همچنین، سؤالات حفاظتی و تأثیرات بیولوژیک نیز از نگرانی‌های رو به رشدی است که تا حد زیادی بی‌جواب مانده است. سلول‌های بنیادی، به دلیل توانایی خود در نوسازی و ظرفیت تمایز به سلول‌های تخصصی گوناگون، شبیه‌ساز خوبی برای بررسی تأثیر تابش میدان‌های الکترومغناطیس (Radiofrequency electromagnetic fields یا RF-EMF) روی سلول‌های بدن می‌باشند.

روش‌ها: در این مطالعه، تأثیر تابش امواج الکترومغناطیس تابیده شده از آنتن با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز همراه با پالس ۲۱۷ هرتز (فرکانس مدولاسیون) و شدت $354/6 \text{ w/cm}^2$ در فاصله ۲۰ سانتی‌متری از آنتن بر میزان تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از بافت چربی انسانی بررسی گردید. زمان‌های تابش ۶، ۱۶ و ۲۱ دقیقه در روز به مدت ۵ روز متوالی با فاصله زمانی ۱۰ دقیقه برای هر تابش نسبت به تابش بعدی در نظر گرفته شد. از MTT assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] برای بررسی رشد و میزان بقای سلول‌ها و از رنگ آمیزی Trypan blue به منظور ارزیابی میزان تکثیر (Proliferation rate) سلول‌ها استفاده گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA انجام شد.

یافته‌ها: میزان تکثیر و بقای سلول‌ها در همه‌ی گروه‌های تابش به طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های شاهد بود ($P < 0/05$)؛ به جز گروه تابش ۶ دقیقه در روز، که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که امواج الکترومغناطیس گسیل شده از آنتن با فرکانس تابش ۹۰۰ مگاهرتز، با توجه به زمان‌های مختلف تابش، می‌تواند باعث کاهش بقا و تکثیر سلول‌ها شود.

واژگان کلیدی: سلول بنیادی مزانشیمی، آهنگ تکثیر و رشد، تابش امواج الکترومغناطیس، آنتن

ارجاع: احمدی زینب السادات، شهبازی گهروی داریوش، هاشمی بنی بتول، کربلایی مجتبی. اثر امواج الکترومغناطیس تلفن همراه با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز روی فعالیت‌های زیستی سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از بافت چربی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۶): ۲۲۶۹-۲۲۷۸

مانند تلفن همراه، سیستم‌های بی‌سیم و ایستگاه‌های مخابراتی رو به افزایش است، اثرات زیان‌آور امواج انتشاریافته از این وسایل نیز باعث ایجاد نگرانی‌های

مقدمه

همان گونه که در سال‌های اخیر، پیشرفت وسایل گسیلی امواج میکروویو میدان‌های الکترومغناطیس

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- دانشجوی دکتری، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: shahbazi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر داریوش شهبازی گهروی

اثرات امواج رادیوفرکانس بر لئوسیت‌های خون محیطی انسان، هیچ مدرکی دال بر اثرات ژنوتوکسیک یا سایتوتوکسیک به دست نیاوردند (۱۲).

از میان نمونه‌های سلولی به کار رفته در مطالعات، سلول‌های بنیادی انسانی سلول‌هایی هستند که توانایی تمایز به سلول‌های مختلف را دارند. سلول بنیادی یک سلول ویژه‌ی فناپذیر است که می‌توان آن را از رویان، جنین یا فرد بالغ به دست آورد. توانایی خود-نوسازی طی مدت زمان طولانی و ظرفیت تمایز به سلول‌های تخصصی گوناگون تحت شرایط القایی خاص، از ویژگی‌های مهم و ارزشمند این سلول‌ها محسوب می‌شود. این سلول‌ها توانایی تقسیم نامحدود دارند و به این ترتیب، در حالت نامتمایز باقی می‌مانند. سلول‌های بنیادی فرد بالغ در بافت‌ها و دستگاه‌های مختلف بدن نظیر مغز استخوان، خون بند ناف و بافت چربی یافت می‌شوند (۱۳-۱۴). سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به دلیل دسترسی آسان، توانایی تکثیر بالا و تعداد فراوان، از مزیت مناسبی جهت مطالعات تحقیقی برخوردار می‌باشند.

با توجه به این که در مطالعات اخیر، تنها تأثیر میدان‌های کم فرکانس بر سرعت رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مورد بررسی قرار گرفته (۱۵-۱۶) و تا کنون، گزارشی مبنی بر اثر امواج GSM ۹۰۰ مگاهرتز آنتن‌های گیرنده-فرستنده‌ی سیستم تلفن همراه بر عملکرد سلول‌های بنیادی منتشر نشده است، همچنین با توجه به نتایج تحقیقات متناقض و متفاوت، هدف اصلی این مطالعه، بررسی اثر تابش گیری با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز (برابر با امواج تابش شده از آنتن‌های گیرنده-فرستنده‌ی تلفن همراه) بر سرعت رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی در محیط آزمایشگاهی بود.

بسیاری برای انسان شده است. این تابش‌ها در شدت‌های گوناگون و در دامنه‌ی فرکانسی مایکروویو ۳۰۰ مگاهرتز تا ۳۰۰ گیگاهرتز عمل می‌کند و تابش‌های الکترومغناطیس نشر شده از امواج رادیوفرکانس (Radiofrequency electromagnetic fields یا RF-EMF) نامیده می‌شود (۱-۲). واحد اندازه‌گیری اصلی مقدار انرژی امواج رادیویی سرعت جذب اختصاصی (Specific absorption rate یا SAR) نام دارد که به معنای میزان انرژی جذب شده یا اندازه‌ی گرمای تولید شده در هر کیلوگرم بافت بدن است. بنابراین، SAR بدن، به عنوان یک محدودیت پایه اهمیت دارد (۳).

مطالعات انجام شده در نواحی نزدیک آنتن‌های تلفن همراه نشان می‌دهد که بیشترین تأثیرات این آنتن‌ها روی سلول‌ها و بافت‌های زنده، ناشی از اثرات غیرگرمایی (Non-thermal effect) آن‌ها است (۳-۴). در این میان، سیستم جهانی ارتباطات آنتن‌های گیرنده-فرستنده تلفن همراه، Global system for mobile communication (GSM) نامیده می‌شود و با قدرت توان ۱-۲ وات، دارای بازه‌ی فرکانسی ۹۰۰-۱۸۰۰ مگاهرتز می‌باشد (۲). از این رو، فراگیر شدن تابش میدان‌های الکترومغناطیس در محیط زندگی بشر، توجه دانشمندان و محققین را به مطالعات اپیدمیولوژیک و آزمایشگاهی (In-vitro) بر تأثیر آن‌ها در روند رو به رشد بروز انواع سرطان‌ها جلب کرده است (۵).

بر اساس نتایج بسیاری از مطالعات، تشعشعات ۹۰۰ مگاهرتزی مایکروویو GSM اثرات سوء متفاوتی نظیر آسیب‌های کروموزومی، شکست‌های تک رشته‌ای و دو رشته‌ای DNA و افزایش جهش و خطر ابتلا به انواع سرطان را در جانوران ایجاد می‌کند (۱۱-۶)؛ اگرچه، Scarfi و همکاران پس از بررسی

روش‌ها

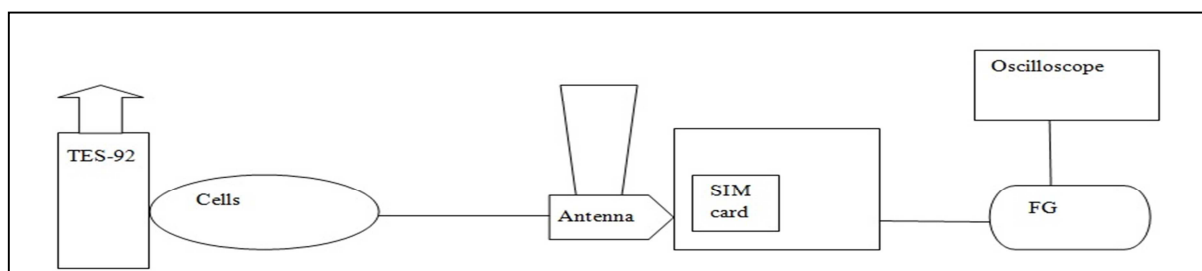
از دستگاه شبیه‌ساز امواج تلفن همراه (گروه فیزیک پزشکی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان) برای ایجاد فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز با پالس ۲۱۷ هرتز (فرکانس مدولاسیون) و پهنای بانده ۲۰۰ کیلوهرتز استفاده شد.

عملکرد دستگاه بدین گونه بود که در قسمت پشتی دستگاه، یک عدد سیم کارت (Subscriber identity module) تعبیه شده بود. به منظور تولید فرکانس مدولاسیون برای سیستم RF، دستگاه شبیه‌ساز با کابل کوآکسیال به فانکشن ژنراتور مدل MFG- 8215 A متصل گردید. فانکشن ژنراتور، به منظور ایجاد مدولاسیون برای GSM ۹۰۰ مگاهرتز، در فرکانس تکرار پالس (PRF) برابر ۲۱۷ Hz و Duty cycle مساوی ۵۰ درصد به صورت شکل موج مربعی و دامنه‌ی ولتاژ ورودی ۱/۵ V تنظیم شد. به منظور تأیید شکل موج ورودی، فانکشن ژنراتور به اسیلوسکوپ مدل Oscilloscope 8203 متصل گردید. تمام مشخصه‌های انتخابی، روی صفحه‌ی نمایش اسیلوسکوپ به اثبات رسید. آنتن دستگاه با توان ورودی ۲ وات در قسمت کناری دستگاه ثابت شد. به منظور جلوگیری از تابش‌گیری‌های ناخواسته، تمام اندازه‌گیری‌ها داخل محفظه‌ی مستطیل شکل چوبی با ابعاد ۱۶ × ۱۴ × ۹۰ سانتی‌متر انجام گرفت.

محفظه‌ی چوبی از ورود تابش‌های زمینه از محیط بیرونی جعبه به داخل جلوگیری می‌کرد.

در شکل ۱، دیاگرامی از سیستم تابش نشان داده شده است. اندازه‌گیری چگالی توان، شدت میدان الکتریکی و شدت میدان مغناطیسی در فاصله ۲۰ سانتی‌متری نمونه از آنتن با استفاده از تسلامتر مدل Electrosmog Meter TES-92 انجام گرفت. دمای داخل محفظه‌ی چوبی در حین آزمایش با دماسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری شد و تغییرات دمای حاصل از گروه شاهد و گروه‌های تحت تابش به میزان ۰/۷ درجه‌ی سانتی‌گراد اختلاف نشان داد که قابل چشم‌پوشی بود و در نتیجه، مطالعه‌ی حاضر به عنوان یک مطالعه‌ی غیرگرمایمی (Non-thermal) در نظر گرفته شد. قبل از تابش امواج الکترومغناطیس (RF-EMF)، مقدار اندازه‌گیری شده برای میدان مدولاسیون، برابر با شدت میدان الکتریکی $0.12 \pm 0.11 \text{ mV/m}$ و شدت میدان مغناطیسی $0.02 \pm 0.04 \text{ } \mu\text{A/m}$ برآورد گردید. در حین تابش GSM ۹۰۰ مگاهرتز، چگالی توان برابر $0.03 \pm 0.04 \text{ } \mu\text{W/cm}^2$ اندازه‌گیری شد.

ابتدا، سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در گروه علوم تشریح دانشکده‌ی پزشکی اصفهان، که در مطالعات قبلی در تانک ازت فریز شده بود (۱۸-۱۷)، از حالت انجماد خارج شد و در محیط کشت (Dulbecco's modified Eagle's medium) DMEM



شکل ۱. دیاگرام سیستم تابش؛ از چپ به راست، تسلامتر - سلول‌ها - آنتن - سیستم تابش به همراه سیم کارت - فانکشن ژنراتور - اسیلوسکوپ

PBS (Phosphate buffered saline) یک بار شستشو داده شد و محیط کشت جدید، به مقدار ۴۰۰ میکرولیتر همراه با ۴۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ mg/ml در هر چاهک ریخته شد و ۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO₂ ۵ درصد قرار داده شد. پس از طی این زمان، پلیت‌های ۲۴ چاهکی از انکوباتور خارج شد و محلول داخل چاهک‌ها تخلیه و ۴۰۰ میکرولیتر محلول DMSO (Dimethyl sulfoxide) به هر چاهک افزوده شد و به مدت ۲ ساعت، در تاریکی در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر محلول هر چاهک به پلیت ۹۶ چاهکی منتقل گردید. میزان جذب نوری نمونه، توسط دستگاه ELISA Microplate Reader (Enzyme-linked immunoassay) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانش شد و درصد قدرت بقای سلول‌ها (Viability) محاسبه گردید.

قبل از انجام آزمون Trypan blue، محیط هر چاهک تخلیه و دو بار، با ۱۰۰ میکرولیتر محلول PBS شستشو گردید. ۵۰ میکرولیتر محلول تریپسین EDTA (Ethylenedinitrilotetraacetic acid) در هر چاهک ریخته و به مدت ۴ تا ۵ دقیقه انکوبه شد. پس از زمان مقرر، ۵۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی FBS نیز به هر چاهک افزوده شد و به خوبی با پیت پاستور، پیت گردید تا تریپسین خنثی شود. ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی با ۱۰ میکرولیتر رنگ Trypan blue (۰/۴ درصد Merck) روی یک لام مخلوط شد و سپس، ۱۰ میکرولیتر از مخلوط با کمک لام نئوبار شمارش گردید. سلول‌هایی که رنگ آبی را جذب نکردند، به عنوان سلول‌های زنده

حاوی FBS (Fetal bovine serum) ۱۰ درصد و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک، در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO₂ ۵ درصد کشت داده شد. سپس، با تکثیر و افزایش سلولی از طریق تریپسینه کردن، سلول‌ها جدا شد و شمارش سلولی با لام نئوبار انجام گردید.

سلول‌ها در پلیت‌های ۲۴ چاهکی با دانسیته ۱۰^۴ سلول در هر چاهک، به همراه ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی FBS کشت شد و به مدت یک شبانه‌روز انکوبه گردید؛ سپس، تحت تابش امواج الکترومغناطیس، با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز در فاصله‌ی ۲۰ سانتی‌متری از آنتن برای ۵ روز متوالی قرار گرفت. سلول‌های تحت تابش، شامل ۳ گروه بود. گروه اول تحت تابش ۶ دقیقه در روز، گروه دوم ابتدا تحت تابش ۶ دقیقه و سپس با توقف زمانی ۱۰ دقیقه، تحت تابش ۱۶ دقیقه در روز و گروه سوم تحت تابش‌های ۶، ۱۶ و ۲۱ دقیقه در روز قرار گرفتند که فاصله‌ی زمانی بین هر تابش نیز ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. زمان‌های کوتاه تابش برای تمام گروه‌ها طی ۵ روز متوالی صورت گرفت. گروه شاهد در فاصله‌ی ۲۰ سانتی‌متری از آنتن خاموش، که فاقد تابش بود، به مدت ۶، ۱۶ و ۲۱ دقیقه در روز قرار گرفت و شرایط برای گروه‌های تحت تابش و شاهد یکسان بود.

برای ارزیابی میزان تکثیر سلول‌های تحت تابش و شاهد از روش MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] استفاده شد. بدین صورت که پس از ۵ روز، تأثیر امواج بر سلول‌های تحت تابش و شاهد، محیط کشت رویی تخلیه گردید، هر چاهک با ۴۰۰ میکرولیتر محلول



شکل ۳. بررسی‌های مورفولوژیک؛ الف: گروه شاهد،
ب: گروه تحت تابش

مورفولوژی سلول‌های تحت تابش و شاهد به صورت دوکی شکل و فیروبلاستیک مشاهده شد.

بررسی درصد قدرت بقای سلولی (Cell viability)

برای بررسی میزان حیات سلول‌ها پس از تابش امواج الکترومغناطیس در پایان ۵ روز متوالی، از روش MTT استفاده شد. درصد قدرت بقای سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از بافت چربی انسانی در همه‌ی گروه‌های تابش، به جز گروه ۶ دقیقه تابش، به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P < 0/05$) (شکل ۴).

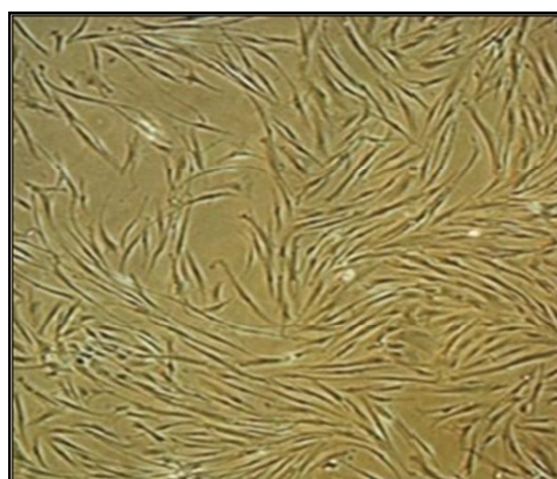
شمارش شدند و سلول‌هایی که رنگ آبی داشتند، به عنوان سلول‌های مرده تلقی شدند.

میانگین و انحراف معیار استاندارد توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, SPSS Inc., Chicago, IL) محاسبه شد. در مورد داده‌های پارامتریک، از آنالیز واریانس یک طرفه و به منظور ردیابی محل اختلاف بین گروه‌ها، از یکی از تست‌های Post hoc (Scheffe) استفاده گردید. اختلاف میانگین داده‌ها، در صورت وجود $P < 0/05$ معنی‌دار محسوب شد.

یافته‌ها

بررسی مورفولوژی سلول‌ها پس از تابش با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز

سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی با تراکم ۸۰ درصد در کف فلاسک کشت، ظاهر دوکی شکل نشان دادند (شکل ۲). بررسی‌ها با میکروسکوپ فاز کنتراست انجام گردید و بین مورفولوژی سلول‌ها در گروه‌های تحت تابش و گروه شاهد تفاوتی مشاهده نشد (شکل ۳).



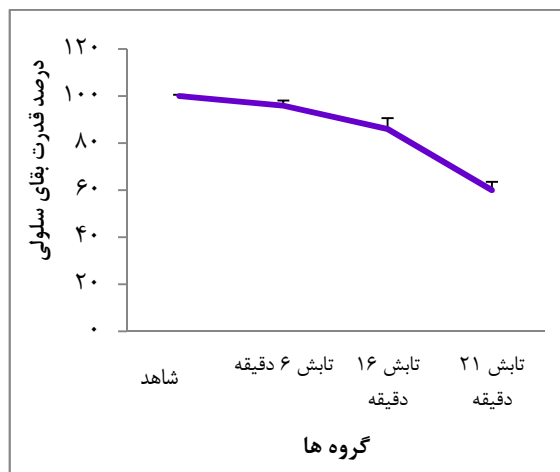
شکل ۲. تراکم ۸۰ درصد سلول‌ها در کف فلاسک کشت به همراه مورفولوژی فیروبلاستیک

بحث

امواج الکترومغناطیس، به دلیل نداشتن انرژی کافی جهت یونیزاسیون مولکول‌ها، جزء تابش‌های غیر یونیزان می‌باشند (۲۰-۱۹) که در آن‌ها، دز تابشی با تغییر شدت میدان، مدت زمان و فرکانس تابش و تعداد تابش‌ها خواهد کرد (۲۲-۲۱).

در این مطالعه، ۳ گروه با زمان‌های مختلف تابش ۶، ۱۶ و ۲۱ دقیقه در روز، به مدت ۵ روز متوالی بررسی شدند. بدین صورت که، گروه اول یک بار در روز تحت تابش ۶ دقیقه، گروه دوم ابتدا تحت تابش ۶ دقیقه و به فاصله زمانی توقف ۱۰ دقیقه، تحت تابش ۱۶ دقیقه و گروه سوم به ترتیب و با فاصله‌ی زمانی ۱۰ دقیقه، تحت تابش‌های ۶، ۱۶ و ۲۱ دقیقه در روز قرار گرفتند. در این مطالعه، تمام تابش‌ها در فاصله‌ی ۲۰ سانتی متری از آنتن انجام گرفت و شدت تابش $0.3 \pm 354/6 \mu W/cm^2$ اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب، پارامتر فاصله و شدت یکسان بود و طول زمان تابش و تعداد دفعات تابش، مورد بررسی قرار گرفت.

برای بررسی سرعت تکثیر و رشد، از دو روش MTT و رنگ‌آمیزی Trypan blue استفاده گردید. در هر دو روش، سرعت تکثیر در گروه‌های تحت تابش ۱۶ و ۲۱ دقیقه در روز، به مدت ۵ روز متوالی، به طور معنی‌داری کمتر از سرعت تکثیر در گروه‌های شاهد بود. ولی، بین گروه ۶ دقیقه تابش در روز، به مدت ۵ روز متوالی، با گروه شاهد هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این در حالی بود که سرعت تکثیر در گروه ۲۱ دقیقه تابش در روز، از گروه ۱۶ دقیقه تابش، به طور معنی‌داری کمتر بود. این اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های تابش، بیانگر این



شکل ۴. بررسی درصد میانگین \pm انحراف استاندارد قدرت بقای سلول‌های تحت تابش با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز با روش MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]. درصد بقای سلول‌ها در تمامی گروه‌های تابش، به جز گروه ۶ دقیقه تابش در روز، به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P < 0/05$)

بررسی سرعت تکثیر سلول‌ها با استفاده از

رنگ‌آمیزی Trypan blue

شمارش سلول‌های زنده پس از تابش با GSM ۹۰۰ مگاهرتز در طی ۵ روز متوالی، با استفاده از روش Trypan blue، گویای این واقعیت بود که سرعت تکثیر سلول‌ها در تمامی گروه‌های تابش، غیر از گروه ۶ دقیقه تابش، به طور معنی‌داری کمتر از سرعت تکثیر سلول‌ها در گروه شاهد بود. همانند نتایج به دست آمده از روش MTT، که درصد بقای سلولی در گروه ۶ دقیقه تابش با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت، در روش رنگ‌آمیزی Trypan blue نیز سرعت تکثیر در گروه ۶ دقیقه تابش با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری پیدا نکرد (جدول ۱).

شمارش سلول‌های زنده نسبت به کل سلول‌ها در تمامی گروه‌های تابش، به جز گروه ۶ دقیقه تابش در روز، به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود ($P < 0/05$).

جدول ۱. بررسی میزان سرعت تکثیر سلول‌های زنده و مرده با استفاده از رنگ آمیزی Trypan blue

سرعت تکثیر (درصد میانگین \pm انحراف استاندارد)		
سلول‌های زنده	سلول‌های مرده	
۴۶/۸۷ \pm ۳/۶۰	۵۳/۱۲ \pm ۳/۶۰	گروه شاهد
۴۵/۴۸ \pm ۳/۰۲	۵۴/۵۱ \pm ۳/۰۲	گروه ۶ دقیقه تابش
۳۵/۹۳ \pm ۳/۱۲	۶۴/۰۶ \pm ۳/۱۲	گروه ۱۶ دقیقه تابش
۲۶/۵۰ \pm ۳/۸۶	۷۳/۴۴ \pm ۳/۸۶	گروه ۲۱ دقیقه تابش

مشتق از بافت چربی، با GSM ۹۰۰ مگاهرتز پیرامون شدت $۳۵۴/۶ \mu\text{w}/\text{cm}^2$ واقع شده است.

نتایج این مطالعه مطابق با نتایج مطالعه‌ی Panagopoulos و Margaritis نشان داد، در فاصله‌ی زمانی ۱-۲۱ دقیقه، سرعت تکثیر با افزایش زمان تابش دهی کاهش می‌یابد و زمان‌های کوتاه تابش دهی، به عنوان یک اثر تجمعی روی حیات ارگانسیم‌ها مؤثر می‌باشد (۲۳)؛ اگرچه از طرف دیگر، در نتایجی متناقض، Panagopoulos و Margaritis در یک بررسی دیگر، با القای فرکانس ۱۸۰۰ مگاهرتز، هیچ آسیبی مبنی بر کاهش سطح عملکرد سلول مشاهده نکردند (۲۴). در مطالعه‌ی متناقض دیگری نیز، القای فرکانس ۱۹۵۰ مگاهرتز روی سلول‌های لیکوسیت در محیط In-vitro به مدت ۲۴ تا ۶۸ ساعت، باعث ترمیم آسیب‌های DNA در مراحل مختلف سیکل سلولی شده است (۲۵). مطالعه‌ی دیگری هم نشان داده است که امواج الکترومغناطیسی، تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال را افزایش می‌دهد (۲۶).

Reactive oxygen species (ROS) با فعال کردن میزان استرس کیناز MAPK p38 (p38 Mitogen-activated protein kinase)، مسیر کینازهای تنظیم کننده‌ی علائم سلولی را برای فسفوریلاسیون پروتئین‌های شوک گرمایی تحریک کرده، مرگ برنامه‌ریزی شده را مهار می‌کند، مهار

حقیقت است که بین گروه‌های تابش نیز با افزایش زمان و تعداد دفعات تابش، سرعت تکثیر کاهش می‌یافت و یک روند به نسبت خطی نزولی بین زمان‌های تابش با سرعت تکثیر وجود داشت. نکته‌ی مهم این که، نمی‌توان نتیجه گرفت که با زمان تابش طولانی‌تر از ۲۱ دقیقه، سرعت تکثیر باز هم کاهش یابد؛ ممکن است بعد از یک مدت زمان خاص، تابش دهی به حد اشباع برسد و سرعت تکثیر ثابت بماند. با این حال، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که تا مدت زمان تابش ۲۱ دقیقه در روز، اثرات کاهش بقا مشاهده می‌شود.

پاسخ سیستم‌های بیولوژیک به تابش امواج الکترومغناطیسی در شدت‌های با فرکانس بالا، زمان‌های تابش متوالی و فرکانس‌های خاصی از تابش‌های رادیوفرکانسی، بیشترین مقدار می‌باشد که اثر پنجره‌ای نام دارد (۲۲-۲۳). مطالعات در این زمینه نشان می‌دهد که پنجره‌ی فعالیت‌های بیولوژیک در هر نوع سلولی، در واقع از یک شدت خاص ناشی می‌شود. افزایش فعالیت‌های بیولوژیک پیرامون پنجره شدت، به فاصله‌ی منبع تابش و سایر پارامترهای فیزیکی وابسته است؛ از این رو، فرضیه‌های مختلف برای شرح و توصیف پنجره‌ی شدت، رو به افزایش است (۲۴). به نظر می‌رسد که پنجره‌ی شدت در مطالعه‌ی حاضر برای سلول‌های بنیادی مزانشیمی

الکترومغناطیس با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز در فاصله‌ی ۲۰ سانتی‌متری از آنتن، در طی ۵ روز متوالی، باعث کاهش درصد بقا و سرعت تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از بافت چربی انسانی می‌شود؛ درصد تأثیرات می‌تواند، با تعداد دفعات تابش در روز و طول مدت تابش، متفاوت باشد. لذا، به منظور حفاظت در برابر اثرات احتمالی پرتوهای تلفن همراه، لازم است کاربران در هنگام استفاده از تلفن همراه، محتاطانه رفتار کنند و به منظور کاهش آثار مخرب، فاصله و طول زمان تابش و تعداد مکالمات در روز را مد نظر قرار دهند. با توجه به وابستگی میزان تابش به شدت، فرکانس و زمان‌های متفاوت تابش‌دهی، پیشنهاد می‌شود تا مطالعات بعدی با پروتکل‌های متفاوتی نظیر تغییر در فرکانس تابش و در زمان‌های مختلف تابش بر سلول‌های بنیادی انجام شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد زینب السادات احمدی به شماره‌ی ۳۹۳۰۵۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. بدین‌وسیله از همکاری مسئول محترم آزمایشگاه کشت سلولی، سرکار خانم علی اکبری، تشکر و قدردانی می‌شود.

آپوتوز سرطان‌زایی را پیش می‌برد و سبب بقای سلول‌هایی با DNA تخریب شده می‌گردد (۲۷، ۸). تابش GSM ۱۸۰۰ مگاهرتز روی سلول‌های آندوتلیال نشان نیز داده که محتوای پروتئینی سلول‌ها تغییرات اندکی داشته است (۲۸).

گزارش متفاوت دیگر در مورد سلول‌های عصبی به این نکته اشاره دارد که تابش، در میزان افزایش آنتی‌اکسیدان القا شده به سلول‌های عصبی هیچ تأثیری ندارد (۲۹). همچنین، مطالعات نشان می‌دهد که سلول‌هایی با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتر، آسیب‌پذیری کمتری در برابر امواج الکترومغناطیس نشان می‌دهند. در بسیاری از موارد، تولید رادیکال‌های آزاد توسط امواج الکترومغناطیس را دلیلی برای بروز انواع مختلفی از سرطان‌ها می‌دانند (۳۰).

به نظر می‌رسد، علت اصلی تناقض بین نتایج آزمایشات مختلف، مربوط به تفاوت شرایط مطالعه، به ویژه تغییر فرکانس، شدت و نوع امواج، طول مدت پرتودهی، نوع سلول مورد آزمایش و نوع میدان مولد امواج الکترومغناطیس باشد (۱۵، ۴).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تابش میدان

References

1. Mailankot M, Kunnath AP, Jayalekshmi H, Koduru B, Valsalan R. Radio frequency electromagnetic radiation (RF-EMR) from GSM (0.9/1.8GHz) mobile phones induces oxidative stress and reduces sperm motility in rats. Clinics (Sao Paulo) 2009; 64(6): 561-5.
2. Verschaeve L. Genetic damage in subjects exposed to radiofrequency radiation. Mutat Res 2009; 681(2-3): 259-70.
3. Shahbazi-Gahrouei D, Mortazavi SM, Nasri H, Baradaran A, Baradaran-Ghahfarokhi M, Baradaran-Ghahfarokhi HR. Mobile phone radiation interferes laboratory immunoenzymometric assays: Example chorionic gonadotropin assays. Pathophysiology 2012; 19(1): 43-7.
4. Shahbazi-Gahrouei D, Karbalae M, Moradi HA, Baradaran-Ghahfarokhi M. Health effects of living near mobile phone base transceiver station (BTS) antennae: a report from Isfahan, Iran. Electromagn Biol Med 2014; 33(3): 206-10.
5. Ni S, Yu Y, Zhang Y, Wu W, Lai K, Yao K. Study of oxidative stress in human lens epithelial cells exposed to 1.8 GHz radiofrequency fields. PLoS One 2013; 8(8): e72370.
6. Baan R, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El GF, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, et al.

- Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields. *Lancet Oncol* 2011; 12(7): 624-6.
7. Jiang B, Nie J, Zhou Z, Zhang J, Tong J, Cao Y. Adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: primary DNA damage. *PLoS One* 2012; 7(2): e32040.
 8. Luukkonen J, Hakulinen P, Maki-Paakkanen J, Juutilainen J, Naarala J. Enhancement of chemically induced reactive oxygen species production and DNA damage in human SH-SY5Y neuroblastoma cells by 872 MHz radiofrequency radiation. *Mutat Res* 2009; 662(1-2): 54-8.
 9. Phillips JL, Singh NP, Lai H. Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology* 2009; 16(2-3): 79-88.
 10. Zhijian C, Xiaoxue L, Yezhen L, Shijie C, Lifan J, Jianlin L, et al. Impact of 1.8-GHz radiofrequency radiation (RFR) on DNA damage and repair induced by doxorubicin in human B-cell lymphoblastoid cells. *Mutat Res* 2010; 695(1-2): 16-21.
 11. Amara S, Douki T, Garrel C, Favier A, Ben RK, Sakly M, et al. Effects of static magnetic field and cadmium on oxidative stress and DNA damage in rat cortex brain and hippocampus. *Toxicol Ind Health* 2011; 27(2): 99-106.
 12. Scarfi MR, Freseghna AM, Villani P, Pinto R, Marino C, Sarti M, et al. Exposure to radiofrequency radiation (900 MHz, GSM signal) does not affect micronucleus frequency and cell proliferation in human peripheral blood lymphocytes: an interlaboratory study. *Radiat Res* 2006; 165(6): 655-63.
 13. Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Hedrick MH. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol* 2006; 24(4): 150-4.
 14. Romanov YA, Darevska AN, Merzlikina NV, Buravkova LB. Mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue: isolation, characterization, and differentiation potentialities. *Bull Exp Biol Med* 2005; 140(1): 138-43.
 15. Razavi S, Salimi M, Shahbazi-Gahrouei D, Karbasi S, Kermani S. Extremely low-frequency electromagnetic field influences the survival and proliferation effect of human adipose derived stem cells. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 25.
 16. Shahbazi-Gahrouei D, Razavi S, Salimi M. Effect of extremely low-frequency (50 Hz) field on proliferation rate of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Radiobiology* 2014; 1(2): 31-7.
 17. Esfandiary E, Valiani A, Hashemibeni B, Moradi I, Narimani M. The evaluation of toxicity of carbon nanotubes on the human adipose-derived-stem cells in-vitro. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 40.
 18. Razavi S, Jahromi M, Amirpour N, Khosravizadeh Z. Effect of sertraline on proliferation and neurogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 97.
 19. Mann K, Roschke J. Sleep under exposure to high-frequency electromagnetic fields. *Sleep Med Rev* 2004; 8(2): 95-107.
 20. Noriega-Luna B, Sabanero M, Sosa M, Avila-Rodriguez M. Influence of pulsed magnetic fields on the morphology of bone cells in early stages of growth. *Micron* 2011; 42(6): 600-7.
 21. Jin Z, Zong C, Jiang B, Zhou Z, Tong J, Cao Y. The effect of combined exposure of 900 MHz radiofrequency fields and doxorubicin in HL-60 cells. *PLoS One* 2012; 7(9): e46102.
 22. Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Margaritis LH. Bioeffects of mobile telephony radiation in relation to its intensity or distance from the antenna. *Int J Radiat Biol* 2010; 86(5): 345-57.
 23. Panagopoulos DJ, Margaritis LH. The effect of exposure duration on the biological activity of mobile telephony radiation. *Mutat Res* 2010; 699(1-2): 17-22.
 24. Panagopoulos DJ, Margaritis LH. The identification of an intensity 'window' on the bioeffects of mobile telephony radiation. *Int J Radiat Biol* 2010; 86(5): 358-66.
 25. Xu S, Chen G, Chen C, Sun C, Zhang D, Murbach M, et al. Cell type-dependent induction of DNA damage by 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields does not result in significant cellular dysfunctions. *PLoS One* 2013; 8(1): e54906.
 26. Zeni O, Schiavoni A, Perrotta A, Forigo D, Deplano M, Scarfi MR. Evaluation of genotoxic effects in human leukocytes after in vitro exposure to 1950 MHz UMTS radiofrequency field. *Bioelectromagnetics* 2008; 29(3): 177-84.
 27. Rezaei PF, Fouladdel S, Cristofanon S, Ghaffari SM, Amin GR, Azizi E. Comparative cellular and molecular analysis of cytotoxicity and apoptosis induction by doxorubicin and Baneh in human breast cancer T47D cells. *Cytotechnology* 2011; 63(5): 503-12.
 28. Nylund R, Kuster N, Leszczynski D. Analysis of proteome response to the mobile phone radiation in two types of human primary endothelial cells. *Proteome Sci* 2010; 8: 52.
 29. Kang KA, Lee HC, Lee JJ, Hong MN, Park MJ, Lee YS, et al. Effects of combined radiofrequency radiation exposure on levels of reactive oxygen species in neuronal cells. *J Radiat Res* 2014; 55(2): 265-76.
 30. Senthil K, V, Arulmathi K, Srividhya R, Kalaiselvi P. Repletion of antioxidant status by EGCG and retardation of oxidative damage induced macromolecular anomalies in aged rats. *Exp Gerontol* 2008; 43(3): 176-83.

Effects of Exposure to 900-MHz Mobile-Telephony Radiation on Growth and Metabolism of Human-Adipose-Derived Stem Cells

Zeinab-alsadat Ahmadi¹, Daryoush Shahbazi-Gahrouei PhD², Batool Hashmibeni PhD²,
Mojtaba Karbalae MSc¹

Original Article

Abstract

Background: Today, using of mobile phones has an important role in human life and public concern about the harmful effects of radiation emitted by these devices is growing. In addition, protecting questions and biological effects are among growing concerns that have remained largely unanswered. Stem cells are useful models to assess the effects of radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) on other cell lines. Adipose tissue represents an abundant and accessible source of adult stem cells. Therefore, this study was performed on adipose-derived stem cells (ADSCs).

Methods: ADSCs were exposed to global system mobile communication (GSM) mobile phones 900 MHz with intensity of 354.6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ waves (217 Hz pulse frequency, 50% duty cycle), during different exposure times, ranging from 6 to 21 minutes/day for 5 days at 20 cm distance from the antenna. MTT assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] was used to determine the growth and metabolism of cells and trypan blue test was also done for cell viability. Statistical analyses were carried out using analysis of one-way ANOVA. $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Findings: The proliferation rates of human ADSCs in all exposure groups were significantly lower than control groups ($P < 0.05$); except in the group of 6 minutes/day that did not have significant difference with control groups.

Conclusion: The results show that 900 MHz radiofrequency signal radiation from antenna can reduce cell viability and proliferation rates of the human ADSCs regarding the duration of exposure.

Keywords: Adipose-derived stem cells, Radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF), Antenna, Cell viability

Citation: Ahmadi Z, Shahbazi-Gahrouei D, Hashmibeni B, Karbalae M. **Effects of Exposure to 900-MHz Mobile-Telephony Radiation on Growth and Metabolism of Human-Adipose-Derived Stem Cells.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(316): 2269-78

1- MSc Student, Department of Medical Physics, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- PhD Student, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Daryoush Shahbazi-Gahrouei PhD, Email: shahbazi@med.mui.ac.ir