

مطالعه و آشکارسازی امواج الکترومغناطیسی ساطع شده از سلول‌های HT-29 تحت تأثیر تریپسین

زهرا علی نسب^۱، دکتر احمد شائنی^۲، دکتر وحید سالاری^۳، دکتر علی کیانی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سلول‌های موجودات زنده علاوه بر روش‌های شیمیایی و الکتریکی، از طریق تابش امواج الکترومغناطیسی نیز با یکدیگر ارتباط برقرار می‌کنند. در مطالعه‌ی حاضر، این امواج «بیوفوتون» نامیده می‌شوند. آشکارسازی این امواج، نشان می‌دهد سلول‌ها در حال تقسیم، جراثیم و یا مرگ، نسبت به زمانی که سالمند، شدت امواج بیشتری ساطع می‌کنند. هدف از انجام این مطالعه، آشکارسازی امواج بیوفوتون ساطع شده از سلول‌های HT-29 تحت تأثیر تریپسین بود.

روش‌ها: تریپسین، عاملی برای مرگ تدریجی سلول‌ها می‌باشد. این مطالعه بر روی سلول‌های HT-29 و تحت ۳ گروه انجام شد. در گروه اول، سلول‌ها تحت تأثیر تریپسین قرار گرفتند. در گروه دوم، سلول‌ها در معرض تریپسین نبودند و در گروه سوم، پلیت خالی از سلول، برای اندازه‌گیری تابش زمینه در نظر گرفته شد. برای این منظور، امواج ساطع شده از ۳ گروه با استفاده از دستگاه Photomultiplier tubes (PMT) اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه گردید.

یافته‌ها: محاسبه میانگین و انحراف معیار سطح کل فوتون‌های ساطع شده نشان داد که گروه حاوی تریپسین، میزان امواج بیشتری ($P < 0.05$) را به نسبت گروه بدون تریپسین و تابش زمینه، از خود ساطع نمود. همچنین، با افزایش زمان، میزان فوتون ساطع شده نیز افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: هنگامی که سلول‌ها تحت تأثیر تریپسین قرار می‌گیرند، میزان امواج ساطع شده از آن‌ها افزایش می‌یابد. به دلیل این که با گذشت زمان، سلول‌های بیشتری در آستانه‌ی مرگ قرار می‌گیرند، میزان امواج ساطع شده از سلول‌های تحت تریپسین، به طور چشم‌گیری نسبت به سلول‌های بدون تریپسین، افزایش می‌یابد.

واژگان کلیدی: امواج بیوفوتون، تریپسین، HT-29، Photomultiplier tubes

ارجاع: علی نسب زهرا، شائنی احمد، سالاری وحید، کیانی علی. مطالعه و آشکارسازی امواج الکترومغناطیسی ساطع شده از سلول‌های HT-29

تحت تأثیر تریپسین. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۴): ۲۴-۲۲۱۹

مقدمه

ساطع شده از امواج بیوفوتون از یک سلول، محدوده‌ی بسیار گسترده‌ای از Ultraviolet (UV-C و UV-A) تا محدوده‌ی مرئی و ناحیه‌ی مادون قرمز طیف را در بر می‌گیرد (۳).

اگر چه منشأ تولید این امواج به طور کامل مشخص نیست (۴)، اما در این زمینه، دو نظریه وجود دارد. طبق نظریه‌ی اول، منبع تولید این امواج DNA سلول‌ها می‌باشد (۵). ترکیبات DNA و RNA و تغییر کروماتین، مسؤول تولید امواج بیوفوتون درون سلول‌ها هستند. در حالی که نظریه‌ی دوم، دلیل انتشار این امواج را برهم‌کنش Reactive oxygen species (ROS) و Reactive nitrogen species (RNS) در سلول می‌داند (۶-۷).

مطالعات اندکی به بررسی تأثیر امواج بیوفوتون ساطع شده از

تا کنون تحقیقات بسیاری راجع به جنبه‌های برهم‌کنش شیمیایی و الکتریکی سلول‌ها بر روی یکدیگر انجام شده است، اما سلول‌ها علاوه بر روش‌های ملکولی، از طریق امواج الکترومغناطیسی نیز با یکدیگر ارتباط برقرار می‌کنند که در این مطالعه امواج بیوفوتون نامیده می‌شوند. در دهه‌ی دوم قرن بیستم، دانشمندی به نام Alexander Gurvitch، با انجام آزمایش‌های متعدد بر روی دو سری کشت سلول مربوط به دو ریشه‌ی پیاز مجزا از یکدیگر اما در مجاورت هم، نشان داد که سلول‌ها از لحاظ تقسیم سلولی و سرعت تکثیر بر هم تأثیر می‌گذارند (۱-۲). پدیده‌ی گسیل امواج بیوفوتون در تمام موجودات زنده و همچنین انسان اتفاق می‌افتد (۲). مطالعات نشان می‌دهد که طول موج

۱- دانشجوی کارشناس ارشد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه فیزیک، دانشکده‌ی فیزیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه فیزیک بهداشت مجتمع علوم کاربردی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر احمد شائنی

Email: shanei@med.mui.ac.ir

سلول‌های سرطانی از جهات مختلفی از جمله تنظیم رشد، شکل ظاهری، ویژگی‌های غشایی، پروتئین‌ها و بیان ژن‌ها، با سلول‌های طبیعی تفاوت دارند (۱۸). سرطان کولون، نوع بدخیمی است که از نظر تعداد بیماران مبتلا، سومین و از نظر تعداد مرگ و میر، چهارمین رتبه را در جهان به خود اختصاص داده است. این سرطان، اغلب به شکل پولیپ در سطح جداره‌ی داخلی روده‌ی بزرگ، ایجاد می‌شود و منشأ آن پوشش داخلی روده‌ی بزرگ است. این توده‌ها، اغلب غیر سرطانی هستند، اما اگر درمان نشوند، ممکن است به سرطان کولون تبدیل شوند (۱۹). تلاش‌های متعددی جهت درمان مؤثر این نوع سرطان انجام شده است و روش‌های درمانی آن شامل جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، هورمون‌درمانی و ایمنی‌درمانی می‌باشد. اگر چه در بیشتر موارد، جراحی از مؤثرترین روش‌های درمانی است، اما این نوع سرطان به طور معمول متاستاتیک می‌شود. بنا بر این، احتیاج به روش‌های جدید درمانی ضرورت می‌یابد (۲۰). از آن جمله می‌توان به آشکارسازی امواج بیوفوتون از سلول‌های سرطانی کولون اشاره نمود.

امروزه، از امواج الکترومغناطیس هم در تشخیص و هم در درمان استفاده می‌شود. از این رو، بررسی جنبه‌ی موجی سلول‌ها برای رسیدن به روش‌های تشخیصی و درمانی مناسب، بسیار سودمند است (۲۲-۲۱). البته لازم به ذکر است که امروزه از روش‌های مختلف تصویربرداری مانند Computed tomography scan (CT scan) و Positron emission tomography (PET) در اقدامات تشخیصی و درمانی بهره‌های فراوان برده می‌شود، اما اگر بتوان از امواج بیوفوتون به عنوان امواجی که از خود سلول ساطع می‌شود، برای رسیدن به روش‌های تشخیصی و درمانی استفاده کرد، گام مهمی در پیشبرد علم محسوب می‌شود؛ چرا که استفاده از این امواج، روشی غیر تهاجمی است. در نتیجه، بررسی هر چه بیشتر این امواج دست‌یابی به روش‌های تشخیصی و درمانی جدید را میسر می‌سازد.

از آن جایی که پژوهشی بر روی سلول‌های HT-29 و آشکارسازی میزان امواج ساطع شده از آن‌ها انجام پذیرفته بود، این مطالعه با هدف آشکارسازی امواج ساطع شده از سلول‌های سرطان کولون رده‌ی HT-29 تحت تأثیر تریپسین، انجام شد.

روش‌ها

کشت سلولی: در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، از سلول‌های سرطان کولون HT-29 جهت انجام پژوهش حاضر استفاده شد. سلول‌های سرطان کولون رده‌ی HT-29 (Human colorectal adenocarcinoma cell line HT-29) از انستیتو پاستور ایران، خریداری شد. ۸۹ درصد محیط کشت شامل سلول‌های HT-29 حاوی ۱۶۴۰ Roswell Park memorial institute

سلول‌ها و تأثیر این امواج بر رشد و تکثیر دیگر سلول‌ها پرداخته‌اند. بین سال‌های ۳۵-۱۹۲۰ بالغ بر ۵۰۰ مقاله‌ی علمی در این زمینه به چاپ رسید (۸). اولین آشکارسازی این امواج به سال ۱۹۱۶ باز می‌گردد. در آن زمان، Scheminzky با به کارگیری صفحات فتوگرافیک، به آشکارسازی بیوفوتون‌ها از فرایندهای بیوشیمیایی پرداخت (۹). پس از آن Bateman با معرفی آشکارساز حساس به Geiger-Muller UV، به آشکارسازی این امواج اقدام نمود (۱۰). از آن جایی که شدت بیوفوتون‌ها بین چند تا چند صد فوتون در سانتی‌متر مربع در ثانیه متفاوت است (که محدوده‌ی بسیار ضعیفی می‌باشد)، از این رو، آشکارسازی این امواج برای بیش از نیم قرن نادیده گرفته شد (۱۱).

هم‌اکنون با گسترش ابزارهایی همانند Photomultiplier tubes (PMT) و Charge-coupled devices (CCD) حتی امکان آشکارسازی یک تک فوتون نیز امکان پذیر شده است. در نتیجه، توجه و بررسی این امواج دوباره قوت گرفته است. Schauf و همکاران با به کارگیری PMT، امواج بیوفوتون را از نهال خیار آشکارسازی کردند (۱۲). Hideg نشان داد که برگ‌ها دارای کلروفیل، از خود امواج بیوفوتون ساطع می‌کنند که این امواج تولیدی، متفاوت از فلورسانس (که نور تابشی تأخیری است) می‌باشد (۱۳).

Yoshinagato و همکاران با القای عفونت به ذرت و آشکارسازی امواج الکترومغناطیس ساطع شده، پی بردند که شدت انتشار این امواج از بخش آسیب دیده‌ی گیاه به نسبت بخش سالم آن بیشتر است (۱۴). Cheun و همکاران، سلول‌های Madin-Darby canine kidney (MDCK) را تحت تأثیر H_2O_2 (Hydrogen peroxide) قرار دادند و میزان امواج بیوفوتون ساطع شده از آن را با استفاده از PMT و میکروسکوپ فلورسانس اندازه‌گیری کردند. آن‌ها دریافتند که شدت فوتون تابشی به میزان و غلظت H_2O_2 نیز بستگی دارد (۱۵).

Rastogi و Pospisil، با افزودن H_2O_2 و گلوکز اکسیداز بر روی سلول‌های ریشه‌ی تربچه، امواج بیوفوتون ساطع شده از آن‌ها را با PMT آشکارسازی کردند. آن‌ها دریافتند که افزودن H_2O_2 ، میزان امواج بیوفوتون را افزایش می‌دهد، در حالی که افزودن گلوکز اکسیداز، میزان این امواج را کاهش می‌دهد (۱۱).

تریپسین (Trypsin)، آنزیمی است که برای جدا نمودن سلول‌های چسبنده از کف ظرف در محیط آزمایشگاه استفاده می‌شود و همچنین، می‌تواند عاملی برای مرگ تدریجی سلول‌ها باشد (۱۶). تحقیقات نشان می‌دهد، هنگامی که یک ارگانیزم زنده در حال مرگ است، شدت امواج ساطع شده از آن، بسیار شدیدتر می‌شود و در لحظه‌ی مرگ، ناگهان صفر می‌گردد (۱۷). در این مقاله، برای این که سلول‌ها در آستانه‌ی مرگ قرار گیرند و تابش بیشتری ایجاد شود، از تریپسین استفاده گردید.

۲ دقیقه قبل از اندازه‌گیری، تریپسین به اضافه شد؛ چرا که به طور معمول، مدت زمان لازم برای جداسازی سلول‌های HT-29 از کف ظرف، ۲ دقیقه می‌باشد. سپس، برای جلوگیری از تداخل تشعشع محیط، نمونه درون فویل آلومینیومی پیچیده و داخل انکوباتور قرار داده شد تا برای آزمایش آماده گردد.

اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ (version 21, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون One-way ANOVA به منظور تفکیک گروه‌هایی که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند، تحلیل گردید و از آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری $P < 0/05$ استفاده شد.

یافته‌ها

شکل ۲، میانگین و انحراف معیار سطح کل فوتون‌های ساطع شده در گروه‌های شامل تریپسین، گروه بدون تریپسین و گروه تابش زمینه در مدت زمان آشکارسازی ۵ دقیقه را نشان می‌دهد.

همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در مدت زمان آشکارسازی ۵ دقیقه، سطح کل فوتون‌های ساطع شده از گروه سلولی که به آن تریپسین زده شده بود (سلول‌ها در آستانه‌ی مرگ قرار گرفتند)، به طور معنی‌داری بیشتر از گروه سلولی بدون تریپسین (سلول‌های سالم) بود ($P < 0/05$).



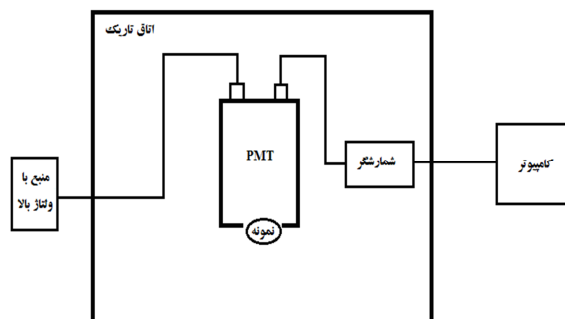
شکل ۲. میانگین و انحراف معیار سطح کل تابش امواج الکترومغناطیسی ثبت شده در گروه‌های شامل تریپسین، بدون تریپسین و تابش زمینه (زمان آشکارسازی ۵ دقیقه)

شکل ۳، میانگین و انحراف معیار سطح کل فوتون‌های ساطع شده در گروه‌های شامل تریپسین، گروه بدون تریپسین و گروه تابش زمینه را در زمان‌های مختلف آشکارسازی نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، سطح کل فوتون‌های ساطع شده در گروه‌های مختلف سلولی شامل تریپسین، بدون تریپسین و گروه تابش زمینه، فقط در زمان آشکارسازی ۵ دقیقه، با

(RPMI1640) (ساخت شرکت Bioido)، ۱۰ درصد آن شامل سرم جنین گاوی (FBS یا Fetal bovine serum) (ساخت شرکت Sigma) و ۱ درصد آن پنی‌سیلین (ساخت شرکت GIBCO) بود. سلول‌ها در فلاسک‌های ۲۵ میلی‌لیتری کشت سلول با درب فیلتردار استریل (ساخت Griner) که حاوی ۳-۴ میلی‌لیتر محیط کشت بودند، کشت داده شدند. سپس، سلول‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۹۰ درصد و دی‌اکسید کربن ۵ درصد قرار داده شدند. سلول‌ها پس از سه بار پاساژ و ۲۴ ساعت قبل از اندازه‌گیری در پلیت کشت سلول با قطر دهانه‌ی ۶ سانتی‌متر و به میزان ۵۰۰۰۰۰ سلول در هر پلیت، کشت داده شد.

اندازه‌گیری و روش اجرای آزمایش: اندازه‌گیری‌ها در ۳ گروه انجام گردید: در گروه اول، سلول‌ها تحت تأثیر تریپسین (ساخت شرکت GIBCO) به میزان ۲ میلی‌لیتر قرار گرفتند. در گروه دوم، سلول‌ها تحت تأثیر تریپسین قرار نگرفتند و در گروه سوم، پلیت‌ها خالی بودند تا بدین وسیله، تابش زمینه مشخص شود. سپس، امواج هر سه گروه با استفاده از دستگاه PMT آشکارسازی شد. در این پژوهش، PMT با مدل 9235 B Series data sheet و مشخصاتی از قبیل بیشینه‌ی پاسخ ۳۵۰ نانومتر با بازده کوانتومی ۳۰ درصد در بازه‌ی ۶۰۰-۲۵۰ نانومتر و با ولتاژ کارکرد ۸۲۰ ولت، مورد استفاده قرار گرفت. دستگاه PMT در دمای اتاق کار می‌کرد. خروجی PMT به دستگاه شمارشگر مدل OSL Reader و این دستگاه، به رایانه وصل شده بود. تعداد شمارش دستگاه در دمای اتاق، ۴ مورد در ثانیه در ولتاژ ۸۲۰ ولت بود. بر طبق مقالات چاپ شده در این زمینه، مقدار زمان لازم جهت آشکارسازی در حدود ۵ دقیقه انتخاب شد (۱۵، ۱۱).

شکل ۱، طرح شماتیک دستگاه PMT درون اتاق تاریک، تجهیزات الکترونیک مربوط و نمونه‌ی مورد آزمایش را نشان می‌دهد. دستگاه PMT، شمارشگر و نمونه‌ی مورد آزمایش، در اتاق تاریک و تجهیزات الکترونیک و رایانه در خارج از اتاق تاریک قرار داشت.



شکل ۱. طرح شماتیک مجموعه‌ی دستگاه Photomultiplier tubes (PMT) درون اتاق تاریک، تجهیزات الکترونیک و نمونه‌ی مورد آزمایش

نتایج به دست آمده از این تحقیق، یافته‌های محققین را تأیید می‌نماید. Schauf و همکاران مشاهده کردند که شدت فوتون ساطع شده از قطعه‌ی مجروح خیار، بسیار بیشتر از قطعه‌ی سالم آن است (۱۲). Yu و همکاران، نشان دادند که بافت توموری و آسیب دیده، میزان امواج بیشتری نسبت به بافت سالم از خود ساطع می‌کند (۱۸). Cheun و همکاران مشاهده کردند که وقتی سلول‌های MDCK را تحت تأثیر H_2O_2 قرار می‌دهند، میزان امواج ساطع شده از آن‌ها افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد (۱۵). Pospisil و Rastogi، مشاهده کردند، هنگامی که ریشه‌های تربچه را تحت تأثیر H_2O_2 قرار می‌دهند، میزان فوتون ساطع شده از آن، از ۴ مورد در ثانیه به ۵۰۰ مورد در ثانیه افزایش می‌یابد (۱۱).

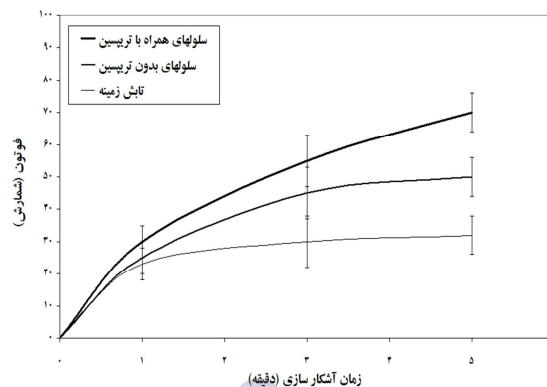
دانستن ارتباط بین سلول‌ها از طریق سیگنال، خواص و رفتار سلول‌ها را بهتر آشکار و قابل پیش‌بینی می‌کند و این موضوع، در مورد سلول‌های سرطانی از اهمیت بیشتری برخوردار است. با توجه به تهاجمی بودن اکثر روش‌های تصویربرداری کنونی، دیدگاه رایج شده در این تحقیق، انگیزه‌ای برای ساخت سیستم‌های تصویربرداری جدید بر پایه‌ی سیگنال‌های به دست آمده از خود سلول خواهد بود که در مقایسه با روش‌های تصویربرداری موجود، روشی بسیار ایمن به شمار می‌رود.

از جمله مشکلات موجود در انجام این طرح، محدودیت در دسترسی به دستگاه PMT، همچنین محدودیت زمان مورد استفاده در داده‌برداری بود. پیشنهاد می‌شود که میزان نمونه‌های عملی بیشتری مانند امواج ساطع شده از موش‌های مجروح، موش‌های تحت درمان و بافت‌های سرطانی با این روش بررسی گردد. با بررسی و به کارگیری این روش، دستیابی به ماهیت ایجاد سلول‌های سرطانی و همچنین تشخیص و درمان به موقع، می‌تواند کارآمد باشد؛ چرا که به کمک این روش، می‌توان کوچک‌ترین اختلال در عملکرد حتی یک تک سلول را نیز آشکارسازی نمود. از این رو، برای تشخیص زودهنگام متاستاز، می‌توان از این روش آسان و ایمن بهره برد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۳۳۵۴ زهرا علی نسب در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. از همکاری پرسنل محترم بخش آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و مسئولین محترم دستگاه PMT دانشگاه مالک اشتر که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0/05$)؛ در صورتی که سه گروه مختلف در زمان‌های ۱ و ۳ دقیقه با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند ($P = 0/30$).



شکل ۳. میانگین و انحراف معیار سطح کل فوتون‌های ساطع شده در گروه‌های شامل تریپسین، گروه بدون تریپسین و گروه تابش زمینه در زمان‌های مختلف آشکارسازی

بحث

هدف اصلی این تحقیق، آشکارسازی میزان امواج الکترومغناطیسی ساطع شده از سلول‌های سرطانی HT-29 تحت تریپسین و بدون تریپسین در مدت زمان ۵ دقیقه بود. با توجه به نتایج به دست آمده هنگامی که تریپسین به سلول‌های سرطانی افزوده شد، مشاهده گردید که سطح کل فوتون‌های ساطع شده از سلول‌ها افزایش می‌یابد. البته جهت افزایش دقت، تابش زمینه یعنی میزان امواج ساطع شده از پلیت خالی و نویز دستگاه نیز اندازه‌گیری گردید. تطابق نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر با مطالعات قبلی که ارتباط سلول به سلول را با استفاده از سیگنال‌های الکترومغناطیسی در نظر می‌گیرند، به طور کامل مشهود است. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که سلول‌های در حال مرگ، میزان امواج الکترومغناطیسی بیشتری را نسبت به سلول‌های سالم گسیل می‌نمایند (۱۷).

از سوی دیگر، در ابتدای ۳ دقیقه‌ی اول تغییر چندانی بین میزان امواج آشکار شده از گروه تحت تریپسین و گروه بدون تریپسین وجود نداشت، اما با گذشت زمان میزان امواج ساطع شده از گروه تحت تریپسین تغییر چشم‌گیری نسبت به گروه بدون تریپسین پیدا کرد که این نشان می‌دهد میزان سلول‌های بیشتری با گذشت زمان در آستانه‌ی مرگ قرار گرفته‌اند.

References

- Scholkmann F, Fels D, Cifra M. Non-chemical and non-contact cell-to-cell communication: a short review. *Am J Transl Res* 2013; 5(6): 586-93.
- Trushin MV. Studies on distant regulation of bacterial growth and light emission. *Microbiology* 2003; 149(Pt 2): 363-8.
- Lorenz E. Search for mitogenetic radiation by means of the photoelectric method. *J Gen Physiol* 1934; 17(6): 843-62.
- Rossi C, Foletti A, Magnani A, Lamponi S. New perspectives in cell communication: Bioelectromagnetic interactions. *Semin Cancer Biol* 2011; 21(3): 207-14.
- Bischof M. Synchronization and coherence as an organizing principle in the organism, social interaction, and consciousness. *NeuroQuantology* 2008; 6(4): 440-51.
- Rattemeyer M, Popp FA, Nagl W. Evidence of photon emission from DNA in living systems. *Naturwissenschaften* 1981; 68(11): 572-3.
- Popp FA, Nagl W, Li KH, Scholz W, Weingartner O, Wolf R. Biophoton emission. New evidence for coherence and DNA as source. *Cell Biophys* 1984; 6(1): 33-52.
- Gurwitsch AG, Gurwitsch LG. Die mitogenetische strahlung. Jena, Germany: Gustav Fischer Verlag; 1959. [In German].
- Vanwijk R. Bio-photons and bio-communication. *J Sci Explor* 2001; 15(2): 183-97.
- Bateman JB. Mitogenic radiation. *Biological Review* 1935; 10(1): 42-71.
- Rastogi A, Pospisil P. Effect of exogenous hydrogen peroxide on biophoton emission from radish root cells. *Plant Physiol Biochem* 2010; 48(2-3): 117-23.
- Schauf B, Repas L, Kaufmann R. Localization of ultra weak photon emission in plants. *Photochem Photobiol* 1992; 55(2): 287-91.
- Hideg E. On the spontaneous ultraweak light emission of plants. *J Photochem Photobiol B Biol* 1993; 18(2-3): 239-44.
- Yoshinagato N, Kato K, Kageyama Ch, Fujisaki K, Nishida R, Mori N. Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants. *Naturwissenschaften* 2006; 93(1): 38-41.
- Cheun BS, Yi SH, Baik KY, Lim JK, Yoo JS, Shin HW, et al. Biophoton emission of MDCK cell with hydrogen peroxide and 60 Hz AC magnetic field. *J Environ Biol* 2007; 28(4): 735-40.
- Zamanian Azodi M, Rezaei Tavirani K, Mousavi M. Comparison between physical and enzymatic harvesting methods via flow cytometry. *Behbood J* 2013; 16(8): 644-9. [In Persian].
- Bischof M. Biophotons - the light in our cells. International Lights Association Website [Online]. [cited 2005 Mar]; Available from: URL: http://www.bibliotecapleyades.net/ciencia/ciencia_fuerzasuniverso06.htm
- 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.
- 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.
- 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.
- Krause S, Maffini MV, Soto AM, Sonnenschein C. The microenvironment determines the breast cancer cells' phenotype: organization of MCF7 cells in 3D cultures. *BMC Cancer* 2010; 10: 263.
- Soto AM, Sonnenschein C. The somatic mutation theory of cancer: growing problems with the paradigm? *Bioessays* 2004; 26(10): 1097-107.

Study and Detection of Ultra-Weak Photon Emission from HT-29 Cells under the Effect of Trypsin

Zahra Alinasab¹, Ahmad Shanei PhD², Vahid Salari PhD³, Ali Kiani PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: In addition to chemical and electrical mechanisms, cell organisms communicate each other through electromagnetic waves, known as biophotons. Detection of these waves shows that when cell organisms are being dividing, injured, or dying, they emit more photons than when they are healthy. The purpose of this study was to detect the biophoton waves emitted from cancer cells (HT-29) affected by trypsin. Trypsin is a factor contributes to gradual death of cells.

Methods: This study was carried out on HT-29 cells in three groups. In the first group, the cells were affected by trypsin. In the second group, the cells were not influenced by trypsin; and in the third group, an empty plate was used to measure the background radiation. For this purpose, the amount of the radiation emitted from all three groups was measured using photomultiplier tubes (PMT) apparatus and compared.

Findings: Computation of the means and standard deviation of the whole surface of emitted biophotons demonstrated that the group containing trypsin significantly emitted more amounts of biophotons than the group without trypsin and the group considered for the measurement of the background radiation ($P < 0.05$). In addition, over the time, the amount of emitted biophotons increased.

Conclusion: The results showed that when the cells were under the influence of trypsin, the amount of biophoton emissions increased. With the elapsed time, more cells were faced with the death threshold, therefore, the amount of emitted waves from the cells affected by trypsin increased significantly rather than the cells were not influenced by trypsin.

Keywords: Biophoton waves, Trypsin, HT-29, Photomultiplier tubes (PMT)

Citation: Alinasab Z, Shanei A, Salari V, Kiani A. Study and Detection of Ultra-Weak Photon Emission from HT-29 Cells under the Effect of Trypsin. J Isfahan Med Sch 2016; 33(364): 2219-24

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

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

3- Associate Professor, Department of Physics, School of Physics, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Health Physics, Applied Sciences Complex, Maleke-Ashtar University of Technology, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Ahmad Shanei PhD, Email: shanei@med.mui.ac.ir