

بررسی پروتئومیکی اثر امواج الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین (۵۰ هرتز) بر سلول‌های نوروبلاستوما‌ی انسانی

هادی حسن‌زاده^۱ (Ph.D)، مصطفی رضایی طاویرانی^{۲*} (Ph.D)، سمانه سادات سیدی^۳ (Ph.D Student)، علیرضا عمادی^۴ (B.Sc)

۱- مرکز تحقیقات سرطان و دپارتمان فیزیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دپارتمان ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، پردیس بین‌الملل دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- دفتر فناوری اطلاعات معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: امواج الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین (ELF-EMF) یکی از عوامل محیطی است که به‌طور گسترده در زندگی بشر وجود دارد. در سال‌های اخیر اثرات زیستی این امواج روی مدل‌های زیستی مورد بررسی قرار گرفته است. از آن‌جا که مکانیسم عمل‌کرد این امواج ناشناخته است، مطالعات *in vitro* می‌تواند در این زمینه موثر باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه اثرات امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۱ میلی‌تسلا در دو روز متوالی (۴ ساعت در هر روز) روی مورفولوژی و بیان پروتئین‌های سلول‌های نوروبلاستوما‌ی انسانی (SHSY5Y) مورد بررسی قرار گرفت. تکنیک پروتئومیک برای بررسی تعیین اثرات این امواج روی بیان پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز بیوانفورماتیک و آماری پروتئوم با استفاده از نرم‌افزار Non Linear Progenesis Same Spots انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که امواج ELF-EMF قادر به تغییر مورفولوژی سلولی و کاهش تکثیر سلولی می‌باشد. نتیجه‌گیری: مطالعات پروتئومیک و آنالیز بیوانفورماتیک نشان داد که امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۱ میلی‌تسلا قادر به تغییر بیان پروتئین به صورت قابل توجهی ($p \leq 0.05$) می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: میدان‌های الکترومغناطیس، پروتئومیک، نوروبلاستوم

مقدمه

این زمینه نشان داده است که رابطه معناداری بین در معرض ELF-EMF قرار گرفتن و افزایش بروز سرطان‌های خاصی چون لوسمی حاد کودکان، لنفوما، تومور مغزی و سرطان سینه وجود دارد. علاوه بر این، مطالعات *in vitro* و *in vivo* زیادی برای بررسی اثرات بیولوژیک و مکانیسم عمل‌کردی این امواج صورت گرفته است [۳-۸]. تعداد کمی از این تحقیقات نشان

در سال‌های اخیر با مدرن شدن زندگی بشر و استفاده روزافزون از وسایل الکتریکی، کارسینوژن بودن امواج الکترومغناطیس با فرکانس بسیار پایین (ELF-EMF) و اثرات زیستی این امواج بر بدن موجودات زنده مورد مطالعه قرار گرفته است [۱، ۲]. بیش‌تر مطالعات اپیدمیولوژی انجام شده در

اسیدآمینه غیر ضروری (NEAA)، ۱۵٪ سرم جنین گاو، ال-گلوتامین به میزان ۲ میلی مولار و پنی سیلین (۱۰۰ IU/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰ µg/ml) کشت داده شد و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد، ۹۵٪ رطوبت و ۵٪ CO₂ نگه داری شد.

سیستم تابش دهی. سیستم تابش دهی امواج الکترومغناطیس، امواج همگن سینوسی با شدت ۰/۵ تا ۲ میلی تسلا را تولید می کند که این شدت میدان توسط کوئل هلمهولتز (دو حلقه به شعاع ۱۰ cm و به فاصله ۱۰ cm) ایجاد می شود. همگنی میدان مغناطیسی درون کوئل توسط گوس متر دیجیتالی کنترل گردید که میزان همگنی آن در گستره ۲٪ به شدت میدان در مرکز کوئل بود. سلول های SHSY5Y در انکوباتور حاوی کوئل تابش دهی با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۱ میلی تسلا به مدت دو روز متوالی (۴ ساعت در هر روز) قرار گرفتند. دما در طول تابش کنترل شده و تغییرات دما در این مدت زمان بیش تر و کم تر از ۰/۳°C نبود.

استخراج پروتئین. پس از ۴ ساعت تابش دهی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی تسلا، سلول ها با سانتیریفوژ کردن در دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه هاروست شدند. سپس سلول ها ۳ بار با بافر فسفات (تریس ۱۰ میلی مولار و سوربیتول ۲۵۰ میلی مولار) شستشو داده شد، سلول ها به صورت یک نواخت تحت تاثیر حجمی معادل ۳۰۰ µl از بافر لیزکننده شامل:

8M urea, 4% CHAPS (3-(3-cholamidopropyl) dimethylammonio-1-propanesulfonate), 40 mM dithiothreitol (DTT), 2% pharmalyte (pH 3-10NL), 1mM phenyl methyl sulfonyl fluoride (PMSF) and 1mM ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) قرار گرفتند. هر نمونه به مدت ۵ دقیقه سونیکاته شد و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه سانتیریفوژ ۴۰۰۰۰ g در دمای ۴°C انجام شد. سنجش غلظت پروتئین نمونه به دست آمده به روش Bradford، جهت انجام الکتروفورز دو بعدی مورد ارزیابی قرار گرفت.

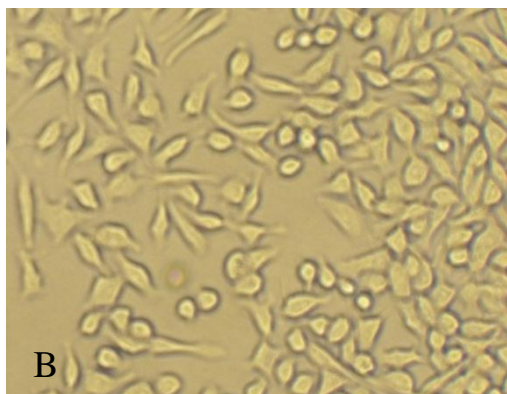
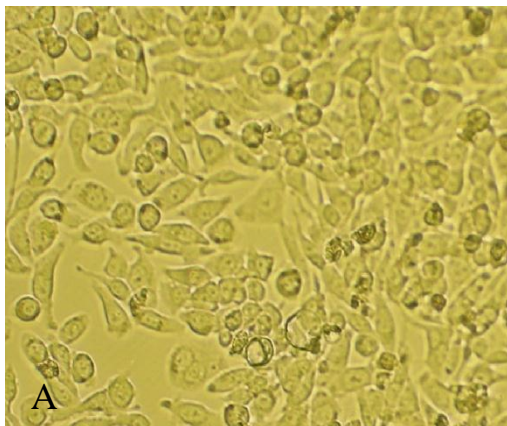
الکتروفورز دو بعدی. ۴۰۰ میکروگرم از نمونه پروتئینی روی استریپ های ۱۷ IPG سانتی متری با محدوده pH ۳-۱۰

داده است که ELF-EMF اثرات کارسینوژنی دارد [۹]. نتایج برخی دیگر از این مطالعات حاکی از آن است که این امواج قادرند تکثیر سلولی و اپیتوز را تحت تاثیر خود قرار دهند [۱۰،۹]. در تحقیقات دیگری گزارش شده است که ELF-EMF روی تنظیم و ساختار کروموزومی اثر می گذارد [۱۱-۱۴]. به علاوه مطالعات *in vitro* دیگر پیشنهاد می کند که این امواج قادرند بیان برخی پروتئین هایی که در تکثیر سلولی نقش دارد، تغییر دهند [۱۵،۱۶]. در حالی که تحقیقات دیگر حاکی از آن است که این امواج تاثیری روی همانندسازی DNA و تنظیم سلول های مورد مطالعه ندارد [۱۷]. نتایج متناقض حاصل از تحقیقات مختلف می تواند به دلیل تفاوت در فرکانس، شدت، مدت زمان تابش و هم چنین سل لاین های متفاوت مورد مطالعه باشد [۱۸]. در نهایت با وجود مطالعات گسترده ای که در این زمینه وجود دارد، هنوز مکانیسم مولکولی تایید شده ای برای تعیین اثرات کارسینوژن ELF-EMF پیشنهاد نشده است. تکنیک پروتئومیک، تکنیک مناسبی برای بررسی مکانیسم عمل کرد این امواج می باشد [۱۹-۲۱]. استفاده از بیوانفورماتیک و بانک های اطلاعاتی به منظور تفسیر یافته های پروتئومیکی و نیز فراهم آوردن امکان استفاده از دست آوردهای این فناوری به طور شگرفی در حال توسعه می باشد. آنالیز آماری داده های عظیم پروتئومیکی با دارا بودن متغیرهای زیاد نیاز به روش های چندمتغیره است که امکان آنالیز آماری هم زمان چندین متغیر را فراهم می کنند [۲۲-۲۴]. در این مطالعه اثرات احتمالی امواج ELF-EMF با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت یک میلی تسلا، ۴ ساعت در روز، به مدت ۲ روز روی بیان پروتئین سل لاین نوروبلاستوما ی انسانی SHSY5Y با استفاده از تکنیک پروتئومیک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

کشت سلولی. رده سلولی SHSY5Y از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد (NCBI, number: C611) و در محیط کشت RPMI: Ham's F12 (1:1) همراه با ۱٪

در این ژل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Progenesis Same Spots آنالیز شد. مقایسه ژل کنترل با ژل تحت تابش با استفاده از این نرم‌افزار ۱۱۷ نقطه پروتئینی را مشخص کرد که تعدادی از آن‌ها افزایش بیان و تعدادی کاهش بیان داشتند. ۶۹ پروتئین افزایش بیان را در سلول‌های تحت تابش نشان دادند، در حالی که تابش این امواج همراه با کاهش بیان ۴۸ پروتئین نسبت به گروه کنترل بود. نرم‌افزار Progenesis same spots قادر به خوشه‌بندی پروتئین‌ها بر اساس میزان بیان آن‌ها می‌باشد، به طوری که پروتئین‌هایی که در یک خوشه دسته‌بندی می‌شوند، دارای بیان مشابهی باشند؛ به عبارتی تغییر بیان یکسانی را در سلول‌های مورد نظر دارند (با هم افزایش و یا کاهش می‌یابند) که نتایج حاصل از این آنالیز خوشه‌بندی، در شکل ۳ مشاهده می‌شود. پروتئین‌های بیان شده به دو خوشه اصلی دسته‌بندی شده‌اند. شکل ۳ شامل پروتئین‌هایی که در گروه تابش دارای بیان بالاتری و پایین‌تری نسبت به گروه کنترل بودند خوشه بندی شدند.



شکل ۱. A: مورفولوژی سلول‌های SH-SY5Y تحت تابش. B: سلول‌های کنترل. در سلول‌های تحت تابش تکثیر سلولی و تمایز نسبت به سلول‌های کنترل کاهش یافته است

لود شد. پروتئین‌ها در دستگاه IPG بسته به pH ایزوالکتریک خود روی نوارهای استریپ تفکیک شدند. بعد دوم شامل ژل پلی‌اکریل‌آمید با غلظت ۱۲٪ حاوی ۱۵ میلی‌لیتر از محلول ذخیره ۳۰٪ آکریل آمید به علاوه بیس آکریل آمید با نسبت ۲۹/۲٪ به ۰/۸٪، تریس باز یا تریس اسید کلریدریک ۰/۵ مولار با pH حدود ۶/۸، SDS ۰/۴٪، TEMED ۰/۳۴٪ و ۰/۳۴٪ از محلول ذخیره ۱۰٪ آمونیوم پرسولفات می‌باشد. بافر الکتروفورز به تانک‌های بالا و پایین اضافه شد. این بافر شامل آگارز ۰/۵ درصد، تریس باز ۲۵ میلی‌مولار، گلیسین ۱۹۲ میلی‌مولار و SDS ۰/۱٪ است. در نهایت، الکتروفورز با جریان ثابت ۴۰-۳۰ میلی‌آمپر برای هر پلیت و با استفاده از سیستم خنک‌کننده در دمای ۹ درجه سانتی‌گراد انجام شد. رنگ‌آمیزی ژل‌ها با روش رنگ‌آمیزی کوماسی بلو صورت گرفت. ژل‌ها اسکن و تصاویر پردازش شده در نهایت با روش‌های آماری و بیوانفورماتیکی مورد آنالیز قرار گرفتند.

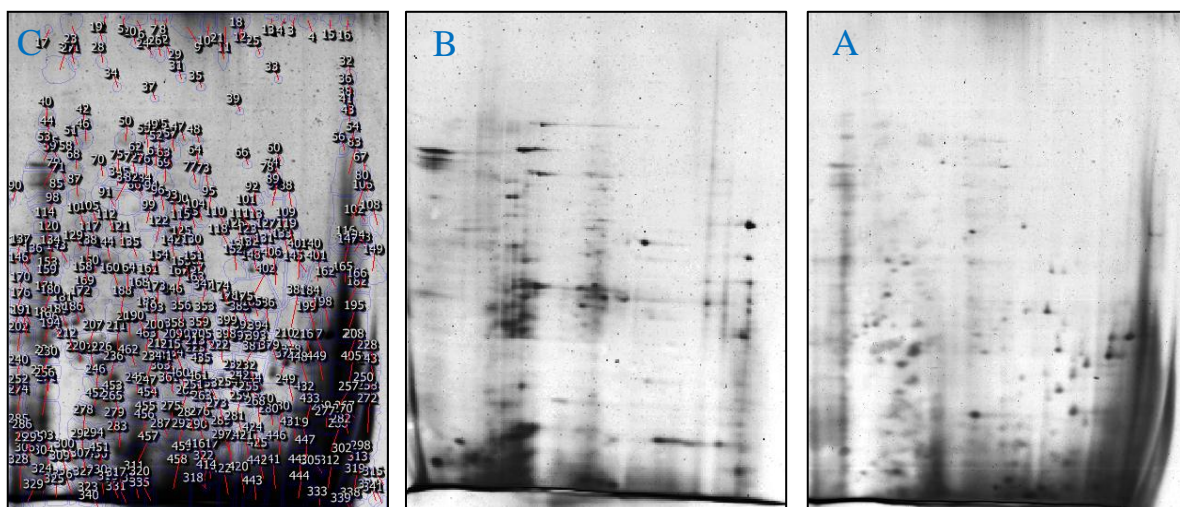
آنالیز ژل‌های دوبعدی. الکتروفورز دوبعدی قادر است صدها پلی‌پپتید را از یک محلول پروتئینی بر اساس بار الکتریکی و وزن مولکولی آن‌ها جدا کند. پس از طی مراحل رنگ‌آمیزی، پروتئین‌ها به صورت لکه‌هایی با صفات و ویژگی‌های ظاهری متفاوت مانند شکل، اندازه و شدت رنگ مشخص می‌گردند. پس از اسکن ژل‌ها استخراج داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Non Linear Progenesis Same Spots صورت گرفت. تعداد و تفاوت نقاط پروتئینی توسط این نرم‌افزار آنالیز شد و پروتئین‌ها از نظر بیان با آمار چندمتغیره (خوشه‌بندی و آنالیز مولفه اصلی) خوشه‌بندی شدند.

نتایج

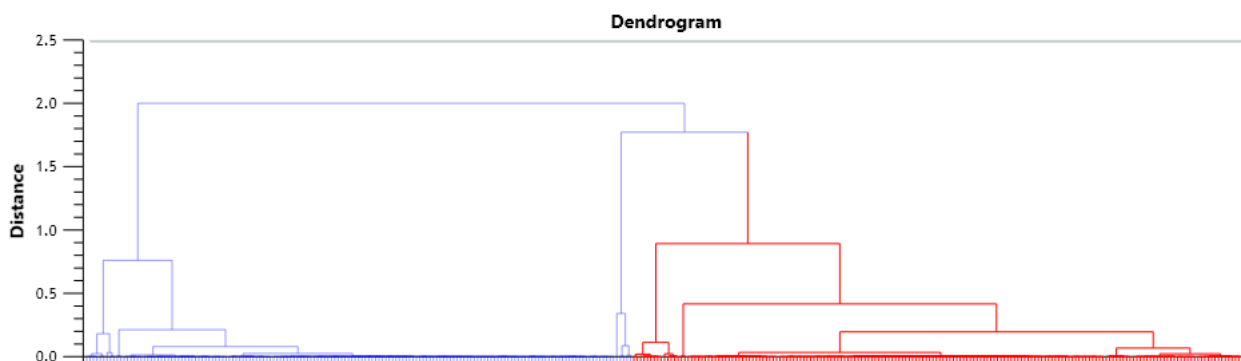
تأثیر ELF-EMF روی سلول‌ها، مورفولوژی و الگوی توزیع آن‌ها در فلاسک سلولی با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات مورفولوژی و کاهش چشمگیری در سرعت تکثیر سلولی مشاهده شد (شکل ۱). برای بررسی اثر این امواج روی پروتئوم سلول‌های SHSY5Y از تکنیک پروتئومیک استفاده شد. در تکنیک 2DE، پروتئین‌ها بر اساس pI و وزن مولکولی در بعد اول و دوم تفکیک می‌شوند. شکل ۲ تصویر ژل الکتروفورز دوبعدی گروه تحت تابش و کنترل را نمایش می‌دهد. الگوی پروتئینی

مولفه اصلی برای پروتئین‌های گروه تحت تابش را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که هیچ داده پرتی در دو گروه کنترل و تحت تابش وجود ندارد.

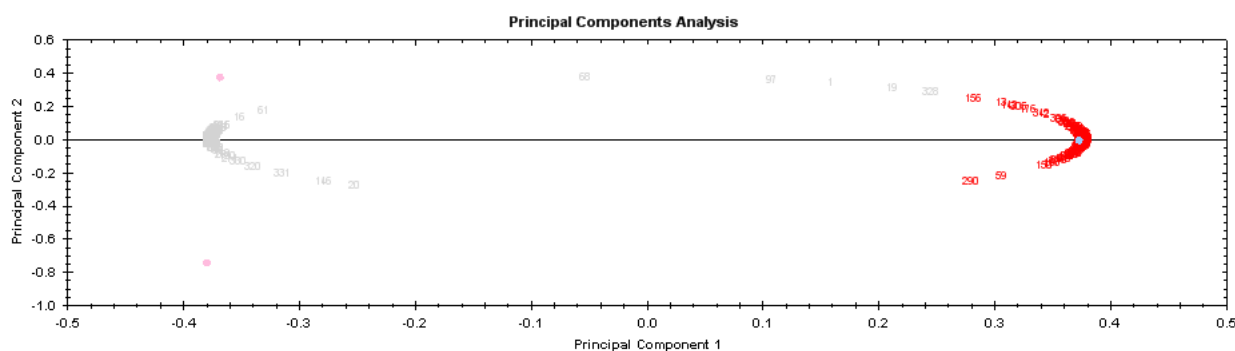
از آنالیز آماری چندمتغیره دیگری به نام آنالیز مولفه اصلی برای تعیین این‌که آیا داده پرتی وجود دارد یا نه و هم‌چنین برای تایید آنالیز خوشه‌بندی استفاده می‌شود. شکل ۴ آنالیز



شکل ۲. ژل الکتروفورز دو بعدی سلول‌های نوروبلاستوما انسانی. A: ژل سلول‌های نوروبلاستوما کنترل B: ژل سلول‌های نوروبلاستوما که در معرض امواج الکترومغناطیس (فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی‌تسلا) قرار گرفته‌اند و C: ژل سلول‌های نرمال که به عنوان ژل مرجع انتخاب شده است.



شکل ۳. آنالیز خوشه‌بندی پروتئین در گروه تحت تابش که افزایش بیان با رنگ قرمز و کاهش بیان با رنگ آبی نمایش داده شده است.



شکل ۴. آنالیز مولفه اصلی در گروه تحت تابش که افزایش بیان با رنگ قرمز و کاهش بیان با رنگ آبی نمایش داده شده است.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه اثرات احتمالی امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۱ میلی تسلا روی مورفولوژی سلول‌های نوروبلاستومای انسانی و پروفایل پروتئینی آن مورد بررسی قرار گرفت. امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز مورفولوژی سلولی را تغییر و سرعت تکثیر سلولی را کاهش داده است. در تحقیق انجام شده توسط Wolf و همکاران در سال ۲۰۰۶ روی سلول‌های لوسمی HL-60، فیروبلاست Rat-1 و سلول‌های دیپلوئید WI-38 نشان داده شد که تابش امواج الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز به مدت ۷۲ ساعت تکثیر سلولی را افزایش داده است [۲۵]. نتایج مطالعه دیگری که توسط Yan و همکارانش در سال ۲۰۱۰ صورت گرفت، حاکی از آن است که امواج الکترومغناطیس ۵۰ هرتز می‌تواند رشد سلولی را متوقف کند. رضوی و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که تکثیر سلول‌های تحت تابش به غیر از یک گروه مورد تحریک قرار گرفته است [۲۶]. با استفاده از تحقیقات انجام شده و نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که الگوی تابش، مدت زمان انکوباسیون و همچنین شدت تابش می‌تواند پارامترهای مهمی برای ایجاد اثرات بیولوژیک متفاوت باشد.

پروتئوم سلول‌های تحت تابش فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۱ میلی تسلا در شکل ۲ نشان داده شده است. مقایسه پروتئوم در سلول‌های تحت تابش و کنترل به منظور یافتن اختلاف در سطح پروتئوم دو گروه و دسته‌بندی این تفاوت‌ها از طریق آنالیزهای پروتئومیک و بیوانفورماتیک انجام شده است. همچنین تغییرات بیان در سطح پروتئوم با استفاده از تکنیک ژل الکتروفورز دوبعدی و نرم‌افزارهای آنالیز ژل مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها حاکی از آن است که امواج الکترومغناطیس با فرکانس پایین منجر به تغییر بیان پروتئین‌های سلول‌های نوروبلاستومای انسانی به صورت قابل توجهی می‌شود ($p \leq 0.05$). مقایسه الگوی پروتئینی نشان داد میزان بیان ۶۹ پروتئین افزایش و میزان بیان ۴۸ پروتئین کاهش یافته است.

در طی سی سال گذشته مطالعات اپیدمیولوژیکی و آزمایشگاهی زیادی به منظور بررسی اثرات ELF-EMF انجام گرفته است [۱۷، ۱۹]. نتایج متناقض حاصل از این تحقیقات می‌تواند به دلیل فرکانس‌های مختلف تابش، شدت، زمان و یا نوع سلول تحت تابش باشد [۱۸]. سلول‌های عصبی سلول‌های پاسخ‌دهنده و حساس به تابش‌های محیطی هستند. مطالعات محدودی اثر این امواج روی بیان ژن سلول‌های عصبی مورد بررسی قرار داده است اما تنها یک گزارش مبنی بر بررسی بیان پروتئوم وجود دارد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که فرکانس ۵۰ هرتز با شدت ۱ میلی تسلا قادر به تغییر بیان پروتئین‌ها می‌باشد. در حال حاضر، آنالیز و تشخیص پروتئین‌ها با استفاده از طیف‌سنجی جرمی صورت می‌گیرد. جهت تعیین و مشخص کردن پروتئین‌های تغییر یافته تحت تابش این تحقیق استفاده از این ابزار و آنالیز داده‌های آن پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدر دانی

این مقاله مستخرج از طرح مشترک بین دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و دانشگاه علوم پزشکی سمنان می‌باشد و بدینوسیله از حمایت مالی این دو دانشگاه در اجرای این پژوهش قدردانی می‌شود.

منابع

- [1] Grellier J, Ravazzani P, Cardis E. Potential health impacts of residential exposures to extremely low frequency magnetic fields in Europe. *Environ Int* 2014; 62: 55-63.
- [2] Ivancsits S, Diem E, Pilger A, Rudiger 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: 1-13.
- [3] Cuccurazzu B, Leone L, Podda MV, Piacentini R, Riccardi E, Ripoli C, et al. Exposure to extremely low-frequency (50 Hz) electromagnetic fields enhances adult hippocampal neurogenesis in C57BL/6 mice. *Exp Neurol* 2010; 226: 173-182.
- [4] Kheifets L, Ahlbom A, Crespi CM, Draper G, Hagihara J, Lowenthal RM, et al. Pooled analysis of recent studies on magnetic fields and childhood leukaemia. *Br J Cancer* 2010; 103: 1128-1135.
- [5] Schuz J. Exposure to extremely low-frequency magnetic fields and the risk of childhood cancer: update of the epidemiological evidence. *Prog Biophys Mol Biol* 2011; 107: 339-342.

- [17] Griffin GD, Khalaf W, Hayden KE, Miller EJ, Dowray VR, Creekmore AL, et al. Power frequency magnetic field exposure and gap junctional communication in Clone 9 cells. *Bioelectrochemistry* 2000; 51: 117-123.
- [18] Vianale G, Reale M, Amerio P, Stefanachi M, Di Luzio S, Muraro R. Extremely low frequency electromagnetic field enhances human keratinocyte cell growth and decreases proinflammatory chemokine production. *Br J Dermatol* 2008; 158: 1189-1196.
- [19] Antonini RA, Benfante R, Gotti C, Moretti M, Kuster N, Schuderer J, et al. Extremely low-frequency electromagnetic field (ELF-EMF) does not affect the expression of alpha3, alpha5 and alpha7 nicotinic receptor subunit genes in SH-SY5Y neuroblastoma cell line. *Toxicol Lett* 2006; 164: 268-277.
- [20] Zamanian-Azodi M, Rezaei-Tavirani M, Hasanzadeh H, Rahmati Rad S, Dalilan S. Introducing biomarker panel in esophageal, gastric, and colon cancers; a proteomic approach. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2015; 8: 6-18.
- [21] Zamanian-Azodi M, Rezaei-Tavirani M, Heydari-Kashal S, Kalantari S, Dailian S, Zali H. Proteomics analysis of MKN45 cell line before and after treatment with Lavender aqueous extract. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2012; 5: 35-42.
- [22] Zali H, Zamanian-Azodi M, Rezaei Tavirani M, Akbar-Zadeh Baghban A. Protein drug targets of lavender *angustifolia* on treatment of rat Alzheimer's disease. *Iran J Pharm Res* 2015; 14: 291-302.
- [23] Pooladi M, Rezaei-Tavirani M, Hashemi M, Hesami-Tackallou S, Khaghani-Razi-Abad S, Moradi A, et al. Cluster and principal component analysis of human glioblastoma multiforme (GBM) tumor proteome. *Iran J Cancer Prev* 2014; 7: 87-95. (Persian).
- [24] Dalilan S, Rezaei-Tavirani M, Nabiuni M, Heidari-Keshel S, Zamanian Azodi M, Zali H. Aqueous extract of lavender *angustifolia* inhibits lymphocyte proliferation of Hodgkin's lymphoma patients. *Iran J Cancer Prev* 2013; 6: 201-208. (Persian).
- [25] Wolf FI, Torsello A, Tedesco B, Fasanella S, Boninsegna A, D'Ascenzo M, et al. 50-Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redox mechanism. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1743: 120-129.
- [26] 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: 2277-9175.
- [6] Zaryabova V, Shalamanova T, Israel M. Pilot study of extremely low frequency magnetic fields emitted by transformers in dwellings. Social aspects. *Electromagn Biol Med* 2013; 32: 209-217.
- [7] Hasanzadeh H, Rezaei-Tavirani M, Seyyedi SS, Zali H, Heydari Keshel S, Jadidi M, et al. Effect of ELF-EMF Exposure on Human Neuroblastoma Cell Line: a Proteomics Analysis. *Iran J Cancer Prev* 2014 W; 7: 22-27. (Persian).
- [8] Mahdavi SM, Sahraei H, Rezaei-Tavirani M, Najafi Abedi A. Common behaviors alterations after extremely low-frequency electromagnetic field exposure in rat animal model. *Electromagn Biol Med* 2015; 19: 1-6.
- [9] Ruiz Gomez MJ, De la Pena L, Pastor JM, Martinez Morillo M, Gil L. 25 Hz electromagnetic field exposure has no effect on cell cycle distribution and apoptosis in U-937 and HCA-2/1cch cells. *Bioelectrochemistry* 2001; 53: 137-140.
- [10] 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: 2093-2106.
- [11] Singh N, Lai H. 60 Hz magnetic field exposure induces DNA crosslinks in rat brain cells. *Mutat Res* 1998; 400: 313-320.
- [12] Winker R, Ivancsits S, Pilger A, Adlkofer F, Rudiger HW. Chromosomal damage in human diploid fibroblasts by intermittent exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutat Res* 2005; 585: 43-49.
- [13] Piacentini R, Ripoli C, Mezzogori D, Azzena GB, Grassi C. Extremely low-frequency electromagnetic fields promote in vitro neurogenesis via upregulation of Ca(v)1-channel activity. *J Cell Physiol* 2008; 215: 129-139.
- [14] Seyyedi SS, Mozdarani H, Rezaei Tavirani M, Heydari S. Induction of chromosomal aberrations in human primary fibroblasts and immortalized cancer cells exposed to extremely-low-frequency electromagnetic fields. *Iran J Radiation Res* 2010; 8: 25-29. (Persian).
- [15] Reale M, Kamal MA, Patruno A, Costantini E, D'Angelo C, Pesce M, et al. Neuronal cellular responses to extremely low frequency electromagnetic field exposure: implications regarding oxidative stress and neurodegeneration. *PLoS One* 2014; 9: e104973.
- [16] Seyyedi SS, Dadras MS, Tavirani MR, Mozdarani H, Toossi P, Zali AR. Proteomic analysis in human fibroblasts by continuous exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields. *Pak J Biol Sci* 2007; 10: 4108-4112.

Proteomics Study of extremely low frequency electromagnetic field (50 Hz) on human neuroblastoma cells

Hadi Hasanzadeh (Ph.D)¹, Mostafa Rezaie-Tavirani (Ph.D)^{*2}, Samaneh Seyyedi (Ph.D Student)³, Alireza Emadi (B.Sc)⁴

1- Cancer Research Center & Department of Medical Physics, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2 - Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 – Dept. of Medical Genetics, Tehran University of Medical Sciences, International Campus, Tehran, Iran

4 – Dept. of Information Technology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 18 Aug 2015; Accepted: 7 Sep 2015)

Introduction: Extremely low frequency electromagnetic field (ELF-EMF) is one of common environmental factors in today's modern life. In recent years, a special interest has been directed toward the possible effects of ELF-EMFs on biological systems. Since the mechanism underlying the ELF-EMFs' biological effects are still unknown, we decided to conduct an in vitro study to understand the possible mechanisms.

Material and Methods: SH-SY5Y- human neuroblastoma cell line were placed in the EL-EM Field with the intensity of 1 mT and frequency of 50 Hz and for a period of 4 hours/day, in 2 days period. The cell morphology and protein expression were measured by using proteomic methods. Statistical analysis was performed by using Non Linear Spot Progenesis Same software.

Results: Our results showed that ELF-EMF could likely change the cell morphology and proliferation.

Conclusion: Statistical analysis in our study showed that ELF-EMF with a frequency of 50Hz and intensity of 1mT could significantly change the protein expression ($P \leq 0.05$).

Keywords: Electromagnetic fields, Proteomics, Neuroblastoma

* Corresponding author. Tel: +98 21 22439788
tavirani@yahoo.com