

آثار میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و امواج رادیویی بر بیان پروتئین تائو

آرزو تعللی¹، پرویز عبدالمالکی^{1*}، کوروش شاه پسند²، نجمه جویان³

1- گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

2- گروه علوم مغز و شناختی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، موسسه زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی رویان، ACECR

3- گروه فیزیک پزشکی و مهندسی زیست پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

*نویسنده مسئول:

تلفن: 021-82883404

ایمیل: parviz@modares.ac.ir

پذیرش: 1402/4/21

دریافت: 1401/10/29

چکیده

اهداف: بیماری آلزایمر یک بیماری تخریب کننده سلول های عصبی است که با ازدست دادن تدریجی نورون ها منجر به تحلیل رفتن حافظه می شود. تجمع پروتئین تائو فسفریله در داخل نورون ها عاملی در ایجاد بیماری آلزایمر شناخته می شود. در این مطالعه، آثار میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم و امواج رادیویی بر سلول های نوروبلاستوما SH-SY5Y بررسی شد.

مواد و روش ها: سلول های SH-SY5Y تیمار شده با میدان الکترومغناطیس و با فرکانس های 50 هرتز و شدت 20 میلی تسلا و امواج رادیویی با فرکانس 900 مگاهرتز به مدت 24، 48، 72 و 96 ساعت تیمار شده و تعداد سلول های زنده با استفاده از روش MTT تعیین شد. سپس سطح بیان پروتئین فسفریله تائو پس از قرار گرفتن در معرض میدان الکترومغناطیس و امواج رادیویی در فاصله های زمانی مختلف بررسی شد.

یافته ها: قرار گرفتن در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم و امواج رادیویی به تنهایی تأثیر چشمگیری بر زنده ماندن سلول های SH-SY5Y در مقایسه با سلول های کنترل نداشته است. با این حال، بیان پروتئین تائو فسفریله پس از قرار گرفتن در معرض تیمار به طور چشمگیری افزایش پیدا می کند.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان می دهد که قرار گرفتن سلول های نوروبلاستوما ی انسانی در معرض میدان الکترومغناطیسی 50 هرتز و امواج رادیویی 900 مگاهرتز می تواند باعث افزایش بیان پروتئین تائو فسفریله شده و احتمال ایجاد آلزایمر را افزایش دهد.

واژه های کلیدی: میدان الکترومغناطیس با فرکانس کم، امواج رادیویی، تست MTT، پروتئین تائو.

1- مقدمه

بیماری آلزایمر (AD) یک اختلال نورودژنراتیو¹ مغزی است که با ازدست‌دادن حافظه، تغییرات شخصیتی، اختلال شناختی، زوال عقل و در نهایت مرگ همراه است. این بیماری یکی از مهم‌ترین چالش‌های پزشکی در نیم قرن گذشته است. براساس آمار سازمان جهانی بهداشت بیش از 50 میلیون نفر در سراسر جهان از این بیماری رنج می‌برند که تعداد آنها تا سال 2050 به 125 میلیون نفر خواهد رسید [1]. تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئیدی A β و تجمع پروتئین تائو به عنوان نشانه‌های اصلی بیماری آلزایمر شناخته شده است که با ازدست‌رفتن ارتباط‌های سیناپسی، تخریب نورونی و کوچک‌شدن مغز همراه است [2]. تائو یک پروتئین آکسونی است که در پایداری میکروتوبول‌ها نقش دارد. در بیماری آلزایمر تائو به‌طور غیرطبیعی فسفریله و از میکروتوبول‌ها جدا شده و به تجمع فیبریلی تبدیل می‌شود. پروتئین‌های تائو در حالت طبیعی به شکل مونومری پایدار هستند. با این حال از راه سازوکارهای ناشناخته می‌توانند به‌طور غیرطبیعی فسفریله یا هایپرفسفریله شوند که این فرایند یکی از مشخصه‌های اصلی در ایجاد بیماری آلزایمر است. فرم هایپرفسفریله تائو به‌صورت نامحلول است که در این حالت تمایل آن برای اتصال به میکروتوبول‌ها کم شده و به‌طور خودبه‌خودی ساختارهای دورشته‌ای درهم پیچیده توده نوروفیبریلاری² NFT را تشکیل می‌دهد [3]. تائو حداقل 45 محل فسفوریلاسیون دارد که بیشتر آنها در ناحیه غنی از پرولین و ناحیه انتهای C قرار دارند. فسفوریلاسیون تائو در هر دو این ناحیه بر اتصال آن به میکروتوبول‌ها تأثیر می‌گذارد، برای مثال فسفوریلاسیون در سرین 262 به‌طور انتخابی اتصال تائو را به میکروتوبول‌ها مختل می‌کند و فسفوریلاسیون در سرین 202 باعث افزایش پلیمریزاسیون تائو می‌شود [11]. در بیماری آلزایمر به‌طور معمول

فسفوریلاسیون در سطح اسید آمینه ترئونین 231 انجام می‌شود. تائو دو فرم ایزومری سیس و ترانس دارد که فرم ترانس فرم دفسفریله و پایدار و فرم سیس فرم فسفریله با پایداری کم و آماده تجمع است [17]. علاوه بر تجمع غیرطبیعی پروتئین، تولید رادیکال‌های آزاد، متابولیت‌های فعال اکسیژن (که به استرس اکسیداتیو مرتبط هستند) ممکن است اکسیژن‌رسانی به سلول‌ها را کاهش دهند و باعث آسیب اکسیداتیو در مغز شوند که در این حالت منجر به ایجاد آلزایمر می‌شود.

امروزه امواج الکترومغناطیس ارتباط نزدیکی با زندگی انسان دارد. گسترش استفاده از وسایل الکتریکی مختلف مانند تلفن‌های همراه، اجاق‌های مایکروویو، خطوط و لنتاژ بالا، ابزارهای الکترونیکی و سایر تجهیزات الکترومغناطیسی موجب افزایش پیاپی احتمال قرارگرفتن در معرض امواج الکترومغناطیسی شده است [4]. امواج الکترومغناطیس غیریونیزان شامل پرتوهای نوری ماورا بنفش، امواج ناحیه مرئی، مادون قرمز، مایکروویو، امواج رادیویی، میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس‌های کم و میدان‌های مغناطیسی ثابت می‌باشد. محدوده فرکانس میدان‌های الکترومغناطیس تولیدشده از وسایل الکترومغناطیس شامل محدوده فرکانس بسیار پایین (1 تا 300 هرتز)، فرکانس‌های متوسط (300 هرتز تا 10 مگا هرتز) و در نهایت محدوده فرکانس رادیویی (10 مگاهرتز تا 300 گیگا هرتز) است [5]. تأثیر امواج الکترومغناطیسی بر موجودات زنده به دلیل متناقض بودن نتایج مطالعه‌ها همیشه بحث‌برانگیز بوده است. در سال 2011 آژانس جهانی پژوهش‌های سرطان، امواج رادیوفرکانس تلفن‌های همراه را به‌عنوان عامل سرطان‌زای احتمالی معرفی کرد که نگرانی اجتماعی در مورد قرارگرفتن در معرض میدان‌های الکترومغناطیس را افزایش داد. پژوهش‌های گسترده‌ای در طول سال‌ها درباره تأثیر میدان‌های رادیوفرکانس RF تولیدشده به‌وسیله تلفن‌های همراه با فرکانسی در محدوده 100 کیلوهرتز تا 300 گیگاهرتز روی

¹ Neurodegenerative

² Neurofibrillary tangles

مغز انسان انجام شده است [6]. مطالعه‌های بسیار نشان می‌دهد که میدان‌های الکترومغناطیسی RF برای مغز خطرهایی ایجاد می‌کنند. مطالعه‌ها گزارش کردند که RF-EMF از تلفن‌های همراه می‌تواند باعث شروع و پیشرفت تومورهای بدخیم مغزی شود. همچنین میدان‌های مغناطیسی با فرکانس کم می‌توانند منجر به ایجاد سرطان و اختلال‌های مغزی شوند [6، 7].

تا به امروز مطالعه‌های مختلفی برای بررسی رابطه بین امواج الکترومغناطیس و بیماری آلزایمر انجام شده است که نتایج آنها متناقض است. برخی شواهد به آثار مثبت امواج رادیویی بر درمان بیماری آلزایمر اشاره کرده‌اند. با این حال پژوهش‌های بسیاری نشان می‌دهند که قرار گرفتن طولانی مدت در میدان‌های الکترومغناطیسی با فرکانس پایین و امواج رادیویی می‌تواند باعث افزایش تولید آمیلوئید بتا شده و خطر ابتلا به بیماری آلزایمر را افزایش دهد [6، 8]. از آنجا که فسفریله شدن و تجمع پروتئین تائو از عوامل مهم ایجاد بیماری آلزایمر است، آثار امواج الکترومغناطیس بر تشکیل این ساختارها و درک سازوکارهای مولکولی مرتبط اهمیت دارد. بنابراین در این مطالعه تجربی، آثار امواج رادیو فرکانس و میدان‌های الکترومغناطیس با فرکانس پایین بر تغییرات بیان پروتئین فسفریله تائو در سلول‌های عصبی ارزیابی شده است.

2- مواد و روش‌ها

2-1 کشت و پاساژ سلولی

در این پژوهش به منظور بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی بر سیستم عصبی از رده سلول‌های عصبی SH-SY5Y استفاده شده است. سلول‌ها از بانک سلولی رویان خریداری شد و در محیط کشت DMEM غنی شده با 10 درصد سرم گاوی (FBS) (گیبکو؛ ایالات متحده) حاوی پنی سیلین و استرپتومایسین (100 واحد پنی سیلین و 100 میکروگرم استرپتومایسین) و در انکوباتور کشت سلولی با شرایط

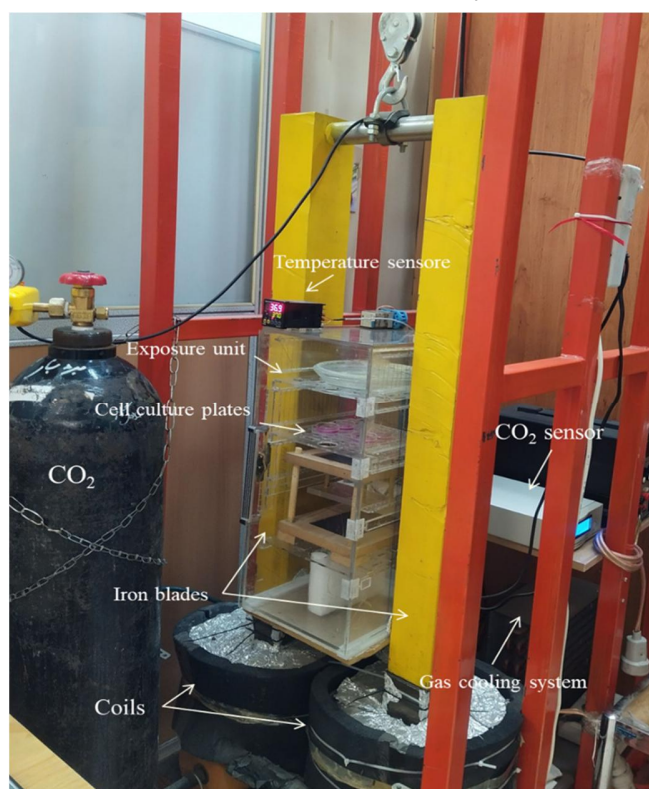
انکوباسیون در CO₂ به میزان 5 درصد و در دمای 37 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از رشد و ازدیاد سلول‌ها و پرشدن کف ظرف، سلول‌ها از انکوباتور خارج شده و محیط رویی سلول‌ها تخلیه، کف ظرف با بافر نمکی فسفات (PBS) شستشو داده شد. سپس از محلول تریپسین - EDTA برای کنده شدن سلول‌ها از کف ظرف استفاده شد. به این ترتیب که پس از اضافه کردن محلول تریپسین - EDTA فلاسک در انکوباتور به مدت پنج دقیقه قرار داده شد. سلول‌های کنده شده به وسیله محیط کشت DMEM حاوی 10 درصد سرم جنین گوساله جمع‌آوری شد. پس از انجام سانتریفیوژ (Mistral 3000i) و با سرعت 1200 دور در دقیقه به مدت زمان پنج دقیقه سلول‌ها ته‌نشین شدند. در این مرحله محلول رویی دور ریخته شد. سپس رسوب حاصل در یک میلی لیتر محیط کشت همگن شد و تعداد سلول‌ها به وسیله لام نئوبار هموسایتومتر با استفاده از میکروسکوپ فاز معکوس (Zeiss 405M) تعیین شدند.

2-2 تیمار سلول‌ها با میدان الکترومغناطیس

به منظور بررسی اثر میدان الکترومغناطیسی بر سلول‌های SH-SY5Y، پس از تریپسینه کردن و شمارش تعداد 2×10^5 سلول در فلاسک کشت داده شد و درون انکوباتور دستگاه میدان الکترومغناطیسی به مدت 24، 48، 72 و 96 ساعت تحت تابش میدانی با فرکانس‌های 50 هرتز و شدت 20 میلی تسلا و 900 مگاهرتز قرار گرفت. دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی 50 هرتز حاصل از دو سیم پیچ است که 180 دور سیم مسی روکش دار به قطر 2/5 میلی متر دارد و با اتصال به منبع تأمین، انرژی الکتریکی (صفر تا 50 ولت با توان حداکثر یک کیلووات) در فضای بین آنها پدید می‌آید (شکل 1). این دستگاه قدرت تولید میدان مغناطیسی با شدت 0/5 تا 30 میلی تسلا را دارد. با اتصال دوشاخه میدان به برق شهری، میدان الکترومغناطیسی با فرکانس 50 هرتز تولید می‌شود که برخلاف میدان مغناطیسی ایستا، خاصیت

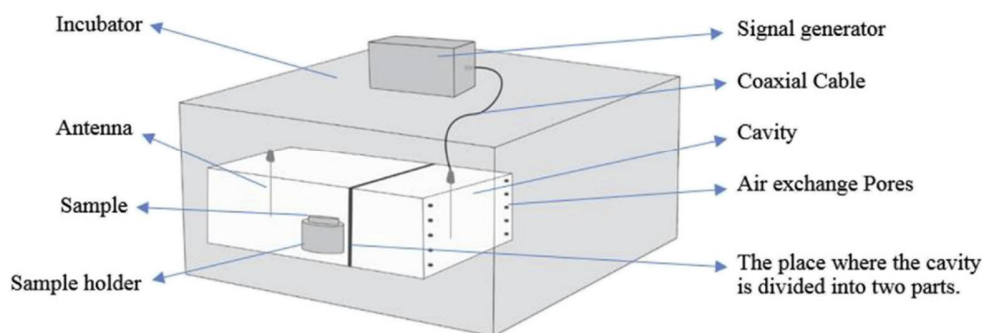
1361 (PHYWE Gottingen؛ آلمان) با دقت 10 درصد استفاده شد. برای کنترل حرارت، دیواره‌های جانبی نگهدارنده از داخل مجهز به شبکه سیمی گرم‌کننده بود که به ترموستات متصل است و دما را در 37°C ثابت نگه می‌دارد. برای تنظیم فشار گاز CO_2 نیز از حسگر ویژه در داخل محفظه استفاده شد که فشار گاز را روی مانیتور مخصوص نشان می‌دهد. محفظه دستگاه به وسیله شیلنگ گاز به کپسول گازکربنیک متصل است و فشار گاز ورودی با شیرهای تنظیم‌کننده روی آن کنترل می‌شود.

آهنربایی مستقیم ندارد و با نزدیک کردن یک آهنربا به آن شروع به نوسان می‌کند تا اینکه در فاصله‌ای بسیار نزدیک باعث ربایش آهنربا می‌شود. یک دستگاه نگهدارنده دست-ساز به ارتفاع 40 سانتی‌متر (که به دستگاه تنظیم حرارت و فشار گازکربنیک شرایط استاندارد متصل است) به منظور کشت سلول زنده در مرکز آن تعبیه شده است. بخش نگهدارنده سلول‌ها را در شرایط استاندارد (دمای 37°C ، فشار CO_2 5 درصد و رطوبت مناسب) برای کشت قرار می‌دهد. به منظور تنظیم دستگاه و بررسی یکنواختی میدان مغناطیسی ایجادشده به وسیله آن، از تسلا متر مدل 93-



(شکل 1 دستگاه تولیدکننده میدان الکترومغناطیسی با فرکانس 50 هرتز)

دستگاه مولد میدان الکترومغناطیسی 900 مگاهرتز یک محفظه عایق امواج با یک آنتن 7 سانتی‌متری در داخل آن استفاده شد (شکل 2). جریان برق برخوردکننده به نمونه‌ها $1/96$ وات است. این محفظه استریل 12 ساعت قبل از انتقال سلول‌ها در داخل آن به منظور تنظیم دما و CO_2 مناسب برای رشد سلول در درون انکوباتور قرار داده شد [9].



شکل 2 دستگاه تولیدکننده میدان الکترومغناطیسی با فرکانس 900 مگاهرتز

سلول‌ها نیز در دو طول موج 570 نانومتر به وسیله دستگاه الایزایدر مدل BioTek (μQuant؛ ایالات متحده) قرائت شد.

4- سنجش میزان بیان پروتئین Tau

میزان بیان پروتئین تائو فسفریله به فرم ایزومری سیس به وسیله روش وسترن بلات انجام شد. نخست سلول‌های SH-SY5Y تحت تیمار با میدان الکترومغناطیسی با فرکانس 50 هرتز و 900 مگاهرتز قرار گرفتند. بعد از گذشت مدت زمان مشخص، پروتئین‌های سلولی استخراج و برای انجام تست آماده شدند. پروتئین‌های سلولی با استفاده از بافر RIPA استخراج شدند و عصاره لیز سلولی به مدت 30 دقیقه در دمای 4 درجه و 13000 دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه‌ها به روی یخ منتقل شدند. سپس مایع رویی به آرامی برداشته و پلت دور ریخته شد. پس از الکتروفورز در ژل (12 درصد) SDS-PAGE (ژل الکتروفورز سدیم دودسیل سولفات پلی آکریل آمید) به روی کاغذ PVDF (پلی وینیلیدین فلوراید) (Amersham) منتقل شد. پس از مرحله انتقال، غشای PVDF به مدت دو ساعت در محلول مسدودکننده¹ (ECL² advanced kit،

3- تعیین درصد زنده‌مانی سلول‌ها در میدان الکترومغناطیسی

تعیین درصد زنده‌مانی سلول‌ها برپایه تشکیل کریستال‌های فرمازان رنگی به واسطه احیا ماده MTT است. با گسستگی حلقه تترازولیم نمک MTT به وسیله دهیدروناز میتوکندری سلول‌های زنده، کریستال‌های فرمازان بنفش رنگ نامحلول در درون سلول تشکیل خواهند شد. با اندازه‌گیری میزان جذب به وسیله اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های مشخص می‌توان تعداد سلول‌های زنده را تعیین کرد. برای انجام تست MTT، سلول‌های SH-SY5Y با استفاده از تریپسین 1 درصد از کف فلاسک کنده شدند. پس از شمارش و تعیین بقای سلولی به هر خانه پلیت 96 خانه‌ای، 5000 سلول منتقل شد و به مدت 24 ساعت در انکوباتور به منظور اتصال سلول‌ها به کف فلاسک انکوبه شدند. بعد از 24، 48، 72 و 96 ساعت تیمار سلول‌ها با میدان الکترومغناطیسی با فرکانس 50 هرتز و 900 مگاهرتز، محیط کشت سلول‌ها با محیط حاوی نمک تترازولیم (سیگما؛ ایالات متحده) تعویض شد و به منظور تشکیل بلورهای فورمازون سلول‌ها به مدت سه ساعت در انکوباتور تعبیه شدند. بعد از سه ساعت محیط کشت سلول‌ها دور ریخته شد و محلول دی‌متیل سولفوکساید (DMSO؛ مرک؛ آلمان) با حداکثر غلظت مجاز 0,1 درصد به سلول‌ها اضافه شد و جذب

¹ Blocking solution

² Electrochemiluminescence

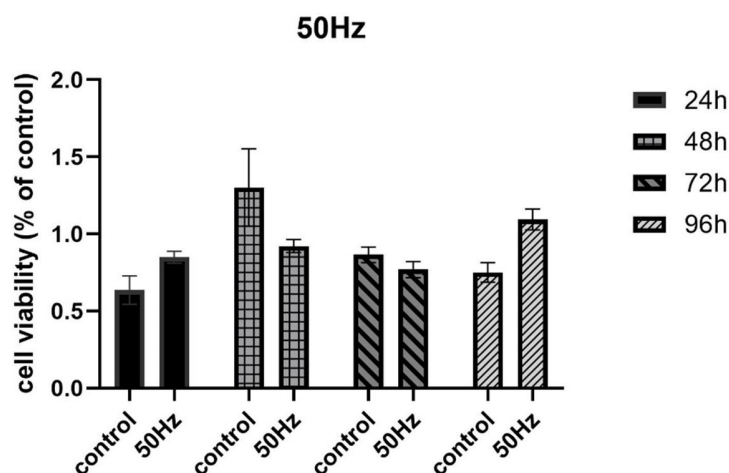
(Amersham) در دمای اتاق انکوبه شد. سپس به مدت یک شبانه‌روز در آنتی‌بادی اولیه cis-p Tau با رقت مناسب در یخچال قرار داد شد. آن‌گاه با آنتی‌بادی ثانویه متصل به HRP (Abcam) به مدت دو ساعت انکوبه و در نهایت علایم با استفاده از محلول ECL advanced kit (Amersham) شناسایی شدند. غشای مذکور سپس با آنتی‌بادی بر ضد GAPDH (Abcam) انکوبه شد تا از میزان بارگذاری¹ یکسان پروتئین‌ها در ژل اطمینان حاصل شود.

5- نتایج

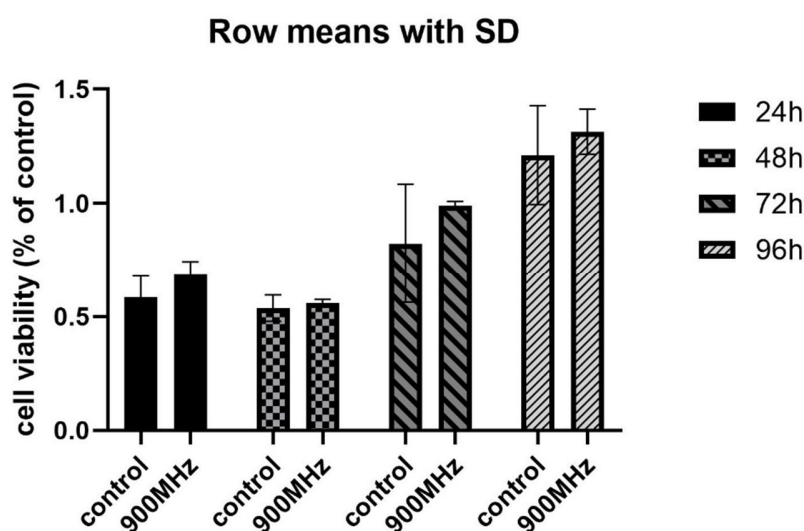
به منظور بررسی اثر میدان‌های اعمال‌شده روی سلول‌ها از تست MTT استفاده شد تا با این روش میزان زنده‌مانی سلول‌ها در بازه‌های زمانی 24، 48، 72 و 96 ساعت بعد از اعمال میدان‌ها 50 هرتز و 900 مگاهرتز سنجش شود. براساس نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که اعمال میدان الکترومغناطیس با فرکانس 50 هرتز در بازه زمانی 24 ساعت منجر به افزایش رشد سلول‌های نوروبلاستوما شده و تأثیری روی مرگ سلولی نداشته است. تیمار سلول‌ها با میدان الکترومغناطیس به مدت 48 و 72 ساعت منجر به کاهش درصد زنده‌مانی سلول‌ها نسبت به نمونه کنترل شده، این موضوع در حالی است که افزایش مدت زمان تیمار به 96 با افزایش رشد سلول‌ها نسبت به نمونه کنترل همراه بوده است (شکل 3 الف). در حضور میدان الکترومغناطیسی 900 مگاهرتز در تمام بازه‌های زمانی، تیمار اثر معناداری بر درصد زنده‌مانی سلول‌ها نداشته است (شکل 3 ب).

¹ loading

الف



ب

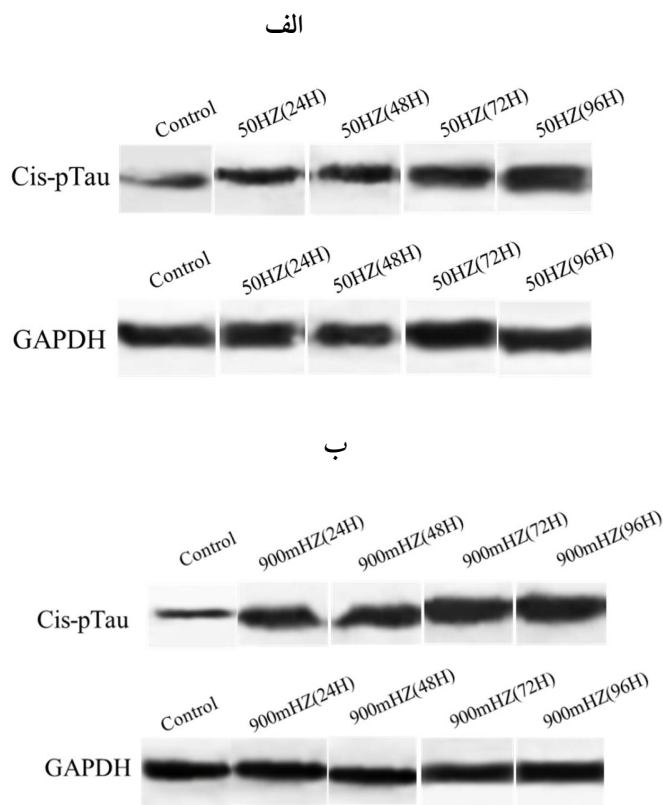


شکل 3 درصد زنده‌مانی سلول‌های SH-SY5Y تحت میدان الکترومغناطیسی با فرکانس (الف) 50 و (ب) 900 هرتز در مدت زمان تیمار 24، 48، 72 و 96 ساعت

پروتئین فسفریله تائو در این سلول‌ها شده است که این اثر وابسته به مدت زمان اعمال میدان است و مقدار بالایی از بیان این پروتئین در فاصله‌های زمانی 72 و 96 ساعت در مقایسه با نمونه بدون تیمار مشاهده می‌شود. اعمال امواج رادیویی با فرکانس 900 مگاهرتز نیز منجر به القای بیان

به‌منظور بررسی بیشتر بیان پروتئین فسفریله تائو به فرم ایزومری سیس در سلول‌های SH-SY5Y تحت میدان الکترومغناطیسی با فرکانس 50 هرتز و امواج رادیویی 900 مگاهرتز به‌وسیله روش وسترن بلات انجام شد. اعمال الکترومغناطیسی با فرکانس 50 هرتز منجر به افزایش بیان

پروتئین فسفریله تائو شده است که اثر این تیمار در مقایسه با میدان الکترومغناطیسی 50 هرتز بارزتر است.



شکل 3 بررسی بیان تائو فسفریله تحت تیمار با میدان مغناطیسی
الف - 50 هرتز؛ ب - 900 مگا هرتز در مدت زمان 24، 48، 72 و 96 ساعت

6- بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر امواج الکترومغناطیسی بر سلول‌های عصبی و پروتئین فسفریله تائو در این سلول‌ها انجام شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، اعمال میدان مغناطیسی با فرکانس 50 هرتز و امواج رادیویی با فرکانس 900 مگاهرتز آثار کشنده روی سلول‌های عصبی نداشته و درصد زنده‌مانی سلول‌ها نسبت به حالت کنترل تغییر معناداری نشان نداده است. رده‌های سلولی نوروبلاستوما انسانی مانند SH-SY5Y یک عنوان مدل سلول‌های عصبی است که توانایی‌های بیوشیمیایی و عملکردی سلول‌های عصبی را دارند و به‌طور گسترده برای مطالعه امواج

الکترومغناطیس بر سلول‌های مغزی استفاده می‌شوند [10]. تجمع پتید آمیلوئید بتا و پروتئین تائو، یک فرایند تدریجی است که به علت تغییرات پس‌ترجمه‌ای در ساختار پروتئین‌ها ایجاد شده و منجر به تجمع ساختارهای درهم‌پیچیده فیبریلی در سلول‌ها نورونی می‌شود. این ساختارها منجر به از دست رفتن ارتباط‌های سیناپسی و مرگ سلول‌های نورونی شده و به‌عنوان عامل اصلی ایجاد و پیشروی بیماری آلزایمر شناخته می‌شوند [11]. بعضی از مطالعات نشان داده است که قرارگیری در معرض امواج الکترومغناطیس می‌تواند از ایجاد تجمعات پروتئینی بتا آمیلوئید جلوگیری کند. بالین‌حال نتایج پژوهش‌های دیگر نشان می‌دهد که

می‌توانند باعث افزایش تجمع پروتئین فسفریله تائو در سلول‌های عصبی شوند و احتمال ایجاد بیماری آلزایمر رو افزایش دهند.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: به کمک دانشگاه تربیت مدرس و صندوق حمایت از پژوهشگران وابسته به نهاد ریاست جمهوری به شماره طرح 97015048 تأمین شده است.

منابع

- [1] Shiravandi, A, Yari, F, Tofigh, N et al. (2022) Earlier Detection of Alzheimer's Disease Based on a Novel Biomarker cis P-tau by a Label-Free Electrochemical Immunosensor. *Biosensors* 12(10):879.
- [2] Busche, MA and Hyman, BT. (2020) Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease. *Nature neuroscience* 23(10):1183-1193.
- [3] Albayram, O, Herbert, MK, Kondo, A et al. (2016) Function and regulation of tau conformations in the development and treatment of traumatic brain injury and neurodegeneration. *Cell & Bioscience* 6(1):1-6.
- [4] Hu, C, Zuo, H and Li, Y. (2021) Effects of radiofrequency electromagnetic radiation on neurotransmitters in the brain. *Frontiers in Public Health*:1139.
- [5] Touitou, Y and Selmaoui, B. (2022) The effects of extremely low-frequency magnetic fields on melatonin and cortisol, two marker rhythms of the circadian system. *Dialogues in clinical neuroscience*.
- [6] Dasdag, O, Adalier, N and Dasdag, S. (2020) Electromagnetic radiation and Alzheimer's disease. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 34(1):1087-1094.
- [7] Wyszowska, J and Pritchard, C. (2022) Open Questions on the Electromagnetic Field Contribution to the Risk of Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19(23):1615-0.
- [8] Jalilian, H, Teshnizi, SH, Rösli, M and Neghab, M. (2018) Occupational exposure to extremely low frequency magnetic fields and risk of Alzheimer disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurotoxicology* 69:242-252.
- [9] Jooyana N., GB, Bigdelia B., Faraji-Danab R., Zamanica A., Entezamib M., Mortazavi S.M.J., (2019)

قرار گرفتن طولانی مدت در معرض میدان الکترومغناطیسی ممکن است خطر ابتلا به بیماری آلزایمر را با افزایش تولید آمیلوئید بتا و کاهش تولید ملاتونین افزایش دهد [12؛ 13]. Huss و همکاران نیز نشان دادند که میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های عصبی در افرادی که در نزدیکی خطوط انتقال برق زندگی می‌کنند، بیشتر است [14]. در مطالعه دیگری Garcia و همکاران به افزایش خطر ابتلا به آلزایمر در افرادی که تحت تأثیر میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی با فرکانس بسیار پایین قرار دارند، اشاره کرده‌اند [15]. مطالعه جدیدتری رابطه بین تابش امواج رادیویی با شدت 900 مگاهرتز بر تجمع آمیلوئید بتا و سایر پروتئین‌ها را در مغز موش مطالعه بررسی کرده است. نتایج نشان داد موش‌هایی که در معرض تشعشع قرار گرفتند، سطح بالاتری از آمیلوئید بتا، پروتئین کربونیل و مالون دی‌آلدئید در مغز خود داشتند. پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که تابش 900 مگاهرتز ساطع شده از تلفن‌های همراه می‌تواند بر برخی از مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها تأثیر بگذارد [16].

بیشتر مطالعه‌های انجام شده درباره ارتباط بین بیماری آلزایمر و قرارگیری در معرض امواج الکترومغناطیس بر تشکیل و تجمع آمیلوئید بتا متمرکز بوده است و آثار این امواج روی تجمع تائو فسفریله بررسی قرار نشده است. در این مطالعه اعمال میدان مغناطیسی با فرکانس 50 هرتز و امواج رادیویی با فرکانس 900 مگاهرتز اثر معناداری بر زنده‌مانی سلول‌های عصبی ایجاد نکرده است. با این حال بررسی بیان پروتئین نشان داد که تائو فسفریله در حالت سیس و در سلول‌های تحت تیمار نسبت به نمونه کنترل افزایش بیان داشته است که این با افزایش مدت زمان تیمار افزایش پیدا می‌کند.

7- نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، اعمال میدان الکترومغناطیسی با فرکانس پایین و همچنین امواج رادیویی

- Direct and indirect effects of exposure to 900 MHz GSM radiofrequency electromagnetic fields on CHO cell line: Evidence of bystander effect by nonionizing radiation. *Environmental Research* **174**:176-187. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.03.063>.
- [10] Agholme, L, Lindström, T, Kågedal, K, Marcusson, J and Hallbeck, M. (2010) An in vitro model for neuroscience: differentiation of SH-SY5Y cells into cells with morphological and biochemical characteristics of mature neurons. *Journal of Alzheimer's disease* **20**(4):1069-1082.
- [11] Nisbet, RM and Götz, J. (2018) Amyloid- β and Tau in Alzheimer's disease: novel pathomechanisms and non-pharmacological treatment strategies. *Journal of Alzheimer's Disease* **64**(s1):S517-S527.
- [12] Davanipour, Z and Sobel, E. (2009) Long-term exposure to magnetic fields and the risks of Alzheimer's disease and breast cancer: Further biological research. *Pathophysiology* **16**(2-3):149-156.
- [13] D'Angelo, C, Costantini, E, Kamal, M and Reale, M. (2015) Experimental model for ELF-EMF exposure: Concern for human health. *Saudi journal of biological sciences* **22**(1):75-84.
- [14] Huss, A, Spoerri, A, Egger, M, Rösli, M and Study, SNC. (2009) Residence near power lines and mortality from neurodegenerative diseases: longitudinal study of the Swiss population. *American journal of epidemiology* **169**(2):167-175.
- [15] García, AM, Sisternas, A and Hoyos, SP. (2008) Occupational exposure to extremely low frequency electric and magnetic fields and Alzheimer disease: a meta-analysis. *International journal of epidemiology* **37**(2):329-340.
- [16] Dasdag, S, Akdag, MZ, Kizil, G, Kizil, M, Cakir, DU and Yokus, B. (2012) Effect of 900 MHz radio frequency radiation on beta amyloid protein, protein carbonyl, and malondialdehyde in the brain. *Electromagnetic biology and medicine* **31**(1):67-74.
- [17] Nakamura, K, Greenwood, A, Binder, L et al. (2012) Proline isomer-specific antibodies reveal the early pathogenic tau conformation in Alzheimer's disease. *Cell* **149**(1):232-244.

Effect of extremely low-frequency and radiofrequency electromagnetic field exposure on the expression of phosphorylated Tau protein in human neuroblastoma

Arezou Taalloli¹, Parviz Abdolmaleki^{1*}, Koorosh Shahpasand², Najmeh Jooyan³

¹ Department of Biophysics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

² Department of Brain and Cognitive Sciences, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology & Technology, ACECR, Tehran, Iran

³ Department of Medical Physics and Biomedical Engineering, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

*Corresponding author :

.Tel: +98 21-82883404

E-mail: parviz@modares.ac.ir

Received: 2023/1/19

Accepted: 2023/7/12

Abstract

Aims

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by the progressive loss of neurons leading to cognitive and memory decay. Accumulation of phosphorylated cis-tau inside neurons is considered features pathological AD's in factor a. This study investigated the effects of extremely low-frequency (EMF) and radiofrequency (RF) electromagnetic fields on the proliferation and expression of phosphorylated tau in SH-SY5Y neuroblastoma cells.

Materials and Methods

SH-SY5Y cells treated were exposed to 50 Hz, 20 mT EMF, and 900 MHz for 24, 48, 72, and 96 hours, and the number of the viable cell were determined by MTT assay. Tau protein phosphorylation level was examined after exposure to EMF and RF at different time intervals.

Results

Exposure to the EMF and RF alone had no significant effect on the viability of SH-SY5Y cells compared to sham-exposed cells. However, the expression of phosphorylated cis-tau was significantly increased after exposure.

Conclusion

This study suggests that exposure of human neuroblastoma cells to a 50 Hz electromagnetic field and 900 MHz radiofrequency might induce phosphorylated cis-tau and thus enhance the potency of AD.

Keywords: Alzheimer's disease, Extremely Low-Frequency and Radiofrequency, MTT assay, Cis-Tau