

اثرات میدان الکترومغناطیسی تلفن همراه بر عملکرد تک نانوکanal پروتئینی OmpF: یک رویکرد تجربی

چکیده

مهدی محمدزاده^{۱*}

حمید مباحثی^{۲،۳}

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- گروه آزمایشگاه بیوفیزیک غشاء و

ماکرومولکول، مرکز تحقیقات بیوشیمی،

بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳- مرکز پژوهشی زیست‌مواد، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۹/۰۳

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر با پیشرفت چشمگیر در سیستم‌های مخابراتی و ارتباطی، خطرات احتمالی امواج ناشی از تلفن همراه بر روی انسان‌ها، یکی از نگرانی‌های جدی جوامع در حال رشد و مدرن بشری به حساب می‌آید. لذا مطالعه اثرات امواج الکترومغناطیسی روی پروتئین‌ها به ویژه کانال‌های غشایی که مسئول حفظ شرایط فیزیکی و شیمیایی سلولی و انتقال پیام می‌باشند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این بررسی اثرات میدان‌های الکترومغناطیسی تلفن همراه روی عملکردهای بیوفیزیکی کانال OmpF جداشده از *شرشیاکولی (E. Coli)* در غشای دو لایه لیپیدی مسطح در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت.

روش بررسی: برای این منظور دینامیک کانال OmpF به صورت منفرد با استفاده از روش مونتاژ-مولر در غشای دو لایه لیپیدی مسطح بررسی گردید. سپس جریان‌های یونی عبوری (پیکوآمپر) از کانال، اندازه‌رسانی، حساسیت به پتانسیل غشا و رفتار و الگوی باز و بسته شدن آن در بازه‌های زمانی در حد میکروثانیه، به صورت هم‌زمان با تکنیک ولتاژ کلامپ اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد میدان الکترومغناطیس ناشی از تلفن همراه بر حساسیت کانال OmpF به پتانسیل غشا، باز و بسته شدن و تعداد ساختارهای حد واسط آن تاثیر معنی‌داری گذاشته، درحالی‌که بر رسانایی آن تاثیری نداشته است. با حذف میدان الکترومغناطیس، کانال به سرعت در محدوده‌ی زمانی میلی‌ثانیه یا کم‌تر به حالت اولیه بازگشت. **نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌ها امواج ساطع شده از تلفن همراه روی عملکردهای زیستی کانال منفرد و میزان باز و بسته بودن آن تاثیر معنی‌داری داشته و لازم است رویکرد استفاده از فانتوم در شناسایی اثرات منفی میدان‌ها بازنگری گردد.

کلمات کلیدی: بیوفیزیک، میدان‌های الکترومغناطیسی، تلفن همراه، باز و بسته شدن (Gating) کانال یونی، پروتئین OmpF، تکنیک ولتاژ کلامپ.

* نویسنده مسئول: ارومیه، ۱۱ کیلومتری جاده سرو دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی.
تلفن: ۰۴۴۱-۲۹۷۲۱۲۱
E-mail: m.mohamadzade@urmia.ac.ir

مقدمه

سطح مولکولی، روزبه‌روز شاهد افزایش تعداد مقالات و تحقیقات در این زمینه هستیم. امواج الکترومغناطیسی ساطع شده از مولدهایی مانند آنتن گوشی‌های تلفن همراه و آنتن‌های فرستنده آن‌ها، فرستنده‌های رادیویی، ماهواره‌ها و غیره می‌توانند اثرات سوء بر سیستم‌های زنده داشته باشند. این اثرات با تغییرات گرادیان بار در محیط بیرونی و داخلی سلول‌های زنده، در نهایت می‌تواند بر نحوه و میزان فعالیت سلول تاثیر گذاشته و به نوبه خود باعث اختلالات بافتی و ارگانی یا

در سال‌های اخیر استفاده از امواج الکترومغناطیسی (Electromagnetic) در زمینه‌های مختلف به ویژه در زمینه ارتباطات رو به گسترش است، به همین دلیل محققان را بر آن داشته تا در زمینه‌های اثرات امواج الکترومغناطیسی روی سیستم‌های زیستی به مطالعه بپردازند. از این رو با وجود محدود بودن تحقیقات ذریبط در

با توان شش وات در فرکانس ۱۵۰ و ۸۰۰ مگاهرتز اندازه‌گیری نمود.^{۱۷،۱۸} همچنین Chatterjee میدان الکتریکی القایی ناشی از امواج رادیوفرکانسی ۵۰، ۱۵۰ و ۴۵۰ مگاهرتز در بافت‌های سر را مورد بررسی و ارزیابی قرار داد.^{۱۹} مطالعات تجربی CleveLand و Athey با اندازه‌گیری میدان الکتریکی القایی ناشی از تشعشع گوشی فرستنده در فرکانس ۸۰۰ مگاهرتز در مجموعه صورت پذیرفت.^{۲۰} در یک تحقیق تجربی دیگر Balzano با تابش ناشی از یک آنتن دیپل روی بافت‌های سر، مقدار شدت میدان الکتریکی القایی را محاسبه نمود.^{۲۱} از طرف دیگر مطالعات Dutta اثر توان‌های متغیر امواج رادیویی با فرکانس‌های ۹۱۵ و ۱۴۷ مگاهرتز مدوله شده با فرکانس ۱۶ هرتز را روی سلول‌های نوروبلاستوما در سال ۱۹۹۲ نشان داد که بر اساس آن افزایش یون‌های کلسیم و افزایش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در دو دانسیته توانی متفاوت صورت می‌گرفت.^{۲۲} D'Inzeo در سال ۱۹۸۸ اثر میدان‌های ناشی از امواج رادیویی با فرکانس ۱۰/۷۵ گیگاهرتز را بر کانال منفرد وابسته به استیل‌کولین در رشته‌های عضلانی کشت داده شده از جنین‌های جوجه به وسیله تکنیک پیچ-کلمپ بررسی نمود و کاهش در فرکانس باز و بسته شدن کانال را مشاهده کرد.^{۲۳} در سال ۱۹۹۱ Sandblom با بررسی اثرات امواج ماکروویو روی فعالیت کانال‌های گرامیسیدین A نشان داد که امواج ماکروویو روی رسانایی کانال تاثیر نگذاشته اما سرعت تشکیل کانال در غشا در طول تابش را کاهش می‌دهند که این نتیجه، عکس مکانیسم‌های حرارتی امواج می‌باشد.^{۲۴}

Amemiya و Uebayashi در مطالعه‌ای تئوری، فرمولی با فرم بسته برای کره یک‌نواخت تحت تابش یک دیپل نیم موج به دست آوردند که در آن سر انسان به صورت یک کره با عایق تلفاتی مدل شده و با استفاده از معادلات مربوطه، مؤلفه‌های میدان در کره محاسبه گردیده بود.^{۲۵} با استفاده از پژوهش آن‌ها Kamimura تغییرات امپدانس دیپل نیم موج را در مجاورت سر انسان مطالعه کرده و با تأیید روش قبلی برای بالا بردن دقت، اعمال ضریب تصحیح را در محاسبات انجام‌شده ضروری دانست.^{۲۶} Toftgard موفق شد با فرض کروی و هموزن دانستن مدل سر، با تدوین یک مدل جعبه‌ای، میزان جذب انرژی دریافتی از گوشی تلفن همراه، در فرکانس‌های ۹۱۴ و ۱۸۹۰ مگاهرتز را در نقاط تماس مورد بررسی قرار دهد. بر اساس یافته‌های آنان نیمی از توان تشعشع یافته، توسط سر و دست انسان

بیماری‌های عفونی در آن‌ها گردد. محل اثر این امواج می‌تواند مناطقی از سلول نظیر غشا، گیرنده‌ها و کانال‌های موجود در آن، پروتئین‌های سیتوپلاسمی، شبکه سیتواسکتلی و غیره باشد.

مطالعاتی در زمینه اثرات زیست‌شناختی امواج ساطع شده از گوشی‌های تلفن همراه در سطوح مختلف سلولی،^{۲-۴} بافتی^{۵،۶} و موجود کامل^۷ صورت گرفته است. در این مطالعات بیش از ۶۸ درصد اثرات زیست‌شناختی گوشی‌های تلفن همراه تایید شده است.^۸ در این رابطه برخی از سوال‌های مطرح برای پژوهش‌گران عبارتند از: آیا این اثرات زیستی تاثیرهای سو بر انسان‌ها می‌گذارند؟ آیا ۳۲٪ از مطالعات که هیچ‌گونه اثر سوئی گزارش نکرده‌اند، از نظر علمی قابل اطمینان هستند؟

آیا میدان‌های ناشی از گوشی‌های تلفن همراه و ایستگاه‌های آن‌ها قادر به ایجاد سرطان در انسان‌ها می‌باشند؟ آیا این امواج محیطی بر روی فعالیت سیستم عصبی انسان تاثیرگذارند؟ آیا برهم‌کنش‌های بیوفیزیکی غیرحرارتی، در محدوده فرکانسی گوشی تلفن همراه امکان‌پذیرند؟ در صورت مثبت بودن جواب سوال اخیر، بایستی در مقادیر حداکثر میزان جذب مجاز (Specific Absorption Rate, SAR)، وات بر کیلوگرم جرم ماده بیولوژیک در معرض قرارگرفته، که توسط کمیسیون‌ها و مراکز بین‌المللی تدوین استاندارد اعلام شده است، تجدیدنظر گردد.

مطالعات در زمینه اثرات امواج الکترومغناطیسی (EMFs) روی سلول‌ها و غشا آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی از اواخر سال ۱۹۸۰ آغاز گردید. بر اساس نتایج بررسی‌ها، برخی از پژوهش‌گران بر این باورند که اثرات میدان‌های رادیویی و میکروویو بر روی سیستم‌های زیستی به دلیل اثرات حرارتی می‌باشد نه به واسطه اثر مستقیم تابش یا عوامل دیگر.^{۹،۱۰}

مطالعات تجربی و تئوری زیادی در زمینه اثرات زیست‌شناختی امواج الکترومغناطیسی صورت گرفته است،^{۱۱-۱۳} که در برخی از آن‌ها به اختلالات در انتقال یون‌های سدیم، پتاسیم و آزاد شدن یون‌های کلسیم از غشا‌های سلولی ناشی از امواج اشاره شده است.^{۱۴-۱۶} در ابتدایی‌ترین پژوهش‌های تجربی، محققان افزایش حرارت ناشی از میدان الکتریکی القاشده در بافت‌های مغز را به دلیل نزدیکی به منبع تشعشع اندازه‌گیری کردند. یکی از این گروه‌ها، Balzano بود که افزایش حرارت در بافت‌های سر انسان را در مجاورت تشعشع آنتن

روش بررسی

مطالعه حاضر در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) در آزمایشگاه بیوفیزیک غشا و ماکرومولکول‌های مرکز تحقیقات بیوشیمی-بیوفیزیک دانشگاه تهران طی مراحل زیر انجام گرفت.

برای این بررسی ابتدا غشا دو لایه لیپیدی ساخته شده و سپس کانال پروتیین در آن قرار داده شد و تاثیر میدان بر ویژگی‌های فیزیک و شیمیایی و عملکرد غشا و سپس تک کانال یونی در زمان واقعی با استفاده از تکنیک ولتاژ کلامپ صورت گرفت.

روش ساخت غشای دو لایه لیپیدی مسطح مصنوعی: برای این کار غشاء مصنوعی توسط فسفاتیدیل کولین‌های (یا لیسیترین‌های) استخراج‌شده از سویا (Soya lecithin type II, Sigma Aldrich, Steinheim, Germany) حل شده در هگزان ساخته شد. با استفاده از روش مونتال مولر، از یک محفظه دو قسمتی شیشه‌ای با حجم کل ۲ml که توسط یک صفحه شیشه‌ای از هم جدا شده و به‌عنوان بستری برای قرارگیری فیلم تفلونی به قطر ۰/۲ میلی‌متر به‌کار می‌رفت، استفاده گردید. در ابتدا با استفاده از محلول دو درصد هگزادکان در ان-پنتان، منفذ، که با قطر ۳۰ میکرون در پرده تفلونی ایجاد شده بود، پوشش داده شد. الکترولیت مورد استفاده برای بررسی رفتار کانال، عبارت بود از بافر یک مولار کلرید پتاسیم، ۱۰ میلی‌مولار کلرید کلسیم، ۱۰ میلی‌مولار HEPES با pH ۷/۴. برای ایجاد غشا، ابتدا محلول لیپید در هگزان پنج درصد وزنی، در سطح بافر در هر طرف قرار داده شد، ۱۰ دقیقه زمان داده شد تا هگزان آن تبخیر گردد و در نتیجه یک تک لایه لیپیدی شکل گیرد. سپس با تزریق بافر بیش‌تر به هر طرف، به تدریج سطح تک لایه در یک طرف بالا برده شد تا تک لایه اول در یک طرف منفذ ایجاد گردد. بعد، سطح بافر در طرف مقابل بالا برده شد تا تک لایه دوم نیز در طرف مقابل ایجاد گردیده و با تک لایه اول زیپ گردد. ثبت توسط پل‌های یونی آگار که متصل به الکترودهای کلرید نقره بودند صورت گرفت. بعد از شکل‌گیری غشای دو لایه لیپیدی مسطح، در صورت مناسب بودن ظرفیت غشایی و عدم وجود نشت در آن، مرحله بعدی آزمایش‌ها آغاز می‌گردید.^{۳۹} شناسایی زمان شکل‌گیری، ظرفیت خازنی غشا، نفوذپذیری و پایداری آن بر اساس ویژگی‌های آن به‌عنوان خازن، با اعمال موج مربعی با فرکانس ۱۲۰ هرتز و ولتاژ قله تا قله (پیک تو

جذب می‌شود که از این مقدار، حدود ۹۶٪ در سر و ۵٪ توسط دست جذب می‌گردد.^{۳۷} Martens نیز همین محاسبه را در فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز با استفاده از مدل MRI مجسمه و آنتن مونوپل روی جعبه گوشی تلفن همراه انجام داد. نتایج به‌دست آمده از این بررسی، تقریباً بر یافته‌های Toftgard منطبق بود.^{۲۸،۲۹} Samii و Jensen در مطالعه‌های پژوهشی خود در فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز، از مدل MRI مجسمه با فرض پنج لایه‌ای بودن بافت سر استفاده کردند و نشان دادند که بین ۴۸ تا ۶۸ درصد توان جذب‌شده مربوط به سر و دست می‌باشد.^{۳۰} Ohoniewski و Stuchly تأثیر فرکانس ۹۱۵ مگاهرتز را روی سر، دست و گوش انسان با مدل واقعی سر بررسی کردند.

محاسبات آن‌ها حاکی از جذب مقدار قابل توجه‌ای از توان تشعشعی گوشی تلفن همراه بود که با اصلاح شکل هندسی دستگاه می‌توانست کاهش یابد.^{۳۱} اثرات زیست‌شناختی میدان‌های الکترومغناطیسی به دلیل نقش عوامل متعدد در میزان و هدف این اثرات و توسعه کاربردی روزافزون امواج الکترومغناطیسی، از مباحث پیچیده و در عین حال ضروری و حساس برای عموم به حساب می‌آید.

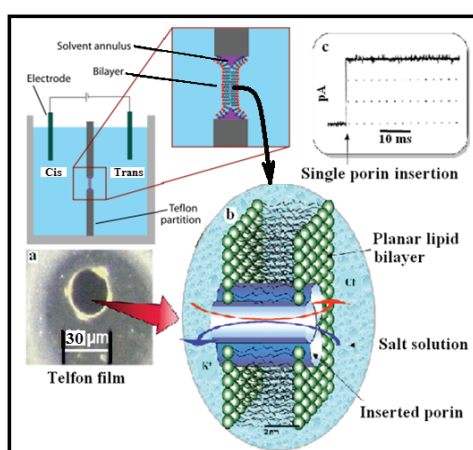
بررسی اثرات امواج مدوله‌شده به ویژه امواج تلفن همراه روی موجودات زنده تقریباً از سال ۱۹۹۸ شروع شد و به تدریج توسعه یافت. در سال‌های اخیر با وجود مطالعه‌های اپیدمیولوژی و آزمایشگاهی در همین راستا، هیچ‌گونه اثرات معنی‌داری خاصی از آن‌ها گزارش نشده است.^{۳۲-۳۸} با وجود ضرورت بررسی‌های دقیق‌تر در سطح سلولی و مولکولی، مطالعه‌های بسیار محدودی در این زمینه صورت گرفته است.

مرور منابع علمی مربوط به تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای در زمینه تاثیر امواج الکترومغناطیسی مدوله با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز (محدوده‌ی فرکانسی گوشی‌های تلفن همراه) روی رفتار کانال پروتیینی انجام نشده است. بنابراین هدف این تحقیق، مطالعه تاثیر امواج الکترومغناطیسی مدوله مذکور روی رفتارهای زیستی کانال منفرد از قبیل حساسیت ولتاژی، فرکانس باز و بسته شدن، ساختارهای حدواسط و رسانایی آن تعریف گردید تا بتوان اثرات میدان‌های الکترومغناطیسی را در سطح مولکولی، در حین اعمال میدان و در مسیر عبور یون از یک تک کانال یونی حساس به ولتاژ، رصد، ثبت و بررسی نمود.

متناب اعمال گردید. در اثر اعمال این شوک‌های الکتریکی، آشفته‌گی‌هایی در غشا ایجاد می‌گردید که منجر به ایجاد شرایطی با نفوذپذیری مناسب گردیده و در اثر آن یک یا چند پروتیین به درون غشای مصنوعی وارد می‌گردیدند. ورود پروتیین منفرد به درون غشا از روی مقادیر رسانایی تک کانال، حداکثر ۳۹۰۰ پیکوزیمنس، قابل اثبات است. به محض ورود پروتیین منفرد به غشا، ولتاژ اعمالی به سرعت به مقادیر ۲۰ تا ۴۰ میلی‌ولت تقلیل داده شد تا ضمن حفظ غشا، پروتیین نیز از آن خارج نشود. در این حالت میزان جریان عبوری از تک کانال در ولتاژ اعمال شده اندازه گرفته شد تا بر اساس آن از ورود یک کانال به درون غشا منفرد اطمینان حاصل گردد. در صورت ورود بیش از یک کانال، غشا شکسته شده و آزمایش بار دیگر تکرار می‌گردید (شکل ۱).

در صورتی که دو یا سه کانال وارد غشا شده باشند، میزان جریان عبوری نسبت به حالت تک کانال دو یا سه برابر می‌باشد که البته بررسی‌ها و آنالیز رفتار کانال را مشکل می‌سازد.

روش ولتاژ کلمپ (قید ولتاژ): اولین بار این تکنیک در سال ۱۹۴۰ برای مطالعه ویژگی‌های نفوذپذیری کانال‌ها به کار گرفته شد (Kenneth Cole, 1940). این تکنیک می‌تواند ضمن شناسایی میزان نفوذپذیری غشا، جریان ناشی از عبور یونها از خلال تک کانال را با ثابت نگه داشتن تغییرات ولتاژی غشا را توسط الکترودهای قرار داده شده در دو طرف غشا واجد کانال، اندازه‌گیری نماید. بنابراین تکنیک



شکل ۱: شکل شماتیک از غشای مصنوعی مسطح با تک کانال پورین OmpF روی سوراخ پرده تفلونی (Lyndelle LeBruin 2009).

پیک) دو ولت و ملاحظه جریان‌های شارژ و دشارژ خازنی غشا صورت گرفت.^{۴۰}

کنترل دما: در اغلب مطالعه‌ها، به دلیل تاثیرگذاری تغییرات دمایی روی سیالیت غشاهای زیستی، غشاها در شرایط آزمایشگاهی در دمای ثابت 20°C بررسی می‌شوند.^{۳۹} بر این اساس مطالعه‌ی حاضر در دمای ثابت 20°C با نصب سه دماسنج حساس یکی در محلول بافر، دیگری در داخل قفسه فارادی و سومی در آزمایشگاه جهت کنترل تغییرات دمایی در تمام مدت آزمایش صورت گرفت. درجه حرارت در هر مورد به صورت الکترونیکی توسط سیستم حرارتی-برودتی LG تا دهم درجه سانتی‌گراد کنترل و تثبیت می‌گردید. لازم به ذکر است که امواج ساطع شده از گوشی تلفن همراه با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز مدوله باعث تغییرات دمایی محسوسی در حد ابزار دقت دماسنج‌های موجود در محلول بافری نمی‌گردیدند.

بررسی رفتار غشا در حضور میدان: با توجه به این‌که ویژگی‌های غشای ساخته شده تاثیر زیادی بر رفتار کانال موجود در آن که در مراحل بعدی مطرح می‌گردد، می‌گذارد، ابتدا ویژگی‌های غشا بررسی گردیده و در صورت مناسب بودن سایر مراحل آزمایش اجرا می‌گردید. یکی از راه‌های تست پایداری غشا، اعمال اختلاف پتانسیل‌های مختلف بر آن می‌باشد. به‌طور معمول غشایی که در محدوده ولتاژی اعمالی ۲۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌ولت پایدار باشد، غشای مناسبی برای مطالعه آزمایشگاهی است. اگر ساختار غشایی در ولتاژهای پایین‌تر از مقادیر فوق شکسته شود، نشان‌دهنده‌ی پایداری کم آن بوده و برای وارد نمودن کانال پروتیینی مورد نظر مناسب نمی‌باشد. بر عکس، اگر غشای مورد نظر در محدوده ولتاژی اعمالی خیلی بالاتر (۴۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌ولت) دوام بیاورد و ساختار منسجم خودش را حفظ کند، در این حالت نیز غشای مناسبی برای مطالعه نیست، زیرا به دلیل غیر انعطاف‌پذیر بودن غشا، بستری غیر طبیعی برای کانال ایجاد نموده و مطمئناً شاهد فعالیت طبیعی پروتیین در آن نخواهیم بود.^{۴۱}

وارد نمودن پروتیین منفرد OmpF به درون غشا: بعد از مرحله کنترل غشا و اطمینان از پایداری مناسب آن، محلول پروتیینی پوشش داده شده با سورفاکتانت به چاهک سیس (شکل ۱) اتاقک ساخت غشا تزریق گردید. سپس شوک‌های پتانسیلی با پلاریتهای مختلف در حد پایداری غشا، به‌طور معمول در حدود ۲۰۰ میلی‌ولت، به‌طور

یافته‌ها

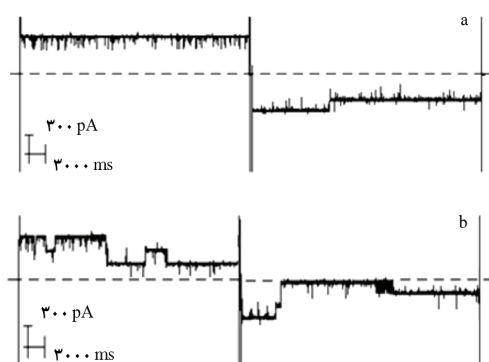
فعالیت کانال پروتیین منفرد OmpF در ولتاژ ± 140 میلی‌ولت و دمای ثابت 20°C در حضور امواج الکترومغناطیسی ناشی از آنتن گوشی تلفن همراه در وضعیت روشن و در حال مکالمه به مدت ۱۰ دقیقه ثبت و بررسی گردید (شکل ۲). در پی اعمال میدان توسط گوشی تلفن همراه، حساسیت کانال به پتانسیل غشا در حضور میدان به شدت افزایش یافت و کانال زمان بیشتری را در حالت بسته سپری نمود. با این حال، تغییری در میزان رسانایی تک کانال در این شرایط ملاحظه نگردید.

از سویی دیگر با حذف امواج اعمالی با قرار دادن گوشی تلفن همراه در وضعیت خاموش، رفتار کانال منفرد به سرعت، در بازه زمانی در حدود چند میلی‌ثانیه، بار دیگر به حالت اولیه خود باز گشت. فعالیت کانال منفرد در ولتاژ اعمالی ثابت ± 140 میلی‌ولت و دمای ثابت 20°C در حضور امواج ساطع شده از آنتن گوشی تلفن همراه در وضعیت روشن برای مدت ۱۰ دقیقه ثبت گردید و پس از آنالیز داده‌ها از نظر زمان حضور کانال پروتیینی در هر آرایش مولکولی، توزیع آرایش‌های مختلف در قالب میزان رسانایی ایجاد شده به صورت نمودار هیستوگرامی به دست آمد (نمودار ۱). با توجه به نمودار ۱، می‌توان گفت که حساسیت کانال به پتانسیل غشا و هم‌چنین درصد حالات مونومری و دایمری (در حضور امواج) نسبت

ولتاژ کلمپ می‌تواند در بازه نمونه‌گیری در حد ۵۰۰-۱۰۰ میکروثانیه، جریان عبوری یون‌ها از کانال منفرد (بر حسب پیکوآمپر) را در بازه‌های زمانی کوتاه (تا حدود میکروثانیه) به طور هم‌زمان ثبت کند. ثبت اولیه در داخل قفس فارادی، در بین آنتن‌های اعمال کننده میدان الکترومغناطیس، توسط الکترودهای Ag/AgCl، متصل به پل نمکی آگار توسط هد استیج، پری آمپلی‌فایر با قدرت ۱۰-۵ برابر تقویت، صورت گرفته، به فیلتر- آمپلی‌فایر اصلی (ADIMI 1382 Filter Amplifier) ارسال شده و پس از دو مرحله فیلتر شدن در حدود ۹ کیلوهرتز، بار دیگر تا صد برابر تقویت شده و به دیجیتایزر (CED 1401 plus, Cambridge Electronic Design, UK) سیگنال خروجی دیجیتایزر به میانجی آن در یک رایانه PC ارسال شده و توسط نرم‌افزار (Dempster, J. PAT 6,7 university of Stratclyde, UK) داده‌ها دریافت شده و ثبت و آنالیز می‌گردیدند. مجموعه تجهیزات اعمال پتانسیل غشا، قفس فارادی و قطعات موجود در آن اعم از تقویت‌کننده اولیه و آنتن‌ها و اتافک‌های غشا، بر روی میز هوا (Air table) قرار گرفتند تا لرزه‌های مکانیکی محیط کار به سیستم ثبت رفتار کانال و غشا وارد نگردند.

روش اعمال امواج الکترومغناطیسی: برای اعمال امواج الکترومغناطیسی از روش مطرح شده در گزارش قبلی که بر اساس نتایج به دست آمده از اعمال میدان الکترومغناطیس غیرمدوله به دست آمده بود استفاده گردید.^{۴۱}

در مطالعه حاضر بررسی اعمال میدان الکترومغناطیسی حاصل از گوشی تلفن همراه با فرکانس مدوله‌ای حدود ۹۰۰ مگاهرتز (Nokia Corp., Helsinki, Finland) صورت گرفت. در این مطالعه آنتن گوشی تلفن همراه به فاصله ۲/۲۵ سانتی‌متر از غشا دو لایه لیپیدی مسطح، که تقریباً معادل متوسط فاصله‌ای است که به طول معمول در هنگام استفاده توسط افراد از سر ایشان قرار داده می‌شود، قرار داده شد. این فاصله، توسط کمپانی‌های سازنده گوشی و سازمان بهداشت جهانی به‌عنوان فاصله مطرح برای اندازه‌گیری میزان تشعشعات ناشی از گوشی همراه تعیین گردیده و اندازه‌گیری مقدار شدت جذب در تاثیر از میدان ناشی از گوشی در داخل فانتوم مصنوعی بر حسب میزان جذب مجاز (SAR)، صورت می‌گیرد. بررسی اثرات میدان الکترومغناطیسی روی غشا به دلیل داشتن شرایط پایدار، مشابه غشای طبیعی، محدود و خالص و در دمای ثابت 20°C صورت گرفت.

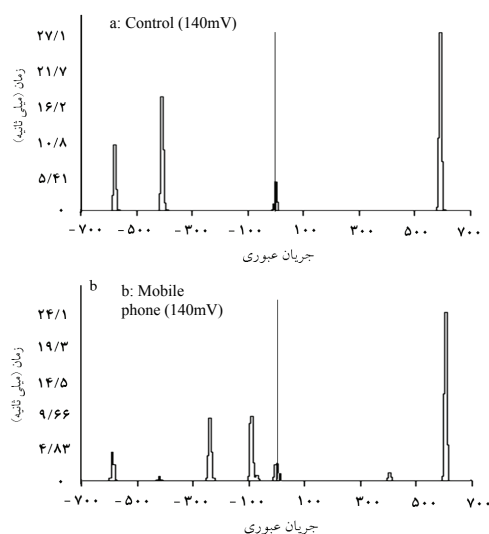


شکل ۲: جریان عبوری از کانال منفرد OmpF در ولتاژ ± 140 میلی‌ولت، در دمای 20°C و $\text{pH } 7/4$ به مدت ۱۰ دقیقه در دو حالت (a) حالت کنترل (وضعیت خاموش گوشی تلفن همراه) (b) تحت تابش امواج گوشی تلفن همراه (وضعیت روشن گوشی)

نتایج متفاوتی در رابطه با رسانایی کانال حاصل می‌گردد که حکایت از عبور تعداد حامل‌های جریان در واحد زمان از مقطع کانال می‌باشد. برای اولین بار Benz نشان داد که رسانایی ویژه محلول می‌تواند در رسانایی کانال نقش موثری داشته باشد. در تفسیر این پدیده به اندرکنش میان یونها و پروتیین نیز اشاره می‌شود.^{۴۲} بر این اساس می‌توان نتایج به‌دست آمده در این مطالعه را با شرایط یونی مطرح در مطالعات فوق توضیح داد. بنابراین می‌توان گفت که اثرات میدان اعمال شده در محیط کانال نتوانسته است بر تعداد آنیون و کاتیون عبور کننده در واحد زمان از کانال تاثیر ویژه‌ای اعمال نماید و میزان رسانایی یا کاندوکتانس کانال را تغییر دهد. در عین حال چنانچه میدان بر حرکت کاتیون و آنیون اثر گذاشته باشد، بر اساس نتایج میدان اثر فزاینده‌ای بر میزان حرکت یکی از آنها و یا اثر کاهش‌دهنده‌ای بر دیگری داشته است، به‌طوری‌که در کل تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر جریان معادل ناشی از حرکت دو نوع یون مشاهده نگردید.

رسانایی کانال‌ها که در مورد pHهای مختلف به دست آمده است، نشان داده است که در pHهای اسیدی رسانایی کاهش و در pHهای قلیایی، افزایش می‌یابد. در محدوده pH پنج تا ۹ تغییرات چشمگیری در رسانایی کانال دیده نمی‌شود که این رفتار کانال به تعداد و نوع گروه‌های باردار موجود در مدخل عبوری یونها در آن بستگی دارد. بر این اساس، با بهره‌گیری از مدل‌سازی مولکولی کانال و انجام همانندسازی‌های مجازی دینامیک مولکولی در کانال، ممکن است بتوان محدود اثر میدان بر میزان پروتونه شدن گروه‌های موثر در ایجاد رسانایی و انتقال یونها در کانال را تا حدودی شناسایی نمود.

ترکیبات غشایی و تاثیر آنها بر عملکرد منفذ کانال توسط Buehler مورد بررسی قرار گرفت.^{۴۳} در سال ۱۹۹۶ Weiss نشان داد که میزان رسانایی کانال در فسفولیپیدهای مختلف تغییر می‌کند. وجود برخی آمینواسیدهای خاص و موقعیت‌های فضایی آنها در OmpF از جمله ویژگی‌های ساختاری آن هستند که می‌توانند در رسانایی کانال نقش داشته باشند. حذف گروه‌های باردار مثل گلوتامات ۱۱۷ می‌تواند رسانایی کانال را تا حدود ۲۵٪ کاهش دهد. به‌علاوه، جایگزینی گروه‌های باردار مثل آرژنین ۱۳۲ می‌تواند رسانایی کانال را کاهش داده و در عین حال، نفوذ قندها را افزایش دهد. در برخی از موتاسیون‌های ایجاد شده، زمانی که رسانایی کانال کاهش یافته، نفوذپذیری دی‌ساکاریدها افزایش پیدا کرده است. با توجه به تمامی



نمودار ۱: نمودار هیستوگرامی رسانایی کانال منفرد OmpF در ولتاژ ± 140 میلی‌ولت، دمای 20°C و $\text{pH } 7/4$ به مدت ۱۰ دقیقه در دو حالت (a) حالت کنترل (وضعیت خاموش گوشی تلفن همراه) (b) تحت تابش امواج گوشی تلفن همراه (وضعیت روشن گوشی تلفن همراه یا در حال مکالمه)

به حالت کنترل افزایش یافته است. از سوی دیگر در قطبیت منفی ولتاژهای اعمالی نشان داده شده در نمودار فوق، چهار پیک ظاهر شده است که در محدوده جریانی -80 تا -100 میلی‌ولت، پیک ظاهر شده نشان‌دهنده ظهور ساختار حد واسطی در کانال منفرد در وضعیت روشن گوشی تلفن همراه (یا در حال مکالمه) می‌باشد.

بحث

در کانال منفرد پورینی OmpF جریان عبوری از خلال کانال (I) و ولتاژ اعمال شده (V)، در ولتاژهای پایین از قانون اهم پیروی می‌کند. در نمودار جریان-ولتاژ، شیب نمودار مقدار ثابتی دارد که نشان‌دهنده رسانایی کانال بوده و با پارامتر کاندوکتانس (Conductance) (با حرف G) بیان می‌شود. معادله $I=GV$ نشان می‌دهد که این کانال در محدوده ولتاژهای کم‌تر از ۱۴۰ میلی‌ولت، به صورت یک رسانای اهمی عمل می‌کند. ضریب نسبت I و V در این جا G می‌باشد که همان رسانایی کانال را بیان می‌کند و به عوامل مختلفی بستگی دارد. به عنوان مثال در غلظت‌های متفاوت از محلول یونی KCl، شیب خط تغییر کرده و

با افزایش شعاع کاتیون عبوری، حساسیت کانال به ولتاژ، افزایش می‌یابد. در توجیه این پدیده، ویژگی ساختارساز و ساختار شکن یون‌های عبوری تاثیرگذار می‌باشند.^{۴۹،۵۰} در این بررسی‌ها هر قدر شعاع یونی کاتیونی بیش‌تر و کاتیون بزرگ‌تر باشد، مثل Cs⁺، Rb⁺، اندرکنش آن با آب ضعیف‌تر می‌گردد. در شرایط فوق بسته شدن کانال در اثر اعمال ولتاژ تحریک‌کننده صورت می‌گیرد. بر عکس، اگر شعاع کاتیون کوچک‌تر باشد امکان اندرکنش قوی‌تری با آب داشته و در نتیجه می‌تواند از طریق سازمان دادن به مولکول‌های آب پیرامون منافذ کانال، شرایطی را ایجاد نماید که در اثر آن حساسیت کانال به ولتاژ کاهش یابد. به عبارتی با این آزمایش نشان داده شده است که موقعیت و قرارگیری مولکول‌های آب در شبکه‌های آب اطراف کانال پورینی OmpF می‌تواند در حساسیت آن به ولتاژ نقش موثری را ایفا نماید. مطلب دیگری که در این آزمایش بر آن تاکید شده است، صورت‌بندی (Conformation) خاص پروتئین و حساسیت ولتاژی آن می‌باشد. به طوری که به هم ریختگی‌های شبکه آب پیرامون پروتئین، می‌تواند صورت‌بندی‌های خاصی را در پروتئین در پی داشته باشد.

در نتیجه در هر یک از شرایط فوق، میزان حساسیت کانال پروتئینی به ولتاژ متفاوت می‌باشد. تحقیقات دیگری در جهت مشخص کردن نقش آمینواسیدهای داخل مجرای کانال در رفتارهای آن به ویژه در حساسیت ولتاژی، صورت گرفته و با ایجاد جهش در آمینواسیدهای ساختاری کانال، میزان حساسیت ولتاژی را در فرم‌های جهش یافته و فرم طبیعی مقایسه کرده‌اند. بر اساس نتایج، در اکثر جهش‌های تاثیرگذار، حساسیت ولتاژی کانال پورین، به نحوی با آمینواسیدهای باردار داخل منفذ کانال در ارتباط بوده است. در دسته‌ای از این جهش‌ها، یک آمینواسید خنثی به جای یک آمینواسید باردار مثبت، R42C، R42C، R132P، جایگزین می‌شود. از آنجایی که تمامی این آرژنین‌ها در دیواره بشکه مانند کانال قرار دارند و در pH فیزیولوژیک ۷/۴ نیز دارای بار مثبت با خاصیت قلیایی می‌باشند، قرار دادن آمینواسیدهای خنثی به جای آن‌ها، باعث کاهش بار مثبت در کانال می‌شود. در بررسی این نوع از OmpF‌های جهش یافته، ولتاژ بحرانی کانال کاهش می‌یابد و کانال تحت ولتاژهای اعمالی کم‌تری بسته می‌شود. در بررسی‌های دیگری در این زمینه، یک آمینواسید خنثی به جای یک آمینواسید باردار منفی، E117C، D113G و D113C، قرار می‌گیرد، بنابراین در این نوع جایگزینی‌ها، بار منفی کانال کاهش

شرایط مورد بررسی می‌تواند رسانایی کانال و میزان آن را به شدت با میدان‌های درونی کانال مرتبط دانست. به عبارت دیگر به همان میزان که ابعاد هندسی داخل کانال می‌تواند در رسانایی کانال تاثیر داشته باشد، میدان درونی کانال نیز می‌تواند نقش داشته باشد. عامل دیگری که می‌تواند در میزان رسانایی کانال تاثیر داشته باشد میزان اختلاف پتانسیل غشا است.^{۴۶-۴۴}

شرایط فوق زمانی ایجاد می‌گردد که آرایش مولکولی کانال در کنار آرایش و دینامیک مولکول‌های آب و یون‌های موجود در فرم طبیعی شکل گرفته باشند. با توجه به دینامیک آب و این‌که زمان استراحت یا ایسای هر مولکول آب در حدود یک فمتوثانیه می‌باشد،^{۴۷} همواره ساختارهای بسیار ناپایداری از آب شکل می‌گیرند که زمان عمر بسیار کوتاهی دارند. با توجه به زمان کوتاه عمر هر یک از این ساختارها، تغییر میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی با سرعت بالا، می‌تواند منجر به تغییر آرایش هر یک از مولکول‌های آب گردیده و با تاثیر بر میزان هیدراتاسیون گروه‌های در تماس با مسیر عبور یون در کانال، منجر به تغییر رفتار کانال و پاسخ آن به اختلاف پتانسیل غشا گردد و به نوعی افزایش حساسیت کانال به اختلاف پتانسیل غشا را در شرایط جدید توجیه نماید.

یکی از ویژگی‌های مهم کانال پورین OmpF حساسیت ولتاژی کانال، یا به عبارتی امکان بسته شدن آن تحت تاثیر ولتاژ اعمالی و در کل عملکرد آن در قالب یک بیوترانزیستور باشد. حساسیت پورین‌ها به ولتاژ، اولین بار توسط Rosenbusch و Schindler گزارش شد.^{۴۸} آن‌ها مشاهده نمودند که با رسیدن پتانسیل غشا به یک حد معین یا آستانه، منافذ کانال به صورت پله‌ای بسته می‌شوند. حساسیت ولتاژی در مورد OmpF در هر دو ولتاژ مثبت و منفی دیده شده است. میزان ولتاژ آستانه برای منافذ تک کانال به طور میانگین ۱۸۰ میلی‌ولت گزارش شده است و مقدار آن به شرایط محیطی و بستر کانال بستگی دارد. کانال OmpF در غشای دو لایه لیپیدی تحت تاثیر میدان‌های الکتریکی اعمال شده بسته می‌شود. دینامیک مولکول کانال برگشت‌پذیر بوده و منجر به باز و بسته شدن مکرر متناسب با ولتاژ می‌گردد که Gating نامیده می‌شود. در کانال OmpF دیده شده که بسته شدن منافذ کانال در سه مرحله، هر مرحله را مرتبط با بسته شدن یک منفذ، صورت می‌گیرد. در ولتاژهای پایین، پورین می‌تواند برای ثانیه‌ها و حتی دقایقی باز بماند. هم‌چنین مطالعات نشان می‌دهند

هم می‌خورد. در نتیجه این آشفتگی، بارهای سطحی غشا مسطح و میدان الکتریکی داخل منافذ کانال متاثر می‌شوند. در نهایت نتیجه آن، تغییر آرایش هندسی و فضایی داخل منفذ در جهت کاهش بار مثبت یا افزایش بار منفی داخل منفذ پیش می‌رود که با افزایش حساسیت ولتاژی کانال همراه است. این تغییرات آرایش ساختاری تک کانال در حضور میدان‌های الکترومغناطیس مدوله به نحوی است که ساختارهای حدواسط پایداری در آن شکل می‌گیرند. تفسیر یافته‌های به‌دست آمده بر اساس نتایج پژوهش‌های دانشمندان در سال‌های گذشته به ویژه مطالعات جایگزینی آمینواسیدی مطابقت دارد.^{۴۰-۵۵} لازم به ذکر است که بررسی‌های مطرح در این تحقیق، تغییرات رفتاری در کانال منفرد پورینی را به عنوان یک کانال نمونه در بین کانال‌های ولتاژی نشان می‌دهد و لازم است سایر کانال‌ها و پمپ‌های یونی موجود در غشای سلول‌ها، به‌خصوص فیبرهای عصبی و عضلانی نیز مورد بررسی قرار گیرند و تاثیرات میدان‌های الکترومغناطیسی بر نحوه عملکرد سیستم عصبی عضلانی موجودات زنده به‌طور کامل شناسایی گردد. به‌علاوه آب و الکترولیت‌های خاص به‌عنوان بستر مشترک برای تمام ماکرومولکول‌های زیستی که به‌عنوان پلی‌الکترولیت نقش کنترل عبور و مرور و ترجمه پیام‌ها در غشاهای زیستی را بر عهده دارند و به عنوان محل اثر میدان‌ها مطرح می‌باشند، بررسی‌های بیش‌تری را در مقیاس‌های مولکولی و بازه‌های زمانی در حد پیکو تا فمتوثانیه را ضروری می‌سازد.

سپاسگزاری: نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت مالی دانشگاه تهران و همکاری آقای مهندس سعید فارسی جهت طراحی آنتن و شبیه‌سازی EMF در قفسه فارادی ابراز می‌دارند. این مقاله حاصل بخشی از یک پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی بیوفیزیکی تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی بر روی رفتار کانال منفرد پورین OmpF" در مقطع دکترای تخصصی می‌باشد که با حمایت مرکز تحقیقات بیوشیمی - بیوفیزیک دانشگاه تهران اجرا شده است.

می‌یابد. در بررسی این نوع از OmpF‌های تغییر یافته، ولتاژ بحرانی کانال منفرد افزایش می‌یابد. در تحقیقات دیگر صورت گرفته، با وجود این‌که در اثر تغییرات جهشی، Y102F Y106F، بار خالص کانال تغییر نکرده است، هم‌چنان حدود ۴۰-۳۰٪ در ولتاژ بحرانی کانال تغییر مشاهده می‌شود. به‌دلیل اهمیت ناحیه آمینواسیدی ۱۲۰-۱۱۶ (PEFGG) در عملکردهای بیوفیزیکی کانال پورین، با حذف این منطقه ولتاژ بحرانی از ۱۸۰ میلی‌ولت به ۲۱۷ میلی‌ولت افزایش می‌یابد. بررسی اخیر به نقش کلیدی ناحیه مذکور در حساسیت ولتاژی کانال اشاره دارد.^{۴۵،۴۶} بنابراین به‌نظر می‌رسد تغییر رفتار کانال در تاثیر از میدان الکترومغناطیس اعمال شده در این بررسی می‌بایست نانومحیط یکی از جایگاه‌های خاص مطرح در موتان‌های فوق را تحت تاثیر قرار داده باشد، در حالی‌که کانال ساختار وحشی خود را دارا است، عملاً تاثیر میدان، نتایج مشابه موتاسیون‌های خاص را نشان داده است که می‌توان در شبیه‌سازی‌های مولکولی از آن بهره جست و محل اثر میدان را شناسایی نمود.

بر اساس تحقیقات صورت گرفته چنین استنباط می‌شود که کاهش بار مثبت داخل منفذ کانال به‌خاطر جایگزینی آمینواسیدهای خاص، حساسیت ولتاژی کانال را افزایش می‌دهد. بر عکس با کاهش بار منفی داخل کانال، حساسیت ولتاژی کاهش یافته و در ولتاژهای پایین‌تر منافذ کانال شروع به بسته شدن می‌کنند. نتایج بررسی‌ها در ارتباط با مکانیسم حساسیت ولتاژی کانال پورین تحت مطالعه، به حلقه سوم درون منفذ، حلقه‌های بلند خارجی، آمینواسیدهای باردار منفی داخل منفذ کانال و میدان الکتریکی ناشی از آن‌ها تاکید دارد.^{۴۰-۵۳} بر اساس نتایج به‌دست آمده از این بررسی می‌توان نتیجه گرفت که در اثر تابش امواج الکترومغناطیسی مدوله‌شده گوشه تلفن همراه روی کانال منفرد، موقعیت و آرایش مولکول‌های آب در شبکه‌های پیرامونی غشا و هم‌چنین در مجاورت گروه‌های خاص هیدراته شده اسیدهای آمینه موجود در کانال منفرد پورین OmpF به

References

- Zhang M, Li X, Bai L, Uchida K, Bai W, Wu B, et al. Effects of low frequency electromagnetic field on proliferation of human epidermal stem cells: An in vitro study. *Bioelectromagnetics* 2013;34(1):74-80.
- Morabito C, Guarnieri S, Fanò G, Marigliò MA. Effects of acute and chronic low frequency electromagnetic field exposure on PC12 cells during neuronal differentiation. *Cell Physiol Biochem* 2010; 26(6):947-58.

3. Ronchetto F, Barone D, Cintorino M, Berardelli M, Lissolo S, Orlassino R, et al. Extremely low frequency-modulated static magnetic fields to treat cancer: A pilot study on patients with advanced neoplasm to assess safety and acute toxicity. *Bioelectromagnetics* 2004;25(8):563-71.
4. Ruiz-Gómez MJ, de la Peña L, Prieto-Barcia MI, Pastor JM, Gil L, Martínez-Morillo M. Influence of 1 and 25 Hz, 1.5 mT magnetic fields on antitumor drug potency in a human adenocarcinoma cell line. *Bioelectromagnetics* 2002;23(8):578-85.
5. Girgert R, Hanf V, Emons G, Gründker C. Signal transduction of the melatonin receptor MT1 is disrupted in breast cancer cells by electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2010;31(3):237-45.
6. Challis LJ. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics* 2005;Suppl 7:S98-S106.
7. Frilot C 2nd, Carrubba S, Marino AA. Magnetosensory function in rats: localization using positron emission tomography. *Synapse* 2009;63(5):421-8.
8. Cucurachi S, Tamis WL, Vijver MG, Peijnenburg WJ, Bolte JF, de Snoo GR. A review of the ecological effects of radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF). *Environ Int* 2013; 51:116-40.
9. Huss A, Egger M, Hug K, Huwiler-Müntener K, Rössli M. Source of funding and results of studies of health effects of mobile phone use: systematic review of experimental studies. *Environ Health Perspect* 2007;115(1):1-4.
10. Troulis SE, Scanlon WG, Evans NE. Effect of a hands-free wire on specific absorption rate for a waist-mounted 1.8 GHz cellular telephone handset. *Phys Med Biol* 2003;48(12):1675-84.
11. Bames FS, Greenebaum B, editors. Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Taylor and Francis Press; 2006.
12. Banik S, Bandyopadhyay S, Ganguly S. Bioeffects of microwave: a brief review. *Bioresour Technol* 2003;87(2):155-9.
13. Lang S. Recent Advances in Bioelectromagnetics Research on Mobile Telephony and Health An Interoduction. Progress In Electromagnetics Research Symposium. Cambridge, USA, 2006. p. 192-6.
14. Martens L. Electromagnetic safety of children using wireless phones: a literature review. *Bioelectromagnetics* 2005;Suppl 7: S133-7.
15. Nageswari KS. Biological Effects of Microwaves and Mobile Telephony. Proceedings of the International Conference on Non-Ionizing Radiation at UNITEN (ICNIR 2003). [Internet] 2003 Oct 20 [cited 2013 Feb 25]; Available from: <http://www.who.int/peh-emf/meetings/archive/en/paper03nageswari.pdf>
16. Bortkiewicz A. A study on the biological effects of exposure mobile-phone frequency EMF. *Med Pr* 2001;52(2):101-6.
17. Balzano Q, Garay O, Steel FR. Heating of biological tissue in the induction field of VHF portable radio transmitters. *IEEE Trans Veh Technol* 1978;27(2):51-6.
18. Balzano Q, Garay O, Steel FR. Energy deposition in simulated human operators of 800 MHz portable transmitters. *IEEE Trans Veh Technol* 1978;27(4):174-81.
19. Chatterjee I, Gu YG, Gandhi OP. Quantification of electromagnetic absorption in humans from body-mounted communication transceivers. *IEEE Trans Veh Technol* 1985;34(2):55-62.
20. Cleveland RF Jr, Athey TW. Specific absorption rate (SAR) in models of the human head exposed to hand-held UHF portable radios. *Bioelectromagnetics* 1989;10(2):173-86.
21. Balzano Q, Garay O, Manning TJ. Electromagnetic energy exposure of simulated users of portable cellular telephones. *IEEE Trans Veh Technol* 1995;3:390-403.
22. Dutta SK, Ghosh B, Blackman CF. Radiofrequency radiation-induced calcium ion efflux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture. *Bioelectromagnetics* 1989;10(2): 197-202.
23. D'Inzeo G, Bernardi P, Eusebi F, Grassi F, Tamburello C, Zani BM. Microwave effects on acetylcholine-induced channels in cultured chick myotubes. *Bioelectromagnetics* 1988;9(4):363-72.
24. Sandblom J, Theander S. The effect of microwave radiation on the stability and formation of gramicidin-A channels in lipid bilayer membranes. *Bioelectromagnetics* 1991;12(1):9-20.
25. Amemiya Y, Uebayashi S. Distribution of absorbed power inside a sphere simulating the human head in the near field of a $\lambda/2$ dipole antenna. *Electron Commun Jpn I* 1983;66(9):64-72.
26. Kamimura Y, Yamanaka Y, Kotaki M. EM Exposure of a Human Head to the Near Fields of Portable Radio Transmitters. International Symposium on Electromagnetic Compatibility (EMC'89 NAGOYA), Vol.2, 1989. p. 735-40.
27. Toftgard J, Hornsleth SN, Anderson B. Effects on portable antennas of the presence of a person. *IEEE Trans Antennas Propag* 1993: 41(6):739-46.
28. Martens L. Electromagnetic field calculations for wireless telephones. *Radio Sci Bull* 1994;271:9-11.
29. Martens L, DeMoerloose J, DeWagter C, DeZutter D. Calculation of the electromagnetic fields induced in the head of and operator of a cordless telephone. *Radio Sci* 1995;(30):283-90.
30. Jensen MA, Rahmat-Samii Y. EM interaction of handset antennas and a human in personal communications. *Proc IEEE* 1995;83(1):7-17.
31. Okoniewsky M, Stuchly MA. A study of the human handset antenna and human body interaction. *IEEE Trans Microwave Theory Technol* 1996;44(10):1855-64.
32. Behari J. Biological responses of mobile phone frequency exposure. *Indian J Exp Biol* 2010;48(10):959-81.
33. Kelsh MA, Shum M, Sheppard AR, McNeely M, Kuster N, Lau E, et al. Measured radiofrequency exposure during various mobile-phone use scenarios. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2011;21(4):343-54.
34. Myung SK, Ju W, McDonnell DD, Lee YJ, Kazinets G, Cheng CT, et al. Mobile phone use and risk of tumors: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2009;27(33):5565-72.
35. Khurana VG, Teo C, Kundi M, Hardell L, Carlberg M. Cell phones and brain tumors: a review including the long-term epidemiologic data. *Surg Neurol* 2009;72(3):205-14; discussion 214-5.
36. Juutilainen J, Hoyto A, Kumlin T, Naarala J. Review of possible modulation-dependent biological effects of radiofrequency fields. *Bioelectromagnetics* 2011;32(7):511-34.
37. Yalçın S, Erdem G. Biological effects of electromagnetic fields. *African J Biotechnol* 2012;11(17):3933-41.
38. Hosain MK, Samad MF, Samsuddoha Alam M. Effects of electromagnetic fields on Mammalian cells international. *Int J Electric Computer Engineer (IJECE)* 2012;2(2):267-76.
39. Montal M, Mueller P. Formation of bimolecular membranes from lipid monolayers and a study of their electrical properties. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1972;69(12):3561-6.
40. Bainbridge G, Mobasher H, Armstrong GA, Lea EJ, Lakey JH. Voltage-gating of Escherichia coli porin: a cysteine-scanning mutagenesis study of loop 3. *J Mol Biol* 1998;275(2):171-6.
41. Mohammadzadeh M, Mobasher H, Arazm F. Electromagnetic field (EMF) effects on channel activity of nanopore OmpF protein. *Eur Biophys J* 2009;38(8):1069-78.
42. Benz R, Schmid A, Hancock RE. Ion selectivity of gram-negative bacterial porins. *J Bacteriol* 1985;162(2):722-7.
43. Buehler LK, Kusumoto S, Zhang H, Rosenbusch JP. Plasticity of Escherichia coli porin channels. Dependence of their conductance on strain and lipid environment. *J Biol Chem* 1991;266(36):24446-50.
44. Van Gelder P, Saint N, Phale P, Eppens EF, Prilipov A, van Bostel R, et al. Voltage sensing in the PhoE and OmpF outer membrane porins of Escherichia coli: role of charged residues. *J Mol Biol* 1997;269(4):468-72.
45. Robertson KM, Tieleman DP. Molecular basis of voltage gating of OmpF porin. *Biochem Cell Biol* 2002;80(5):517-23.
46. Saint N, Lou KL, Widmer C, Luckey M, Schirmer T, Rosenbusch JP. Structural and functional characterization of OmpF porin mutants

- selected for larger pore size. II. Functional characterization. *J Biol Chem* 1996;271(34):20676-80.
47. Gilijamse JJ, Lock AJ, Bakker HJ. Dynamics of confined water molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(9):3202-7.
48. Rosenbusch JP. Characterization of the major envelope protein from *Escherichia coli*. Regular arrangement on the peptide-glycan and unusual dodecyl sulfate binding. *J Biol Chem* 1974;249(24):8019-29.
49. Nestrovich EM, Bezrukov SM. Voltage-induced gating of bacterial porin as reversible protein denaturation. *Proc of SPIE* 2004;5467:42-53.
50. Collins KD, Neilson GW, Enderby JE. Ions in water: characterizing the forces that control chemical processes and biological structure. *Biophys Chem* 2007;128(2-3):95-104.
51. Delcour AH, Martinac B, Adler J, Kung C. Voltage-sensitive ion channel of *Escherichia coli*. *J Membr Biol* 1989;112(3):267-75.
52. Soares CM, Björkstén J, Tapia O. L3 loop-mediated mechanisms of pore closing in porin: a molecular dynamics perturbation approach. *Protein Eng* 1995;8(1):5-12.
53. Arbing MA, Hanrahan JW, Coulton JW. Mutagenesis identifies amino acid residues in extracellular loops and within the barrel lumen that determine voltage gating of porin from *Haemophilus influenzae* type b. *Biochemistry* 2001;40(48):14621-8.
54. Müller DJ, Engel A. Voltage and pH-induced channel closure of porin OmpF visualized by atomic force microscopy. *J Mol Biol* 1999;285(4):1347-51.
55. Bainbridge G, Gokce I, Lakey JH. Voltage gating is a fundamental feature of porin and toxin beta-barrel membrane channels. *FEBS Lett* 1998;431(3):305-8.

The effects of cell phone electromagnetic fields on the behavior of single OmpF nanochannel forming protein: a practical approach

Mehdi Mohammadzadeh
Ph.D.^{1*}
Hamid Mobasher Ph.D.^{2,3}

1- Departments of Biology, Science Faculty, Urmia University, Urmia, Iran.

2- Laboratory of Membrane Biophysics and Macromolecules, Institute of Biochemistry and Biophysics (IBB), Tehran University, Tehran, Iran.

3- Biomaterials Research Center (BRC), Tehran University, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, 11 km from Siroo Road, Urmia, Iran
Tel: +98- 441- 2972121
E-mail: m.mohamadzade@urmia.ac.ir

Abstract

Received: July 26, 2012 Accepted: November 23, 2012

Background: Widespread of telecommunication systems in recent years, have raised the concerns on the possible danger of cell phone radiations on human body. Thus, the study of the electromagnetic fields on proteins, particularly the membrane nano channel forming proteins is of great importance. These proteins are responsible for keeping certain physic-chemical condition within cells and managing cell communication. Here, the effects of cell phones radiation on the activity of a single nanopore ion channel forming protein, OmpF, have been studied biophysically.

Methods: Planar lipid bilayers were made based on Montal and Muller technique, and the activity of single OmpF channel reconstituted by electrical shock was recorded and analyzed by means of voltage-clamp technique at 20 °C. The planar lipid bilayers were formed from the monolayers made on a 60 µm diameter aperture in the 20 µm thick Teflon film that separated two (cis and trans) compartments of the glass chamber. In this practical approach we were able to analyze characteristics of an individual channel at different chemical and physical experimental conditions. The voltage clamp was used to measure the channel's conductance, voltage sensitivity, gating patterns in time scales as low as microseconds in real time.

Results: Our results showed that exposure of single voltage dependent channel, OmpF, to EMF of cell phone at high-frequency has a significant influence on the voltage sensitivity, gating properties and substate numbers of the single channel but has no effect on single-channel conductance. Regarding to the relaxation time, the channel also recovers in the millisecond time range when the field is removed.

Conclusion: We observed an increase in the voltage sensitivity of the OmpF single channel while it had no effect on the single-channel conductance, which is remained to be further elucidated.

Keywords: Biophysics, cell phone, electromagnetic fields, ion channel gating, OmpF protein, voltage clamp technique.