

تأثیر غلظت های مختلف آنولیت در رشد و تقسیم سلولهای سرطانی همستر چینی

سعید محمدزاده¹، ل. یو. پروخورف² و آ. گرین شیک اف²

1- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه لرستان

2- استاد، گروه بیولوژی تکامل، دانشکده بیولوژی، دانشگاه لومونوسف مسکو

یافته / دوره یازدهم / شماره 2 / تابستان 88 / مسلسل 40

چکیده

دریافت مقاله: 88/2/6، پذیرش مقاله: 88/5/12

مقدمه: در حال حاضر سرطان توسط شیمی درمانی مهار می شود ولی متأسفانه این روش دارای عوارض شدید جانبی است به همین دلیل محققین در صددند تا با کاربرد ترکیباتی، بروز این عوارض را کاهش دهند. دو نوع آب فعال شده بنام آنولیت و کاتولیت خاصیت الکتروشیمیائی و بترتیب خاصیت اکسید کنندگی و ضد میکروبی دارند. با توجه به نداشتن عوارض جانبی و خاصیت اکسیدکنندگی، هدف تحقیق بررسی تأثیر آنولیت روی رشد و تقسیم سلول های سرطانی بود.

مواد و روش ها: در دو آزمایش، 12 فلاکن پلاستیکی و 15 فلاکن شیشه ای، سلول های سرطانی همستر چینی لاین B11dii-FAF28 کلون 237 کشت داده شدند. غلظت های مختلف 1/7، 2، 5، 8/3 و 10 درصد آنولیت، و گروه کنترل سرم فیزیولوژیک، با غلظت های 2 و 5 درصد روی محیط کشت سلول ها اضافه شد. سلول های سرطانی به کمک لام هموسایتومتر و میکروسکوپ شمارش شدند. داده های بدست آمده توسط آزمون t مقایسه و با نرم افزار Excel نمودار آنها ترسیم شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که آنولیت در غلظت های مختلف تأثیر معنی داری روی رشد و تقسیم سلول ها داشته در غلظت 1,7، 8,3 درصد تقسیم کاهش ولی در غلظت 8,3 درصد، رشد و تقسیم سلول های سرطانی متوقف و سلول ها فیکس شدند.

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد با توجه به مقدار کم نمک طعام موجود در آنولیت، استفاده از این ماده هیچ گونه تأثیر نامطلوبی روی سلول های سالم ندارد و می توان از بروز عوارض جانبی ممانعت نمود.

واژه های کلیدی: سرطان، آنولیت، کاتولیت، لاین B11dii-FAF28

مقدمه

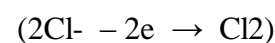
دلیل مرگ بسیاری از افراد جوامع، بیماری سرطان است و تعداد افراد مبتلا به این بیماری با بالا رفتن سن افزایش می یابد. در حال حاضر تحقیقات وسیعی جهت ریشه کنی و کنترل این بیماری انجام می گیرد ولی متأسفانه پیشرفت آنها معنی دار نیست. معمولاً هسته های اولیه سلول های سرطانی در سنین پائین (6سالگی) قابل تشخیص است. براساس نظر انکولوژیست ها می توان با مشاوره و استفاده از روش های بهینه آن را ریشه کن نمود. در حال حاضر مهم ترین اقدام برای درمان، استفاده از جراحی و شیمی درمانی است (12) ولی کاربرد آنها به ویژه شیمی درمانی برای سلولهای سالم زیان آور است و به دلیل بروز عوارض شدید جانبی، تعداد زیادی از بیماران فوت می کنند. بررسی های قبلی، نشان داد اگرچه استفاده از اسید استیک و اتیل الکل قادر است رشد و تقسیم سلولهای سرطانی را مهار نماید ولی روی سلول های سالم تأثیر منفی ایجاد شد به طوری که در غلظت های بالا سلول ها فیکس شدند (9و10). پرولیتسکی از دانشگاه ایالتی مسکو دپارتمان بیوفیزیک، مقاله ای را مبنی بر خواص آب فعال شده الکتروشیمیایی¹ منتشر نمود. آب فعال الکتروشیمیایی به دو صورت کاتولیت و آنولیت تولید می شود. آب فعال شده در مصارف کشاورزی، سردکننده ها، استخرهای شنا، ضد عفونی وسایل، دندان پزشکی، درمان پوست و تمیزکننده ها استفاده می شود (2و7). میانگین پتانسیل اکسیداسیون - احیا در محلول آنولیت +1000 در حالیکه در محلول کاتولیت -800 میلی ولت است. آنولیت دارای خاصیت اکسیدکنندگی است در حالیکه کاتولیت دارای خاصیت پاک کنندگی است. از جمله خواص آنولیت، فعال نمودن سلول های دفاعی خون بویژه ماکروفاژها، افزایش هیدراسیون، افزایش PH، کاهش خسارت

دیواره سلولی و افزایش پتانسیل اکسیداسیون- احیا را برشمرده (8).

آنولیت و کاتولیت ارتباط آن با تحقیق: اضافه نمودن نمک طعام در آب و بکار گیری جریان الکتریکی و غشاء نیمه تراوا، می توان آن را فعال نمود. به همین دلیل غشاءهای نیمه تراوای الکتریکی در درمان های پزشکی استفاده می شود. کاتولیت دارای بار منفی و خاصیت آنتی اکسیدانت داشته و قادر است مواد شیمیایی مضر را از دسترس سلول ها خارج نماید. پتانسیل اکسیداسیون - احیا بین 900-600 میلی ولت و PH آن بین 12- 10/5 است و با توجه به خاصیت پاک کنندگی، قادر است میکروب ها، هاگ ها، ویروس ها، قارچ ها، مخمرها و کپک ها را از بین ببرد. آنولیت بار مثبت و دارای خاصیت اکسید کنندگی می باشد و قادر است میکروب ها را از بین ببرد. از کاتولیت ها یون هائی مانند OH^- , $\text{H}_3\text{-O}_2^-$, H_2 , $\text{HO}_2\cdot$, HO_2^- , O_2^- , Cl_2O , ClO_2 , ClO^- , HClO ، Cl^- , $\text{O}_2\cdot^-$, O_3 , HO_2 , OH را نام برد. بنابراین در کاند جائی که کاتولیت تشکیل می شود این واکنش صورت می گیرد:

در آند محل تشکیل آنولیت این واکنش انجام می گیرد و آب اکسیده می شود:

در محلول های کلریدی گاز کلر ایجاد می شود:



مشاهدات نشان می دهد که کاتولیت به عنوان محرک در بازسازی بافت ها و التیام زخم استفاده می شود و وضعیت کلی بافت را بهبود می بخشد و آنولیت میکروارگانیسم ها را از بین می برد (2). به عنوان مثال برای از بین بردن ویروس های پلی ملیت در لام های شیشه ای، می توان آن ها را به مدت

1. Electro-chemically activated water (ECA)

مواد و روش ها

کشت سلول: از سلولهای سرطانی تخمدان همستر چینی لاین B11dii-FAF28 کلون 237 تهیه شده در آکادمی علوم پزشکی روسیه، استفاده شد. توانائی تقسیم این سلول ها نامحدود و این سلول ها نسبت به لاین HeLa (سلولهای سرطانی از سینه سرطانی انسان) ساده تر و بر اساس درجه بندی قدرت زنده ماندن، مقاومت در شرایط کشت، محیط کشت و سرم بیشتری را دارند(11).

سلولها در دو نوع فلاکن شیشه ای و پلاستیکی درب دار (کیپ شده) 37 درجه سانتیگراد کشت داده شدند. از محیط کشت Iglu حاوی 10% سرم بدون آنتی بیوتیک استفاده شد. سلول ها از مرحله پایانی رشد لگاریتمی (4-3 روز پس از کشت) برداشت شدند و برای برداشت آنها از محلول EDTA 0,02% و تریپسین 0,25% استفاده شد.

آزمایش اول: از دوازده فلاکن پلاستیکی (Nunclon U.S.A.) با مساحت 25 سانتیمتر مربع استفاده شد و به کمک لام هموسایتومتر (نئوبار) و میکروسکوپ نوری به ازاء هر سانتی متر مربع 7 هزار سلول شمارش و به محیط کشت اضافه شد. پس از یک شبانه روز، محلول آنولیت و کاتولیت در دو ظرف جداگانه به حجم دو لیتر تهیه شد. مقدار پتانسیل اکسیداسیون و احیا برای کاتولیت و آنولیت بترتیب 878/3 - و 873/3 + بود. در داخل هر ظرف حاوی کاتولیت و آنولیت، تعداد سه فلاکن وارد و سپس در آن در درجه حرارت 37 سانتیگراد قرار داده شدند. بعد از 4-3 شبانه روز سلول ها شمارش و محلول ها تعویض شدند. سه فلاکن به عنوان کنترل، و به محیط کشت سه فلاکن باقی مانده، غلظت های مختلف 1/7، 5 و 8/3 درصد آنولیت اضافه شد. برای هر فلاکن، به طور تصادفی پنج ناحیه انتخاب و سپس سلولهای آن نواحی شمارش شدند. شمارش سلول ها توسط میکروسکوپ نوری با

30 دقیقه در محلول آنولیت قرار داد و برای از بین بردن باکتری B.Cerius، آغشته کردن وسایل بین 17-4 دقیقه کافی است. برای ضد عفونی وسایلی مثل چاقو، پنس و پیپت آلوده به استافیلوکوکوس و E Coli، آغشته کردن آنها به مدت 15-60 دقیقه کافی است. غلظت های مختلف آنولیت علیه میکروارگانیزم ها بررسی شده است و مشخص شد استفاده از آنولیت با رقت 400-6، بمدت پنج دقیقه، یک و سه ساعت سبب توقف هشت نوع باکتری شد(3). تزریق آنولیت داخل پوست، سبب متراکم شدن و از بین رفتن میکروارگانیزم ها شد. آنولیت سبب تجمع لوکوسیت ها و لایز شدن آنتی ژنها شد و از طریق هیپوکسی (کاهش اکسیژن) توانست سلول های سرطانی و بافت آن را از بین ببرد. برای بیماران مبتلا به سرطان بعد از شیمی درمانی از کاتولیت استفاده شد و مصرف آن باعث شد تا حالت تهوع در بیماران از بین برود(5). جهت درمان سرطان پروستات از آب دارای خاصیت الکتروشیمیائی (4) و برای درمان غدد خوش خیم از مایعات الکترولیز استفاده شد(6).

فعالیت الکترولیتی کاتولیت با گذشت زمان کاهش می یابد در مطالعه موردی، درجه اکسیداسیون - احیا از 876- پس از 4-3 روز به 250+ رسید. درجه اکسیداسیون - احیا آنولیت بسیار پایدار است و پس از سه روز از 980 به 770 کاهش یافت. چنانچه بتوان آنولیت را از غربال هائی به قطر 0/22 میکرومتر عبور داد تغییرات معنی داری در پتانسیل اکسیداسیون - احیا ایجاد نمی شود. تحقیق حاضر و مشابه آن دارای مبانی شیمی درمانی است با این تفاوت که به نظر می رسد تاثیر این ترکیبات ساده و جدید، روی رشد و تقسیم سلول های بدن اثر سوئی نداشته باشند. با توجه به خواص مذکور غلظت های مختلف آنولیت روی رشد و تقسیم سلولهای سرطانی همستر چینی بررسی شد.

1/7% کمترین تأثیر مهار کنندگی را داشت. در ابتدای اضافه کردن آنولیت، تعدادی از سلولها از بین و بقیه با سرعت کم تقسیم شدند. در غلظت های 5 و 8/3 در صد، تعداد زیادی از سلول ها از بین و رشد و تکثیر آنها به شدت کاهش یافت. در ابتدای اضافه کردن آنولیت با غلظت 5% تقسیم سلولها کاهش و سلول ها پس از مدتی فیکس شدند و دیواره سلولی بدون هیچگونه تخریب یا خسارت در زیر میکروسکوپ دیده شد. در غلظت بالاتر یعنی 8/3 درصد تقریباً تمام سلولها فیکس شدند. در روز دهم پس از آزمایش، تعداد سلول های گروه کنترل و فلاکن های داخل آنولیت و کاتولیت (منحنی 2 و 3) به بیشترین حد خود یعنی بترتیب 40/000، 38/000 و 28/000 در هر سانتی متر مربع افزایش و سپس تعداد آن ها از روز چهارم به شدت کاهش یافت. در روز دوازدهم به ترتیب با افزایش غلظت آنولیت تعداد سلول ها کاهش یافت به طوری که در غلظت های 1/7، 5 و 8/3 تعداد سلول ها بترتیب به 20/000، 13/000 و 5/000 در هر سانتی متر رسید و در روز 42 پس از کشت به صفر رسید. برای غلظت های 5 و 8/3 درصد، تعداد سلول ها در روز 29 به صفر رسید. شکل 2 مربوط به تأثیر آنولیت روی توانایی تقسیم و رشد سلول های سرطانی همستر چینی در فلاکن های شیشه ای است که منحنی های 1 و 2 و تغییرات رشد و تقسیم سلول های زنده را در غلظت های 2 و 5 درصد از سرم فیزیولوژیک را، منحنی های 3، 5 و 7 بترتیب تعداد سلولهای زنده در غلظت های 2، 5 و 10 درصد از آنولیت و منحنی های 4، 6 و 8 بترتیب در صد سلولهای مرده را در غلظت آنولیت نشان می دهد. در غلظت های 2 و 5 درصد با سرم فیزیولوژیک، تعداد سلول ها پس از کشت تا روز 22 بالا بود و تأثیر منفی روی سلول ها دیده نشد. در روز هفت پس از کشت، با اضافه کردن غلظت های 2، 5 و 10 درصد، تعداد سلول ها به شدت کاهش یافت به طوری که در روز نهم پس

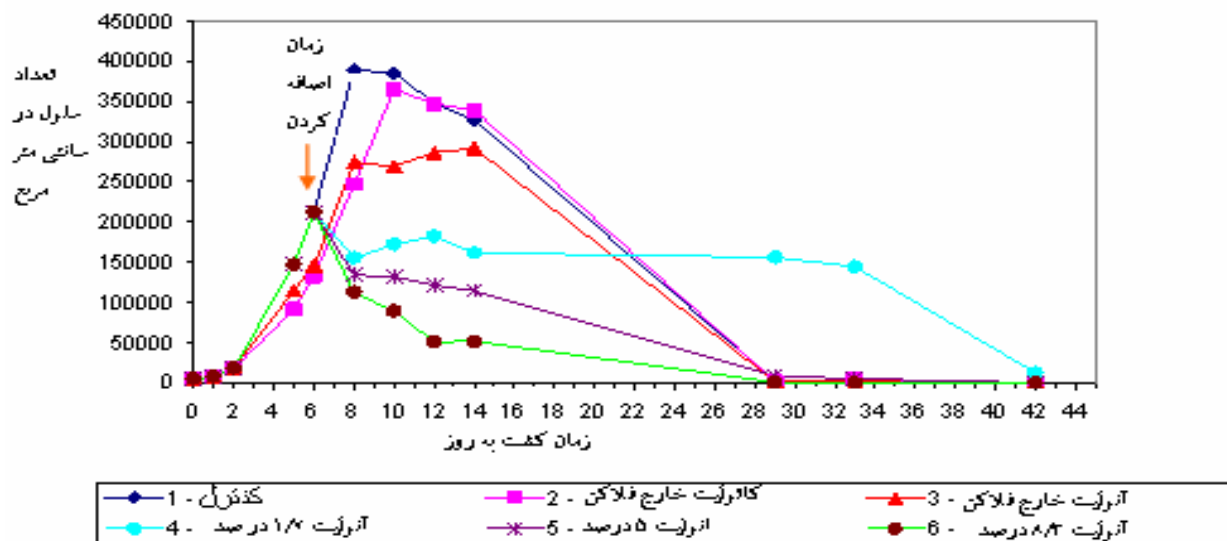
بزرگنمای 1200 تا پایان مرگ سلول ها انجام شد. در زمان شمارش 5 ناحیه از سطح فلاکن به طور تصادفی مشخص و سلول ها به کمک شمارنده شمارش شدند. آزمایش دوم: از پانزده فلاکن شیشه ای ساخت کشور روسیه با مساحت 17/3 سانتی متر مکعب استفاده و در هر سانتی متر مربع 10 میلیون سلول کشت شد. فلاکن های قابل کپ در آن، در حرارت 37 درجه سانتیگراد قرار گرفتند. از روز هفتم پس از کشت، تا پایان آزمایش، آنولیت استریل، با غلظت های 2، 5 و 10 درصد به فلاکن ها اضافه شد (برای هر غلظت سه فلاکن در نظر گرفته شد). در گروه کنترل از سرم فیزیولوژیک با غلظت های 2 و 5% از (0/9 نمک طعام در آب مقطر استریل) استفاده شد (هر غلظت 3 فلاکن). و سلول ها مشابه روش بالا شمارش شدند. داده های بدست آمده با توجه به 15 تکرار برای هر غلظت (3 فلاکن برای هر غلظت و هر فلاکن 5 تکرار) توسط آزمون تی مقایسه و سپس توسط نرم افزار Excel منحنی آن ها ترسیم شد.

یافته ها

نتایج تحقیق در شکل های 1 و 2 نشان داده شده است. در شکل یک، سه منحنی 1 و 2 و 3 تأثیر آنولیت و کاتولیت روی رشد و زنده ماندن سلولهای سرطانی همستر چینی در فلاکن های پلاستیکی می باشد. منحنی یک تغییرات سلول ها را در گروه کنترل، منحنی دو و سه مربوط به تغییرات رشد و تقسیم سلولهای زنده در فلاکن هائی است که خارج آنها محلول های کاتولیت و آنولیت بود. منحنی های چهار، پنج و شش تعداد سلولهای زنده در غلظت های 1/7، 5 و 8/3 درصد از آنولیت می باشد. اختلاف معنی داری در رشد و تقسیم سلولهای کشت داده در فلاکن های داخل آنولیت و کاتولیت مشاهده نشد. آنولیت اضافه شده در محیط کشت به طور معنی داری رشد سلولها را کاهش داد (شکل 1) و در غلظت

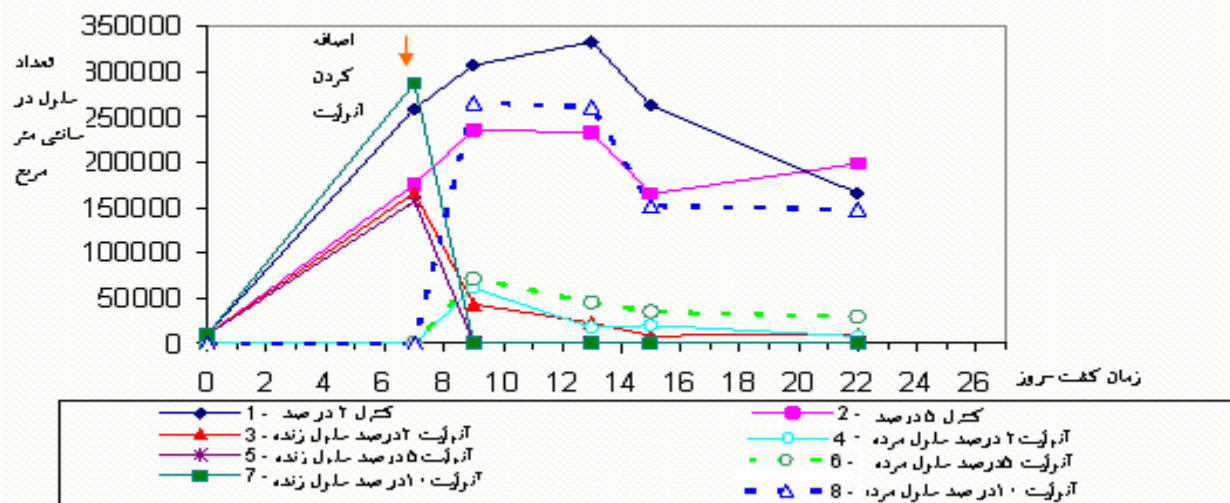
تا تعداد آن ها در روز نهم به 5/000 سلول برسد ولی پس از تغییراتی در روز 22 به صفر رسید.

از کشت، تعداد سلول ها در غلظت های بالای آنولیت از 30/000 به صفر رسید. آنولیت در غلظت های کمتر سبب شد



منحنی 1 کنترل. منحنی 2 و 3 سلولهای رشد یافته بترتیب در کاتولیت و آنولیت. منحنی 4، 5 و 6 سلولهای رشد یافته بترتیب در غلظت های 1/7، 5 و 8/3 آنولیت فلش زمان اضافه کردن آنولیت را نشان می دهد.

شکل شماره 1- تاثیر آنولیت و کاتولیت روی رشد و تقسیم سلولهای سرطانی همستر چینی



منحنی های 1 و 2 تعداد سلول زنده در کنترل (غلظت 5/2 درصد از سرم فیزیولوژیک). منحنی های 3 و 4 تعداد سلولهای مرده در غلظت آنولیت بترتیب 2/5 و 10 درصد. منحنی های 5 و 6 تعداد سلولهای زنده بترتیب 2/5 و 10 درصد. منحنی های 7 و 8 تعداد سلولهای زنده بترتیب 2/5 و 10 درصد. فلش زمان اضافه نمودن آنولیت را نشان می دهد.

شکل 2. تاثیر آنولیت روی رشد و تقسیم سلولهای سرطانی همستر چینی

و وارد شدن به محیط کشت نیستند. تغییرات تعداد سلول ها در غلظت های مختلف آنولیت نشان می دهد که هر چه غلظت این محلول بیشتر باشد مقدار تاثیر آن در از بین بردن سلول های سرطانی بیش تر است. به طوری که در غلظت های بالا سلول ها فیکس شدند. غلظت های پائین آنولیت نیز ویژگی ضد سرطانی خود را حفظ و تعداد زیادی از سلول ها را از بین بردند. بنابراین لازم است غلظتی را استفاده نمود تا سلول های سالم محافظت شوند.

بر اساس روش های اخیر جهت درمان غدد سرطانی، می توان ماده ضد سرطان را تا حد امکان در غده (هدف) هدایت و وارد کرد به طوری که با اعمال کمترین خسارت روی سلولهای بدنی، بیشترین تاثیر مهار کنندگی را در سلول های سرطانی داشته باشد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، به نظر می رسد با تزریق آنولیت در غده سرطان، بتوان سلول های آن را از بین برد ولی غلظت وارد شده در مرکز غده، باید بقدری باشد تا بعد از انتشار ماده در دورترین نقطه از بافت هدف، سلول های سرطانی بتوانند غلظت موثر آن را دریافت و از بین روند. مقدار انتشار بستگی به عواملی از جمله روش انتقال، نوع بافت غده سرطانی و ترکیب دارو دارد.

بر اساس محاسبات تجربی، مقدار آب موجود در غده سرطانی و اندازه آن می توان مقدار غلظت را تعیین کرد. فرض شده که حدود 80 درصد غده از آب تشکیل شده است. انتشار دو ماده اتیل الکل، آنولیت و سرکه بر اساس قطر به میلی متر ارائه شده است (شکل 3 و 4). چنانچه در مرکز غده سرطانی آنولیت یا اتیل الکل با غلظت 10 درصد استفاده شود غلظت آن در شعاع 5 و 10 میلی متری آن بترتیب به 8 و 3 درصد کاهش می یابد (شکل 3). این تغییر شیب غلظتی برای سرکه نیز در شکل 4 وجود دارد.

غلظت های 2 و 5% از سرم فیزیولوژیک روی سلولها تاثیر معنی داری نداشت و با منحنی های رشد طبیعی سلول ها شباهت داشت. افزودن آنولیت حتی 2 درصد روی سلول ها تاثیر معنی داری را نشان داد. به طور کلی اضافه کردن غلظت های مختلف آنولیت سبب از بین رفتن سلول ها شد و با افزایش غلظت، تعداد سلولهای مرده افزایش یافت. یک روز پس از اضافه نمودن آنولیت، در تعداد سلولهای زنده کاهش معنی داری را مشاهده شد. به عبارت دیگر تعداد سلولهای مرده افزایش یافت. تعداد سلولهای زنده در غلظت آنولیت 2 درصد، پس از یک روز، 3/3 برابر و غلظت 5 درصد، 15/8 برابر کاهش یافت (از 156/8 هزار سلول به پانزده هزار سلول در سانتی متر مربع). در غلظت 10 درصد آنولیت، تقریباً هیچ سلول زنده ای یافت نشد (از 286/9 هزار سلول در سانتی متر مربع یک سلول یافت شد). آزمایش نشان داد که غلظت های 2 و 5 درصد آنولیت بعد از 30 دقیقه شکل ظاهری سلول را تغییر و بعد از 60 دقیقه سلول ها تخریب شدند. در غلظت 10 درصد این پدیده یافت نشد. بدلیل جمع و چروکیدگی شدید سلول های خسارت دیده، تشخیص سلول های سالم براحتی در زیر میکروسکوپ امکان پذیر بود.

بحث و نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در آزمایش قبلی نشان داد غلظت های بالای اتیل الکل و سرکه در محل غده سرطان، رشد و تقسیم سلولی را مهار کرد (9 و 10).

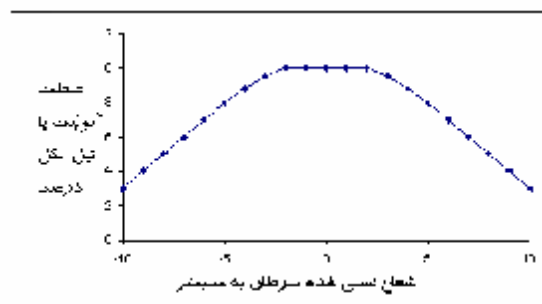
نتایج حاصل از آزمایش اول عدم اختلاف معنی داری را بین گروه کنترل (منحنی یک) و تعداد سلولهای زنده در فلاکن های مستقر در محلول های کاتولیت و آنولیت (منحنی دو و سه) نشان می دهد. با توجه به این نتیجه به نظر می رسد محلول های کاتولیت و آنولیت قادر به عبور از دیواره فلاکن ها

نیز در غلظت 10 درصد اتیل الکل مشاهده شد به طوری که شکل ظاهری سلول ها حفظ و تغییری در غشاء سلولی مشاهده نشد (10). از آنجائیکه در اثر فعالیت سلول های زنده گاز دی اکسید کربن تولید و محیط کشت اسیدی می شود در غلظت های بالای آنولیت، تغییری در اسیدیته محیط کشت مشاهده نشد این موضوع بیانگر این است که رشد و تقسیم سلولی متوقف و ترکیبات محیط کشت در حالت تعادل باقی ماندند. (تائید فیکس شدن سلولی). به نظر می رسد پس از پایان تاثیر آنولیت، بتوان بدون اضطراب غده سرطانی را با جراحی خارج نمود.

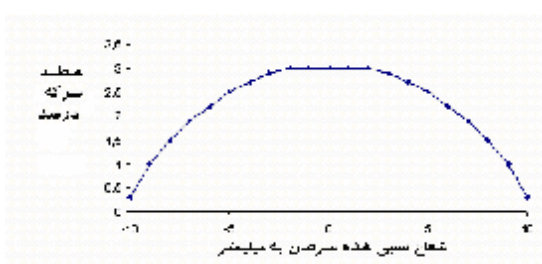
بطور کلی به نظر می رسد کاربرد آنولیت، الکل و سرکه در غلظت های کم برای سیستم ایمنی بدن مضر نباشد زیرا الکل و اسید استیک (سرکه) به مقدار جزئی در بدن وجود دارد از طرفی، عموماً بخش عظیمی از ترکیبات آنولیت شبیه به آب است و مقدار اندک کلرید سدیم موجود در آنولیت، فاقد اثرات زیان آور در بدن است. بر اساس بررسی انجام شده آنولیت روی سلولهای سرطانی اثر مهار کنندگی داشته و قادر است سلول های سرطانی را از بین ببرد همچنین به نظر می رسد این ترکیب قادر است از محلی به محل دیگر غده منتشر یابد. به نظر می رسد استفاده از این مواد در مقادیر کم، هیچگونه اثرات سوئی در بافت ها ایجاد نمی کند و پیش نهاد می شود براساس اندازه و مقدار آب غده و نوع بافت می توان غلظت آن را محاسبه و با استفاده از سرنگ در مرکز غده سرطان در موش ویا سایر حیوانات آزمایشگاهی، تزریق و اثرات آن را بررسی کرد.

تشکر و قدردانی

از استاد خاخلف بدلیل در اختیار گذاشتن لابراتوری کشت سلول و پیگیری هایش کمال تشکر و قدردانی می شود.



شکل 3. شیب غلظت آنولیت و اتیل الکل وارد شده در غده سرطانی تا 10 میلی متر (9).



شکل 4 - شیب غلظت سرکه وارد شده در غده سرطانی تا 10 میلی متر (9)

طبق منحنی 3 تغییر غلظت اتیل الکل و آنولیت به همدیگر نزدیک و مشابه است (9). می توان آنولیت را به عنوان یک ماده ضد سرطان پیشنهاد نمود. این ترکیب روی سلول های سرطانی تاثیر و بتدریج قادر است آن ها را مهار و از بین ببرد. با توجه به عوامل مهم موثر در انتشار ماده، به نظر می رسد در زمان استفاده، لازم است مقدار دقیق هر کدام، بطور جداگانه محاسبه شود. به نظر می رسد با وارد شدن آنولیت، بافت سرطان نکروز می شود و بتدریج بافت نکروز شده توسط سیستم ایمنی حذف می شود و یا می توان آن را به روش جراحی از بدن خارج نمود. در غلظت آنولیت 2 درصد، سلولهای زنده مشاهده شد ولی در غلظت های 5 و 10 درصد شانس زنده ماندن سلولی وجود نداشت. سلولها در غلظت 5 درصد کشته و در غلظت 10 درصد فیکس شدند. این پدیده

References

1. Bakhir VM, Electrochemical activation: Purified Water and getting useful solutions. Academy Medico technology science. 176p. Russia. 2001 (In Russian)
2. Bakhir VM. Electrochemical activation: Theory and practice. In: Proceeding of the first international symposium on electrochemical activation 1997: 38-45
3. Bazhnov LG, Abramov NB, Bitotskov OP, Effect of neutrally anolyte on different forms bacteria in repeatedly cultivation, I international symposium electrochemical activation in medicine, agriculture, industrial. Abstract lecture and short communication. Ministry of health protection. Federative Russia. 1997: 207 (In Russian)
4. Gitelman DC, Alexin CA, New method for prostate cancer by electrochemical activated solution. I international symposium electrochemical activation in medicine, agriculture, industrial. Abstract lecture and short communication. Ministry of health protection. Federative Russia. 1997: 198 (In Russian)
5. Gulnitskaya VV, Musin TV, Ivakin V M, Bilekkova GV. Experiment use of electrochemical activated solutions for treatment of complicated chemotherapy. I international symposium electrochemical activation in medicine, agriculture, industrial. Abstract lecture and short communication. Ministry of health protection. Federative Russia, 1997: 74 (In Russian)
6. Leonov BI, Prilutsky VI, Bakhir VM. Phisico-chemical aspect of biological and biochemical effect of activated water. Academy Medico technology science. Russia. 1999: 244 (In Russian)
7. Leonov BI. Electrochemical activation of water and aqueous solution: Past, present and future. In: Proceeding of the first international symposium on electrochemical activation 1997: 11-27
8. Prilutski VI, Bakhir VM. Electrochemical water : irregular properties, effect of biological mechanism:VINITI AO NPO “ Ekran” 1997: 288 (In Russian)
9. Prokhorov LU. Influence of acetic acid and ethanol on growth and life span of transformation cell of Chinese hamster . Deposit in VINITI. 2002 (In Russian)
10. Prokhorov LU. Ethanol proliferation and life span, Deposit in VINITI. 2000 (In Russian)
11. Prokhorov LU. Aging modeling for culture cell stationary. PhD thesis. MSU University. Moscow 1999: 152 (In Russian)
12. Trapeznikov NN, Shain AA. Textbook of oncology 1992: 400 (In Russian)