

بررسی تأثیر قرارگیری در معرض امواج WI-FI (2.45 GHZ) بر استرس اکسیداتیو سرم و آسیب DNA در لنفوسیت خون محیطی موش سوری

فاطمه برهان^۱، جواد زوار رضا*^۲، مسعود پنده^۳، سعیده فتحی^۴

چکیده

مقدمه: استفاده از دستگاه‌های بی‌سیم در سه دهه اخیر در سراسر جهان افزایش یافته است و خطرات بهداشتی ناشی از این دستگاه‌ها به یک نگرانی عمومی تبدیل شده است. این مطالعه به منظور بررسی اثرات امواج Wi-Fi بر DNA و پارامترهای استرس اکسیداتیو انجام گرفت.

روش بررسی: ۱۶ رأس موش سوری نر بالغ به دو گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (n=۸) و گروه تجربی (n=۸). گروه تجربی (مواجهه یافته) به مدت (۸ ساعت در روز/۲۱ روز متوالی) در معرض امواج Wi-Fi (2.45GHz) قرار گرفتند در حالی که گروه کنترل به دور از منبع شناخته شده Wi-Fi نگهداری شدند. میزان شکست تکرشته DNA در لنفوسیت‌ها از طریق تست کامت قلیایی تشخیص داده شد (قبل و بعد از دوره مطالعه، در هر دو گروه) و پارامترهای استرس اکسیداتیو شامل فعالیت کاتالاز، فعالیت پاراکسوناز و میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) سرم نیز محاسبه گردید (قبل و بعد از دوره مطالعه، در هر دو گروه).

نتایج: در گروه مواجهه یافته، پس از پایان دوره ۲۱ روزه مواجهه با امواج، شکست تکرشته DNA در لنفوسیت‌ها و فعالیت آنزیم کاتالاز سرم افزایش معنی داری یافته بود، همچنین کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم پاراکسوناز وجود داشت اما میزان TAC سرم در این گروه تفاوت معنی داری نسبت به قبل از مواجهه با امواج نشان نداد، در حالی که در گروه کنترل بعد از دوره ۲۱ روزه مطالعه تفاوت معنی داری در هیچ‌یک از شاخص‌های اندازه‌گیری شده نسبت به آغاز مطالعه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi می‌تواند استرس اکسیداتیو را افزایش داده و منجر به افزایش شکست DNA شود.

واژه‌های کلیدی: امواج Wi-Fi، استرس اکسیداتیو، شکست DNA، تست کامت، کاتالاز، پاراکسوناز، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۲- استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

* (نویسنده مسوول): تلفن: ۰۹۱۲۵۰۲۸۷۴۲، پست الکترونیکی: jzavar@ssu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۵

مقدمه

آسیب در DNA سلول‌های جنسی باشد باعث ناباروری و سقط جنین (۱۰) و یا انتقال به نسل‌های بعدی (۱۱) شود. در سال‌های اخیر با وجود این که به آسیب DNA ناشی از قرارگیری در معرض EMR توجه خاصی شده است اما به دلیل برخی اختلاف نظرها لازم است که تحقیقات بیشتری در این زمینه صورت بگیرد. نتایج بسیاری از تحقیقاتی که به بررسی اثرات امواج الکترومغناطیسی بر آسیب DNA پرداخته‌اند حاکی از تأثیر این امواج دارد از جمله افزایش شکست DNA در سلول‌های مغز موش‌های قرار گرفته در معرض امواج (۱۲)، در اسپرم‌های مواجهه یافته با امواج (۱۰،۱۳) و در سلول‌های ریشه موی انسان مواجهه شده با امواج موبایل (۱۴) مشاهده شده است. در حالی که تعداد معدودی از مطالعاتی که به بررسی اثرات امواج بر DNA پرداخته‌اند آسیب DNA گزارش نشده است، از جمله در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثرات امواج موبایل انجام شد تغییر در بیان ژن وجود داشته اما افزایشی در شکست تک رشته یا دو رشته DNA مشاهده نشد (۱۵).

به دلیل تناقض در نتایج برخی از مطالعات انجام گرفته و نقش مهمی که این امواج می‌تواند بر سلامت موجودات زنده داشته باشد می‌بایست مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گیرد.

مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر مواجهه با امواج Wi-Fi را بر سطح استرس اکسیداتیو و شکست DNA در مدل حیوانی موش سوری در مدت‌زمان متفاوتی نسبت به مطالعات ذکر شده و در یک فاصله مشخص از منبع امواج انجام گرفت. تفاوت دیگری که این مطالعه با تحقیقات گذشته داشته است این است که علاوه بر این که دو گروه (کنترل و مواجهه یافته) باهم مقایسه می‌شوند، تغییرات در داخل هر گروه نیز نسبت به آغاز مطالعه بررسی می‌شود.

روش بررسی

این مطالعه به روش مداخله‌ای آزمایشگاهی در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام گرفته است.

یکی از پیشرفته‌ترین تکنولوژی‌های اخیر در جهان امروزی Wireless Fidelity (Wi-Fi) است. این تکنولوژی بر طبق استانداردهای عامل IEEE 802.11 در باندهای ۲/۴ و ۵ گیگاهرتز توسعه پیدا کرده است و امکان دستیابی به برنامه‌ها و داده‌ها را در یک شبکه رادیویی فراهم می‌کند. Wi-Fi کاربران را قادر می‌سازد تا در هر نقطه‌ای اعم از منزل، محل کار و هر مکانی دیگری بدون نیاز به سیم به اینترنت متصل شوند (۱). استفاده از فناوری بی‌سیم در سال‌های اخیر در جهان رو به افزایش بوده است. بر این اساس توجه به خطرات بهداشتی ناشی از مواجهه با امواج ناشی از شبکه‌های بی‌سیم به یک نگرانی عمومی تبدیل شده و ممکن است عواقب جدی برای بهداشت عمومی در برداشته باشد. سرعت گسترش فناوری بی‌سیم وعدم اقدام فوری برای کاهش خطرات آن می‌تواند منجر به افزایش بیماری‌های همه‌گیر و کشنده شود (۲،۳). قرارگیری در معرض امواج الکترومغناطیسی ممکن است عوارض متعددی بر بخش‌های مختلف بدن موجودات زنده داشته باشد که تأثیر بر سیستم ایمنی بدن از این جمله است (۴).

یکی از مکانیسم‌های مولکولی احتمالی اثرات امواج الکترومغناطیسی، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) از جمله، آنیون سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل است (۵).

افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شود (۶). استرس اکسیداتیو ناشی از EMR (امواج الکترومغناطیسی) ممکن است باعث نابود شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه آسیب به سلول‌ها و آپوپتوز شود (۷). اثرات احتمالی قرارگیری در معرض امواج الکترومغناطیسی بر مواد ژنتیکی اهمیت ویژه‌ای دارد زیرا DNA زمانی که آسیب می‌بیند برخلاف لیپیدها و پروتئین‌ها قابلیت حذف شدن از سلول را ندارد و باید ترمیم شود (۸) و در غیر این صورت می‌تواند منجر به جهش، سرطان یا مرگ سلولی (۲،۹) و اگر

۱۶ سر موش سوری نر بالغ با وزن تقریبی ۲۵-۳۰ گرم به صورت تصادفی به دو گروه مساوی تقسیم شدند: گروه تجربی (مواجهه یافته) و گروه کنترل. تمام موش‌ها کدگذاری شده و برای نمونه‌گیری اولیه خون‌گیری با استفاده از لوله موینه هپارینه از گوشه چشم (سینوس حدقه‌ای) انجام شد.

سپس هریک از گروه‌ها در یک قفس به ابعاد 27*21*14 سانتی‌متر اسکان داده شدند. تمام موش‌ها در شرایط استاندارد دمای 27 ± 3 درجه سانتی‌گراد و سیکل تاریکی/روشنایی ۱۲/۱۲ و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

قفس حاوی گروه تجربی ۸ ساعت در شبانه‌روز (۸ صبح تا ۴ بعدازظهر) و به مدت ۲۱ روز متوالی در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از منبع تولید امواج Wi-Fi با فرکانس 2.45 GHz (۱۶،۱۷) نگهداری شدند. در صورتی که گروه کنترل در همان شرایط فقط بدون قرارگیری در معرض منبع شناخته شده Wi-Fi نگهداری شدند.

در پایان ۲۱ روز، موش‌ها برای نمونه‌گیری از طریق اتر بی‌هوش شده و قفسه سینه آن‌ها شکافته شده و خون‌گیری با استفاده از سرنگ هپارینه شده از قلب آن‌ها انجام شد.

تست کامت قلیایی (Alkaline Comet Assay) و سنجش مارکرهای استرس اکسیداتیو شامل: فعالیت آنزیم پاراکسوناز (PON1)، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم (TAC) یک بار در شروع دوره مطالعه و بار دیگر پس از دوره ۲۱ روزه مطالعه برای هر دو گروه انجام گرفت.

سنجش میزان شکست تک رشته DNA در لئوسیت خون محیطی با استفاده از تست کامت قلیایی (Alkaline Comet Assay):

تست کامت قلیایی به منظور بررسی میزان شکست رشته‌های DNA انجام شد. روش سنجش کامت قلیایی مورد استفاده در این مطالعه، روش تعدیل‌شده توسط Singh است (۱۸،۱۹) برای انجام این تست، پس از خون‌گیری لئوسیت‌ها به کمک فایکول جدا شده، لام میکروسکوپ با لایه نازکی از آگارز ۱٪ نرمال (NMA) پوشانده شد و بعد از ۱۰

دقیقه چند قطره از مخلوط لئوسیت‌ها با آگارز (LMA) ۰/۷٪ به وسیله سمپلر به لام اضافه شده و ۵ دقیقه در یخچال قرار داده شد بعد از آن برای از بین رفتن غشا، لام‌ها در محلول لیزکننده قرار داده شده و به مدت ۱ ساعت در یخچال گذاشته شد. سپس لام‌ها داخل تانک الکتروفورز قرار داده شد به طوری که محلول الکتروفورز روی لام‌ها را کاملاً پوشانده بود و ۳۰ دقیقه با ولتاژ الکتروفورز بر روی ۰/۸ ولت و جریان ۳۰۰ میلی‌آمپر الکتروفورز شد. این کار باعث حرکت تکه‌های DNA شکسته شده به طرف قطب مثبت می‌شود و ایجاد حالتی شبیه ستاره دنباله دار می‌کند که با رنگ کردن می‌توان آن را در زیر میکروسکوپ فلورسنت مشاهده کرد. بعد از ۳۰ دقیقه از الکتروفورز خارج گردید. در مرحله خنثی‌سازی، لام‌ها به مدت ۵ دقیقه درون محلول خنثی‌سازی قرار داده شد و خوب شستشو گردید، اسلایدها پس از خارج شدن از محلول خنثی‌سازی به مدت ۵ دقیقه درون محلول رنگ‌آمیزی ساخته‌شده با اتیدیوم بروماید قرار داده شد سپس لام از رنگ خارج شده و در آب مقطر قرار داده شد تا رنگ اضافه شسته شود.

برای مشاهده آسیب‌ها از میکروسکوپ فلورسانس دوربین‌دار با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ در یک اتاق تاریک استفاده شد. از نرم‌افزار comet score جهت آنالیز استفاده شد (۲۰) که میزان آسیب به DNA در سلول را با اندازه‌گیری طول جابجایی (مهاجرت) DNA و درصد آن تعیین می‌کند. سرانجام این نرم‌افزار tail moment (حاصل‌ضرب طول دنباله در شدت انتهایی) را محاسبه می‌کند هر چه میزان و شدت این دنباله یا tail بیشتر باشد، نمایانگر آسیب بیشتر DNA سلول است.

سنجش مارکرهای استرس اکسیداتیو در سرم:

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام TAC: (Total Antioxidant Capacity)

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلازما توسط احیاء ترکیب DPPH بر اساس روش توصیف‌شده توسط Janaszewska انجام گرفت (۲۱) و با استفاده از الیزا در طول موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب نمونه‌ها قرائت گردید.

سنجش فعالیت پاراکسوناز سرم:

فعالیت PON از طریق اضافه کردن سرم به 1 mmol بافر، tris/HCL انجام شد. در طول موج ۴۱۲ جذب نمونه‌ها یک بار در زمان صفر ($t_1=0$) و یک بار دیگر در زمان ۳ دقیقه بعد ($t_2=3$) خوانش شدند. و طبق فرمول مقابل (PON activity = $A \Delta OD / K$) گردید (۱۸).

سنجش فعالیت کاتالاز (CAT):

فعالیت کاتالاز بر طبق روشی که قبلاً توسط Goth توصیف شده بود اندازه‌گیری شد (با تغییرات جزئی) (۱۸). به این منظور، ۲۰ میکرولیتر سرم را با ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترا مخلوط کرده و پس از انکوباسیون با اضافه کردن بازدارنده آمونیوم مولیپدات در چاهک‌های میکروپلیت، جذب در طول موج ۴۱۰ نانومتر با الیزا خوانش شد. در این روش از بلانک نیز استفاده شد بلانک ۱ به ازای هر نمونه مصرف شد ولی بلانک ۲ و ۳ فقط یک خانه از چاهک‌ها را اشغال کردند و سپس فعالیت کاتالاز با استفاده از فرمول زیر بر حسب ku/l بیان شد.

$$Ku/L = A (\text{sample}) - A (\text{blank 1}) / A (\text{blank 2}) - A(\text{blank 3}) \times 271$$

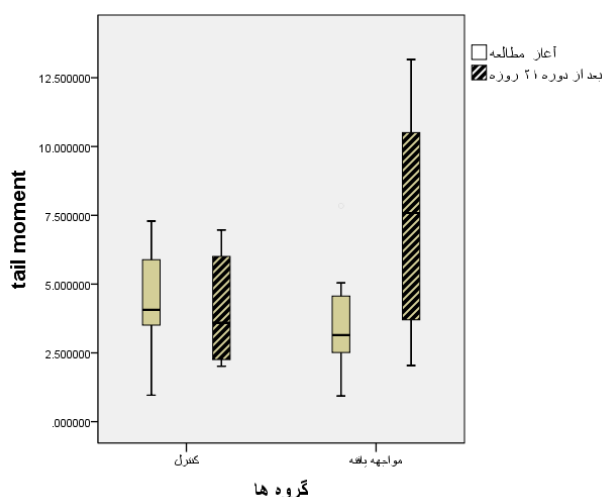
آنالیز آماری:

نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. تغییرات در داخل هر گروه (قبل و بعد از دوره ۲۱ روزه مطالعه) از طریق آزمون‌های Paired t-test و یا Wilcoxon (در صورتی که توزیع داده‌ها نرمال نبود) و بین دو گروه از آزمون‌های t-test و یا Mann-Whitney تجزیه و تحلیل شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism انجام شد. مقدار P-Value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

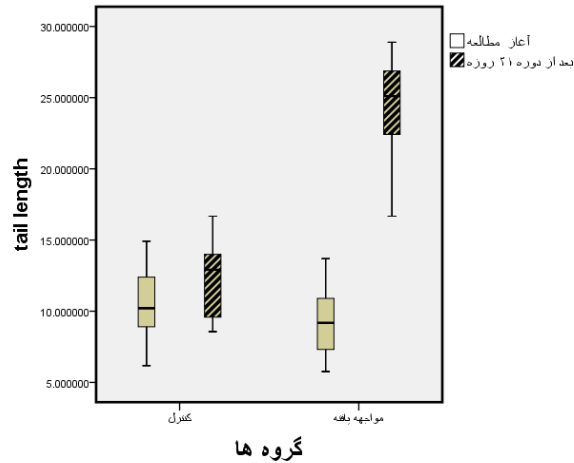
نتایج تست کامت:

پس از پایان دوره ۲۱ روزه مواجهه با امواج Wi-Fi شاخص‌های شکست DNA شامل: tail Moment (نمودار ۱)، tail length (نمودار ۲) و DNA in tail % (نمودار ۳) که از طریق تست کامت قلبیابی اندازه‌گیری شدند، در گروه مواجهه‌یافته (گروه تجربی) نسبت به قبل از مواجهه، افزایش معنی‌داری داشت در صورتی که هیچ‌یک از این شاخص‌ها در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نسبت به آغاز دوره مطالعه نشان ندادند.

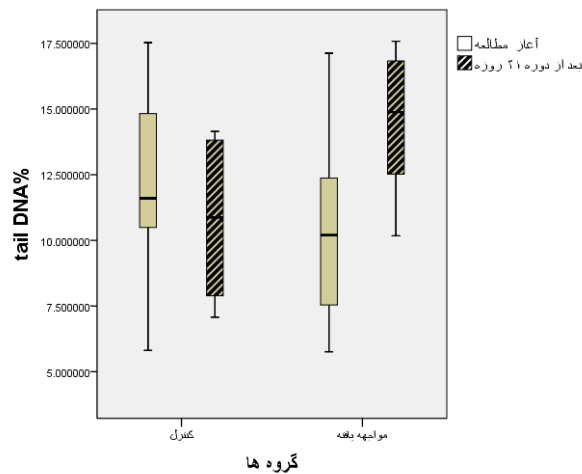


نمودار ۱: اثرات قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi بر میزان tail moment در لنفوسیت خون محیطی موش سوری.

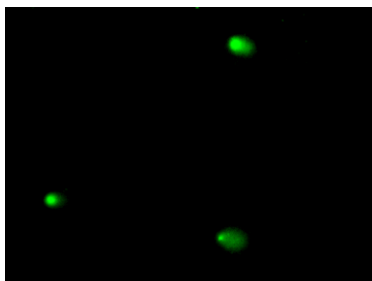
نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار ($*P=0/007$) میزان tail moment در گروه مواجهه یافته با امواج Wi-Fi نسبت به قبل از مواجهه ($*P=0/007$) و همچنین نسبت به گروه کنترل ($*P=0/01$) است. در حالی که در پایان دوره مطالعه میزان tail moment در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ($P=94/0$) نسبت به ابتدای مطالعه نشان نداد. اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ($X \pm SD$) گزارش شده‌اند، سطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0.05$ است



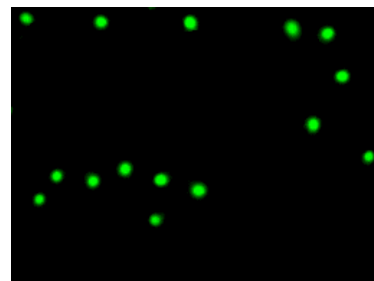
نمودار ۲: اثرات قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi بر میزان tail length در لنفوسیت خون محیطی موش سوری. افزایش میزان tail length در گروه مواجهه یافته نسبت به قبل از مواجهه (** $P=0/001$) و همچنین نسبت به گروه کنترل (** $P=0/001$) معنی دار بود؛ اما میزان tail length در گروه کنترل تفاوت معنی داری نسبت به ابتدای مطالعه نشان نداد ($P=19/0$). اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ($X \pm SD$) گزارش شده اند، سطح معنی دار از نظر آماری $P < 0.05$ است



نمودار ۳: اثرات قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi بر، tail DNA% در لنفوسیت خون محیطی موش سوری. نتایج نشان دهنده افزایش معنی دار، tail DNA% در گروه مواجهه یافته با امواج Wi-Fi نسبت به قبل از مواجهه ($P=0/013$) و همچنین نسبت به گروه کنترل ($P=0/02$) است. درحالی که در پایان دوره مطالعه میزان، tail DNA% در گروه کنترل تفاوت معنی داری ($P=0/42$) نسبت به ابتدای مطالعه نشان نداد. اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ($X \pm SD$) گزارش شده اند، سطح معنی دار از نظر آماری $P < 0.05$ می باشد.



(ب)



(الف)

شکل ۱: نمونه تصویر گرفته شده توسط میکروسکوپ فلورسانس حاصل از تست کامت از سلول های لنفوسیت؛ که تفاوت در طول کامت ها و در نتیجه تفاوت در میزان شکست DNA قبل و بعد از مواجهه با امواج را نشان می دهد

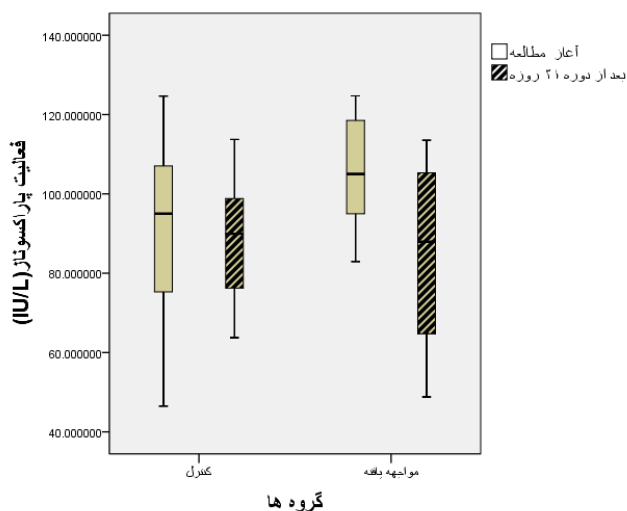
شکل (ب) نمونه گرفته شده بعد از قرارگیری (۲۱ روز) در معرض امواج Wi-Fi

شکل (الف) نمونه قبل از مواجهه با امواج Wi-Fi

تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو در اثر قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi: در این مطالعه فعالیت پاراکسوناز (PON1) در گروه مواجهه یافته بعد از مواجهه با امواج، کاهش معنی‌داری نشان داد اما در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/008$)

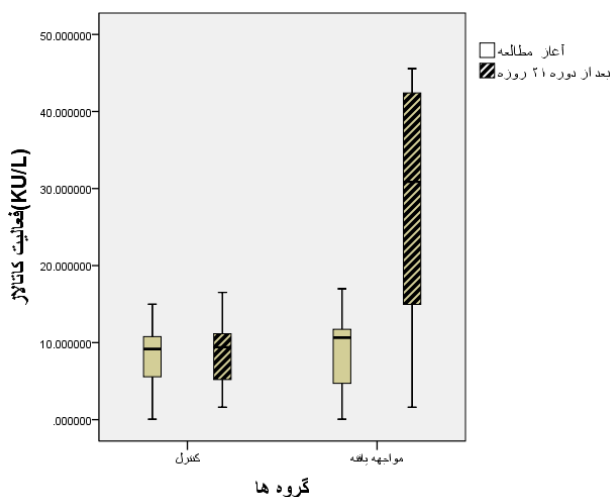
تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو در اثر قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi:

در این مطالعه فعالیت پاراکسوناز (PON1) در گروه مواجهه یافته بعد از مواجهه با امواج، کاهش معنی‌داری نشان داد اما در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/008$)



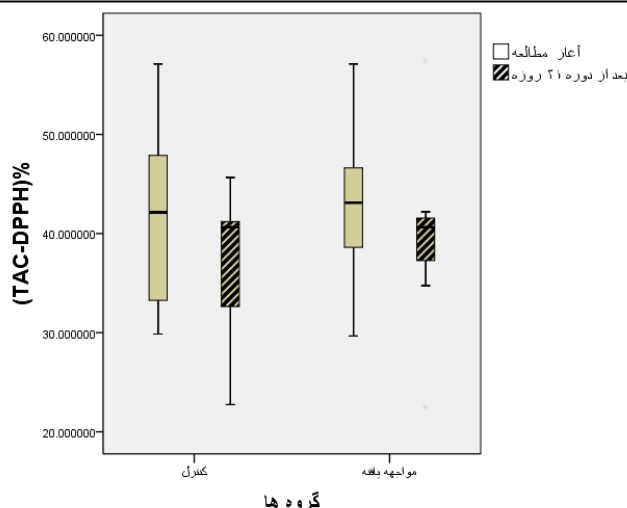
نمودار ۴: اثرات قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز سرم موش سوری.

فعالیت آنزیم پاراکسوناز (PON1) در سرم گروه مواجهه یافته بعد از ۲۱ روز مواجهه با امواج، به‌طور معنی‌داری نسبت به قبل کاهش یافته بود ($P=0/008$)، در حالی که میزان فعالیت این آنزیم در گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نسبت به آغاز مطالعه نشان نداد ($P=0/5$). اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ($X \pm SD$) گزارش شده‌اند، سطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0/05$ است.



نمودار ۵: اثرات قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi بر فعالیت آنزیم کاتالاز سرم موش سوری.

فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه مواجهه یافته بعد از مواجهه با امواج افزایش معنی‌داری نسبت به قبل از مواجهه ($P=0/001$) و همچنین نسبت به گروه کنترل نشان داد؛ اما میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه کنترل تفاوتی با قبل نداشت ($P=16/0$). اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ($X \pm SD$) گزارش شده‌اند، سطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0/05$ است.



نمودار ۶: اثرات قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi میزان TAC سرم موش سوری.

در پایان دوره ۲۱ روزه مطالعه میزان TAC اندازه‌گیری شده، نه در گروه مواجهه یافته ($P=0/39$) و نه در گروه کنترل ($P=14/0$) تفاوت معنی‌داری با ابتدای مطالعه نداشتند. اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ($X \pm SD$) گزارش شده‌اند، سطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0/05$ است.

بحث

این مطالعه به منظور بررسی تأثیر میدان الکترومغناطیسی ایجاد شده توسط امواج Wi-Fi بر استرس اکسیداتیو سرم و آسیب‌های DNA در سلول‌های لنفوسیت خون محیطی موش سوری انجام گرفت. تمام تست‌ها یک بار در ابتدای مطالعه و بار دیگر بعد از پایان دوره ۲۱ روزه مطالعه، برای هر ۲ گروه انجام گرفت و نتایج آن‌ها هم در بین دو گروه (کنترل و مواجهه یافته با امواج) و هم در داخل هر گروه (قبل و بعد از مواجهه) مقایسه شد. در این مطالعه، شکست تک‌رشته DNA لنفوسیت در گروه مواجهه یافته به صورت معنی‌داری افزایش یافت. مطالعات متعددی در زمینه اثر میدان‌های الکترومغناطیسی در القا آسیب DNA در چند دهه اخیر انجام گرفته است و محققان نتایج مختلفی را گزارش کرده‌اند در این مطالعات نوع حیوان مورد مطالعه، فرکانس‌ها، SAR، مدت‌زمان قرارگیری در معرض امواج، فاصله از منبع امواج، نوع سلول و... متنوع هستند. از جمله مطالعه‌ای که J. Behari, R. Paulraj در سال ۲۰۰۶ انجام دادند و افزایش شکست رشته DNA را با استفاده از comet assay در سلول‌های مغزرت‌های که به مدت ۳۵ روز در معرض امواج مایکروویو قرار داده بودند گزارش کردند (۱۲). همچنین Elisabeth Diem و همکاران (۲۰۰۵) از طریق کشت سلول‌های فیبروبلاست انسان و سلول‌های گرانولوزای موش و قرار دادن آن‌ها در معرض امواج الکترومغناطیسی ساطع شده از گوشی موبایل و با استفاده از Comet assay شکست DNA را در این سلول‌ها مشاهده کردند (۲۲). در مطالعه دیگری در سال ۲۰۰۹ افزایش میزان فعالیت کاتالاز و افزایش شکست دو رشته DNA در سلول‌های مغزرت‌های که به مدت ۲ ساعت در روز و ۴۵ روز در معرض امواج ۵۰ گیگاهرتز مایکروویو قرار گرفته بودند گزارش شده است (۲۳) Aitken؛ و همکاران اثرات امواج ۹۰۰ مگاهرتز تلفن همراه بر موش (به مدت ۷ روز، ۱۲ ساعت در شبانه‌روز) را مورد بررسی قرار دادند که آسیب قابل‌توجهی به ژنوم هسته و میتوکندری اسپرم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده کردند (۱۳). در مطالعه حاضر نیز افزایش شکست تک رشته DNA در گروه مواجهه یافته در مقایسه با قبل از مواجهه و همچنین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد که با نتایج

در این مطالعه، شکست تک‌رشته DNA لنفوسیت در گروه مواجهه یافته به صورت معنی‌داری افزایش یافت. مطالعات متعددی در زمینه اثر میدان‌های الکترومغناطیسی در القا آسیب DNA در چند دهه اخیر انجام گرفته است و محققان نتایج مختلفی را گزارش کرده‌اند در این مطالعات نوع حیوان مورد مطالعه، فرکانس‌ها، SAR، مدت‌زمان قرارگیری در معرض امواج، فاصله از منبع امواج، نوع سلول و... متنوع هستند. از جمله مطالعه‌ای که J. Behari, R. Paulraj در سال ۲۰۰۶ انجام دادند و افزایش شکست رشته DNA را با استفاده از

است (۳۱)، قرارگیری در معرض استرس اکسیداتیو ممکن است باعث القا دفاع آنتی‌اکسیدانی شود برخی مطالعات نشان داده‌اند که افزایش میزان هیدروژن پراکسید باعث القاء بیان آنزیم کاتالاز می‌شود (۳۲). در مطالعه دیگری Olivier Meilhac و همکاران، افزایش بیان ژن کاتالاز را در شرایط استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی مشاهده کردند و به این نتیجه رسیدند که افزایش بیان این ژن به عنوان یک پاسخ دفاع آنتی‌اکسیدانی در خلال دوره استرس به منظور جلوگیری از استرس شدیدتر انجام می‌گیرد (۳۲). Kesari و همکاران (۲۰۰۹) افزایش قابل توجهی در فعالیت کاتالاز موش‌های سوری که به مدت ۲ ساعت در شبانه‌روز در یک دوره ۳۵ روز با امواج 2.45GHz مشاهده کردند (۱۶). آن‌ها همچنین در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۱ افزایش کاتالاز را در موش‌های که به مدت (2h/45day) در معرض امواج موبایل قرار داده بودند مشاهده کردند (۳۳)، در تحقیقات دیگری Ayata و همکاران (۲۰۰۴) (۳۴) و Dasdag و همکاران (۲۰۰۹) (۳۵) افزایش فعالیت CAT در رت‌های مواجهه شده با امواج موبایل گزارش کردند.

در مطالعه حاضر نیز افزایش معنی‌داری در فعالیت کاتالاز سرم گروه مواجهه یافته با Wi-Fi مشاهده گردید (P value=0.0001). یافته‌های ما با مطالعات ذکر شده مطابقت دارد و با توجه به مطالعات ذکر شده، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز پس از قرار گرفتن در معرض امواج Wi-Fi، در مطالعه ما می‌تواند پاسخ ایمنی در برابر افزایش در تولید پراکسید هیدروژن است.

TAC (ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی) به کل آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و مایعات بدن اطلاق می‌شود (۳۶). در برخی مطالعات مشاهده شده که مواجهه با میدان‌های الکترومغناطیسی منجر به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شده است (۳۷،۳۸). در مقابل محققانی همانند Agarwal و همکاران مشاهده کردند که مواجهه با RF-EMW اگرچه باعث کاهش تحرک اسپرم و افزایش سطح ROS شد اما سطح TAC را تغییر نداد (۳۹). در مطالعه حاضر نیز سطح TAC سرم در هیچ‌یک از دو گروه از گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت.

مطالعات قبلی مطابقت دارد. در مقابل، Belyaev و همکاران گزارش کرده‌اند که امواج بر شکست رشته‌های DNA تأثیری نداشته است (۱۵) اخیراً Mehmet Zulkuf Akdag M.Z در آزمایش‌هایی در زمینه تأثیر امواج رادیویی 2.45 GHZ بر DNA سلول‌های بافت‌های مختلف مانند مغز، کلیه، کبد، پوست و بیضه داشتند که فقط آسیب در DNA بیضه مشاهده کردند (۲۴)؛ که این نتایج ممکن است به دلیل اختلاف در شرایط مطالعات باشد.

آنزیم پاراکسوناز-۱ (PON1) یک آنزیم متصل به HDL است که نقش آنتی‌اکسیدانی دارد (۲۵). PON1 توانایی محافظت از بافت‌ها در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی را دارد (۲۶). در مطالعه‌ای که به منظور بررسی تغییرات فعالیت PON1 در مردان و زنانی که به طور مداوم در معرض امواج ساطع شده از سشوار قرار داشتند انجام شده، کاهش فعالیت PON1 در مردان در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شده است (۲۵). مطالعات اندکی در زمینه ارتباط بین فعالیت PON1 و امواج الکترومغناطیسی در دسترس است اما مطالعات فراوانی وجود دارند که بیانگر کاهش فعالیت PON1 در شرایط افزایش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی است از جمله، مطالعه‌ای که نشان‌دهنده ارتباط بین کاهش فعالیت PON1 کبدی و پراکسیداسیون لیپیدی است (۲۷). مطالعه دیگری نیز کاهش فعالیت PON1 را در شرایط استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش شدید گزارش داده است (۲۸). Serhatlioglu و همکاران (۲۰۰۳) نیز کاهش فعالیت PON1 را در افرادی که در معرض امواج یونیزان قرار گرفته بودند مشاهده کردند (۲۹). در مطالعه حاضر نیز کاهش معنی‌داری در فعالیت PON1 گروه مواجهه یافته مشاهده شد؛ که ممکن است به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها مربوط باشد.

آنزیم کاتالاز یک آنتی‌اکسیدان قوی به شمار می‌آید. نقش اصلی آنزیم کاتالاز، کاتالیز واکنش تبدیل هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن است (۳۰). در بررسی‌های انجام شده توسط بعضی از پژوهشگران افزایش فعالیت این آنزیم در برخی از بافت‌های بدن به عنوان شاخصی از بروز استرس اکسیداتیو

نتیجه‌گیری

قرارگیری در معرض امواج Wi-Fi می‌تواند باعث افزایش استرس اکسیداتیو و آسیب به DNA شود و سطح میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تغییر دهد.

سیاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می‌باشد که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

References:

- 1- Usman A.D. *Hermographic analysis of Wi-Fi frequencies exposed to unrestrained Swiss albino mice*. International Journal of the Physical Sciences 2011. 6(36).
- 2-Sage C, Carpenter DO. *Public health implications of wireless technologies*. Pathophysiology 2009; 16(2-3): 233-46.
- 3-Liu C, Duan W, Xu S, Chen C, He M, Zhang L, et al. *Exposure to 1800 MHz radiofrequency electromagnetic radiation induces oxidative DNA base damage in a mouse spermatocyte-derived cell line*. Oxidol Lett 2013; 218(1): 2-9.
- 4-Mina D, Sagonas K, Fragopoulou AF, Pafilis P, Skouroliahou A, Margaritis LH, et al. *Immune responses of a wall lizard to whole-body exposure to radiofrequency electromagnetic radiation*. Int J Radiat Biol 2016; 92(3): 162-8.
- 5-Çiftçi ZZ, Kırzioğlu Z, Nazıroğlu M, Özmen Ö. *Effects of prenatal and postnatal exposure of Wi-Fi on development of teeth and changes in teeth element concentration in rats*. [corrected]. Biol Trace Elem Res 2015; 163(1-2): 193-201.
- 6-Falowo AB, Fayemi PO, Muchenje V. *Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review*. Food Research International 2014; 64: 171-181.
- 7-Nazıroğlu M, Yüksel M, Köse SA, Özkaya MO. *Recent reports of Wi-Fi and mobile phone-induced radiation on oxidative stress and reproductive signaling pathways in females and males*. J Membr Biol 2013; 246(12): 869-75.
- 8-Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. *Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance*. Mutat Res 2004; 567(1): 1-61.
- 9-Phillips JL, Singh NP, Lai H. *Electromagnetic fields and DNA damage*. Pathophysiology 2009; 16(2-3): 79-88.
- 10- Avendaño C, Mata A, Sanchez Sarmiento CA, Doncel GF, et al. *Use of laptop computers connected to internet through Wi-Fi decreases human sperm motility and increases sperm DNA fragmentation*. Fertil Steril 2012; 97(1): 39-45 e2.

- 11- Verschaeve L. *Genetic effects of radiofrequency radiation (RFR)*. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 207(2 Suppl): 336-41.
- 12- Paulraj R, Behari J. *Single strand DNA breaks in rat brain cells exposed to microwave radiation*. *Mutat Res* 2006; 596(1-2): 76-80.
- 13- Aitken RJ, Bennetts LE, Sawyer D, Wiklendt AM, King BV, et al. *Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline*. *Int J Androl* 2005; 28(3): 171-9.
- 14- Çam ST, Seyhan N. *Single-strand DNA breaks in human hair root cells exposed to mobile phone radiation*. *International Journal of Radiation Biology* 2012; 88(5): 420-4.
- 15- Belyaev IY, Baureus Koch C, Terenius O, Roxstrom-Lindquist K, Malmgren LOG, Sommer WH, et al. *Exposure of rat brain to 915 MHz GSM microwaves induces changes in gene expression but not double stranded DNA breaks or effects on chromatin conformation*. *Bioelectromagnetics* 2006; 27(4): 295-306.
- 16- Kesari KK, Behari J, Kumar S. *Mutagenic response of 2.45 GHz radiation exposure on rat brain*. *Int. J. Radiat. Biol* 2010; 86(4): 334-43.
- 17- Shekoohi-Shooli F, Mortazavi SM, Shojaei-Fard MB, Nematollahi S, Tayebi M. *Evaluation of the Protective Role of Vitamin C on the Metabolic and Enzymatic Activities of the Liver in the Male Rats After Exposure to 2.45 GHz Of Wi-Fi Routers*. *J Biomed Phys Eng* 2016; 6(3): 157-164.
- 18- Pandeh M, Fathi S, Zare Sakhvidi MJ, Zavar Reza J, Sedghian L. *Oxidative stress and early DNA damage in workers exposed to iron-rich metal fumes*. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017; 24(10): 9645-9650.
- 19- Bajpayee M, Kumar A, Dhawan A. *The Comet Assay: Assessment of In Vitro and In Vivo DNA Damage Genotoxicity Assessment* 2013; 1044: 325-45.
- 20- Gyori BM, Venkatachalam G, Thiagarajan PS, Hsu D, Clement MV. *OpenComet: an automated Gyori tool for comet assay image analysis*. *Redox Biol* 2014; 2: 457-65.
- 21- Janaszewska A, Bartosz G. *Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma*. *Scandinavian journal of clinical & laboratory investigation* 2002; 62 (3): 231-236.
- 22- Diem E1, Schwarz C, Adlkofer F, Jahn O, Rüdiger H. *Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800 MHz) in human fibroblasts and in transfected GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro*. *Mutat Res* 2005; 583(2): 178-83.
- 23- Kesari KK, Behari J. *Fifty-gigahertz microwave exposure effect of radiations on rat brain*. *Appl Biochem Biotechnol* 2009; 158(1): 126-39.
- 24- Akdag MZ, Dasdag S, Canturk F, Karabulut D, Caner Y, Adalier N. *Fazile Canturkc Derya Karabulut Yusuf Canerb Nur Adaliere Does prolonged radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi devices induce DNA damage in various tissues of rats?* *Journal of Chemical Neuroanatomy* 2016; 75: 116-22.

- 25- Mustafa Salih ÇELİK V.A, Birgül IŞIK, Mehmet Yusuf ÇELİK CMY, Osman EVLİYAOĞLU. *the effect of low-frequency electromagnetic field (ELF-EMF) on serum paraoxanase (PON1) and malondialdehyde (MDA) levels*. International Archives of Med Res 2014; 6.
- 26- Litvinov D, Mahini H, Garelnabi M. *Antioxidant and anti-inflammatory role of paraoxonase 1: implication in arteriosclerosis diseases*. N Am J Med Sci 2012; 4(11): 523-32.
- 27- Ferré N, Camps J, Cabré M, Paul A, Joven J. *Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis*. Metabolism 2001; 50(9): 997-1000.
- 28- Motta S, Letellier C, Ropert M, Motta C, Thiébault JJ. *Protecting effect of vitamin E supplementation on submaximal exercise-induced oxidative stress in sedentary dogs as assessed by erythrocyte membrane fluidity and paraoxonase-1 activity*. the Veterinary J 2009; 181(3): 288-95.
- 29- Serhatlioglu S, Gursu MF, Gulcu F, Canatan H, Godekmerdan A. *Levels of paraoxonase and arylesterase activities and malondialdehyde in workers exposed to ionizing radiation*. Cell biochemistry and function 2003; 21(4): 371-5.
- 30- Kodydková J, Vávrová L, Kocík M, Zák A. *Human Catalase Its Polymorphisms Regulation and Changes of Its Activity in Different Diseases*. Folia Biologica (Praha) 2014; 60(4): 153-167.
- 31- Jacob MH, Pontes MR, Araújo AS, Barp J, Irigoyen MC, Llesuy SF, et al. *Aortic-banding induces myocardial oxidative stress and changes in concentration and activity of antioxidants in male Wistar rats*. Life Sci 2006; 79(23): 2187-93.
- 32- Meilhac O, Zhou M, Santanam N, Parthasarathy S. *Lipid peroxides induce expression of catalase in cultured vascular cells*. J Lipid Research 2000; 41(8): 1205-13.
- 33- Kesari KK, Kumar S, Behari J. *900-MHz microwave radiation promotes oxidation in rat brain*. Electromagn Biol Med 2011; 30(4): 219-34.
- 34- Ayata A, Mollaoglu H, Yilmaz HR, Akturk O, Ozguner F, Altuntas I. *Oxidative stressmediated skin damage in an experimental mobile phone model can be prevented by melatonin*. J Dermatol 2004; 31(11): 878-83.
- 35- Dasdag S, Akdag MZ, Ulukaya E, Uzunlar AK, Ocak AR. *Effect of mobile phone exposure on apoptotic glial cells and status of oxidative stress in rat brain*. Electromagn Biol Med 2009; 28(4): 342-54.
- 36- Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, et al. *Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults:the ATTICA study1-3*. Am J Clin Nutr 2005; 82(3): 694-9.
- 37- Özorak A, Nazıroğlu M, Çelik Ö, Yüksel M, Özçelik D, Özkaya MO , et al. *Wi-Fi (2.45 GHz)- and mobile phone (900 and 1800 MHz)-induced risks on oxidative stress and elements in kidney and testis of rats during pregnancy andthe development of offspring*. Biol trace Elem Res 2013; 156(1-3): 221-9.

- 38- Liu Q, Si T, Xu X, Liang F, Wang L, Pan S. *Electromagnetic radiation at 900 MHz induces sperm apoptosis through bcl-2, bax and caspase-3 signaling pathways in rats*. *Reprod Health* 2015; 12: 65.
- 39- Agarwal A, Desai NR, Makker K, Varghese A, Mouradi R, Sabanegh E, et al. *Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an in vitro pilot study*. *Fertil Steril* 2009; 92(4): 1318-25.

Effects of Exposure to WI-FI Signals (2.45 GHz) on Serum Oxidative Stress and Single Strand DNA Breaks in Peripheral Blood Lymphocytes of Mice

Fatemeh Borhan¹, Javad Zavvar Reza^{2*}, Masoud Pandeh³, Saedeh Fathi⁴

¹⁻⁴ Department of Clinical biochemistry, Shahid Saddughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: 5 Mar 2017

Accepted: 6 Jul 2017

Abstract

Introduction: Use of wireless devices have been increasing during the last three decades in the world. Health risks caused by exposure to these appliances has become a public concern. The purpose of this study was to investigate the effects of exposure to Wi-Fi on DNA breaks and oxidative stress parameters.

Methods: 16 male mice divided in 2 groups; experimental (exposed) (n=8) and the control groups (n=8). While the control group was kept not exposed to the signals the experimental group was exposed to 2.45 GHz Wi-Fi signal GHZ, for 8h/21 day; Single strand DNA breaks in lymphocytes were determined by using the Alkaline Comet Assay (before and after the exposure period). Oxidative stress parameters, including, catalase activity, PON1 activity, and TAC were measured (before and after the exposure period).

Results: In the exposed group, it was observed an increase in single-stranded DNA break; decrease in PON1 enzyme activity also increase the catalase activity compared to before exposure to wi-fi, but TAC was not significantly different. While in the control group, none of the indicators measured at the end of the study there was no significant difference compared to 21 days ago.

Conclusion: The findings of the present study show that Wi-Fi exposure can increase oxidative stress and the strand DNA breaks.

Keywords: wi-fi, oxidative stress, Strand DNA Breaks, Comet assay, Catalase, PON1, TAC

This paper should be cited as:

Borhan F, Zavvar Reza J, Pandeh M, Fathi S. Effects of Exposure to WI-FI Signals (2.45 GHz) on Serum Oxidative Stress and Single Strand DNA Breaks in Peripheral Blood Lymphocytes of Mice. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 25(7): 572-584.