

# Early postnatal radio-frequencies 900 MHz (mobile phone) exposure effects on learning, glutathione peroxidase, and glutathione reductase enzyme activity in rat brain tissue

Mohammad Reza Bigdeli\*, Mehdi Rahnema, Mohsen Forghani, Hamed Alizadeh

Biology Research Center, Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran

(Received: 2014/10/27    Accept: 2015/11/28)

## Abstract

**Background:** Electromagnetic fields were made by electromagnetic radiations (EMR) of mobile phone (radio-frequencies 900 MHz). Various researches have shown that there are relationships between mobile phone electromagnetic exposure and cancer and neurologic damages. The aim of our study was to investigate the effects of mobile phone electromagnetic radiations (radio-frequencies 900 MHz) on learning, brain glutathione reductase, and glutathione peroxidase activities.

**Methods:** The Wistar rat pups (P1) were maintained in standard conditions. In experimental group, the rat pups were exposed to EMR (radio-frequencies 900 MHz) for 3 h per day from two days old (P2) to fourteen days old (P14). After separation of male and female rats on P22, the rats were housed in the standard animal room conditions until they grew to P58. From P59 to P61, the male rats were trained three times per day for 3 days in the water maze. On P62, the behavioural assessments were measured. Then, the rats were sacrificed by means of decapitation for brain glutathione reductase and glutathione peroxidase activities assessment.

**Results:** The time taken to find hidden platform ( $3.8 \pm 35$  s for control group versus  $3 \pm 47.1$  s for exposed to radiation group) and the time spent exhibiting freezing behaviour ( $0.48 \pm 2.5$  s for control group versus  $1.85 \pm 9.1$  s for exposed to radiation)

\*Corresponding author: Mohammad Reza Bigdeli, PhD, Biology Research Center, Department Of Physiology, Islamic Azad University Of Zanjan, Zanjan, Iran  
Tel: + 989121413969, Email: bigdelimohammadreza@yahoo.com

# بررسی آثار قرار گرفتن در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز (امواج تلفن همراه) در اوایل تولد بر یادگیری، فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز و گلوکوتایون ردوکتاز در بافت مغز موش صحرایی

محمد رضا بیگدلی، مهدی رهنما، محسن فرقانی، حامد علیزاده

مرکز تحقیقات بیولوژی، گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۸/۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۹/۷

## چکیده

**سابقه و هدف:** میدان‌های الکترومغناطیسی اطراف امواج الکترومغناطیسی تلفن همراه (رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز) به وجود می‌آید. مطالعه‌های مختلف نشان داده است که روابطی بین امواج الکترومغناطیسی و آسیب‌های عصبی و سرطانی وجود دارد. هدف ما در این مطالعه بررسی آثار رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز مذکور بر یادگیری و فعالیت آنزیم‌های گلوکوتایون ردوکتاز و گلوکوتایون پراکسیداز در بافت مغز بود.

**روش بررسی:** توله موش‌های صحرایی نژاد ویستار یک روزه (P1) تحت شرایط استاندارد نگهداری می‌شدند. در گروه آزمایشی توله موش‌های صحرایی از روز دوم (P2) تا روز چهاردهم (P14) هر روز به مدت سه ساعت تحت رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز قرار گرفتند و موش‌های صحرایی شاهد نیز تحت همین شرایط بدون منبع مولد امواج قرار داشتند. در P22 موش‌های صحرایی نر از ماده جدا شدند و تحت شرایط استاندارد نگهداری شدند تا به P58 برسند. از P59 تا P61 موش‌ها هر روز سه بار تحت آموزش قرار گرفتند تا در روز P62 آزمون ماز آبی انجام شود. بعد از آزمون در P62 موش‌های صحرایی قربانی شدند و سرهای شان جدا شد. از طریق جداسازی مغز بافت آن‌ها فعالیت آنزیم گلوکوتایون ردوکتاز و گلوکوتایون پراکسیداز مطالعه شد.

**نتایج:** رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز کارایی حافظه فضایی را در موش‌های صحرایی کاهش (۳۵/۰±۳/۸) ثانیه برای گروه شاهد در مقایسه با ۴۷/۱±۳/۱۰ ثانیه برای گروه در معرض امواج) و زمان فریز حرکتی را در مقایسه با گروه شاهد افزایش دادند (۲/۵±۰/۱۸۴) ثانیه برای گروه شاهد در مقایسه با ۹/۱±۱/۸۵ ثانیه برای گروه در معرض امواج). رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز به‌طور معناداری میزان فعالیت گلوکوتایون ردوکتاز (۵۴/۶ درصد) و گلوکوتایون پراکسیداز (۵۱/۵ درصد) را کاهش دادند.

**نتیجه‌گیری:** عدم تعادل بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلوکوتایون پراکسیداز و گلوکوتایون ردوکتاز در اثر قرار گرفتن در معرض میدان تشعشع‌های تلفن همراه به احتمال با یادگیری ارتباط داشته است و در پاتوژنز این بیماری دخالت دارد.

**کلیدواژه:** رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز، مغز، موش‌های صحرایی، گلوکوتایون ردوکتاز، گلوکوتایون پراکسیداز، حافظه و یادگیری

## مقدمه

در وسایل الکترونیکی و الکترونیکی و رادیوفرکانس‌های (RF) موجود در تلفن همراه و شبکه‌های تلویزیونی شهری یونیزان هستند و به مقدار زیادی ROS و NOS تولید می‌کنند. آژانس‌های جهانی پژوهش‌های کنسر (IARC) نشان داده است که به احتمال دسته دوم در بروز لوکمی در کودکان دخیل باشند (۳) به هرحال دسته‌بندی قطعی از لحاظ دوز و مدت زمان برای قرا گرفتن در معرض RF تاکنون ارائه نشده است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز می‌تواند به ناحیه فورنیکس آسیب وارد کند و این موضوع موجب نارسایی‌های در حافظه فضایی می‌شود. این اطلاعات نشان می‌دهد که استریاتوم پستی، رفتارهای شناسایی فضایی را به راه می‌اندازد (۴)

ارزیابی خطر قرار گرفتن کودکان و بزرگسالان در معرض رادیوفرکانس‌ها (RF) یکی از مهم‌ترین موضوع‌های پژوهشی هم برای دانشمندان و هم برای عموم مردم است. به دلیل اینکه تعداد زیادی از کودکان دبستان و پیش دبستان بیماری لوکمی را نشان داده‌اند، (۱) اهمیت این موضوع را مضاعف کرده است. شواهد اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که لوکمی کودکان ممکن است با افزایش شدت میدان‌های مغناطیسی رابطه داشته باشد. میدان‌های الکترومغناطیسی که مردم با آن سروکار دارند را می‌توان در دو دسته طبقه‌بندی کرد (۲). نشان داده شده است که میدان‌های مغناطیسی بسیار پایین (ELF) موجود

نویسنده مسئول: محمدرضا بیگدلی

bigdelimohammadreza@yahoo.com

تلفن: ۰۲۱- ۲۹۹۰۲۷۳۱

آنتی‌اکسیدانی است (۱۵) که یکی از این شرایط مشکلات ساخت پروتئین است. آستروسیت‌ها یکی از جدی‌ترین سلول‌هایی هستند که در اثر کمبود گلوکاتایون دچار مشکل می‌شوند. (۱۶) آستروسیت‌ها نقش اساسی در مهاجرت سلولی، سیناپتوز، آزادسازی فاکتورهای رشد عصبی، کنترل متابولیسم انرژی سلول، تنظیم ترکیب یونی خارج سلولی، بازگیری و بازیافت نروترانسمیترها ایفا می‌کند. (۱۷)

در اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز ROS افزایش می‌یابد، اما مشخص نیست که آنزیم‌های غیرفعال‌ساز ROS طی نوزادی نیز افزایش می‌یابد یا نه. نشان داده شده است که قرار دادن موش‌های صحرایی به مدت ۴۵ روز و در هر روز به اندازه دو ساعت در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز گلوکاتایون پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز را کاهش و سطح فعالیت کاتالاز را افزایش می‌دهد، (۱۸) اما تغییر میزان فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون ردکتاز و گلوکاتایون پراکسیداز هنوز نشان داده نشده است. گلوکاتایون نیز یکی از مواد جدی در زمینه فعالیت آنزیم NADPH اکسیداز است. از طرف دیگر، گروه دیگری از محققان نشان داده‌اند که قرار گرفتن موش‌های حامله در زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز برای سه بار در روز به مدت ۲۰ روز موجب کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و افزایش مالوندی آلدئید (MDA: malondialdehyde) در گروه‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه می‌شود. (۱۹) مطالعه دیگری نشان می‌دهد که رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز در موش‌های صحرایی موجب به هم خوردن تعادل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در عدسی و قرنیه چشم موش صحرایی می‌شود. در مقابل، به کارگیری ویتامین ث موجب کاهش میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و افزایش MDA در مقایسه با گروه شاهد می‌شود و با ویتامین ث میزان آسیب مقدار زیادی بهبود می‌یابد. (۲۰) در این پژوهش قصد داریم به این پرسش پاسخ دهیم که آیا قرار گرفتن در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز در اوایل تولد به دلیل گرم کردن یافت‌های اطراف سر و افزایش خون‌رسانی و بدین ترتیب افزایش تولید اکسیژن رادیکالی می‌تواند بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردکتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در بافت مغز موش صحرایی اثر داشته باشد یا می‌تواند اختلال بلندمدت در یادگیری و حافظه به وجود آورد.

### مواد و روش‌ها گروه‌بندی حیوانات

توله موش‌های صحرایی نژاد ویستار نر و ماده یک روزه (P1) تحت شرایط استاندارد نگهداری می‌شدند. در گروه آزمایشی توله موش‌های صحرایی از روز P2 تا P14 به مدت سه ساعت طی ساعت ۱۰ تا ۱۳ در هر روز با فاصله برابر (حدود دو سانتی‌متر) تحت رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز به صورت پیرامونی اطراف تلفن همراه قرار گرفتند و موش‌های صحرایی شاهد نیز تحت همین شرایط بدون منبع مولد قرار داشتند. برای جلوگیری از استرس نبود مادر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز در حضور مادر ارائه شدند. در P22 موش‌های صحرایی نر از ماده‌ها جدا می‌شدند (ماده‌ها به دلیل داشتن چرخه‌های استروس از پژوهش حذف می‌شدند). موش‌های صحرایی به تعداد ۵ تا ۶ سر در هر قفس نگهداری شدند. سرعت تنفس در موش‌های بالغ قبل از شروع آموزش یادگیری اندازه‌گیری شد (۱/۱۹±۰/۱ هرتز). موش‌های نر به‌عنوان گروه شاهد (هفت سر) و به‌عنوان گروه در معرض امواج تلفن همراه (هفت سر) تحت شرایط استاندارد نگهداری شدند تا به P58 برسند. از روز P58 موش‌ها سه روز هر روز چهار جلسه به فاصله ۱۰ دقیقه آموزش داده شدند (از P59 تا P61) و در روز چهارم آزمون ماز آبی انجام شد. برای سهولت ارزیابی رفتار از دوربین ویدئو استفاده شد. در P62 موش‌های صحرایی بعد از آزمون میزان اطمینان یادگیری موسوم به روز پروب قربانی شدند. از طریق جداسازی سر، بافت مغز آن‌ها مطالعه شد. در گروه آزمایشی توله موش‌های صحرایی (براساس کار پژوهشی قبلی (۲۱)) تحت منبع مولد رادیو فرکانس تشعشع‌های الکترومگنتیک (EMF) با فاصله برابر برای اعضای گروه با استفاده از آنتنی که در داخل قفس (همان قفس نگهداری موش) و فضای روشن داشت و عامل استرس‌زای دیگری وجود نداشت، قرار می‌گرفتند. این دستگاه فرکانسی حوالی ۹۰۰ مگاهرتز تولید می‌کرد و موش‌های صحرایی شاهد تحت همین شرایط بدون منبع مولد قرار می‌گیرند. دمای نگهداری موش حوالی ۲۵ درجه

ارزیابی خطرهای بالقوه قرار گرفتن در معرض تشعشع‌های RF ممکن است در دوران جنینی مشکل باشد. (۵) در دوران نمو و تکامل بدن یعنی از دوران جنینی تا نوجوانی، بافت‌های مغزی حاوی آب و یون‌های بالایی است که می‌تواند تشعشع‌های RF را جذب کند. (۶) این جذب تشعشعات می‌تواند به تولید انرژی و در نهایت تغییر ساختمان مولکول منجر شود. در تحقیق دیگر نشان داده شده است که رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز به مدت چهار هفته به صورت روزی ۵۰ تماس ناموفق بدون وجود صدای زنگ موجب تأخیر در یافتن سکوی مخفی آزمون موریس می‌شود. به این ترتیب میزان یادگیری را در رت‌های ویستار کاهش می‌دهد و توان فضایی را در رت‌ها پایین می‌آورد. (۷) تغییر ساختار مولکولی DNA و RNA می‌تواند موجب تغییرهای جدی در پروتئین و در نهایت بیماری‌های کنسر شود. (۸) مسیر پنتوز فسفات (PPP) یکی از مهم‌ترین مسیرهای متابولیسم قند سلولی است. این مسیر ریبوز برای سنتز نوکلئوزیدها و NADPH نیاز است و NADPH برای احیای بیوستنر و حفظ گلوکاتایون احیا شده ضروری است. (۹) در پژوهش دیگری نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز به مدت یک ساعت طی ۵۰ تماس ناموفق تغییرهای مورفولوژی در مغز در ناحیه هیپوکامپ ایجاد می‌شود. از طرف دیگر رفتار پرهیز غیرفعال (passive avoidance behavior) دچار اختلال می‌شود. (۱۰) حفاظت در برابر رادیکال‌های آزاد نیازمند حفظ ذخایر تیول‌های درون‌زاد به‌ویژه گلوکاتایون احیا شده است که از طریق NADPH احیا می‌شود. مولکول NADPH منبع اصلی توان احیاکنندگی در فرآیندهای مختلف سلولی است و اهمیت فیزیولوژیکی بالایی دارد از جمله بیوستنر اسیدال - اسکوربیک، کلسترول، اسیدهای چرب، بیوستنر داکسی ریبونوکلئوتید و سم‌زدایی زنبوبتیک‌ها، حفاظت در برابر استرس اکسیداتیو و سنتز نیتریک اکسید. بنابراین، تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل گلوکاتایون ردکتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، سوپر اکسیددیسموتاز و کاتالاز می‌تواند بر سیستم دفاعی سلول اثر بگذارد. (۱۱)

تشعشع‌های میکروویو برای گرم کردن از طریق گرم کردن دی‌الکتریک (مانند بافت زنده یا مرده) استفاده می‌شود. به‌طوری که از طریق چرخش مولکول‌های قطبی در میدان الکترومغناطیسی این گرمایش را ایجاد می‌کنند. افرادی که از تلفن همراه استفاده می‌کنند گرم شدن در بافت‌های اطراف سر را حس می‌کنند. البته میزان گرم شدن از طریق تلفن همراه از میزان گرم شدن از طریق قرار گرفتن در معرض نور مستقیم کمتر است. به‌طوری که افزایش جریان خون این گرمایش را در بدن پخش می‌کند تا تمرکز گرمایی اتفاق نیفتد. از آنجا که در قرنیه چشم، گردش خون و عروق خونی بسیار کمتر از گردش خون در پوست است، بنابراین در خرگوش نشان داده شده است که قرار گرفتن ۳ تا ۴ ساعت در معرض مقادیر SAR حوالی ۱۰۰ تا ۱۴۰ وات در کیلوگرم به کاتالاکت منجر می‌شود. (۱۲) از طرف دیگر، مطالعه‌های اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که افراد در معرض امواج تلفن همراه بیشتر در معرض کاتاراکت قرار دارند. نشان داده شده است که افزایش گرما ناشی از اثر یونیزانی امواج تلفن همراه است که به تولید ROS منجر می‌شود. افزایش ROS هم به نوبه خود میزان آسیب و التهاب را افزایش می‌دهد. بنابراین میزان خون‌رسانی اثر حفاظتی بسیار مهمی در جلوگیری از آسیب مغزی دارد. هدف ما از این مطالعه بررسی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن حیوان در مغز برای جلوگیری از آسیب نرونی است.

از طرف دیگر، گلوکاتایون ترکیب اصلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است که به طور مستقیم هم برای حذف گونه‌های واکنشی (ROS) و هم به‌عنوان سوپسترای چندین پراکسیداز در سلول عمل می‌کند. (۱۳) مغز به طور اساسی به آسیب‌های اکسیداتیو حساس است و بدین ترتیب به مقدار زیادی به محتوای گلوکاتایون وابسته است. این شرایط هنگام رشد و نمو جدی‌تر است، یعنی زمانی که متابولیسم و رشد مغز در حد ماگزیمم خود است. همچنین، پاتولوژی‌های مختلف دستگاه عصبی با استرس اکسیداتیو و خنثی‌سازی گونه‌های اکسیژنی با گلوکاتایون ارتباط دارد. آنزیم‌های محدودکننده سرعت گلوکاتایون در این واکنش گلوکاتایون ردکتاز است، زیرا می‌تواند گلوکاتایون جدید احیا شده تولید کند. (۱۴) به همین دلیل سوء تغذیه و کمبود گلوکاتایون یا مواد مرتبط یکی از جدی‌ترین عوامل نقص در دفاع

سلسیوس تنظیم شده بود.

### آزمون‌های ماز آبی موریس

آزمون ماز آبی موریس (Morris water maze) برای ارزیابی حافظه فضایی و ارزیابی توانایی یادگیری مهارت‌های خاص انجام شد. این آزمون در یک مخزن به قطر ۲۰۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر انجام شد. یک صفحه شفاف به صورت غیرواضح به فاصله حدود یک سانتی‌متر در زیر آب و با فاصله حدود ۲۰ سانتی‌متر از کنار ظرف قرار داشت. دمای آب حدود ۲۲ درجه نگاه داشته می‌شد. هر موش صحرایی به صورت تصادفی از یکی از سمت‌های چهارگانه ماز به طوری که روی آن به طرف دیواره ماز بود در جایگاه شروع قرار داده می‌شد و اجازه داده می‌شد تا ۶۰ ثانیه شنا کند. اگر نمی‌توانست در این زمان صفحه را پیدا کند از مخزن خارج می‌شد که به طور عموم روز اول همین‌طور بود. در این شرایط حیوان به سمت سکو هدایت می‌شد و ۱۵ ثانیه به حیوان اجازه داده می‌شد تا اطراف خود را در سکو به خاطر بسپارد. اگر قبل از ۶۰ ثانیه سکو را پیدا می‌کرد، اجازه داده می‌شد تا ۱۵ ثانیه اطراف فضای تانک را به یاد بسپارد. برای هر موش صحرایی این تمرین چهار بار انجام می‌شد تا محل صفحه را پیدا کند و جایگاه آن را یاد بگیرد. بعد از یادگیری به هر موش صحرایی ۶۰ ثانیه فرصت داده می‌شد تا صفحه را پیدا کند. به محض پیدا کردن صفحه زمان ثبت می‌شد. یعنی آزمایش در سه روز هر بار چهار جلسه با فاصله ۱۰ دقیقه انجام می‌شد. (۲۲) این زمان به طور متوسط میزان یادگیری حیوان را نشان می‌داد. حین شنا کردن برخی مواقع حیوان بی‌حرکت (فریز حرکتی) می‌شد به طوری که هیچ یک از اندام‌های حرکتی‌اش حرکت نمی‌کرد یا انجماد حرکتی داشت (freezing). این زمان به نام زمان انجماد حرکتی ثبت می‌شد که نشان‌دهنده فعالیت بالای سمپاتیک است. (۲۳) همچنین ارزیابی توانایی به خاطر آوردن مکان سکو یا میزان اطمینان یادگیری در ربع فرضی به صورت زمان سپری شده در ربع هدف یا ربع‌های سمت راست یا چپ و ربع طرف مقابل نامیده می‌شد.

### نمونه‌گیری مغزی و استخراج پروتئین

نمونه‌ها (۱۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت نیمکره راست بعد جداسازی مخچه و پل مغزی) در یک میلی‌لیتر بافر (۰/۳۲ مول در لیتر ساکاروز، ۱ میلی‌مول در لیتر EDTA، و ۱۰ نانومول در لیتر تریس هیدروکلرید با pH ۷/۴) با هموژنیز شیشه تفلون هموژن می‌شدند. هموژن با سرعت ۱۳۶۰۰ g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شد. (۲۴) غلظت پروتئین براساس روش برادفورد (۲۵) با استفاده از استاندارد آلبومین سرم گاوی اندازه‌گیری می‌شد.

### سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز

فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز به واسطه روش جنت و همکارانش در سال ۲۰۰۲ (۲۶) با اندکی تغییر انجام شد. مخلوط سنجش نهایی در حجم کل نهایی یک میلی‌لیتر حاوی ۱۰۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم، pH ۷/۰، EDTA ۲۵ میلی‌مولار، ۰/۵ میلی‌مولار گلوکاتایون احیا شده، دو میلی‌مولار سدیم آزید، گلوکاتایون ردکتاز (IU ۱/۵)، ۰/۱ میلی‌مولار NADPH و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. واکنش با افزودن پراکسید هیدروژن شروع می‌شود و کاهش جذب نوری در ۳۴۰ نانومتر مخلوط سنجش نهایی به مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه در مقایسه با محلول بلانک که حاوی همه مواد غیر از بافت هموژن شده است، اندازه‌گیری می‌شد. یک واحد آنزیم طبق تعریف مقداری از آنزیم است که باعث اکسید یک میکرومول NADPH در یک دقیقه در یک میلی‌گرم پروتئین شود.

### سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردکتاز

فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردکتاز به واسطه روش رومرو و همکاران با اندکی تغییر انجام شد. (۲۷) مخلوط سنجش نهایی حاوی ۰/۱ مولار بافر فسفات پتاسیم، pH ۷/۰، ۲/۵ میلی‌مولار، ۱۲۵ میلی‌مولار NADPH در دمای ۲۵ درجه در ۳۴۰ نانومتر مخلوط سنجش نهایی در مقایسه با محلول بلانک که حاوی همه مواد غیر از بافت هموژن شده است، اندازه‌گیری می‌شد. یک واحد آنزیم طبق تعریف مقداری از آنزیم است که باعث اکسید یک میکرومول NADPH در یک دقیقه در یک میلی‌گرم پروتئین شود.

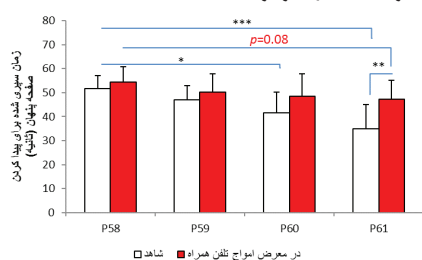
### آنالیز آماری

فعالیت آنزیم و مطالعه‌های رفتاری با استفاده از آزمون Independent samples T-test و repeated measure و T-test با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شده است. نمایش داده‌ها به صورت Mean±SD است. مقایسه آماری  $p < 0.05$  معنادار در نظر گرفته شده است.

### نتایج

#### اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر حافظه فضایی

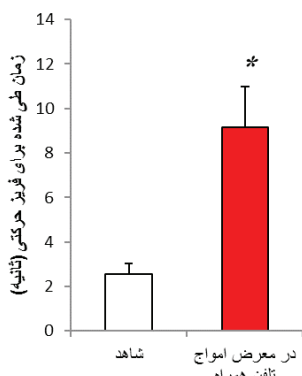
آزمون ماز آبی موریس برای ارزیابی اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر حافظه فضایی انجام شد. موش‌های صحرایی گروه شاهد در مقایسه با گروهی که به مدت سه ساعت در روز برای ۱۲ روز در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بودند، توانمندی حافظه‌ای کمتری داشتند. زمان لازم برای پیدا کردن صفحه مخفی برای موش‌های صحرایی گروه شاهد  $35 \pm 3/8$  ثانیه بود، درحالی که برای گروه در معرض  $47/1 \pm 3$  ثانیه بود. این تفاوت از لحاظ آماری معنادار بود (شکل ۱). تفاوت معناداری یادگیری بین روز چهارم (۶۱) بود. سایر روزها تفاوت معناداری وجود نداشت.



شکل ۱: مقایسه اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر حافظه فضایی در آزمون ماز آبی موریس در دو گروه شاهد و در معرض امواج تلفن همراه از لحاظ آماری معنادار است، در حالی که میزان یادگیری در گروه در معرض امواج تلفن همراه معنادار نبود. ( $p=0/008$ ) میزان یادگیری پیدا کردن صفحه از روز ۶۰ معنادار بود (تعداد ۷ سر).

#### اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر زمان فریز حرکتی

آزمون فریز حرکتی برای ارزیابی اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر میزان هوشیاری و کارایی مغزی حیوان انجام شد از طرف دیگر فریز حرکتی نشانه غیرمستقیمی از اضطراب حیوان است. موش‌های صحرایی گروه شاهد در مقایسه با گروهی که به مدت سه ساعت در روز برای ۱۲ روز در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بودند، فریز حرکتی کمتری داشتند. زمان فریز حرکتی برای موش‌های صحرایی گروه شاهد  $2/5 \pm 0/48$  ثانیه بود، درحالی که برای گروه در معرض  $9/1 \pm 1/85$  ثانیه بود. این تفاوت از لحاظ آماری معنادار بود (شکل ۲).

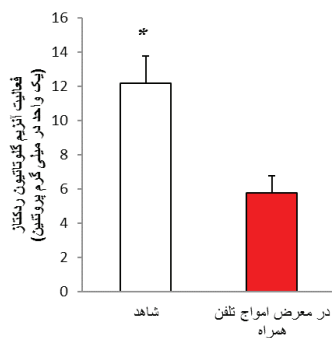


شکل ۲: اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر فریز حرکتی در آزمون ماز آبی موریس در مقایسه دو گروه شاهد و در معرض امواج تلفن همراه، از لحاظ آماری معنادار است (تعداد ۷ سر).

#### اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر زمان سپری شده در ربع هدف در روز پروب

آزمون روز پروب برای ارزیابی اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر میزان اطمینان

بود. (شکل ۵)



شکل ۵: مقایسه اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون ردکتاز در دو گروه شاهد و در معرض امواج تلفن همراه، از لحاظ آماری معنادار است (تعداد ۷ سر).

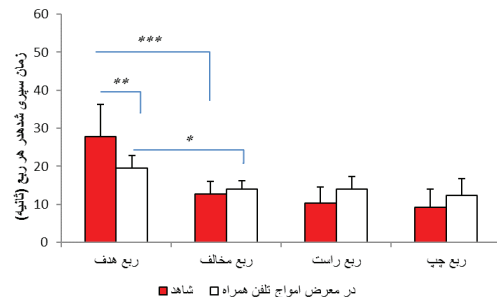
### بحث

رشد بی‌سابقه مصرف تکنولوژی‌های ارتباطی بدون سیم به اصطلاح تلفن همراه و سایر گوشی‌های دستی یکی از مهم‌ترین مسائل محققان است. ورود رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز و امواج دستگاه مشابه که با همین روش کار می‌کنند، در جامعه امروز به‌طور جدی رو به افزایش است. براساس نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز به مدت سه ساعت و برای ۱۲ روز در اوایل تولد می‌تواند نقص نورولوژیک برگشت ناپذیری به وجود آورد که آن نیز آثار خود را در حافظه و یادگیری به نمایش می‌گذارد به‌طوری که فعالیت آنزیم‌های گلوکوتاتیون ردکتاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز را پایین می‌آورد.

شواهد متعدد پژوهشی نشان می‌دهد که ارزیابی برهم‌کنش RF با موجودات زنده با میزان فرکانس، پولاتیزاسیون و دانسیته توان رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز مشخص می‌شود. همچنین، مکانیسم‌های برهم‌کنشی به‌طور عمده براساس جذب انرژی RF از طریق مواد بیولوژیک نمایش داده می‌شود. انرژی که با فرکانس ۹۰۰ مگاهرتز تلفن همراه وارد بافت می‌شود ( $4 \times 10^6 \text{ eV}$ ) بسیار کمتر از انرژی مورد نیاز برای شکستن پیوندهای شیمیایی است (۲۸) در مقابل، مطالعه‌های تازه نشان می‌دهد که برخی اختلال‌های سلولی را می‌توان از طریق تولید فرکانس‌های پایین RF ایجاد کرد. اختلال‌های ذکر شده شامل شکستن DNA، اختلال‌های کروموزومی، مرگ انواع سلولی، فعال‌سازی فرآورده‌های شیمیایی درون زاد، استرس سلولی و تشکیل رادیکال‌های آزاد هستند (۲۹) وقوع لوکمی در کودکان، تومورهای مغزی، آثار نورولوژیک، بیماری‌های نرودرجنریتیو، نارسایی تنظیم دستگاه ایمنی، آلرژی، پاسخ‌های التهابی، برخی اختلال‌های یادگیری و حافظه نیز به دلیل تشعشع‌های RF افزایش می‌یابد [۳۰]. مطالعه‌های تازه نشان می‌دهد که مصرف مزمن و حاد تشعشع‌های RF با مدت زمان و فرکانس‌های مختلف می‌تواند باعث عوارض بیولوژیکی متفاوتی شود. براساس مطالعه‌های منتشر شده می‌توان گفت که مدت زمان قرار گرفتن در معرض این تشعشع‌ها بسیار مهم است. البته، برهم‌کنش مسیرهای بیولوژیک و رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز و میدان‌های RF ناشناخته است. بنابراین، این موضوع همچنان با علاقه بسیار بالایی در حال پژوهش است.

برخی مطالعه‌ها نشان می‌دهد که امواج تلفن همراه روی متابولیسم و اجزای داخل سلولی اثر می‌گذارند. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که چندین گیرنده گرمایی در داخل سلول وجود دارد که به تولید heat shock protein منجر می‌شوند که به این فرآیند استرس سلولی می‌گویند (۳۱) البته سایر مطالعه‌ها نشان می‌دهد که این موضوع ارتباطی به گرما ندارد و به‌طور اساسی در امواج فرکانس پایین اتفاق می‌افتد. به‌طوری که تزریق فلوروداکسی گلوکز و تصویربرداری PET نشان داده است که این فرآیند به افزایش متابولیسم گلوکز در نواحی نزدیک به تلفن همراه در مغز منجر می‌شود که اهمیت بالینی آن تاکنون شناخته نشده است (۳۲) بنابراین، تغییر جریان خون در دوران جنینی می‌تواند بر انواع سلول‌های بافت مغز اثر بگذارد و کارایی آن‌ها را پایین بیاورد. در این مطالعه قرار گرفتن در معرض امواج علاوه بر اینکه موجب کاهش حافظه فضایی می‌شود، روی میزان فریز حرکتی نیز اثر

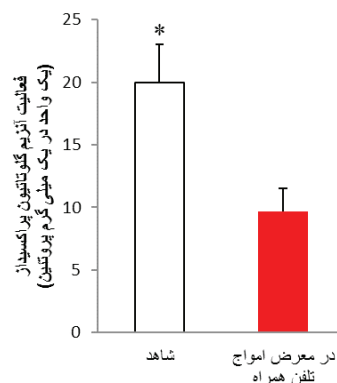
حیوان از یادگیری انجام شد. موش‌های صحرایی گروه شاهد در مقایسه با گروهی که به مدت سه ساعت در روز برای ۱۲ روز در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بودند، زمان سپری شده در ربع هدف بیشتری داشتند. زمان سپری شده در ربع هدف برای موش‌های صحرایی گروه شاهد  $27/85 \pm 8/33$  ثانیه بود، در حالی که برای گروه در معرض امواج تلفن همراه،  $19/57 \pm 3/35$  ثانیه بود. این تفاوت از لحاظ آماری معنادار بود (شکل ۳).



شکل ۳: اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر بر میزان اطمینان از یادگیری در روز پروب در آزمون ماز آبی مورس در مقایسه دو گروه شاهد و در معرض امواج تلفن همراه، از لحاظ آماری معنادار است. اختلاف معناداری بین زمان معطلی در ربع مخالف و ربع هدف وجود دارد (تعداد ۷ سر).

### اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز برای ارزیابی اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر آثار آنتی‌اکسیدانی این آنزیم در مغز حیوان انجام شد. موش‌های صحرایی گروه شاهد در مقایسه با گروهی که به مدت سه ساعت در روز برای ۱۲ روز در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بودند، فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز بیشتری داشتند. فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز برای موش‌های صحرایی گروه شاهد  $20 \pm 3/0$  واحد در میلی‌گرم پروتئین بود، در حالی که برای گروه در معرض امواج تلفن همراه،  $9/7 \pm 1/8$  واحد در میلی‌گرم پروتئین بود. این تفاوت از لحاظ آماری معنادار بود (شکل ۴).



شکل ۴: مقایسه اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز در دو گروه شاهد و در معرض امواج تلفن همراه، از لحاظ آماری معنادار است (تعداد ۷ سر).

### اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون ردکتاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون ردکتاز برای ارزیابی اثر رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی مذکور موجود در مغز حیوان انجام شد. موش‌های صحرایی گروه شاهد در مقایسه با گروهی که به مدت سه ساعت در روز برای ۱۲ روز در معرض رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز بودند، فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون ردکتازی بیشتری داشتند. فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون ردکتاز برای موش‌های صحرایی گروه شاهد  $12/2 \pm 1/6$  واحد در میلی‌گرم پروتئین بود، در حالی که برای گروه در معرض  $5/8 \pm 1/0$  واحد در میلی‌گرم پروتئین بود. این تفاوت از لحاظ آماری معنادار

یعنی از دی سولفید گلوکاتایون (GSSG) به گلوکاتایون (GSH) از طریق احیای آن را کاتالیز می‌کند. (۳۲) دی سولفید گلوکاتایون (GSSG) و گلوکاتایون (GSH) از لحاظ زیست‌شناسی به‌عنوان تیول‌های داخل سلولی اهمیت زیادی دارد و تغییرها نسبت بین دی سولفید گلوکاتایون (GSSG) و گلوکاتایون (GSH) اغلب به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو استفاده می‌شوند. (۳۹)

این موضوع اهمیت زیادی دارد که کمبود گلوکاتایون به احتمال دلیل آسیب‌های دوران جنینی است. مکانیسم درگیر در کمبود گلوکاتایون در حال حاضر ناشناخته است، اما می‌تواند در اثر کمبود آنزیم‌های گلوکاتایون ردکناز اتفاق بیفتد. نتایج ما نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض تشعشع‌های تلفن همراه موجب افزایش مصرف گلوکاتایون و تغییر فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود. از طرف دیگر نشان داده شده است که این تشعشع‌ها موجب کاهش فعالیت متابولیسم میتوکندری بافت کبد و مغز می‌شود. (۴۰)

به دلیل تغییر گیرنده‌های گلوکاتامات، انتقال پیام گلوکاتامینرژیک و متابولیسم گلوکاتامات حین سیناپتوزنر دچار تغییرهای جدی می‌شود. در نهایت، ورود پایین گلوکاتامات به نوبه خود میزان سیستئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد و این موضوع به‌شدت سطح گلوکاتایون را پایین می‌آورد. دقت داشته باشید که استرس اکسیداتیو میزان دریافت گلوکاتامات را متاثر می‌کند. (۴۱) خلاصه، نوسان‌های مغزی حاصل از میدان‌های RF در دوران جنینی، شامل کاهش محتوی گلوکاتایون است که آن نیز روی فعالیت سلول‌های استروسیتی اثر می‌گذارد و فرآیند سمیت حاصل از تحریک را تقویت می‌کند. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث عقب ماندگی‌های رشدی در بافت مغز و به این وسیله روی حافظه و یادگیری اثر می‌گذارد. در صورتی که توان سیستم آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون، گلوکاتایون ردکناز، گلوکاتایون پراکسیداز) تضعیف شود، سطح اکسیژن رادیکالی افزایش می‌یابد. این افزایش به واکنش اکسیژن رادیکالی با پروتئین‌های عملکردی و ساختمانی، DNA، RNA، و لیپیدها سلول‌های عصبی منجر می‌شود. با این وضعیت حتی اگر سلول دچار مرگ برنامه‌ریزی شده نشود، از لحاظ عملکردی دچار اختلال می‌شود. این اختلال عملکردی می‌تواند جنبه یادگیری و حافظه داشته باشد.

نتیجه‌گیری در مطالعه حاضر چنین است که آنزیم‌های تنظیمی مسیر آنتی‌اکسیدانی ارزیابی شده است که در اثر تشعشع‌های RF دچار نوسان شده‌اند. نبود تعادل بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلوکاتایون پراکسیداز و گلوکاتایون ردکناز در اثر قرار گرفتن در معرض میدان تشعشع‌های تلفن همراه به احتمال با حافظه و یادگیری ارتباط داشته است و در پاتوژنز این بیماری دخالت دارد، اما این زمینه نیاز به مطالعه‌های بیشتری دارد تا اثر پاتوفیزیولوژی رادیوفرکانس ۹۰۰ مگاهرتز روی مغز روشن‌تر شود.

## منابع:

- Milham S and Osslander EM, " Historical evidence that residential electrification caused the emergence of the childhood leukemia peak", Medical Hypothesis 2001; 56(3): 290-295.
- Hardell L and Sage C, " Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards", Biomedicine & Pharmacotherapy 2008; 62: 104-109.
- IARC. Non-ionizing radiation, part 1: Static and extremely lowfrequency (ELF) electric and magnetic fields. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. . 2002
- McDonald RJ, White NM. Parallel information processing in the water maze: Evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. Behavioral and Neural Biology 1994; 61(3): 260-270.

می‌گذارد که نشانه غیرمستقیمی از اضطراب است. (۳۳) این که آیا قرار گرفتن در معرض میدان‌های EM می‌تواند روی نمو کودکان اثر بگذارد هنوز مشخص نشده است، ولی داده‌های اپیدمیولوژیکی و آزمایشگاهی محدوده این آسیب‌ها را نشان می‌دهد. از طرف دیگر، تمام فرضیات در این زمینه نیز به این داده‌ها محدود شده است. این موضوع مشخص است که کودکان به مقدار قابل توجهی به آسیب‌های تشعشع‌ها حساس هستند. این موضوع حساس بودن، در سایر زمینه‌ها مانند داروها، تنباکو و مواد شیمیایی محیطی نیز صادق است. (۳۴)

گلوکاتایون فراوان‌ترین مولکول تیول با وزن مولکولی پایین است که در دفاع اکسیدانی سلول‌های جانوری نقش مهمی ایفا می‌کند. در واقع، همه سلول‌ها قادر به سنتز گلوکاتایون از گلوکاتامات، سیستئین و گلیسین هستند، هر چند هپاتوسیت‌ها تولیدکننده اصلی و صادرکننده گلوکاتایون هستند. (۳۵) در دستگاه عصبی استروسیت‌ها نقش مهمی در متابولیسم گلوکاتایون ایفا می‌کنند. کمبود گلوکاتایون استرس اکسیداتیو را در بسیاری از بیماری‌های مغزی از جمله تشنج و سکته مغزی و سایر بیماری‌های نرودجنریتیو افزایش می‌دهند، بیماری‌های نرودجنریتیو مانند آلزایمر و پارکینسون. بنابراین، تشعشع‌های تلفن همراه فعالیت استروسیت‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و این سلول‌ها به‌عنوان محافظان مغز، زمینه‌های بروز استرس اکسیداتیو و مستعد کردن مغز برای آسیب‌های بیشتر را مهیا می‌کنند. (۳۶) از یک طرف، تغییر غلظت گلوکاتایون با اثر بر عملکرد استروسیت‌ها در دوران کودکی که اوج سیناپتوزنر است، آثار جبران‌ناپذیری بر مغز وارد می‌کند. از طرف دیگر، گلوکاتایون نقش مهمی در داخل سلول ایفا می‌کند. مثلاً در تشکیل S-نیتروزو-L-گلوکاتایون، تولید سایتوکاین، تکثیر سلولی و آپوپتوز نیز نقش مهمی دارد. (۳۷)

آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPOX) و گلوکاتایون ردکناز (GR) است. سوپراکسید دیسموتاز یک متالوآنزیم است که دیسموتاسیون آنیون سوپراکسید ( $O_2^-$ ) به اکسیژن ( $O_2$ ) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) را در سیتوزول، میتوکندری و هسته انجام می‌دهد. به دنبال آن پراکسید هیدروژن به واسطه آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در سیتوزول به آب احیا می‌شود. گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز توأم با گلوکاتایون اس-ترانسفراز و گلوکاتایون ردکناز به سهولت از سوی عوامل اکسیداتیو القا می‌شوند و سطوح فعالیت آنزیم‌های مذکور برای اندازه‌گیری استرس اکسیداتیو در سلول استفاده می‌شود. (۳۸)

اکسیداسیون گروه‌های سولفو هیدریل سیستئین در دو مولکول گلوکاتایون (GSH) با تشکیل پیوند دی سولفید برای ایجاد دی سولفید گلوکاتایون (GSSG) به همدیگر متصل می‌شوند. گلوکاتایون ردکناز بازگشت گلوکاتایون به حالت اولیه

- Merzenich H, Schmiedel S, Bennack S, Brüggemeyer H, Philipp J, Blettner M and Schütz J, " Childhood leukemia in relation to radiofrequency electromagnetic fields in the vicinity of TV and radio broadcast transmitters", American Journal of Epidemiology 2008; 168(10): 1169-1178.
- Kheifets L., Repacholi M, Saunders R, van Deventer E. " The sensitivity of children to electromagnetic fields", Pediatrics 2005; 116: e303-e313.
- Narayanan SN, Kumar RS, Potu BK, Nayak S, Mailankot M. Spatial memory performance of Wistar rats exposed to mobile phone. Clinics (Sao Paulo) 2009; 64(3): 231-4.
- Repacholi M.H., " Radiofrequency field exposure and cancer: What do the laboratory studies suggest?", Environmental Health Perspectives 1997; 105 (suppl 6) 1565-1568.
- Levy H.R.. Glucose-6-phosphate dehydrogenases. Adv Enzymol In: A. Meister Ed 1979; 48: 97-192.
- Narayanan SN1, Kumar RS, Potu BK, Nayak S, Bhat PG, Mailankot M.

- Effect of radio-frequency electromagnetic radiations (RF-EMR) on passive avoidance behaviour and hippocampal morphology in Wistar rats. *Ups J Med Sci.* 2010;115(2):91-6.
11. Bigdeli MR, Rahnama M. Early Postnatal Mobile Phone (900 MHz) Exposure Affects Superoxide and Catalase Enzyme Activity in Rat Brain Tissue. *Pathobiology Modarres Journal*, 2013; 15 (4) 36; 11-19 (Text in Persian) .
12. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (April 1998). "Guidelines For Limiting Exposure To Time-Varying Electric, Magnetic, And Electromagnetic Fields (up to 300 GHz)" (PDF). *Health Physics* 74 (4): 494-505.
13. Wu G, Haynes TE, Li H, Yan W, Meininger CJ. Glutamine metabolism to glucosamine is necessary for glutamine inhibition of endothelial nitric oxide synthesis. *Biochem J* 2001; 353: 245-52.
14. Mates JM, Peres-Gomes C, Nunez de Castro I, Asenio M, Marquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 439-58.
15. Li J, Wang H, Stoner GD, Bray TM. Dietary supplementation with cysteine prodrugs selectively restores tissue glutathione levels and redox status in protein-malnourished mice (1). *J Nutr Biochem.* 2002; 13: 625-33.
16. Araque A, Perea G. Glial modulation of synaptic transmission in culture. *Glia.* 2004; 47: 241-8.
17. Olorunsogo OO. Changes in brain mitochondrial bioenergetics in proteindeficient rats. *Br J Exp Pathol.* 1989; 70: 607-19.
18. Kesari KK, Kumar S, Behari J. 900-MHz microwave radiation promotes oxidation in rat brain. *Electromagn Biol Med* 2011; 30(4): 219-34.
19. Jing J, Yuhua Z, Xiao-qian Y, Rongping J, Dong-mei G, Xi C. The influence of microwave radiation from cellular phone on fetal rat brain. *Electromagn Biol Med* 2012; 31(1):57-66.
20. Mehmet Balci, Erdinc Devrim, Ilker Durak. Effects of mobile phones on oxidant/antioxidant balance in cornea and lens of rats. *Current Eye Research* 2007; 32(1): 21-25.
21. Daniels WMU, Pitout IL, Afullo TJO, Mabandla MV. The effect of electromagnetic radiation in the mobile phone range on the behaviour of the rat. *Metab Brain Dis* 2009; 24: 629-641.
22. Vorhees CV1, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc.* 2006;1(2):848-58
23. Venero CI, Guadaño-Ferraz A, Herrero AI, Nordström K, Manzano J, de Escobar GM, Bernal J, Vennström B. Anxiety, memory impairment, and locomotor dysfunction caused by a mutant thyroid hormone receptor alpha can be ameliorated by T3 treatment. *Genes Dev.* 2005;15;19(18):2152-63.
24. Xia, E., Rao, G., Van Remmen, H., Heydari, A.R., Richardson, A. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr* 1995; 125, 195-201.
25. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72: 248-254.
26. Genet S, Kale RK, Baquer NZ. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonellafoenum graecum*). *Mol Cell Biochem* 2002; 236(1-2): 7-12.
27. Romero FJ, Romá J, Bosch-Morell F, Romero B, Segura-Aguilar J, Llombart-Bosch A, Ernster L. Reduction of brain antioxidant defense upon treatment with butylated hydroxyanisole (BHA) and Sudan III in Syrian golden hamster. *Neurochem Res* 2000; 25(3): 389-93.
28. Furuta A, Rothstein JD, Martin LJ. Glutamate transporter protein subtypes are expressed differentially during rat CNS development. *J Neurosci* 1997; 17: 8363-75.
29. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Curr Top Cell Regul* 2000; 36: 95-116.
30. Feoli AM, Siqueira IR, Almeida L, Tramontina AC, Vanzella C, Sbaraini S, Schweigert ID, Netto CA, Perry ML. Effects of protein malnutrition on oxidative status in rat brain. *Nutrition* 2006; 22: 160-5.
31. Glaser, Roland (December 2005). "Are thermoreceptors responsible for "non-thermal" effects of RF fields?" (PDF). Edition Wissenschaft (Bonn, Germany: orschungsgemeinschaft Funk) (21). OCLC 179908725. Retrieved 19 January 2008.
32. Volkow, Nora D.; Tomasi, Dardo; Wang, Gene-Jack; Vaska, Paul; Fowler, Joanna S.; Telang, Frank; Alexoff, Dave; Logan, Jean et al. (2011). "Effects of Cell Phone Radiofrequency Signal Exposure on Brain Glucose Metabolism". *JAMA* 305 (8): 808-13.
33. Celestine J, Tanti A, Aubert A. Dissociation between performances in water maze and spontaneous alternation in BALB/c versus A/J mice. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 2012, 2, 156-161
34. Nanda D, Tolputt J, Collard KJ. Changes in brain glutathione levels during postnatal development in the rat. *Brain Res Dev Brain Res* 1996; 94: 238-41.
35. Rotta LN, Schmidt AP, Mello e Souza T, Nogueira CW, Souza KB, Izquierdo IA, Perry ML, Souza DO. Effects of undernutrition on glutamatergic parameters in rat brain. *Neurochem Res* 2003; 28: 1181-6.
36. Takuma K, Baba A, Matsuda T. Astrocyte apoptosis: implications for neuroprotection. *Prog Neurobiol* 2004; 72: 111-27.
37. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I, Asenjo M, Marquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 439-58.
38. Prass K, Meisel C, Höflich J, Braun E, Halle T, Wolf K, Ruscher I, Victorov J, Priller U, Dirnagl HD, Volk A. 2003. Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation - reversal by post-stroke Th1-like immunostimulation. *J. Exp. Med.* 198: 725-736.
39. Wada K, Kiyazawa T, Nomura N, Yano A, Tsuzuki N, Nawashiro H, Shima K., 2000. Mn-SOD and Bcl-2 expression after repeated hyperbaric oxygenation. *Acta Neurochir Suppl*; 76: 285-290.
40. Patel AJ, Hunt A, Gordon RD, Balazs R. The activities in different neural cell types of certain enzymes associated with the metabolic compartmentation glutamate. *Brain Res* 1982; 256: 3-11.
41. McBean GJ, Flynn J. Molecular mechanisms of cystine transport. *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 717-22.