Translated from English to Slovak - www.onlinedoctranslator.com

cells

MDPI

Článok

Rádiofrekvenčné žiarenie mení redoxnú homeostázu, stav ATP a reakcie spojené s apoptózou v ľudských ovariálnych epitelových bunkách

Šanija Ahmad[1,†], Garima Nagar[1,†], Neha Yadav[1], Sanjay Singh[2], Anju Šrívastava[3] a Rajeev Singh[1,*]

[1] Katedra environmentálnych vied, Fakulta inžinierstva a technológie, Jamia Millia Islamia, Nové Dillí 110025, India; ahmadshaniya@gmail.com (SA); garimanagar7@gmail.com (GN); neha.yadav133@gmail.com (NY)
[2] Katedra elektroniky a komunikačného inžinierstva, Univerzita GLA, Uttarpradéš 281406, India; sanjaysanju1001@gmail.com
[3] Katedra zoológie, Univerzita v Dillí, Dillí 110007, India; ashrivastava@zoology.du.ac.in
* Korešpondenčná adresa: 10rsingh@gmail.com Títo
† autori prispeli k tejto práci rovnakou mierou.

Hlavné body

Aké sú hlavné zistenia?

- RFR s frekvenciou 2450 MHz bolo spojené s oxidačno-nitrozatívnym stresom a znížením životaschopnosti/metabolickej aktivity na základe MTT po 48 hodinách, zatiaľ čo v bunkách SKOV3 sa po 24 hodinách nezistilo žiadne významné zníženie.
- Expozícia RFR bola spojená so zmenenou homeostázou ATP bez detekovateľnej straty mitochondriálneho membránového potenciálu (ΔΨm), spolu s transkripčnými a membránovými zmenami súvisiacimi s apoptózou.

Aké sú dôsledky hlavných zistení?

- Tieto zistenia definujú redoxný stav, stav ATP a fenotyp bunkového stresu súvisiaci s expozíciou za testovaných podmienok in vitro.
- Zistenia identifikujú bunkové reakcie spojené s expozíciou RFR s frekvenciou 2450 MHz, ale pozorované zmeny ATP nepreukazujú mitochondriálnu respiračnú dysfunkciu ani kauzálny vzťah medzi nameranými koncovými bodmi.

Abstrakt

S rozšírením bezdrôtových komunikačných technológií sa rádiofrekvenčné žiarenie (RFR) stalo trvalou súčasťou environmentálneho expozómu. Frekvencia 2450 MHz je široko používané RF pásmo v bezdrôtových a mikrovlnných technológiách a poskytuje environmentálne relevantný model na hodnotenie účinkov neionizujúceho žiarenia. Hoci je RFR neionizujúce, môže ovplyvňovať bunkovú homeostázu prostredníctvom netepelných stresových dráh, jeho bunkové účinky v modeloch odvodených z vaječníkov zostávajú nedostatočne definované. Táto štúdia skúmala, či bolo 2450 MHz RFR spojené s redoxnými, ATP-súvisiacimi a apoptózou spojenými reakciami v ovariálnych epitelových bunkách SKOV3. Bunky boli vystavené 30, 60 a 120 minút za kontrolovaných podmienok pri nameranej intenzite elektrického poľa 13,44 V/m. Bola hodnotená životaschopnosť/metabolická aktivita na báze MTT 24 a 48 hodín po expozícii, ROS, dusitany, ATP, mitochondriálny membránový potenciál, génová expresia súvisiaca s apoptózou a farbenie Annexin V-FITC/PI. Expozícia RFR významne neznížila životaschopnosť/metabolickú aktivitu na základe MTT 24 hodín po expozícii; po 48 hodinách sa pozorovalo významné zníženie v 120-minútovej skupine v porovnaní s kontrolnou a 30-minútovou skupinou. Exponované bunky vykazovali progresívnu akumuláciu ROS, zvýšené hladiny dusitanov a zmeny v ATP.

Check for updates

Akademický redaktor: Roger Schneiter

Prijaté: 17. júla 2026 Revidované: 21. septembra 2026 Schválené: 22. septembra 2026 Publikované: 8. októbra 2026

Autorské práva:© 2026 autori. Držiteľ licencie MDPI, Bazilej, Švajčiarsko. Tento článok je článok s otvoreným prístupom distribuovaný podľa zmluvných podmienokLicencia Creative Commons Attribution (CC BY).

hladiny, so zvýšením po 30 minútach, po ktorom nasledovali nižšie hladiny po 60 a 120 minútach v porovnaní s 30 minútami, zatiaľ čo pomer červenej/zelenej JC-1 nevykazoval žiadnu významnú zmenu. Transkripčné zmeny súvisiace s apoptózou boli charakterizované zvýšenou expresiou Bak1, Nip-2 a kaspázy-4 a zníženou expresiou Bcl-xL a Bag3 a nevýznamným zvýšením expresie Bad. Analýza Annexin V-FITC/PI preukázala zvýšenie populácií pozitívnych na Annexin V súvisiace s trvaním expozície, s prevahou Annexinu V.+/PI+buniek po 120 minútach expozície. Celkovo tieto zistenia naznačujú fenotyp bunkového stresu spojený s expozíciou, ktorý zahŕňa redoxné zmeny, zmeny ATP stavu a apoptózy v bunkách SKOV3 za definovaných podmienok in vitro.

Kľúčové slová:rádiofrekvenčné žiarenie; epitelové bunky odvodené z karcinómu vaječníkov SKOV3; oxidačno-nitrozatívny stres; stav ATP; reakcie spojené s apoptózou

1. Úvod

Nedávny vývoj bezdrôtových komunikačných technológií zvýšil vystavenie ľudí antropogénnym elektromagnetickým poliam, čím sa elektromagnetické znečistenie stalo novým environmentálnym problémom digitálnej éry [1–3Hoci neionizujúce elektromagnetické žiarenie s nízkou intenzitou bolo vždy prítomné v prírodnom prostredí, rozsiahle zavedenie moderných bezdrôtových technológií výrazne zvýšilo úroveň vystavenia antropogénnemu rádiofrekvenčnému elektromagnetickému poľu (RF-EMF), čím sa RFR stalo všadeprítomným environmentálnym faktorom v súčasnej spoločnosti [4–6]. Rozsiahla integrácia infraštruktúry založenej na internete vecí (IoT), mobilných zariadení, základňových staníc, inteligentných nositeľných zariadení, sietí Wi-Fi a systémov 5G zmenila súčasné elektromagnetické prostredie a zintenzívnila obavy z potenciálnych biologických účinkov pretrvávajúceho vystavenia sa nízkoúrovňovému rádiofrekvenčnému žiareniu (RFR). Biologické a zdravotné vplyvy pretrvávajúceho vystavenia sa nízkoúrovňovému rádiofrekvenčnému žiareniu však zostávajú predmetom diskusie kvôli nekonzistentným zisteniam a variabilite v dizajne expozície, dozimetrii a reprodukovateľnosti [7–11].

Interakcie RFR s biologickými systémami zahŕňajú zavedené tepelné mechanizmy a menej dobre pochopené netepelné mechanizmy. Stupeň absorpcie elektromagnetickej energie v biologických tkanivách sa zvyčajne meria v jednotkách, ako je hustota výkonu a špecifická miera absorpcie (SAR) [12–16]. V kontrolovaných štúdiách RFR in vitro však biologická interpretácia závisí nielen od SAR, ale aj od geometrie expozície, polohy vzorky, intenzity poľa, homogenity poľa, modulačného vzoru, vzdialenosti antény od vzorky, vlastností kultivačného média a tepelnej stability. Preto je presné hlásenie dozimetrických a fyzikálnych expozičných parametrov nevyhnutné pre reprodukovateľnosť a porovnávanie biologických reakcií v rámci štúdií RFR [12,14,17].

Charakteristiky expozície, ako je frekvencia, sila poľa a modulácia, ovplyvňujú šírenie RFR a interakciu s biologickými médiami [18 rokov–20]. Súčasné smernice pre expozíciu sú primárne založené na tepelných účinkoch, zatiaľ čo netepelné interakcie zostávajú aktívnou oblasťou výskumu pre ich potenciál vyvolať jemné fyzikálne a biochemické zmeny na úrovni buniek, tkanív a organizmov [21,22].

Zvolená frekvencia 2450 MHz je relevantná pre interakciu rádiofrekvenčnej energie s biologickými systémami, pretože absorpcia elektromagnetickej energie je ovplyvnená dielektrickými vlastnosťami závislými od frekvencie [23–25]. Preto sa ako model expozície in vitro v široko používanom RF pásme charakterizovanom poľom použila frekvencia 2450 MHz. Extrapolácia vaječníkov in vivo si však vyžaduje opatrnosť a tkanivovo špecifickú dozimetriu s rozlíšením SAR. Rastúci počet literatúry naznačuje, že rádiofrekvenčné žiarenie môže zmeniť štruktúru a funkciu vaječníkov; jeho mechanistické účinky na ženskú reprodukčnú biológiu, najmä na ľudské vaječníky, však nie sú známe.

fyziológia epitelových buniek zostáva nedostatočne pochopená [26–32]. Pre lepšie pochopenie bunkových účinkov RFR v systémoch odvodených z vaječníkov je dôležité skúmať reakcie v bunkových modeloch ľudských vaječníkov [33–35]. Reprodukčné tkanivá, najmä ovariálne bunky, sa zdajú byť náchylné na štrukturálne a funkčné zmeny vyvolané elektromagnetickými políčkami; základné mechanizmy však zostávajú nedostatočne definované. Nové dôkazy naznačujú, že takéto poruchy môžu prispievať k starnutiu a dysfunkcii vaječníkov, čo zdôrazňuje náchylnosť vaječníkov na environmentálne stresory [36–38].

Hromadiace sa dôkazy naznačujú, že vystavenie RFR môže narušiť bunkovú redoxnú homeostázu a ovplyvniť viacero dráh stresovej reakcie. Experimentálne štúdie spojili vystavenie RFR s oxidačným stresom [39–41], signalizácia spojená s apoptózou [42–44] a mitochondriálna dysfunkcia [39,45,46Takéto molekulárne zmeny môžu prispieť k zhoršenej reprodukčnej funkcii a dysfunkcii buniek vaječníkov.

Medzi mechanizmami zapojenými do ovariálnej dysfunkcie vyvolanej rádiofrekvenčným žiarením (RFR) sa oxidačný stres ukázal ako často implikovaná bunková reakcia. Metaanalytické dôkazy podporujú súvislosť medzi expozíciou EMF a bunkovými zmenami súvisiacimi s oxidačným stresom. Zvýšené hladiny ROS môžu ovplyvniť mitochondriálnu funkciu, stav ATP, signálne dráhy reagujúce na stres a apoptózu, čím sa mitochondrie stávajú potenciálnym zdrojom aj cieľom oxidačného stresu [47,48]. Mitochondriálna dysfunkcia môže ďalej zosilňovať oxidačný stres, čím sa udržiava poškodenie buniek a ohrozuje integrita a funkcia ovariálnych buniek [42]. Okrem toho je mitochondriálna dysfunkcia kľúčovou udalosťou v predchádzajúcom bode vnútornej apoptotickej dráhy, ktorá podporuje stratu mitochondriálnej integrity regulovanú rodinou Bcl-2, uvoľňovanie cytochrómu c a následnú aktiváciu kaspázy. V súlade s týmto mechanizmom bolo hlásené, že mikrovlnné žiarenie mení mitochondriálny membránový potenciál a podporuje apoptotickú signalizáciu spojenú s cytochrómom c v bunkových modeloch odvodených z prsníka [49,50].

Na podporu zapojenia týchto prepojených dráh Özgür a kol. [51] uviedli, že RF žiarenie môže zmeniť proliferáciu buniek kolorektálneho karcinómu a zápalové reakcie, čo naznačuje, že vystavenie RF žiareniu môže aktivovať mechanizmy reagujúce na stres spojené s redoxnou nerovnováhou, mitochondriálnou dysfunkciou a zmenenou signalizáciou bunkového osudu.

Podobne Choi a kol. [52] preukázali, že kontinuálne vystavenie 1,7 GHz LTE (dlhodobá evolúcia) RFR zvýšilo intracelulárne hladiny ROS, čo viedlo k zníženej proliferácii ľudských buniek, oneskoreniu bunkového cyklu G1/S a indukcii bunkovej senescencie, a nie k apoptóze alebo poškodeniu DNA. Bhartiya a kol. [53] ďalej uviedli, že pulzné vysokovýkonné mikrovlnné žiarenie s frekvenciou 3,5 GHz môže vyvolať merateľné biologické zmeny v ľudských bunkách vrátane zmien v bunkovej životaschopnosti, mitochondriálnom membránovom potenciáli, dynamike bunkového cyklu a dráhach spojených s apoptózou. Ďalšie štúdie ukázali, že vystavenie rádiofrekvenčnému žiareniu môže modulovať bunkovú redoxnú homeostázu, apoptózu a imunitnú funkciu kontextovo závislým spôsobom [39,48].

Biologické účinky vystavenia sa rádiofrekvenčnému žiareniu však zostávajú v rôznych experimentálnych systémoch nekonzistentné. Romeo a kol. [42] zdôraznili heterogénnu povahu dôkazov in vitro v bunkách cicavcov, kde vystavenie rádiofrekvenčnému žiareniu bolo spojené s variabilnými biologickými výsledkami vrátane indukcie apoptózy alebo minimálnych účinkov, ktoré do značnej miery závisia od parametrov expozície, ako je frekvencia, modulácia a trvanie. V súlade s touto variabilitou Joushomme a kol. [54] neuviedli žiadne zistiteľné účinky vystavenia rádiofrekvenčnému žiareniu z prostredia na správanie buniek za bazálnych ani stresom vyvolaných podmienok, zatiaľ čo Haidar a kol. [48] poskytli kontrolované in vitro dôkazy, že vystavenie 5G-modulovanému 3,5 GHz RFR pri dávke 0,08 a 4 W/kg nenarúša cytoplazmatickú ani mitochondriálnu redoxnú homeostázu, nevyvoláva adaptáciu na oxidačný stres ani neohrozuje opravu DNA indukovanú ultrafialovým žiarením B (UV-B) v bunkách ľudskej kože.

Napriek týmto nezrovnalostiam zostávajú potenciálne reprodukčné dôsledky vystavenia sa rádiofrekvenčnému žiareniu predmetom pretrvávajúcich obáv. Gye a Park a kol. [55] uviedli, že vystavenie rádiofrekvenčnému žiareniu (RFR) môže narušiť bunkovú homeostázu, endokrinnú reguláciu a reprodukčnú funkciu, čo ovplyvňuje hormonálnu rovnováhu, gametogenézu, embryonálny vývoj a výsledky tehotenstva, čo naznačuje potenciálne dôsledky pre reprodukčné zdravie. Dostupné dôkazy spoločne naznačujú, že oxidačný stres, mitochondriálna dysfunkcia a zmenená signalizácia bunkového osudu predstavujú pravdepodobné bunkové reakcie spojené s vystavením RFR. Ich koordinovaný vplyv na ľudské ovariálne epitelové bunky však zostáva nedostatočne definovaný.

Preto sa v tejto štúdii skúmali časové účinky rádiofrekvenčného žiarenia s frekvenciou 2450 MHz na ovariálne epitelové bunky SKOV3. Pomocou integrovaného rámca sme vyhodnotili životaschopnosť/metabolickú aktivitu založenú na MTT 24 hodín a 48 hodín po expozícii, akumuláciu ROS a dusitanov, mitochondriálny membránový potenciál, stav adenozíntrifosfátu (ATP), expresiu regulačných génov a zmeny membrán spojené s apoptózou. Vzhľadom na to, že bunkové reakcie na RFR sú vysoko závislé od dizajnu expozície, pozorované biologické výsledky boli interpretované spolu s kľúčovými dozimetrickými premennými, vrátane frekvencie, modulačného vzoru, výstupného výkonu, sily elektrického poľa, faktorov absorpcie energie, geometrie antény a vzorky, tepelnej stability, polarizácie a priestorovej homogenity poľa [12,14,17,20,56]. Preskúmaním týchto vzájomne prepojených koncových bodov sme sa snažili charakterizovať redoxné reakcie, reakcie na ATP a apoptózu súvisiace s expozíciou 2450 MHz v bunkách SKOV3 a opísať bunkové reakcie spojené s expozíciou RFR.

2. Materiály a metódy

2.1. Kultúra a udržiavanie buniek

Ľudské bunky rakoviny vaječníkového epitelu SKOV3 boli získané z Národného centra pre bunkovú vedu (NCCS) v Pune v Indii. Bunky boli kultivované za aseptických podmienok s použitím štandardných postupov bunkovej kultúry. Bunky boli pestované v kompletnom médiu McCoy's 5A (Gibco, Waltham, MA, USA) doplnenom o 10 % FBS (fetálne bovinné sérum) (FBS; Gibco, Waltham, MA, USA) a 1 % roztok penicilínu a streptomycínu (Gibco, Waltham, MA, USA). Bunkové kultúry boli udržiavané vo zvlhčenom inkubátore (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) pri teplote 37 °C.◦C s 5 % $CO_2$2Pre bežnú údržbu boli bunky subkultivované v kompletnom médiu v kultivačných fľašiach T75. Keď kultúry dosiahli 80 – 90 % konfluenciu, boli enzymaticky oddelené pomocou trypsín-fosfát-versén-glukózy (TPVG) na ďalšie pasážovanie a následné experimentálne testy. Bunky v logaritmickej rastovej fáze boli použité pre všetky experimentálne testy. Počet buniek a prežitie buniek boli hodnotené vylúčením trypánovej modrej pred nasiatím/expozíciou; boli zaznamenané iba kultúry s prežitím buniek.≥95 % bolo použitých na následné experimentálne testy.

2.2. Chemikálie a činidlá

Všetky chemikálie a činidlá boli analytickej kvality a boli použité podľa pokynov výrobcu. Činidlá na bunkové kultúry zahŕňali McCoyovo 5A médium (Gibco, Waltham, MA, USA; kat. č. 16600082), fetálne bovinné sérum (FBS; Gibco, Waltham, MA, USA; kat. č. 10270106), roztok penicilínu a streptomycínu (Gibco, Waltham, MA, USA; kat. č. 15140122) a trypánovú modrú (Gibco, Waltham, MA, USA; kat. č. 15250061). Na rutinné postupy kultivácie buniek a experimentálne postupy sa použil roztok trypsín-fosfát versén glukózy (TPVG) (HiMedia Laboratories, Thane, Maháráštra, India; kat. č. TCL031), fosfátom pufrovaný fyziologický roztok (PBS; HiMedia Laboratories, Thane, Maháráštra, India; kat. č. ML023) a frakcia V hovädzieho sérového albumínu (BSA; HiMedia Laboratories, Thane, Maháráštra, India; kat. č. MB08353). MTT (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA; kat. č. 21795), 2′,7′-dichlórdihydrofluoresceín diacetát (DCFH-DA; MedChemEx-

tlač, Monmouth Junction, NJ, USA; kat. č. HYD0940), JC-1 (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA; kat. č. 15003), TriXtract (G-Biosciences, St. Louis, MO, USA; kat. č. 786652), etanol (Empure, Sigma-Aldrich/Merk, 100986, Darmstadt, Nemecko), súprava na syntézu cDNA (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA; kat. č. 1708891), SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA; kat. č. A25742), Griessovo činidlo (SRL Chemicals, Mumbai, Maháráštra, India; kat. č. 35657), súprava na stanovenie ATP (Invitrogen, Waltham, MA, USA; kat. č. 3299075), dimetylsulfoxid (DMSO; Sigma-Aldrich; kat. č. MB058), annexín Na príslušné experimentálne testy boli použité súpravy na detekciu apoptózy V-FITC/PI (Elabscience, Wuhan, Hubei, Čína; kat. č. E-CK-A211), Triton X-100 (Qualigens, Bombaj, Maháráštra, India; kat. č. Q10655), metanol (Fisher Scientific, Waltham, MA, USA; kat. č. A452-1) a etanol (Empure, Qualigens, Bombaj, Maháráštra, India; kat. č. SP/2322/PB08). Ostatné bežné laboratórne chemikálie boli získané od spoločností Sigma-Aldrich/Merck, Qualigens, Fisher Scientific alebo HiMedia Laboratories.

2.3. Expozícia rádiofrekvenčnému žiareniu

Expozícia rádiofrekvenčnému žiareniu a simulované expozície boli vykonané s použitím predtým zavedeného expozičného prístupu, ako ho opísali Jangid a kol. [56] s menšími úpravami pre ovariálne epitelové bunky SKOV3. Zariadenie na expozíciu rádiofrekvenčnou frekvenciou 2450 MHz pozostávalo z generátora signálu Keysight N9310A, CO_2inkubátor, trychtýřová anténa, ručný merač výkonu a systém merania poľa Narda 520. Signály rádiofrekvenčného žiarenia s frekvenciou 2450 MHz boli generované generátorom signálu Keysight N9310A a prenášané cez trychtýřovú anténu pracujúcu v režime kontinuálnej vlny s nemoduláciou. Bunky SKOV3 v logaritmickej rastovej fáze boli vystavené žiareniu s frekvenciou 2450 MHz za kontrolovanej inkubácie pri teplote 37 °C.°C a 5 % CO_2Bunkové suspenzie boli kultivované v Petriho miskách s priemerom 35 mm a umiestnené 2 cm od rohovej antény. Tri misky boli usporiadané na plochom podnose s rozostupom stredov približne 36 mm. Keďže každá miska mala priemer 35 mm, vzdialenosť od okraja k okraju bola približne 1 mm. Misky boli umiestnené v strede inkubátora, aby sa podporilo homogénne rozloženie poľa v rovine vzorky. Rohová anténa bola umiestnená vertikálne na hornom vnútornom povrchu inkubátora a orientovaná kolmo na rovinu vzorky. Intenzita elektrického poľa bola meraná v rovine vzorky pred expozíciou pomocou systému Narda 520 vybaveného sondou blízkeho poľa. Priemerná intenzita elektrického poľa bola 13,44 V/m a zodpovedajúca špičková intenzita elektrického poľa bola 13,82 V/m s odchýlkou merania približne 2 – 3 %. Simulovane exponované bunky boli umiestnené v rovnakej polohe inkubátora počas rovnakého času expozície s vypnutým RF zdrojom. Teplota bola počas expozície monitorovaná a zostala porovnateľná medzi kontrolnou skupinou s predstieraným žiarením a skupinou vystavenou rádiofrekvenčnému žiareniu (RFR), čo potvrdzuje netepelné podmienky expozície. Pre súčasnú konfiguráciu trúbky a antény in vitro nebola stanovená hodnota SAR špecifická pre vzorku; preto nie je uvedená žiadna extrapolovaná hodnota SAR a expozícia bola charakterizovaná pomocou priamo nameraného elektrického poľa, priestorovej variácie, geometrie expozície a tepelnej stability.

2.4. Bunkové štúdie po vystavení rádiofrekvenčnému žiareniu (2450 MHz)

Vplyv neionizujúceho rádiofrekvenčného žiarenia s frekvenciou 2450 MHz bol skúmaný na bunkách SKOV3 počas 30, 60 a 120 minút.

2.4.1. Test životaschopnosti/metabolickej aktivity založený na MTT

Životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT sa merala s použitím metódy 3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromidu (MTT). Po ožiarení pri 2450 MHz sa bunky vysiali do 96-jamkovej platne s hustotou 1×10^5buniek na jamku v 100µl média. Bunky sa potom inkubovali 24 hodín a 48 hodín v $CO_2$2
inkubátor vo veku 37 rokov°C. Po inkubácii boli bunky premyté a inkubované v 100µL z

médium obsahujúce 0,5 mg/ml MTT počas 3 hodín. Bunky boli premyté a solubilizované pridaním 150µl DMSO. Po 15 minútach inkubácie pri izbovej teplote sa absorbancia merala v prístroji iMarkPrekladová pamäť Čítačka absorbancie mikroplatničiek (Bio-Rad). % životaschopnosti sa vypočítala nasledovne: % životaschopnosť = [(optická hustota vzorky OD −OD slepej vzorky)/(OD kontroly −Prázdny vonkajší priemer)] ×100.

2.4.2. Odhad dusitanov

Koncentrácie dusitanov v supernatante bunkovej kultúry boli merané pomocou Griessovho testu. Stručne povedané, rovnaké objemy supernatantu boli zmiešané s Griessovým činidlom a inkubované pri izbovej teplote počas 10 – 20 minút. Absorbancia bola následne kvantifikovaná pri 490 nm pomocou čítačky mikroplatničiek, pričom hladiny dusitanov boli stanovené vzhľadom na štandardnú krivku dusitanu sodného.

2.4.3. Stanovenie ROS pomocou DCFH-DA

Na kvantifikáciu hladín intracelulárnych reaktívnych foriem kyslíka (ROS) boli bunky SKOV3 vystavené rádiofrekvenčnému žiareniu s frekvenciou 2450 MHz počas definovaného obdobia (30, 60 alebo 120 minút) pred naočkovaním do 96-jamkových platní. Po 24 hodinách inkubácie pri 37 °C◦C vo zvlhčenom prostredí s 5 % $CO_2$2inkubátor, kultivačné médium bolo odsané a bunky boli jemne opláchnuté fosfátom pufrovaným fyziologickým roztokom. Bunky boli potom naplnené 5µSonda M DCFH-DA počas 30 minút v tme, po čom bola intenzita fluorescencie meraná pomocou multimódovej čítačky mikrodoštičiek Bio-Tek.

2.4.4. Kvantifikačný test ATP

Merania intracelulárnej koncentrácie ATP sa uskutočnili pomocou súpravy na stanovenie ATP (Invitrogen) podľa pokynov výrobcu. Ošetrené bunky boli stručne rozbité v ľadovo chladnom lyzačnom pufri s pridaním 0,1 % Tritonu X-100. Potom sa pridalo 10 mikrolitrov (µL) bunkového lyzátu sa pridali k 90µ1 l reakčnej zmesi obsahujúcej luciferázu, d-luciferín, ditiotreitol a reakčný pufor. Na meranie luminiscencie vytvorenej reakciou katalyzovanou luciferázou sa použil luminometer Bio-Tek.

2.4.5. Stanovenie membránového potenciálu

Na meranie mitochondriálneho membránového potenciálu sa použilo JC-1, lipofilné katiónové fluorescenčné farbivo. Bunky boli naplnené farbivom JC-1 (5µM) a inkubované 20 minút pri 37◦C v tme. Intenzity červenej a zelenej fluorescencie sa potom merali pomocou multimódového mikroplatňového čítača Bio-Tek a pomer červenej a zelenej fluorescencie indikoval tvorbu J-agregátov závislých od JC-1. Pomer intenzít červenej a zelenej fluorescencie sa potom použil na posúdenie zmien v mitochondriálnom membránovom potenciáli.

2.4.6. Test apoptózy

Apoptóza bola hodnotená pomocou súpravy na detekciu apoptózy s annexínom V-FITC/propídiumjodidom (PI) podľa protokolu výrobcu. Ihneď po simulovanej expozícii alebo expozícii 2450 MHz boli odobraté plávajúce aj adherentné bunky SKOV3, dvakrát premyté studeným 1X PBS a resuspendované v 1 ×väzbový pufor. Bunky boli zafarbené s Annexinom V-FITC a PI, inkubované 15 minút pri izbovej teplote v tme a ihneď analyzované prietokovou cytometriou. Na vzorku bolo získaných najmenej 10 000 udalostí a údaje boli analyzované pomocou softvéru FlowJo. Debris a dublety boli vylúčené pomocou FSC/SSC a singlet gatingu. Na kompenzáciu a nastavenie kvadrantov boli použité nezafarbené kontroly s Annexinom V-FITC a PI. Annexín V−/PI−bunky boli klasifikované ako životaschopné, Annexin V+/PI−bunky ako skorá apoptoza, Annexin V+/PI+bunky ako neskorá apoptotika/sekundárna nekroza a annexín V−/PI+bunky ako nekrotické/mŕtve. Frakcia pozitívna na annexín V bola vypočítaná ako súčet annexínu V+/PI−a Annexin V+/PI+bunky.

2.4.7. Extrakcia RNA a kvantitatívna analýza PCR v reálnom čase

Po ožiarení trvajúcom 30, 60 a 120 minút, 5×10^6Bunky boli nanesené na 6-jamkové platne a kultivované pri 37 °C◦C vo zvlhčenom CO_2inkubátor. Celková RNA bola izolovaná o 24 hodín neskôr pomocou činidla TriXtract podľa pokynov výrobcu. Množstvo a kvalita RNA boli hodnotené pomocou NanoDrop spektrofotometrie. Syntéza cDNA z 500 ng celkovej RNA bola vykonaná pomocou súpravy Bio-Rad iScript cDNA Synthesis Kit v 10µreakčný objem L obsahujúci 2µL 5X reakčná zmes iScript, 0,5µReverzná transkriptáza L iScript, templát RNA a voda bez nukleáz. Parametre cyklovania zahŕňali priming pri 25 °C.◦C počas 5 minút, reverzná transkripcia pri 46 °C◦C počas 20 minút a inaktivácia pri 95 °C◦C počas 1 minúty. cDNA bola pred qPCR zriedená v pomere 1:30 vo vode bez nukleáz. Expresia cieľových génov – kaspázy-4, Nip2, Bad, Bak1, Bcl-xL, Bag3 a β-aktínu – bola kvantifikovaná pomocou systému CFX Opus 96 Real-Time PCR. Tabuľka1 Uvádza priméry použité v štúdii.

Tabuľka 1. Sekvencie primerov boli nasledujúce.

Gén	Predbežný základ (5′→3′)	Reverzný primer (5′→3′)
Kaspáza-4	TACAAGACCCACGTGGAGAA	CTTTGGCCCTTGGAGTTTCA
NIP2	CTGGGATGGCTCAGGAAATG	TGGGGACAAGTTCTGCTAGT
Zlé	CCCATCGGAAGTTTTGGGTT	ACATTTGGTAGTGAGCACGG
BAK1	GCCCATTCCACCATTCTAC	CCTAGTAGGTCCTGCTCCTG
Bcl-xL	ACTCCCAGTCCAAATGTCCT	AGGCTGCTCTTGTAGGAAGT
Taška3	CCCATGACCCATCGAGAAAC	GAGGAGGACAAGGAACTGGA
β-aktín	GCAAGCAGGAGTATGACGAG	CACCTTCACCGTTCCAGTTT

2.4.8. Štatistická analýza

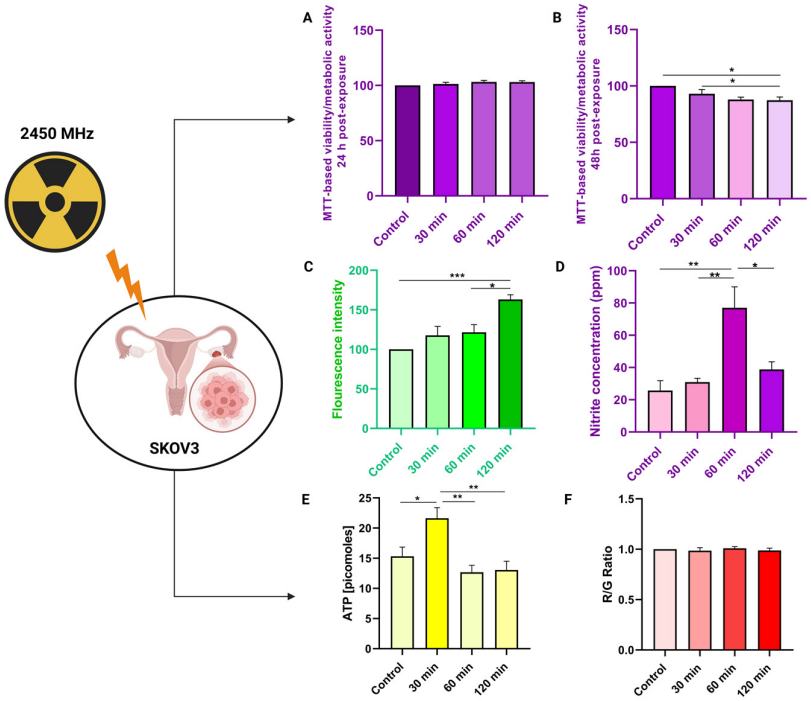
Všetky experimenty boli nezávisle vykonané trikrát (n=3) s meraniami vykonanými v technických troch opakovaniach. Technické opakovania boli pred analýzou spriemerované. Údaje sú prezentované ako priemer±SEM a analyzované pomocou jednofaktorovej ANOVA, po ktorej nasledoval Tukeyho test viacnásobného porovnávania v GraphPad Prism. Štatistická významnosť bola definovaná ako * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 a **** p<0,0001.

3. Výsledky

Intenzita elektrického poľa (E-pole) bola meraná pomocou kalibrovaného systému Narda 520. E-pole bolo 13,44 V/m pri 2450 MHz. Nameraný parameter poľa zostal konštantný počas všetkých expozičných trvaní, pričom variácie spadali do presnosti merania sondy.

3.1. Expozícia RFR neznižuje životaschopnosť/metabolickú aktivitu na základe MTT po 24 hodinách, ale znižuje ju 48 hodín po expozícii.

Test životaschopnosti/metabolickej aktivity založený na MTT sa vykonal na posúdenie životaschopnosti/metabolickej aktivity na základe MTT po 24 a 48 hodinách po expozícii RFR s frekvenciou 2450 MHz počas 30, 60 a 120 minút (obrázok1A, B). 24 hodín po expozícii zostala životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT porovnateľná s kontrolnou skupinou počas všetkých trvaní expozície, bez významného zníženia za testovaných podmienok (obrázok1A). 48 hodín po expozícii vykazovala životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT mierne zníženie súvisiace s trvaním. Významné zníženie sa pozorovalo iba v skupine s 120-minútovou expozíciou v porovnaní s kontrolnou skupinou a skupinou s 30-minútovou expozíciou (p<0,05); žiadne iné párové porovnania neboli významné (obrázok1 B).



Obrázok 1. Vplyv vystavenia rádiofrekvenčnému žiareniu s frekvenciou 2450 MHz na životaschopnosť/metabolickú aktivitu založenú na MTT, oxidačný/nitrozatívny stres, stav ATP a mitochondriálny membránový potenciál v bunkách SKOV3. Bunky SKOV3 boli vystavené rádiofrekvenčnému žiareniu (RFR) s frekvenciou 2450 MHz počas 30, 60 a 120 minút za kontrolovaných expozičných podmienok, po čom nasledovalo hodnotenie životaschopnosti/metabolickej aktivity založenej na MTT 24 a 48 hodín po expozícii, tvorby ROS, akumulácie dusitanov, hladín ATP a mitochondriálneho membránového potenciálu.**A**) Životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT sa po 24 hodinách po expozícii RFR významne nezmenila, čo zodpovedá tomu, že životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT po 24 hodinách nebola významne znížená. (**B.**) 48 hodín po expozícii bola životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT významne nižšia v skupine s 120-minútovou expozíciou ako v kontrolnej skupine a skupine s 30-minútovou expozíciou (*)p<0,05); žiadne iné párové porovnania neboli významné. (**C**) Tvorba reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v intracelulárnej bunke, hodnotená pomocou intenzity fluorescencie DCFH-DA, sa po expozícii RFR zvýšila a dosiahla najvyššiu úroveň po 120 minútach, s významným nárastom v porovnaní s kontrolnou skupinou a skupinou po 60 minútach, čo naznačuje zvýšený oxidačný stres.**D**) Koncentrácia dusitanov sa významne zvýšila po 60 minútach v porovnaní s kontrolnou skupinou a skupinou s 30 minútami a následne sa významne znížila po 120 minútach v porovnaní so 60 minútami, čo je prechodná nitrozujúca stresová reakcia.**V**) Hladiny intracelulárneho ATP sa významne zvýšili po 30 minútach v porovnaní s kontrolnou skupinou a následne sa významne znížili po 60 a 120 minútach v porovnaní so skupinou s 30 minútami, čo naznačuje zmeny v stave ATP súvisiace s expozíciou. (**F**) Pomer červenej/zelenej fluorescencie JC-1 sa po expozícii RFR významne nezmenil, čo naznačuje zachovanie potenciálu mitochondriálnej membrány. Údaje sú prezentované ako priemer.±SEM z troch nezávislých experimentov (n=3). Štatistická významnosť bola hodnotená pomocou jednofaktorovej ANOVA a Tukeyho post hoc testu viacnásobného porovnávania. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ako je naznačené vodorovnými porovnávacími úsečkami.

3.2. Oxidačný a nitrozatívny stres súvisiaci s expozíciou

Bunky SKOV3 vykazovali zmeny v tvorbe ROS a akumulácii dusitanov súvisiace s trvaním expozície po expozícii RFR (obrázok1C,D). Fluorometrická analýza s použitím DCFH-DA ukázala, že intenzita fluorescencie sa s trvaním expozície stabilne zvyšovala. Zatiaľ čo mierne zvýšenie bolo zaznamenané po 30 a 60 minútach, výrazné a štatisticky významné zvýšenie bolo pozorované po 120 minútach (***p<0,001 oproti kontrole), čo viedlo k 1,6–1,7-násobne vyššej intenzite fluorescencie ako v kontrolnej skupine (obrázok1C). Okrem toho bola intenzita fluorescencie po 120 minútach výrazne vyššia ako po 60 minútach (*p<0,05). Súčasne sa hladiny dusitanov po expozícii RFR významne zmenili. Koncentrácia dusitanov vykazovala mierny nárast po 30 minútach a prudko dosiahla vrchol po 60 minútach s významnými rozdielmi.

pozorované rozdiely medzi kontrolnou skupinou a 60. minútou (**p<0,01) a medzi 30 minútami a 60 minútami (**p<0,01) (Obrázok1D). Hoci hladiny dusitanov klesli po 120 minútach v porovnaní so 60 minútami, zostali nad bazálnymi hladinami s významným rozdielom medzi 60 minútami a 120 minútami (*p<0,05).

3.3. Zmenená homeostáza ATP so zachovaným potenciálom mitochondriálnej membrány

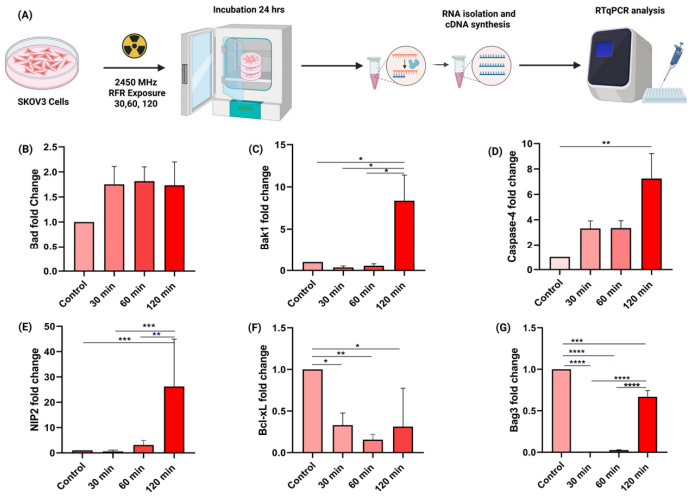
Expozícia RFR bola spojená so zmenami hladín ATP v bunkách SKOV3, zatiaľ čo mitochondriálny membránový potenciál detegovaný pomocou JC-1 zostal zachovaný (obrázok1E,F). Intracelulárne hladiny ATP vykazovali nelineárnu odozvu s výrazným skorým zvýšením po 30 minútach v porovnaní s kontrolnou skupinou (*p<0,05) (Obrázok1E). Po tomto skoršom náraste nasledoval významný pokles po 60 minútach a 120 minútach v porovnaní so skupinou s 30 minútovou expozíciou (**p<0,01) (Obrázok1E). Naproti tomu pomer fluorescencie červenej/zelenej (R/G) JC-1 nepreukázal žiadnu výraznú stratu mitochondriálneho membránového potenciálu (ΔΨm) za podmienok vystavenia rádiofrekvenčnému žiareniu s frekvenciou 2450 MHz (obrázok1F).

3.4. Modulácia apoptotickej a antiapoptotickej génovej expresie

Na objasnenie transkripčných zmien súvisiacich s apoptózou sa vykonala RT-qPCR pre kľúčové apoptotické gény a cytoprotektívne gény 24 hodín po expozícii (obrázok2B–G). Proapoptotický gén Bad vykazoval zvýšenie expresie po 30 minútach, ktoré zostalo zvýšené po 60 a 120 minútach; tieto zmeny však neboli štatisticky významné (obrázok2B). Expresia mRNA Bak1 zostala nízka po 30 a 60 minútach, ale po 120 minútach sa významne zvýšila približne 8-násobne (*p<0,05) (Obrázok2C). Expresia kaspázy-4 sa zvýšila približne 3-násobne po 30 a 60 minútach a dosiahla približne 7-násobok po 120 minútach, s významným nárastom po 120 minútach v porovnaní s kontrolnou skupinou (**p<0,01) (Obrázok2D). NIP-2 vykazoval najsilnejší nárast, ktorý dosiahol približne 26-násobok po 120 minútach, s významnými rozdielmi medzi skupinou so 120 minútami a kontrolnou skupinou a skupinou s 30 minútami (***p<0,001), ako aj 60-minútová skupina (**p<0,01) (Obrázok2E). Naopak, antiapoptotický gén Bcl-xL bol po 30 minútach významne downregulovaný (*p<0,05), 60 min (**p<0,01) a 120 minút (*p<0,05) (Obrázok2F). Expresia Bag3 bola po expozícii RFR výrazne potlačená, s významným znížením po 30 a 60 minútach (****p<0,0001) a pri 120 minútach (***p<0,001) v porovnaní s kontrolnou skupinou (obrázok2G).

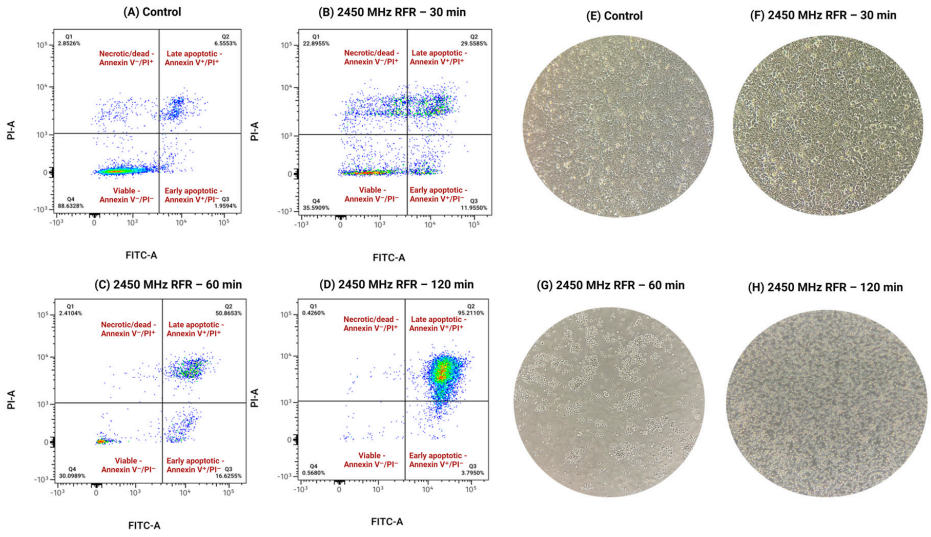
3.5. Detekcia apoptózy FITC-Annexín V

Prietoková cytometrická analýza s annexinom V-FITC/PI preukázala nárast populácií pozitívnych na annexín V v bunkách SKOV3 súvisiaci s trvaním expozície po expozícii RFR s frekvenciou 2450 MHz (obrázok3A–D). V kontrolnej skupine zostala väčšina buniek životaschopná (88,63 % annexínu V−/PI−), zatiaľ čo frakcia pozitívna na Annexin V bola približne 8,51 %, čo zahŕňalo 1,96 % skorých apoptotických buniek (Annexin V+/PI−) a 6,56 % neskorých apoptotických/sekundárnych nekrotických (Annexín V+/PI+) bunky (obrázok3A). Po 30 minútach expozície RFR sa frakcia pozitívna na Annexin V zvýšila na približne 41,51 %, čo zahŕňalo 11,96 % skorých apoptotických a 29,56 % neskorých apoptotických/sekundárne nekrotických buniek (obrázok3B). Po 60 minútach sa frakcia pozitívna na Annexin V ďalej zvýšila na 67,49 %, čo zahŕňalo 16,63 % skorých apoptotických a 50,87 % neskorých apoptotických/sekundárne nekrotických buniek (obrázok3C). Po 120 minútach expozície tvorili prevládajúcu populáciu neskoré apoptotické/sekundárne nekrotické bunky, ktoré predstavovali približne 95,21 % buniek, zatiaľ čo skoré apoptotické bunky predstavovali 3,80 % a životaschopná frakcia sa znížila na 0,56 %. Kombinovaná frakcia pozitívna na Annexin V po 120 minútach bola približne 99,01 % (obrázok3D). Celkovo analýza annexinu V/PI preukázala výrazný, s trvaním expozície súvisiaci nárast buniek pozitívnych na annexín V, prevažne v rámci annexinu V.+/PI+neskorá apoptotická/sekundárna nekrotická populácia po 120 minútach.



Obrázok 2. Vplyv vystavenia sa rádiofrekvenčnému žiareniu s frekvenciou 2450 MHz na expresiu génov spojenú s apoptózou v bunkách SKOV3.**A**) Schematický diagram experimentálneho postupu na hodnotenie transkripčných odpovedí spojených s apoptózou po expozícii 2450 MHz RFR v bunkách SKOV3. Bunky boli vystavené RFR počas 30, 60 alebo 120 minút, po čom nasledovala 24-hodinová inkubácia, izolácia RNA, syntéza cDNA a analýza RT-qPCR. (**B.**–**G**) Analýza relatívnej expresie mRNA génov regulujúcich apoptózu. Bad vykazoval nevýznamný nárast, zatiaľ čo Bak1, kaspáza-4 a NIP2 boli výrazne indukované, najmä po 120 minútach. Expresia Bcl-xL bola po expozícii RFR významne znížená, zatiaľ čo Bag3 bol silne potlačený po 30 a 60 minútach s čiastočným zotavením po 120 minútach. Tieto zmeny spoločne naznačujú posun smerom k proapoptotickému transkripčnému profilu. Údaje sú prezentované ako priemer.±SEM z troch nezávislých experimentov (*n*=3). Štatistická významnosť bola hodnotená jednosmerným testom

* *p*<0,001,



Obrázok 3. Farbenie annexinom V/PI a bunková morfológia spojené s expozíciou rádiofrekvenčnému frekvenčnému spektru 2450 MHz v bunkách SKOV3.**A**–**D**) Reprezentatívne bodové grafy prietokovej cytometrie s annexinom V-FITC/PI z (**A**) kontrola, (**B.**) 30 minút, (**C**) 60 minút a (**D**) Bunky vystavené RFR po dobu 120 min. Kvadrant Q1 predstavuje nekrotické/mŕtve bunky (Annexín V)–/PI+), Q2 predstavuje neskoré apoptotické/sekundárne nekrotické bunky (Annexín V +/PI+), Q3 predstavuje skoré apoptotické bunky (Annexín V+/PI–) a Q4 predstavuje životaschopné bunky (Anexín V–/PI–). Ten/tá/to *x*os predstavuje fluorescenciu annexinu V-FITC a *y*Os predstavuje fluorescenciu PI. Frakcia pozitívna na annexín V bola vypočítaná ako súčet annexínu V+/PI–a Annexin V+/PI+
populácie. Frakcie pozitívne na annexín V sa zvyšovali s trvaním expozície, s výraznou akumuláciou v neskorej apoptotickej/sekundárne nekrotickej populácii po 120 minútach. (**V**–**H**) Reprezentatívne snímky fázového kontrastu (**V**) kontrola, (**F**) 30 minút, (**G**) 60 minút a (**H**) 120-minútové skupiny vykazujúce zmeny v morfológii buniek SKOV3 súvisiace s expozíciou.

https://doi.org/10.3390/cells15191826

4. Diskusia

Predkladaná štúdia zistila, že vystavenie rádiofrekvenčnému žiareniu s nízkou intenzitou 2450 MHz bolo spojené so zmenami redoxnej homeostázy, stavu ATP, životaschopnosti/metabolickej aktivity na základe MTT a reakcií súvisiacich s apoptózou v ľudských ovariálnych epitelových bunkách SKOV3, ktoré súvisia s trvaním expozície. Hoci sa RFR vo všeobecnosti považuje za neionizujúce a menej biologicky reaktívne ako ionizujúce žiarenie, nové dôkazy spochybňujú predpoklad, že vystavenie sa nízkoúrovňovému RFR je vždy biologicky inertné, najmä v redoxne citlivých bunkových systémoch a modeloch založených na ovariálnom tkanive [28,47,57].

Dôležitým zistením tejto štúdie je zvýšenie hodnôt oxidačného a nitrozatívneho stresu súvisiace s expozíciou po expozícii RFR s frekvenciou 2450 MHz. Hladiny ROS sa postupne zvyšovali s trvaním expozície a dosiahli svoje najvyššie hladiny po 120 minútach, približne 1,6 – 1,7-násobne viac ako v kontrolnej skupine (obrázok1C), zatiaľ čo akumulácia dusitanov vykazovala skorší nárast po 30 minútach, významne vrcholila po 60 minútach a následne klesala po 120 minútach v porovnaní so skupinou so 60 minútami (obrázok1D). Oxidačné a s dusíkom súvisiace redoxné hodnoty teda nesledovali identické časové profily a vykazovali odlišné profily v redoxných hodnotách súvisiacich s kyslíkom a dusíkom. Prechodné zvýšenie dusitanov spolu s progresívnou akumuláciou ROS bolo spojené s oxidačno-nitrozatívnym stresovým fenotypom v bunkách SKOV3 za testovaných expozičných podmienok. Mechanistický vzťah medzi týmito odlišnými časovými profilmi nebol stanovený. Podobne Gulati a kol. [58] zaznamenali zvýšenú oxidáciu lipidov a oxidačné lézie DNA u ľudí žijúcich v blízkosti mobilných základňových staníc v súvislosti s chronickou expozíciou rádiofrekvenčnému žiareniu, hoci tieto zmeny neboli štatisticky významné. ROS a reaktívne formy dusíka môžu modifikovať mitochondriálne enzýmy, membránové lipidy, nukleové kyseliny a redoxne citlivé signálne dráhy zapojené do proliferácie, adaptácie na stres a apoptózy [59–61]. NO v spojení so superoxidovými aniónmi môže tvoriť peroxynitrit, reaktívny dusíkatý radikál zapojený do mitochondriálnej dysfunkcie, lipidovej peroxidácie a apoptotickej signalizácie. Hodnoty ROS a dusitanov sú teda v súlade s oxidačno-nitrozačnou nerovnováhou spojenou s expozíciou za testovaných podmienok.

Životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT zostala porovnateľná s kontrolnou skupinou pri všetkých expozičných trvaniach 24 hodín po expozícii (obrázok1A). 48 hodín po expozícii bola životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT významne znížená iba v 120-minútovej skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou a skupinou s 30-minútovou expozíciou; žiadne iné párové porovnania neboli významné (obrázok1B). Toto zníženie sa zhodovalo s maximálnym zvýšením fluorescencie DCFH-DA (obrázok1C). Táto časová zhoda podporuje súvislosť medzi zvýšeným oxidačným stresom a zníženou životaschopnosťou/metabolickou aktivitou na základe MTT; priamy mechanistický vzťah však nemožno stanoviť bez antioxidačnej intervencie alebo záchranných experimentov. Táto interpretácia je v súlade so štúdiami, ktoré ukazujú, že RFR môže zvýšiť intracelulárne ROS v bunkových systémoch cicavcov [52]. Zároveň absencia významnej zmeny v životaschopnosti/metabolickej aktivite na základe 24-hodinového MTT naznačuje, že pozorovaná odpoveď závisela od skúmaného intervalu. Keďže MTT odráža skôr bunkovú metabolickú aktivitu ako kvantifikuje bunkovú smrť, zistenia o životaschopnosti sa najvhodnejšie interpretujú ako zmeny v životaschopnosti/metabolickej aktivite na základe MTT za podmienok použitých v tejto štúdii. Intracelulárne hladiny ATP vykazovali dvojfázovú odpoveď so skorým zvýšením po 30 minútach v porovnaní s kontrolnou skupinou, po ktorom nasledoval významný pokles po 60 a 120 minútach v porovnaní s 30-minútovou skupinou (obrázok1E). Dôvod skorého zvýšenia ATP nebol stanovený. Naproti tomu pomer červenej/zelenej fluorescencie JC-1 sa po expozícii RFR významne nezmenil (obrázok1F), čo naznačuje žiadnu detekovateľnú stratu mitochondriálneho membránového potenciálu (ΔΨm) za testovaných podmienok. Zmeny v stave ATP sa teda vyskytli bez významnej zmeny v mitochondriálnej membráne zistenej JC-1.

predpokladaný (ΔΨm), čo odráža odlišné reakcie v meraných bunkových koncových bodoch bez stanovenia mitochondriálnej respiračnej funkcie [49,50,57].

Koncové body súvisiace s apoptózou tiež preukázali transkripčné a membránové zmeny súvisiace s expozíciou, pričom expresia Bad vykazovala nevýznamný nárast (obrázok2B), zatiaľ čo Bak1 (obrázok2C), kaspáza-4 (obrázok2D) a NIP2 (obrázok2E) boli významne indukované, najmä po 120 minútach expozície. Naopak, Bcl-xL bol významne downregulovaný (obrázok2F), zatiaľ čo Bag3 bol po expozícii RFR výrazne potlačený, s najsilnejšou supresiou po 30 a 60 minútach a čiastočnou obnovou po 120 minútach (obrázok2G). Tieto transkripčné zmeny sú v súlade s posunom smerom k proapoptotickému expresnému profilu, ale nepreukazujú aktiváciu zodpovedajúcich proteínov alebo apoptotických dráh. Bak1 a Bcl-xL sú spojené s reguláciou mitochondriálnej apoptotickej náchylnosti, zatiaľ čo indukcia kaspázy-4 je kompatibilná s potenciálnym zapojením stresových dráh, ktoré môžu zahŕňať signalizáciu spojenú s endoplazmatickým retikulom; tieto mechanizmy však neboli v tejto štúdii funkčne stanovené. Súbežne analýza Annexin V-FITC/PI ukázala nárast populácií pozitívnych na Annexin V súvisiaci s trvaním expozície, z 8,51 % v kontrole (obrázok3A) na približne 41,51 %, 67,49 % a 99,01 % po 30 (obrázok3B), 60 (obrázok3C) a 120 (obrázok3D) min expozície. Po 120 minútach bolo približne 95,21 % buniek annexínom V^+/PI^+a preto sú vhodne klasifikované ako neskoré apoptotické/sekundárne nekrotické, a nie výlučne apoptotické. Transkripčné a prietokové cytometrické zistenia spoločne podporujú molekulárnu a membránovú remodeláciu spojenú s apoptózou po expozícii RFR, zatiaľ čo na stanovenie základných dráh sú potrebné ďalšie analýzy na úrovni proteínov a funkčné analýzy.

Zjavný rozpor medzi okamžitými zisteniami annexinu V/PI a výsledkami 24-hodinového MTT testu by sa mal interpretovať opatrne, pretože tieto dva testy zachytávajú rôzne bunkové procesy v rôznych intervaloch hodnotenia. Analýza annexinu V/PI sa vykonala bezprostredne po expozícii a po 120 minútach expozície RFR bola prevládajúcim zistením annexinu $V.^+/PI^+$ neskorú apoptotickú/sekundárne nekrotickú populáciu, a nie výlučne skorú apoptotickú populáciu. Toto časovo špecifické zistenie integrity membrány nepreukazuje dokončenú, dráhou definovanú apoptózu. Naproti tomu MTT analýza po 24 hodinách poskytuje nepriame meranie bunkovej metabolickej aktivity, a nie priame meranie bunkovej smrti (obrázok1A). Nezmenený výsledok 24-hodinového MTT ani neneguje okamžitý signál Annexinu V/PI, ani neznamená, že testy merajú rovnaký proces. Nemožno vylúčiť zotavenie počas intervalu po expozícii, rozdiely v citlivosti testu a technické príspevky súvisiace so zberom buniek, membránovým stresom alebo prietokovou cytometriou. Preto by sa tento vzorec nemal interpretovať ako demonštrácia masívnej okamžitej bunkovej smrti nasledovanej nezmenenou metabolickou aktivitou; skôr naznačuje špecifické reakcie testu a časového bodu, ktoré si vyžadujú ďalšie merania bunkovej smrti a zotavenia predtým, ako je možné urobiť kvantitatívne tvrdenie o bunkovej smrti.

V literatúre o rádiofrekvenčnom žiarení (RFR) existujú aj protichodné správy. Zatiaľ čo niekoľko štúdií uvádza oxidačný stres, mitochondriálne poruchy, zmenenú životaschopnosť/metabolickú aktivitu buniek a reakcie spojené s apoptózou po expozícii RF-EMF, iné kontrolované štúdie pozorovali minimálne alebo žiadne detekovateľné biologické účinky. Napríklad Choi a kol. [52] zaznamenali zvýšené intracelulárne ROS spolu so zníženou proliferáciou po kontinuálnej expozícii LTE s frekvenciou 1,7 GHz, zatiaľ čo Joushomme a kol. [54] nezaznamenali žiadnu zistiteľnú zmenu v globálnom bunkovom správaní pri vystavení environmentálnemu rádiofrekvenčnému žiareniu. Podobne Haidar a kol. [48] nezaznamenali žiadnu detekovateľnú zmenu v cytoplazmatickej alebo mitochondriálnej redoxnej homeostáze, adaptácii na oxidačný stres alebo oprave DNA indukovanej UV-B žiarením po kontrolovanej expozícii 5G-modulovanému 3,5 GHz RFR v bunkách ľudskej kože. Tieto rozdiely zdôrazňujú dôležitosť typu bunky, trvania expozície, frekvencie, modulácie, poľa

sila, SAR, tepelná stabilita, geometria expozície, dozimetria a výber koncových bodov pri interpretácii biologických výsledkov. Preto by sa tieto zistenia mali považovať skôr za dôkaz špecifický pre expozíciu a model, že bunky SKOV3 vykazujú merateľné bunkové odpovede za podmienok charakterizovaných poľom s frekvenciou 2450 MHz použitých v tejto štúdii, než za dôkaz univerzálnej biologickej odpovede na vystavenie RFR.

Dôležité je, že homeostáza ovariálneho tkaniva je silne ovplyvnená redoxnou rovnováhou, mitochondriálnym metabolizmom a regulovanou signalizáciou prežitia [47,57,62]. Biologický rozsah súčasného modelu si však vyžaduje starostlivé zváženie. SKOV3 je bunková línia odvodená z rakoviny ovariálneho epitelu a nereprodukuje fyziológiu ani bunkovú komplexnosť normálneho ovariálneho tkaniva [33,34]. Táto štúdia priamo nehodnotí vývoj folikulov, steroidogenézu, funkciu oocytov, fertilitu, reprodukčné výsledky a poškodenie vaječníkov in vivo. Skôr identifikuje fenotyp bunkového stresu spojený s expozíciou v tomto modeli epitelových buniek odvodených z karcinómu vaječníkov. Bunky SKOV3 nereprodukujú celú komplexnosť normálneho ovariálneho tkaniva; napriek tomu epitelové bunkové systémy odvodené z rakoviny vaječníkov zostávajú užitočnými platformami pre mechanistické skúmanie reakcií ovariálneho epitelu.

V predloženej štúdii sa zistilo, že akútna expozícia rádiofrekvenčnému žiareniu s frekvenciou 2450 MHz je spojená s koordinovanými bunkovými odpoveďami v bunkách SKOV3 za kontrolovaných, teplotne stabilných podmienok in vitro. Životaschopnosť/metabolická aktivita na základe MTT zostala porovnateľná s kontrolnou skupinou pri všetkých dĺžkach expozície 24 hodín po expozícii (obrázok1A); avšak významné zníženie sa pozorovalo 48 hodín po expozícii, pričom najväčšie zníženie nastalo po 120 minútach expozície RFR (obrázok1B), čo sa zhoduje s maximálnym nárastom fluorescencie DCFH-DA (obrázok1C). Túto reakciu sprevádzalo prechodné zvýšenie dusitanov a dvojfázová reakcia ATP bez významnej zmeny pomeru červenej/zelenej farbivá JC-1. Súbežne modulácia génov spojených s apoptózou a nárast populácií pozitívnych na annexín V súvisiaci s trvaním expozície naznačujú molekulárnu a membránovú remodeláciu zodpovedajúcu bunkovému stresu. Tieto zistenia spoločne charakterizujú fenotyp spojený s expozíciou, ktorý zahŕňa zmenenú redoxnú homeostázu, stav ATP a reakcie súvisiace s apoptózou.

5. Závery

Záverom možno konštatovať, že nízkointenzívna 2450 MHz RFR bola spojená s merateľnými redoxnými, metabolickými a apoptózou súvisiacimi zmenami v bunkách SKOV3 bez významného zníženia životaschopnosti/metabolickej aktivity na základe MTT po 24 hodinách a s významným znížením životaschopnosti/metabolickej aktivity na základe MTT po 48 hodinách. Tieto zistenia charakterizujú bunkovú stresovú reakciu spojenú s expozíciou za definovaných podmienok in vitro, ale nemali by sa priamo extrapolovať na normálnu funkciu vaječníkov alebo ženskú fertilitu. Ďalšia validácia v normálnych ovariálnych modeloch spolu s analýzami hladiny proteínov, mitochondriálnej funkcie a bunkovej smrti bude dôležitá pre stanovenie biologického významu a základných mechanizmov týchto reakcií. Na ďalšiu charakterizáciu mitochondriálnej funkcie a jej vzťahu k stavu ATP budú potrebné ďalšie štúdie zahŕňajúce merania spotreby kyslíka (OCR), analýzy dýchacieho reťazca, hodnotenie mPTP a merania hladiny mitochondriálnych proteínov.

Príspevky autorov: Konceptualizácia, RS a AS; Metodika, SA a GN; Softvér, SS; Validácia, SA, GN, AS a RS; Formálna analýza, SA, GN a RS; Zdroje, SS; Kurácia údajov, SA, GN a NY; Písanie – príprava pôvodného návrhu, SA, GN, NY a RS; Písanie – kontrola a úprava, SA, GN, NY, AS a RS; Vizualizácia, SA a GN; Supervízia, RS; Získavanie finančných prostriedkov, RS Všetci autori si prečítali a súhlasia s publikovanou verziou rukopisu.

Financovanie: Tento výskum financovala Indická rada pre lekársky výskum, indická vláda [č. spisu 5/10/FR/13/2021-RBMCH].

Vyhlásenie inštitucionálnej revíznej komisie: Neuplatňuje sa. Táto štúdia bola vykonaná s použitím zavedenej línie ľudských ovariálnych epitelových buniek a nezahŕňala ľudských účastníkov, vzorky ľudského tkaniva ani pokusy na zvieratách.

Vyhlásenie o informovanom súhlase: Neuplatňuje sa.

Vyhlásenie o dostupnosti údajov:Údaje podporujúce zistenia tejto štúdie sú k dispozícii od príslušného autora na základe odôvodnenej žiadosti.

Poďakovanie: Generatívna umelá inteligencia bola použitá iba na zlepšenie čitateľnosti a jazyka rukopisu. Autori použili ChatGPT–4o mini na redakčné vylepšenie, skontrolovali a upravili obsah a preberajú plnú zodpovednosť za konečnú verziu rukopisu.

Konflikty záujmov: Autori vyhlasujú, že nemajú žiadny konflikt záujmov.

Skratky

V tomto rukopise sa používajú nasledujúce skratky:

DMSO	Dimetylsulfoxid
E-pole	Elektrické pole
FBS	Fetálne bovinné sérum
Internet vecí	Internet vecí
LTE	Dlhodobý vývoj
MTT	3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromid Národné
NCCSOCR	centrum pre bunkovú vedu Miera spotreby kyslíka Fosfátom
PBS	pufrovaný fyziologický roztok
PI	Propídiumjodid
Č/Z	Pomer červenej a zelenej fluorescencie
RF-EMF	Rádiofrekvencia Elektromagnetické pole
Rádiový prenos	Rádiofrekvenčné žiarenie
ROS	Reaktívne formy kyslíka Špecifická
SAR	rýchlosť absorpcie Trypsín-fosfát
TPVG	versén glukóza

Referencie

1. Deruelle, F. Rôzne zdroje elektromagnetických polí: Nebezpečenstvá sa neobmedzujú len na fyzické zdravie. *Elektromagnetická biológia a medicína* **2020**, *39*, 166–175. [CrossRef]
2. Zamanian, A.; Hardiman, C. Elektromagnetické žiarenie a ľudské zdravie: Prehľad zdrojov a účinkov. *Vysokofrekvenčný elektrón.* **2005**, *4*, 16–26.
3. Samaila, B. Biochemické a biomedicínske dôsledky vystavenia sa neionizujúcemu elektromagnetickému žiareniu. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* **2024**, *56*, 48676–48684. [CrossRef]
4. Panagopoulos, DJ; Yakymenko, I.; De Iuliis, GN; Chrousos, GP Komplexný mechanizmus biologických a zdravotných účinkov antropogénnych extrémne nízkofrekvenčných a bezdrôtových komunikačných elektromagnetických polí. *Verejné zdravie***2025**, *13*, 1585441. [CrossRef]
5. Nyberg, R.; McCredden, J.; Hardell, L. Hodnotenia zdravotných rizík rádiofrekvenčného žiarenia zo strany Európskej únie – Ďalší ťažký oriešok (Prehľad). *Rev. Environment. Zdravie***2024**, *39*, 707–719. [CrossRef]
6. Ashraf, MA; Celik, T. Hodnotenie vystavenia rádiofrekvenčnému elektromagnetickému poľu v uzavretých priestoroch: Systematický prehľad nedávnych štúdií a budúcich smerov. *Radiat. Prot. Dosim.***2024**, *200*, 598–616. [CrossRef]
7. Bandara, P.; Carpenter, DO Planetárne elektromagnetické znečistenie: Je čas posúdiť jeho vplyv. *Lancet Planet. Zdravie***2018**, *2*, e512–e514. [CrossRef]
8. Chou, CK Kontroverzia v elektromagnetickej bezpečnosti. *Medzinárodný časopis pre životné prostredie. Výskum verejného zdravia***2022**, *19*, 16942. [CrossRef]
9. Sadeqi, MR; Azizi, NM Zdravotné účinky elektromagnetického žiarenia: Zameranie na rádiofrekvenčné (RF) a mikrovlnné žiarenie. *Časopis prírodných vied Rev.***2025**, *3*, 276–292. [CrossRef]
10. Röösli, M. Expozícia rádiofrekvenčnému elektromagnetickému poľu a nešpecifické príznaky zlého zdravotného stavu: Systematický prehľad. *Environmentálny výskum.* **2008**, *107*, 277–287. [CrossRef]

11. Karipidis, K.; Mate, R.; Urban, D.; Tinker, R.; Wood, A. Mobilné siete 5G a zdravie – prehľad súčasného stavu vedy o výskume nízkofrekvenčných polí nad 6 GHz. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* **2021**, *31*, 585–605. [CrossRef]
12. Lin, JC Postupy a zásady v oblasti zdravia a bezpečnosti týkajúce sa vystavenia ľudí rádiofrekvenčnému/mikrovlnnému žiareniu. *Verejné zdravie* **2025**, *13*, 1619781. [CrossRef]
13. Wust, P.; Kortüm, B.; Strauss, U.; Nadobny, J.; Zschaeck, S.; Beck, M.; Stein, U.; Ghadjar, P. Netepelné účinky rádiofrekvenčných elektromagnetických polí. *Vedecký zástupca.* **2020**, *10*, 13488. [CrossRef]
14. Foster, KR; Glaser, R. Tepelné mechanizmy interakcie rádiofrekvenčnej energie s biologickými systémami s významom pre expozičné smernice. *Zdravotná fyzika.* **2007**, *92*, 609–620. [CrossRef]
15. Danho, S.; Escobar Huertas, JF; Schoellhorn, WI Systematický prehľad vplyvu elektromagnetických vĺn na živé bytosti. *Cureus* **2025**, *17*, e90355. [CrossRef]
16. Dieper, A.; Scheidegger, S.; Füchslin, RM; Veltsista, PD; Stein, U.; Weyland, M.; Gerster, D.; Beck, M.; Bengtsson, O.; Zips, D.; a kol. Prehľad literatúry: Potenciálne netermálne molekulárne účinky externých rádiofrekvenčných elektromagnetických polí na rakovinu. *Medzinárodný časopis pre hypertenziu.* **2024**, *41*, 2379992. [CrossRef]
17. Jangid, P.; Rai, U.; Sevak, JK; Ranjan, R.; Singh, S.; Singh, R. Zmeny funkcie Leydigových buniek vyvolané rádiofrekvenčným žiarením. *Vedecký zástupca.* **2026**, *16*, 14999. [CrossRef]
18. Abdul-Al, M.; Amar, ASI; Elfergani, I.; Littlehales, R.; Parchin, NO; Al-Yasir, Y.; See, CH; Zhou, D.; Abidin, ZZ; Alibakhshikenari, M.; a kol. Hodnotenie bezdrôtového elektromagnetického žiarenia na základe špecifickej miery absorpcie (SAR): Prehľadová prípadová štúdia. *Elektronika* **2022**, *11*, 511. [CrossRef]
19. Korkmaz, E.; Aerts, S.; Coesoij, R.; Bhatt, CR; Velghe, M.; Colussi, L.; Land, D.; Petroulakis, N.; Spirito, M.; Bolte, J. Komplexný prehľad technológií hodnotenia expozície 5G NR RF-EMF: Základy, pokroky, výzvy, medzery na trhu a dôsledky. *Environmentálny výskum.* **2024**, *260*, 119524. [CrossRef]
20. Ramirez-Vazquez, R.; Escobar, I.; Arribas, E.; Vandenbosch, GAE Systematický prehľad štúdií expozície rádiofrekvenčným elektromagnetickým poliam: Bodové merania a zmiešané metodiky. *Aplikačné vedy.* **2024**, *14*, 11161. [CrossRef]
21. Seewooruttun, C.; Mai, TC; Corona, A.; Delanaud, S.; de Seze, R.; Bach, V.; Desailloud, R.; Pelletier, A. Elektromagnetické polia z mobilných telefónov: Riziko pre udržanie energetickej homeostázy? *Ann. Endocrinol.* **2025**, *86*, 101782. [CrossRef]
22. Bosch-Capblanch, X.; Esu, E.; Oringanje, CM; Dongus, S.; Jalilian, H.; Eyers, J.; Auer, C.; Meremikwu, M.; Röösli, M. Účinky vystavenia rádiofrekvenčným elektromagnetickým poliam na symptómy hlásené samotnými ľuďmi: Systematický prehľad experimentálnych štúdií na ľuďoch. *Medzinárodné životné prostredie* **2024**, *187*, 108612. [CrossRef]
23. Gabriel, S.; Lau, RW; Gabriel, C. Dielektrické vlastnosti biologických tkanív: II. Merania vo frekvenčnom rozsahu 10 Hz až 20 GHz. *Fyzika. Lekárska biológia.* **1996**, *41*, 2251–2269. [CrossRef]
24. Xu, L.; Meng, MQ-H.; Ren, H.; Chan, Y. Radiačné charakteristiky prehĺtateľných bezdrôtových zariadení v ľudskom čreve po vystavení rádiofrekvenčnému žiareniu na frekvenciách 430, 800, 1200 a 2400 MHz. *IEEE Trans. Antény Šírenie* **2009**, *57*, 2418–2428. [CrossRef]
25. Xu, LS; Meng, MQ-H.; Li, BP Vplyv dielektrických hodnôt ľudského tela na špecifickú mieru absorpcie (SAR) po vystavení rádiofrekvenčnému žiareniu s frekvenciou 800 MHz prehltnuteľnému bezdrôtovému zariadeniu. V *Zborník z výročnej medzinárodnej konferencie IEEE Engineering in Medicine and Biology Society z roku 2009*; IEEE: New York, NY, USA, 2009; s. 5060–5063.
26. Alchalabi, ASH; Rahim, H.; Aklilu, E.; Al-Sultan, II; Aziz, AR; Malek, MF; Ronald, SH; Khan, MA Histopatologické zmeny spojené s oxidačným stresom vyvolaným elektromagnetickými vlnami v tkanivách vaječníkov a maternice potkanov. *Ázijský Pacifik. J. Reprod.* **2016**, *5*, 301–310. [CrossRef]
27. Bakačák, M.; Bostancı, MS; Attar, R.; Yıldırım, Ö.K.; Yıldırım, G.; Bakačák, Z.; Sayar, H.; Han, A. Účinky elektromagnetických polí na počet ovariálnych primordiálnych folikulov: Experimentálna štúdia. *Kaohsiung J. Med. Sci.* **2015**, *31*, 287–292. [CrossRef]
28. Jangid, P.; Rai, U.; Sharma, RS; Singh, R. Úloha neionizujúceho elektromagnetického žiarenia na ženskú plodnosť: Prehľad. *Medzinárodný časopis pre životné prostredie a zdravotnícky výskum.* **2023**, *33*, 358–373. [CrossRef]
29. Ahmadi, SS; Khaki, AA; Ainehchi, N.; Alihemmati, A.; Khatooni, AA; Khaki, A.; Asghari, A. Vplyv neionizujúceho elektromagnetického poľa na zmenu ovariálnych folikulov u potkanov. *Elektrónový lekár* **2016**, *8*, 2168–2174. [CrossRef]
30. Lopez, E.; Kamboj, S.; Chen, C.; Wang, Z.; Kellouche, S.; Leroy-Dudal, J.; Carreiras, F.; Lambert, A.; Aimé, C. In vitro modely rakoviny vaječníkov: Preklenutie priepasti medzi patofyziológiou a mechanistickými modelmi. *Biomolekuly* **2023**, *13*, 103. [CrossRef]
31. Michelant, L.; Selmaoui, B. Vplyv rádiofrekvenčných elektromagnetických polí na srdcovú aktivitu v pokoji: Systematický prehľad štúdií zdravých ľudí. *Bioelektromagnetika* **2025**, *46*, e70014. [CrossRef]
32. Shahin, S.; Singh, SP; Chaturvedi, CM Žiarenie mobilných telefónov (1800 MHz) poškodzuje reprodukciu samíc u myší. *Mus musculus*, prostredníctvom stresom vyvolanej inhibície aktivity vaječníkov a maternice. *Reprodukčný toxikol.* **2017**, *73*, 41–60. [CrossRef]
33. Lengyel, E.; Burdette, JE; Kenny, HA; Matei, D.; Pilrose, J.; Haluska, P.; Nephew, KP; Hales, DB; Stack, MS Experimentálne modely epiteliálneho karcinómu vaječníkov. *Onkogén* **2014**, *33*, 3619–3633. [CrossRef]
34. Heredia-Soto, V.; Redondo, A.; Berjón, A.; Miguel-Martín, M.; Díaz, E.; Crespo, R.; Hernández, A.; Yébenes, L.; Gallego, A.; Feliu, J.; a kol. Vysokokapacitná 3-rozmerná kultúra epitelových buniek rakoviny vaječníkov ako predklinický model ochorenia. *Oncotarget* **2018**, *9*, 21893–21903. [CrossRef]

35. Gul, A.; Çelebi, H.; Uğraş, S. Účinky mikrovĺn vyžarovaných mobilnými telefónmi na ovariálne folikuly u potkanov.*Arch. Gynek. Pôrod.* **2009**,*280*, 729–733. [CrossRef]
36. Simson, DK; Vashistha, A.; Sethi, JS Neviditeľné vlny, viditeľné následky: Úloha environmentálneho žiarenia v ľudskej plodnosti. *Integr. Med.***2024**,*23*, 10–13.
37. Marci, R.; Mallozzi, M.; Di Benedetto, L.; Schimberni, M.; Mossa, S.; Soave, I.; Palomba, S.; Caserta, D. Žiarenia a ženská plodnosť. *Reprodukčná biológia. Endokrinológia.***2018**, *16*, 112. [CrossRef]
38. Ziegelberger, G.; Croft, R.; Feychting, M.; Green, AC; Hirata, A.; d'Inzeo, G.; Jokela, K.; Loughran, S.; Marino, C.; Miller, S.; a kol. Pokyny pre obmedzenie vystavenia elektromagnetickým poliam (100 kHz až 300 GHz).*Zdravotná fyzika.***2020**,*118*, 483–524. [CrossRef]
39. Lai, H.; Levitt, BB Bunkové a molekulárne účinky neionizujúcich elektromagnetických polí.*Rev. Environment. Zdravie***2024**,*39*, 519–529. [CrossRef]
40. Schuermann, D.; Mevissen, M. Elektromagnetické polia vytvorené človekom a oxidačný stres – biologické účinky a dôsledky pre zdravie. *Medzinárodný časopis mol. vedy.***2021**,*22*, 3772. [CrossRef]
41. Jakymenko, I.; Tsybulin, O.; Sidorik, E.; Henshel, D.; Kyrylenko, O.; Kyrylenko, S. Oxidačné mechanizmy biologickej aktivity nízkointenzívneho rádiofrekvenčného žiarenia.*Elektromagnetická biológia a medicína***2016**,*35*, 186–202. [CrossRef]
42. Romeo, S.; Zeni, O.; Šálì,M.; Poeta, L.; Lioi, M.; Sannino, A. Expozícia rádiofrekvenčnému elektromagnetickému poľu a apoptóza: Prehľad rozsahu štúdií in vitro na bunkách cicavcov.*Medzinárodný časopis mol. vedy.***2022**,*23*, 2322. [CrossRef]
43. López-Martín, E.; Sueiro-Benavides, R.; Leiro-Vidal, JM; Rodríguez-González, JA; Ares-Pena, FJ Redoxná bunková signalizácia spúšťaná čiernym uhlíkom a/alebo rádiofrekvenčnými elektromagnetickými poľami: Vplyv na bunkovú smrť.*Veda. Celkové životné prostredie.***2024**,*953*, 176023. [CrossRef]
44. Zielinski, J.; Ducray, AD; Moeller, AM; Murbach, M.; Kuster, N.; Mevissen, M. Účinky vystavenia pulzne modulovanému rádiofrekvenčnému magnetickému poľu (RF-EMF) na apoptózu, autofágiu, oxidačný stres a funkciu transportu elektrónového reťazca v ľudskom neuroblastóme a myších mikrogliálnych bunkách.*Toxicol. In vitro***2020**,*68*, 104963. [CrossRef]
45. Hardell, L.; Sage, C. Biologické účinky vystavenia elektromagnetickému poľu a normy vystavenia verejnosti.*Biomed. Farmaceutický.* **2008**, *62*, 104–109. [CrossRef]
46. Liu, L.; Huang, B.; Lu, Y.; Zhao, Y.; Tang, X.; Shi, Y. Interakcie medzi elektromagnetickým žiarením a biologickými systémami.*iVeda* **2024**, *27*, 109201. [CrossRef]
47. Lamzouri, O.; Ahl Laamara, R.; Drissi, LB Vplyv vystavenia elektromagnetickému poľu na reprodukčné zdravie: Súhrnný prehľad a metaanalýza systematických prehľadov.*Blízky východ, spoločnosť pre uhnojivá. J.***2025**,*30*, 42. [CrossRef]
48. Haidar, J.; Nabos, P.; Orlacchio, R.; Hurtier, A.; de Gannes, FP; Rambert, J.; Cario-André, M.; Moisan, F.; Rezvani, H.-R.; Lagroye, I.; a kol. Vplyv in vitro vystavenia 5G-modulovaným poliam s frekvenciou 3,5 GHz na oxidačný stres a opravu DNA v kožných bunkách.*Vedecký zástupca.* **2025**, *15*, 31214. [CrossRef]
49. Esmekaya, MA; Canseven, AG; Kayhan, H.; Tuysuz, MZ; Sirav, B.; Seyhan, N. Mitochondriálna hyperpolarizácia a uvoľňovanie cytochrómu-c v bunkách MCF-7 vystavených mikrovlnnému žiareniu.*Všeobecná fyziológia. Biofyzika.***2017**,*36*, 211–218. [CrossRef]
50. Esmekaya, MA; Seyhan, N.; Kayhan, H.; Tuysuz, MZ; Kurşun, AC; Yağcı, M. Skúmanie vplyvu mikrovlnného žiarenia s frekvenciou 2,1 GHz na potenciál mitochondriálnej membrány (ΔΨm), Apoptotická aktivita a životaschopnosť buniek vo fibroblastových bunkách ľudského prsníka. *Bunková biochemia. Biofyzika.***2013**,*67*, 1371–1378. [CrossRef]
51. Ozgur, E.; Kayhan, H.; Kismali, G.; Senturk, F.; Sensoz, M.; Ozturk, GG; Sel, T. Účinky rádiofrekvenčného žiarenia na proliferáciu a zápal buniek kolorektálneho karcinómu.*Turk. J. Biochem.***2021**,*46*, 525–532. [CrossRef]
52. Choi, J.; Min, K.; Jeon, S.; Kim, N.; Pack, J.-K.; Song, K. Nepretržité vystavenie elektromagnetickým poliam LTE s frekvenciou 1,7 GHz zvyšuje intracelulárne reaktívne formy kyslíka, čím sa znižuje proliferácia ľudských buniek a vyvoláva starnutie.*Vedecký zástupca.***2020**,*10*, 9238. [CrossRef]
53. Bhartiya, P.; Mumtaz, S.; Lim, JS; Kaushik, N.; Lamichhane, P.; Nguyen, LN; Jang, JH; Yoon, SH; Choi, JJ; Kaushik, NK; a kol. Pulzné ožarovanie fyziologického roztoku vysokovýkonnými mikrovlnami s frekvenciou 3,5 GHz a ich biologické hodnotenie na ľudských bunkových líniách. *Vedecký zástupca.***2021**, *11*, 8475. [CrossRef]
54. Joushomme, A.; Garenne, A.; Dufossée, M.; Renom, R.; Ruigrok, HJ; Chappe, YL; Canovi, A.; Patrignoni, L.; Hurtier, A.; Poulletier de Gannes, F.; a kol. Štúdia globálneho správania buniek počas vystavenia environmentálnym rádiofrekvenčným poliam v prítomnosti alebo neprítomnosti proapoptotickej alebo proautofagickej liečby bez značenia.*Medzinárodný časopis mol. vedy.***2022**,*23*, 658. [CrossRef]
55. Gye, MC; Park, CJ Vplyv vystavenia elektromagnetickému poľu na reprodukčný systém.*Klinické skúšky, reprodukčná medicína***2012**,*39*, 1–9. [CrossRef]
56. Jangid, P.; Rai, U.; Sevak, JK; Singh, S.; Singh, R. Narušenie bunkovej redoxnej reakcie a apoptóza: Diferenciálne účinky frekvencií RFR na Leydigove bunky.*Toxicol. Appl. Pharmacol.***2026**,*511*, 117807. [CrossRef]
57. Santini, SJ; Cordone, V.; Falone, S.; Mijit, M.; Tatone, C.; Amicarelli, F.; Di Emidio, G. Úloha mitochondrií v oxidačnom strese vyvolanom elektromagnetickými poľami: Zameranie na reprodukčné systémy.*Oxidačná medicína. Bunková. Dlhodobá.***2018**,*2018*, 5076271. [CrossRef]

58. Gulati, S.; Mosgoeller, W.; Moldan, D.; Košík, P.; Ďurdík, M.; Jakl, L.; Skorvaga, M.; Marková, E.; Kochanová, D.; Vigasová, K.; a kol. Hodnotenie oxidačného stresu a genetickej nestability u obyvateľov v blízkosti základňových staníc mobilných telefónov v Nemecku. *Ekotoxikol. Bezpečný pre životné prostredie.***2024**, *279*, 116486. [CrossRef]
59. Circu, ML; Aw, TY Reaktívne formy kyslíka, bunkové redoxné systémy a apoptóza. *Voľné radikály. Biol. Med.***2010**, *48*, 749–762. [CrossRef]
60. Pacher, P.; Beckman, JS; Liaudet, L. Oxid dusnatý a peroxynitrit v zdraví a chorobách. *Fyziologická revízia.***2007**, *87*, 315–424. [CrossRef]
61. Takeshima, T.; Usui, K.; Mori, K.; Asai, T.; Yasuda, K.; Kuroda, S.; Yumura, Y. Oxidačný stres a mužská neplodnosť. *Reprodukčná lekárska biológia.* **2021**, *20*, 41–52. [CrossRef]
62. Devine, PJ; Perreault, SD; Luderer, U. Úloha reaktívnych foriem kyslíka a antioxidantov pri ovariálnej toxicite. *Biol. Reprod.* **2012**, *86*, 27. [CrossRef]

Vyhlásenie/Poznámka vydavateľa: Vyhlásenia, názory a údaje obsiahnuté vo všetkých publikáciách sú výlučne názormi jednotlivých autorov a prispievateľov a nie názormi MDPI a/alebo redaktora/editorov. MDPI a/alebo redaktor/editori sa zriekajú zodpovednosti za akékoľvek zranenie osôb alebo ujmu na majetku vyplývajúcu z akýchkoľvek nápadov, metód, pokynov alebo produktov uvedených v obsahu.