



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**Instituto Nacional de Perinatología
Isidro Espinosa de los Reyes**

**“Efecto de la energía electromagnética emitida
por telefonía celular sobre los espermatozoides
de pacientes infértiles.”**

T E S I S

Para obtener el Título de:

**SUBESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE LA
REPRODUCCION HUMANA.**

PRESENTA

Dr. Librado Cordero Hernández.

**Dr. FERNANDO GAVIÑO GAVIÑO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

**Dra. MIRNA GUADALUPE ECHAVARRIA SANCHEZ
DIRECTOR DE TESIS**

**Dr. GABRIEL ARTEAGA TRONCOSO
ASESOR METODOLOGICO.**



MEXICO, DF.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**Instituto Nacional de Perinatología
Isidro Espinosa de los Reyes**

**“EFECTO DE LA ENERGÍA ELECTROMAGNÉTICA
EMITIDA POR TELEFONÍA CELULAR SOBRE LOS
ESPERMATOZOIDES DE PACIENTES INFÉRTILES.”**

T E S I S

Para obtener el Título de:

**SUBESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE LA
REPRODUCCION HUMANA.**

PRESENTA

Dr. Librado Cordero Hernández.

**Dr. FERNANDO GAVIÑO GAVIÑO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO
DE ESPECIALIZACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

**Dra. MIRNA GUADALUPE ECHAVARRIA SANCHEZ
DIRECTOR DE TESIS**

**Dr. GABRIEL ARTEAGA TRONCOSO
ASESOR METODOLOGICO.**



MEXICO, DF.

2012

AUTORIZACIÓN DE TESIS

**“EFECTO DE LA ENERGÍA ELECTROMAGNÉTICA EMITIDA POR
TELEFONÍA CELULAR SOBRE LOS ESPERMATOZOIDES DE PACIENTES
INFÉRTILES.”**

**DRA. VIRIDIANA GORBEA CHÁVEZ
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**DR. FERNANDO GAVIÑO GAVIÑO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION
EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**DRA. MIRNA GUADALUPE ECHAVARRIA SANCHEZ
DIRECTOR DE TESIS
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**DR. GABRIEL ARTEAGA TRONCOSO
ASESOR METODOLÓGICO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

DEDICATORIA

A MI FAMILIA, ASESORES Y MAESTROS.

AGRADECIMIENTOS.

A mi familia por sus consejos y palabras de aliento que me hicieron crecer como persona y me han permitido cumplir mis objetivos, gracias por estar a mi lado siempre, en todo momento y ante cualquier circunstancia.

A mis distinguidos asesores y maestros, modelos de valores y sabiduría por su incondicional y generosa labor de transmisión del saber, y sus acertados consejos y sugerencias. Con respeto y admiración.

ÍNDICE.

Dedicatoria	III
Agradecimiento	IV
Capítulo 1.	
Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción	3
Planteamiento del Problema.....	7
Marco Teórico.....	10
Capítulo 2.	
Objetivos.....	32
Justificación.....	33
Materiales y Métodos.....	36
Capítulo 3.	
Resultados.....	45
Capítulo 4.	
Discusión.....	47
Conclusiones.....	52
Capítulo 5.	
Referencias Bibliográficas.....	53
Capítulo 6.	
Cuadros.....	61
Figuras.....	62
Capítulo 7.	
Anexos.....	65

CAPÍTULO 1.

RESUMEN.

Objetivo. Evaluar el efecto en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles expuestos a la energía de RF EM emitida por un celular.

Material y métodos. Se realizó un estudio experimental. Se evaluaron las muestras seminales de 30 pacientes con infertilidad, Se excluyeron del estudio, aquellos pacientes con alguna alteración severa en los parámetros seminales (<4% de morfología y movilidad < 15%). En los experimentos, espermatozoides obtenidos por “swim up” (realizado con su mismo plasma seminal), fueron expuestos al campo electromagnético que se emite por el equipo telefónico, a las distancias de 5, 10 y 20 cm. La evaluación de los parámetros seminales se realizó a ciegas por el mismo observador, de acuerdo a los criterios de la OMS 2010.

Resultados. La mediana en la densidad de potencia para los rangos del campo electromagnético bajo contenedor a 10, 20 y 40 cm fueron 189.35, 202.3 y 1569 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$, y fuera del contenedor fue de 4.23, 9.36 y 0.89 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ respectivamente. Se observó Incremento de 4 y 6 unidades porcentuales en la movilidad progresiva a 5 y 20cm en el grupo expuesto a la radiación. No se observaron diferencias significativas en cuanto a morfología y viabilidad al examinar los grupos.

Conclusiones. No se observaron efectos deletéreos en la calidad y viabilidad de los espermatozoides. El incremento en la movilidad espermática secundario a la exposición al campo pudiera estar en relación a la apertura de canales de Calcio.

Palabras claves: infertilidad, campo electromagnético, parámetros seminales.

ABSTRACT.

Objective. To assess the effect on the quality and viability of the sperm of infertile patients exposed to RF energy emitted by a cellular EM.

Material and methods. We conducted a pilot study to evaluate 30 semen samples to patients with a diagnosis of male infertility, were excluded from the study, patients with a severe alteration in seminal parameters (<4% morphology and motility <15%). In the experiments, sperm obtained by "swim up" (done with his own seminal plasma) were exposed to the electromagnetic field emitted by the phone cell at distances of 5, 10 and 20 cm. Evaluation of semen parameters was performed blind by the same observer, according to WHO criteria 2010.

Results. The median power density for the ranges of the electromagnetic field in container 10, 20 and 40 cm were 189.35, 202.3 and 1569 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ and out of the container was 4.23, 9.36 and 0.89 respectively $\mu\text{W}/\text{cm}^2$. Increase was observed 4 and 6 percentage units in rapidly progressive motility to 5 and 20 cm in the group exposed to radiation. No significant differences in morphology and viability to analyze the groups.

Conclusions. There were no deleterious effects on the quality and viability of sperm. The increase in sperm motility secondary to field exposure could be related to the opening of calcium channels.

Keywords: male infertility, electromagnetic field, semen parameters.

INTRODUCCIÓN

Los teléfonos celulares se han convertido en dispositivos de comunicación indispensables en la vida cotidiana. Este tipo de telefonía funciona a partir de diferentes longitudes de onda difiriendo en los límites permitidos por la normatividad internacional en los distintos países por lo cual han aumentado las preocupaciones acerca de la posible efectos deletéreos como consecuencia de la exposición a la energía de radiofrecuencia electromagnética (RF EM) que emiten estos dispositivos sobre la salud humana. Durante años las empresas de telefonía han asegurado a la gente que los teléfonos celulares son perfectamente seguros. Sin embargo, los efectos adversos de RF EM que emiten los teléfonos celulares en los sistemas biológicos han sido reportados en la literatura, entre estos efectos se ha sugerido que pudiera reducir el potencial fertilizante de los hombres.¹⁻⁴

Secundario a todas las evidencias que se fueron presentado en relación a los probables efectos no deseados de esta tecnología, en 1996, como parte de la protección a la salud, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció el proyecto internacional EMF para evaluar la evidencia científica de los posibles efectos a la salud por la exposición de ondas de frecuencia electromagnética en el rango de 30Hz. a 300Ghz. A pesar de muchas investigaciones que se han realizado en este campo, los efectos dañinos potenciales de la radiación emitida por los teléfonos celulares aun resultan controversiales. Los teléfonos celulares operan en rangos de frecuencia entre 400 MHz y 2000 MHz y emiten ondas de radiofrecuencia electromagnética que actúan sobre las células a través de efectos térmicos, ópticos y no térmicos. (Figura 1). Acerca de los efectos térmicos existen

múltiples reportes de las alteraciones potenciales modulados por las ondas de radiofrecuencia electromagnética sobre las células del cerebro, corazón y tiroides induciendo hipotiroidismo e infertilidad.^{5, 6} Las investigaciones se han dirigido hacia el estudio de los efectos no térmicos de la RF EM sobre los espermatozoides, a pesar de la evidencia de una reducción en la calidad espermática y un incremento simultáneo en el número de parejas infértiles en las últimas décadas no se ha establecido una asociación con el incremento en el uso de esta tecnología.⁷

A pesar de que los estudios previos sugieren una relación de causalidad por el uso de teléfonos celulares en la infertilidad masculina, el modo de acción de la RF EM emitida por los teléfonos celulares en el sistema reproductivo masculino aún no está claro. La exposición a la radiación RF EM que genera elevación de la temperatura escrotal puede provocar daños en el ADN de los espermatozoides de mamíferos, aunque los mecanismos subyacentes no han sido visualizados. Varios investigadores han demostrado un aumento en la fragmentación del ADN por efecto térmico en una variedad de células humanas y animales. Lay y Singh demostraron que la cadena de ADN se fragmenta cuando se utiliza microondas de baja intensidad de RF EM en las células de cerebro de rata,^{8, 9} en su estudio, con dos horas de exposición continua a 2450 MHz y con pulsos de emisión de RF EM se produjo un aumento dosis-dependiente en la fragmentación del ADN. Por su parte Aitken y colaboradores (2005) demostraron daño significativo a nivel mitocondrial y en el genoma nuclear de los espermatozoides extraídos del epidídimo de ratones con una fuente emisora de RF EM de 900 MHz por doce horas al día durante una semana. Cabe señalar la vulnerabilidad del

espermatozoide a sufrir alteraciones en el ADN por una capacidad disminuida de reparación del mismo.¹⁰ La inducción del daño en el ADN de los espermatozoides se ha asociado con la infertilidad masculina, pérdida precoz del embarazo y morbilidad en la descendencia.¹¹ Aunque los estudios existentes en humanos no cuentan con adecuados diseños metodológicos, un apropiado tamaño de muestra y un fehaciente seguimiento en la evolución del fenómeno para demostrar el daño al ADN en las células del espermatozoide debido a la exposición a la RF EM. También existen estudios que han mostrado alteración en la motilidad del espermatozoide,^{1, 12} y se conoce que existe una correlación negativa entre motilidad espermática y los daños a la cromatina del espermatozoide.¹³

En las Guías de la Academia Europea de Uro-Andrología, las causas idiopáticas de infertilidad alcanzan el 31% del total de los factores asociados a la infertilidad. Es de suponer que la carencia de causa conocida puede ser debida a los eventos biológicos que se suceden en el proceso de fertilización, en la cual inciden los efectos tóxicos-ambientales.

En el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPer) como centro de referencia de tercer nivel de atención se atienden parejas con diagnóstico de infertilidad. Entre las causas de infertilidad masculina pudiera considerarse la exposición a los campos electromagnéticos emitidos por los teléfonos celulares; los resultados aún resultan controversiales por lo que la participación del Instituto coadyuva a discernir las incógnitas planteadas y permite sugerir nuevas líneas de investigación acerca de esta energía.

De tal forma en esta tesis se resumen los efectos observados de la RF EM emitida por un celular en la calidad y viabilidad del espermatozoide de pacientes infértiles, el objetivo de nuestros resultados sería cooperar al panorama de esta línea de investigación, sin conseguir esclarecer aun la necesidad real de medidas de protección al usuario de telefonía celular a fin de preservar su fertilidad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de la telefonía móvil ha aumentado dramáticamente entre la población y las fuentes de información indican que en el 2005 hubo más de mil millones de usuarios en todo el mundo¹⁴. Como consecuencia de ello, existe un mayor interés sobre los riesgos para la salud pública debido a la exposición de los campos de radiofrecuencia electromagnética emitida por los teléfonos celulares.^{15,16} Aunque existen pocos estudios epidemiológicos disponibles para evaluar si la exposición a la radiofrecuencia se relaciona al desarrollo de patologías específicas,^{17,18} algunas evidencias sugieren un incremento en el riesgo para cáncer, leucemia o linfomas que se han presentado en la literatura científica.¹⁹⁻²⁴ Desde 1996, como parte de la protección a la salud, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció el proyecto internacional EMF para evaluar los posibles efectos a la salud debido a la exposición de las ondas de radiofrecuencia electromagnética en el rango de 30Hz. a 300Ghz. A pesar de muchas investigaciones que se han realizado en este campo, los potenciales efectos dañinos esperados por la radiación electromagnética emitida por los teléfonos celulares aun resultan controversiales.

Las estaciones de base telefónica y los teléfonos celulares operan en rangos de frecuencia entre 400 MHz y 2000 MHz y emiten ondas electromagnéticas de baja frecuencia que pueden afectar la estructura tridimensional de las proteínas eucariotas sugiriendo alteración de la funcionalidad biológica en las células vivas.²⁵ Múltiples reportes de los efectos que son modulados por la energía electromagnética han sido evaluados en las células de tiroides y en

líneas celulares transformadas de cerebro y linfoides induciendo apoptosis e hipotiroidismo.⁵ Otros demuestran que la emisión de 1800 MHz de radiofrecuencia (Sistema Global para diferentes modulaciones de la comunicación móvil) no afecta a la apoptosis ni a las proteínas de choque térmico (70 KDa) en las células mononucleares de sangre periférica de donantes jóvenes y adultos.^{26, 27} A nivel celular, alteraciones en la membrana se han relacionado con la emisión electromagnética a baja longitud de onda. Se ha demostrado que estas radiaciones afectan la homeostasis de diversos canales iónicos en las membranas celulares²⁸ aumentando el paso de calcio a través de la membrana,²⁹ proceso en el cual están involucrados los radicales libres de oxígeno,³⁰ además Falzone y colaboradores establecen en su estudio que la radiofrecuencia electromagnética emitida por los teléfonos móviles no induce efectos pro-apoptóticos en los espermatozoides humanos.⁹

La infertilidad afecta aproximadamente del 15 al 20% de las parejas en edad reproductiva y cerca de la mitad de estos casos está asociada al factor masculino. No existen estudios epidemiológicos que evalúen esta relación y los ensayos experimentales en especies inferiores y algunos en humanos sugieren que estas ondas de energía pueden inducir efectos deletéreos sobre la función testicular y la línea germinal. Además, algunos estudios advierten sobre los efectos de estas radiaciones sobre la reproducción principalmente en la reducción en el número de espermatozoides y menor desarrollo en los túbulos seminíferos en ratas³¹ y el aumento de la mortalidad embrionaria de pollos.^{32, 33} Lo anterior daría una imagen de que las ondas electromagnéticas

emitidas por los teléfonos celulares pudieran interferir con la espermatogenesis normal y resultar en una significativa disminución de la motilidad espermática en la población masculina susceptible.

Actualmente existen informes sin la repetición de tales efectos y son sólo algunos estudios los que sugieren que la energía de radiofrecuencia de los teléfonos móviles o estaciones base de telefonía móvil podría causar sutiles cambios bioquímicos y fisiológicos. Sin embargo, en ninguno de los estudios se ofrece pruebas sólidas de que la telefonía celular puede suponer un peligro para la salud, de ahí que es necesario realizar investigación que coadyuve a resolver la incógnita generada entre el papel que juega este tipo de emisiones electromagnéticas y la disminución de la fertilidad masculina por la incongruencia de los resultados detectada en otros estudios.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.

¿La exposición a las ondas electromagnéticas de radio frecuencia emitidas por telefonía celular puede condicionar a efectos deletéreos en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles?

¿Existe una relación dosis-respuesta entre el rango de alcance del campo electromagnético emitido por el teléfono celular en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles?

MARCO TEÓRICO

1.1 LA INFERTILIDAD MASCULINA

Aproximadamente del 15% al 20% de las parejas humanas son infértiles, y de estas el 50% se deben a factor masculino.³ Aunque la fertilidad global no parece haber disminuido, hay evidencia de una reducción en la calidad espermática y un incremento simultáneo en el número de parejas infértiles en las últimas décadas.⁷

La infertilidad está definida como la incapacidad para concebir después de un año de relaciones sexuales sin protección. Las alteraciones pueden ser causadas por baja producción espermática (oligozoospermia), baja motilidad (astenozoospermia) o anomalías en la morfología (teratozoospermia). Sin embargo, generalmente una combinación de éstas, astenoteratozoospermia (AT), es considerada como la causa más común de infertilidad masculina.⁶

Las causas de infertilidad por factor masculino son variadas: defectos anatómicos, problemas inmunológicos, endocrinopatías, defectos eyaculatorios, infecciones y exposición ambiental, entre otras. Además, puede llegar seguida de deficiencias de gonadotropinas, que inducen y mantienen la espermatogénesis, lo cual provee la base directa de la terapia hormonal. Las alteraciones testiculares directas a las células germinales masculinas, células de Sertoli y Leydig son una de las mayores causas de infertilidad. Este daño lleva a un incremento compensatorio de las gonadotropinas, el cual compensa los defectos menores en la función testicular. Por el contrario, un incremento en la testosterona puede inhibir el restablecimiento de la espermatogénesis.

La organización mundial de la salud define como un inadecuado funcionamiento reproductivo a la presencia de una o más anormalidades en el análisis seminal, para esto, esta organización ha provisto de valores de referencia y guías de valoración estandarizada de los parámetros seminales los cuales son de gran importancia para el control de calidad. En base a los valores de normalidad a que esta organización hace referencia se determina la calidad del espermatozoide siendo sus parámetros básicos, la concentración, movilidad y morfología del gameto.⁷

Estas anormalidades en el análisis seminal puede ser indicativo de problemas en el tracto reproductivo masculino, los criterios establecidos por la organización mundial de la salud son los criterios más usados para el factor masculino.

Los valores de referencia establecidos por la organización mundial de la salud son tomados de datos caracterizados de la calidad seminal de hombres fértiles, quienes fueron padres o tuvieron un embarazo en 12 meses o menos, los datos se obtuvieron de entre 400 y 1900 muestras de semen en 8 países, en 3 continentes.²⁹

La evaluación inicial del hombre que forma parte de una pareja infértil debe incluir un examen clínico integral, con particular énfasis en la historia de su sistema endocrino-reproductor; al mismo tiempo se deben solicitar por lo menos dos análisis del semen. Es criterio unánimemente aceptado que el espermograma es el estudio fundamental del hombre que consulta por infertilidad. El análisis del semen provee información esencial a partir de la cual se orientan los estudios subsiguientes.

El semen está compuesto por espermatozoides y plasma seminal. El plasma seminal se compone de la secreción de las glándulas sexuales accesorias: principalmente el epidídimo, las vesículas seminales y la próstata.^{30, 34} Durante la eyaculación normal, los fluidos de la próstata y el epidídimo son expulsados primero.³⁵ Esta primera fracción de la eyaculación tiene un volumen de 0,5-1,0ml, es líquido, y tiene un pH ácido (6.0-6.5). La segunda fracción contiene las secreciones de las vesículas seminales; es espesa, tiene un pH alcalino y el volumen normal varía entre 1,0 y 5,0 ml. In vitro, el coágulo se licua después de aproximadamente 30 minutos gracias a la actividad enzimática del antígeno prostático específico (PSA).³⁶

El plasma seminal normal es relativamente claro. Se puede enturbiar debido a la presencia de moco o un aumento del número de glóbulos blancos. La escasa licuefacción traduce disminución de la secreción de PSA por la próstata.³⁷ Estas anomalías pueden alterar la movilidad y morfología de los espermatozoides disminuyendo la probabilidad de concepción.

Existe evidencia que sugiere que el plasma seminal anormal puede afectar la función espermática y la estabilidad de la cromatina,^{37, 38} esto debido a la cantidad inadecuada de sustancias tales como zinc o calcio. Además, las secreciones del epidídimo y la próstata son las principales fuentes de antioxidantes en el semen. La alteración en las funciones del epidídimo puede estar asociada con disminución de antioxidantes en el plasma seminal, provocando un desequilibrio entre el estrés oxidativo y protección antioxidante.³⁹

1.2 ESPERMATOZOIDE

Estructuralmente el espermatozoide se divide en:

Cabeza. Es el núcleo, con ADN súper enrollado. El citoesqueleto participa en el soporte de la membrana plasmática y de la membrana acrosomal y algunos de sus elementos son termosensibles. El principal elemento del citoesqueleto de la cabeza del espermatozoide es la teca perinuclear (TP), que es una capsula rígida que cubre el núcleo del espermatozoide de mamíferos y tiene como función la unión de las membranas espermáticas y la preservación de su integridad. La TP esta subdividida en dos regiones: las capas subacrosomal (sirve para anclarlo a las vesículas derivadas del aparato de Golgi) y postacrosomal. La capa postacrosomal se considera que participa en la activación del ovocito durante la fertilización y es el sitio para la actina en los espermatozoides de algunos mamíferos.⁴⁰

Flagelo. Es la parte encargada del movimiento, se divide en cuatro regiones; la pieza de conexión, que une a la cabeza con el flagelo, la pieza media, que es también llamada cuello y donde se encuentran las mitocondrias en un arreglo helicoidal, la pieza principal que abarca la mayor parte del flagelo utilizado en la propulsión, y la vaina fibrosa o parte terminal de la cola. Cada región tiene funciones específicas en el movimiento, reconocimiento del ovocito y la fecundación.⁴⁰

Membrana del espermatozoide

Bioquímicamente está constituida por una bicapa lipídica y proteínas unidas por interacciones no covalentes, los lípidos están dispuestos en forma de una doble capa continua de 4 a 5 nm. de grosor. Las proteínas que están incluidas en la

bicapa lipídica realizan diversas funciones, como son: el transporte de las moléculas específicas hacia el interior y exterior de la célula; mismas que actúan como enzimas o catalizadores de las diversas reacciones y funcionan como receptores en la transducción de señales. Además de lípidos y proteínas, la membrana también contiene carbohidratos, que en la mayoría de los casos son cadenas de azúcares simples o polisacáridos.⁴⁰

Se conoce además que hay modificaciones lipoproteicas membranales que:

- a) Permiten la exteriorización de receptores,
- b) Activan canales iónicos que intervienen en la activación de mecanismos de transducción (flujo de calcio, síntesis de AMPc, fosforilación-desfosforilación de proteínas).
- c) Cambian el metabolismo energético que conducen a la desestabilización de la membrana plasmática a nivel de la región acrosómica y la hiperactivación del movimiento flagelar. Estos cambios permiten al espermatozoide responder a inductores específicos y experimentar la reacción acrosomal al fin de la capacitación.

Los lípidos componen entre el 30 y el 50% de la membrana y de algún modo se encuentran anclados a su posición. Aspecto que resulta importante para la fertilización pues la fusión de los gametos masculino y femenino, requiere la participación particular de un microambiente de lípidos. Se ha determinado que en la superficie de la membrana del espermatozoide existe un alto nivel de fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, difosfatidilglicerol, esteroles y lípidos neutros, representando el 70-80%, así como un alto nivel de ácidos grasos y algunos glucolípidos, que al parecer tienen una función importante, aunque no son tan

abundantes como los fosfolípidos o esteroides, sumamente importantes para el espermatozoide, pues además se ha observado que el cambio en la composición de lípidos de la membrana plasmática es una de las principales características de la maduración espermática, demostrándose, que el total de lípidos en esta célula disminuye durante el trayecto del conducto epididimario, considerando que la fosfatidilcolina se encuentra estable en las tres principales regiones del epidídimo (cabeza, cuerpo y cola) y las cantidades de fosfatidiletalona, fosfatidilserina y fosfatidilinositol declinan significativamente hasta llegar a la región caudal. Asimismo, la distribución de las proteínas en la membrana también cambia marcadamente entre la cola, pieza media y el acrosoma, y cuando se compara las proteínas de la membrana espermática con las de otros tipos celulares, los espermatozoides, probablemente exhiben el mas alto grado de polaridad, reportándose entre las proteínas específicas de la membrana espermática: 1-,4 galactosiltransferasa, fucosiltransferasa,-d-manosidasa, sp56, p95, entre otras.⁴¹

De acuerdo al modelo de mosaico fluido, las proteínas o glicoproteínas están asociadas a la bicapa lipídica mediante uniones no covalentes o se asocian con interacciones electrostáticas.⁴¹

Las membranas son un ensamble dinámico de proteínas y lípidos capaces de responder a señales específicas que modifican las funciones celulares. Todas las membranas biológicas poseen moléculas superficiales que actúan como receptores para diversos compuestos exógenos como enzimas, hormonas y proteínas entre otras.⁴² En el caso de los espermatozoides se han identificado

receptores membranales a moléculas como AMPc, esteroides, glucosaminoglicanos, cuya actividad se modifica durante la capacitación.⁴¹

Los cambios en la topografía membranal dentro o fuera de las regiones específicas, pueden considerarse como adaptaciones fisiológicas a las modificaciones ambientales.⁴³ La redistribución o los cambios estructurales en la topología superficial de las moléculas membranales ocurren, a través de varios mecanismos:

- a) el enmascaramiento o desenmascaramiento de moléculas superficiales, tanto por adsorción de moléculas y arreglo de proteínas intrínsecas,
- b) la inserción local de las moléculas por adsorción del medio y/o supresión de las mismas.
- c) la migración de moléculas por la fijación de ligandos.⁴¹

Las proteínas intrínsecas y no absorbidas pueden ser modificadas por su extremo glicosilado, enmascarado o exteriorizándose, o al desplazarse lateralmente como se ha observado con anticuerpos monoclonales o lectinas, las cuales denotan que la reactividad depende del grado de capacitación. En el epidídimo, el espermatozoide presenta cambios en los dominios de los esteroides de membrana (complejos de esteroles-caveolina), confiriéndoles una distribución heterogénea.⁴¹ Estos dominios sirven para acoplar proteínas que inducirán diferentes rutas de señalización). La cabeza presenta dos subdominios:

- a) Acrosomal, presenta “balsas” lipídicas de composición ordenada de colesterol y esfingolípidos, anclados a caveolinas, inmersas en una membrana de composición “desordenada”,

b) Subacrosomal, rica en fosfolípidos. Las “balsas lipídicas” son importantes en la compartimentalización hecha durante la espermatogénesis para la señalización en regiones específicas de la célula. La capacitación *in vitro* cambia el patrón de fijación de estas moléculas a partir de caveolinas, proteínas especializadas en la regionalización de estas en sitios adecuados para un rearrreglo de la capa superficial de las glicoproteínas, dejando libre la región acrosomal; este reacomodo parece deberse al intercambio de glicoproteínas provenientes de las secreciones propias del aparato genital femenino y la membrana espermática. Se ha demostrado que los cambios le generan la capacidad fertilizante a los espermatozoides, son iniciados por la fosforilación dependiente de AMPc y simultáneamente por los cambios de los lípidos membranales.⁴¹

Un ejemplo claro de los cambios superficiales se ve con los grupos sulfhidrilo y amino. Si se bloquean estos sitios se interfiere con la reacción acrosomal. La composición de los fosfolípidos y su relación molar con el colesterol que regulan la fluidez y la permeabilidad iónica en las membranas cambia durante la capacitación, este fenómeno está asociado a proteínas captadoras de esteroides en el medio.⁴⁴

Movilidad espermática.

Está claramente demostrado que los cambios en la $[Ca^{2+}]$ son críticos no sólo para la capacitación espermática y la reacción acrosomal sino que también juegan un papel determinante en la motilidad espermática. Así, el movimiento flagelar se activa cuando el espermatozoide es liberado del epidídimo caudal; sin embargo, este proceso se hace mucho más aparente después de la

inseminación en donde un proceso llamado hiperactivación confiere al espermatozoide la capacidad de desprenderse de la mucosa del oviducto y penetrar la zona pelúcida del óvulo. Durante la hiperactivación ocurren fluctuaciones en la $[Ca^{2+}]$, principalmente en la región media del flagelo del espermatozoide, las cuales se asocian a oscilaciones en la frecuencia del ciclo o movimiento flagelar.

A diferencia de lo que ocurre en la capacitación y la reacción acrosomal, los canales iónicos activados por nucleótidos cíclicos han sido consistentemente implicados en la señalización intracelular que origina el movimiento flagelar en el espermatozoide. En 1994 Weyand y sus colaboradores identificaron y clonaron el primer canal activado por nucleótidos cíclicos o CNG (por sus siglas en inglés: cyclic nucleotide-gated channels) presente en el espermatozoide de mamífero. La expresión heteróloga de los canales CNG ha mostrado que pueden ser activados tanto por AMPc como por GMPc, y que son permeables a los iones de Ca^{2+} . Los estudios inmunológicos han mostrado que la expresión de los canales CNG del espermatozoide está restringida al flagelo, y los estudios funcionales sugieren que este tipo de canales puede ser el encargado de generar los microdominios de Ca^{2+} que constituyen las bases moleculares del control del movimiento flagelar.⁴⁵

Hiperactivación.

Son los cambios en la movilidad espermática, se caracterizan por:

- a) aumento en el movimiento y flexión del flagelo,
- b) gran amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza y
- c) trayectoria curva y tortuosa.

Esta genera la fuerza requerida para la penetración de la capa de células de la granulosa y la inserción inicial del espermatozoide con el ovocito.⁴⁶ Para inducirla se requiere Ca^{++} extracelular, elevación intracelular de AMPc y disminución del pH intracelular. La hiperactivación del flagelo se debe al Ca^{++} que se une a proteínas fijadoras en el brazo externo de la dineína (en la parte interna del flagelo) induciendo el movimiento asimétrico.⁴⁷ Este Ca^{++} proviene de varias fuentes:

- a) Reservas intracelulares mediada por los receptores de inositol 1,4,5 trifosfato (IP3),
- b) Mitocondria,
- c) o el que ingresa por sistemas de transporte $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ y $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{++}$ ⁴¹

Transporte de iones

Los espermatozoides mantienen gradientes iónicos precisos a través de su membrana plasmática, mismos que son regulados por ATPasas dependientes de $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ y Ca^{++} , así, la alteración en la concentración iónica activa adenilato ciclasas, enzimas de origen acrosomal y enzimas relacionadas con los cambios en la movilidad.⁴¹ Se ha reportado que una ATPasa dependiente de Ca^{++} en la membrana acrosomal externa, estimula la reacción acrosomal, y cuando esta última es inducida, se genera la desaparición del potencial de membrana. Se ha determinado también que, la exocitosis es inhibida por una alta concentración de Ca^{++} y un aumento en la captación de Ca^{++} y Na^{+} , así como la liberación de $\text{H}^{+}/\text{K}^{+}$. En mamíferos, se ha demostrado in vitro que un aumento en la relación $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ en el medio, aumenta la tasa de fecundación; aunque en otras especies el K^{+} extracelular inhibe la capacitación, posiblemente porque la

ATPasa funciona permitiendo el intercambio Na^+/K^+ y manteniendo una baja concentración intracelular de Na^+ .⁴¹

La zona pelucida (ZP) se une al menos con dos diferentes receptores en la membrana plasmática del espermatozoide. Uno es el G1 o tirocincinasa, que activa la fosfolipasa C1; el otro es un receptor tirocincinasa acoplado a fosfolipasa C. La unión con el receptor podría regular la adenilatociclasa provocando el aumento del AMPc y la activación de la proteincinasa, misma, que activa los canales de Ca^{++} dependientes de voltaje en la cara externa de la membrana acrosomal, la cual libera Ca^{++} desde el citosol del acrosoma. Este es el primer aumento de Ca^{++} , el cual promueve la activación de la fosfolipasa C. Los productos de la hidrolisis del fosfatidilinositol bifosfato por la fosfolipasa C, diacilglicerol e inositol-trifosfato, promueven la traslocación de la proteincinasa y su activación. La proteincinasa abre un canal de Ca^{++} dependiente de voltaje en la membrana plasmática, provocando un segundo aumento de Ca^{++} . El G1 puede también activar la fosfolipasa A2 para generar ácido araquidónico a partir de fosfolípidos de membrana. El ácido araquidónico será convertido a prostaglandina y leucocotrienos por las enzimas, ciclooxigenasas y lipooxigenasas, respectivamente. El aumento de Ca^{++} y el pH, sumado con lo anterior, provocan la fusión membranal y la exocitosis acrosomal.

Actividad enzimática

El inicio y mantenimiento de la movilidad espermática, están asociados con la activación de sistemas enzimáticos, hay evidencias de que la actividad de la adenilatociclasa aumenta durante la capacitación, la cual eleva la concentración

intracelular de AMPc. Estos cambios favorecen la movilidad vigorosa y estimulan la actividad de las cinasas dependientes de este nucleotido. La fosforilación de proteínas es inducida por AMPc e induce cambios fisiológicos de la membrana, a través de modificar las estructuras de las proteínas presentes en ella. La actividad de la fosfolipasa A está asociada con los eventos de fusión característicos de la reacción acrosomal. La acción de esta enzima sobre los fosfolípidos de la membrana provoca la acumulación de lisofosfolípidos, que son compuestos capaces de producir fusión y lisis membranar.⁴³

Capacitación espermática.

La capacitación es un proceso dinámico muy complejo que ocurre normalmente en el tracto genital femenino y que incluye, entre otros muchos fenómenos, una modificación en las propiedades de la membrana plasmática que le confieren al espermatozoide la capacidad de responder a los estímulos externos que desencadenan la reacción acrosomal y la subsecuente penetración del óvulo. Existen evidencias experimentales de que la albúmina sérica juega un papel determinante en los cambios membranales que ocurren en el espermatozoide durante la capacitación. Entre otros muchos cambios, se ha visto que la albúmina sérica incrementa la llamada corriente de ventana en las células espermátogénicas de ratón, es decir el influjo de Ca^{2+} que normalmente se observa durante el reposo.⁴⁸ En contraposición a este efecto estimulador, se ha visto que la aplicación de β - estradiol a concentraciones micromolares inhibe significativamente la actividad de los canales de Ca^{2+} en estas células.

Además de los cambios que ocurren en la $[Ca^{2+}]$, uno de los eventos centrales en el proceso de capacitación espermática es el desarrollo de una hiperpolarización de la membrana plasmática, que sabemos se asocia con un eflujo de K^+ .⁴⁹ Los estudios electrofisiológicos en las células espermáticas han resultado también de enorme utilidad para establecer el papel funcional de los canales de K^+ durante el proceso de capacitación del espermatozoide. Inicialmente Hagiwara y Kawa mostraron la presencia de una corriente de K^+ con características biofísicas y farmacológicas similares a las exhibidas por la corriente a través de canales del tipo rectificador tardío.⁵⁰ Investigaciones han mostrado que las células espermáticas del ratón a voltajes hiperpolarizantes presentan una corriente entrante no inactivante de rápida activación, sensible al pH, cuya magnitud depende del K^+ externo y que se bloquea con concentraciones micromolares de Cs^+ y Ba^{2+} . La presencia de este tipo de canales abre la posibilidad de que sean precisamente los canales de K^+ rectificadores entrantes los que determinen el potencial de reposo en las células espermáticas y en el espermatozoide maduro.⁵¹ Además, el cambio de pH que ocurre durante la capacitación podría activar estos canales e influir de manera importante en el desarrollo de este proceso: antes de la capacitación, el pH en el espermatozoide es relativamente ácido, lo que contribuye a prevenir el estado capacitado, prolongar la viabilidad de las células durante su estancia en el epidídimo y a inhibir la reacción acrosomal espontánea,⁵² mientras que durante la capacitación espermática ocurre un incremento en el pH (>0.2 unidades) como resultado de la activación de dos sistemas intercambiadores de protones, que podría aumentar $\sim 0.5-3$ veces la

probabilidad de apertura de los canales rectificadores entrantes. De esta manera, se ha propuesto que en condiciones fisiológicas el incremento en el pH durante la capacitación podría activar a los canales de K⁺ rectificadores entrantes permitiendo de esta manera un eflujo de iones K⁺, llevando el potencial de reposo del espermatozoide hacia el potencial de equilibrio para este ion e hiperpolarizando consecuentemente la membrana plasmática de las células.⁵¹

1.3 ENERGÍA ELECTROMAGNÉTICA.

Los campos electromagnéticos ocurren en la naturaleza y por lo tanto siempre han estado presentes en la tierra. Sin embargo, durante el siglo XX, la exposición ambiental a fuentes de energía electromagnética hechas por el hombre, se ha incrementado sin parar, debido a la demanda de electricidad, las siempre crecientes tecnologías inalámbricas y los cambios de prácticas laborales y conductas sociales. Todos estamos expuestos a una mezcla compleja de campos eléctricos y magnéticos a muchas frecuencias diferentes en el hogar y en el trabajo.

A diferencia de las radiaciones ionizantes encontradas en la parte más alta del espectro electromagnético, los campos electromagnéticos son muy débiles para romper enlaces que unen las moléculas que forman las células, por lo tanto no pueden producir ionización. Es por esto que los campos electromagnéticos son llamados radiaciones no ionizantes.

En general llamamos radiaciones electromagnéticas a ondas producidas por la oscilación de una carga eléctrica. Estas ondas electromagnéticas están formadas por componentes eléctricos y magnéticos ligados entre sí y presentan

las propiedades típicas del movimiento ondulatorio, como la difracción y la interferencia. Todas las radiaciones electromagnéticas, independientemente de su frecuencia, se transmiten a la velocidad de la luz sin necesidad de un medio físico de propagación, por tanto pueden viajar en el vacío.

Las radiaciones electromagnéticas se pueden describir en función de dos parámetros: su longitud de onda y su frecuencia. Cuanto menor es la longitud de onda, mayor es la frecuencia y la energía transmitida por la onda electromagnética.

La frecuencia de la radiación es el número de ciclos por segundo. Se mide en una unidad llamada hercio, Hz, que equivale a un ciclo por segundo. La longitud de onda es la distancia entre dos máximos y se suele medir en nanómetros. La radiación de los campos electromagnéticos no es ionizante, no induce ni radicales libres, ni expulsa electrones de los orbitales de los átomos sobre los que incide, por tanto no puede romper enlaces químicos. Su energía solamente puede inducir calor, que si persiste sí puede llegar a desnaturalizar proteínas termolábiles, aumentar la temperatura de la zona incidente, y ocasionar dolor en los seres vivos.

Se subdivide en dos zonas:

Radiofrecuencia que es la zona del espectro que comprende las radiaciones con frecuencias comprendidas entre los 100 KHz y los 300 GHz. Dentro de esta zona se sitúan las microondas y las ondas por las que transmiten las diferentes emisoras de radio.

Campos electromagnéticos de frecuencia inferior a la radiofrecuencia. Comprenden la zona del espectro entre 0 y 100 KHz. Dentro de esta zona

destacan los campos magnéticos de muy baja frecuencia denominados campos magnéticos de frecuencia industrial, que operan a 50 Hz en Europa y 60 Hz en EEUU. A frecuencias muy bajas (50 Hz), los campos magnéticos y eléctricos actúan por separado y cuando nos referimos a esta frecuencia, nos interesa concretamente el efecto que puede producir el campo magnético.

Las corrientes eléctricas existen naturalmente en el cuerpo humano y son una parte esencial en las funciones normales del cuerpo. Todos los nervios transmiten sus señales por impulsos eléctricos. La mayoría de reacciones bioquímicas, desde aquellas asociadas con la digestión hasta aquellas comprometidas con la actividad cerebral, incluyen procesos eléctricos.

Los efectos de la exposición externa a campos electromagnéticos en el cuerpo humano y células dependen principalmente de la frecuencia y de la magnitud o intensidad de los campos electromagnéticos. La frecuencia simplemente describe el número de oscilaciones o ciclos por segundo. En bajas frecuencias los campos electromagnéticos pasan a través del cuerpo mientras que en radiofrecuencias los campos son parcialmente absorbidos y penetran una pequeña profundidad en el tejido.⁵³

En radiofrecuencias los campos solo penetran a una corta distancia en el cuerpo, la energía de estos campos es absorbida y transformada en el movimiento de las moléculas. La fricción entre las moléculas, que se mueven rápidamente, da como resultado un incremento en la temperatura.

La exposición a campos de radiofrecuencia puede causar calentamiento o inducir corrientes eléctricas en los tejidos biológicos y afectar al metabolismo.

A frecuencias bajas el efecto dominante de la exposición es la inducción de corrientes eléctricas en el organismo. La interacción de campos eléctricos variables en el tiempo con los tejidos biológicos que también poseen una diferencia de carga eléctrica en el interior y el exterior de la membrana celular tiene como consecuencia el aumento de flujo de cargas eléctricas, la formación de dipolos y la reorientación de los dipolos eléctricos presentes en la membrana.

Los campos de radiofrecuencia inducen momentos en las moléculas que tienen como consecuencia desplazamiento de iones desde posiciones estables, vibraciones entre las capas sobre todo entre electrones e iones y rotación y reorientación de moléculas dipolares como el agua.

Los campos de radiofrecuencia afectan a una variedad de propiedades de los canales iónicos como son, la disminución de la formación de canales y de la frecuencia de su apertura. Así parece que, bajas intensidades de RF afectan a los canales de membrana.⁵⁴ El efecto de las RF sobre el transporte de cationes como el Na⁺ o el K⁺ a través de la membrana indica que los cambios pueden suceder sin producirse alteraciones de la temperatura.⁵⁵ Este efecto se produce en un rango de SAR de 0,2-200 W/Kg y a frecuencias de 27 MHz a 10 GHz. Otros efectos sobre el flujo iónico, como son alteraciones en la bomba de sodio potasio y la ATPasa en los glóbulos rojos ha sido atribuida a la interacción de los campos de RF con moléculas en la membrana que contienen estos iones, posiblemente esta interacción está mediada por las transiciones de fase de la membrana.⁵⁶

Los radicales libres también se han propuesto como participantes en las transiciones de fase producidas por las RF en los lípidos de membrana expuestos a campos de RF de 2,45 GHz a 0,2 W/Kg (Phelan 1992). Estudios in vitro con células cerebrales humanas han encontrado pérdida de Ca^{++} en las terminaciones nerviosas sometidas a RF moduladas entre 147 y 450 MHz.⁵⁷ Efectos similares se observaron en sinaptosomas y en células de neuroblastoma humano expuestas a radiofrecuencia.³²

El debate está centrado en el cuestionamiento de si la exposición por periodos largos, a niveles por debajo de los límites de exposición puede causar efectos adversos en la salud.

La organización mundial de la salud inicio el proyecto internacional CEM en 1996 para determinar los riesgos a la salud derivados de los campos electromagnéticos estáticos y variables en el rango de 0 a 300 GHz, y entre sus resultados destaca que a 10 años de estudio no se podía determinar si existía algún riesgo asociado con el uso de un teléfono móvil así que es prematuro decir que no hay riesgos asociados en cuanto a la producción de cáncer.⁵³

Los países seleccionan sus propios estándares nacionales para exposición a campos electromagnéticos. Sin embargo la mayoría de los estándares nacionales están basados en las recomendaciones establecidas por la Comisión Internacional de Protección contra la Radiación no Ionizante (ICNIRP). Esta organización no gubernamental formalmente reconocida por la OMS evalúa los resultados científicos en todo el mundo y produce recomendaciones sobre límites de exposición, los cuales son revisados periódicamente y actualizados si es necesario.

Las guías de esta comisión cubren el rango de frecuencia de las radiaciones no ionizantes de 0 a 300 GHz. Están basados sobre revisiones completas de toda la literatura revisadas por pares y publicada. Los límites de la exposición están basados en los efectos de la exposición aguda de corto plazo, antes que en la de largo plazo ya que esta es considerada insuficiente para establecer límites cuantitativos.

Los límites varían con la frecuencia y por lo tanto son diferentes para campos de baja frecuencia y campos de alta frecuencia como los teléfonos móviles.

El máximo poder al que los teléfonos móviles GSM tienen permitido operar es entre 2 W (900MHz) y 1 W (1800 MHz) (ICNIRP, 1998). El parámetro fundamental para valorar la cantidad de energía de radiofrecuencia absorbida es la tasa específica de absorción que se expresa en watts por kilogramo, los campos de radiofrecuencia penetran al cuerpo de tal forma que disminuyen con el incremento de la frecuencia. La tasa específica de absorción varía en las distintas partes del cuerpo debido a los cambios de conductividad en los distintos tejidos y las fluctuaciones en los campos eléctricos con la posición. La ANSI/IEEE establece los límites promedio de SAR a 0.08 W/kg en todo el cuerpo y 1.6 W/Kg por cada gramo de tejido.

Estos límites han sido establecidos por los efectos térmicos observados de valores en la Tasa específica de absorción de 1 a 4 W/Kg. Un valor de Tasa específica de absorción de 4W/kg está asociado con un incremento de la temperatura de más de 1 grado centígrado y aunque la sensibilidad en los distintos tipos de tejido, el daño térmico puede generar efectos irreversibles.

Estos límites de exposición no toman en cuenta los efectos no térmicos y el umbral al cual estos pueden ocurrir.

El daño celular puede ser debido a varios factores (calor, especies reactivas de oxígeno, radiación, entre otros.) pudiendo existir un vínculo entre muerte celular (apoptosis o necrosis), e inicio de una respuesta de estrés celular, la interacción entre estas dos paradójicas vías determina la muerte de las células y tiene un profundo efecto de daño celular.

Existen mecanismos físicos que permiten explicar cómo interaccionan los campos eléctricos y magnéticos con los sistemas biológicos, estos mecanismos pueden ser de naturaleza térmica o no térmica. La interacción de una emisión electromagnética con un sistema biológico depende, como ya hemos dicho anteriormente, de la frecuencia de la emisión.

Las radiofrecuencias y las microondas pueden causar efectos al inducir corrientes eléctricas en los tejidos, produciendo calor. La eficiencia con la cual una emisión electromagnética puede inducir corrientes eléctricas y por tanto, calor, depende de varios factores: la frecuencia de la emisión y del tamaño, la orientación y las propiedades eléctricas del cuerpo que está siendo calentado. A frecuencias inferiores a las utilizadas por la radio AM, el acoplamiento de las emisiones electromagnéticas con los cuerpos de los seres vivos es débil. Por ello, esos CEM son muy poco eficientes en la inducción de corrientes eléctricas capaces de producir calor.

La profundidad a la que penetran los CEM de frecuencias superiores a 10 GHz es muy pequeña, resultan absorbidos en gran medida por la superficie corporal y la energía depositada en los tejidos subyacentes es mínima. Una forma de

caracterizar estos campos es a través de su densidad de potencia, que se mide en vatios por metro cuadrado (W/m^2). Esta densidad de potencia es la magnitud que hay que restringir para prevenir un calentamiento excesivo de la superficie corporal a estas frecuencias. Densidades de potencia muy superiores a $10W/m^2$ son capaces de provocar efectos adversos a corto plazo, tales como cataratas (si inciden directamente sobre el ojo) o quemaduras.

En lo concerniente a infertilidad masculina y exposición a ondas de radiofrecuencia emitidas por un celular encontramos distintas publicaciones, entre ellas en el 2006 el autor Ozman Eroglu y colaboradores publicaron en Archives Medical research los efectos de la radiación electromagnética emitida por un celular en la movilidad espermática, ellos estudiaron el efecto en 27 donadores voluntarios sanos en quienes se dividió la muestra en dos alícuotas iguales y el tiempo de exposición fue de 5 minutos a una distancia de 10cm. observándose disminución de la movilidad progresiva rápida y lenta siendo esta estadísticamente significativa.

En un estudio publicado en enero de 2008 en la revista Fertility and Sterility del autor Ashok Agarwal y colaboradores se valoraron los efectos del uso del teléfono celular sobre el análisis seminal de hombres atendidos en una clínica de infertilidad observaron disminución en la cantidad de espermatozoides así como en su movilidad, morfología, y viabilidad. La disminución en estos parámetros fue dependiente de el tiempo de exposición diaria al teléfono celular e independiente de la calidad inicial del semen, para esto estudiaron 361 hombres que acudieron a valoración por infertilidad y estos fueron divididos en cuatro grupos de acuerdo al uso del teléfono celular, en el grupo A no hubo uso,

el grupo B lo usaba menos de 2 horas por día, el grupo C entre 2 y 4 horas por día y el grupo D más de 4 horas por día.⁴

Posteriormente en octubre 2009 en la misma revista se publicó otro estudio por el mismo autor en el que se valoraron los efectos de las ondas de radiofrecuencia electromagnética sobre una muestra de semen, en un estudio piloto in vitro, en 23 pacientes donadores sanos y 9 pacientes con diagnóstico de infertilidad y concluyeron que estas ondas pueden causar estrés oxidativo en el semen y afectar negativamente a los espermatozoides y dañar la fertilidad masculina, para ello además de medir los parámetros seminales de acuerdo a la OMS, examinaron los efectos de las ondas de radiofrecuencia sobre los niveles de especies reactivas de oxígeno, capacidad antioxidante total e integridad del DNA.

En la actualidad las investigaciones se han concentrado en la interrogante de si es que las exposiciones de bajo nivel por un periodo largo aun a niveles tan bajos como para no causar incrementos significativos de temperatura, podrían causar efectos adversos a la salud.

CAPÍTULO 2.

OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles expuestos a la energía de RF EM emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800 MHz durante cinco minutos en el modo de llamada.

OBJETIVOS PARTICULARES.

Establecer la métrica en la densidad de potencia emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800MHz a distancias equidistantes cinco, diez y veinte centímetros durante cinco minutos en el modo de llamada.

Determinar los efectos en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles, en relación a la dosis-respuesta, generada por el rango de alcance de la energía de RF EM emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800 MHz, durante cinco minutos en el modo de llamada.

JUSTIFICACIÓN

La coparticipación del varón en la fertilidad humana es del 50%, de ahí la importancia de estudiar el aporte del factor masculino en la infertilidad. Principalmente, la contribución del factor masculino se diagnostica por la alteración de algunos de los parámetros seminales. En el 30-40% de los casos, ningún factor de infertilidad masculina es identificada (infertilidad masculina idiopática). Estos son hombres sin antecedentes de problemas de fertilidad y tienen resultados normales en la exploración física y endocrina. El análisis seminal, sin embargo, revela una disminución en el número de espermatozoides (oligozoospermia), disminución de la motilidad espermática (astenozoospermia) y muchas formas anormales de espermatozoides (teratozoospermia), estas anomalías en el esperma frecuentemente se presentan juntas y son llamadas como síndrome de oligo-asteno-teratozoospermia (OAT) ó de oligoteratozoospermia (OT) ó de astenoteratozoospermia (AT) cuyo origen puede ser multifactorial.

En el 2006, una encuesta poblacional realizada por el Instituto Nacional de Salud Pública (ENADID-2006) muestra que 44.7 millones de hombres están en edad reproductiva (15-44 años). Considerando la estimación internacional del 15% de parejas infértiles se sugiere que 6.705 millones estarían afectadas y con factor masculino puro al menos de 4.023 millones de hombres. En las Guías de la Academia Europea de Uro-Andrología, las causas idiopáticas de infertilidad alcanzan el 31% del total de los factores asociados a la infertilidad. Es de suponer que la carencia de causa conocida puede ser debida a los

eventos biológicos que se suceden en el proceso de fertilización, en la cual inciden los efectos tóxicos-ambientales.

Por otra parte, en México, uno de cada cinco hogares cuenta con teléfono fijo, sin embargo, la mayoría de los que no tienen un teléfono fijo hoy en día tienen servicio telefónico en la forma de uno o más teléfonos celulares (INEGI, 2010). Cabe mencionar que según la Comisión Federal de Telecomunicaciones en el 2009, la cifra de usuarios de telefonía celular alcanzó una cifra de 76 millones de personas esto significa una penetración del 70.3% en la población mexicana, de ahí que el impacto en el mercado de este tipo de tecnologías sea cada vez mayor. Durante años la posibilidad de un peligro para la salud planteado por la radiación electromagnética del teléfono móvil ha sido investigada, aunque la relación de causalidad entre esta radiación y cualquier enfermedad permanece sin comprobarse.⁶ Los recientes informes de que la radiación emitida del teléfono móvil podría afectar la fertilidad masculina, ha despertado el interés en examinar los efectos de la radiación en espermatozoides humanos.

Las preguntas científicas sobre los efectos a la salud reproductiva debida la energía electromagnética a bajos niveles de exposición han sido desde hace mucho tiempo difícil de resolver. A menos que nuevas metodologías se desarrollen, es probable que la situación actual continúe, con los organismos de telecomunicaciones y de salud dispuestos a certificar que con un nivel bajo de exposición a la energía de radiofrecuencia (por debajo de las directrices internacionales) se tenga la seguridad de los equipos de telefonía, pero que en realidad esto sea peligroso para ciertas personas. Existe la necesidad de

una evaluación cuidadosa de los datos científicos obtenidos en pacientes vulnerables para la armonización de las normas de bioseguridad mexicana, que muestran a nivel internacional grandes variaciones en los niveles de exposición. El Instituto Nacional de Perinatología (INPer) estará tomando un papel de liderazgo en estas trascendentes tareas de armonización.

MATERIAL Y MÉTODOS.

2. DISEÑO DEL ESTUDIO.

2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Experimental.

2.2 TIPO DE DISEÑO.

Estudio simple al azar.

2.3 CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO.

Prospectivo, analítico.

2.4. METODOLOGÍA.

Es un estudio de tipo experimental en el cual se revisaron dos grupos de estudio de 15 muestras seminales clasificados con normozospermia y astenozoospermia de acuerdo a los criterios de la OMS. Para esto el experimento se dividió en dos fases la primera (experimento 1) evaluó la métrica de la densidad de potencia emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800 MHz en el modo de llamada, durante cinco minutos a las distancias de cinco, diez y veinte cm. En la segunda fase (experimento 2) se analizó la afectación de los espermatozoides en cuanto a calidad y viabilidad, después de ser expuestos a la energía electromagnética emitida por el celular.

En el experimento 1 se realizaron cuatro repeticiones, en las que se cuantificó mediante un medidor de campos electromagnéticos (Extech, 480836, USA) el promedio máximo de la densidad de potencia emitida por el teléfono celular a las distancias de cinco diez y veinte centímetros durante cinco minutos en el modo de llamada, bajo condiciones de aislamiento en un contenedor de micro ondas y bajo

condiciones ambientales con la finalidad de evaluar si existía algún factor de confusión externo.

Una vez evaluados los resultados del componente físico, se inicio el experimento 2, en este a la muestra seminal, una vez homogenizada, se tomaban 10microlitros para realizar una espermatobioscopia basal, y en base a esta incluir a los sujetos de estudio. Las muestras que se incluyeron en el estudio, fueron sometidas a centrifugación a 1200 revoluciones por minuto durante 10 minutos, para separar la fracción del plasma seminal. Nuevamente el plasma obtenido fue centrifugado a 3500 revoluciones por minuto durante 10 minutos, para eliminar detritus y clarificar el plasma seminal, posteriormente el plasma seminal es filtrado en membrana de 0.22 micras, la pastilla restante se conservo a temperatura corporal mediante baño María, el plasma seminal filtrado se añadió a la pastilla para que mediante la técnica de Swim-up se obtuvieran los espermatozoides de mejor calidad en la parte superior. La parte superior obtenida se coloco en un nuevo tubo, se homogenizo, y de ahí se tomaron alícuota de 200mcl, conteniendo $2-4 \times 10^6$ espermatozoides para su exposición a la RF EM emitida por el celular durante cinco minutos en el modo de llamada a las diferentes distancias. Una alícuota sin exposición fue utilizada como control. La lectura microscópica de las células se realizo por un observador cegado para el tratamiento.

LUGAR Y DURACIÓN.

Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Andrología, durante el periodo de junio del 2010 a junio del 2011.

2.5 UNIVERSO, UNIDADES DE OBSERVACIÓN, MÉTODOS DE MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

UNIVERSO: Treinta pacientes masculinos infértiles que cumplieron con los criterios de inclusión.

UNIDAD DE OBSERVACION: Espermatozoides de pacientes infértiles.

METODO DE MUESTREO: Obtención de gametos masculinos a partir de muestras seminales.

TAMAÑO DE LA MUESTRA: Estudio preliminar.

2.6 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Espermatozoides de pacientes infértiles atendidos en la clínica de andrología con astenozoospermia y/o normozoospermia.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Espermatozoides de muestras seminales con morfología espermática menor de 4% o índice de movilidad severo (0.15) en el seminograma basal.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Escasa recuperación de espermatozoides (1- 2 espermatozoides por campo), posterior al “swim up”.

2.7 VARIABLES EN ESTUDIO.

2.7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES.

Densidad de potencia de exposición a las ondas electromagnéticas de radiofrecuencia emitidas por un celular a distancias equidistantes.

Definición conceptual.

Es la medición de la potencia absorbida por una persona expuesta al campo de energía electromagnética de radiofrecuencia emitida por un celular, a distancias equidistantes

Definición operacional.

Es la potencia de radiofrecuencia absorbida por una persona y expresada en $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

Clasificación

Cuantitativa continúa.

Escala de medición. $\mu\text{W}/\text{cm}^2$. Se realizo a través de un medidor de campos electromagnéticos marca (Extech 480836, USA). Se estimaron los valores promedio máximo de la densidad de potencia con rangos de distancia diferentes (cinco, diez, veinte centímetros) con cuatro repeticiones por valor estimado, se considero una medición a los 5 minutos.

2.7.2. VARIABLES DEPENDIENTES.

Movilidad espermática:

Definición conceptual.

Es la medición de la capacidad de movimiento de los espermatozoides.

Definición operacional.

Se realiza a través de un microscopio a 40x de aumentos con contraste de fases. Una muestra de semen con un volumen de 10 μL son observados bajo microscopia óptica. La estimación de la movilidad espermática se efectuó con un contador electrónico de laboratorio en uno o varios campos de lectura hasta llegar a cien espermatozoides.

Clasificación.

Cuantitativa discreta

Escala de medición: Porcentaje. La movilidad espermática fue definida a partir de los criterios de la OMS como movilidad progresiva a aquellos que se mueven linealmente o en grandes círculos independientemente de su velocidad, movilidad no progresiva en aquellos que exista ausencia de progresión, es decir nadan en pequeños círculos, e inmóviles cuando no hay movimientos. El límite inferior de referencia para movilidad total que incluye a la progresiva y no progresiva es de 40% y el límite inferior de referencia para movilidad progresiva es 32%.

Morfología:

Definición conceptual.

Es la determinación de la estructura normal del espermatozoide en cabeza, cuerpo intermedio y flagelo.

Definición operacional.

Se realiza a través de un microscopio con objetivo de inmersión en placas preteñidas. Una muestra de semen con un volumen de 10 μL ($2-4 \times 10^6$) son observados bajo microscopía óptica. La estimación de la estructura de los espermatozoides se efectúa con un contador electrónico de laboratorio en uno o varios campos de lectura hasta llegar a cien espermatozoides.

Clasificación.

Cuantitativa discreta

Escala de medición: Porcentaje, Los espermatozoides normales de acuerdo a los criterios de la OMS 2010 deben observar las estructuras de la cabeza,

pieza media y cola normales. La cabeza mostrará ser lisa con contornos regulares y generalmente de forma oval, la región del acrosoma no debe contener grandes vacuolas O menos de dos pequeñas, las cuales no deben ocupar más del 20% de la cabeza espermática. La región post acrosomal no debe contener ninguna vacuola. La pieza intermedia debe ser delgada, regular y aproximadamente debe tener la misma longitud que la cabeza espermática, el eje mayor de la pieza intermedia debe estar alineado con el eje mayor de la cabeza espermática, el citoplasma residual es considerado como anómalo cuando excede un tercio del tamaño de la cabeza espermática. La pieza mayor o cola debe observar un calibre uniforme es más delgada que la pieza intermedia y tiene aproximadamente 45 micrómetros de longitud (cerca de 10 veces la longitud de la cabeza). Las siguientes categorías de defectos espermáticos pueden ser observados:

Defectos de la cabeza. Grandes o pequeñas, afiladas, piriformes, redondas, amorfas, vacuoladas, o una combinación de estas.

Defectos del cuello y la pieza intermedia. Inserción asimétrica de la pieza intermedia en la cabeza, engrosada o irregular, muy adelgazada, o una combinación de estas.

Defectos de la pieza mayor. Corta, múltiple, rota, lisa irregularmente angulada, ancho irregular, en forma de resorte, o una combinación de estas.

Exceso de citoplasma residual está asociado con espermatozoides anormales producto de un defectuoso proceso de espermatogenesis. El límite de referencia inferior para formas normales es de 4%.

Viabilidad espermática:

Definición conceptual.

Es la determinación del porcentaje de espermatozoides vivos.

Definición operacional.

Se estima indirectamente por la integridad de la membrana celular. Se realiza a través de un microscopio óptico a 40x de aumentos con contraste de fase.

Un volumen de 10 μL de semen son depositados en un portaobjetos a los que se adiciona 1 μL de medio de tinción eosina y se contabiliza los espermatozoides que se tiñen indicando alteración conformacional con un contador de laboratorio en uno o varios campos hasta llegar a 100 espermatozoides.

Clasificación.

Cuantitativa discreta

Escala de medición: Porcentaje, El porcentaje de espermatozoides vivos es evaluado identificando aquellos con una membrana celular intacta.

2.8 RECOLECCIÓN DE DATOS.

La recolección de datos se realizo del 1º de abril de 2011 al 30 de mayo de 2011 en una hoja de recolección de datos en la cual se incluyeron las variables de concentración, morfología, movilidad, viabilidad, y distancia de exposición a la energía electromagnética.

2.9 PRUEBA PILOTO.

Se realizó este estudio preliminar para determinar el tamaño de muestra necesario para establecer diferencias en la calidad y viabilidad de las

alícuotas de espermatozoides expuestas a la energía electromagnética y su control no expuesto.

3.0 PLAN DE ANÁLISIS.

OBJETIVOS	HIPOTESIS EXPERIMENTAL	DISEÑO Y/O ESTADISTICA
<p>General: Evaluar el efecto en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles expuestos a la energía de RF EM emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800 MHz durante cinco minutos en el modo de llamada.</p>	<p>La exposición a un campo electromagnético de ≈ 800 Mhz de radiofrecuencia emitida por un celular no desencadena disminución en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles.</p>	<p>Es un diseño experimental con arreglo factorial $2 \times 2 \times 3$, (tipos de espermatozoides, exposición y distancia). Control de variables: filtrado de plasma seminal con membrana de 0.22micrometros, temperatura 36°, capacitación por swim up.</p>
<p>Específicos: Establecer la métrica en la densidad de potencia emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800MHz a distancias equidistantes cinco, diez y veinte centímetros durante cinco minutos en el modo de llamada.</p>	<p>La energía emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800MHz reduce inversamente proporcional al cuadrado de las distancias.</p>	<p>Modelos de regresión lineal para ajuste de datos.</p>
<p>Determinar los efectos en la calidad y viabilidad de los espermatozoides de pacientes infértiles, en relación a la dosis-respuesta, generada por el rango de alcance de la energía de RF EM emitida por un teléfono celular con una longitud de onda de 800 MHz, durante cinco minutos en el modo de llamada.</p>	<p>La calidad y viabilidad de los espermatozoides no se ve afectada por la exposición a un campo electromagnético de ≈ 800 Mhz de radiofrecuencia emitida por un celular a distancias en rangos equidistantes.</p>	<p>Análisis descriptivo: medidas de tendencia central, Estadística de prueba para la nulidad del efecto de tratamientos: Análisis de Varianza tipo III. Análisis de residuales Homogeneidad de varianzas (Prueba de Levene o Barlett) Normalidad (prueba de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov) Independencia (prueba de corridas) Comparaciones múltiples para contraste de medias o efectos a pares, e intervalos de confianza para la diferencia de medias o efectos HSD (Diferencia mínima significativa honesta, HSD y/o Tukey).</p>

4. ASPECTOS ETICOS.

De acuerdo al artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la participación de los pacientes en este estudio conlleva un tipo de riesgo: Con riesgo mínimo.

5. ORGANIZACIÓN.

5.1. RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES.

RECURSOS HUMANOS:

Asesor clínico.

Biólogo

Asesor metodológico

Residente de la especialidad en Biología de la reproducción Humana

RECURSOS MATERIALES: Microscopio óptico(Zeiss Carl, Mexico), Micropipetas, puntas para micropipetas, tubos cónicos de 15 mL estériles, gradilla, portaobjetos, cubreobjetos de 22x22mm, contador de células, Aceite de inmersión, placas preteñidas para morfología testsimplets caja con 50 placas, centrifuga (sorval RT 6000D, USA), soporte universal, guantes desechables, recipientes colectores de 100mL, pipetas de transferencia de plástico estériles de 3mL, cuantificador de energía electromagnética(Extech, 480836, USA).

5.2. CAPACITACION DE PERSONAL: No amerita

ADiestramiento de Personal: No amerita.

CAPÍTULO 3.

RESULTADOS

El campo de RF EM emitido por telefonía celular bajo las condiciones de aislamiento incrementó substancialmente la densidad de potencia a medida de alejarse de la fuente central. La mediana equidistante en la cantidad de energía máxima absorbida por los espermatozoides para los rangos del campo electromagnético a 10, 20 y 40 cm fueron 189.35 (percentiles 25th=163.18; 75th=191.53), 202.3 (200.5; 217.9), y 1569 (1303.8; 1768.8) $\mu\text{W}/\text{cm}^2$, respectivamente. La cantidad de energía absorbida responde linealmente acorde a los diferentes campos electromagnéticos bajo contenedor, el modelo exponencial ajusto adecuadamente a los datos mostrando un alto grado de correlación ($r=0.93$; $r^2 = 0.87$; $p < 0.001$). Los parámetros estimados para la ecuación de predicción fueron $\alpha=68.772$ (EE: 0.008), $\beta= 0.073$ (EE: 16.4) con una varianza explicada del 99%.

Con relación al campo de RF EM emitido por el teléfono celular mientras es usado en condiciones habituales de llamada mostró reducción altamente significativa en la densidad de potencia en contraste con las estimaciones obtenidas bajo contenedor. La energía absorbida por los espermatozoides en los rangos del campo electromagnético a 10, 20 y 40 cm fueron 4.23 (percentiles 25th=3.05; 75th=8.9), 9.36 (3.5; 19.8), y 0.89 (0.69; 1.16) $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ respectivamente. La cantidad de energía de RF EM absorbida por los gametos masculinos responde inversamente acorde a los diferentes campos de radiación, el modelo exponencial ajusto moderadamente a los datos mostrando una fuerza de asociación cercana a 0.6 ($p < 0.001$). El componente matemático de la ecuación exponencial que predice

la energía de RF EM absorbida por los espermatozoides explicó un 94.6% de la variabilidad total. Un desglose de la densidad de potencia absorbida por los espermatozoides bajo condiciones de aislamiento de otras fuentes emisoras de RF EM y la exposición habitual a la telefonía celular se muestran en la figura 2 y 3. La segunda fase de experimentación fue realizada bajo condiciones de la vida real. Las categorías cualitativas de los espermatozoides obtenidos de las muestras seminales de los pacientes infértiles (normozoospermia y astenozoospermia) que fueron expuestos y no a los campos de energía de RF EM son resumidos en la tabla 1. Nosotros identificamos diferencias significativas en los porcentajes de concentración, movilidad progresiva rápida y progresiva lenta en las muestras seminales cuando son clasificadas como normozoospermia versus astenozoospermia ($p < 0.001$), pero el rango del campo electromagnético y la interacción entre grupo y distancia no fue significativa. A pesar de esto, incremento de 4 unidades porcentuales en la movilidad progresiva fue determinada en ambos grupos cuando se comparan las muestras control sin radiación versus la exposición a un campo de RF EM de 5 cm. Asimismo, el porcentaje de movilidad progresiva rápida aumento en 6 unidades en un rango de 20 cm.

Los análisis de correlación entre la movilidad progresiva rápida y la concentración espermática, morfología y viabilidad por efecto de la exposición a la energía electromagnética mostraron diferencias significativas ($P < 0.001$) con correlación positiva, y con movilidad progresiva lenta y con los espermatozoides inmóviles observaron correlación con signo negativo. La matriz de correlaciones en la calidad de los espermatozoides expuestos a la energía de RF EM es resumido en el cuadro I.

CAPÍTULO 4.

DISCUSIÓN.

En la actualidad, el desarrollo de la tecnológica ha evolucionado a niveles que incrementan el riesgo a la salud debido a la exposición a diferentes campos de radio frecuencia de energía electromagnética, esto mismo ha generado una serie de expectativas sobre los efectos que esta pueda tener sobre los tejidos y células humanas. El aumento de la infertilidad humana y la probable implicación de esta energía no ionizante sobre el espermatozoide hasta el momento es difícil de evaluar con un resultado concluyente y con múltiples incógnitas pendientes de resolver.

Nuestros datos, soportan la teoría física de la potencialización de la energía no ionizante bajo condiciones de aislamiento (Coraza de Horno de microondas), observamos un incremento de la densidad de potencia captada por un medidor de campos electromagnéticos en forma directamente proporcional al radio del campo de aproximadamente 150 veces (el valor esperado en la densidad de potencia del campo de radiofrecuencia a $10\text{ cm} \approx 189.35\ \mu\text{W}/\text{cm}^2$ y a $40\text{ cm} \approx 1569\ \mu\text{W}/\text{cm}^2$). Las características estructurales del contenedor tienen la particularidad de reflejar estos campos electromagnéticos de tal forma que potencializan la energía emitida por una fuente central. El campo electromagnético emitido por la fuente emisora (teléfono celular) dentro del contenedor fue reflejado en distintas direcciones de tal forma que a mayor distancia la energía absorbida por la célula puede ser mayor.⁵⁸ Con un afán de controlar el campo electromagnético de otras fuentes emisoras confusoras decidimos aislar bajo el contenedor la emisión de la energía sin embargo el efecto del contenedor causó la potencialización de la misma siendo

esto un efecto no pretendido por la investigación. Al realizar el experimento en condiciones de exposición habituales observamos que la densidad de potencia se reduce en forma inversamente proporcional a la distancia de exposición a la fuente emisora, (el valor esperado en la densidad de potencia del campo de radiofrecuencia a 10 cm $\approx 4.23 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ y a 40 cm $\approx 0.89 \mu\text{W}/\text{cm}^2$). El campo electromagnético en estas condiciones presenta una disminución en la densidad de potencia al alejarse de la fuente emisora. La métrica de la densidad de potencia a partir de 40cm tiende a ser constante. La densidad de potencia en condiciones habituales (sin exposición) y bajo condiciones de aislamiento fue menor a $0.001 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ con estos resultados nosotros decidimos realizar la segunda parte del experimento bajo condiciones habituales ya que se apegaba a la intención del experimento en distinguir los efectos que esta puede tener sobre el espermatozoide.

Se analizó la relación de causa-efecto entre la emisión de RF EM emitido por el celular a distancias equidistantes 5, 10 y 20cm y la alteración en la calidad y viabilidad de los parámetros seminales en dos grupos de pacientes (astenozoospermicos y normozoospermicos). Nuestros resultados mostraron un incremento no significativo de la movilidad progresiva rápida en los espermatozoides expuestos a la RF EM emitida por el celular a 5, 10 y 20cm en comparación con los no expuestos en ambos grupos de pacientes. No existieron diferencias significativas en la morfología y viabilidad de los espermatozoides independientemente del grupo de pacientes y del factor de exposición a distancias equidistantes.

El resultado más interesante que encontramos en nuestro experimento, fue que a diferencia de otros estudios, observamos un incremento en la movilidad progresiva en ambos grupos de pacientes expuestos a la RF EM emitida por un celular, siendo este incremento directamente proporcional a la distancia. Esto puede ser atribuido a varios factores, uno de ellos en relación al control que se realizó sobre la célula antes de su exposición ya que esta fue sometida a “swim up” con la finalidad de obtener los gametos con mejor probabilidad de fecundación así como la eliminación de detritus y bacterias que pudieran encontrarse en el plasma seminal y pudieran interferir con los resultados observados en el experimento, así también consideramos que el tiempo y las distancias de exposición evaluadas en nuestro experimento no tienen suficiente radio de alcance para producir efectos térmicos en los espermatozoides, sin embargo consideramos que el patrón de comportamiento observado pudiera estar en relación con la apertura de canales iónicos de Ca^{++} que permiten su entrada al flagelo y esta sea la causa de las diferencias observadas.

Como se ha descrito en otros estudios el Ca^{++} juega un rol esencial en la motilidad del espermatozoide, Los canales Catsper presentes en el flagelo del espermatozoide regulan la entrada de Ca^{++} a la célula. En el flagelo de espermatozoides humanos el canal de voltaje Hv1 es el principal mecanismo de salida de H^+ y control del pH intracelular, los canales Catsper son potenciados por alcalinización del pH intracelular y el canal de voltaje Hv1 por despolarización de la membrana, la acción combinada de estos canales induce la elevación del pH intracelular y la entrada de calcio a la célula, necesarios para la activación del espermatozoide.⁵⁹

Los datos acumulados sobre respuestas biológicas a radiaciones débiles revelan que los efectos observados no están relacionados exclusivamente con la intensidad de la radiación, sino más bien con otros parámetros de onda; es decir, con el potencial significado de la información contenida en la señal. Diversos autores han elaborado una serie de modelos,^{60, 61, 62} sobre la idea base de que un determinado sistema biológico sería excitable por combinaciones específicas de parámetros eléctricos y magnéticos capaces de reaccionar bajo condiciones de resonancia para uno o más iones biológicamente activos. La interacción de campos eléctricos variables en el tiempo con los tejidos biológicos que también poseen una diferencia de carga eléctrica entre el interior y el exterior de la membrana celular tiene como consecuencia el aumento de flujo de cargas eléctricas, la formación de dipolos y la reorientación de los dipolos eléctricos presentes en la membrana. Las magnitudes relativas de estos efectos dependen de las propiedades de la estructura sobre la que incide el campo.⁶³

Los campos de radiofrecuencia afectan a una variedad de propiedades de los canales iónicos como son la disminución en la formación de canales, y disminución en la frecuencia de apertura. Estos estudios incluyen campos constantes y campos pulsantes a diferentes intensidades. Así parece que bajas intensidades de radiofrecuencia afectan a los canales de membrana. La exposición a radiofrecuencias moduladas en frecuencia <de 300 Hz fundamentalmente de 147 a 450 MHz han sido causantes de pérdida de Ca^{++} en las terminaciones nerviosas o en células cerebrales en estudios in vitro. En cambio, no se han encontrado efectos en el movimiento de iones Ca^{++} expuestos

a campos constantes. Efectos similares fueron observados en sinaptosomas y en células de neuroblastoma.^{32, 64}

De esta manera en este avance de resultados preliminares nosotros consideramos que el campo electromagnético de radiofrecuencia aplicado a estas distancias y durante 5 minutos puede estar condicionando la apertura de los canales de Ca⁺⁺ favoreciendo su entrada a la célula probablemente secundario al aumento del pH intracelular por activación de los canales Hv1, esto debido al flujo de cargas eléctricas a través de la membrana incrementado por la exposición a el campo electromagnético.

CONCLUSIONES.

La energía electromagnética emitida por un celular durante 5 minutos con longitud de onda de 800 MHz, a la distancia de 5, 10 y 20cm no condiciona efectos deletéreos sobre la calidad y viabilidad espermática.

El incremento en la motilidad espermática observado en nuestro experimento secundario a la exposición al campo electromagnético sugiere ser secundario a un incremento en la apertura de canales de calcio, lo cual será objeto de investigaciones posteriores.

CAPÍTULO 5.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Davoudi M, Brossner C, Kuber W. The influence of electromagnetic waves on sperm motility. *Urogynecol.* 2002;19:18-32.
- 2) Fejes I, Zavaczki Z, Szollosi J. Is there a relationship between cellphone use and semen quality? *Arch Androl.* 2005;51:385-393.
- 3) Ashock A, Nisarg R, Kartikeya M. Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF- EMW) from cellular phones on Human ejaculated semen: an in vitro pilot study. *Fertil and Steril.* 2009;4:1318-1325.
- 4) Ashock A, Deepinder F, Rakesh K. Effects of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: an observational study. *Fertil and Steril.* 2008;1:124-128.
- 5) Arda E, Seyhan N. Pulse modulated 900 MHz radiation induces hypothyroidism and apoptosis in thyroid cells: A light, electron microscopy and immunohistochemical study. *Int J Radiat. Biol.* 2010;12:1106-1116.
- 6) Falzone N, Huyser C. Mobile phone radiation does not induce pro-apoptosis effects in human spermatozoa. *Radiat Res* 2010;174:169-176.
- 7) Tournaye H. Evidence-based management of male subfertility *Curr Opin. Obstet Gynecol.* 2006;18:253-259.
- 8) Diem et al. Critical comments on DNA breakage by mobile-phone electromagnetic fields. *Mutat Res.* 2005;583:178-183.
- 9) Panagopoulos D, Chavdoula J. Cell death induced by GSM 900MHz and DCS 1800MHz mobile telephony radiation. *Mutat Res.* 2007;626:69–78.

- 10) Aitken J, Bennetts E, Sawyer D, Wiklendt M, King B. Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *Int J Androl.* 2005;3:171–179.
- 11) Aitken RJ. The human spermatozoon—a cell in crisis? The Amoroso Lecture. *J Reprod Fertil.* 1999;115:1-7
- 12) Eroglu O, Oztas E, Yildirim I, Kir T, Aydur E, Komesli G, Irkilata HC, Irmak M, Peker A. Effects of electromagnetic radiation from a cellular phone on human sperm motility: an in vitro study. *Arch Med Res.* 2006 7:840-843.
- 13) Giwercman A, Richthoff J, Hjøllund H, Bonde JP, Jepsen K, Frohm B, Spano M. Correlation between sperm motility and sperm chromatin structure assay parameters. *Fertil Steril.* 2003;80:1404–1412.
- 14) Repacholi H.M. Health risks from the use of mobile phones. *Toxicol Lett.* 2001;120:323-331
- 15) Hyland J. Physics and biology of mobile telephony. *Lancet* 2000;356:1833-1836.
- 16) Laurence J, French P, Lindner R, McKenzie D. Biological effects of electromagnetic fields-mechanisms for the effects of pulsed microwave radiation on protein conformation. *J Theo Biol.* 2000;206: 291-298.
- 17) Goldsmith R. Epidemiologic evidence of radiofrequency (microwave) effects on health in military, broadcasting, and occupational studies. *Int J Occup Environ Health.* 1995;1:47-57
- 18) Rothman J. Epidemiological evidence on health risks of cellular telephones. *Lancet* 2000;356: 1837-1840.
- 19) Repacholi M, Basten A., Gebiski V, Noonan D, Finnie J, Harris A. Lymphomas in E mu-Pim1 transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz

electromagnetic fields. *Radiat Res* 1997;5:631-640.

- 20) K
alns J., Ryan K, Mason P, Bruno J, Gooden R, Kiel J. Oxidative stress precedes circulatory failure induced by 35-GHz microwave heating. *Shock* 2000;13: 52–59.
- 21) Higashikubo R, Ragouzis M, Moros E, Straube W, Roti J. Radiofrequency electromagnetic fields do not alter the cell cycle progression of C3H 10T and U87MG cells. *Radiat Res* 2001;12:786-795.
- 22) Zook C, Simmens S. The effects of 860 MHz radiofrequency radiation on the induction or promotion of brain tumors and other neoplasms in rats. *Radiat Res* 2001;155:572–583.
- 23) Leszczynski D, Joenväärä S, Reivinen J, Kuokka R. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: Molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation* 2002;70:120-129.
- 24) Mashevich M, Folkman D, Kesar A, Barbul A, Koren Stein R, Jerby E, Avivi L. Exposure of human peripheral blood lymphocytes to electromagnetic fields associated with cellular phones leads to chromosomal instability. *Bioelectromagnetics* 2003;24:82–90
- 25) [Caraglia M](#), [Marra M](#), [Mancinelli F](#), [D'Ambrosio G](#), [Massa R](#), [Giordano A](#), [Budillon A](#), [Abbruzzese A](#), [Bismuto E](#). Electromagnetic fields at mobile phone frequency induce apoptosis and inactivation of the multi-chaperone complex in human epidermoid cancer cells. [J Cell Physiol](#). 2005;2:539-48.
- 26) Capri M, Mesirca P, Remondini D, Carosella S, Pasi S, Castellani G et al.

- 50 Hz sinusoidal magnetic fields do not affect human lymphocyte activation and proliferation in vitro. *Physical Biol.* 2004;1:211- 219.
- 27)Dasdag, S., Ketani, M, Akdag, Z., Ersay, A, Sar, I, Demirtas Ö, Celik, M. Whole body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urol Res* 1999;27:219-223.
- 28)Phelan A, Lange D, Kues H, Luty G. Modification of membrane fluidity in melanin containing cells by low level microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 1992;13:131-146.
- 29)WHO Laboratory Manual for the Examination and processing of Human semen, 5 ed. World Health Organization. 2010.
- 30)Mann T, Lutwak-Mann C. Secretory function of male accessory organs of reproduction in mammals. *Physiol Rev.* 1951;31:27–55.
- 31)Repacholi M. Low Level Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Fields: Health Effects and Research Needs. *Bioelectromagnetics.* 1998;19:1-19.
- 32)Dutta S, Subramanian A, Ghosh B, Parshad R. Microwave radiation-induced calcium efflux from brain tissue in vitro. *Bioelectromagnetics* 1984;5:71-78.
- 33)Youbicier-Simo B, Lebecq J, Bastide M. Mortality of chicken embryos exposed to EMFs from mobile phones. Presented at the Twentieth Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, St. Pete Beach, FL, June 1998
- 34)Eliasson R Biochemical analyses of human semen in the study of the physiology and pathophysiology of the male accessory genital glands. *Fertil Steril* 1968;19:344–350

- 35) Bjorndahl L, Kvist U. Sequence of ejaculation affects the spermatozoon as a carrier and its message. *Reprod Biomed Online* 2003;7:440–448
- 36) Robert M, Gagnon C. Semenogelin I: a coagulum forming, multifunctional seminal vesicle protein. *Cell Mol Life Sci.* 1999;55:944–960
- 37) Elzanaty S, Malm J, Giwercman A. Visco-elasticity of seminal fluid in relation to the epididymal and accessory sex gland function and its impact on sperm motility. *Int J Androl* 2004;27:94–100
- 38) Gonzales G, Sanchez A. High sperm chromatin stability in semen with high viscosity. *Arch Androl* 1994;32:31–35
- 39) Koca Y, Ozdal O, Celik M, Unal S, Balaban N. Antioxidant activity of seminal plasma in fertile and infertile men. *Arch Androl.* 2003;49:355–359
- 40) Sutovski P, Manandhar G. Mammalian spermatogenesis and sperm structure; anatomical and compartmental analysis. in: *The Sperm Cell: Production, Maturation, Fertilization, Regeneration.* Edited por De Jonge C. J, Barrat C. L. R, Cambridge University Press. 2007;1-30.
- 41) Gadella BM. Sperm membrane physiology and relevance for fertilization. *Anim Reprod Sci.* 2008;107: 229-236.
- 42) Rosado A. Aspectos nuevos de viejas ideas sobre la capacitacion y la reaccion acrosomal. *Arch Invest Med.* 1988;19:253-264.
- 43) Flesch FM, Gadella BM. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1469:197-235.

- 44)Topfer-Petersen E, Ekhlasi-Hundrieser M, Tsoлова M. Glycobiology of fertilization in pig. *Dev Biol.* 2008;2:717-725.
- 45)Wiesner B, Weiner J, Middendorff R. Cyclic nucleotide-gated channels on the flagellum control Ca²⁺ entry into sperm. *J Cell Biol.* 1998;142:473- 484.
- 46)Tulsiani D. Glycan-modifying enzymes in luminal fluid of the mammalian epididymis: An overview of their potential role in sperm maturation. *Mol Cell Endocr.* 2006;250:58-65.
- 47)Inaba K. Molecular architecture of the sperm flagella: molecules for motility and signaling. *Zool Sci.* 2003;20:1043-1056.
- 48)Espinosa F, López I, C. Muñoz-Garay et al., Dual regulation of the T-type Ca²⁺ current by serum albumin and β-estradiol in mammalian spermatogenic cells *FEBS Lett.* 2000;475: 251-256.
- 49)Darszon A, Labarca P, Nishigaki T. Ion Channels in Sperm Physiology *Physiol. Rev.* 1999;79: 481-510
- 50)Hagiwara S, Kawa K. Calcium and potassium currents in spermatogenic cells dissociated from rat seminiferous tubules. *J Physiol.* 1984;356:135-49.
- 51)Muñoz C, De la Vega J, Delgado R. Inwardly rectifying K⁺ channels in spermatogenic cells: functional expression and implication in sperm capacitation. *Dev Biol.* 2001;234: 261-274.
- 52)Liévano A, Santi C, Serrano C. T-type Ca²⁺ channels and alpha1E expression in spermatogenic cells, and their possible relevance to the sperm acrosome reaction. *FEBS Lett.* 1996;388:150-154.

- 53) Estableciendo un dialogo sobre los riesgos de los campos electromagnéticos. Organización Mundial de la Salud. 2006.
- 54) Krewski D, Byus V, Glickman B, Lotz W, Mandeville R., Mc.Bride M, Prato F, Weaver D. Potential health risks of radiofrequency fields from wireless telecommunication devices. *J Toxicol. Environ Health. Part.B.* 2001;4:1-143.
- 55) Cleary S, Liu L, Merchan T. Glioma proliferation modulated in vitro by isothermal radiofrequency radiation exposure. *Radiat. Res.* 1990;121:38-45.
- 56) Liu D, Astumian R, Tsong T. Activation of Na⁺ y K⁺ pumping modes of (Na,K)-ATPase by oscillating electric fields. *J Biol. Chem.* 1990;265:7260-7267.
- 57) Adey W. Electromagnetics in Biology and Medicine. In Matsumoto H. Modern science Oxford University press 1993; 227-245.
- 58) http://www.who.int/peh-emf/publications/facts/info_microwaves/es/
- 59) Costello S, Michelangeli F, Nash K, Lefievre L, Morris J, Machado-Oliveira G, Barratt C, Kirkman-Brown J, Publicover S. Ca²⁺-stores in sperm: their identities and functions. *Reproduction* 2009;138:425–437
- 60) Liboff A. Geomagnetic cyclotron resonance in living cells. *J Biol Physics* 1985;13:99–102
- 61) Lednev VV. Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems. *Bioelectromagnetics.* 1991;2:71–75.
- 62) Blanchard J, Blackman C. Clarification and application of an ion parametric resonance model for magnetic field interactions with biological systems.

Bioelectromagnetics. 1994;15:217-238

- 63) ICNIRP Guidelines. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). Health Physics 1998;7:494-522.
- 64) Gurisik E, Warton D, Martin K, Valenzuela S. An in vitro study of the effects of exposure to a GSM signal in two human cell lines: monocytic U937 and neuroblastoma SK-N-SH. Cell Biol. Int 2006;30:793-799.
- 65) Vini G, Charles T, Kundi M. Cell phones and brain tumors: a review including the long term epidemiologic data. Surg Neurol 2009;3:205-214.
- 66) Salama N, Kishimoto T, Kanayama H. Effects of exposure to a mobile phone on testicular function and structure in adult rabbit. International J Androl 2010;1:88-94.
- 67) Wdowiak A, Wdowiak L, Wiktor H. Evaluation of the effect of using mobile phones on male fertility. Ann Agric. Environ Med. 2007;14:169-172.
- 68) Baste V, Riise T, Moen BE. Radiofrequency electromagnetic fields; male infertility and sex ratio of offspring. Eur J. Epidemiol. 2008;23:369-377.

CAPÍTULO 6.

CUADROS

Cuadro I. Matriz de correlación entre variables.

Spearman's rho	Var..	Conc.	Mov_A	Mov_B	Mov_C	Mov_D	Mov_AB	Morf.	Viab.	Exp.
	Conc.									
	Mov_A	.367**								
	Mov_B	.566**	.351**							
	Mov_C	-.717**	-.362**	-.819**						
	Mov_D	.224*	-.081	-.246**	-.305**					
	Mov_AB	.567**	0.367	1.000**	-.819**	-.248**				
	Morf.	-.110	.353**	.326**	-.183*	-.231*	.332**			
	Viab.	-.334**	-.145	0.177	.181*	-.562**	0.174	.513**		
	Exp.	0.058	-0.044	0.105	-.187*	0.075	0.102	.185*	0.104	

** . La correlación significativa 0,01 (2 colas).

* . La correlación significativa 0,05 (2 colas).

FIGURAS

Radiation 101

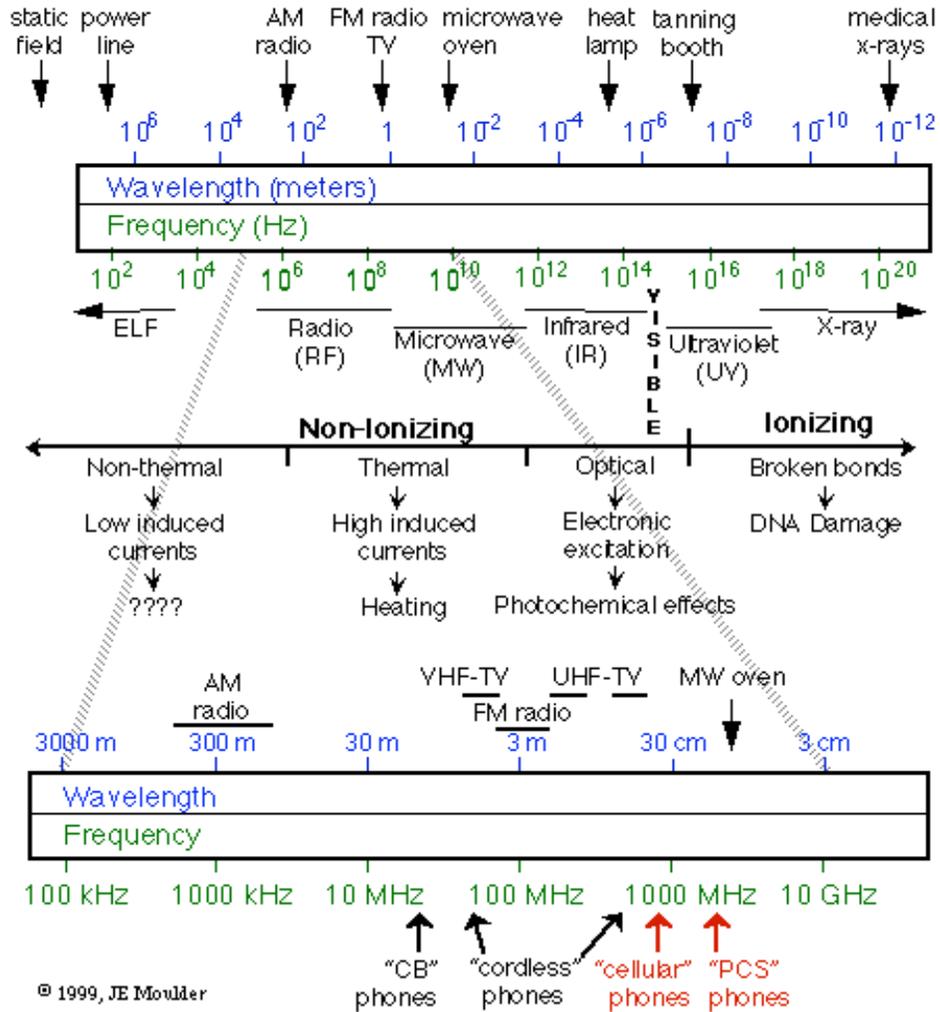


Figura 1. Efectos de la radiación.

Sin contenedor

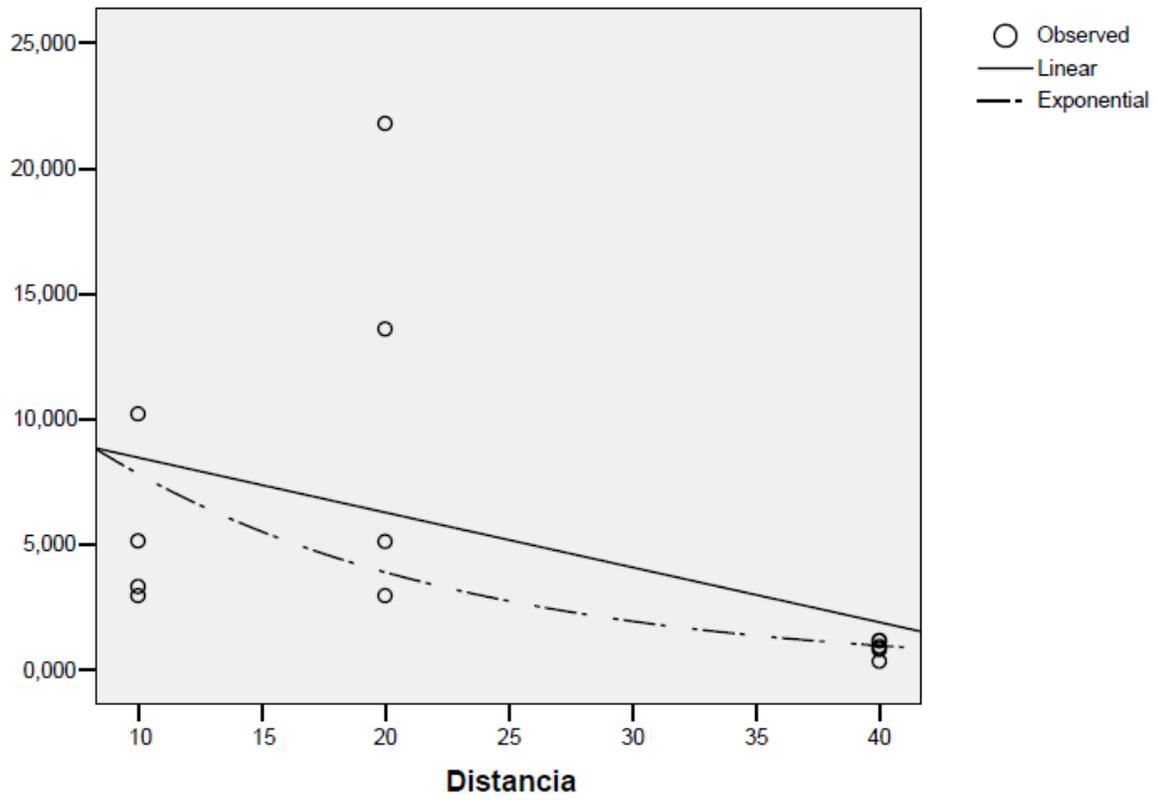


Figura 2. Densidad de potencia $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ bajo condiciones habituales.

Bajo contenedor

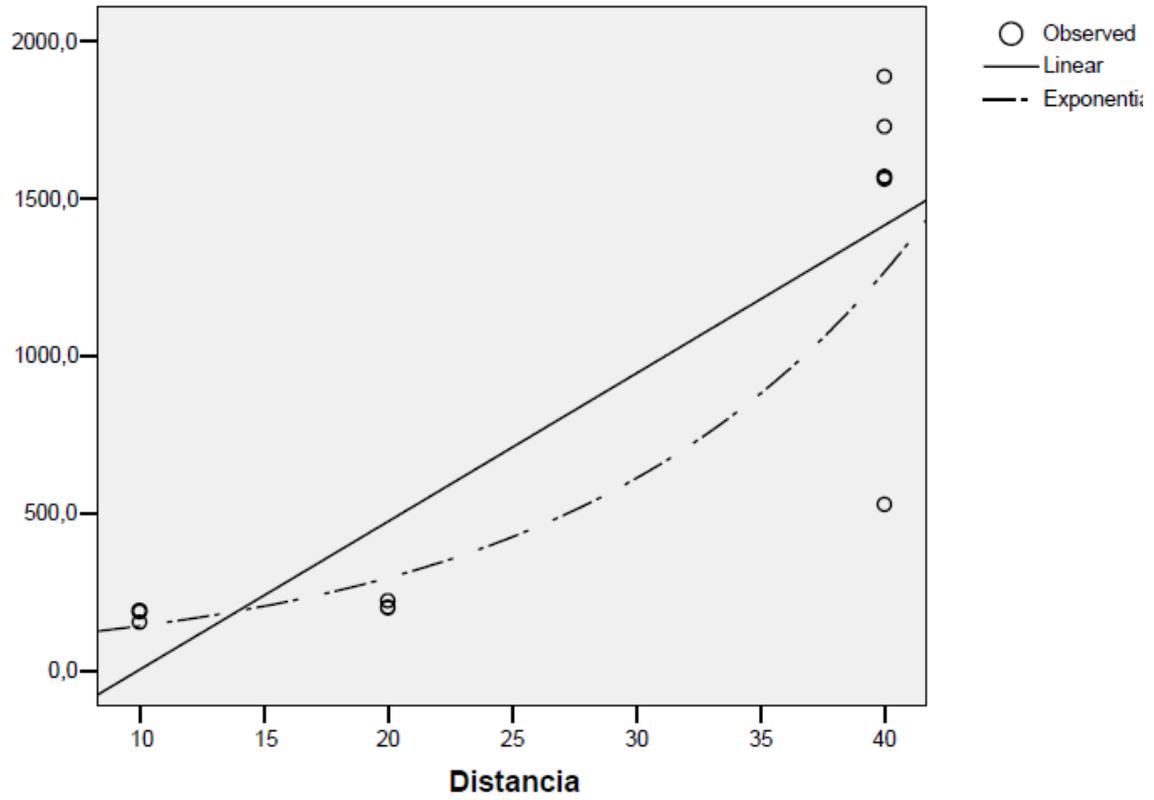


Figura 3. Densidad de potencia $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ bajo condiciones de aislamiento.

CAPITULO 7.

ANEXO 1.

GLOSARIO DE TÉRMINOS.

Absorción. En la propagación de la onda de radio, atenuación de una onda de radio debido a la disipación de su energía, es decir, conversión de su energía en otra forma, tal como calor.

ADN: Ácido desoxirribonucleico. Molécula que compone el material hereditario.

Densidad de potencia (S) es la cantidad apropiada para frecuencias muy altas, cuya profundidad de penetración en el cuerpo es baja. Es la potencia radiante que incide perpendicular a una superficie, dividida por el área de la superficie, y se expresa en vatios por metro cuadrado (W/m^2).

Hz (herzios): unidad de frecuencia de una señal. Un herzio equivale a una oscilación por segundo.

Índice de absorción específica de energía (SAR, specific energy absorption rate), cuyo promedio se calcula en la totalidad del cuerpo o en partes de éste, se define como el índice en que la energía es absorbida por unidad de masa de tejido corporal, y se expresa en vatios por kilogramo (W/kg).

Longitud de onda. La distancia entre dos puntos sucesivos de una onda periódica en la dirección de propagación, en la cual la oscilación tiene la misma fase.

MHz (megahercios): un millón de herzios.

OMS. Organización Mundial de la Salud

Radiación no ionizante: Radiación que no tiene suficiente energía para romper enlaces o arrancar electrones. Las de frecuencia extremadamente baja, de 50-60 Hz, se conocen más como “campos” que como radiaciones.

RF EM: campos electromagnéticos; aquí se emplea para designar radiaciones no ionizantes en el rango de frecuencias 300Hz. – 300 GHz.