



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Laboratorio de Farmacología del Desarrollo



DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA RADIACIÓN
NO IONIZANTE DE 860 MHz SOBRE LA
CONDUCTA EN RATÓN

Proyecto de Investigación

Que como uno de los requisitos para obtener el título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO INDUSTRIAL

PRESENTA;

GRANADOS MARTÍNEZ MAYRA YOSELIM

Asesora:

Dra. Norma Paniagua Castro

Coasesor:

M. en C. Gerardo Norberto Escalona Cardoso



Ciudad de México

Febrero 2017

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Farmacología del Desarrollo del Departamento de Fisiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Ciudad de México bajo la asesoría de la Dra. Norma Paniagua Castro y el M. en C. Gerardo Norberto Escalona Cardoso, en colaboración con el Dr. Roberto Linares y Miranda en el Laboratorio de Compatibilidad Electromagnética, Equipos Pesados I, ESIME ZACATENCO, Ciudad de México. Con el apoyo de los proyectos SIP 20150212, 20151510, 20160498 y 20160397, además con el proyecto CONACyT No. 241791.

Dedico este trabajo a
mis padres que siempre me
apoyaron incondicionalmente.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a cada una de las personas que me ayudaron a concluir esta etapa de mi vida.

A mis profesores que con cada enseñanza permitieron que se forjaran mis conocimientos

A mis amigos que me apoyaron en cada paso que di, la ayuda que me han brindado ha sido sumamente importante.

En especial agradezco a mi familia que me han brindado su apoyo incondicional y que han estado a mi lado inclusive en los momentos más difíciles.

No fue sencillo culminar con éxito este proyecto, sin embargo cada uno de ustedes hizo posible llegar a esta meta.

Gracias por todo

ÍNDICE

Contenido	Página
RESUMEN	IV
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Campo eléctrico	1
1.2. Campo magnético	1
1.3. Campos Electromagnéticos	1
1.4. Dosimetría	4
1.5. Mecanismos de exposición	5
1.6. Ionizante y no ionizante	6
1.7. Límites de exposición	8
1.8. Efectos biológicos	8
1.9. Efectos sobre el comportamiento de los organismos	10
1.9.1. Estrés	10
1.9.2. Ansiedad	13
1.9.3. Depresión	14
1.10. Corticosterona	15
1.11. Testosterona	16
1.12. Pruebas para medir cambios conductuales	16
1.12.1. Prueba de depresión por el modelo de nado forzado en ratones	16
1.12.2. Prueba de ansiedad por el modelo de compartimentos luz / oscuridad	17
1.12.3. Actividad locomotora en campo abierto	18
II. JUSTIFICACIÓN	19
III. HIPÓTESIS	20
IV. OBJETIVOS	21
4.1 OBJETIVO GENERAL	21
4.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
V. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1. MATERIAL	22
5.2. METODOLOGÍA	23
VI. RESULTADOS	26
6.1. Peso corporal	26
6.2. Actividad locomotora en campo abierto	26
6.3. Prueba de ansiedad (caja de dos compartimentos)	28
6.4. Prueba de depresión (nado forzado)	30
6.5. Determinación de corticosterona y testosterona	32
VII. DISCUSIÓN	34
VIII. CONCLUSIONES	37
IX. BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXOS	41

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS	Página
Figura 1. Ondas de campo eléctrico y magnético.	2
Figura 2. Representación del espectro electromagnético.	5
Figura 3. Las radiaciones electromagnéticas y sus efectos biológicos en función de la frecuencia de las ondas.	7
Figura 4. Radiación no ionizante.	8
Figura 5. Representación esquemática del funcionamiento del eje HHA.	12
Figura 6. Esquema del proceso del estrés.	12
Figura 7. Representación del sistema implicado en la depresión	15
Figura 8. Equipo de radiación de ESIME ZACATENCO	23
Figura 9. Representación gráfica peso corporal	26
Figura 10. Representación gráfica actividad motora.	27
Figura 11. Representación gráfica actividad motora (tiempo acumulado).	27
Figura 12. Levantamientos en compartimento blanco	28
Figura 13. Tiempo inmóvil en compartimento blanco	29
Figura 14. Transiciones totales	29
Figura 15. Tiempo de permanencia en compartimento blanco	30
Figura 16. Tiempo de nado	31
Figura 17. Tiempo de inmovilización	31
Figura 18. Tiempo de escalamiento	32
Figura 19. Cuantificación de corticosterona	33
Figura 20. Cuantificación de testosterona	33

TABLAS	
Tabla 1. Descripción del espectro de diferentes bandas.	3
Tabla 2. Efectos biológicos y procesos involucrados en éstos al incidir una radiación	9

ABREVIATURAS

CEM	Campo electromagnético
OMS	Organización Mundial de la Salud
ICNIRP	Comisión Internacional de Protección contra la Radiación no Ionizante (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection)
IARC	Agencia Internacional para la Investigación sobre Cáncer (International agency for research on cancer)
SAR	Tasa de Absorción Específica (Specific Absorption Rate)
UHF	Ultra alta frecuencia
CRH	Hormona liberadora de corticotropina
HHA	Hipotálamo-hipofisario-adrenal
ACTH	Hormona adenocorticotropina
GC	Glucocorticoides
NA	Noradrenalina
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
5-HT	5-hidroxitriptamina
FEB	Frecuencia extremadamente bajas
AVP	Vasopresina arginina
FST	Prueba de natación forzada
OFT	Prueba de campo abierto
GTEM	Transversal Electromagnética en Giga Hertz

RESUMEN

Las ondas electromagnéticas se componen de un campo eléctrico y uno magnético; estos campos son invisibles para el ojo humano, influyen en el organismo por las cargas eléctricas que contiene. Maxwell y Albert Einstein propusieron teorías acerca de la radiación electromagnética. Los límites recomendados son los de la Comisión Internacional de Protección contra la Radiación no Ionizante (ICNIRP), están dados en SAR que es la medida de la tasa de energía absorbida. En México no se aplican límites para las radiaciones no ionizantes. La radiación UHF (Ultra High Frequency) ocupa el rango de frecuencias de 300 – 3000 MHz, los principales sistemas que utilizan éstos rangos de frecuencia son la televisión, radioenlaces y telefonía móvil. Los campos electromagnéticos han sido relacionados con diferentes efectos biológicos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la exposición a radiación no ionizante de 860 MHz sobre la conducta en ratones. Se irradió un lote de 8 ratones macho a 860 MHz 4 horas diarias por 35 días en diferente estación del año (verano e invierno), otro lote fue sometido a esta radiación únicamente por 15 días, 8 ratones se aislaron por 4 horas diarias sin ser expuestos a la radiación y 8 ratones mas sirvieron como testigos; se realizaron las pruebas de actividad motora, ansiedad y depresión, para las dos últimas se utilizaron los modelos de caja de dos compartimentos y nado forzado respectivamente. También se realizó la determinación de corticosterona y testosterona. De acuerdo a los resultados, la exposición a radiación no ionizante incrementó el estado de ansiedad de ratones irradiados en verano (junio) así como los expuestos a falsa radiación con respecto al grupo control. Además se generó un estado de depresión en el grupo irradiado en verano con respecto al grupo control y no se presentó cambio en la concentración de testosterona y corticosterona con respecto al grupo control.

I. INTRODUCCIÓN

Las ondas electromagnéticas se componen de un campo eléctrico y un campo magnético.

1.1. Campo eléctrico

El campo eléctrico es un campo que origina fuerzas que actúan sobre las cargas eléctricas y que a su vez se produce en presencia de cargas eléctricas. La intensidad del campo eléctrico se mide en volt por metro (V/m) (Cabal y cols., 2005).

1.2. Campo magnético

El campo magnético es también un campo de fuerzas que se aplican a cargas eléctricas, se originan por el movimiento de estas cargas. La intensidad de los campos magnéticos se mide en amperes por metro (A/m) aunque se utiliza más frecuentemente una magnitud relacionada, la densidad de flujo (μT). A diferencia del campo eléctrico que aparece con la sola presencia de cargas eléctricas, un campo magnético para originarse requiere el movimiento de al menos alguna carga eléctrica, es decir, sólo aparecen cuando se pone en marcha un aparato eléctrico y fluye la corriente (Cabal y cols., 2005).

1.3. Campos Electromagnéticos

Los conductores eléctricos energizados y que transportan corriente, así como las antenas, son fuentes a la vez de campos eléctricos al ser el soporte de cargas eléctricas y de campos magnéticos, al estar dichas cargas en movimiento. Por este motivo, se habla de campo electromagnético (CEM), al estar en presencia simultánea de ambos campos (Cabal y cols., 2005).

La orientación del campo eléctrico en el espacio, es una propiedad importante de las ondas EM porque determina la absorción de la onda en los cuerpos biológicos. La radiación electromagnética es una forma de energía procedente de la interacción entre partículas cargadas eléctricamente. Se propaga en forma de onda y define un área denominada campo electromagnético. Las ondas producidas por un campo electromagnético viajan a la velocidad de la luz (3×10^8 m/s) y se caracterizan por su longitud de onda. La longitud de onda se define como la distancia entre dos puntos

sucesivos de una onda periódica en la dirección de propagación, en la cual la oscilación tiene la misma fase. En los medios biológicos que contienen una alta cantidad de agua, la longitud de onda es más corta que en el aire (CRT, 2000).

En el medio en que vivimos hay campos electromagnéticos por todas partes, pero son invisibles para el ojo humano. Se producen campos eléctricos por la acumulación de cargas eléctricas en determinadas zonas de la atmósfera por efecto de las tormentas. Sin embargo, hacia principios del siglo XX, el desarrollo de radiaciones generadas por el hombre como la electricidad y las radiofrecuencias empezaron a diseminarse en todas las regiones del mundo. Desde aplicaciones básicas, en transformadores, líneas de transmisión, motores, refrigeradores, sistemas de calefacción eléctricos, sistemas de comunicaciones como la televisión y la radio, las computadoras y la telefonía celular.

Las personas nos encontramos sometidas de forma natural a este tipo de campos, pero también de manera artificial debido a todos los dispositivos eléctricos. Es por eso que se debe determinar la magnitud y frecuencia del CEM a la que un individuo o grupo de individuos (población) se expone en su medio ambiente (Martí y cols., 2011). En la Figura 1 se muestra como se propaga una onda, así como la esquematización del campo eléctrico y el campo magnético.

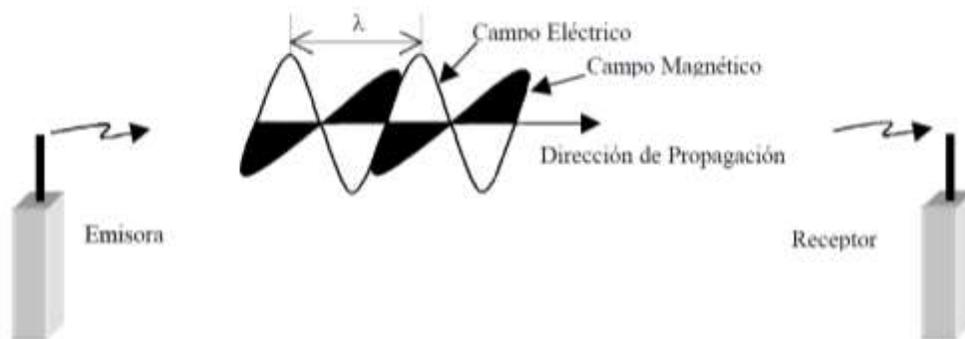


Figura 1. Ondas de campo eléctrico y magnético. La antena emisora establece ondas de campos eléctrico y magnético que se propagan a la velocidad de la luz por el espacio libre hasta la unidad receptora (Vargas y Úbeda, 1999).

Los campos electromagnéticos y sus posibles efectos sobre la salud humana constituyen un tema de creciente preocupación en la sociedad, que involucra directamente a las empresas de energía eléctrica y de telecomunicaciones, a las universidades, los organismos reguladores, municipalidades, etc. Se trata de una temática compleja, pero donde existe ya un cúmulo importante de información elaborada

por organizaciones científicas internacionales (OMS, ICNIRP, IARC), que ha resultado en gran número de publicaciones donde se establecen y fundamentan criterios, recomendaciones y directrices. La posición de la Organización Mundial de la Salud es que los distintos países adopten las recomendaciones de la ICNIRP, dado que las mismas se basan en la mejor información disponible, así como son emitidas por un organismo independiente (Cabal y cols., 2005).

Las restricciones a la exposición a campos eléctricos, magnéticos y electromagnéticos variables en el tiempo, que están basadas directamente en los efectos en la salud son llamadas “restricciones básicas”. Dependiendo de la frecuencia del campo, las cantidades físicas usadas para especificar estas restricciones son la densidad de corriente, la tasa de absorción específica de energía y la densidad de potencia (Cabal y cols., 2005).

A continuación se presenta en la Tabla 1, la descripción del espectro electromagnético, indicando los servicios que pertenecen a cada banda de frecuencias resaltando la banda que se evaluó en este proyecto y que corresponde a la UHF (Ultra High Frequency).

Tabla 1. Descripción del espectro electromagnético de diferentes bandas.

Rango de frecuencias	Banda	Descripción	Tipo de servicios
30-300 KHz	LF	Baja frecuencia	Radio de onda larga y transmisores de LF
300-3000 KHz	MF	Frecuencias medias	Radio AM, radio navegación
3-30 MHz	HF	Alta frecuencia	Radio CB, aficionados, comunicaciones de radio HF
30-300 MHz	VHF	Muy altas frecuencias	Radio FM, TV VHF, servicios de emergencia, aficionados
300-3000 MHz	UHF	Ultra altas frecuencias	TV UHF, teléfonos celulares, aficionados
3-30 GHz	SHF	Súper altas frecuencias	Micro-ondas, comunicaciones satelitales, radar, micro-ondas punto a punto
30-300 GHz	EHF	Extremadamente altas frecuencias	Radar, radio astronomía, enlaces micro-ondas cortos

(CRT, 2000).

La frecuencia UHF es una banda del espectro electromagnético que ocupa el rango de frecuencias de 300 – 3000 MHz. Los principales sistemas que funcionan en UHF son: televisión, radioenlaces para uso no profesional y telefonía móvil (Molina y Ruiz, 2010).

1.4. Dosimetría

La dosimetría describe cuantitativamente la interacción del campo eléctrico y magnético con los tejidos biológicos (CRT, 2000). Es la medida o valor determinado, a partir de un cálculo de la intensidad del campo eléctrico interno, de la densidad de corriente inducida por la absorción de energía específica o de la distribución de la tasa de absorción de energía específica en humanos y animales expuestos a campos electromagnéticos.

En este estudio se estará refiriendo a la parte de la dosimetría que corresponde a la banda UHF que es: Tasa de absorción específica (SAR). Es la medida de la tasa de energía absorbida por un tejido biológico debido a la exposición a una fuente de transmisión (CRT, 2000). Los campos electromagnéticos, influyen en el organismo humano así como en cualquier otro cuerpo o material que contenga cargas eléctricas. Esto es consecuencia de los mecanismos y leyes físicas de inducción y propagación de ondas electromagnéticas. Así se pueden generar campos eléctricos y corrientes inducidas en el cuerpo humano, las que interactúan eventualmente con las cargas eléctricas preexistentes y las microcorrientes eléctricas debidas a las reacciones químicas de las funciones corporales normales. Se denominan efectos directos a aquellos que resultan de la interacción directa de los campos electromagnéticos con el cuerpo, producida por alguno de los tres siguientes mecanismos (Cabal y cols., 2005):

- La exposición del cuerpo humano a campos eléctricos variables en el tiempo resulta en flujos de cargas eléctricas, es decir corrientes o microcorrientes eléctricas, en la polarización de la dirección de las cargas y en la reorientación de dipolos eléctricos ya presentes en los tejidos.
- La interacción de los campos magnéticos variables en el tiempo con el cuerpo humano, que genera campos eléctricos inducidos en el mismo y la circulación de corrientes.

- Parte de los campos electromagnéticos externos son reflejados o difractados retornados al exterior del cuerpo y otra parte es absorbida y transformada en calor. Este mecanismo se presenta en las frecuencias mayores, desde unos pocos kHz hasta los 300 GHz. Los servicios que se encuentran en esta categoría son: la radiodifusión de AM, FM, Televisión, servicios de telefonía móvil y datos inalámbricos (Cabal y cols., 2005).

Para comprender mejor la ubicación de las señales electromagnéticas mencionada anteriormente, se recurre al llamado espectro electromagnético, el cual se muestra en la Figura 2 representado en frecuencia que es el número de ciclos hechos por una onda electromagnética sinusoidal por unidad de tiempo. Se expresa comúnmente en Hertz (Hz) (Vargas y Úbeda, 1999).

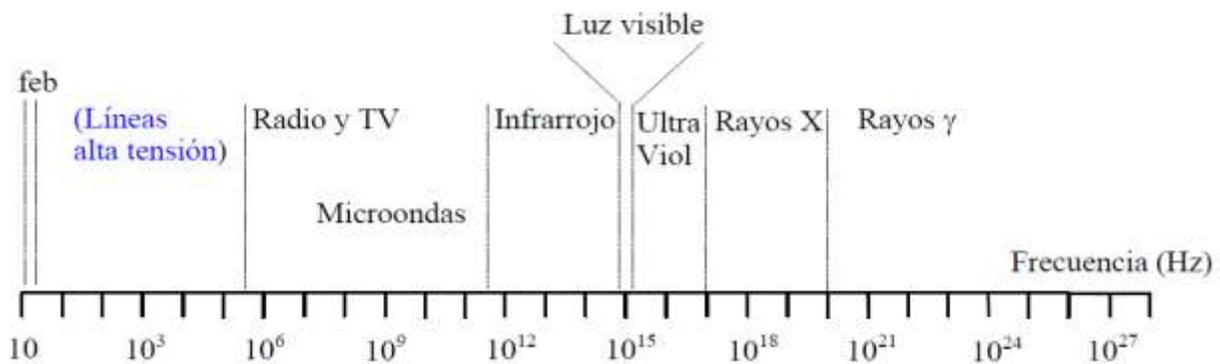


Figura 2. Representación del espectro electromagnético. Se muestran todas las formas de radiación electromagnética, desde las ondas de frecuencia extremadamente bajas (FEB), a los rayos X y rayos gamma (Vargas y Úbeda, 1999).

1.5. Mecanismos de exposición

Se ha intentado explicar cómo interacciona el campo electromagnético con un sistema biológico. Las bases de la interacción electromagnética con un medio material fueron resueltas hace más de un siglo a través de las ecuaciones de Maxwell. Sin embargo, la aplicación de estas bases a un sistema biológico es muy complicada debido a la extrema complejidad y múltiples niveles de organización de los organismos vivos, además de la gran variedad de propiedades eléctricas de los tejidos biológicos. Aunque la evaluación de riesgos está generalmente basada en datos experimentales de sistemas biológicos, es necesaria la consideración de posibles mecanismos de exposición, el

conocimiento de estos mecanismos es esencial para identificar procesos apropiados de dosimetría, para predecir las relaciones dosis-respuesta, para diseñar mejores experimentos y para servir de base para determinar si ciertos niveles de exposición provocan daños en los tejidos biológicos. Los campos eléctrico y magnético que interaccionan con el cuerpo debidos a una fuente próxima pueden causar dos tipos de efectos biológicos, unos térmicos y otros no térmicos.

Los efectos térmicos tienen implicaciones significativas en la salud humana y están relacionados con las corrientes inducidas. Estos son los que causan un aumento de la temperatura corporal debido a la energía absorbida de un campo electromagnético. La fuerza producida por un campo eléctrico sobre un cuerpo cargado, tales como los iones móviles del cuerpo, produce que éstos se muevan y la resistencia eléctrica a ese movimiento hace que el cuerpo se caliente. El aumento de temperatura se compensa por la termorregulación conducida por el flujo de la sangre (Solano y Sáiz, 2001).

La radiación electromagnética puede producir efectos no térmicos. Cuando la termorregulación hace que la temperatura no aumente, cualquier efecto biológico se dice que es no térmico. Si la termorregulación no interviene se habla de efectos atérmicos. Todos estos efectos se producen con valores de SAR inferiores a 2W/kg, pero básicamente se habla de efectos neuronales, morfológicos, actividad neurotransmisora y de las enzimas, concentración de iones y efectos sobre el metabolismo, entre otros. En la mayoría de los casos, los mecanismos de los efectos no se conocen todavía, puesto que parámetros como frecuencia, intensidad, duración, modulación, forma de onda etc. son esenciales para determinar la respuesta biológica (Solano y Sáiz, 2001).

1.6. Radiación ionizante y no ionizante

Cuando se estudian los efectos biológicos de radiaciones electromagnéticas es importante distinguir dos rangos de radiaciones: ionizantes y no ionizantes, cuyos mecanismos de interacción con los tejidos vivos son muy diferentes. La ionización es un proceso por el cual los electrones son desplazados de los átomos y moléculas (Vargas y Úbeda, 1999).

- Radiaciones ionizantes: son capaces de excitar los electrones y hacerlos abandonar el átomo. Es bien conocido que estas pueden provocar graves consecuencias para las células, como es el caso de los rayos X, los radionucleidos o las radiaciones nucleares.
- Radiaciones no ionizantes: no son capaces de romper los enlaces químicos, son ondas de frecuencias más bajas y tienen menos contenido energético. En este espectro se incluyen los rayos ultravioleta, la luz visible, las microondas, la radiofrecuencia y las frecuencias extremadamente bajas. Las fuentes más importantes de este tipo de radiación son los teléfonos móviles e inalámbricos, las antenas de telefonía, las redes Wi-Fi, las líneas eléctricas, las ondas de radio y la televisión y los electrodomésticos. El impacto sobre la salud de las radiaciones no ionizantes es lo que genera toda esta controversia. La frecuencia de las radiaciones electromagnéticas, medida en Hertz (Hz), se utiliza como referencia para evaluar las posibles repercusiones sobre la salud (Martí y cols., 2013).

No obstante, estas radiaciones pueden ceder energía suficiente cuando inciden en los organismos vivos, como para producir efectos térmicos (Vargas y Úbeda, 1999). En la Figura 3 se resumen las radiaciones electromagnéticas y sus efectos biológicos en función de la frecuencia de las ondas.

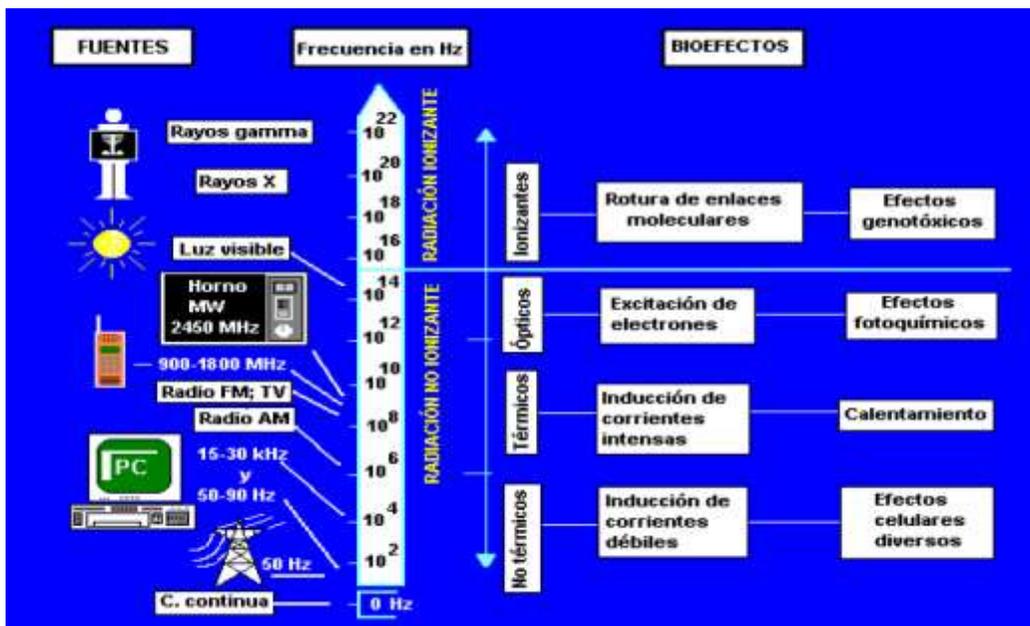


Figura 3. Las radiaciones electromagnéticas y sus efectos biológicos en función de la frecuencia de las ondas (Úbeda y Trillo, 1999)

Este trabajo se centra en las emisiones no ionizantes, que es donde se encuentra la banda UHF y los servicios que se prestan en esta banda son la televisión, radio, teléfonos, entre otros. En la Figura 4 se muestra la distancia que recorre una longitud de onda en las radiaciones no ionizantes.

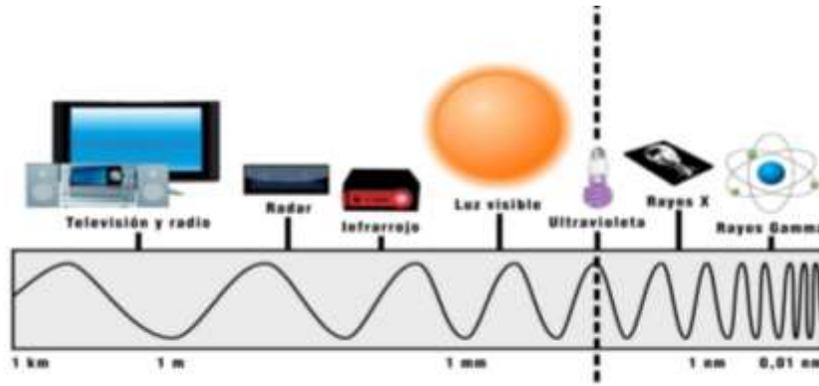


Figura 4. Radiación no ionizante. Se observa la distancia que recorre una longitud de onda en la radiaciones no ionizantes (Cabal y cols., 2005).

1.7. Límites de exposición

Uno de los temas más controvertidos respecto al efecto de los campos electromagnéticos son los niveles máximos de exposición recomendados para evitar problemas de salud. Actualmente los límites recomendados más aceptados son los publicados en 1998 por la ICNIRP, una organización no gubernamental reconocida por la OMS (Martí y cols., 2011). Para el público en general se recomienda 2mA/m^2 . Este valor se denomina restricción básica, es decir, el nivel de corriente inducida por un campo electromagnético que no debe superarse en ningún caso (Pablo y cols., 2001).

1.8. Efectos biológicos

El interés científico por realizar estudios que lleven a establecer los posibles efectos biológicos que los campos eléctricos generados por corriente pudieran tener en los seres humanos es relativamente reciente (Klaunberg y Grandolfo, 1995), se basa en la recopilación de la información más importante y pretende ser la base de que en un futuro próximo se pueda contar con normas que regulen la exposición. Los efectos biológicos son respuestas medibles a un estímulo. Es importante destacar que no todos

los efectos biológicos son generadores de un efecto perjudicial sobre la salud, es decir nocivos para la salud (Cabal y cols., 2005).

Un efecto biológico ocurre cuando la exposición a un campo electromagnético causa algún efecto fisiológico detectable en un sistema vivo. Los efectos sobre la salud son frecuentemente resultado de efectos biológicos que se acumulan sobre un cierto espacio temporal y que además dependen de la dosis recibida. Por lo tanto el conocimiento de éstos es importante para entender los riesgos generados para la salud (Solano y Sáiz, 2001). Los campos electromagnéticos, especialmente las radiaciones electromagnéticas en el rango de las radiofrecuencias y microondas, han sido relacionados con diferentes efectos biológicos. Se ha documentado que provocan efectos en las biomoléculas, en la proliferación celular, interferencias con procesos inmunitarios, efectos en la capacidad reproductiva, efectos genotóxicos, efectos sobre el sistema nervioso, sobre el sistema circulatorio y un descenso en el número de nacimientos (Balmori, 2006). A continuación, en la tabla 2 se generalizan algunos efectos biológicos producidos por radiaciones y los posibles procesos involucrados.

Tabla 2. Efectos biológicos y procesos involucrados en éstos al incidir una radiación.

Procesos y compuestos del cuerpo humano	Función	Conclusiones
Flujo de Calcio	Básico en las funciones de las neuronas y otras células.	Su relación con la exposición a la radiación de RF no es clara y ningún riesgo para la salud ha sido clarificado.
Melatonina	Esta hormona es producida por la glándula pineal y se encarga de controlar el ritmo circadiano diario.	No muchos estudios han sido realizados en este tema y estos no sugieren que exista alteración alguna en la función de la pineal o en la producción de la melatonina.
Movimiento de sustancias a través de la membrana celular	Las membranas que protegen la célula son extremadamente importantes para su correcto funcionamiento, teniendo funciones diversas como receptoras, de detección, de activación de cambios o de transporte de iones.	Se tiene evidencia que la radiación de RF puede tener efectos sobre las proteínas en las membranas y puede alterar el movimiento de iones. Sin embargo, estos efectos se detectan solo con niveles de radiación que producen un calentamiento excesivo. Los efectos en la salud humana son inciertos.
Cáncer y genes	Enfermedad caracterizada por una regulación anormal en el crecimiento y proliferación celular. La posibilidad de generar cáncer está siempre latente, sin necesidad de tener implícito el daño genotóxico.	Con relación al potencial genotóxico existen reportes sobre trabajos de investigación en la mayoría de los cuales no se ha encontrado significativa genotoxicidad. No hay estudios que demuestren este potencial oncogénico epigenético de la radiación de radio frecuencia.

(CRT, 2000).

1.9. Efectos sobre el comportamiento de los organismos

El sistema nervioso central es un lugar de potencial interacción con los campos electromagnéticos debido a la sensibilidad eléctrica de sus tejidos. El sistema nervioso central consiste de nervios periféricos, la médula espinal, el cerebro y su labor es controlar la transferencia de información entre los organismos, el entorno y también controla los procesos internos. La posibilidad de que los campos electromagnéticos afecten al sistema nervioso central y en especial al cerebro causando efectos adversos en el comportamiento y las capacidades cognitivas ha sido una preocupación constante en los diferentes estudios (Solano y Sáiz, 2001).

Los cambios en el comportamiento posiblemente estarían relacionados con el efecto de la radiación electromagnética sobre el sistema opioide endógeno, ya que está demostrado que un bajo nivel de radiación puede causar liberación de opioides endógenos.

1.9.1. Estrés

El concepto de estrés fue introducido por Seyle en el año de 1936 para referirse a la respuesta a un estímulo nocivo que altera la homeostasis de un ser vivo. La generalización de este término ha hecho que vaya adquiriendo distintas connotaciones. Sin embargo, referido al ser humano, se podría acotar al concepto de estrés señalando que representa el estado de hiperactivación o alerta en el que se encuentra un individuo cuando se sitúa ante un estímulo que inicia una respuesta. De este modo, el estrés hace referencia a un estado psicobiológico en el que se encuentra el sujeto y que surge con el fin de optimizar su respuesta ante su estímulo (Aquilino y cols., 2003).

En la literatura, suele llamarse estrés al agente, estímulo, factor que lo provoca o estresor, también a la respuesta biológica al estímulo (Orlandini, 2012).

Los estudios sobre la respuesta al estrés en diferentes células bajo diferentes condiciones nos han permitido caracterizar mecanismos por los que las células responden a los campos electromagnéticos y sus efectos para la salud (Hardell y Sage, 2008).

Las vías clásicas del estrés involucran inicialmente al Hipotálamo que integra la información procedente de las vías sensoriales y viscerales (Sánchez y cols., 1997).

El eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal (HHA) es una defensa contra las situaciones de estrés, de manera que se activa cuando la situación o el ambiente compromete al organismo, haciendo peligrar su homeostasis.

El estrés es una reacción de activación general del organismo que se produce ante determinados estímulos que pueden o no ser aversivos. Por lo general, esta respuesta de estrés nos permite responder de la forma más rápida y eficaz ante esa situación, por lo que decimos que el estrés es adaptativo. Desde este punto de vista, el estrés no es forzosamente un fenómeno negativo sino más bien un proceso normal que nos permite adaptarnos de la manera más eficaz al medio siempre cambiante que nos rodea.

Ante una situación de posible alarma, en la que el sujeto tiene que responder de inmediato, se activan una serie de sistemas de nuestro organismo que originan entre otras cosas: agitación respiratoria, incrementos de adrenalina en sangre, aumento de la secreción de sudor, aumento de la frecuencia cardíaca, etc. De esta forma el sujeto se activa y el organismo es capaz de responder de una forma rápida y eficaz (Martínez y Almela, 2007).

Fisiológicamente el conjunto de acontecimientos en nuestro organismo incluye 2 respuestas, por un lado, se activa el sistema nervioso simpático induciendo la secreción de catecolaminas en la médula adrenal y produciendo así todos los efectos sobre la función cardiovascular y el metabolismo; por otro lado, se libera la hormona liberadora de corticotropina (CRH) desde el hipotálamo, que activa la glándula pituitaria o hipófisis para que libere la hormona adrenocorticotropina (ACTH) y finalmente, ésta actúa sobre la corteza de la glándula adrenal para que libere glucocorticoides (GC), cuyos efectos van dirigidos precisamente a aumentar la disponibilidad de energía en determinadas partes del cuerpo, permitiendo así una adaptación óptima a las demandas cambiantes del ambiente (Martínez y Almela, 2007).

En la Figura 5 se muestra la representación del eje HHA y la retroalimentación que existe, seguido de la representación esquemática que describe el proceso del estrés cuando el cerebro detecta una amenaza que se muestra en la Figura 6.

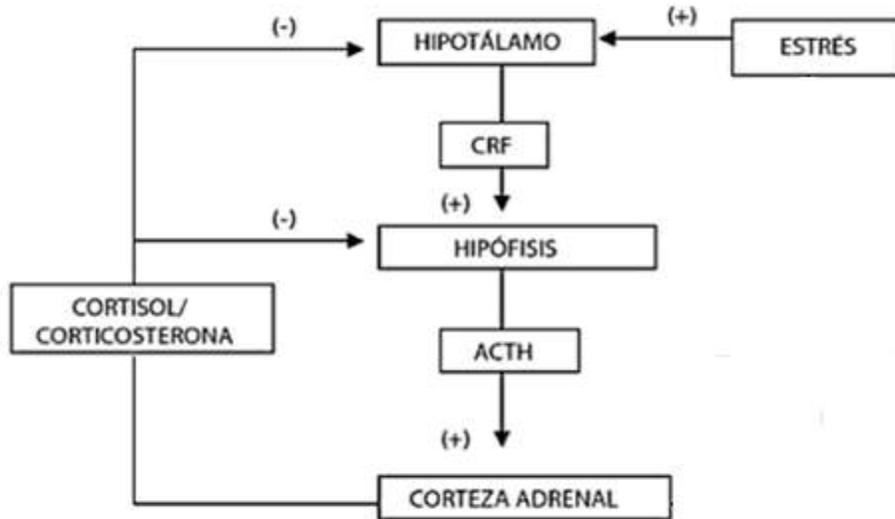


Figura 5. Representación esquemática del funcionamiento del eje HHA (Martínez y Almela, 2007).

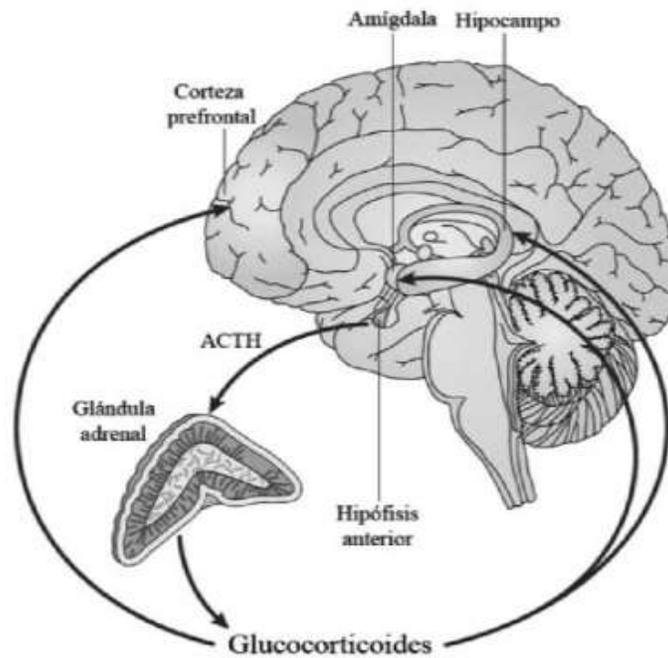


Figura 6. Esquema del proceso del estrés. Cuando el cerebro detecta una amenaza, se activa una respuesta fisiológica coordinada que implica componentes del sistema autónomo, neuroendocrino, metabólico e inmunitario. Con relación a la respuesta de estrés se activa el eje hipotálamo hipofisiario adrenal. Liberando CRH y AVP, activando la ACTH, lo que conlleva a la producción de GC (Sánchez, 2012).

La hipófisis también libera beta endorfinas al torrente sanguíneo con un mensaje de estrés a diferentes órganos blanco. Por otra parte, las catecolaminas son capaces de estimular directamente la hipófisis para aumentar la secreción de ACTH.

La radiación electromagnética es capaz de estimular directamente la liberación de corticoesteroides por activación del eje H-H-A o por liberación de catecolaminas por estimulación directa de la glándula adrenal. Una intensa exposición a radiación electromagnética puede causar liberación de corticoides al torrente sanguíneo, probablemente por estimulación térmica de la hipófisis a exposiciones a una SAR mayores a 10 W/kg. Aparentemente cualquier cambio en la temperatura sobre una región específica del cerebro puede ser causa suficiente para disparar una respuesta de estrés, la cual va generar la liberación de ACTH teniendo como umbral 0.1 mW/cm^2 (CRT, 2000). Sin embargo, el estrés no siempre actúa de una forma adaptativa. La activación prolongada de este sistema de adaptación al estrés, puede ser un riesgo para la salud del organismo (Martínez y Almela, 2007); los glucocorticoides liberados en la circulación sanguínea promueven la movilización de la energía almacenada y potencian los numerosos efectos mediados por el sistema nervioso simpático (Redolar, 2011), los niveles elevados o la activación repetida del sistema antagonizan la insulina, aumentan la presión sanguínea, deterioran el crecimiento y la reparación de los tejidos del organismo y suprimen la función inmune.

1.9.2. Ansiedad

Es una emoción causada por peligros reales o potenciales que alertan al individuo como parte de los mecanismos propios de adaptación (López y cols., 2010).

A partir de los hallazgos encontrados en los estudios de farmacología conductual se ha propuesto la participación de los sistemas que involucran múltiples interacciones entre diversos neurotransmisores de los que se han identificado noradrenalina (NA), ácido gama amino butírico (GABA) y serotonina (5-HT) (Corsi, 2004).

Es evidente que el concepto de estrés presenta bastantes puntos en común con el de ansiedad y con significados muy similares. Ambos conceptos hacen referencia a respuestas ante requerimientos y ambos señalan estados en los que se encuentra el sujeto. Sin embargo, se podría reservar el concepto estrés para las respuestas y estados fisiológicos destinados a mantener la homeostasis, mientras que el de ansiedad quedaría limitado a las respuestas y estados del sujeto cuando ha comenzado a romperse la homeostasis o ya hay un desequilibrio psicofisiológico (Aquilino y cols., 2003).

1.9.3. Depresión

La depresión es un síndrome o trastorno del estado de ánimo caracterizado por la presencia de un conjunto de síntomas como tristeza, astenia o lasitud, disminución de la atención y concentración, pérdida de la autoconfianza, pesimismo, ideación de muerte o suicidio, insomnio. En el modelo clásico surgido en la década de 1960 se implicaba en el desarrollo del síndrome básicamente al sistema serotoninérgico y al sistema noradrenérgico. El estrés juega un papel importante en el desencadenamiento y evolución de los trastornos depresivos (Sánchez y cols., 1997).

Algunas veces en situaciones de estrés crónico se presentan síntomas depresivos. Se asocia a la depresión con una baja tolerancia al estrés. En la depresión se da una hiperactivación del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal y sobre todo una hiperproducción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), principal responsable de la actividad de este eje. Su liberación se produce bajo el control de un gran grupo de neurotransmisores, entre ellos NA y 5-HT. El eje es activado en respuesta al estrés y se lleva a cabo mediante la liberación a la sangre de CRH, que estimula la liberación de ACTH por la hipófisis. Esto a su vez estimula la liberación de glucocorticoides (GC) en la corteza adrenal. Diversos estudios han demostrado que en la depresión hay niveles elevados de CRH en líquido cefalorraquídeo y una reducción del número de receptores para CRH en la corteza frontal algunos de éstos se mencionan a continuación: El test de supresión por dexametasona; privación materna; madres sometidas a condiciones de falta de predicción para conseguir comida (Muzio y cols., 2011). Esto demuestra la hiperactividad del eje y es el origen de desórdenes asociados a la depresión. Se observó aumento de cortisol plasmático en muchos enfermos depresivos, con una mayor secreción de cortisol en las primeras horas de la madrugada y últimas de la tarde.

El estrés activa al *locus coeruleus*, que libera NA en sus proyecciones a la amígdala, corteza prefrontal e hipocampo; y esta activación contribuye a la activación del simpático y del eje hipotálamo hipofisario adrenal inhibiendo el tono parasimpático. La activación simultánea del eje y del sistema noradrenérgico facilita la codificación de recuerdos con carga emocional negativa que se inician en la amígdala (Moreno, 2008), en la Figura 7 se representa el sistema implicado en la depresión.

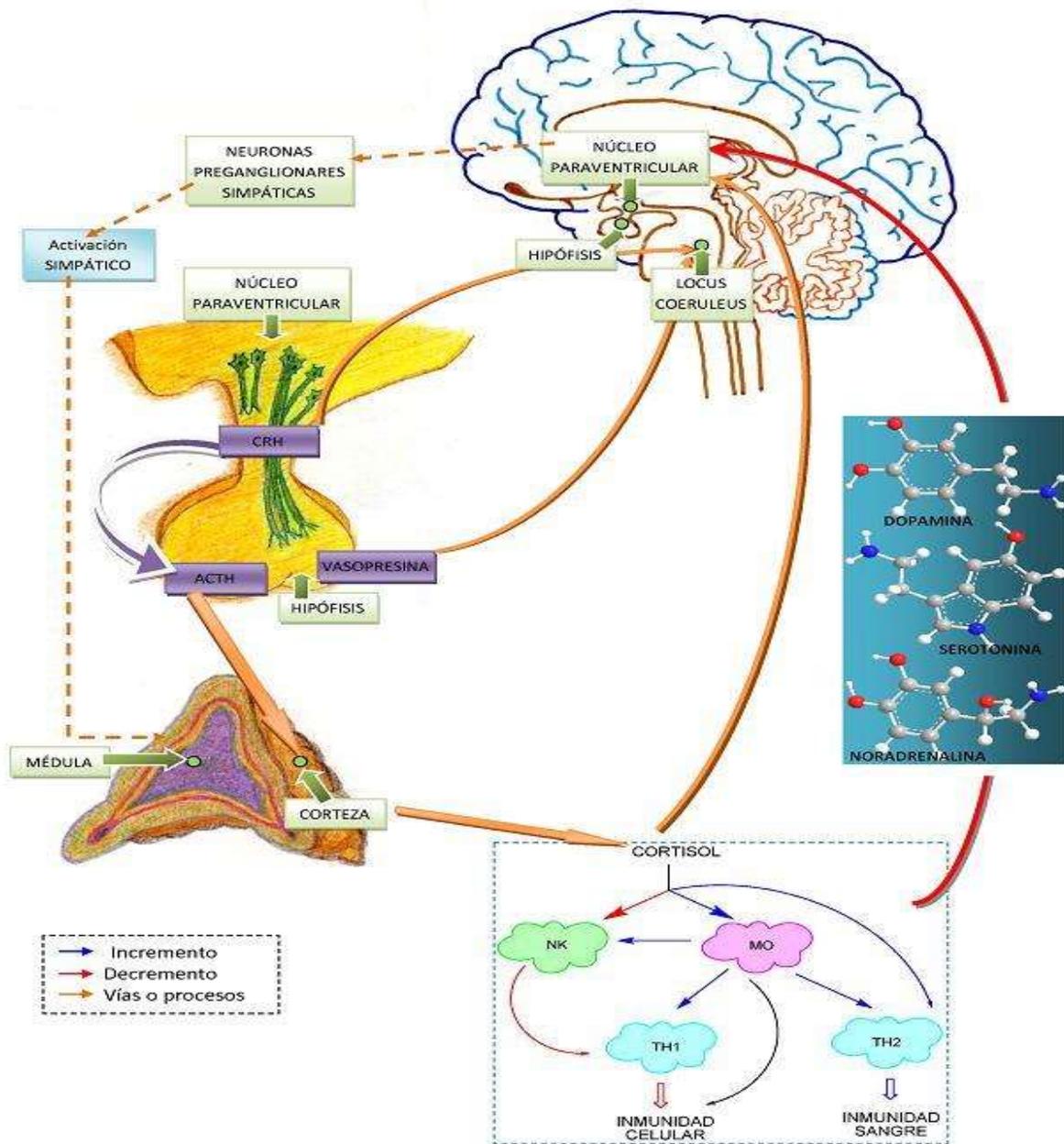


Figura 7. Representación del sistema implicado en la depresión (Sánchez y cols., 1997).

1.10. Corticosterona

Es un glucocorticoide secretado por la corteza de la glándula suprarrenal. La corticosterona se produce en respuesta a la estimulación de la corteza suprarrenal por la ACTH y es el precursor de la aldosterona. Es un indicador importante de estrés y es el

principal esteroide producido en los mamíferos no humanos. Los estudios que incluyen la corticosterona y los niveles de estrés incluyen deterioro de la recuperación de la memoria a largo plazo, la elevación de corticosterona crónica debido a restricciones en la dieta y en respuesta a lesiones por quemaduras. Además de los niveles de estrés, se cree que la corticosterona juega un papel decisivo en los patrones de sueño y vigilia (<http://www.arborassays.com>).

1.11. Testosterona

La testosterona (17 β -hidroxi-4-androsten-3-ona) es un esteroide y uno de los andrógenos más potentes de entre los segregados de forma natural (<http://www.peaktestosterone.com>). El estrés baja la concentración de testosterona debido a una enzima llamada 11-beta hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 β HSD-1). En momentos de estrés se incrementan los glucocorticoides (corticosterona) y actúan directamente inhibiendo la actividad de las enzimas implicadas en la biosíntesis de testosterona (Botella y Tresguerres, 1996).

1.12. Pruebas para medir cambios conductuales

En la fisiología se han establecido varias pruebas conductuales aceptadas internacionalmente, que permiten evaluar el estado de ánimo y cognitivo de los animales de laboratorio y de esta manera, determinar si existen agentes que puedan modificarlos; a continuación se describen las pruebas empleadas en este estudio.

1.12.1. Prueba de depresión por el modelo de nado forzado en ratones

Entre todos los modelos animales, la prueba de natación forzada (FST) sigue siendo una de las herramientas más utilizadas para la detección de los antidepresivos. Porsolt describió un modelo de comportamiento para inducir un estado de depresión en ratones. La idea surgió de algunos experimentos de aprendizaje que estaban haciendo con ratas en un laberinto de agua. La mayoría de las ratas fueron encontrando la salida dentro de los 10 minutos, pero se dieron cuenta de que otras ratas dejaron de luchar por completo y permanecieron flotando pasivamente (Demouliere y cols., 2005).

La FST es actualmente un modelo popular, debido al bajo costo de los experimentos y porque es sin duda el modelo más fiable disponible.

El inicio de la inmovilidad observada durante la prueba es difícil de interpretar, se describe este estado como una desesperación conductual, lo que refleja un estado de ánimo disminuido. Este comportamiento pasivo también podría ser considerado como falta de voluntad para mantener el esfuerzo en esta situación.

Desde el conjunto de datos, se pueden evaluar vueltas completas o parciales, rotaciones hacia la derecha o hacia la izquierda, la actividad total y la velocidad de la natación en sentido de las manecillas del reloj o en sentido contrario.

Se deben considerar diversos parámetros para tener una buena fiabilidad.

- *Profundidad de agua*: Este parámetro se refiere a que los ratones no deben sentir un límite por debajo del nivel de agua. Sus colas no deben tocar la parte inferior del recipiente o el comportamiento de los ratones se alteraría.
- *La temperatura del agua*: Es otro parámetro que se debe cuidar ya que una temperatura más alta (35 °C) o más baja altera los resultados de inmovilidad. Actualmente, la mayoría de las pruebas de nado utilizan el agua a una temperatura de 23 °C y 28 °C (Demouliere y cols., 2005).

1.12.2. Prueba de ansiedad por el modelo de compartimentos luz / oscuridad

La prueba de luz / oscuridad se basa en la aversión innata de los roedores a zonas iluminadas y en la conducta exploratoria espontánea de roedores en respuesta a factores de estrés leves, es decir, el medio ambiente novedoso. El aparato de ensayo consiste en un pequeño compartimiento de seguridad oscuro y un gran compartimiento iluminado aversivo. La prueba de luz / oscuridad puede ser útil para predecir la actividad de tipo ansiolítico en ratones. Tiene las ventajas de ser rápida y fácil de usar.

Una situación de conflicto natural ocurre cuando un animal es expuesto a un ambiente desconocido o nuevo. El conflicto es entre la tendencia a explorar y la tendencia inicial de evitar lo no familiar (neofobia). La actividad exploratoria refleja el resultado de la combinación de éstas tendencias en situaciones nuevas.

La zona segura es el pequeño compartimiento oscuro y el área de aversión es el gran compartimiento iluminado (Bourin y Hascoet., 2002).

1.12.3. Actividad locomotora en Campo abierto

La prueba de campo abierto (OFT) es una medida común de la conducta exploratoria y la actividad en general tanto en ratones y ratas, en los que la calidad y cantidad de la actividad se puede medir. Principalmente, el campo abierto es un recinto, generalmente cuadrado, rectangular o de forma circular con paredes circundantes que impiden escapar. El resultado más básico y común de interés es "movimiento".

Algunos de los parámetros a medir pueden ser la defecación, el tiempo que permanece en el centro y la actividad dentro de los primeros 5 minutos, probablemente algunos de estos aspectos están relacionados con la ansiedad. La OFT también se usa comúnmente como un mecanismo para evaluar el efecto sedante, tóxico o efectos estimulantes. Así, la OFT mide una serie de facetas del comportamiento más allá de la simple locomoción (Gould y cols., 2009).

II. JUSTIFICACIÓN

Debido a que la información que se tiene sobre el efecto de la exposición a campos electromagnéticos es contradictoria por ejemplo en cáncer, efectos en la capacidad reproductiva, efectos genotóxicos, efectos sobre el sistema nervioso, estrés, entre otros y que actualmente en México no existen límites de exposición, es necesario establecer los posibles efectos biológicos en cambios conductuales provocados por la radiación y así proponer niveles de regulación de la exposición a radiaciones UHF.

III. HIPÓTESIS

Si se sabe que las radiaciones electromagnéticas tienen diferentes efectos biológicos; entonces, el tratamiento con radiación no ionizante de 860 MHz en ratones provocará alteraciones de tipo conductual.

IV. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que produce una frecuencia electromagnética de 860 MHz y 0.5 W de potencia, sobre la conducta de ansiedad, depresiva y locomotora en ratón.

4.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar el efecto sobre actividad locomotora al irradiar una onda de 860 MHz en ratón.
- Estudiar el efecto que produce una radiación de 860 MHz sobre el estado de ansiedad de ratones macho.
- Determinar el efecto de una radiación de 860 MHz sobre el estado de depresión de ratones macho.
- Determinar los cambios hormonales de corticosterona y testosterona en sangre al irradiar una onda de 860 MHz en ratón.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. MATERIAL

Biológico: 40 ratones macho

Equipo:

- Balanza analítica. Marca: Ohaus ; Modelo: E4000
- Celda GTEM (Transversal Electromagnética en Giga Hertz), un amplificador y un generador de señal.
- Mesa de medición actividad motora
- Compartimento para prueba de nado forzado (vaso de precipitados de 4000 mL)
- Aparato de prueba con dos compartimentos
- Compartimento oscuro
- Kit enzimoimmunoensayo para corticosterona. Marca: Detect X
- Kit Testosterone. Marca: EIA DSL-10-4000

5.2. METODOLOGÍA

Radiación de ratones.

El estudio se realizó con 40 ratones macho, todos se pesaron y marcaron. Posteriormente se dividieron aleatoriamente en cinco lotes:

LOTE	TRATAMIENTO
TESTIGO (TGO)	Sin tratamiento
RADIACIÓN VERANO (RDX V)	Radiación 35 días a 860 MHz. 4hrs diarias en verano (Junio).
RADIACIÓN INVIERNO (RDX I)	Radiación 35 días a 860 MHz. 4hrs diarias en invierno (Febrero).
RADIACIÓN 15 DÍAS (RDX 15)	Radiación 15 días a 860 MHz. 4hrs diarias.
FALSA RADIACIÓN (F RDX)	Aislamiento 15 días 4hrs diarias.

La radiación se llevó a cabo en el laboratorio de Compatibilidad Electromagnética, de la ESIME Zacatenco, el equipo utilizado para radiar los ratones fue una Celda GTEM (Transversal Electromagnética en Giga Hertz), un amplificador y un generador de señal. En la Figura 8 se muestra una fotografía de este equipo.



Figura 8. Equipo de radiación de ESIME ZACATENCO

El lote de radiación (UHF) se sometió a una frecuencia de 860 MHz y una potencia de 0.5 W en el equipo de radiación, durante 4 horas/día por 35 días en invierno y en verano, un segundo lote fue sometido a esta misma radiación únicamente por 15 días, cuidando que la temperatura estuviera entre 23-25° C y una humedad de 70%, sin acceso a alimento ni agua.

Se empleó un lote de ratones para someterlo solamente a aislamiento por 4 horas diarias sin ser expuesto a la radiación y un grupo de ratones testigo los cuales no recibieron tratamiento.

Se realizaron 3 pruebas para medir los cambios conductuales: actividad locomotora en campo abierto, depresión (nado forzado) y ansiedad (caja de dos compartimentos).

Prueba para medir actividad motora en campo abierto

Se dividió la mesa en cuadrículas de 10 cm x 10 cm. Se colocó al ratón en el centro de la mesa de medición y se contaron los cruces de líneas que hicieron durante 3 min, para considerar que un ratón cruzó debió tener las 4 patas en el cuadro.

Se realizó este procedimiento para cada ratón, limpiando con etanol al 70% después de cada uno y se registró el número de cruces por minuto, así como el acumulado.

Prueba para medir depresión (prueba de nado forzado)

En un recipiente que contenía agua a una temperatura de 25°C, se introdujo a cada uno de los ratones de cada uno de los lotes de tal forma que nadaran o se quedaran inmóviles. La prueba tuvo una duración de cinco minutos y se reportó el tiempo total de inmovilidad, nado y escalamiento.

Prueba de ansiedad (caja de dos compartimentos)

El aparato de prueba consiste de una caja con dos compartimientos de 20 cm x 70 cm. Un compartimiento oscuro (pintado de negro y cubierto) y el otro blanco, descubierto e iluminado con una lámpara de 100 watts, 50 cm por arriba del piso. La prueba tiene una duración de 10 minutos por ratón.

El animal se introdujo en el compartimiento blanco, colocándolo en el centro y con la cabeza dirigida en dirección contraria al hueco que intercomunica los compartimentos. En el momento en el que se dejó libre al animal, se activó el reloj con el que se tomó el

tiempo de la prueba. Con los cronómetros se midieron el tiempo de permanencia y el tiempo de inmovilidad en el compartimiento iluminado. El primero es el tiempo que el animal permaneció en este compartimiento durante los 10 minutos. El tiempo de inmovilidad es el tiempo que el ratón estuvo en el compartimiento blanco sin realizar ningún movimiento del cuerpo, cabeza, cola o miembros durante el periodo de 10 minutos.

Además se contó el número de transiciones desde el compartimiento blanco al negro y del negro al blanco, considerando que el animal pasó a un compartimiento cuando tiene las cuatro patas dentro de éste. Asimismo se reportó el número de levantamientos exploradores cuando el ratón estuvo en el compartimiento blanco. Se consideró un levantamiento exploratorio cuando el ratón levantó el tren anterior, cabeza y patas delanteras, y lo mantuvo en el aire o bien apoyado en alguna de las paredes.

Después de realizar las pruebas de conducta se procedió a obtener las muestras de sangre para lo cual se realizó una punción a nivel retro orbital en cada ratón para obtener 1mL de sangre que se centrifugó a 10 000 rpm por 5 min a 4°C para obtener el suero el cual se separó en un vial limpio y se congeló a -70 °C hasta el momento de realizar la determinación de corticosterona (ver ANEXO 1) y testosterona (ver ANEXO 2) con el kit correspondiente. Se sacrificaron a los ratones bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Análisis de resultados

Los resultados se analizaron con el programa estadístico Sigma Plot 12.0 y las pruebas que se realizaron fueron ANOVA unifactorial, y ANOVA bifactorial seguida de la prueba que mejor se adaptaba (Shapiro-Wilk, T-student, Newman-Keuls), sugerida por el programa. Se consideró una diferencia significativa con una $P \leq 0.05$.

VI. RESULTADOS

6.1. Peso corporal

En la Figura 9 se presenta una tendencia de incremento de peso en cada uno de los grupos a lo largo del tratamiento al que fueron sometidos debido a su crecimiento natural, observándose que ninguno de los tratamientos provoca la pérdida de peso de los roedores.

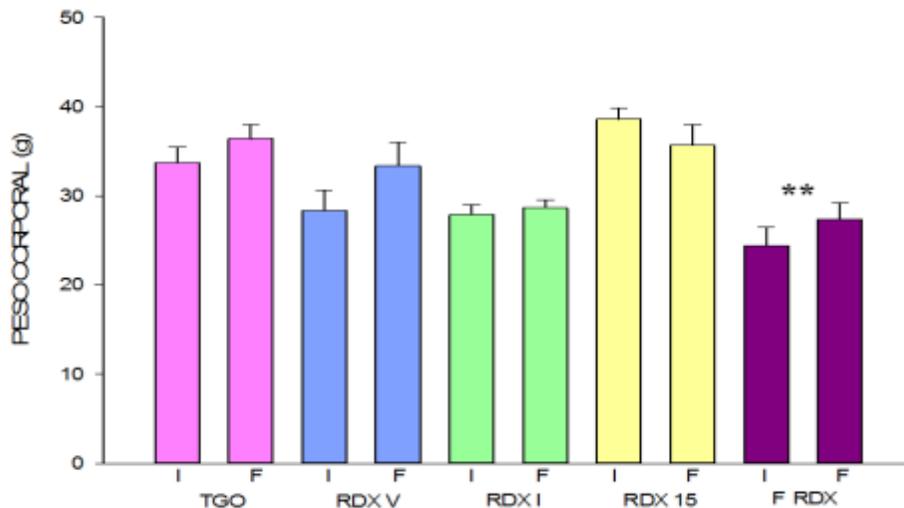


Figura 9. Peso corporal de los ratones tratados. Donde I es el peso inicial del tratamiento y F es el peso final de los ratones antes de ser sacrificados. "ANOVA unifactorial", * $p \leq 0.05$: ** diferencia significativa entre el grupo de FRDX en comparación con el grupo TGO.

6.2. Actividad locomotora en campo abierto

Los resultados de la actividad locomotora en campo abierto se presentan en las figuras 10 y 11, donde se observa que no se encontró diferencia significativa de los grupos tratados con respecto al grupo control. Sin embargo se observa una tendencia a aumentar el número de cuadros recorridos en el grupo RDX 15 con respecto al grupo testigo.

En la Figura 10 se observa que hay una tendencia de incrementar la actividad locomotora y exploratoria a los dos minutos, disminuyendo ésta a los 3 minutos por un acoplamiento al ambiente novedoso.

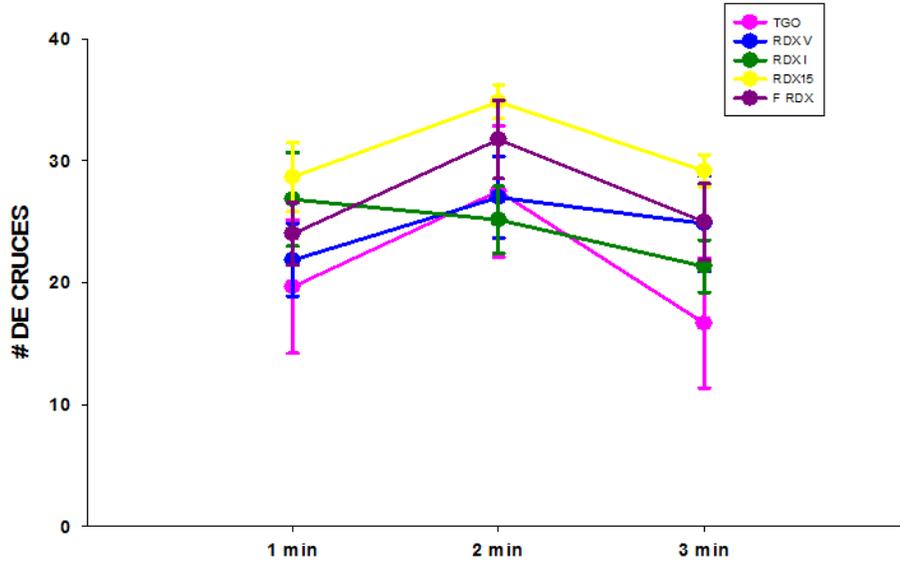


Figura 10. Número de cuadros que cruzaron los ratones cada minuto por 3 minutos en la prueba de campo abierto después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz o aislarlos ("ANOVA unifactorial" (* $p \leq 0.05$)).

En la Figura 11 se observa una tendencia de incremento en el # de cruces acumulado de todos los grupos con respecto al TG destacando que el grupo de RDX15 presentó una mayor actividad locomotora y exploratoria en un ambiente desconocido para los roedores.

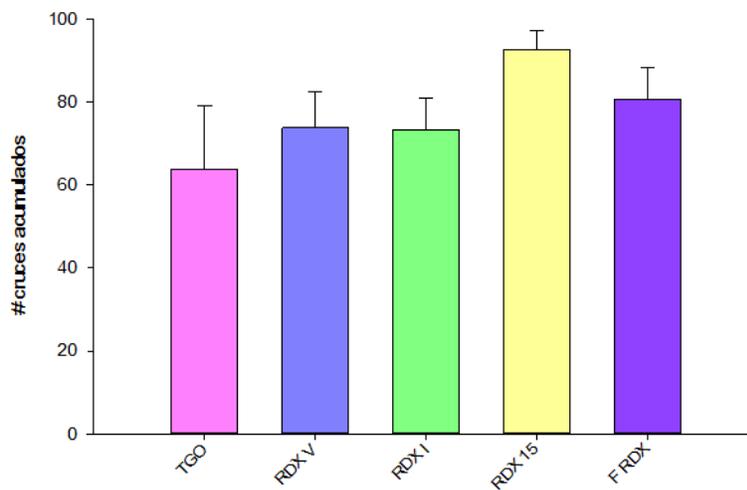


Figura 11. Número de cuadros acumulados en 3 minutos que cruzaron los ratones en la prueba de campo abierto después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz o aislarlos ("ANOVA unifactorial" (* $p \leq 0.05$)).

6.3. Prueba de ansiedad (caja de dos compartimentos)

En las figuras 12, 13, 14 y 15 se muestran los resultados del experimento en la caja de dos compartimentos (claro/oscuro) con los ratones macho sometidos a radiación de 860 MHz, se encontró diferencia significativa en el tiempo de inmovilidad, en el número de transiciones totales y en el tiempo de permanencia con respecto al control.

En la Figura 12 se presentó diferencia significativa del grupo RDX V con respecto al control por lo que se presenta una tendencia a estar menos tiempo explorando el compartimento blanco, mostrándose que los grupos de RDX I y RDX 15 presentan una tendencia a exploración a un ambiente novedoso.

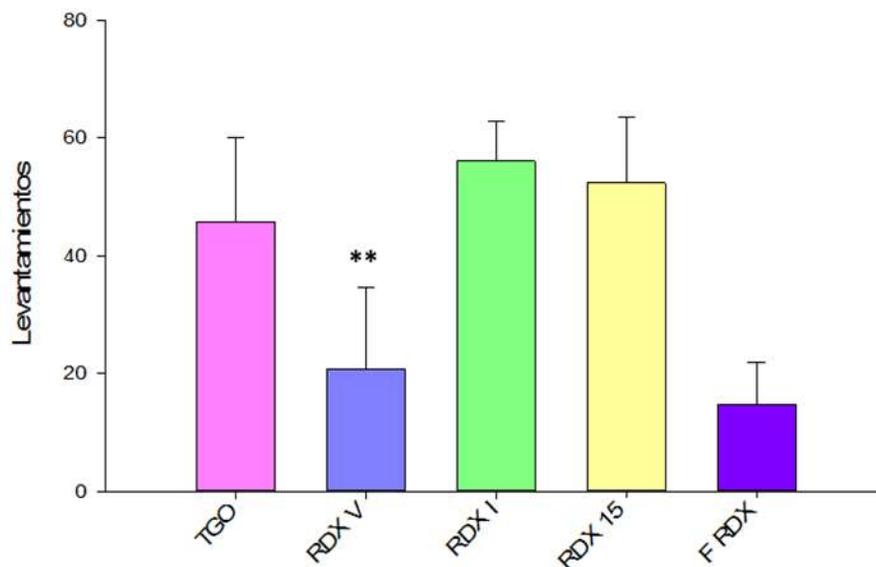


Figura 12. Levantamientos exploratorios que realizaron los ratones en el compartimento blanco en la prueba de ansiedad en la caja de dos compartimentos después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz. (ANOVA unifactorial, (* $p \leq 0.05$)). ** Diferencia significativa entre el grupo de RDX V en comparación con el grupo RDX I.

En la Figura 13 se observa una tendencia de los grupos RDXV, RDX15 Y FRDX a permanecer menos tiempo inmóvil en el compartimento blanco presentando una mayor conducta de exploración a diferencia del grupo RDXI que presenta una tendencia a permanecer mayor tiempo inmóvil en el compartimento blanco.

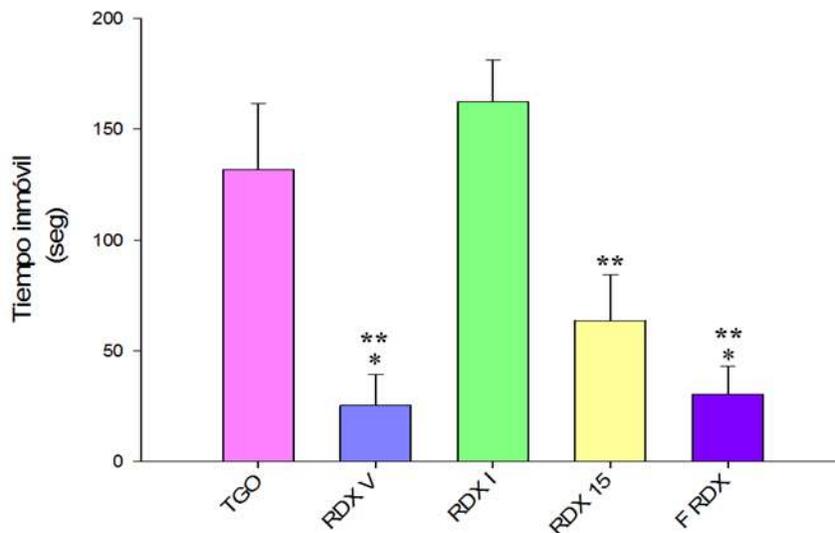


Figura 13. Tiempo que permanecieron inmóviles los ratones en el compartimento blanco en la prueba de ansiedad en la caja de dos compartimentos después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz. (ANOVA unifactorial, (* $p \leq 0.05$)). *Diferencia significativa entre el grupo de RDX V y F RDX en comparación con el grupo control. ** Diferencia significativa entre el grupo de RDX V, RDX 15 y FRDX en comparación con el grupo RDXI.

En la Figura 14 el grupo RDXI Y RDX15 presentan una tendencia a realizar mayor transiciones del compartimento blanco al negro y viceversa a comparación del grupo TG Lo que representa mayor conducta exploratoria, presentando un comportamiento contrario el grupo RDXV y FRDX.

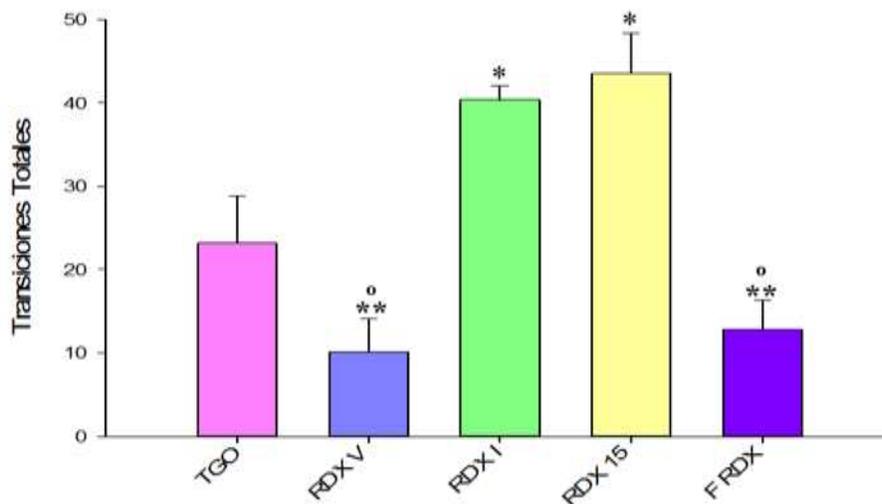


Figura 14. Número de transiciones totales que realizaron los ratones del compartimento negro al blanco y viceversa en la prueba de ansiedad en la caja de dos compartimentos después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz. (ANOVA unifactorial (* $p \leq 0.05$)). * Diferencia significativa entre el grupo RDXI y RDX15 en comparación con el grupo TGO. ** Diferencia significativa entre el grupo de RDXV y FRDX en comparación con el grupo RDXI. ° Diferencia significativa entre el grupo de RDXV y FRDX en comparación con el grupo RDX15.

En la Figura 15 se presenta una tendencia a disminuir el tiempo de permanencia en el compartimento blanco de los grupos con diferente tratamiento con respecto al TG lo que representaría que los roedores se mantuvieron mayor tiempo en el compartimento negro.

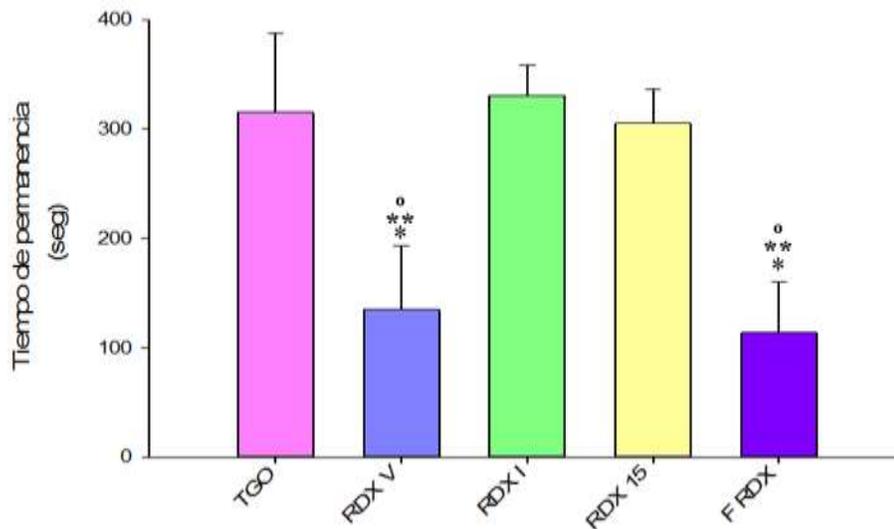


Figura 15. Tiempo de permanencia en el compartimento blanco de los ratones en la prueba de ansiedad en la caja de dos compartimentos después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz. (ANOVA unifactorial, ($*p \leq 0.05$)). * Diferencia significativa entre el grupo de RDXV y FRDX en comparación con el grupo TGO. ** Diferencia significativa entre el grupo de RDXV y FRDX en comparación con el grupo RDXI. ° Diferencia significativa entre el grupo RDXV y FRDX en comparación con el grupo RDX15.

6.4. Prueba de depresión (nado forzado)

Se presentan en las Figuras 16, 17 y 18 el comportamiento de los ratones macho en la prueba de nado forzado; se encontraron diferencia significativa en el tiempo de nado de los ratones irradiados en junio y los de radiación de 15 días con respecto al control.

En la figura 16 se muestra un incremento en el tiempo de nado en los grupos RDXI y FRDX, y disminución en el tiempo de nado en los grupos RDXV con respecto al TG.

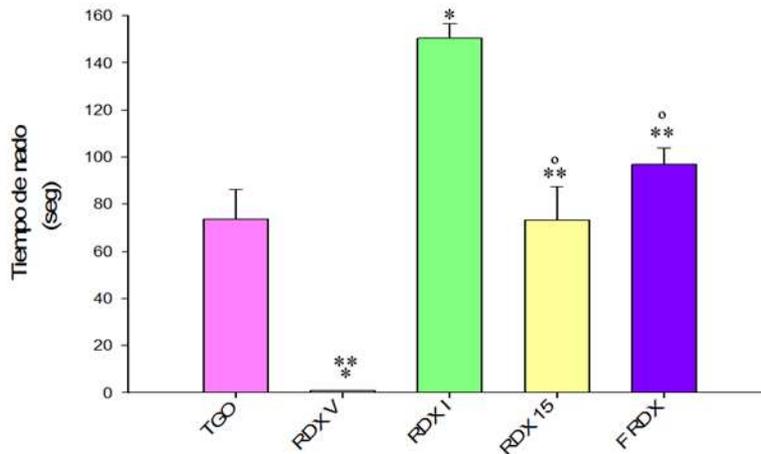


Figura 16. Tiempo de nado de los ratones en la prueba de nado forzado después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz. (ANOVA unifactorial (* $p < 0.05$)). * Diferencia significativa entre el grupo RDXV y RDXI en comparación con el grupo TGO. ** Diferencia significativa entre el grupo RDXV, RDX15 y FRDX en comparación con el grupo RDXI. ° Diferencia significativa entre el grupo FRDX y RDX15 en comparación con el grupo RDXV.

En la figura 17 se muestra un incremento en el tiempo de inmovilidad en los grupos RDXV y FRDX, y disminución en el tiempo de inmovilidad en los grupos RDXI y FRD15 con respecto al TG. El tiempo de inmovilidad es análogo a la depresión ya que no se presenta lucha para salir de un medio estresante, por lo que los grupos RDXV que presenta diferencia significativa tiene una tendencia a presentar un estado de depresión.

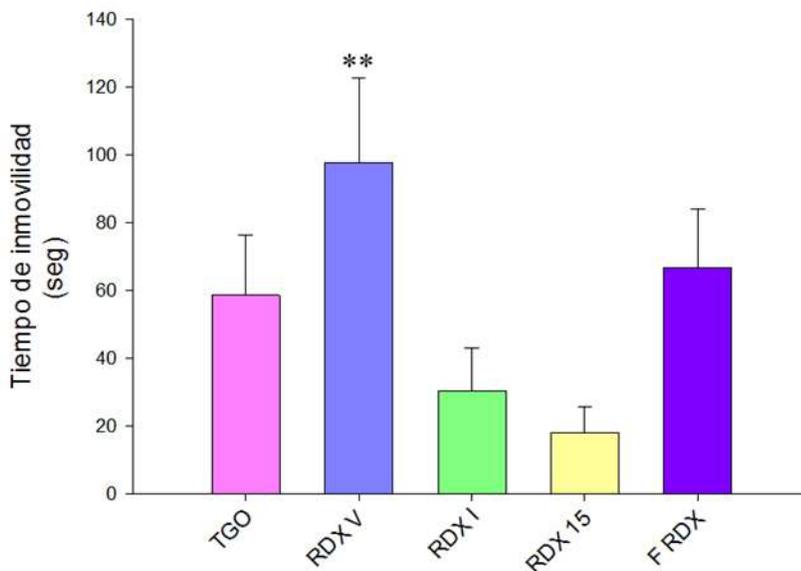


Figura 17. Tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado de los ratones después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz. (ANOVA unifactorial (* $p \leq 0.05$)). ** Diferencia significativa entre el grupo RDXV en comparación con el grupo RDX15.

En la Figura 18 se muestra un incremento en el tiempo de escalamiento en los grupos RDXV y RDX15, y disminución en el tiempo de escalamiento en los grupos RDXI y FRDX con respecto al TG. El tiempo de escalamiento representa el tiempo de lucha para salir de un medio estresante, por lo que los grupos RDXV y RDX15 presentaron mayor lucha.

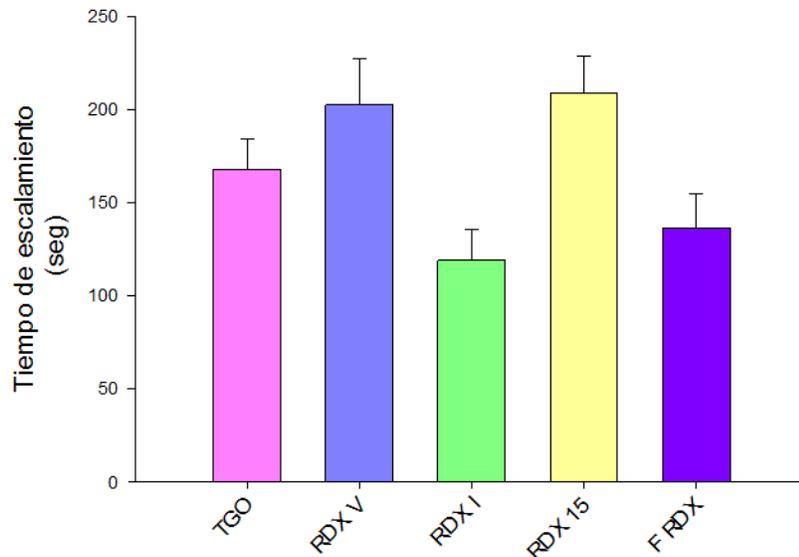


Figura 18. Tiempo de escalamiento en la prueba de nado forzado de los ratones después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 (ANOVA unifactorial, (* $p \leq 0.05$)).

6.5. Determinación de corticosterona y testosterona

Los resultados de la concentración de las hormonas corticosterona y testosterona se presentan en las Figuras 19 y 20, donde no se encontró diferencia significativa de los grupos tratados con respecto al testigo.

En la figura 19 se muestra una tendencia de disminución de concentración de corticosterona de los grupos RDXV, RDX 15 Y FRDX con respecto al TG y un ligero incremento de la concentración de corticosterona del grupo RDX I.

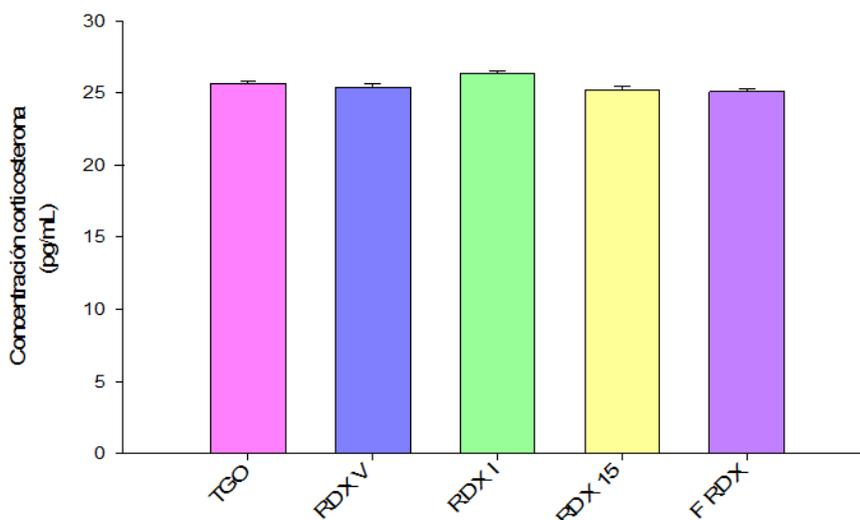


Figura 19. Niveles de corticosterona en sangre de los ratones después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz (ANOVA unifactorial, (* $p \leq 0.05$)).

En la figura 20 se muestra una tendencia de incremento de concentración de testosterona de los grupos con tratamiento de 35 días (RDXV, RDXI) con respecto al TG y una tendencia de disminución de la concentración de testosterona de los grupos RDX15 y FRDX.

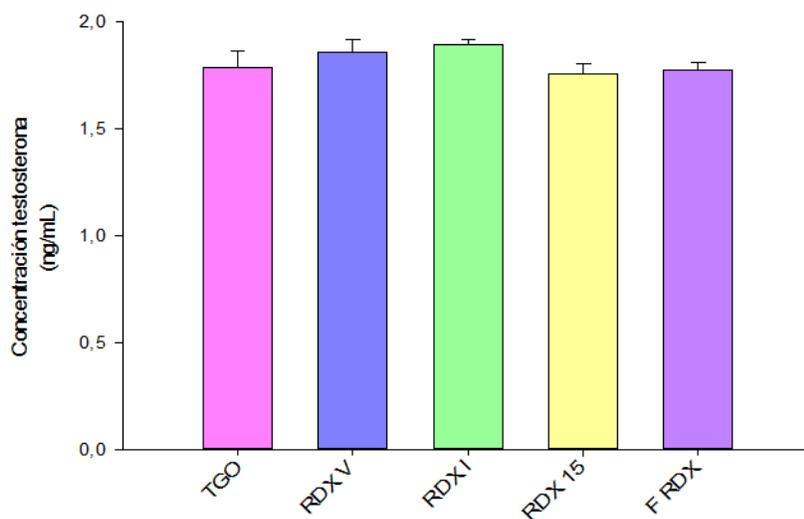


Figura 20. Niveles de testosterona en sangre de ratones después de irradiarlos con una frecuencia UHF de 860 MHz (ANOVA unifactorial, (* $p \leq 0.05$)).

VII. DISCUSIÓN

Las manifestaciones biológicas detectadas en el sistema nervioso en relación con la exposición a CEM pueden originar desde respuestas fisiológicas hasta efectos nocivos, dependiendo de las características e intensidad del campo (<https://www.lpi.tel.uva.es>).

En la actualidad existe controversia sobre los efectos nocivos que puede generar la radiación electromagnética en los seres vivos, los estudios científicos varían en los resultados de acuerdo a la magnitud y tiempo de exposición a la radiación, pero no hay consenso sobre las alteraciones encontradas.

En el presente trabajo se evaluó el efecto del campo electromagnético de 860 MHz a 0.5 W de potencia sobre el estado de ansiedad y depresión en roedores, a través de pruebas conductuales, para poder establecer la relación entre los CEM de esa intensidad y las enfermedades del estado de ánimo más frecuentes.

Aunque estos experimentos miden respuestas conductuales, la prueba de actividad locomotora en campo abierto, nos permite evaluar el estado de alerta y capacidad de caminar de los ratones, ya que su instinto natural es la exploración de lugares nuevos (Carbajal y cols., 2007). En esta prueba no se encontraron diferencias significativas, por lo que la radiación y el aislamiento no afectan la actividad locomotora de los roedores ni la conducta de exploración a un ambiente novedoso.

El hipocampo es un sitio importante en el SNC que participa en la formación de recuerdos, y además desempeña un papel general dentro del procesamiento de la información y posterior regulación de la conducta.

El estado de ansiedad en los roedores se puede medir a través de la prueba de la caja de dos compartimentos, donde el tiempo que permanece inmóvil el ratón en el compartimento blanco y el tiempo de permanencia en el lado oscuro indican su ansiedad. En esta prueba se encontró incremento significativo en estas variables en los animales que recibieron radiación con respecto al control, lo que indica un estado de ansiedad generado por la radiación y apoyan indirectamente la teoría de Gray, la cual afirma que el miedo y la frustración son respuestas emocionales que involucran los mismos circuitos

neurales que se activan con estimulación eléctrica de la amígdala y produce conductas relacionada con el miedo y la ansiedad (Kamenetzky y cols., 2011).

Además en situaciones de estrés se activa una cascada de respuestas fisiológicas en el organismo que le sirven para adaptarse. El aislamiento provoca cambios importantes en la conducta, se caracteriza por un incremento en la actividad motora espontánea así como de las respuestas motoras de adaptación a un ambiente novedoso y una mayor secreción de glucocorticoides (Moragrega, 2005), también se activa el sistema nervioso simpático induciendo la secreción de catecolaminas en la médula adrenal y produciendo así los efectos sobre la función cardiovascular y el metabolismo; por otro lado, se libera la hormona liberadora de corticotropina desde el hipotálamo, que activa la glándula pituitaria o hipófisis para que libere la hormona adenocorticotropina (ACTH) y finalmente, ésta actúa sobre la corteza adrenal para que libere glucocorticoides (GC), cuyos efectos van dirigidos precisamente a aumentar la disponibilidad de energía en determinadas partes del cuerpo (Martínez y Almela, 2007), esta respuesta corresponde a la activación del eje hipotálamo – hipófisis - glándulas suprarrenales.

Por otra parte, los ratones irradiados en febrero (invierno) así como los que se expusieron 15 días a radiación presentan una mayor conducta exploratoria por el incremento en el número de transiciones comparados con el testigo. Una intensa exposición a radiación electromagnética puede causar liberación de corticoides al torrente sanguíneo, probablemente por estimulación térmica de la hipófisis por lo que cualquier cambio en la temperatura sobre una región específica del cerebro puede ser causa suficiente para disparar una respuesta de estrés, la cual va a liberar ACTH. Los glucocorticoides liberados en la circulación promueven la movilización de la energía almacenada y potencian los numerosos efectos mediados por el sistema nervioso simpático (Redolar, 2011), lo cual produciría una mayor actividad por parte de los ratones. Así como se ven involucrados los niveles de cortisol que varían entre el día y la noche, esta variación de cortisol es una combinación compleja de oscilaciones rápidas que duran pocas horas de manera circadiana (Zavala, 2015); estos ciclos circadianos sirven para sincronizar la conducta y los cambios corporales a las modificaciones del entorno (Pérez, 1998), siendo de esta forma los roedores más activos durante la noche y alcanzando

máximos niveles de corticosterona durante la tarde, justo antes de despertar (Zavala, 2015).

En cuanto al estado de depresión de los ratones evaluada con la prueba de nado forzado, se presentó una disminución significativa en el tiempo de nado en el grupo irradiado en verano con respecto al irradiado en invierno y con el lote testigo; lo que indica que el grupo radiado en verano presentó depresión en cambio los de invierno no mostraron esa conducta. De acuerdo con la interpretación de las conductas activas propuesta por Detke en el año 1995, es posible que en los machos, se produzca la activación de ambos sistemas de neurotransmisión el serotoninérgico y el noradrenérgico (Martínez y cols., 2012), que son los involucrados en la depresión. Sin embargo ambos lotes recibieron el mismo tratamiento variando únicamente la estación del año, por lo que las condiciones de luz durante las diferentes estaciones del año influyen las conductas de los roedores, ya que en verano que son 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad los roedores desarrollan menos conductas del tipo depresivo, mientras que en un ambiente con 8 horas de luz y 16 de oscuridad (Vanderbilt, 2015) es decir con menos horas de luz, como pasa durante el invierno, ocasiona fenómenos depresivos y provoca que aumenten los niveles de corticosterona (Tara y cols., 2012), por lo tanto se presenta en los resultados obtenidos una mayor actividad por parte de los roedores, sucediendo lo contrario con los ratones de verano.

La determinación de corticosterona y testosterona a través de la prueba de Elisa permite conocer los niveles de dichas hormonas en el suero de los ratones, se determinaron éstas debido a que están implicadas en el circuito de estrés y pudieron ser la causa de que se presentara ansiedad y depresión en los ratones. Sin embargo no se encontraron diferencias en ninguna de las dos hormonas, se esperaba un incremento en la corticosterona en el grupo de radiación de junio ya que en las pruebas conductuales se mostró una respuesta de ansiedad y depresión, así como en el grupo de falsa radiación.

Por otro lado al incrementarse la concentración de corticosterona se esperaba una reducción de la concentración de testosterona, ya que el estrés baja esta hormona a

través de una enzima llamada 11 β HSD-1 (<http://www.peaktestosterone.com>). Sin embargo los niveles de testosterona se mantuvieron similares con respecto al grupo control, se considera que no se presentó una diferencia significativa en la concentración de corticosterona y testosterona debido a que el neurotransmisor GABA inhibe la secreción de cortisol, baja la acetilcolina y la CRH; además de que el mismo cortisol inhibe su propia síntesis, al aumentar los glucocorticoides, éstos se unen a receptores hipotalámicos e hipocampales, trabajan actuando a nivel de la transcripción y supresión de la expresión de los genes para CRH (Muzio y cols., 2011) ó no se tomó la muestra en el instante que se concluyó el tratamiento, sino hasta el final de las pruebas conductuales pudiendo ser la causa de que la concentración de las hormonas regresara a los valores normales. Se sugiere que las muestras para la determinación de las hormonas se realice terminando el tratamiento antes de las pruebas conductuales.

La futura dirección de este trabajo se refleja en la investigación del efecto sobre el ADN por la prueba de cometa, morfología de cerebro, morfología testicular, espermatogénesis y teratogénesis.

VIII. CONCLUSIONES

- La radiación de 860 MHz y el aislamiento no afecta la actividad locomotora de los roedores.
- Se incrementó el estado de ansiedad de ratones irradiados con 860 MHz en verano (junio) y falsa radiación con respecto al grupo control.
- Se generó una tendencia de estado de depresión en el grupo irradiado en verano con respecto al grupo control.
- No se presentó cambio en la concentración de testosterona y corticosterona con respecto al grupo control.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Aquilino P L A, Cabanyes T J, Pozo A A, 2003. Fundamentos de psicología de la personalidad. Instituto de Ciencias para la familia. Ediciones Rialp. Madrid. pp.378.
2. Balmori A, 2006. Efectos de las radiaciones electromagnéticas de la telefonía móvil sobre los insectos. Asociación Española de Ecología Terrestre. España Ecosistemas. 15 (1): 87-95.
3. Botella L J, Tresguerres J A F, 1996. Hormonas, instintos y emociones. Editorial Complutense. Madrid. pp. 173.
4. Bourin M, Hascoet M, 2002. The mouse light/dark box test. Faculty of Medicine, Neurobiologie del Anxiete et de la Depression. Francia. pp. 197-218.
5. Cabal C, Otero G, Acuña J, 2005. Informe sobre Campos electromagnéticos y la salud humana. Instituto de Ingeniería Eléctrica. Facultad de Ingeniería. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. pp. 6-13.
6. Corsi C M, 2004. Aproximaciones de las neurociencias a la conducta. Editor UNAM. México. pp. 215.
7. CRT-Comisión de Regulación de Telecomunicaciones, 2000. Proyecto de marco regulatorio sobre límites de la exposición humana a campos electromagnéticos en servicios de telecomunicaciones. Facultad de ingeniería. Departamento de electrónica. Santafé de Bogotá. pp. 6-28.
8. Demouliere B P, Chenu F, Bourin M, 2005. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. Psychopharmacology. Francia. 177:245–255.
9. Gould T D, Dao D T, Kovacsics C E, 2009. The open field test. Humana press, a part of Springer Science. Estados Unidos. 42: 2-16.
10. Hardell L, Sage C, 2008. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. Department of Oncology. Biomedicine & pharmacotherapy. Suecia. 62(2):104-109.
11. <http://www.arborassays.com/product/k014-h-corticosterone-eia-kit/>
12. http://www.peaktestosterone.com/es/Estres_Testosterona.aspx
13. https://www.lpi.tel.uva.es/~nacho/docencia/EMC/trabajos_02_03/antenas_de_telefono_movil_y_salud/web.htm

14. Klauenberg B, Grandolfo M, 1995. Radiofrequency Radiation Standards Biological effects, Dosimetry, Epidemiology, and Public Health Policy. Plenum Press. New York. pp. 22-28.
15. López C A, Villagrasa V, Moreno L, 2010. Manual de Farmacología: Guía para el uso racional del medicamento. Elsevier España. pp. 39,40.
16. Martí V J, Valls L C, Mestres M C, Homs V M, 2013. Cuadernos de la Buena Praxis. Medio Ambiente y Salud. Centro de Análisis y Programas Sanitarios (CAPS). Colegio oficial de médicos de Barcelona. pp. 21-27.
17. Martí V J, Valls L. C, Mestres M C, Homs V M, Fusté i M H, Parra B P, Ferris P A, Santos T, Romano i R G, Duch G, 2011. La contaminación y la salud. Barcelona. pp. 37-40, 46.
18. Martínez S S, Almela Z M, 2007. Hormonas, estado de ánimo y función cognitiva. Delta Publicaciones. Primera edición, Madrid (España). pp.160, 162.
19. Molina M J M, Ruiz C A, 2010. Automatización y telecontrol de sistemas de riego. Ediciones Técnicas Marcombo. Primera Edición. Barcelona. pp. 331.
20. Moragrega V I, 2005. Aislamiento social y aprendizaje en ratones NMRI: Efectos de la administración de nicotina. Valencia. pp. 36.
21. Moreno A C, 2008. La Depresión y sus Máscaras. Médica Panamericana. Buenos Aires, Madrid. pp.77.
22. Orlandini A, 2012. El estrés: Qué es y cómo evitarlo. La Ciencia para Todos. Fondo de Cultura Económica. Primera edición, Argentina. pp.11.
23. Pablo E, Lozaga G, Úbeda M A, 2001. Ondas electromagnéticas y salud. Informes sanitarios siglo XXI. Secretaria de coordinación: Carricondo O. F. pp. 21,160-179.
24. Pérez P M, 1998. Psicobiología II. Universidad de Barcelona. Madrid. 34:42.
25. Redolar R D, 2011. El cerebro estresado. Manuales (Universitat Oberta de Catalunya): Educación social. Editorial UOC. Barcelona. pp. 91-101.
26. Sánchez M, 2012. Farmacología y endocrinología del comportamiento. Editorial UOC. Primera edición. Barcelona. pp. 452.
27. Sánchez P T, Sirera R, Peiró G, Palmero F, 1997. Stress, Depression, Inflammation and Pain. Revista electrónica de motivación y emoción. Valencia.11(28):7,8.

28. Tara A L, Cara M A, Hey K L, Sunggu Y, Haiqing Z, Alfredo K, Todd W E, Samer H, 2012. Aberrant light directly impairs mood and learning through melanopsin-expressing neurons. España. 491: 594–598.
29. Solano V M A, Sáiz I J, 2001. Efectos biológicos del campo electromagnético Universidad de Cantabria. Grupo de Electromagnetismo. España. pp. 4, 24, 29-31.
30. Úbeda A, Trillo M A, 1999. Radiaciones Rf de Antenas de Telefonía y Salud Pública: El Estado de la Cuestión. Departamento de investigación, Hospital Ramón y Cajal, Madrid. Radioprotección. 7:24-36.
31. Vanderbilt, 2015. Study identifies the region of the brain responsible for seasonal affective disorder. Mental Health. Nashville, Estados Unidos.
32. Vargas F, Úbeda A, 1999. Campos electromagnéticos y salud pública. Informe técnico elaborado por el comité de expertos. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral. Dirección General de Salud Pública y Consumo. Ministerio de Sanidad y Consumo. pp. 8-24.
33. Zavala E, 2015. Entendiendo la respuesta del cuerpo al estrés. University of Exeter. Ciencia y cultura. Inglaterra.
34. Kamenetzky G, Cuenya L, Mustaca A E, 2011. Correlación entre miedo incondicionado y la primera reacción a la disminución y extinción de un reforzador apetitivo. México. 1(1):92-107.
35. Martínez M L, Herrera P J J, Olivares N M, Fernández G A, 2012. Participación de las hormonas gonadales en el efecto de los fármacos antidepresivos en la rata macho. México. 35(5):364.
36. Carbajal Q D, Molina C V, Ferreiro R, Arruzazabala V L M, 2007. Efecto del D-004 sobre patrones conductuales en roedores. CENIC Ciencias Biológicas. La Habana, Cuba. 38(1):12-17.
37. Muzio R N, Grinspun F, Mandich V, 2011. Biología del comportamiento. Buenos Aires. pp. 7,8,16

ANEXOS

ANEXO 1. Procedimiento para la determinación de corticosterona

- Los reactivos y muestras alcanzaron la temperatura ambiente y se mezclaron completamente mediante una inversión suave antes de su uso.
- Se marcaron las tiras de microtitulación que se utilizaron.
- Se preparó la muestra problema agregando la misma cantidad de agente de disociación y se realizó una dilución 1:50 con assay buffer.
- Se pipeteo 50 μL de cada estándar y muestra problema en los pocillos correspondientes.
- 75 μL de assay buffer en los pocillos de unión no específica (NSB).
- 50 μL assay buffer en los pocillos para actuar como pozos de unión máxima.
- Se añadió 25 μL de solución de conjugado de corticosterona a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático.
- Se añadió 25 μL de anticuerpo de corticosterona a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático excepto en el pozo de NSB.
- Se incubaron los pocillos, agitando a alta velocidad (500-700 rpm) en un agitador orbital de microplacas, durante una hora a temperatura ambiente.
- Se aspiró y lavó cada pocillo 4 veces con 30 μL de la solución de lavado.
- Se añadió 100 μL de solución de cromógeno TMB a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático.
- Se incubó los pocillos, agitando a alta velocidad (500-700 rpm) en un agitador orbital de microplacas, durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se evitó la exposición directa a la luz solar.

- Se añadió 50 μL de solución de parada a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático.
- Se leyó la absorbancia de la solución en los pocillos al cabo de 30 minutos, programado a 450 nm.
- Con los datos obtenidos se realizó una curva tipo y posteriormente se obtuvieron los valores de las concentraciones de corticosterona de las muestras problema.

ANEXO 2. Procedimiento para la determinación de testosterona

- Los reactivos y muestras alcanzaron la temperatura ambiente ($\sim 25^{\circ}\text{C}$) y se mezclaron completamente mediante una inversión suave antes de su uso.
- Se marcaron las tiras de microtitulación que se utilizaron.
- Se pipeteó 50 μL de cada estándar, control y muestra problema en los pocillos correspondientes.
- Se preparó la solución de conjugado de enzima diluyendo el concentrado de conjugado de enzima en el diluyente del conjugado.
- Se añadió 100 μL de solución de conjugado de enzima a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático.
- Se añadió 100 μL de antisuero frente a testosterona a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático.
- Se incubaron los pocillos, agitando a alta velocidad (500-700 rpm) en un agitador orbital de microplacas, durante una hora a temperatura ambiente ($\sim 25^{\circ}\text{C}$).
- Se aspiró y lavó cada pocillo 5 veces con la solución de lavado, empleando un lavador automático de microplacas. Se secó invirtiendo la placa sobre material absorbente. NOTA: es altamente recomendable la utilización de un lavador de microplacas automático. No realizar un lavado completo afecta negativamente a la precisión del ensayo. Si no se dispone de un lavador de microplacas, (a) aspire totalmente el líquido de cada pocillo, (b) dispense 0.35 mL de solución de lavado en cada pocillo, y (c) repita los pasos (a) y (b) cinco veces.
- Se añadió 100 μL de solución de cromógeno TMB a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático.
- Se incubó los pocillos, agitando a alta velocidad (500-700 rpm) en un agitador orbital de microplacas, durante 30 minutos a temperatura ambiente ($\sim 25^{\circ}\text{C}$). Se evitó la exposición directa a la luz solar.

- Se añadió 100 μ L de solución de parada (ácido sulfúrico 0.2 M) a cada pocillo empleando un dispensador semiautomático.
- Se leyó la absorbancia de la solución en los pocillos al cabo de 30 minutos, utilizando un lector de microplacas programado a 450 nm.
- Con los datos obtenidos se realizó una curva tipo y posteriormente se obtuvieron los valores de las concentraciones de testosterona de las muestras problema.

ANEXO 3. Divulgación científica.

Este proyecto se presentó en el Congreso de la mujer en la Ciencia en León Guanajuato (2015). A continuación se anexa el reconocimiento obtenido.

