



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Efecto de los campos electromagnéticos de
frecuencia extremadamente baja (60 Hz) sobre el
ritmo diario de actividad locomotora de ratas Wistar**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Bióloga

P R E S E N T A:

Katya Fernanda Roldán Rizo



**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. Sylvia Leticia Verdugo Díaz**

**Ciudad Universitaria, CD. MX.
2021**



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.

Agradecimientos

Mis principales agradecimientos para mi directora de tesis, la Dra. Leticia Verdugo-Díaz, por el apoyo tanto en lo académico como en lo personal que llevó a la culminación de este proyecto. A mis sinodales: Dra. Elsa Guadalupe Escamilla Chimal, Dra. María del Carmen Miñana Solís, Dra. María de la Luz Navarro Angulo, Biol. María de la Paz Rodríguez Muñoz, gracias por el tiempo y sus observaciones, espero que la versión final sea de su agrado y cumpla con sus expectativas.

A mi hermana, quien a pesar de tener unas maneras muy pesadas de expresarse ha sido la más honesta y la más dura crítica.

A mi padre, A mi abuelita Tere, mi abuelito Joaquín, y a mi familia en general por formar parte de mi desarrollo y mis experiencias. A mis primos, porque son uno de mis mayores ejemplos, por ser como son. Y porque me enseñaron que hay que ir "Sin miedo al éxito" por la vida.

A mis amigos Ana Laura, Ana Karen, Hain, Angie, Ali y Bryan quienes, aunque no lo crean, me han inspirado a terminar lo que he empezado y a no rendirme a pesar de que las circunstancias sean difíciles. Gracias por su presencia.

A mi compañera, que estuvo conmigo cuando sentía que no podía más, cuando no tenía con quien hablar, cuando lo único que quería era llorar todo el día... Gracias por esforzarte tanto, por resistir tanto Kala. Y perdón por tan poco.

A mi tío Rodolfo, que aunque no pudo ver este trabajo terminado, fue una parte muy importante. Gracias por el incontable e interminable apoyo. Y perdón por la tardanza.

Al MVZ. Jorge Puente, gracias por el tiempo, las enseñanzas, el apoyo y la buena música. Y a la "mallestra" por dejarme llegar hasta ahí.

Y, finalmente, tengo que agradecer especialmente a mi madre quien ha mantenido su confianza en mí a pesar del retraso y la espera, a pesar de todas las excusas y desilusiones. Gracias por ser el sostén de mi vida y, ¿Por qué no decirlo? De este trabajo también. Gracias por ser tan fuerte y mostrarnos que ninguna circunstancia ni ninguna persona son suficientes para detenernos.

Espero disfruten esta tesis, tanto como yo disfrute la mayor parte de ella.

僕が良ければ全て良し。

何時の中に我らいる限り、つねり我
らの心と共にある。

“Mientras me encuentre en tus pensamientos, mi corazón siempre estará contigo”

A mi mamá, mi hermana.
A mis angelitos en el cielo.
Y a todos aquellos que creyeron en esto.

Este proyecto de tesis fue realizado en el laboratorio de Bioelectromagnetismo, perteneciente al departamento de Fisiología de la facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y fue financiado por el programa PAPIIT, UNAM: IN211417 y otorgó beca a la alumna Katya F. Roldan Rizo.

Índice

Resumen.....	1
Introducción	2
1.1 Ritmos Biológicos.....	2
1.1.1 Breve historia sobre los ritmos biológicos	2
1.1.2 Definición y parámetros de los ritmos.....	4
1.1.3 Las respuestas al estrés pueden afectar a los ritmos circadianos.....	7
1.1.4 Actividad Locomotora en Mamíferos.....	9
1.2 Campos electromagnéticos (CEM)	12
1.2.1 Breve historia sobre el electromagnetismo.....	12
1.2.2 Generalidades de los campos electromagnéticos (CEM)	14
1.3 Efectos de los campos electromagnéticos (CEM) en los seres vivos.....	16
1.4 Efecto de los CEM de frecuencia extremadamente baja (FEB) sobre los ritmos biológicos..	19
Justificación.....	23
Hipótesis y Objetivos	24
3.1 Hipótesis	24
3.2 Objetivos.....	24
Materiales y Métodos	25
4.1 Animales	25
4.2 Diseño Experimental.....	25
4.2.1 Registro de Actividad locomotora.....	26
4.2.2 Exposición a Campos Electromagnéticos (CEM)	28
4.2.3 Proceso de eutanasia y toma de muestra sanguínea.....	29
4.2.4 Prueba de ELISA para detección de corticosterona	30
4.2.5 Análisis Estadístico	30
Resultados	31
5.1 Actividad Locomotora	31
5.1.1 Fotoperiodo LO	31
5.1.2 Oscuridad Constante (OO)	34
5.2.1 Peso.....	37
5.2.2 Corticosterona.....	38
Discusión.....	39
Conclusiones	45
Perspectivas.....	45
Referencias.....	46
Anexos.....	52

Resumen

El aumento en la utilización de aparatos tecnológicos ha incrementado el uso de la electricidad en las poblaciones humanas; lo que, inevitablemente, ha elevado la exposición a campos electromagnéticos (CEM) ambientales. Estos pueden afectar diversos parámetros fisiológicos y la conducta de los organismos, incluyendo al ser humano.

La actividad locomotora de los animales es un parámetro que permite determinar los efectos de ciertos estímulos sin necesidad de utilizar métodos invasivos. El presente trabajo tuvo como objetivo describir el efecto de la exposición a campos electromagnéticos de 60 Hz (1 h/día/5 días) sobre el ritmo de actividad locomotora de ratas Wistar macho. Se utilizaron un total de 36 animales, cuya actividad locomotora fue registrada de forma individual y continua mediante un sistema de registro colocado en las cajas de acrílico. El experimento requirió el uso de dos fotoperiodos (n=18 c/uno): luz-oscuridad (LO, encendido=6:00h; apagado=18:00h) y oscuridad constante (OO). Para realizar el análisis estadístico y determinar los efectos provocados por la exposición, se utilizaron 3 grupos (Control [Ctrl], Control de movimiento [CM] y Expuesto a campos electromagnéticos [CEM]). Al finalizar el periodo de registro de ambos fotoperiodos, los animales fueron sacrificados y se extrajo una muestra de sangre para evaluar la concentración de corticosterona.

Los resultados obtenidos mostraron que el CEM aumentó la actividad antes, durante y después de la exposición, con diferencias más elevadas en el grupo OO. Con estos resultados concluimos que la estimulación de 60 Hz indujo aumento en la actividad locomotora de ratas adultas. Sin embargo, este cambio fue inmediato y transitorio.

En el caso de parámetros fisiológicos (peso y corticosterona), los resultados obtenidos con respecto a la concentración de corticosterona en plasma fueron no concluyentes, debido a que no observamos diferencias significativas entre los grupos, y concuerdan con lo reportado por otros autores.

Sin embargo, es necesario seguir investigando el efecto de los CEM en otras fases del ritmo circadiano, además de analizar las vías involucradas tanto en la respuesta conductual como fisiológica.

Introducción

1.1 Ritmos Biológicos

1.1.1 Breve historia sobre los ritmos biológicos

Una parte importante en la evolución de los organismos es su adaptación a las variaciones cíclicas del ambiente, ya que las características rotatorias de la Tierra –alrededor del Sol y sobre su propio eje- ejercen una influencia en todos los organismos (Dunlap, 2004). La traslación de la Tierra causa cambios estacionales donde la luz se mantiene presente por más tiempo en verano y en invierno aumentan las horas de oscuridad. La rotación de la Tierra no solo produce variaciones de iluminación; también altera la temperatura del ambiente; por ejemplo, la temperatura en los desiertos es elevada durante el día, pero baja dramáticamente durante la noche.

En los últimos 50 años se ha ampliado la comprensión del tiempo biológico, generando el nacimiento a una nueva rama de la biología: la Cronobiología (**chronos = Tiempo, bios = Vida, logos = Estudio**). La Cronobiología se define como el estudio de los procesos rítmicos en los organismos vivos. En su libro Dunlap (2004), también describe mecanismos y alteraciones que puede exhibir la organización temporal bajo diversas situaciones, y al mismo tiempo parece funcionar como un sistema de adaptación en un ambiente que se encuentra en constante cambio. Lo que involucra que los organismos estén “*haciendo lo correcto, en el lugar y en el momento correcto*”. Aproximadamente cada 24 horas, las hojas de algunas plantas cambian su orientación, algunos hongos liberan sus esporas y la temperatura corporal de varios animales presenta incrementos y decrementos, y existen muchos más ejemplos para representar la enorme red de ritmos biológicos existentes (Gruart, 2002; Kumar, 2017).

Hace más de un siglo, la humanidad era casi totalmente ignorante de la existencia de los sistemas que marcaban el tiempo en plantas y animales. Sin embargo, algunos escritos de antiguas civilizaciones denotan que ya reconocían algunos comportamientos cíclicos, relacionados con el día y la noche, principalmente. Por ejemplo, Andróstenes, quién fuera un naturalista griego del siglo 4 A.C, reportó la existencia del ritmo diario de apertura y cierre de las hojas del tamarindo; describiéndolo como “*Un árbol con muchas hojas, que se cierran por la noche, se abren al amanecer y al anochecer se cierran poco a poco*” (Kumar, 2017).

En 1729 el astrónomo francés Jean Jacques d’Ortous deMairan, se interesó en el movimiento de las hojas sensibles a la luz de la planta *Mimosa sp.* Desarrolló un experimento, en donde aisló a la planta del estímulo luminoso y observó que, a pesar de ello, las hojas seguían presentando ese ritmo de apertura y cierre de las hojas por varios días (Dunlap, 2004). Tiempo después Alphonse de Candolle (1832), botánico suizo, retomó los estudios de d’Ortous deMairan y descubrió que la periodicidad, bajo condiciones de luz constante, continuaba mostrándose cada día solo que el ciclo se completaba cada 22 horas aproximadamente (Gruart, 2002; Kumar, 2017; Kuhlman et al, 2007). Posteriormente, Candolle realizó experimentos donde exponía a plantas de *Mimosa* a oscuridad durante el día y a luz durante la noche, probando así que los movimientos de las hojas, aunque no dependían completamente de la luz sí estaban ligados a su presencia (Gruart, 2002).

A pesar de las observaciones realizadas por varios investigadores a través de los años, no fue sino hasta 1936 que Erwin Bünning estudió el carácter hereditario de los ritmos biológicos en las pupas de las moscas. Propuso que los organismos poseen un reloj biológico, es decir, un mecanismo interno que les permite medir el tiempo y que se manifestaba en respuestas tales como las floraciones y el movimiento de las hojas (*Dunlap, 2004; Kuhlman et al, 2007*).

Karl von Frisch e Ingeborg Beling observaron que después de un periodo de entrenamiento, las abejas se anticipaban a la disponibilidad de alimento cada 24 horas con precisión incluso si se variaban los niveles de luz, temperatura, humedad y presión; observaciones que, de manera no controlada, habían realizado Augusto Forel y Hugo Von Buttel-Reepen (*Gruart, 2002*). En 1955, Max Renner reportó que las abejas poseen un reloj biológico interno. Para demostrarlo, realizó un experimento que consistió en entrenar a las abejas para que llegaran al comedero a una hora específica de París. Después de lograr este entrenamiento, las trasladó hasta Nueva York donde les presentaba el mismo comedero, los animales mantuvieron la conducta, pero en el horario de París y no de New York (*Dunlap, 2004; Gruart, 2002*). Ronald Konopka y Seymour Benzer en 1971, contribuyeron al entendimiento de las bases genéticas de la generación de ritmos, usando mutantes de *Drosophila melanogaster* o mosca de la fruta. Estudió dos ciclos: la eclosión y la actividad locomotora. Con sus resultados demostraron que la mutación en un solo gen (*Period*) puede interrumpir una conducta o un proceso fisiológico (*Kuhlman et al, 2007*).

Como tal, la disciplina de la Cronobiología nació gracias a los esfuerzos de Colin S. Pittendrigh y Jürgen Aschoff (*Koukkari y Sothorn, 2006*), quienes se convertirían en las fuerzas impulsoras de este nuevo campo de la ciencia. Pittendrigh definió que las propiedades del reloj son independientes de los comportamientos que controla y demostró, además, que la ritmicidad circadiana (cerca a 24 h) es intrínseca e independiente de las señales ambientales (*Dunlap, 2004*). Aschoff, por su parte, brindó una base sólida en el campo mediante su investigación sobre los ritmos circadianos y la sincronización en diversos organismos, sugiriendo que bastan pequeños pulsos de luz para sincronizar a los organismos. Las investigaciones y descubrimientos de ambos científicos consolidaron las bases de los métodos experimentales usados por los cronobiólogos (*Kuhlman et al, 2007, 2017*).

Ahora que se ha tratado un poco de la historia de la cronobiología, en la siguiente sección se definirán los conceptos básicos sobre los ritmos con la finalidad de explicar la importancia que estos tienen para los organismos.

1.1.2 Definición y parámetros de los ritmos

Todo aquel evento que se repite en un intervalo de tiempo bien definido se reconoce como un **ritmo**, y estos pueden encontrarse en multitud de factores tanto bióticos como abióticos. Los ciclos de día y noche, los equinoccios; la actividad locomotora de los animales; incluso el movimiento de las olas a través de la superficie del océano son fenómenos que presentan incrementos y decrementos cada cierto tiempo y son, por lo tanto, ritmos (Dunlap, 2004; Refinetti, 2008; Kuhlman et al, 2017). Cuando estos incrementos y decrementos se presentan con regularidad en los seres vivos, se les llama **Ritmos Biológicos** y se reconocen como rasgos comunes en todas formas de vida (Dunlap, 2004; Koukkari y Sothorn, 2006).

“Todo cambio fisiológico o conductual que se repite respetando un patrón y un periodo de tiempo” es la definición formal de un ritmo biológico (Dunlap, 2004; Koukkari y Sothorn, 2006; Kuhlman, 2007; Refinetti, 2008). Sin embargo, frecuencia con la que estos eventos se repiten varía de más de una vez por segundo —como los disparos espontáneos de las neuronas— hasta aquellos cuya repetición tarda días, meses e incluso años —como la reproducción de algunas especies—.

Varios autores (Koukkari y Sothorn, 2006; Kuhlman, 2017; Caba y Valdez, 2015) concuerdan en que la función principal de estos ritmos o *“ritmicidad”* es la de permitir la adaptación de los organismos a los cambios cíclicos presentes en el medio ambiente ya que, como Kuhlman y colaboradores mencionan (2007), **“Una característica que presentan los ritmos es que son innatos y heredables”**, es decir, con la que los seres vivos nacemos. Por esto, Refinetti (2008) menciona la importancia de establecer una relación entre los ritmos geofísicos o ambientales y los biológicos. En este mismo artículo, Refinetti también resalta que las investigaciones sobre el tema han revelado que dicha relación es mucho más compleja de lo que se pensaba. Esto se puede comprobar en la existencia de dos tipos de ritmos. Los generados internamente y cuya presencia no depende de la existencia de un factor externo llamados **endógenos** y aquellos ritmos que dependen de la presencia de un factor externo a cual sincronizarse; en ausencia de dicho estímulo no se presentan por lo que se les llama ritmos **exógenos** (Dunlap, 2004). Al conjunto de componentes usados para medir el tiempo dentro de los seres vivos se les conoce como **“reloj”**. (Gruart, 2002; Caba y Valdes, 2015).

La existencia de un sistema de tiempo interno les permite a los distintos organismos, por ejemplo, llegar al lugar de alimentación en el momento del día donde la comida es más abundante. El **reloj biológico** de cada individuo actúa como una especie de alarma, que lo induce a iniciar ciertos procesos fisiológicos y conductuales en el momento adecuado del ciclo ambiental.

Se han registrado procesos y comportamientos rítmicos en diferentes tipos de individuos, desde seres unicelulares (como bacterias y protozoarios), hasta organismos pluricelulares como plantas y animales. Es por esta razón que se considera que las respuestas cíclicas son rasgos comunes y evolutivamente estables, que se encontraban presentes en formas muy tempranas de vida antes de que se produjeran las grandes separaciones en el árbol evolutivo (Dunlap, 2004). Aunque, por otro lado, existe la posibilidad de que se trate de características que se hayan ido creando de *novo* en múltiples momentos y grupos taxonómicos. Al no existir evidencia fósil se asume, a menudo que la ritmicidad evolucionó como un mecanismo que

permitió a los organismos prepararse, de forma anticipada, a cambios predecibles del medio ambiente (Refinetti, 2008; Koukkari y Sothorni, 2006).

Al estudiar un ritmo biológico es necesario conocer cuatro parámetros que nos permitan evaluarlo. **El periodo (τ)** es el tiempo que se requiere para completar una *oscilación*, nombre por el cual se le conoce a las variaciones que existen cada cierto tiempo; una oscilación incluye el incremento y decremento del proceso fisiológico o conductual estudiado en un lapso de tiempo determinado. **La frecuencia (f)** se refiere al número de oscilaciones que se observan en una unidad de tiempo determinada. **La amplitud (A)** es el valor entre el punto más alto (acrofase) y el más bajo (batifase) del ciclo. Por último, **la fase** define a cualquier punto dentro de la oscilación (**Figura 1**) (Koukkari y Sothorn, 2006; Dunlap, 2004; Gruart, 2002).

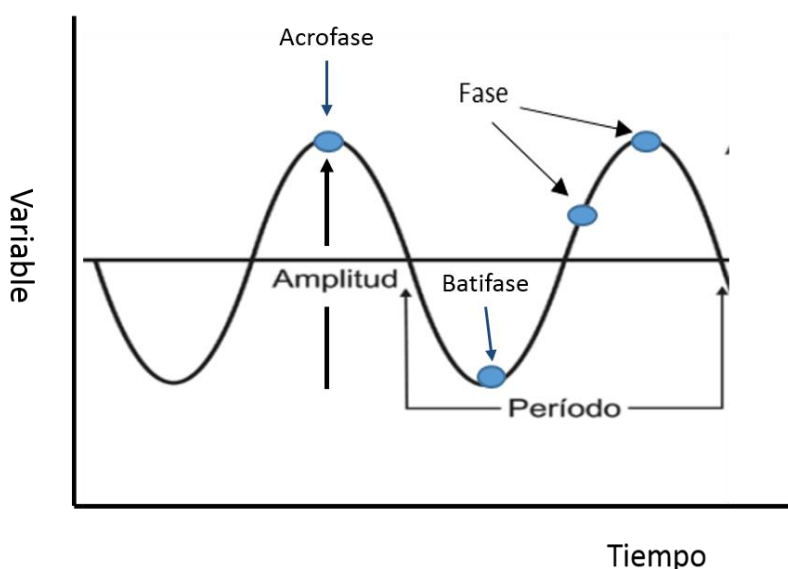


Figura 1 Esquema de un ritmo. Se señalan los componentes dentro de la oscilación. Modificado de Koukkari y Sothorn, 2006.

Los ritmos biológicos se clasifican tomando en cuenta la frecuencia de la oscilación. En esta clasificación encontramos los ritmos **infradianos**, con periodos mayores a 28 horas, los ritmos **ultradianos**, con periodos menores a 20 horas y los ritmos **circadianos**, cuyo periodo es cercano a 24 horas. En sentido estricto, solo aquellos ritmos que sean generados endógenamente, bajo condiciones constantes, pueden llevar la designación *circa* (Dunlap, 2004; Refinetti, 2008; Koukkari y Sothorn, 2006).

Los **ritmos circadianos** son los más estudiados dentro de la cronobiología, ya que se trata de fenómenos cíclicos que se presentan en periodos de tiempo cercanos a un día (Gruart, 2002; Dunlap, 2004; Kuhlman et al, 2007). Son definidos basándose en características observables bien definidas dadas, en su mayoría, por Pittendrigh, Bünnig y Ashoff (Dunlap, 2004).

Un ritmo circadiano continúa presentándose en condiciones constantes (no variables) de temperatura, luz u oscuridad, y continúa manteniendo un periodo cercano a 24 horas. No se ve afectado por variaciones ambientales de temperatura, además, debe poder sincronizarse a estímulos externos y acoplarse a éstos. Si no cumple estos criterios, no puede ser considerado un ritmo circadiano (Kuhlman *et al*, 2007; Refinetti, 2008; Dunlap, 2004).

El sistema circadiano, encargado de generar y controlar este tipo de ritmos, está compuesto por tres elementos básicos que son: vía de entrada, el marcapasos y vía de salida (**Figura 2**). El centro de este complejo mecanismo es el marcapasos, una estructura capaz de mantener sus propias oscilaciones y de sincronizar a otras estructuras que reciben el nombre de “osciladores” y que son componentes cuya acción e interacción generan un ritmo. El marcapasos recibe la señal por medio de las vías de entrada, sincronizándose a un estímulo y reenvía esta información hacia los osciladores periféricos o externos. La información producida regula el tiempo de algunos procesos metabólicos y conductuales, los cuales constituyen la vía de salida y se conocen como “ritmos manifiestos” (Dunlap, 2004; Kuhlman *et al*, 2007).

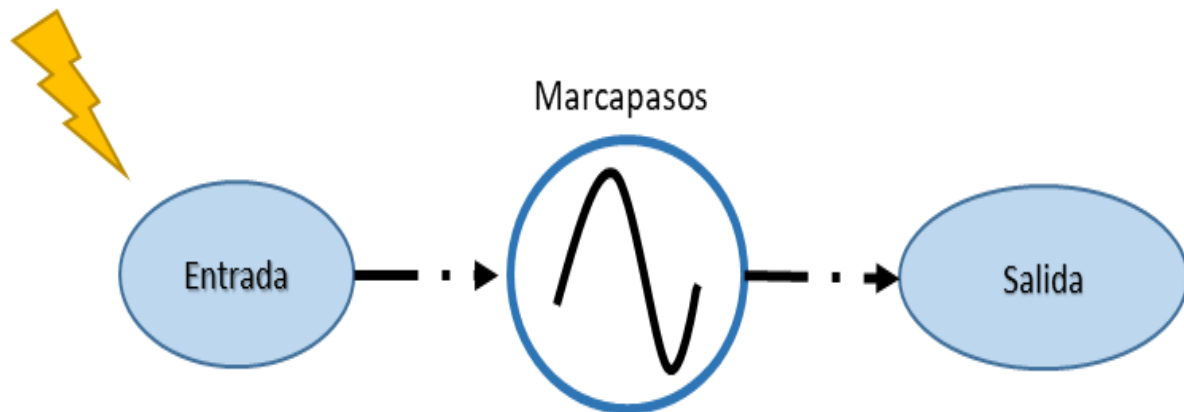


Figura 2. Sistema circadiano. El estímulo es un factor ambiental o interno que en este caso está representado por el rayo.

La función esencial del sistema circadiano es la de proveer una respuesta interna, estimulada por señales externas que se presentan de forma cíclica en el ambiente y que les permite a los organismos reaccionar para que sus actividades ocurran en el momento adecuado.

Kuhlman (2007) explica que la fase de un ritmo puede alterarse o modificarse al exponer a los organismos a ciertas señales ambientales. Los sincronizadores o Zeitgeber (palabra alemana que significa “dador de tiempo”) son todos aquellos factores o estímulos externos que controlan el periodo y la fase de los ritmos; tal como el amanecer estimula el despertar y el inicio de la actividad de algunos animales y marca el término de ésta en animales nocturnos. Los principales agentes sincronizadores encontrados son: la luz, la temperatura, el alimento y factores sociales de cada especie entre otros (Caba y Valdez, 2015). En presencia de un Zeitgeber el ritmo debe restablecerse, de tal modo que su fase se presente simultáneamente con la fase del ciclo ambiental.

Muchos organismos usan la fluctuación diaria de luz y oscuridad como la señal de restablecimiento para mantener la presencia de los ritmos a un día de 24 horas (Gruart, 2002;

Dunlap, 2004). Por ejemplo, la luz suprime la secreción de melatonina en la glándula pineal, mientras que en animales diurnos parece promover la producción de cortisol o corticosterona como una forma de preparar al individuo para las actividades del día (*Touitou et al 2010; Touitou y Selmaoui, 2012*). A pesar de que ya está demostrado que la luz es el estímulo sincronizador más fuerte para los organismos, otros factores pueden influenciar la sincronización de un ritmo.

Cuando resulta que los sincronizadores no están funcionando, no pueden ser detectados o son pobremente detectados por el sistema circadiano no existe una sincronización y se dice que los organismos están desincronizados. *Touitou y colaboradores (2010)* mencionan que se trata de una disociación temporal del funcionamiento del reloj biológico que al final, causan desordenes del sueño y en estudios en seres humanos inducen varias enfermedades neurológicas y psicológicas entre las que destaca la depresión y otras enfermedades como el cáncer.

El reloj circadiano de los mamíferos, se localiza en el núcleo supraquiasmático (NSQ) y es quien regula a los relojes existentes en otros tejidos (relojes periféricos), así como las respuestas conductuales y fisiológicos como los ritmos de actividad locomotora (*Cabello et al., 2008*).

Los factores externos y las respuestas fisiológicas que estos generan pueden alterar los ritmos circadianos de los organismos, entre estos factores nos interesa aquellas alteraciones que el estrés provoca sobre diferentes ritmos.

1.1.3 Las respuestas al estrés pueden afectar a los ritmos circadianos

Cada vez es más evidente como el reloj circadiano influye en la fisiología y el comportamiento en múltiples y diferentes niveles, así que cuando el sistema falla y causa una desincronización, se promueve la aparición de diversas enfermedades o alteraciones. Al estar expuestos continuamente a cambios externos que pueden -o no- representar amenazas potenciales, los organismos han adaptado una serie amplia y coordinada de respuestas fisiológicas y conductuales, para responder a factores estresantes (*Belda et al, 2015; Mahdavi et al, 2014*).

En los mamíferos, existen dos componentes fisiológicos principales de respuesta ante el estrés: el eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA) y el sistema nervioso simpático (*Belda et al, 2015*). El eje HHA, induce la síntesis y liberación de hormonas esteroideas (*Mahdavi et al., 2014*).

Las glándulas suprarrenales, ubicadas anatómicamente sobre los riñones, están compuestas por una corteza y una médula. Mientras la médula libera catecolaminas, la zona glomerulosa de la corteza libera mineralocorticoides y la zona fasciculada glucocorticoides. El cortisol en humanos y la corticosterona en ratas, son hormonas esteroideas conocidas como glucocorticoides esenciales, que de forma natural exhiben un ritmo circadiano que alcanza su punto máximo poco antes de la fase de actividad (*Lewczuk et al, 2014*). Por ejemplo, en los humanos, la elevación en la concentración de cortisol en la sangre inicia antes de que despertemos para movilizar los recursos energéticos y facilitar el inicio de las actividades por

la mañana (*Caba y Valdez, 2015*). Esta liberación de los glucocorticoides inicia por una señal derivada desde el núcleo paraventricular del hipotálamo por la cual, se estimula la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) desde la hipófisis anterior. La ACTH tiene como blancos los receptores a melanocortina-2 (MC2R) en la glándula suprarrenal que finalizará en la producción y liberación del cortisol o corticosterona (*Koch et al, 2017*). Entre las funciones de estas hormonas se encuentran, además de la respuesta al estrés, el control del hambre, el apetito, las respuestas inflamatorias, entre otras.

Se ha sugerido también (*Lewczuk et al., 2014; Sage et al., 2004*) que los glucocorticoides actúan como mensajeros secundarios entre el marcapasos o reloj maestro y los osciladores periféricos (órganos u estructuras que generan un ritmo, pero están bajo el control del marcapasos), pudiendo ser un factor importante en la sincronización de los ritmos circadianos. El eje HHA recibe información directa del NSQ a través de la comunicación con el núcleo paraventricular del hipotálamo. Y aunque la extracción de la hipófisis y la eventual afectación en la presencia de ACTH no parecen afectar los ritmos de glucocorticoides, el daño en el NSQ puede afectar la oscilación de estas hormonas. Solo un daño en el propio reloj de la glándula suprarrenal es capaz de anular la presencia estos ritmos y volver su liberación en un proceso arrítmico (*Koch et al., 2017*).

Sage y colaboradores en 2004 realizaron una serie de experimentos para determinar la participación de las glándulas suprarrenales en la sincronización de ratas para lo cual realizaron la extracción de estas, demostrando que en un ciclo de luz-oscuridad (LO) la actividad locomotora en rueda se mantenía sin modificaciones. Sin embargo, cuando se realizó una inversión del fotoperiodo, es decir, oscuridad-luz (OL), la falta de corticosterona indujo un aumento en el tiempo que necesitaron los animales para adaptarse al nuevo fotoperiodo. Los autores proponen entonces que “..... bajo condiciones de iluminación estables, otras hormonas glucocorticoides circulantes contribuyen a estabilizar los ritmos de actividad al reforzar la resistencia del sistema circadiano a las variaciones del fotoperiodo” (*Sage et al, 2004*) Estas conclusiones están respaldadas por hallazgos anteriores que les otorgan un papel a los glucocorticoides como factores capaces de arrastrar o modificar eventos fisiológicos o de comportamiento que presentan un ritmo circadiano.

1.1.4 Actividad Locomotora en Mamíferos

En todos los mamíferos existen un sinnúmero de otros relojes -periféricos- localizados en diferentes zonas del cerebro y en otros órganos como el hígado, el corazón, los músculos y los riñones (*Touitou et al, 2010*). Aun así, estos relojes periféricos se encuentran bajo el mando del NSQ. Este reloj central o marcapasos detecta a factores externos por medio de vías que determinan los cambios en la expresión de parámetros bioquímicos, fisiológicos y conductuales. Por lo tanto, conocer el mecanismo de acoplamiento entre el marcapasos y los diferentes órganos, es crucial para comprender la manifestación de salida de los ritmos. Cuando el acoplamiento es bajo entonces los osciladores periféricos pueden generar una **desincronización**, es decir, que los ritmos alteraran su tiempo (*Cambras et al., 2000*).

Tomemos por ejemplo al sincronizador más fuerte: **la luz**, que entra a través de la retina por medio del tracto retino-hipotalámico y que desencadena diversos procesos fisiológicos y conductuales. Sin embargo, otro tipo de señales son capaces de sincronizar conductas y procesos no relacionadas con la luz **-no fóticas-** como la presencia de alimento, de depredadores o algunas interacciones sociales que también pueden sincronizar la actividad de los animales (*Hughes, 2018*). Por lo tanto, para reconocer la importancia de un estímulo como dador de tiempo, es necesario identificar respuestas y procesos que se vean alterados en su presencia.

Una medición indirecta de los ritmos conductuales resulta más conveniente para este objetivo dado que nos permite estudiar los ritmos circadianos de forma **no invasiva**, lo que permite que la respuesta observada sea lo más cercana posible al funcionamiento en condiciones naturales (*Dunlap, 2004*). Entre los muchos factores, fisiológicos y conductuales, estudiados en animales, se ha observado que los patrones de motricidad o de actividad locomotora (**AL**) presentan un ritmo circadiano y debido a que para medirlo no se requiere el uso de métodos invasivos, se ha estudiado en una gran variedad de mamíferos tanto en condiciones naturales como en laboratorio. Para casi todos los roedores, por ejemplo, la actividad locomotora es bastante marcada y precisa y puede modificarse por diversos estímulos, como el ciclo de luz y oscuridad. Pero también, en ausencia de señales externas, otros mecanismos parecen poder influir en el ritmo de AL, como lo mencionan Hassan y Zaki (*2015*). En condiciones de laboratorio la AL es el ritmo más preciso que evidencia las funciones del reloj interno, así como el efecto que los estímulos provocan en los organismos, ya que involucra el ritmo de sueño-vigilia pues durante la fase de reposo, los animales acumulan su energía permaneciendo en un estado inactivo.

La gran cantidad de técnicas de manipulación *in vivo* dentro del campo de la cronobiología, han vuelto cada vez más interesante investigar los fenotipos de comportamiento circadiano en animales en vida libre y en laboratorio (*Jud et al, 2005*). Para lo antes mencionado, la medición de la AL y/o exploratoria en las ratas de laboratorio es comúnmente considerada como un índice fundamental para describir su comportamiento general (*Brudzynski y Krol, 1997*). Los métodos de monitoreo del comportamiento locomotor en roedores se clasifican en dos categorías generales: técnicas de observación directa y monitoreo automático. En la primera, la técnica consiste en la observación directa utilizando diferentes escalas. Por su parte, el monitoreo automático consiste en el uso de aparatos y software; entre estos métodos

los más usados son videos, uso de sensores de luz infrarroja y el monitoreo de la actividad en rueda. Aunque la mayoría de la actividad de los roedores sobre la rueda ocurre durante la noche, cerca del 30% ocurre durante el día (Verwey *et al.*, 2013 Hassan y Zaki, 2015).

Los ritmos de actividad y comportamiento de los organismos a lo largo de varios días se representan en una serie de gráficas, donde cada fila vertical representa un día de 24 horas. Este gráfico es conocido como **actograma (Figura 3)**; ésta forma de representación facilita la identificación de los ritmos existentes. En este, cada línea horizontal representa un día mientras que las barras verticales negras o histogramas representan la actividad o en su caso, el número de revoluciones de la rueda (Jud *et al.*, 2005). La altura de cada barra vertical indica un número acumulado de valores obtenidas en un intervalo de tiempo determinado, ya sea por el investigador o por el sistema, se observan claramente dos fases: de reposo –también llamada **rho-** y de actividad –conocida como **alfa-** las cuales en condiciones de luz-oscuridad iguales al ciclo solar de 24 horas se encuentran en momentos opuestos en organismos diurnos y nocturnos. La barra sobre el actograma, nos muestra el fotoperiodo o el intervalo de tiempo en que el organismo está expuesto a la luz (Dunlap, 2004).

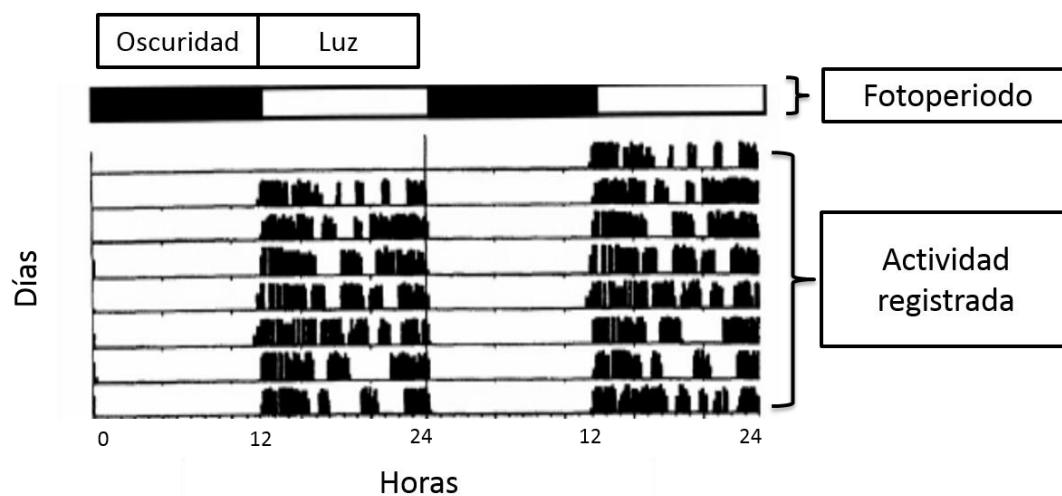


Figura 3. Actograma. Esquema tipo doble “plot” de la actividad locomotora, que en este caso corresponde a un organismo diurno. En la barra superior se señala el fotoperiodo (Cantidad de horas durante las cuales el organismo está expuesto a la luz) que en este caso es 12:12. Gráficamente, en el eje de las coordenadas se colocan las horas (0- 24) y en el eje de las abscisas se colocan los días durante los cuales se realizó el registro.

En la naturaleza, existen dos grandes clases de animales dependiendo de la hora del día en que estos realizan la mayor parte de sus actividades: diurnos y nocturnos. También se han descrito a los animales cuya actividad es llevada a cabo muy temprano al amanecer o al inicio del atardecer y se les conoce como crepusculares (Dunlap, 2004). Se han estudiado aspectos de la anatomía, la neuroquímica y la fisiología del NSQ y ha quedado demostrado que existen similitudes entre las especies pertenecientes a diferentes nichos temporales por lo que no se ha demostrado a ciencia cierta cuales son las causas de estas diferencias en la conducta y fisiología de los tres grupos (Hughes, 2018). No obstante, una diferencia bien establecida entre ellos se encuentra en la estructura de la retina. Principalmente en el número relativo de

conos y bastones, dado que los animales diurnos tienen un porcentaje más elevado de conos y los nocturnos poseen una mayor cantidad de bastones, lo que los hace mucho más sensibles a la luz (*Schumann et al, 2005*). Aunque se desconocen los mecanismos fisiológicos y neuronales que diferencian, específicamente, a diurnos y nocturnos se cree que son otras áreas distintas al núcleo supraquiasmático las que están involucradas, debido a que la activación de este durante el día y la noche es similar tanto en mamíferos diurnos como en nocturnos. Así, múltiples áreas dentro del hipotálamo parecen estar activas superponiéndose al patrón de actividad de los animales (*Dunlap, 2004; Koukkari y Sothorn, 2006*).

Cuando un animal se encuentra en condiciones constantes -de iluminación, principalmente- y ya no coincide con el tiempo solar natural su actividad se recorrerá de manera más lenta o más rápida, en un periodo conocido como “*libre corrimiento*” (*Dunlap, 2004*). Este periodo en los humanos suele ser de 25 horas aproximadamente, mientras que en otros animales puede cubrir un rango aproximado entre las 12 y las 65 horas, por lo que en estos casos no corresponde a un ritmo circadiano (*Moore, 1992*).

Hughes (*2018*) señala la particularidad de que la **actividad locomotora (AL)** funciona tanto como una señal de entrada para el sistema circadiano y una salida controlada por el reloj interno. El autor (*Hughes, 2018*) señala la profunda capacidad que tiene la motricidad sobre los ritmos circadianos, haciendo hincapié la claridad con que se observa lo que ocurre cuando a un roedor se le restringe el periodo de rueda diario. La restricción a este tipo de actividad locomotora lleva a una visible sincronización de los animales, incluso en ausencia de otras señales.

Aunque muchos ritmos de los animales diurnos, como la temperatura o la concentración de algunas hormonas, se presentan en tiempos del día totalmente opuestos a esos mismos en los animales nocturnos; el ritmo de melatonina tiene la peculiaridad de presentar su máximo pico de concentración en el periodo de oscuridad, independientemente de si el animal realiza sus actividades en el día o en la noche. Incluso si la luz es la señal más potente para poner en hora al núcleo supraquiasmático en los mamíferos, se sabe que otras señales no fóticas pueden cambiar o sincronizar a este reloj (*Challet, 2007*) independientemente de la categoría a la que pertenezcan los organismos. En roedores nocturnos –como las ratas, hámster y ratones- los ritmos circadianos de actividad locomotora se caracterizan por presentar una baja actividad durante el día y aumentan durante la noche.

Sin embargo, a pesar de todas estas diferencias evolutivas, conductuales y fisiológicas todos los organismos pueden ver alterados sus ritmos biológicos por factores externos entre los que podemos encontrar a los campos electromagnéticos.

1.2 Campos electromagnéticos (CEM)

1.2.1 Breve historia sobre el electromagnetismo

Todos los organismos, incluido el ser humano, se encuentran diariamente expuestos a diferentes tipos de campos electromagnéticos, caracterizados por distintos parámetros físicos (Lewczuk, 2014). Estos campos pueden tener un origen natural como el campo geomagnético de la Tierra, la actividad solar intensa, las tormentas eléctricas o tener un origen antropogénico proveniente de fábricas, líneas de transmisión eléctrica y electrodomésticos (Touitou y Selmaoui, 2012).

La electricidad y el magnetismo son partes diferentes de un **mismo fenómeno** ya que cuando se observan las propiedades y el movimiento de las cargas eléctricas, aparecen ambos de forma conjunta. Sin embargo, no fueron estudiados como fenómenos interrelacionados hasta finales del siglo XVIII (Tagüeña, 1997). El magnetismo es la ciencia que estudia los fenómenos generados por imanes y analiza la propiedad que tienen de atraer metales como el hierro, el níquel o el cobalto (Vega y Vega, 2012). El electromagnetismo, por su parte, es una de las ramas de la física que se dedica al estudio de los fenómenos provocados por los campos magnéticos generados por una corriente eléctrica (Tagüeña, 1997; Vega y Vega, 2012).

Los primeros fenómenos magnéticos observados se relacionan con fragmentos de magnetita o piedra de imán, encontrada cerca de la antigua ciudad de Magnesia alrededor de 2000 años atrás (Tippens, 2001). Los imanes están rodeados por un espacio en donde se manifiestan sus efectos, esas regiones se conocen simplemente como campos magnéticos, en estos espacios las líneas de flujo son comúnmente usadas para visualizarlos (**Figura 4**) (Tippens, 2001). El físico alemán especializado en electrodinámica, Wilhelm E. Weber fue uno de los primeros en realizar estudios sobre el magnetismo. Al cortar imanes en pedazos muy pequeños, se dio cuenta de que cada uno de estos se comportaban como pequeños imanes. Cada uno poseía un polo norte y un polo sur. Concluyó entonces, que es imposible obtener un polo magnético separado (Tippens, 2001; Vega y Vega, 2012).

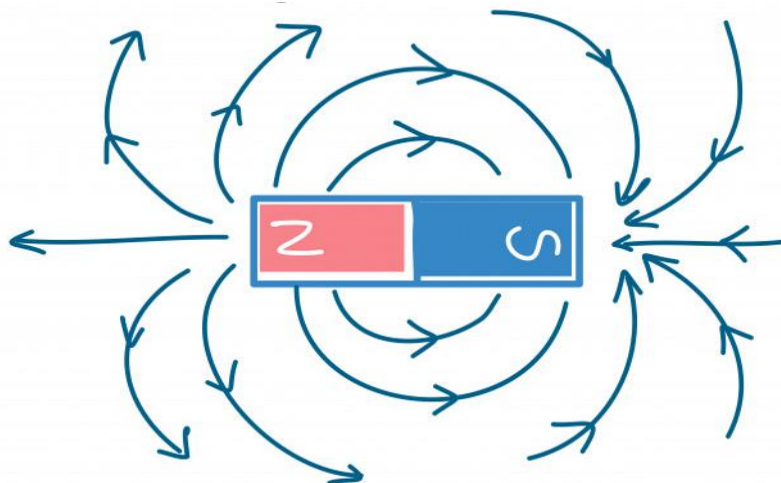


Figura 4 Líneas de flujo del campo magnético de un imán.

En 1820, Hans Christian Oersted publica sus trabajos acerca de la acción de las corrientes eléctricas sobre los imanes, iniciando de esta manera el estudio del electromagnetismo.

Las bases de estudio del electromagnetismo fueron establecidas por el científico francés François Arago, quien descubrió que la corriente eléctrica es capaz de imantar el acero. A partir de los trabajos de Arago y de Oersted, André-Marie Ampère formuló la hipótesis sobre que los imanes poseen propiedades magnéticas debido a las corrientes eléctricas microscópicas y, al mismo tiempo, explicó el magnetismo terrestre como resultado de corrientes eléctricas internas paralelas. Además, diseñó un experimento donde podía eliminar el efecto del campo geomagnético y de esta forma encontró el verdadero efecto que tenía la corriente eléctrica sobre las agujas imantadas: que éstas siempre se alineaban en dirección perpendicular a la dirección de la corriente eléctrica. (Bardasano y Elorrieta, 2000).

Michael Faraday, en el siglo XIX, realizó importantes contribuciones en el campo, entre las que destacaron: el descubrimiento de la inducción electromagnética, la cual consiste en generar una corriente eléctrica moviendo un imán a través de una bobina. Esto queda resumido en la ley Faraday que dice ***“Se induce un campo eléctrico en toda región del espacio en la que exista un campo magnético que varíe con el tiempo. La magnitud del campo eléctrico inducido es proporcional a la rapidez con la que cambia el campo magnético y la dirección del campo eléctrico inducido es perpendicular al campo magnético variable”*** (Bardasano y Elorrieta, 2000; Tagüeña, 1997).

Al pasar toda su vida estudiando los fenómenos electromagnéticos, Faraday propuso un sistema para representar la intensidad y la dirección del campo eléctrico mediante líneas imaginarias a las que llamó líneas de fuerza del campo eléctrico (Vega y Vega, 2012). Este sistema también es aplicable para determinar la intensidad y la dirección del campo magnético.

En el año de 1873, James Clerk Maxwell (Tagüeña, 1997) formuló cuatro ecuaciones que resumen todas las investigaciones realizadas antes de él, por varios científicos sobre el electromagnetismo. Estas ecuaciones demuestran que una onda electromagnética se propaga a la misma velocidad que lo hace la luz. Años después de las ecuaciones de Maxwell (1888), Heinrich Hertz mostró que, de hecho, las ondas electromagnéticas eran ondas de luz (Tagüeña, 1997). Esto se convirtió en un gran descubrimiento que abriría el camino para posteriores investigaciones y descubrimientos en el mundo moderno.

1.2.2 Generalidades de los campos electromagnéticos (CEM)

Un **campo electromagnético** (CEM) contiene tanto un campo eléctrico como un campo magnético. Siempre que exista una **corriente eléctrica**, como la producida por el movimiento de un electrón en su órbita o por un circuito eléctrico, existirá un campo magnético. Cuando hablamos de una corriente eléctrica nos referimos al flujo de electrones dentro de un material conductor, principalmente los metales ya que son excelentes para mantener el flujo de electrones; los cables eléctricos normalmente están hechos de cobre u otro tipo de material metálico.

Las corrientes eléctricas en movimiento producen campos magnéticos, que viajan en dirección perpendicular a la corriente eléctrica (*Tippens, 2001; Túnez-Fiñana y Pascual-Leone, 2014*). Existen dos tipos de corrientes eléctricas: las directas, caracterizadas por presentar un sentido de flujo de electrones constante y siempre en el mismo sentido, y las alternas, que son las corrientes cuyo flujo o movimiento de los electrones cambia de dirección y sentido contantemente (*Vega, 2012; Moore, 1992*). Si la corriente eléctrica es una corriente directa (CD) se dice que el campo magnético que genera es estable, mientras que, si se trata de una corriente alterna (CA), el flujo cambia constantemente de dirección y el campo magnético generado también fluctúa (*Túnez-Fiñana y Pascual-Leone, 2014*). Estos campos son invisibles y parecieran ser, imperceptibles pero medibles gracias a dispositivos sensibles. La energía eléctrica suministrada en los hogares es de corriente alterna y fluctúa en ciclos de pocos segundos que se miden en Hertz (Hz). En América la frecuencia es de 60 Hz, mientras en Europa la frecuencia eléctrica es de 50 Hz (*Moore, 1992*).

Aunque se puede aislar o disminuir la influencia de los campos eléctricos de forma, aparentemente, fácil con ayuda de materiales aislantes, los campos magnéticos atraviesan todos los materiales y son mucho más difíciles de bloquear. Sin embargo, es importante hacer notar que la energía disminuye conforme aumenta la distancia desde su fuente de producción (*Túnez-Fiñana y Pascual-Leone, 2014*).

Una onda electromagnética consiste en pequeños paquetes de fotones (*Tippens, 2001; Túnez-Fiñana y Pascual-Leone, 2014*), donde la energía que estos transportan se encuentra en proporción directa a la frecuencia de la onda, a mayor frecuencia, mayor será la cantidad de energía de cada fotón. Se calculan basándose en los siguientes parámetros característicos de cada una: longitud de onda (λ), medida en metros (m); la frecuencia, medida en Hertz o Hercios (Hz), la energía que desprenden los fotones (U) se mide en Joules (J) y la temperatura absoluta T en grados Kelvin ($^{\circ}\text{K}$). Manteniendo entre las variables las siguientes relaciones:

$$\lambda = \frac{c}{f}, \quad U = hf, \quad T = \frac{U}{k} = \frac{hf}{k}$$

Donde c = velocidad de la luz (3×10^8 m/s), h = la constante de Planck (6.626×10^{-34} J), y k = la constante de Boltzmann (1.381×10^{-23} J/K) (*Kato et al, 2006*). Bajo estos parámetros, al aumentar la frecuencia o disminuir la longitud de onda, aumentarían la energía y la temperatura.

Las diferentes longitudes de onda que comprenden el espectro electromagnético incluyen las radiaciones ionizantes, cuya frecuencia abarca desde 10^{17} hasta los 10^{22} Hz y las radiaciones no ionizantes, con frecuencias de 1 a 10^{17} Hz. A su vez, las radiaciones no ionizantes, se subdividen en ópticas (de 10^{12} - 10^{17} Hz) y los campos electromagnéticos, de 1 a 10^{12} Hz entre las que destacan las microondas, radio frecuencias e infra radio frecuencias (**Figura 5**) (Bardasano y Elorrieta, 2000).

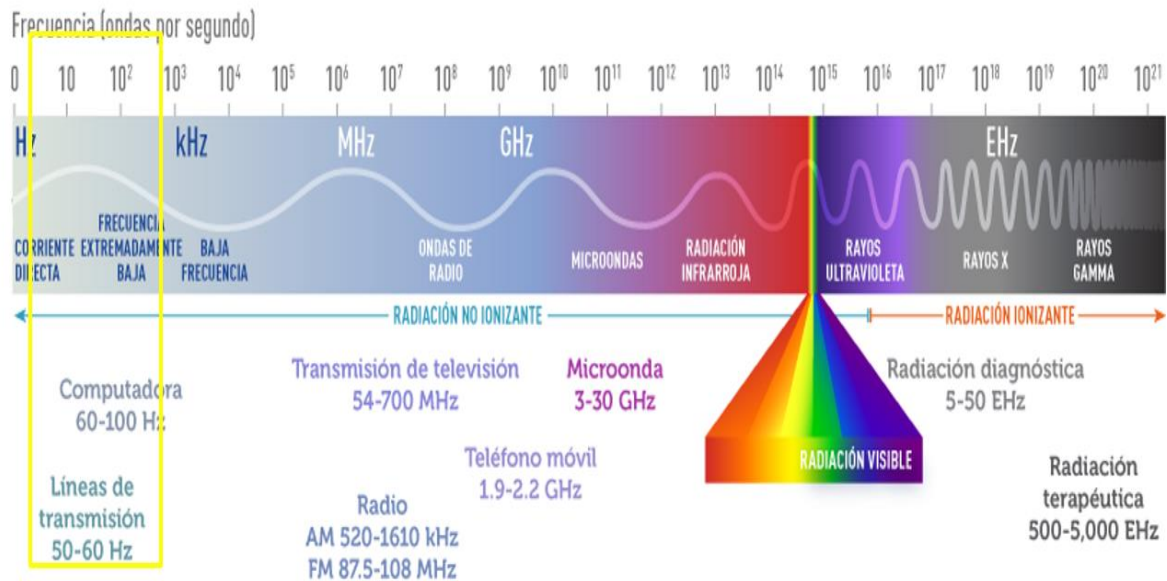


Figura 5 Espectro electromagnético. Los tipos de ondas ejemplificados se clasifican por la frecuencia (Hz). La posición de los campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja se señala con el cuadro amarillo. (Modificado de <https://mgmdenia.wordpress.com/category/2n-batxillerat-fisica/biv-electromagnet/>)

Las ondas ionizantes se consideran las más peligrosas para los seres vivos, debido a que producen tanta energía que son capaces de romper los enlaces entre las moléculas que los forman. Por otro lado las ondas no ionizantes, que ocupan la mayor parte del espectro electromagnético, que se transmiten desde varios aparatos y sistemas eléctricos como radares, líneas de alta tensión, transmisores de radio, televisión y electrodomésticos, se habían considerado por mucho tiempo como “inofensivas” para los organismos (Touitou y Selmaoui, 2012; Lewczuk, 2014) Sin embargo, estudios realizados con diferentes tipos de campos no ionizantes, han demostrado que incluso a muy bajas intensidades pueden producir diferentes efectos sobre los sistemas biológicos (Kato et al, 2006; Kaplan et al, 2016).

1.3 Efectos de los campos electromagnéticos (CEM) en los seres vivos

Todos los seres vivos han evolucionado dentro del campo magnético generado en la Tierra que tiene una fuerza de, aproximadamente, $40 \mu\text{T}$ (micro Teslas), la cual se mantiene constante y sólo varía ligeramente en tiempo y lugar (*Kato et al, 2006*). Existen, además otras fuentes de campos electromagnéticos naturales; tales como las descargas eléctricas en la atmósfera y las tormentas solares (*Moore et al, 1992; Kato et al, 2006*).

Adicionalmente, vivimos sumergidos en un ambiente artificial repleto de CEM, esto debido a que la mayoría de los dispositivos eléctricos que utilizamos funcionan a 50 o 60 Hz (*Kato et al, 2006*) y a que gran parte de las actividades son realizadas cerca o incluso debajo de líneas de alto voltaje. Es por esta razón que los efectos biológicos de los campos electromagnéticos y sus posibles consecuencias están recibiendo una atención creciente de la comunidad científica y médica (*Bardasano y Elorrieta, 2000*). Sin embargo, y debido a la poca cantidad de datos existentes y a los resultados contradictorios que algunos estudios han arrojado, no ha sido posible determinar si los CEM pueden considerarse como un agente perjudicial para la salud de los seres vivos (*Moore et al, 1992; Kato et al, 2006; Touitou y Selmaoui, 2012*).

Aunque se comenzó a utilizar la electricidad hace más de 100 años, no fue sino a partir de 1975 que la exposición a los campos eléctricos y magnéticos y sus posibles efectos adversos para la salud comenzó a ser motivo de preocupación (*Kato et al, 2006*), provocando que diversas organizaciones e instituciones de salud a nivel mundial realizaran estudios en este ámbito, por ejemplo, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) se ha encargado de estudiar y definir el vínculo entre el uso de los teléfonos celulares y el cáncer cerebral. Estos estudios han dado como resultados la clasificación de los CEM de radiofrecuencia como posibles cancerígenos para los humanos (*Saliev et al, 2019*).

Uno de los factores más importantes a determinar cuando se trata de estudiar el efecto de estos campos sobre los sistemas biológicos son los mecanismos que estos poseen para sentir o “sentir” los campos magnéticos. Por lo que sirve, entonces, saber que hasta antes de 1970 se creía que **“los animales no poseían materiales ferromagnéticos en su fisiología”** (*Kirshvink et al, 2001*). Sin embargo, se ha descubierto a lo largo de los años que algunos organismos entre los que se encuentran bacterias, moluscos, insectos, peces, aves y mamíferos, presentan cristales del material **magnetita**; la cual, según *Kirshvink (2001)* y *Bardasano (2000)* podría jugar un papel importante dentro del mecanismo biofísico de la magnetorrecepción.

La magnetorrecepción, descrita por el mismo *Kirshvink (2001)*, es la capacidad que tienen los organismos para detectar campos magnéticos; es una característica de los sistemas sensoriales y conductuales en seres vivos tan diversos como las bacterias, las abejas, las aves y los reptiles. Sin embargo, el simple hecho de creer que los animales, sobre todo los mamíferos, puedan responder a los campos magnéticos (CM) ambientales puede hacernos pensar en los trabajos de Mesmer sobre el “magnetismo animal”.

Hacia el año de 1770, un médico alemán, Franz Anton Mesmer concibió una teoría según la cual, el cuerpo humano posee polos magnéticos que corresponden a los polos magnéticos de la Tierra. Sostenía la existencia de un flujo imperceptible que fluía de los polos a través del cuerpo y del cual dependía la salud; el bloqueo o ruptura de este fluido conducía a la enfermedad (*Bardasano y Elorrieta, 2000*). Sin embargo, la teoría del magnetismo animal como lo llamó Mesmer no tuvo aceptación, por su falta de comprobación científica.

A principios del siglo XIX, Galvani y Volta sentaron las bases del conocimiento y desarrollo de los fenómenos eléctricos y su aplicación en los seres vivos gracias a su trabajo sobre la estimulación eléctrica y la contracción de los músculos del anca de una rana (*Bardasano y Elorrieta, 2000; Kato et al, 2006*). No fue sino hasta unas décadas más adelante que los científicos comenzaron a buscar los factores que relacionaran el comportamiento animal con la existencia de CEM en el entorno.

En los organismos existen dos sistemas de comunicación principal: el químico, dirigido por el sistema endocrino y las hormonas que este libera y el eléctrico, donde las señales electromagnéticas poseen una “*red de distribución que se asienta sobre las células neuronales*” que tiene comunicación directa con músculos, corazón, glándulas etc. (*Bardasano y Elorrieta, 2000*). Las ondas electromagnéticas tienen dos principales efectos sobre los tejidos: térmico y químico; y son notablemente diferentes. Mientras que las ondas electromagnéticas de alta frecuencia causan, principalmente daño por calentamiento, la exposición durante un largo periodo de tiempo a ondas electromagnéticas de baja frecuencia parece producir efectos dañinos en los tejidos, al generar cambios químicos dentro de las células (*Kaplan et al, 2016*).

Cuando la exposición a un CEM produce cambios o alteraciones en cualquier sistema biológico, incluido los cambios en la concentración de diversas sustancias o en su transportación, es porque interactúa con el tejido y parte de su energía es reflejada, otra es absorbida por el tejido y el resto es transmitida. Cuál será la parte que es reflejada y cuál absorbida depende de la frecuencia del campo, de la geometría del objeto biológico, de su permeabilidad eléctrica (ϵ), de la conductividad eléctrica (δ) y de la permeabilidad magnética (μ) (*Bardasano y Elorrieta, 2000*). La dosimetría, la cantidad de CEM que penetra en los tejidos, es una de las problemáticas con las que nos encontramos al momento de evaluar los efectos biológicos; pues en realidad no se sabe si lo importante es el nivel medio de exposición diario, o si solo son importantes las exposiciones por encima de cierto umbral o, tal vez, el número de exposiciones a dicho campo electromagnético (*Bardasano y Elorrieta, 2000; Kato et al, 2006*) lo que provoca un efecto en los organismos. La diferencia en que tan sensibles son las especies para sentir los CEM del entorno, puede desempeñar un nuevo papel en los efectos que puedan o no ser observables. Se sabe que algunas especies perciben el campo magnético de manera diferente y es posible que algunos sujetos, incluso dentro de la misma especie, sean más sensibles (*Touitou et al, 2010*).

Dentro del estudio de las ciencias, los CEM se caracterizan por la naturaleza electrodinámica de las fuerzas que actúan sobre objetos cargados eléctricamente (*Lewczuk et al, 2014*), incluidos los organismos vivos. Sin embargo, no todos los CEM producen los mismos efectos ya sean positivos o negativos; y esto es debido a que la influencia que pueden ejercer depende de muchos factores: a) la intensidad del campo, b) la distancia a la que se encuentra la fuente

emisora, c) la frecuencia a la que se emite la energía y d) el tamaño del área sobre la que esta energía se irradia (*Bardasano y Elorrieta, 2000; Kato et al, 2006; Lewczuk et al, 2014*).

Existen dos tipos de efectos adversos que pueden producir los CEM en los organismos, térmicos y atérmicos. Los efectos térmicos resultan de la transformación de la energía electromagnética en energía térmica que incrementan la temperatura, ya sea en la zona de irradiación o como una respuesta que afecta a todo el cuerpo. Mientras, los efectos atérmicos se producen como resultado de la exposición a CEM de muy baja intensidad, donde no se registra elevación de la temperatura (*Skvarca y Aguirre, 2006*).

Los CEM de frecuencias altas o ionizantes ($> 10^{17}$ Hz) han demostrado ser dañinos para la salud, como lo señala la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los rayos gamma, los rayos cósmicos y los rayos X poseen la capacidad de transportar tanta energía que son capaces de romper los enlaces entre moléculas, esto provoca a su vez un cambio a nivel del DNA de los organismos promoviendo en muchos casos, la aparición de enfermedades como el cáncer (*Kato et al, 2006*). Los estudios han demostrado que la exposición a estos campos interrumpen la actividad neuroendocrina y pueden causar estrés, depresión, ansiedad, trastornos del aprendizaje y del sueño (*Bagheri et al, 2019*).

El creciente uso de sistemas de comunicación basados en señales inalámbricas, así como el surgimiento de transmisiones por radio y televisión, han aumentado la gama de frecuencias pertenecientes a la clasificación del espectro electromagnético no ionizante. Por ejemplo, un usuario de telefonía móvil está constantemente expuesto a las radiaciones del celular, incluso si no es utilizado para comunicarse. Es por estas razones que se han realizado varios estudios que señalan efectos contrarios, en modelos animales *in vivo* o *in vitro* e, incluso, en pacientes y voluntarios humanos. Sin embargo, la OMS ha concluido que los resultados existentes no confirman que la exposición a campos electromagnéticos de baja intensidad produzca consecuencias graves para la salud, posiblemente porque no poseen la energía suficiente para romper los enlaces de las moléculas (OMS, Proyecto Internacional CEM, 2019). Varios informes han indicado que la exposición a CEM cambia el metabolismo de los radicales libres en diferentes tejidos como el corazón, el hígado, el riñón y el cerebro (*Bagheri et al., 2019*).

Por otro lado, Skvarca y Aguirre (2006) mencionan que, aunque no se han podido corroborar en estudios epidemiológicos la asociación de problemas de salud por efecto de CEM de baja intensidad, se requieren más análisis acerca del efecto de una exposición prolongada sobre afecciones endocrinas, efectos etológicos, así como su capacidad de promover la aparición de cáncer, como la leucemia. Sin embargo, también en el campo de la medicina, se ha recurrido al uso de campos electromagnéticos para el tratamiento de diversas enfermedades como el Parkinson, el Alzheimer y el Huntington debido a que ha mostrado resultados positivos y por tratarse de un método no invasivo para los pacientes (*Moreno-Fitz et al, 2015*).

A pesar del gran número de investigaciones que se han realizado en este campo, solo pocos se han enfocado en el efecto que la exposición a CEM puede tener sobre los ritmos biológicos, especialmente los CEM de FEB.

1.4 Efecto de los CEM de frecuencia extremadamente baja (FEB) sobre los ritmos biológicos

La energía eléctrica suministrada en los hogares es una corriente alterna que fluye, cambiando constantemente de dirección, de tal forma, que todos los cables y fuentes de luz en los hogares y en áreas laborales son generadores de campos electromagnéticos de intensidad variable (*Moore, 1992*). Estos campos tienen una frecuencia de 50 o 60 Hz, por lo tanto, se encuentran dentro del rango de los CEM de FEB pues son menores a 300 Hz (*Kato et al, 2006*).

A diferencia de los CEM de alta frecuencia, existen pocas bases epidemiológicas y experimentales que permitan considerar que los CEM de FEB sean perjudiciales para la salud; sin embargo, la IARC los ha clasificado en la categoría 2B como “**Posiblemente cancerígenos**” (*Touitou et al, 2010*), sin embargo, también aclara que existe evidencia limitada o inadecuada sobre sus efectos sobre la salud humana. Como se ha mencionado anteriormente, esto podría tener relación con una producción aumentada de especies reactivas de oxígeno, las cuales deterioran el sistema de óxido-reducción de las células provocando estrés oxidativo y, eventualmente, este causa degeneración y disfunción celular (*Bagheri et al, 2019*). Además, se ha comprobado que una exposición prolongada a CEM puede aumentar los efectos psicológicos, como trastornos del sueño, depresión, paranoia y ansiedad entre los empleados que trabajan en subestaciones de alto voltaje (*Barsam et al, 2012*).

Como ya se mencionó en las primeras secciones, los ritmos biológicos son afectados por estímulos externos o *Zeitgebers*, entre las que se encuentran los fenómenos electromagnéticos (*Kato et al, 2006; Touitou y Selmaoui, 2012*). Así mismo, los ritmos están coordinados por el NSQ, que pone en hora la complicada maquinaria neuroendocrina, ya que integra la información electromagnética ambiental de los sincronizadores ambientales. A través de la retina que capta las variaciones periódicas de la luz, parte del espectro electromagnético, y que promueve los ritmos circadianos, pero también, los ritmos anuales, estacionales etc. Y también, parece poder sentir las variaciones del campo geomagnético o las radiaciones de FEB o las micropulsaciones, como señalan Bardasano y Elorrieta (2000).

Numerosos estudios epidemiológicos y de laboratorio sugieren que los CEM de FEB generados por líneas de transmisión eléctrica o por dispositivos electrónicos tienen un efecto negativo en el sistema cronobiológico de los individuos; pero, otros no han encontrado influencia de estos en parámetros cronobiológicos (*Lewczuk et al., 2014*). Los resultados que han generado mayor interés científico han sido aquellos en los que se han observado alteraciones en ciclo de síntesis de melatonina, cambios en el comportamiento, oncogénesis, trastornos psicológicos, alteraciones en la reproducción o en el sistema inmune (*Moore, 1992; Touitou y Selmaoui, 2012; Lewczuk, 2014*).

En 1968, Wever diseñó un experimento donde expuso a voluntarios a un campo electromagnético de 10 Hz, mientras al mismo tiempo se bloqueaba cualquier otra señal de tiempo externo. Se estudiaron los ritmos de actividad y sueño, así como la temperatura corporal y otros parámetros fisiológicos en los sujetos. Los resultados obtenidos mostraron que los 10 Hz causaron que el periodo en libre corrimiento se acortara, pero volvió a su

duración original cuando se terminó el campo. Wever concluyó que los campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja influyen en los ritmos circadianos humanos (Moore, 1992; Kato et al, 2006). Por otro lado, muchos otros estudios también han demostrado que, sin importar las condiciones de exposición u otras variables, no existe un efecto en algunos valores bioquímicos y en sus patrones circadianos como la concentración de proteínas, plaquetas, leucocitos y otros factores del sistema inmune en los humanos (Touitou et al, 2010). Esto proporcionó información nueva y relevante para proponer que los campos electromagnéticos afectan a los ritmos circadianos y pueden actuar como un *Zeitgeber* débil (Kato et al, 2006).

Por ejemplo, algunos estudios en mamíferos y en otros organismos han demostrado que la glándula pineal y los ojos responden a una exposición aguda de campos magnéticos (Olcese, 1990). La hormona melatonina es producida por esta glándula y es bien conocido su ritmo de secreción y como este se encuentra controlado por el ciclo luz-oscuridad ambiental. Aunque existen otros órganos que secretan melatonina, como el intestino, su síntesis en estos órganos no presenta un ritmo temporal (Touitou y Selmaoui, 2012; Aguilera et al, 2019).

La melatonina desempeña un papel importante en el control de un gran número de procesos fisiológicos que implican una variación temporal diaria y/o estacional (Lewczuk, 2014). La glándula pineal de los mamíferos es una estructura ubicada en el cerebro, relacionada funcionalmente con el sistema visual de la retina y con el NSQ. La melatonina, junto con el cortisol o corticosterona son las principales hormonas del sistema circadiano y como tal, son capaces de modular la fase del reloj circadiano bien adelantándola o retrasándola (Touitou y Selmaoui, 2012; Lewczuk, 2014). En los seres humanos y otras especies diurnas presenta un efecto agudo que promueve el sueño (Aguilera et al, 2019). La producción circadiana de la melatonina está determinada por las horas de luz y oscuridad a las que los organismos están expuestos (**fotoperiodo**), de tal modo que **“la luz del día suprime la síntesis mientras que durante la noche la producción y secreción de la hormona se encuentran en sus niveles más altos”** (Moore, 1992). Esto se debe a las conexiones anatómicas entre los ojos y la glándula pineal, que incluyen la vía retinohipotalámica que viaja hacia el NSQ y de allí hacia el núcleo paraventricular del hipotálamo desde donde se proyectan neuronas largas descendentes hacia las células preganglionares de la asta lateral en la médula espinal, los axones de estas neuronas salen hacia el ganglio cervical superior para terminar finalmente en la glándula pineal (Dunlap, 2004; Koukkari y Sothorn, 2006).

En 1963, se propuso la hipótesis en la cual la disminución en la secreción de melatonina por la glándula pineal podría promover el desarrollo de cáncer en los seres humanos (Touitou et al, 2010). Adicionalmente, otros estudios han demostrado que la secreción de melatonina producida por la glándula pineal es particularmente sensible a la influencia de campos eléctricos, magnéticos y electromagnéticos (Reiter, 1992,1993; Lewczuk, 2014). Selmaoui y Touitou realizaron experimentos donde encontraron que una sola exposición de 12 horas producía una disminución significativa de los niveles de melatonina y en la actividad de la enzima N-Acetiltransferasa (NAT) en la glándula pineal, la enzima clave para la síntesis de melatonina a partir de la serotonina (Touitou et al., 2010). La hipótesis planteada trata de explicar cómo el deterioro del sistema circadiano y el descenso de la producción de melatonina por parte de la glándula pineal provocado por los CEM de FEB se relaciona con el aumento en el desarrollo del cáncer y algunos trastornos neurológicos, tales como el

Alzheimer y la depresión (*Touitou y Selmaoui, 2012*). Aunque aún no existe explicación clara del mecanismo de acción de los CEM sobre la glándula pineal, se ha propuesto que un posible cambio en la estructura de la rodopsina inducido por el CEM o que cambie la actividad eléctrica de los pinealocitos, podría ser la causa de la modificación en la capacidad de la glándula pineal para producir melatonina (*Touitou et al., 2010*).

Otras de las hormonas que presentan un ritmo circadiano bien conocido en diversos mamíferos son los **glucocorticoides**: el cortisol y la corticosterona. Estas hormonas participan en la regulación del hambre y el apetito, la respuesta inflamatoria y se les reconoce como hormonas del estrés. Se ha sugerido que los glucocorticoides participan como un mensajero secundario en la comunicación entre el reloj central y los periféricos de los animales por lo que las alteraciones en su producción rítmica conduce a efectos adversos (*Lewczuk et al., 2014*). Algunos reportes sugieren que los CEM de FEB pueden actuar sobre la actividad del eje HHA y, por tanto, alterar el nivel de cortisol o corticosterona en sangre y que esto a su vez puede interferir con otros aspectos psicológicos y conductuales como el rendimiento de la memoria (*Mostafa et al, 2002*).

A diferencia del número de estudios que se han realizado sobre la relación entre los CEM y la melatonina, se conocen pocos datos sobre el efecto de la estimulación electromagnética en el eje Hipotálamo -Hipófisis- Adrenal (**HHA**) y, por tanto, en la secreción de cortisol. Aunque, en la mayoría de los estudios realizados no se han encontrado efectos, otros informan de un aumento o una disminución de este glucocorticoide. Esto hace que los resultados sean inconsistentes y contradictorios (*Touitou y Selmaoui, 2012*). Sin embargo, estas discrepancias pueden deberse a la diferencia entre las especies, la edad, la duración e intensidad de los campos utilizados. Las interrupciones dentro del sistema circadiano pueden asociarse con alteraciones del eje HHA y, por lo tanto, con las concentraciones plasmáticas de los glucocorticoides, lo cual, puede derivar en alteraciones metabólicas y trastornos mayores como la depresión (*Saliev et al., 2019*).

La glándula suprarrenal forma parte de los órganos que son capaces de generar su propio ritmo, independiente del NSQ (**osciladores periféricos**) pero que se mantienen en comunicación con este núcleo para mantener todos el mismo “horario”. Esta glándula puede influir en los ritmos de otros tejidos a través de la liberación rítmica de sus hormonas. El patrón circadiano de la secreción de glucocorticoides se puede bloquear al interrumpir específicamente el reloj dentro de la glándula suprarrenal, lo cual indica que este tejido periférico gobierna los patrones de secreción del cortisol (*Koch et al., 2017*). Se considera que ambos, la melatonina y el cortisol, y la corticosterona en roedores, pueden ser los mejores marcadores del sistema circadiano (*Touitou y Selmaoui, 2012*) y, por lo tanto, pueden evidenciar los efectos que los CEM de FEB causan en la cronobiología de los organismos. Un ritmo es considerado un marcador cuando es capaz de mostrar la estructura de un ritmo endógeno, es decir, que continúa presentándose cuando no hay estímulos externos que lo sincronicen (*Touitou et al, 2010*); es decir, una variable fisiológica con un claro y evidente ritmo circadiano, cuya estructura de tiempo es reproducible de un día a otro.

Estudios en humanos y en otros mamíferos, como las ratas y los ratones, que analizaron los posibles efectos de los CEM de FEB sobre distintos ritmos, principalmente del tipo

circadiano, son en ocasiones contradictorios (*Reiter, 1992,1993; Truong y Yellon, 1997; Lewczuk et al, 2014*).

La razón por la que existen estas discrepancias es aún desconocida; aunque, es posible que pequeñas diferencias en el tiempo de exposición, la fase del ritmo durante la cual se realiza la exposición, las interferencias de otros factores como la luz o algunas drogas, la variabilidad interespecífica o el nivel de sensibilidad individual puedan ser la causa.

Existen diversas investigaciones donde se analiza el efecto de los CEM sobre la conducta motora. En esos reportes, las principales pruebas utilizadas fueron el campo abierto –prueba donde se miden las conductas de exploración y desplazamiento en un espacio abierto- y el laberinto elevado en cruz –prueba que mide la conducta de exploración en un espacio abierto y otro cerrado, que se utiliza para la valoración de la ansiedad-. En estos casos, los resultados obtenidos han sido diversos, ya que en algunos se muestra que no existen cambios en la actividad provocada por la estimulación (*Vázquez-García et al, 2004; Lai et al, 2016*), mientras en otros se registra un aumento en algunas conductas como la exploración en campo abierto (*Mostafa et al, 2002; Zhadin et al, 1999*), e incluso se ha registrado un aumento en conductas relacionadas con el estrés y la ansiedad (*Körpınar et al, 2012*). Aunque la conducta motora es considerada un índice fundamental para analizar la actividad animal en general (*Hassan, 2015*), no hemos encontrado publicaciones recientes sobre una interacción entre los CEM de FEB y el ritmo de AL, en particular en roedores.

Justificación

El crecimiento de las ciudades y el desarrollo tecnológico aumenta día a día y la mayoría de las poblaciones están expuestas a campos electromagnéticos de todas las frecuencias, constituyendo una de las influencias más comunes del entorno.

Gran número de investigaciones señalan la existencia de una relación entre la presencia de campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja (**CEM de FEB**) y alteraciones en la fisiología de los organismos. En los humanos se han reportado efectos adversos en la salud, como el aumento de la oncogénesis, aunque también se han utilizado en el área médica para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas (*Touitou y Selmaoui, 2012*). Sin embargo, solo pocos estudios se han enfocado en investigar la relación que existe entre los CEM de FEB y los ritmos biológicos centrándose, en especial, en la secreción de hormonas como el cortisol, la corticosterona o la melatonina (*Lewczuk et al, 2004; Touitou et al, 2010; Touitou y Selmaoui, 2012*). Los resultados obtenidos son variados y en ocasiones contradictorios, por lo que no permiten aún definir el efecto de los CEM en la fisiología celular y conductual. Las características del campo electromagnético, las diferencias inter e intraespecíficas parecen tener un papel determinante en la respuesta biológica obtenida (*Moore, et al., 1992; Bardasano y Elorrieta, 2000; Touitou, 2012*).

A pesar de que la medición de la actividad locomotora (AL) es una manera no invasiva para evaluar el funcionamiento del sistema circadiano y sus efectos, sobre todo en roedores (*Hassan, 2015*), no se ha encontrado literatura científica en la cual se evalué la relación entre los CEM de FEB y la AL. Por esta razón, se desconoce si los CEM pudieran alterar los ritmos de AL en ratas y de qué forma. Es, por tanto, el objetivo del presente trabajo el observar y describir si una exposición a campos electromagnéticos de 60 Hz puede alterar el ritmo de actividad locomotora de ratas adultas.

Hipótesis y Objetivos

3.1 Hipótesis

- Los CEM de FEB generarán el aumento en la actividad locomotora de ratas.
- Al actuar como estresor, los CEM de FEB aumentarán la concentración de corticosterona en plasma sanguíneo de los animales expuestos.

3.2 Objetivos

Objetivo General:

Evaluar el efecto de los CEM de FEB sobre la actividad locomotora de ratas Wistar.

Objetivos particulares:

- ✓ Describir y analizar los efectos que la exposición a CEM de FEB en el ritmo de actividad locomotora de ratas macho de la estirpe Wistar.
- ✓ Evaluar el efecto de los CEM de FEB sobre la concentración sanguínea de corticosterona y en el peso corporal.

Materiales y Métodos

4.1 Animales

Se utilizaron un total de 36 especímenes machos de 2 meses de edad de la especie *Rattus norvegicus*, estirpe Wistar (cuyo peso inicial oscilaba entre los 180 y los 200 g). Todos los animales fueron proporcionados por el bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Las ratas se mantuvieron en cajas individuales de acrílico (32 x23x17 cm), bajo las mismas condiciones de temperatura (20-22 °C); con agua y alimento *ad libitum*. La limpieza de las cajas y el registro de peso se llevaron a cabo una vez por semana, en días y horarios distintos de tal forma que esto no influyera con el registro de la actividad locomotora.

Todos los animales fueron tratados de acuerdo con los principios enunciados en NOM-062-ZOO-1999 y avalados por el comité de ética e investigación de la Facultad de Medicina.

4.2 Diseño Experimental

Los animales se mantuvieron por 15 días para su aclimatación al laboratorio, posterior a esto los 36 fueron divididos en 2 grupos: El primer grupo se mantuvo durante un periodo de 23 días continuos en un fotoperiodo de 12 horas de luz (Encendido: 6:00 h) y 12 horas de oscuridad (Apagado: 18:00 h) (**LO**). Después de 7 días bajo condiciones LO, el segundo grupo fue colocado en condiciones de oscuridad constante (**OO**) por un periodo de 31 días.

En cada grupo el número de animales fue de 18, que fueron divididos en tres subgrupos: Control (Ctrl, n=6), Control de Movimiento (CM, n=6) y Expuestos a Campos Electromagnéticos (CEM, n=6). Todo lo anterior se muestra gráficamente en la figura 6.

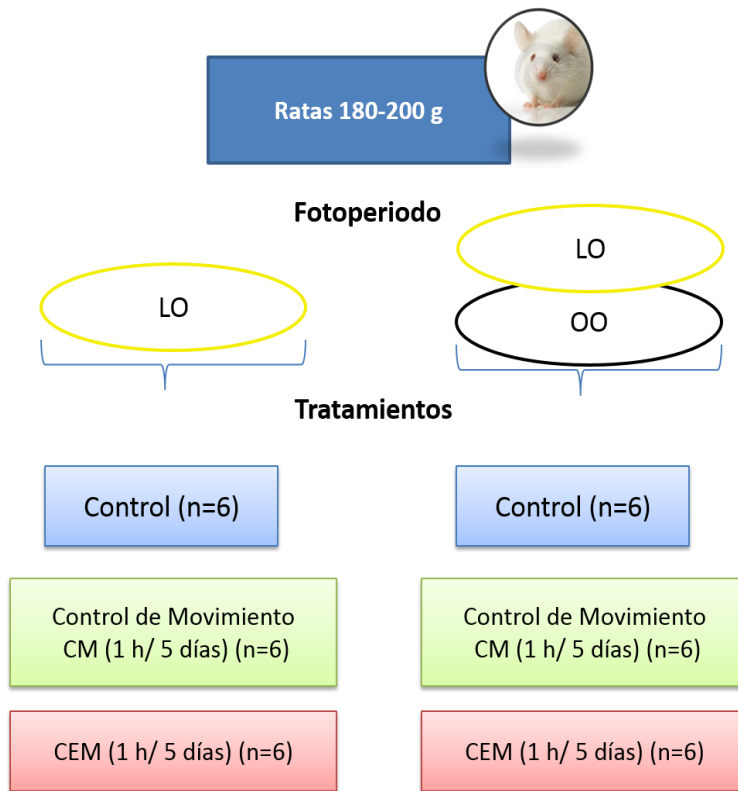


Figura 6. Esquema que muestra los grupos utilizados, también se muestra el tamaño de la muestra

4.2.1 Registro de Actividad locomotora

El registro de la actividad locomotora (AL) individual se realizó mediante un sistema de registro diseñado y construido en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), del Instituto Politécnico Nacional en la Ciudad de México. El dispositivo consiste en cajas de acrílico de 32x23x17 cm, modificadas con 4 pares de sensores distribuidos uniformemente a lo largo de la pared larga (32 cm), los cuales detectan la actividad locomotora horizontal, por medio de haces de luz infrarroja conectadas a una computadora (Figura 7) cada 15 minutos, durante 24 horas. La interrupción de la señal se registra como un valor de 1 en el programa *Ratímetro* instalado en una computadora.

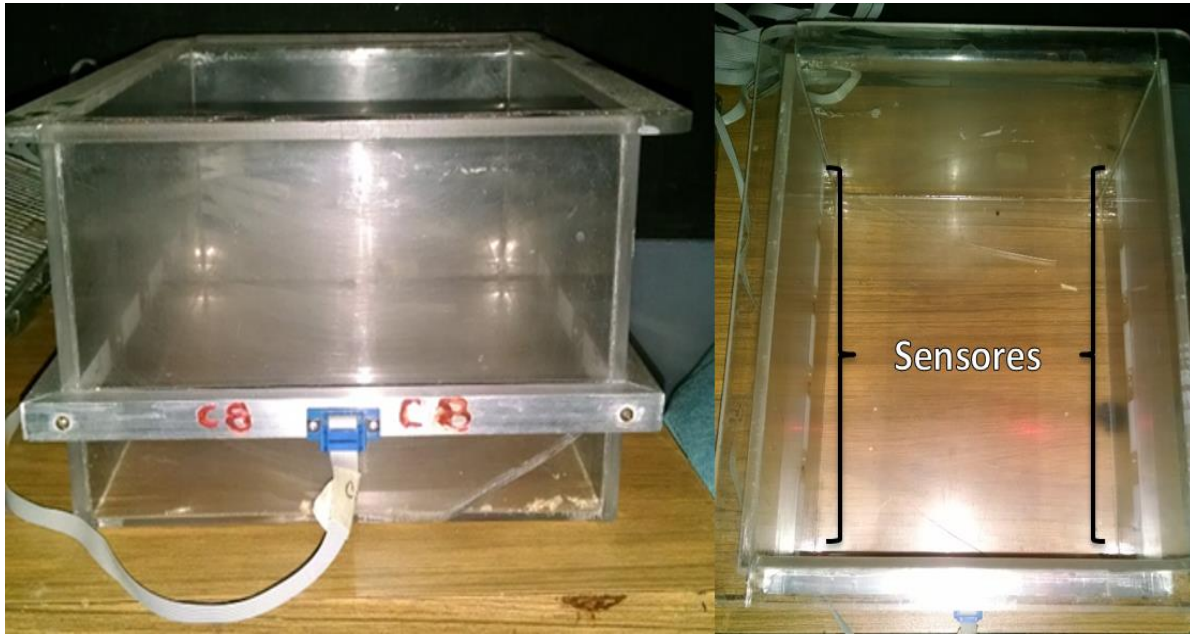


Figura 7 Contenedor de acrílico (32x23x17 cm) modificado con sensores para registrar la actividad locomotora con ayuda de una computadora.

La captura de datos de la actividad locomotora basal abarcó 7 días en LO para todos los animales, en este tiempo no se realizó manipulación exceptuando para la limpieza y el pesaje. Al término de esta semana se les separó en dos grupos con relación al fotoperiodo al cual serían sometidas las ratas.

El primer grupo se mantuvo durante todo el experimento en fotoperiodo LO, con el monitoreo continuo de su actividad. En el segundo grupo, se inició el periodo de oscuridad constante posterior a los 7 días de registro basal realizado en LO. Fue necesario mantener a los animales durante aproximadamente 2 semanas en OO (Día 8-21) para observar el libre corrimiento en su actividad locomotora, antes de comenzar con la siguiente parte del experimento. La figura 8 se muestra el curso temporal que se siguió para la realización del proceso experimental en ambos grupos LO y OO.



Figura 8. Línea de tiempo del proceso experimental. Esquema superior muestra el protocolo en un fotoperiodo LO. Esquema inferior, muestra el protocolo en un fotoperiodo OO.

4.2.2 Exposición a Campos Electromagnéticos (CEM)

La exposición a CEM se realizó durante 5 días por una hora diaria, de 12:00 a 13:00 h. El dispositivo utilizado para generar los CEM consistió en un par de bobinas en configuración Helmholtz, cuyo diámetro interior es de 30 cm; compuesto de alambre de cobre (18-gauge) con 350 vueltas, diseñadas y construidas en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados, IPN en la Ciudad de México. Se trata de bobinas alineadas en cuyo centro se genera un campo magnético homogéneo de 60 Hz, el cual viaja a través del aire y abarca todo el contenedor y el cuerpo del animal (**Figura 9**). La inducción magnética generada fue en promedio de 2.4 mT medido con un gaussómetro (Alpha-Lab, Salt Lake City, UT, USA).

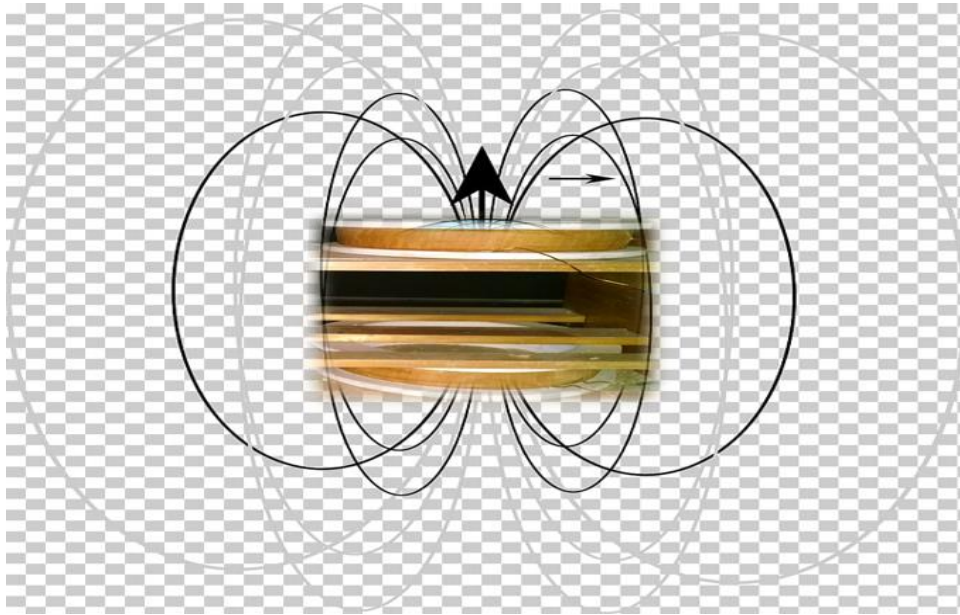


Figura 9. Bobinas en configuración Helmholtz utilizadas para la exposición. La inducción magnética generada fue en promedio de 2.4 mT. El contenedor de acrílico de cada rata era colocado entre las bobinas, por lo tanto, el campo magnético generado interactuaba con todo el cuerpo del animal, como se representa con las líneas de campo magnético inducido.

Debido a que las cajas con los animales debían de ser movidas del lugar habitual en donde se mantenían para ser introducidas dentro de las bobinas, se utilizó al grupo CM, cuya única variable sería el cambio de lugar, ya que solo fueron introducidos dentro de las bobinas apagadas. De esta forma, se disminuyó el ruido y el efecto que podría tener la simple introducción al aparato. Los animales del grupo control se mantuvieron sin ninguna alteración.

Al finalizar el periodo de estimulación se continuó con el proceso de eutanasia y toma de las muestras sanguíneas.

4.2.3 Proceso de eutanasia y toma de muestra sanguínea

El proceso se llevó a cabo entre las 11 h y 15 h, inyectando una dosis de 30 unidades de una jeringa de insulina cargada con Pentobarbital Sódico, por cada 300 g de peso del animal. Una vez comprobada la correcta acción de la anestesia en el animal, se procedió a realizar un corte por debajo de la caja torácica, se continúa la incisión rompiendo la membrana del diafragma con tijeras curvas, el corte se alarga por toda la longitud del torax, rompiendo costillas y dejando el corazón y los pulmones expuestos, finalmente se realizó la toma de sangre directa del corazón, mediante un corte sobre la aurícula derecha. La sangre se colectó dentro de tubos heparinizados que, posteriormente, fueron centrifugados a 4500 revoluciones por minuto durante 5 minutos para separar el plasma del resto del contenido sanguíneo. El sobrenadante se recuperó y almacenó en tubos Eppendorf de 1 ml, que se congeló de inmediato a -4°C para su posterior análisis con la prueba de Elisa para corticosterona.

4.2.4 Prueba de ELISA para detección de corticosterona

Para esta prueba se utilizó el kit ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assays, prueba de inmuno-adsorción ligado a enzimas) de Arbor Assays (K014-H1) para corticosterona. Para lo cual se siguieron las indicaciones presentes en el instructivo del mismo. Las muestras diluidas, así como los blancos y las diluciones de la curva estándar se colocaron, con micropipeta y por duplicado, en una placa de 96 pocillos transparentes recubiertos con el anticuerpo específico. Se añadió un conjugado de corticosterona y peroxidasa a los pocillos. En este kit, la reacción de unión se inicia mediante la adición de un anticuerpo policlonal para corticosterona (producido en oveja). Por último, se agregó el sustrato el cual reacciona con el conjugado de corticosterona y peroxidasa y se leyó a 450 nm usando un lector de placa para ELISA (Rayto, Microplate reader RT2100C).

4.2.5 Análisis Estadístico

Los datos del registro locomotor de todos los animales fueron ingresados en el programa ActogramJ (ImageJ) para generar los actogramas y la obtención de los valores de duración del periodo mediante el análisis de periodograma Lomb-Scargle. Estos valores se analizaron con ANOVA de dos vías (GraphPad Prism 6) para determinar si existían diferencias inter e intragrupo. El promedio de AL de cada grupo por hora se analizó usando una prueba de ANOVA de dos vías para medidas repetidas y se realizó una prueba post-hoc de Bonferroni (GraphPad Prism 6). Las concentraciones de corticosterona en plasma sanguíneo y la variación del peso corporal fueron analizadas con la prueba de varianza de un factor. Las comparaciones múltiples se analizaron por medio de la prueba de Turkey para medidas repetidas. La significancia, en todos los casos, es de $P \leq 0.05$.

Resultados

5.1 Actividad Locomotora

5.1.1 Fotoperiodo LO

En la figura 10 se muestran actogramas representativos de la AL registrada en animales CM (Figura 10A) y CEM (Figura 10B), durante 22 días bajo condiciones LO de iluminación. Los rectángulos azules y amarillos señalan la exposición a las bobinas apagadas y encendidas, respectivamente. La duración del periodo se mantiene sin cambios durante todos los días registrados en ambos grupos; es decir, el CEM no afecta al periodo del ritmo diario de AL. Sin embargo, durante la hora de estimulación y las horas siguientes, se observa aumento en la cantidad de movimiento registrado.

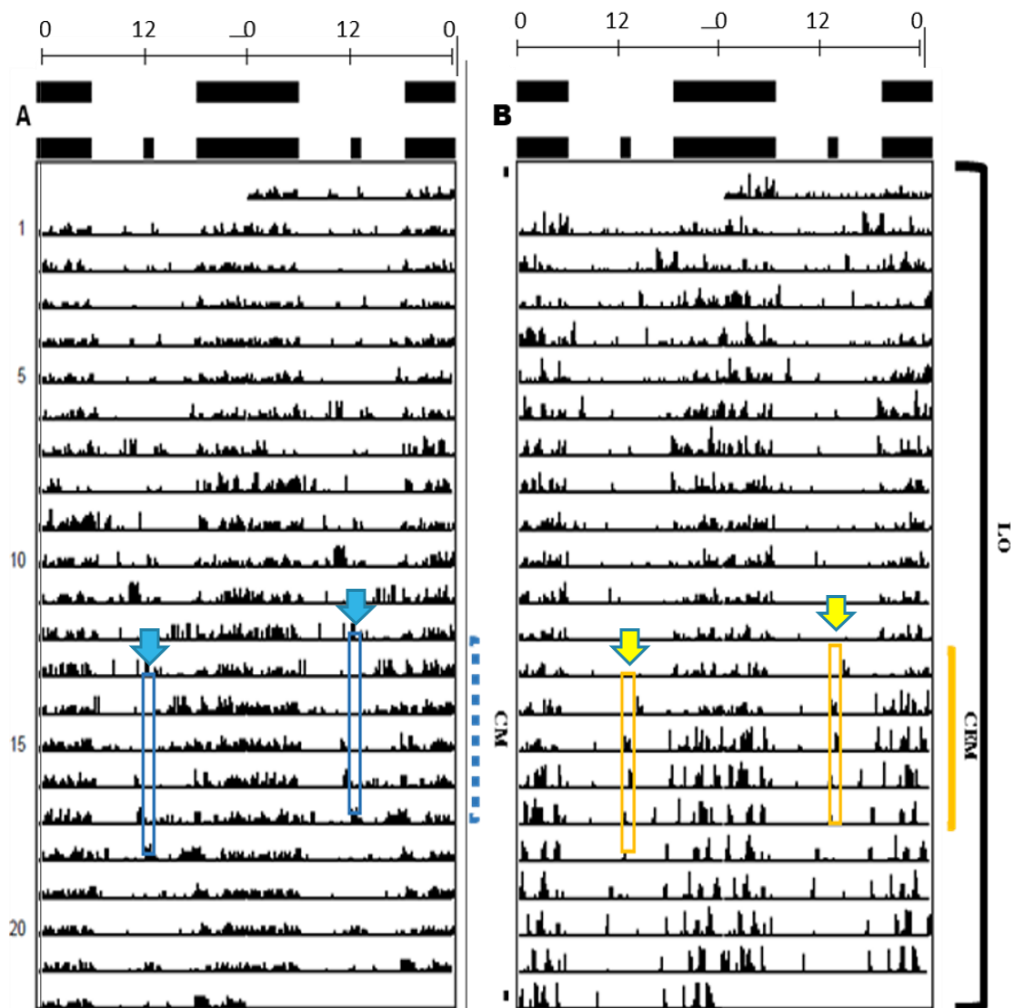


Figura 10. Ejemplos de actogramas representativos de la actividad locomotora registrada de ratas durante 22 días en fotoperiodo LO (representado por las barras horizontales de la parte superior de la figura: periodo de luz (blanco) y de la oscuridad (negro)). La segunda barra superior muestra el fotoperiodo, pero integra una pequeña barra que representa el periodo en que se presentaron los estímulos (1 hora). Cada pequeña barra del actograma representa la AL total registrada a lo largo de una hora. Los cuadros azules y amarillos superpuestos, señalados con una flecha azul y amarilla respectivamente, representan el periodo comprendido entre las 12 y las 13 horas, correspondiente a la exposición CM (10A) y CEM (10B).

A fin de evaluar la existencia de variaciones significativas en el inicio y finalización de la AL, se comparó el promedio del periodo antes, durante y después de los días de exposición de los tres grupos. El promedio se obtuvo de los 5 días antes del inicio de la estimulación (t1), los 5 días en los que se realizó la estimulación (t2) y los 4 días posteriores (t3) para el grupo CEM y CM.

En la tabla 1 se muestra el promedio de la duración del periodo \pm la desviación estándar (**DE**) de las tres condiciones realizadas a lo largo del experimento. El análisis de varianza ANOVA de dos factores no mostró diferencias estadísticamente significativas dentro del mismo grupo ni entre ellos ($F_{(4, 45)} = 0.8364$, $P = 0.5093$), de tal forma que es posible afirmar que la exposición a CEM y el cambio de lugar no afecta la duración del periodo en las ratas.

	<i>Ctrl (n=6)</i>	<i>CM (n=6)</i>	<i>CEM (n=6)</i>
<i>t1</i>	24.05 \pm 0.04	23.95 \pm 0.20	24.08 \pm 0.20
<i>t2</i>	24.12 \pm 0.12	24.05 \pm 0.54	24.17 \pm 0.20
<i>t3</i>	23.90 \pm 0.22	24.05 \pm 0.41	24.25 \pm 0.38

Tabla 1. Periodos (h) del ritmo de actividad locomotora de ratas en LO. Promedios de periodo \pm DE expresados en horas. Los valores fueron obtenidos mediante el periodograma Lomb-Scargle (ActogramJ). t1 = promedio de 5 días antes del CEM, t2 = promedio de los 5 días de estimulación y t3 = promedio de 4 días posteriores a la estimulación.

Para los perfiles de actividad de cada grupo (Figura 11) se calculó el promedio de la AL registrada cada hora, a partir del día 2 al 5 de la exposición. El primer día de exposición no se tomó en cuenta para estos cálculos, de tal manera que el efecto de novedad del estímulo pudiese ser descartando. El análisis de ANOVA de dos vías (tratamiento Vs tiempo) mostró la existencia de diferencias significativas entre los tres grupos ($F_{48, 230} = 3.324$; $P < 0.0001$). La prueba *post hoc* de comparaciones múltiples de Bonferroni arrojó diferencias a las 00:00, 8:00, 11:00, 12:00, 13:00, 14:00 y 17:00 horas entre los grupos Ctrl y CEM (Figura 11c) donde podemos observar que la AL se incrementa de manera significativa. Por otro lado, entre los grupos Ctrl y CM (Figura 11b) las diferencias observadas se registraron a las 2:00, 5:00, 12:00, 13:00, 17:00 y 18:00 horas.

Para descartar el efecto producido únicamente por la presencia de las bobinas generadoras de CEM, se compararon los valores de AL entre CM y CEM, lo cual mostró la existencia de diferencias significativas entre el grupo CM y el grupo CEM a las 8:00 y a las 14:00 horas.

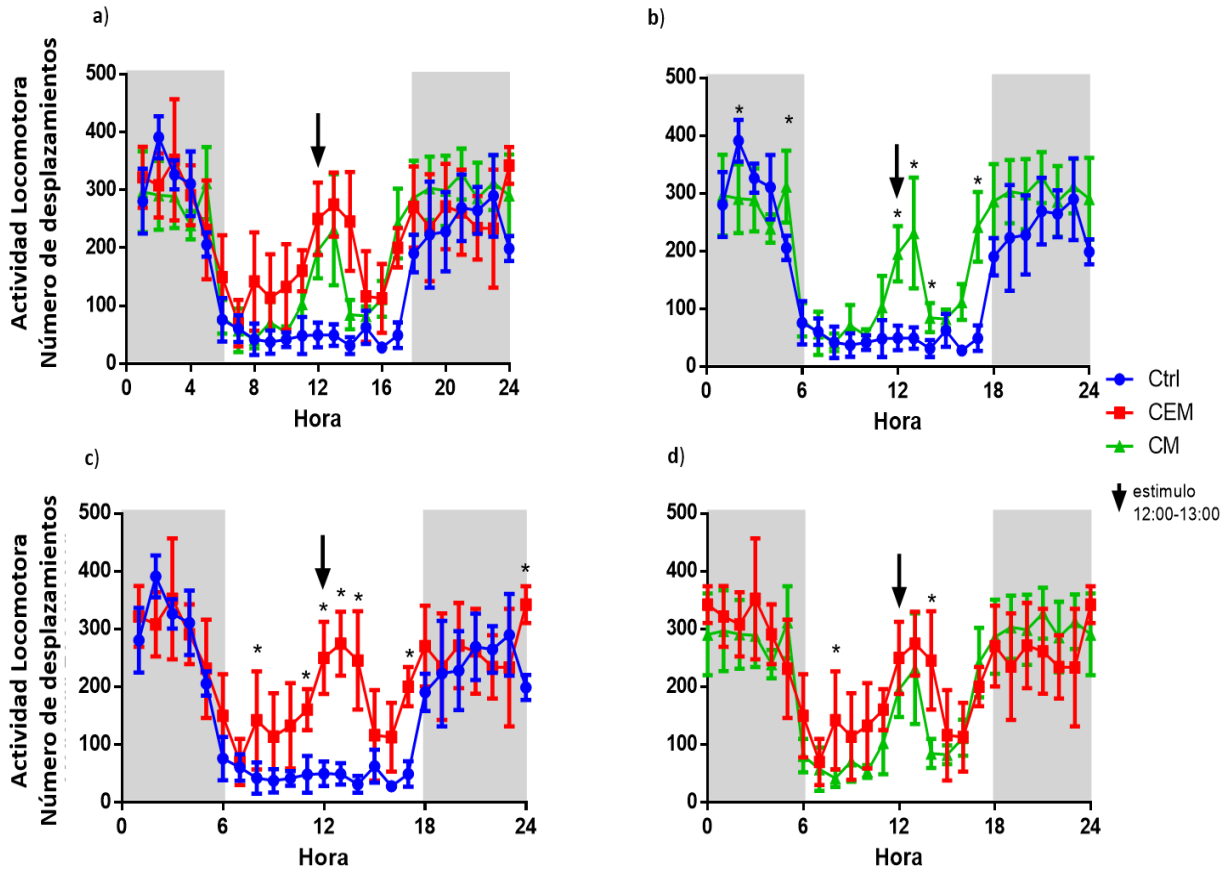


Figura 11. Promedio de la actividad locomotora de Grupo control (azul), CM (verde) y CEM (rojo) en los animales mantenidos en un fotoperiodo LO (Encendido = 6:00; apagado = 18:00h). a) comparación de los tres grupos b) comparación entre grupo Ctrl y CM. c) comparación entre grupo Ctrl y CEM. d) comparación entre CM y CEM. Los asteriscos señalan las diferencias significativas según la prueba post-hoc de comparaciones múltiples de Bonferroni ($\alpha= 0.05$). La flecha negra señala la hora del inicio de la exposición (12:00-13:00).

5.1.2 Oscuridad Constante (OO)

La Figura 12 muestra 2 actogramas representativos, el primero corresponde a un animal CM mientras que el segundo a uno del grupo CEM.

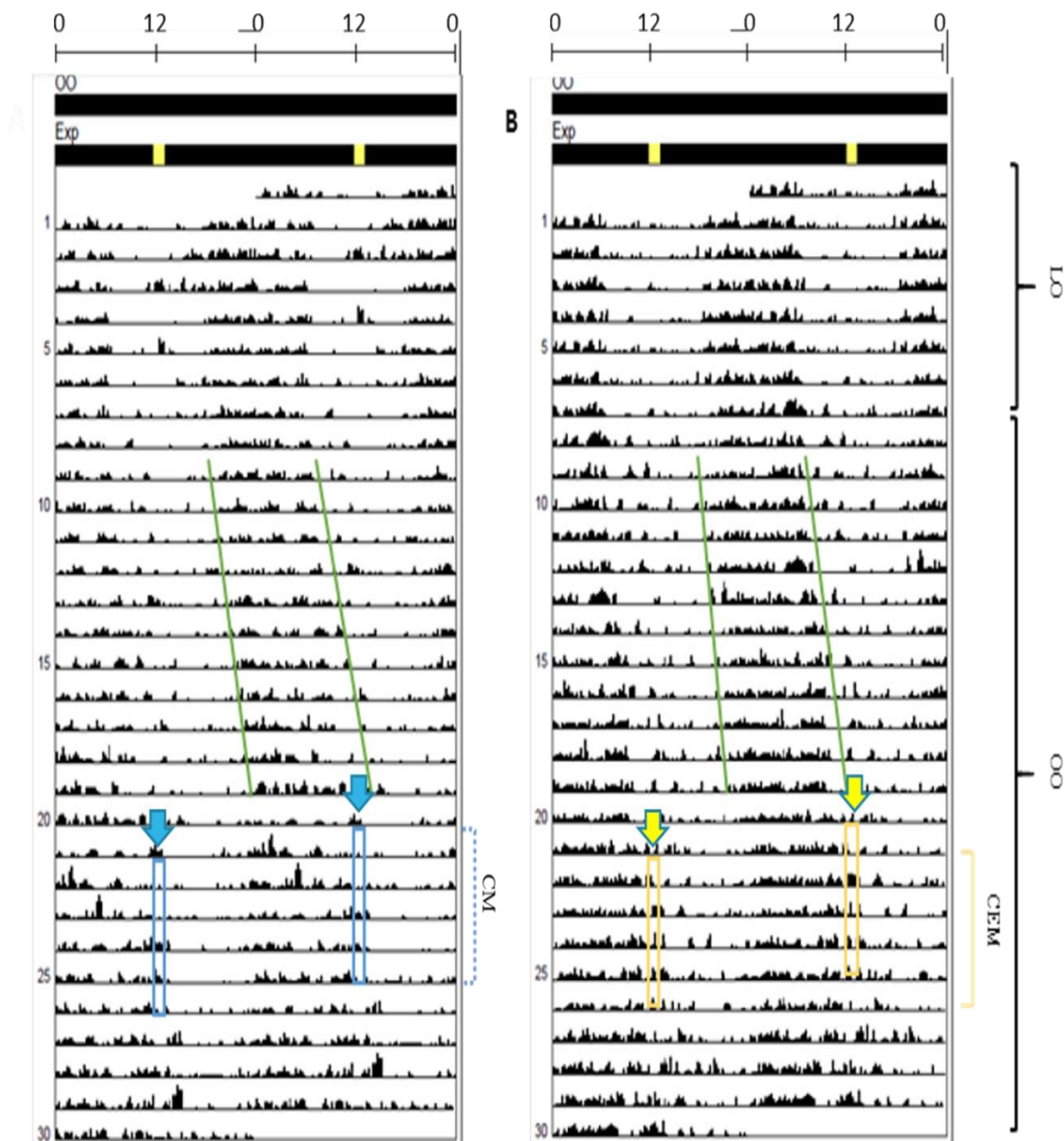


Figura 12. Actogramas de la AL representativos de los grupos CM y CEM, bajo condiciones de OO. **A)** Corresponde a un animal del grupo CM y **B)** Corresponde a un animal del grupo CEM. Los primeros 7 días se realizó el registro bajo condiciones LO (Encendido= 6:00 Apagado= 18:00), a partir del día 8 los animales se mantuvieron en OO. Los cuadros de color azul y amarillo, señalados con fechas, indican el momento de estimulación CM y CEM respectivamente (12:00 a 13:00 h). Las líneas en verde corresponden al libre corrimiento.

Los valores promedio de τ (duración del ritmo endógeno) en los días antes, durante y posteriores, se compararon utilizando el análisis de ANOVA, el cual mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, es decir que no existe una interacción entre el tratamiento y la duración de cada medida de τ ($F_{6, 48} = 1.030$, $P = 0.4176$). En la tabla 2 se muestran los promedios de $\tau \pm DE$.

	<i>Ctrl</i> (n=6)	<i>CM</i> (n=6)	<i>CEM</i> (n=6)
<i>t1</i>	24.13±0.21	24.25 ±0.20	24.38 ±0.43
<i>t2</i>	24.40 ±0.37	24.13 ±0.43	24.14 ±0.41
<i>t3</i>	23.15 ±0.51	24.25 ±0.45	24.50 ±0.28
<i>t4</i>	23.55 ±0.75	24.25 ±1.08	23.50 ±0.73

Tabla 2. Periodos del ritmo de actividad locomotora de animales mantenidos en oscuridad constante. Promedios de $\tau \pm DE$ en cuatro tiempos distintos dentro del periodo de registro. Donde *t1* representa al fotoperiodo LO, *t2* el periodo OO comprendido desde el día 10 al día 20, *t3* corresponde a los 5 días de exposición o CM y *t4* los últimos 4 días de registro posteriores al CEM o CM. Los valores de τ fueron obtenidos mediante el periodograma Lomb-Scargle (ActogramJ).

Similar que con la condición LO, para generar los perfiles de actividad de cada grupo (Figura 13) se calculó el promedio de la AL registrada cada hora, del día 2 al 5 de la exposición. El primer día de exposición no fue tomado en cuenta para estos cálculos. El análisis de ANOVA de dos factores, mostró que existe interacción entre el tratamiento (CM y CEM) y la AL registrada ($F_{48, 227} = 4.199$; $P < 0.001$); el análisis *post hoc* de Bonferroni determinó que entre el grupo Ctrl y CM las diferencias se observaban a las 15:00, 19:00 y 20:00 horas (Figura 13b). Mientras, la comparación con el grupo expuesto (CEM) presentó variación significativa a las 8:00, 9:00, 10:00, 12:00, 13:00, 17:00, 20:00, 22:00 y 24:00 (Figura 13c).

El comparar a los grupos CM y CEM mostró cuales diferencias realmente se deben a el efecto que tiene el estímulo de los CEM sobre los animales, en este análisis se obtuvo diferencias a las 8:00, 9:00, 10:00, 12:00, 13:00, 17:00 y 22:00 (Figura 13d).

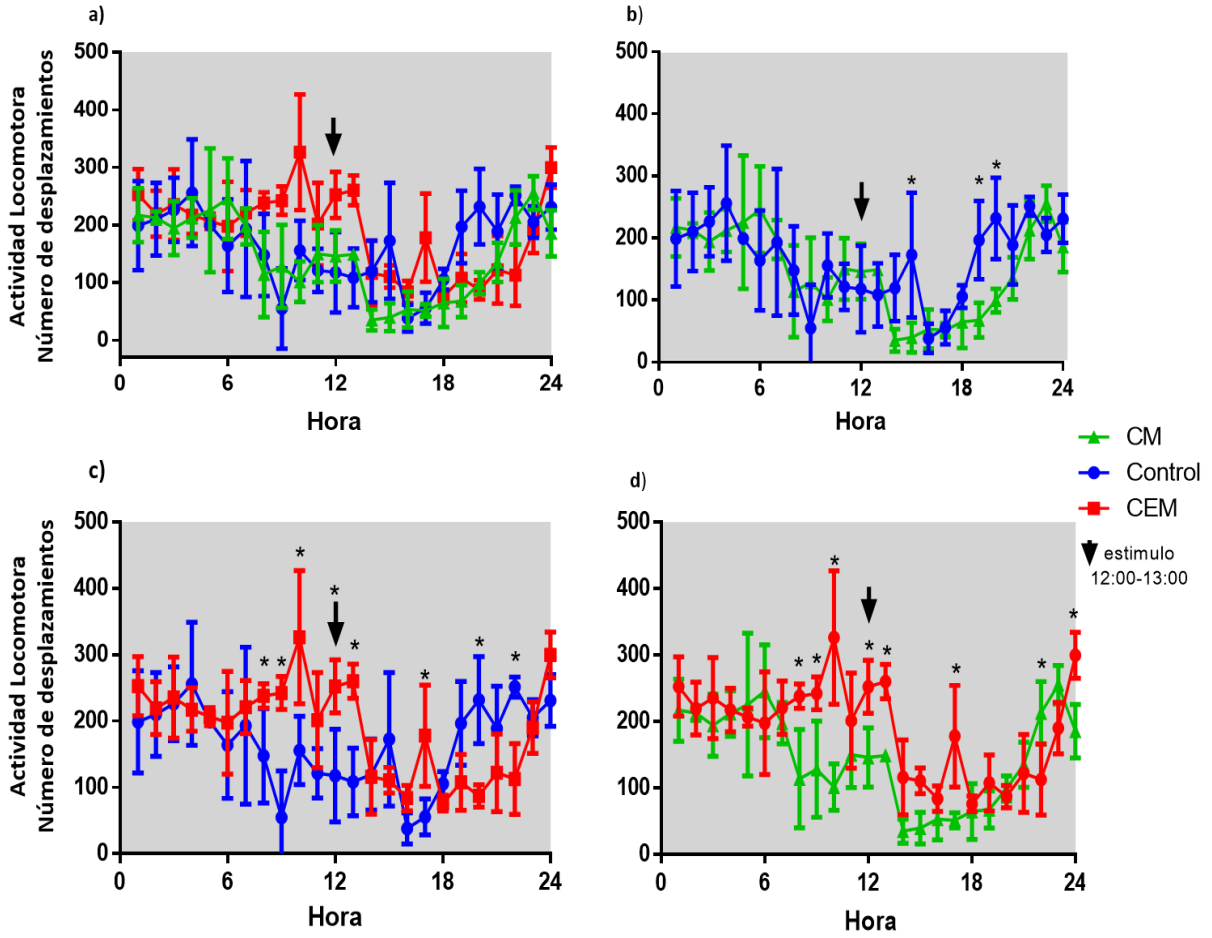


Figura 13. Promedio de la actividad locomotora de Grupo control (azul), CM (verde) y CEM (rojo) en los animales mantenidos en oscuridad constante (OO). a) comparación de los tres grupos b) comparación entre grupo Ctrl y CM. c) comparación entre grupo Ctrl y CEM. d) comparación entre CM y CEM. Los asteriscos señalan las diferencias significativas según la prueba post-hoc de comparaciones múltiples de Bonferroni ($\alpha= 0.05$). La flecha negra señala la hora del inicio de la exposición (12:00-13:00).

5.2 Análisis de peso corporal y concentración de corticosterona plasmática

5.2.1 Peso

Los pesos de los animales fueron registrados cada semana para evaluar si existían diferencias entre los grupos. El análisis estadístico mostró que no existen diferencias significativas en la ganancia de peso a lo largo del tiempo entre los tres grupos de animales del experimento, tanto en fotoperiodo LO (Figura 14A) como en OO (Figura 14B).

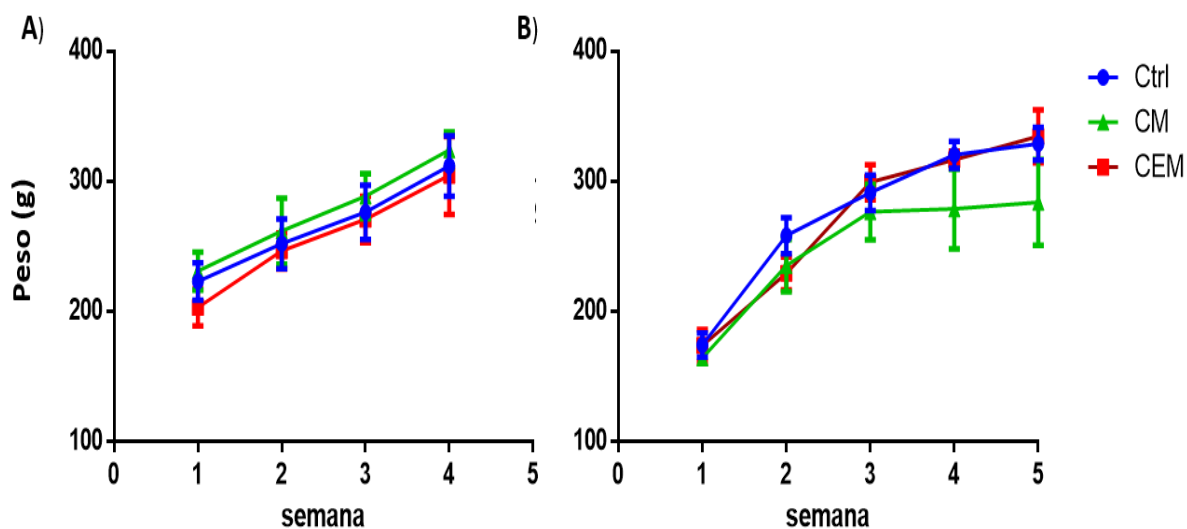


Figura 14. Promedio \pm DE del peso corporal de los animales. **A)** Animales en LO a lo largo de 4 semanas y **B)** animales en condiciones OO a lo largo de 5 semanas.

5.2.2 Corticosterona

Los valores obtenidos de la concentración de corticosterona en plasma sanguíneo se compararon entre los grupos mediante una ANOVA, la cual arrojó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Para los animales en fotoperiodo LO se obtuvo un valor de $F_{2,15} = 1.612$, $P = 0.2321$; mientras que la prueba entre los grupos pertenecientes a la condición OO obtuvo un valor de $F_{2,15} = 3.465$, $P = 0.0579$ (Figura 15). Como puede observarse en la figura, las ratas de los grupos control y CEM en condiciones de oscuridad constante presentan más dispersión en este parámetro, comparadas a las provenientes del fotoperiodo 12:12.

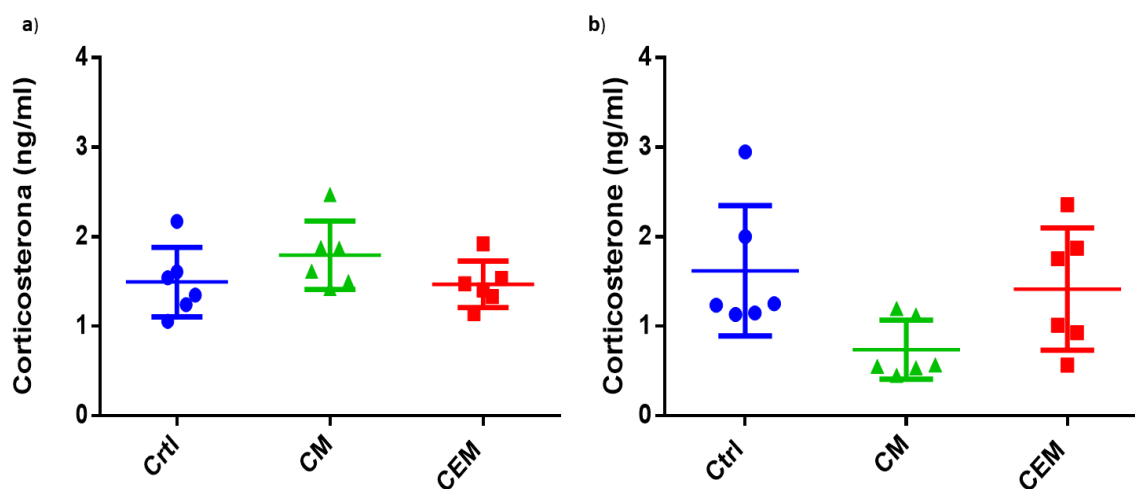


Figura 15. Valores promedio \pm DE de la concentración corticosterona en plasma. a) Valores de los animales en fotoperiodo LO, b) Concentraciones de los animales en condición OO. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en ninguna condición experimental.

Discusión

La contaminación electromagnética, principalmente aquellas intensidades que oscilan entre los micro y los mili Teslas, se ha visto incrementada en los recientes años por la actividad humana. Esto también ha aumentado el interés de la comunidad científica en investigar los efectos que puedan tener sobre los seres humanos, principalmente, su relación con algunas enfermedades, como el cáncer (*Touitou y Selmaoui, 2012*). También, han mostrado su utilidad terapéutica como tratamiento para la depresión, problemas de memoria y la enfermedad de Parkinson (*Sherrard et al., 2018*). A pesar de su amplia utilización, existen diferencias en los efectos observados sobre distintos organismos. Tales discrepancias parecen deberse a multitud de factores, como los rangos de frecuencia e intensidad utilizados, el momento y la duración del estímulo, las diferencias entre especies y entre los individuos (*Bardasano y Elorrieta, 2000*).

De acuerdo con estudios recientes, los CEM alteran el equilibrio electroquímico de los sistemas vivos y, la mayoría de las investigaciones señalan, que los sistemas nervioso y endocrino son más susceptibles ante su presencia. Entre los procesos que, se ha comprobado, se ven afectados por los CEM se encuentran: la proliferación, la regulación del ciclo celular, la diferenciación y el metabolismo. Es posible que estas afectaciones provoquen, indirectamente, cambios en la fisiología y los procesos conductuales (*Sherrard et al, 2018*).

Debido a que **“la conducta motora es considerada un índice fundamental para analizar la actividad animal en general”** (*Hassan, 2015*) el objetivo principal de este trabajo fue el determinar cuál es el efecto que ejercen los CEM sobre la actividad locomotora monitoreada y registrada. Los resultados obtenidos muestran que los CEM (aplicados 1 hora/día durante 5 días consecutivos) inducen un aumento en la actividad locomotora. Sin embargo, el diseño experimental nos permitió observar que, incluso, la simple presencia de las bobinas es capaz de alterar la conducta del grupo, esta conclusión está relacionada a los resultados observados en el grupo CM, quienes también mostraron cambios, a pesar de no estar expuestos a los CEM, esto podría ser causado como una respuesta al estrés causado por el cambio de lugar. Estos resultados, sin embargo, varían dependiendo de las condiciones de iluminación en el cual se realicen los experimentos.

En la condición LO, aunque se cuantifico un aumento en la actividad locomotora tanto en el grupo CEM como en el CM comparados con el control. Los datos obtenidos al comparar el grupo CM y CEM demuestran que solo existen diferencias en dos horas del día, correspondientes a las 8 y a las 14 h. En las que adicionalmente podemos observar aumento, significativamente mayor, en aquellos animales expuesto al CEM real. De esto, podemos concluir que el incremento es inducido por la estimulación, solo en esas dos horas.

El dato a resaltar, sin duda, es la corta duración de la respuesta frente al estímulo electromagnético ya que los animales expuestos mantienen el aumento en su AL hasta dos horas después del inicio de la exposición y no así los controles de movimiento. Esto podría explicarse al tomar en cuenta que la luz es el *Zeitgeber* o estímulo más importante para los organismos (*Gruart et al, 2002; Dunlap, 2004; Koukkari y Sothorn, 2006*) capaz de alterar la frecuencia y el periodo del ritmo de actividad locomotora de los roedores nocturnos como lo demostraron Daan y Pittendrigh (*1967*); por lo tanto, es un razonamiento lógico el pensar que su presencia impide observar el efecto de los CEM de 60Hz, utilizados en nuestro experimento, sobre la actividad de las ratas.

Las condiciones de oscuridad constante, son utilizadas para poder estudiar y cuantificar los efectos directos de un estímulo dado sobre un ritmo endógeno (*Dunlap, 2004*) ya que los organismos carecen de algo capaz de “poner en hora” su reloj interno. Por lo tanto, con los experimentos en OO podemos observar si efectivamente los CEM son capaces de alterar la AL de los animales, observando que todos los animales expuestos a CEM aumentaron su actividad locomotora, en comparación con el grupo control y el grupo CM.

Las diferencias más notables y, sobre las que consideramos, se necesita hacer un leve hincapié, se presentan hasta 4 horas antes de iniciarse el campo, además, también podemos observar que el aumento en la actividad se mantiene por al menos 4 horas después del mismo. Estas diferencias se observan no solo al comparar al grupo control con el CEM, sino también al contrastar los valores del grupo CEM y el CM, lo cual nos ayuda a describir el efecto real inducido por la estimulación electromagnética y que el cambio no solo se debe a la presencia del ambiente interno de las bobinas. Pocos autores realizan controles similares, es decir, reportes con animales dentro de bobinas apagadas. Los reportes con estos controles

demuestran que los efectos observados en cada caso si se deben a la estimulación electromagnética (*Medina-Fernández et al 2017*).

El aumento en la actividad locomotora horas antes de que se presente un estímulo, es un fenómeno ampliamente estudiado y descrito en trabajos previos y se denomina como “**Actividad Anticipatoria**”. Dentro de la investigación relacionada, principalmente, se ha estudiado la respuesta anticipatoria al alimento y a algunos estresores como la hipertermia (Aumento de la temperatura) (*Van Der Harst et al, 2003; 2005; Yee, 2011*).

Cuando la comida es proporcionada a una hora particular, existe un incremento en su actividad horas antes de la presentación del alimento. Esta actividad anticipada al alimento (AAA) se encuentra regulada por osciladores distintos a aquellos que responden a la luz en el núcleo supraquiasmático ubicado en el hipotálamo (*Carneiro et al, 2012*), a pesar de esto, la luz ambiental sigue actuando como “un potente modulador en la expresión de la AAA en los roedores” (*Patton et al, 2013*).

Para otros tipos de estímulos, se ha sugerido que la respuesta anticipada utiliza mecanismos dentro de los circuitos neuronales del estrés (*Yoo, 2015*). De este modo, dado que se propone que la respuesta de los organismos a los campos electromagnéticos de baja frecuencia es similar a la de un estresor leve (*Saliev, 2019*), los campos electromagnéticos de 60 Hz utilizados en nuestro estudio podrían estar induciendo la respuesta anticipatoria observada al actuar como estímulos estresores. Sin embargo, el cambio que observamos es inmediato y transitorio, por lo que es necesario continuar investigando si las variaciones se mantienen tiempo después de terminada la exposición y si es posible observar efectos cuando el estímulo se presente en otras fases del ritmo circadiano. Además, es importante analizar las vías que podrían verse afectadas y que desencadenarían la respuesta conductual observada.

Al realizar una revisión bibliográfica de los efectos de los CEM en la actividad locomotora en diversos tipos de roedores, lo que se encontró fueron, sobre todo, estudios referentes a la locomoción en pruebas de campo abierto (*Zhadin et al, 1999; Mostafa et al, 2002; Salunke et al, 2015*) y laberinto elevado en cruz (*Korpinar et al, 2012*). Sin embargo, los resultados obtenidos en las diferentes investigaciones han arrojado resultados contradictorios y,

finalmente, no concluyentes. Esto podría explicarse debido a la diversidad de los métodos utilizados, así como las diferencias en la frecuencia, intensidad y tiempo de exposición al CEM.

En el caso de la duración del periodo de la AL en condiciones OO, no se obtuvieron diferencias significativas entre los valores del periodo antes, durante y después de la exposición. A pesar de estos resultados, no creemos que se pueda asegurar que los CEM no puedan afectar el periodo rítmico de actividad locomotora de ratas. Más bien podrían señalarnos que el tiempo o los días de estimulación no han sido suficientes para afectar la duración del ritmo. Sin embargo, debido a que no hemos encontrado literatura que discuta estos efectos nos es imposible discutir y llegar a una conclusión respaldada.

Faltan datos para poder determinar si los CEM de FEB puedan actuar como un *Zeitgeber* pues esto requiere una observación más prolongada; es decir, un monitoreo de más días posteriores al tiempo de la exposición para determinar si el efecto se mantiene, aunque el estímulo no se encuentre presente. A pesar de esto, con estos resultados podemos concluir que la estimulación electromagnética de 60 Hz induce un aumento en la actividad locomotora de ratas adultas.

Aunque las vías y mecanismos moleculares a través de los cuales la luz activa e influye sobre los ritmos biológicos, se encuentra bien estudiada (*Dunlap, 2004*), en el caso de los CEM no se ha demostrado alguna estructura receptora específica ni su mecanismo de acción en sistemas biológicos (*Bardasano y Elorrieta, 2000; Lewczuk et al, 2014*). Lundberg y colaboradores (2019) sugieren que la recepción de los campos magnéticos sería a través de los criptocromos, pues éstos contienen flavoproteína, proteína se encuentra implicada en la magnetorrecepción de diversos organismos, como las aves migratorias. Se ha propuesto una hipótesis en la cual la señal emitida por los CEM llega a través de los ojos hasta la glándula pineal - Al pertenecer al espectro electromagnético, al igual que la luz visible -, y estimula a las células interrumpiendo la secreción de melatonina lo cual, a su vez, altera varios mecanismos fisiológicos (*Touitou y Selmaoui, 2012; Lewczuk et al, 2014; Manzella et al., 2015*).

No solo se han estudiado los efectos de los campos electromagnéticos de frecuencias extremadamente bajas en las respuestas conductuales, sino también en diversos parámetros fisiológicos entre los que se incluyen el peso (*Szemerszky, 2010*), la cantidad de agua y comida ingerida y diversos parámetros sanguíneos e inmunológicos (*Lai et al, 2016*).

En este trabajo, se registraron semanalmente los pesos de los animales hasta el término de este y no se encontraron diferencias significativas en este parámetro, lo que concuerda con la literatura encontrada; pues, aunque no existe un consenso en la frecuencia o duración del estímulo, en la mayoría de los casos la exposición no genera cambios que sean estadísticamente significativos en el peso de los animales (*Zecca et al, 1998; Szemerszky et al, 2010*). Por lo tanto, podemos concluir, al igual que otros autores, de que los CEM no afectan la ganancia de peso.

La concentración de corticosterona en sangre es un clásico parámetro que refleja la actividad del eje HHA y por lo tanto el estrés de los animales (*Willner, 2017*). Ciertos autores han propuesto que los CEM pueden actuar como estresores en los organismos y por lo tanto aumentar los niveles plasmáticos de los glucocorticoides (*Simko 2007, Falone et al., 2008*). Los glucocorticoides pueden funcionar como mensajeros que regulan los ritmos de otros órganos, aun cuando se ha lesionado el NSQ (*Koch et al., 2017; Mahdavi et al., 2014*). Las respuestas conductuales a diversos factores, sobre todo a aquellos que resultan estresantes para los organismos genera e induce un amplio y coordinado repertorio de respuestas fisiológicas (*Belda et al, 2015*) entre las que se destaca la liberación de glucocorticoides, generado a partir de la respuesta del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA). Diversos estudios han mostrado que la presencia de campos electromagnéticos de diferentes intensidades y diferentes duraciones producen cambios y alteraciones en la concentración de estos glucocorticoides en diferentes tipos de organismos (*Touitou y Selmaoui, 2012*). En nuestro caso, en general, no se obtuvieron diferencias significativas en este factor.

Aunque, en condiciones LO, podemos observar una tendencia a la disminución en los valores cuantificados de corticosterona en plasma sanguíneo de los animales expuestos a CEM en comparación con los animales CM. Mientras que, en condición OO, observamos una

variación mucho más amplia entre los valores individuales de corticosterona. Estas variaciones pueden explicarse como un efecto provocado por las condiciones constantes, ya que la corticosterona presenta un ritmo que puede verse afectado por la presencia o ausencia de la luz (*Touitou et al, 2010; Touitou y Selmaoui, 2012*), o a que las condiciones constantes pueden ser un factor de estrés para los animales (*Lundberg et al, 2019*). Es necesario realizar un análisis más detallado de este efecto, con el fin de determinar cuál es el efecto real de los CEM sobre la concentración de corticosterona. Aunque la mayoría de los autores, coinciden en que no existen efectos consistentes observables en las hormonas relacionadas al estrés en los mamíferos (*Touitou y Selmaoui, 2012*), debido a que algunos estudios muestran un incremento en la concentración de corticosterona y otros una disminución de esta en animales expuestos a distintos tipos de CEM de baja frecuencia (*Lewczuk et al, 2014*).

Por otra parte, Harakawa en el 2004 observó que animales estresados y expuestos a un CEM de 50 Hz por 60 minutos, disminuían la concentración de ACTH. El ACTH participa como mensajero del eje HHA, estimulando la liberación de corticosterona desde las glándulas adrenales. Una disminución en la ACTH provocaría una disminución en la producción de corticosterona en las glándulas adrenales, lo cual podría explicar las similitudes entre las concentraciones de corticosterona obtenidas entre los grupos Ctrl y CEM en las dos condiciones de iluminación.

Conclusiones

- ✚ La exposición a campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja (60 Hz) genera un aumento en la actividad locomotora de las ratas Wistar macho, cuando esta exposición se presenta a la mitad del periodo de luz y con duración de una hora.
- ✚ La intensidad y duración del aumento depende de las condiciones de iluminación en el que se encuentren los animales. En LO el efecto es menor mientras que en OO el efecto se puede observar con mayor intensidad.
- ✚ La ganancia de peso de las ratas no se ve afectada por la presencia de los CEM.
- ✚ Los CEM de 60 Hz no aumentan de manera significativa la concentración de corticosterona en plasma sanguíneo. Sin embargo, estos resultados no son concluyentes debido a que existe una gran variación entre los valores de corticosterona obtenidos de manera individual.

Perspectivas

1. Realizar una nueva serie de experimentos para determinar si el efecto observado puede variar si se aumentan los días de exposición.
2. Explorar el efecto de la exposición en otros horarios del ciclo sueño-vigilia de las ratas, para lograr determinar y comparar los efectos que pueden causar a diferentes horas del día.
3. Profundizar en los efectos que la exposición a CEM de 60 Hz ocasiona en el ritmo circadiano de corticosterona y melatonina. De tal modo que podamos correlacionar una variedad más amplia de factores y así, explicar de un modo más completo los efectos de los CEM de 60 Hz sobre la actividad locomotora.
4. Determinar si la exposición a estos CEM puede alterar el funcionamiento del núcleo supraquiasmático, y si tiene la fuerza suficiente para modificar los mecanismos de los genes reloj presentes en distintos órganos.

Referencias

- Aguilera, Y., Rebollo-Hernanz, M., Martín-Cabrejas, M. A. (2019). Melatonin. In Food Chemistry, Function and Analysis. 129-151 <https://doi.org/10.1039/9781788015721-00129>
- Bagheri, H. M., Khanjani, N., Ebrahimi, M. H., Haji, B., Abdolahfard, M. (2019). The effect of chronic exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields on sleep quality, stress, depression and anxiety. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 38(1), 96–101 <https://doi.org/10.1080/15368378.2018.1545665>
- Bardasano-Rubio J.L., Elorrieta-Pérez J.I. (2000) Bioelectromagnetismo: Ciencia y Salud. McGraw Hill. España.
- Barsam, T., Monazzam, M. R., Haghdoost, A. A., Ghotbi, M. R., Dehghan, S. F. (2012). Effect of extremely low frequency electromagnetic field exposure on sleep quality in high voltage substations. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 9(1), 15. <https://doi.org/10.1186/1735-2746-9-15>
- Belda, X., Fuentes, S., Daviu, N., Nadal, R., Armario, A. (2015). Stress-induced sensitization: The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and beyond. *Stress*, 18(3), 269–279 <https://doi.org/10.3109/10253890.2015.1067678>
- Brudzynski, S. M., Krol, S. (1997). Analysis of Locomotor Activity in the Rat: Parallelism Index , a New Measure of Locomotor Exploratory Pattern. 62(3), 635-642 [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(97\)00189-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(97)00189-3)
- Caba M., Valdez P. (2015). Ritmos circadianos. De la célula al ser humano. Universidad Veracruzana, primera edición.
- Cabello C. M., Bair W. B., Lamore S. D., Ley S., Alexandra, S., Azimian, S., Wondrak, G. T. (2008). Strong resetting of the mammalian clock by constant light followed by constant darkness. *NIH Public Access*, 46(28), 220-231 <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.10.025>
- Cambras, T., Vilaplana, J., Campuzano, A., Canal-Corretger, M. M., Carulla, M., Díez-Noguera, A. (2000). Entrainment of the rat motor activity rhythm: Effects of the light-dark cycle and physical exercise. *Physiology and Behavior*, 70(3–4), 227-232 [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(00\)00241-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(00)00241-9)
- Carneiro, T.S., Fernandes, D., Medeiros, F. P., Diniz, N. L., Araujo, J. F. (2012). Daily anticipatory rhythms of behavior and body temperature in response to glucose availability in rats. *Psychology & Neuroscience*, 5(2), 191-197 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=207025281001>
- Challet E. (2007) Entrainment of the suprachiasmatic clockwork in diurnal and nocturnal mammals. *Endocrinology* 148(12), 5648–5655 doi: 10.1210/en.2007-0804
- Daan, S., Pittendrigh, C.S. (1967) A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. II. The variability of phase response curves. *J. comp. Physiol.*106. 253–266 <https://doi.org/10.1007/BF01417857>

- Dunlap J.C., Loros J.J., DeCoursey, P.J. (2004) *Chronobiology: Biological Timekeeping*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. USA.
- Falone, S., Mirabilio, A., Carbone, M. C., Zimmiti, V., Di Loreto, S., Mariggì, M. A., Mancinelli, R., Di Ilio, C., Amicarelli, F. (2008). Chronic exposure to 50Hz magnetic fields causes a significant weakening of antioxidant defence systems in aged rat brain. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 40(12), 2762–2770. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.05.022>
- Gruart A., Delgado M., Escobar C., Aguilar R. R. (2002). *Los relojes que gobiernan la vida*. Fondo de cultura económica; la ciencia para todos. México
- Hassan S.A., Zaki A.N. (2015) Monitoring and evaluation of circadian locomotor activities in rodents. *Egypt J. Exp. Biol. Zool.* 11(2), 219-224.
- Hughes, A. T. L. (2018). Locomotor exercise and circadian rhythms in mammals. *Current Opinion in Physiology*, Vol. 5, 51-57 <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2018.07.001>
- Jud, C., Schmutz, I., Hampp, G., Oster, H., Albrecht, U. (2005). A guideline for analyzing circadian wheel-running behavior in rodents under different lighting conditions. 7(1), 101–116. <https://doi.org/10.1251/bpo109>
- Kaplan S., Denis O.G, Önger M.E., Türkmen A.P., Yurt K.K., Aydin I., Altunkaynak B.Z., Davis D. (2016) Electromagnetic Fields and brain development. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. Vo. 75 Part B, 52–61. doi: 10.1016/j.jchemneu.2015.11.005.
- Kato M. (ed.) (2006) *Electromagnetics in Biology*. Springer. Japan.
- Kirschvink, J. L., Walker, M. M., & Diebel, C. E. (2001). Magnetite-based magnetoreception. *Current Opinion in Neurobiology*, 11, 462-467. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00235-X](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00235-X)
- Koch, C. E., Leinweber, B., Drengberg, B. C., Blaum, C., Oster, H. (2017). Interaction between circadian rhythms and stress. *Neurobiology of Stress*, Vol. 6. 57-67 <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.09.001>
- Korpinar, M.A., Kalkan, M.T., Tuncel, H. (2012). The 50 Hz (10mT) sinusoidal magnetic field: effects on stress-related behavior of rats. *Bratisl Lek Listy*, 113(9) 521–524. https://doi.org/10.4149/bll_2012_117
- Koukkari, W.L., Sothorn, R.B. (2006) *Introducing biological rhythms: A primer on the temporal organization of life, with implications for health, society, reproduction and the natural environment*. Editorial Springer. USA.
- Kuhlman S.J, Mackey S.R., Duffy J.F. (2007) *Biological Rhythms Workshop I: Introduction to Chronobiology*. Cold Spring Harbor on Quantitative Biology. 1–6. <https://doi.org/10.1101/sqb.2007.72.059>
- Kuhlman, S.J., Craig, L.M., Duffy, J.F. (2017) *Introduction to Chronobiology*. Cold Spring Harb Perspect Biol. a033613. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033613>

- Kumar, V. (2017) *Biological Timekeeping: Clocks, Rhythms and Behaviour*. Editorial Springer Nature. India.
- Lai, J., Zhang, Y., Liu, X., Zhang, J., Ruan, G., Chaugai, S., Wang, D. W. (2016). Effects of extremely low frequency electromagnetic fields (100 μ T) on behaviors in rats. *NeuroToxicology*, 52, 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.11.010>
- Lai, J., Zhang, Y., Liu, X., Zhang, J., Ruan, G., Chaugai, S., Wang, D. W. (2016). Effects of extremely low frequency electromagnetic fields (100 μ T) on behaviors in rats. *NeuroToxicology*, 52, 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.11.010>
- Lewczuk, B., Redlarski, G., Zak, A., Ziółkowska, N., Przybylska-Gornowicz, B., Krawczuk, M. (2014). Influence of electric, magnetic, and electromagnetic fields on the circadian system: Current stage of knowledge. *BioMed Research International*, Vol. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/169459>
- Lundberg, L., Sienkiewicz, Z., Anthony, D.C., Broom, K.A. (2019). Effects of 50 Hz magnetic fields on circadian rhythm control in mice. *Bioelectromagnetics*. 40(4), 250–259. <https://doi.org/10.1002/bem.22188>
- Mahdavi, S. M., Sahraei, H., Yaghmaei, P., Tavakoli, H. (2014). Effects of electromagnetic radiation exposure on stress-related behaviors and stress hormones in male wistar rats. *Biomolecules and Therapeutics*, 22(6), 570-576. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.054>
- Manzella, N., Bracci, M., Ciarapica, V., Staffolani, S., Strafella, E., Rapisarda, V., Santarelli, L. (2015). Circadian gene expression and extremely low-frequency magnetic fields: An in vitro study. *Bioelectromagnetics*, 36(4), 294–301. <https://doi.org/10.1002/bem.21915>
- Medina-Fernández, F. J., Begoña, M. E., Agüera, E., Aguilar-Luque, M., Feijoo, M., Luque, E., Garcia-Maceira F.I., Pascual-Leone, A., Drucker-Colin, R., Tunes, I. (2017) Effects of transcranial magnetic stimulation on oxidative stress in experimental autoimmune encephalomyelitis, *Free Radical Research*. 460-469. <http://dx.doi.org/10.1080/10715762.2017.1324955>
- Moore Ede M.C., Campbell S.S., Reiter R.J. (1992) *Electromagnetic Fields and Circadian Rhythmicity*. In Birkhiuser Boston.
- Mostafa, R. M., Mostafa, Y. M., & Ennaceur, A. (2002). Effects of exposure to extremely low-frequency magnetic field of 2 G intensity on memory and corticosterone level in rats. *Physiology and Behavior*, 76(4–5), 589-595 [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(02\)00730-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(02)00730-8)
- Olcese, J. M. (1990). The neurobiology of magnetic field detection in rodents. *Progress in Neurobiology*, 35(4), 325-330. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(90\)90016-A](https://doi.org/10.1016/0301-0082(90)90016-A)
- Organización Mundial de la Salud, OMS (s.f.) *Campos electromagnéticos, Base de datos de investigaciones sobre CEM y Evaluaciones de los riesgos para la salud*. Web: <https://www.who.int/peh-emf/es/>

- Patton, D. F., Parfyonov, M., Gourmelen, S., Opiol, H., Pavlovski, I., Marchant, E. G., Challet, E., Mistlberger, R. E. (2013). Photic and pineal modulation of food anticipatory circadian activity rhythms in rodents. *PloS one*, 8(12), e81588 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081588>
- Refinetti, R. (2008) *Biological Rhythms: Behavioral Ecology, Biological Rhythms*. Elsevier. USA.
- Reiter, R. J. (1992). Alterations of the circadian melatonin rhythm by the electromagnetic spectrum: A study in environmental toxicology. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 15(3), 226-244. [https://doi.org/10.1016/0273-2300\(92\)90035-8](https://doi.org/10.1016/0273-2300(92)90035-8)
- Reiter, R. J. (1993). Static and extremely low frequency electromagnetic field exposure: Reported effects on the circadian production of melatonin. *Journal of Cellular Biochemistry*, 51(4), 394-403 <https://doi.org/10.1002/jcb.2400510403>
- Sage, D., Ganem, J., Guillaumond, F., Laforge-Anglade, G., François-Bellan, A.M., Bosler, O., Becquet, D. (2004). Influence of the Corticosterone Rhythm on Photic Entrainment of Locomotor Activity in Rats. *Journal of Biological Rhythms*, 19(2), 144–156. <https://doi.org/10.1177/0748730403261894>
- Saliev, T., Begimbetova, D., Masoud, A. R., Matkarimov, B. (2019). Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: Two sides of a coin. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 141, 25-36 <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.07.009>
- Salunke, B. P., Umathe, S. N., Chavan, J. G. (2015). Behavioral in-effectiveness of high frequency electromagnetic field in mice. *Physiology & behavior*, 140, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.12.019>
- Schumann D.M., Cooper H.M., Hofmeyr M. D., Bennett N.C. (2005) Circadian rhythm of locomotor activity in the four-striped field mouse, *Rhabdomys pumilio*: A diurnal African rodent. *Physiology & Behavior* 85(3), 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.03.024>
- Sherrard, R. M., Morellini, N., Jourdan, N., El-Esawi, M., Arthaut, L. D., Niessner, C., Rouyer, F., Klarsfeld, A., Doulazmi, M., Witczak, J., d'Harlingue, A., Mariani, J., Mclure, I., Martino, C. F., Ahmad, M. (2018). Low-intensity electromagnetic fields induce human cryptochrome to modulate intracellular reactive oxygen species. *PLoS biology*, 16(10), e2006229. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006229>
- Simkó M. (2007). Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects. *Current medicinal chemistry*, 14(10), 1141–1152. <https://doi.org/10.2174/092986707780362835>
- Skvarca J, Aguirre A. (2006) Normas y estándares aplicables a los campos electromagnéticos de radiofrecuencias en América Latina: guía para los límites de exposición y los protocolos de medición. *Rev Panam Salud Pública*. 20(2), 205–12.

- Szemerszky, R., Zelena, D., Barna, I., Bárdos, G. (2010). Stress-related endocrinological and psychopathological effects of short- and long-term 50Hz electromagnetic field exposure in rats. *Brain research bulletin*, 81(1), 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2009.10.015>
- Tagüeña J., Marina E. (1997) De la brújula al Espín: El magnetismo. Fondo de Cultura Económica. 2da Edición. México.
- Tippens, P.E. (2001) Física: Conceptos y Aplicaciones. 6ta Edición. McGraw Hill. USA.
- Toutou Y., Selmaoui, B. (2012). The effects of extremely low-frequency magnetic fields on melatonin and cortisol, two marker rhythms of the circadian system. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. Vol 14. No. 4. 381–399. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2012.14.4/ytoutou>
- Toutou, Y., Coste, O., Dispersyn, G., Pain, L. (2010). Disruption of the circadian system by environmental factors: Effects of hypoxia, magnetic fields and general anesthetics agents. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(9–10), 928-945. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2010.06.005>
- Truong, H., Yellon, S. M. (1997). Effect of various acute 60 Hz magnetic field exposures on the nocturnal melatonin rise in the adult Djungarian hamster. *Journal of Pineal Research*, 22(4), 177-183. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.1997.tb00321.x>
- Túnez-Fiñana, I., Pascual-Leone, A. (Ed) (2014) Campos magnéticos: Usos en la biología y la medicina. Estimulación magnética transcraneal y neuromodulación, Elsevier.
- Van der Harst, J. E., Baars, A. M., Spruijt, B. M. (2003). Standard housed rats are more sensitive to rewards than enriched housed rats as reflected by their anticipatory behaviour. *Behavioural brain research*, 142(1-2), 151-156 [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(02\)00403-5](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(02)00403-5)
- Van der Harst, J. E., Baars, A. M., Spruijt, B. M. (2005). Announced rewards counteract the impairment of anticipatory behaviour in socially stressed rats. *Behavioural brain research*, 161(2), 183-189. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.02.029>
- Vázquez-García M., Reyes-Guerrero G., Domínguez-González, A., Verdugo-Díaz, L., Guevara-Guzmán, R. (2004). Exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields improves social recognition in male rats. *Physiol. Behav.* Vol 82- 4, 685-90. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.06.004>
- Vega J., Vega S. (2014) Electromagnetismo. Grupo Editorial Patria. España.
- Verwey, M., Robinson, B., Amir, S. (2013) Recording and Analysis of Circadian Rhythms in Running-wheel Activity in Rodents. *Journal of Visualized Experiments*, (71), e50186 <https://doi.org/10.3791/50186>
- Willner P. (2016). The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiology of stress*, 6, 78-93. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.08.002>

- Yee, N., Plaßmann, K., Fuchs, E. (2011) Juvenile stress impairs body temperature regulation and augments anticipatory stress-induced hyperthermia responses in rats, *Physiology & Behavior*, 104(3), 408–416. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.04.036>
- Yoo, Y., LaPradd, M., Kline, H., Zaretskaia, M. V., Behrouzvaziri, A., Rusyniak, D. E., Molkov, Y. I., Zaretsky, D. V. (2015). Exercise activates compensatory thermoregulatory reaction in rats: a modeling study. *Journal of applied physiology*, 119(12), 1400-1410. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00392.2015>
- Zecca, L., Mantegazza, C., Margonato, V., Cerretelli, P., Caniatti, M., Piva, F., Dondi, D., Hagino, N. (1998). Biological effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats: III. 50 Hz electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 19(1), 57-66. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1521-186x\(1998\)19:1<57::aid-bem7>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/(sici)1521-186x(1998)19:1<57::aid-bem7>3.0.co;2-3)
- Zhadin, M. N., Deryugina, O. N., Pisachenko, T. M. (1999). Influence of combined DC and AC magnetic fields on rat behavior. *Bioelectromagnetics*, 20(6), 378-386. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1521-186x\(1999\)20:6<378::aid-bem7>3.0.co;2-0](https://doi.org/10.1002/(sici)1521-186x(1999)20:6<378::aid-bem7>3.0.co;2-0)

Anexos

Anexo 1. Curva de concentración para prueba ELISA

