

Review

DOI: 10.2478/v10004-007-0038-y

## DJELOVANJE RADIOFREKVENCIJSKOG ELEKTROMAGNETSKOG ZRAČENJA NA SPERMATOGENEZU U SISAVACA

Martina SUŠA i Ivan PAVIČIĆ

*Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb*

Primljeno u svibnju 2007.

Prihvaćeno u rujnu 2007.

Prema podacima dostupnima javnosti, smatra se da je u Hrvatskoj broj aktivnih mobilnih linija dosegao broj od oko 4 milijuna, dok se u cijelome svijetu taj broj penje na vrtoglave 2 milijarde. Zbog toga se postavlja pitanje djelovanja radiofrekvencijskog (RF) zračenja na zdravlje čovjeka, posebno na reproduktivno zdravlje i eventualne posljedice na zdravlje budućeg potomstva. Svrha ovog članka je pregled dosadašnjih istraživanja utjecaja RF zračenja mobilnih telefona na muški reproduktivni sustav. Neka istraživanja provedena u uvjetima *in vivo* i *in vitro* pokazala su da RF zračenje može utjecati na stanicu i pojedine stanične dijelove. Dio istraživanja je pokazao da RF zračenje može utjecati na reproduktivni sustav sisavaca i na stanice spermatogeneze. Budući da je spermatogeneza u normalnim fiziološkim uvjetima uravnotežen proces diobe, sazrijevanja i pohrane stanica, podložan je i osjetljiv na vanjske podražaje. Posebno osjetljive strukture u stanici su proteini koji čine stanični kostur, odnosno citoskelet. Citoskelet je strukturalni i funkcionalni dio stanice koji, između ostaloga, ima važnu ulogu u pokretanju spermija te sudjeluje u morfološkim i funkcionalnim promjenama stanica tijekom spermatogeneze.

**KLJUČNE RIJEČI:** *citoskelet, mobilna telefonija, neionizirajuće zračenje, reprodukcija, spolne stanice*

Svjedoci smo da se sustavi za mobilnu telekomunikaciju izvanredno brzo razvijaju tijekom posljednjih desetak godina. Prema podacima koje su na svojim internetskim stranicama objavile dvije nacionalne mobilne mreže, Vipnet i T-Mobile, u Hrvatskoj je u 2007. godini broj korisnika mobilne komunikacije narastao na četiri milijuna (1, 2). Broj od četiri milijuna čini se gotovo nevjerojatnim s obzirom da je prema popisu stanovništva iz 2001. broj stanovnika Hrvatske 4,5 milijuna. Najvjerojatnije se radi o "višestrukim korisnicima" koji imaju po nekoliko mobilnih telefona od više operatera. Prema istraživanjima tvrtki 3G Americas i Informa Telecoms & Media, u svijetu danas ima oko dvije milijarde korisnika mobilnih telefona (3). Činjenica je da moderna tehnologija donosi čovječanstvu niz prednosti, pogoduje novim poslovnim pristupima, pridonosi učinkovitosti, i općenito, stvara dojam

boljeg življenja. Ipak, nagli razvitak telekomunikacijske tehnologije, posebice mobilne telefonije diljem svijeta potaknuo je stvaranje svijesti šire javnosti o pojavi sve prisutnijeg onečišćenja okoliša elektromagnetskim (EM) zračenjima. Elektromagnetskom smogu bitno pridonose novostvoreni izvori neionizirajućeg zračenja; moderna aparatura koja djeluje u radiofrekvencijskom pojasu (RF) EM zračenja. Svjetski autoriteti koji smatraju da još nema razloga za brigu oko opasnosti za zdravlje čovjeka, ipak potiču i podupiru istraživanja u području bioelektromagnetizma (4-6). Valja istaknuti da se danas vrlo malo zna o posljedicama dugotrajne izloženosti ljudi neionizirajućim zračenjima niskog intenziteta. Prilika za provođenje epidemiološke studije o posljedicama dugotrajne izloženosti ljudi neionizirajućem zračenju niskog intenziteta ostvarit će se za nekoliko desetaka godina. Naime, dugotrajnom izloženošću smatramo doživotnu izloženost, jer je to

očito neizbježna stvarnost za svakog od nas. Sljedeće pitanje koje se može i mora postaviti jest pitanje u kojoj bi mjeri neionizirajuća zračenja mogla djelovati na reproduksijski sustav jedinke te indirektno utjecati na zdravlje potomstva.

Svrha ovog teksta je pregled dosadašnjih istraživanja utjecaja RF zračenja na muški reproduksijski sustav i njegovu funkcionalnost.

## UZAJAMNO DJELOVANJE RF EM ZRAČENJA I BILOŠKOG SUSTAVA

Sustavi mobilne telefonije koriste se neionizirajućim područjem ultravisokih frekvencija u rasponu od 800 MHz do 2300 MHz u RF području. Antene za osobni komunikacijski sustav u kombinaciji s elektroničkom opremom čine baznu postaju. Signal iz bazne postaje je usmjeren prema obzoru u razmjerno tankom prstenu oko antene koja je obično postavljena na povišeno mjesto u prirodi i/ili naselju. Kao sve vrste elektromagnetske energije, intenzitet snage zračenja odašiljača opada u odnosu na udaljenost od antene. Izvor električnog polja jest električni naboj. To je polje djelotvorno u određenom prostoru i ima sposobnost djelovanja na druge električne naboje. Pokretanje tih naboja proizvodi električnu struju koja stvara magnetsko polje. Dakle, elektromagnetsko zračenje je tok energije kroz prostor uzrokovan odašiljanjem elektromagnetskih valova iz nekog izvora. EM val se sastoji od električne i magnetske komponente koje se periodički šire prostorom, a ponajprije je određen frekvencijom i amplitudom. EM zračenje nosi energiju i moment koji se mogu predati materiji prilikom njihove interakcije (7).

Živi organizmi sadržava mnoštvo iona, proteina i membrana. Gotovo sve interakcije bioloških molekula su u osnovi električne prirode. Kako EM polje djeluje na električne naboje, velika je vjerojatnost da može mijenjati i neke biološke funkcije. Uz to što su komponente bioloških sustava, ioni i molekule, polarne strukture, one su istodobno u neprekidnom, spontanom, uravnoteženom gibanju. Poznato je također da je djelovanje vanjskog elektromagnetskog polja moguće primijetiti kad je biološki sustav rezonantno osjetljiv (8). Makromolekularne polarne strukture, proteini imaju veći afinitet prema zračenjima niskog intenziteta, odnosno netermogenim razinama zračenja. U skladu s time, netermalnim se učincima smatraju mjerljive promjene u biološkim sustavima

izloženim RF polju čija je energetska razina ispod one koja izaziva zagrijavanje i značajno povišenje tjelesne temperature (5).

Pri prolasku radiofrekvencijskih valova kroz biološki sustav može doći do transmisije vala, njegove refrakcije, refleksije, rasapa ili apsorpcije. Apsorbirana energija RF zračenja može se pretvoriti u druge oblike energije, na primjer toplinsku. Ovisno o frekvenciji i intenzitetu, ovakva zračenja djeluju na izloženi sustav mijenjajući spinska stanja jezgara ili elektrona, rotacijska ili vibracijska stanja molekula, odnosno djelujući na translacijska gibanja malih molekula (4, 9-11). Mjera apsorbirane energije u tkivima izražena je kao specifična brzina apsorpcije energije (SAR) po određenoj masi tkiva, a izražava se kao vat po kilogramu ( $W\ kg^{-1}$ ) (5, 12). Temeljnim istraživanjima je utvrđeno da 30-minutna izloženost zračenju SAR-a do  $4\ W\ kg^{-1}$  rezultira povišenjem temperature jedinke za  $1\ ^\circ C$  i više, što nadmašuje termoregulacijske procese i vodi u termalni učinak neionizirajućeg zračenja (5). Koliko su ta istraživanja bila važna govori činjenica da je rezultat deset puta umanjen i uvršten u gotovo sve zakone o zaštiti od neionizirajućeg zračenja. Prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije maksimalno dopuštena razina zračenja za ljudski organizam određena je vrijednošću SAR-a  $0,4\ W\ kg^{-1}$  u uvjetima profesionalne izloženosti i  $0,08\ W\ kg^{-1}$  u uvjetima opće izloženosti (4). Maksimalno dopuštene razine zračenja su netermogene razine koje zasigurno ne izazivaju povišenje temperature u ciljnom tkivu. Upute za uporabu mobilnih telefona raznih proizvođača navode procijenjene vrijednosti SAR-ova. SAR-ovi koje stvaraju mobilni telefoni na lokalnoj razini kreću se u prosjeku od  $0,1\ W\ kg^{-1}$  do  $2\ W\ kg^{-1}$ , ovisno o radnoj frekvenciji, modulaciji signala i izlaznoj snazi samog uređaja. Poznato je da SAR-ovi tih vrijednosti ne uzrokuju značajno povišenje temperature u ciljnom tkivu, pa se vjeruje da ne postoji opasnost za zdravlje od zračenja koja emitiraju mobilni telefoni (5).

Ipak, istraživanja u ovom znanstvenom području su pokazala da postoje uvjerljivi dokazi da RF zračenje može imati netermogeni biološki potencijal te djelovati na molekularnoj razini u interakciji s nabijenim unutarstaničnim polimernim strukturama. Eksperimentalnom potvrdom ili odbacivanjem hipoteze o rezonantno vibrirajućim polarnim unutarstaničnim polimerima u radiofrekvencijskom okružju uvjerljivo bi se pridonijelo procjeni utjecaja RF zračenja na reproduksijski sustav sisavaca.

## DJELOVANJE RF EM ZRAČENJA NA SPERMATOGENEZU U SISAVACA

### *Spermatocyte - potencijalno osjetljive stanice na RF EM zračenje*

Zametno ili germinativno tkivo spolnog sustava u sisavaca je tkivo u kojem se u stalnim procesima odvija proliferacija, maturacija, diferencijacija i pohrana zrelih spolnih stanica. Spermatoogeneza je proces koji je u normalnim fiziološkim uvjetima u neprekidnom uravnoteženom tijeku, koji uključuje diobu, sazrijevanje i pohranu stanica. Poznato je da je tako proliferativan sustav i pripadajuće stanice u svim razvojnim stadijima znatno osjetljiviji na vanjske podražaje od sustava s visoko ili čak konačno diferenciranim stanicama. Posebno osjetljive i podložne oštećenjima mogle bi biti spolne stanice tijekom diobe kad im je genski materijal rahlo pakiran ili dekoncentriran. Također, krajnje diferencirane spermalne stanice odnosno zreli spermiji pokazuju visok stupanj osjetljivosti na vanjske fizikalne i kemijske utjecaje u trenutku kad napuštaju tkivo testisa. Naime, u testisu su spermatocyte okružene Sertolijevim stanicama čija je zadaća štitiiti vulnerabilne stanice tijekom spermatoogeneze. U postmeiotičkoj fazi spermioogeneze stanice gube sposobnost popravka deoksiribonukleinske kiseline (DNA) i velik dio citoplazme s pripadajućim antioksidativnim enzimima. Da izlaganje miševa netermogenom RF zračenju (900 MHz, SAR 0,3 W kg<sup>-1</sup> do 1,5 W kg<sup>-1</sup>) 12 sati na dan tijekom sedam dana može oštetiti mitohondrijsku i jezgenu DNA mišjih spermija u fazi prolaska kroz epididimis, pokazali su Aitken i suradnici (13). Pogreške u strukturi DNA u ovoj fazi spermatoogeneze stvaraju mutacije koje mogu osjetno poremetiti embriogenezu i zdravlje potomaka.

### *Stadiji u procesu spermatoogeneze*

Spermatoogeneza je proces proliferacije i diferencijacije zametnih stanica unutar sjemenih kanalića testisa, kojom nastaju haploidni i slobodno pokretni spermiji. To je jedan od najproduktivnijih samoobnavljajućih procesa u organizmu. Spermioogeneza je, dakle, složen i precizan morfogogenetski slijed strukturalnih i funkcionalnih promjena koje u konačnici rezultiraju nastankom zrelih spolnih stanica. Uvelike određena funkcijom Sertolijevih stanica spermatoogeneza ovisi o složenim endokrinim, autokrinim i parakrinim procesima i direktnoj međustaničnoj interakciji (14-16). Međutim, točni molekularni mehanizmi regulacije međusobnog djelovanja somatskih i germinativnih

stanica u testisima koji bi razjasnili cjelokupni fiziološki proces spermatoogeneze još nisu dovoljno istraženi i objašnjeni. Franča i sur. su pokazali da same germinativne stanice reguliraju vrijeme trajanja stanične proliferacije i staničnu diferencijaciju u procesu spermatoogeneze. Autori su naime našli da se ciklus spermatoogeneze vremenski nije promijenio kada su zametne stanice štakora transplantirali i kultivirali u sjemenim kanalicima neplodnih, imunodeficientnih miševa (17).

Spermatoogenezu kontrolira neuroendokrini sustav putem hormona koji se izlučuju iz hipotalamusa i hipofize. Hipotalamus luči hormon koji oslobađa gonadotropne hormone (GnRH) koji potiču lučenje folikulo stimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) iz prednjeg režnja hipofize. Oba hormona pak potiču lučenje testosterona i proliferaciju Sertolijevih stanica. Hormoni testosteron i FSH su nužni za normalan tok spermatoogeneze (14). FSH stimulira proliferaciju spermatogonijalnih stanica, dok testosteron potiče dozrijevanje spermataida i nastanak spermija. Oba hormona pomažu opstanak germinativnih stanica tako što sprečavaju apoptozu (14, 15, 18). Osim regulacije od strane endokrinog sustava, spermatoogeneza je regulirana mnoštvom složenih međustaničnih interakcija kao što su interakcije između peritubularnih i Sertolijevih stanica, Sertolijevih i germinativnih stanica, germinativnih i germinativnih stanica. U proces je uključeno mnoštvo citokina, faktora rasta, enzima, transportnih proteina, adhezijskih molekula i drugih regulacijskih faktora (16). Dakle, spermatoogeneza je fiziološki proces složenog uzajamnog djelovanja raznih čimbenika čiji mehanizam još nije potpuno poznat. Ohrabruje što neke studije provedene u uvjetima *in vitro* govore u prilog mogućnosti kultiviranja pojedinih razvojnih stadija stanica spermatoogeneze i stvaranja uvjeta specifičnih za preživljavanje i proliferaciju germinativnih stanica *in vitro* (18-25).

Spermatoogeneza se zbiva u sjemenim kanalicima fertilnih muških jedinki. Sjemeni kanalići sadržavaju stanice zametnog epitela ili tzv. spermatogonije, koje su smještene u dva do tri sloja uz vanjski rub epitela kanalića. Stanice zametnog epitela u stalnoj se diobi obnavljaju, a neke od njih postaju zrele, krajnje diferencirane spermalne stanice. Diferencijacija stanica se zbiva u nekoliko razvojnih stadija:

(1) Mitotski proces spermatocitogeneze predstavlja proliferaciju i diferencijaciju spermatogonijalnih zametnih stanica do diploidnih spermatogonija i primarnih spermatocita.

(2) Mejotski proces je razvojni stadij koji teče u dva stupnja; mejoza I i mejoza II. Mejoza I omogućuje da redukcijom diobom iz diploidnih, primarnih spermatacita nastanu sekundarne spermatoците. U mejozi II nastaju okrugle, haploidne spermatoците.

(3) Spermioģeneza uključuje sazrijevanje i morfološke promjene okruglih spermatoциda u slobodne pokretljive spermalne stanice karakterističnoga bičastog oblika.

Oblik spermija može biti specifičan za vrstu, ali se uvijek sastoji od dva specifična funkcionalna dijela: glave i repa. U glavi spermija nalazi se jezgra s gusto pakiranim genskim materijalom te tanki sloj citoplazme okružen staničnom membranom. Citoplazmu prožima mreža aktinskih filamenata koji se po potrebi mogu brzo polimerizirati ili depolimerizirati. Repni dio spermija sadrži središnji kostur sastavljen od snopa mikrotubula odnosno aksonemu odgovornu za bičasto pokretanje stanice.

Spermatogenetski ciklus je vrijeme potrebno da proteknu svi razvojni stadiji od zametnih stanica do zrelih spermija - proliferacija, maturacija, diferencijacija. To je vrijeme jedinstveno i nepromjenjivo za svaku pojedinu vrstu sisavaca; kod čovjeka ciklus traje 64 dana, kod štakora 12,9-13 dana, kod miša 8,6 dana. U skladu s time i trajanje pojedine faze ciklusa spermatogeneze određeno je i uvijek jednako za pojedinu vrstu (26).

## PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA UTJECAJA RF EM ZRAČENJA NA REPRODUKCIJSKI SUSTAV SISAVACA

Do sada su objavljeni rezultati raznih studija o utjecaju RF EM zračenja na živu jedinku u uvjetima *in vivo* i *in vitro*. Valja istaknuti niz rezultata dobivenih nakon izlaganja cijelog tijela štakora RF EM zračenju frekvencije 2,45 GHz i SAR-u od  $1,25 \text{ W kg}^{-1}$  koji su obuhvatili gotovo sve stanice hematopoetskog sustava uključujući koštanu srž, periferni optok i populaciju slobodnih plućnih stanica. U istraživanjima je obuhvaćena kinetika sazrijevanja stanica koštane srži te uvid u pripadajuće parametre u perifernoj krvi. Intermitentni nalaz mikronuklearnih stanica upućivao je na mogućnost reverzibilnog djelovanja odabranog zračenja na makromolekularnoj staničnoj razini (27-31). U kroničnom izlaganju miševa frekvencijama 2,45 MHz, 20 sati na dan, 7 dana u tjednu tijekom 18 mjeseci, nađena je značajno povišena incidencija stanica s mikronukleusom u koštanoj srži i perifernoj

circulaciji. Iako se rezultat statistički značajno razlikovao od rezultata koje je dala odgovarajuća kontrolna skupina životinja, autori povećanje od 0.05 % nisu smatrali biološki važnim (32, 33). Čini se pravednim primijetiti da je više studija koje su uključivale *in vivo* istraživanja genotoksičnog djelovanja RF zračenja upućivalo na negativne nego li na pozitivne rezultate. Literaturni podaci o istraživanjima *in vitro* obuhvaćaju širok raspon staničnih pokazatelja koje su istraživači pratili nakon izlaganja kultura kontroliranim uvjetima zračenja. Pokazano je da izlaganje stanica trajne kulture frekvencijama mobilne telefonije utječe na kinetiku rasta stanica ovisno o duljini zračenja te može uzrokovati strukturne promjene na razini genskog materijala (34, 35). Nalazi, pak, koje je objavila skupina istraživača iz 2001. god. nisu podržali mogućnost citogenetskog djelovanja mikrovalova frekvencije 900 MHz. Dalje, zračenje radiofrekvencija 836,55 MHz nije utjecalo na sintezu DNA i diobenu sposobnost primarne kulture glija-stanica (36, 37). Ipak je velika vjerojatnost da RF EM zračenje može utjecati na polimerizaciju ili depolimerizaciju polarnih staničnih proteinskih struktura u kojima prevladavaju unutarnje elektrostatske sile. Ovisno o dipolnim momentima, utjecaj vanjskog električnog polja može teoretski poremetiti konstantu ravnoteže i učiniti posebno ranjivim odnos nastajanja i razgradnje proteinske mreže staničnog kostura (38-40). Sudeći prema obilju literature koja govori o mogućnostima djelovanja neionizirajućeg zračenja na staničnoj i molekularnoj razini, ovo znanstveno područje se svakako treba proširivati proučavanjem bioloških pokazatelja učinka i izloženosti *in vitro* uporabom radioosjetljivih staničnih linija.

Dosadašnje studije o utjecaju radiofrekvencija mobilne telefonije na reprodukciju i/ili embriogenezu i zdravlje potomstva daju zbunjujuće rezultate jer jedan dio istraživanja pokazuje da RF zračenja mogu imati štetan učinak na reprodukciju, a drugi dio istraživanja ide u prilog negativnim rezultatima (41-49). Dobiveni rezultati istraživanja nisu bili jednoznačni i komparabilni zbog toga što su se rabile različite metodologije u različitim eksperimentalnim uvjetima. To više iznenađuje činjenica da je publicistika o istraživanjima utjecaja RF EM zračenja na reproduktivne organe i tkiva te procese koji se u njima zbivaju vrlo štura.

Prema podacima dostupnim iz literature, neka od prvih istraživanja utjecaja RF zračenja na funkcionalnost reproduktivnog sustava rodenata počela su još 70-ih godina prošlog stoljeća. Većina istraživanja se bazirala na praćenju histoloških promjena u tkivu

testisa te na praćenju promjena u ukupnom broju spermija i njihovoj morfologiji, kako bi se mogao donijeti zaključak o utjecaju RF zračenja na testise i njihovu funkciju. Tako su Haidt i McTighe miševe izložili zračenju od 2,45 GHz iz RF generatora 4 sata na dan tijekom 60 dana. Histopatološke promjene tkiva testisa su opisane, ali su vrlo slabo kvantificirane i kategorizirane (50). Godine 1975. su Varma i Traboulary pokazali da je RF zračenje od 1,7 GHz ( $50 \text{ mW cm}^{-2}$ ) u trajanju od 30 do 40 minuta izazvalo značajnu degeneraciju epitela sjemenih kanalića u miša (51). Pokus su ponovili Saunders i Kowalczuk te su potvrdili rezultate koje su dobili Varma i Traboulary (48). Međutim, istraživanje koje su proveli Cairnie i Harding te McRee i sur. nije pokazalo značajne histološke promjene u tkivu testisa miša te broju i morfologiji spermija između kontrolne skupine životinja i skupine koja je bila izložena RF zračenju od 2,45 GHz u trajanju od 30 dana (52, 53). Lebovitz i Johnson su svojim istraživanjem pokazali da izlaganje štakora RF zračenju frekvencije 1,3 GHz i SAR-u od  $9 \text{ W kg}^{-1}$  tijekom 9 dana, po 6 sati na dan nije utjecalo na dnevnu proizvodnju sjemena, na broj spermija u epididimisu, morfologiju spermija i na funkcionalnost testisa štakora. Životinje su bile izložene termogenoj razini RF zračenja što je rezultiralo povišenjem rektalne temperature do  $4,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Međutim, bez obzira na evidentno povišenje temperature nije pronađen negativan učinak na funkcionalnu sposobnost testisa (54). Mora se reći da su neuvjerljivi rezultati naveli na pogrešan zaključak kako povišenje tjelesne temperature za  $4,5 \text{ }^\circ\text{C}$  ne narušava funkcionalnost testisa. Testisi su, naime, vrlo osjetljivi na povišenje tjelesne temperature koja nepovoljno djeluje na njihovu funkcionalnu sposobnost. Poznato je da se povišenjem temperature samo za  $1 \text{ }^\circ\text{C}$  iznad normalne tjelesne temperature proces spermatogeneze kod sisavaca može usporiti ili čak potpuno zaustaviti. Cleary je pokazao da RF zračenje smanjuje fertilitet spermalnih stanica u sisavaca. Nalaz je pripisan sinergističkom učinku zračenja i topline (55). Dasdag i sur. su pokazali da zračenje mobilnih telefona frekvencija 890 MHz do 915 MHz i SAR-a  $0,141 \text{ W kg}^{-1}$  na opciji razgovora 3 puta po 1 minutu tijekom 2 sata na dan u mjesec dana utječe na histologiju testisa, što je uz smanjenje promjera sjemenih kanalića uključilo i sporiji proces spermatogeneze (56). Pokus je proveden u netermogenim uvjetima zračenja, što znači da uz procijenjeni SAR od  $0,141 \text{ W kg}^{-1}$  nikako nije moglo doći do povišenja tjelesne temperature za  $1 \text{ }^\circ\text{C}$  ili više. Iako autor pripisuje rezultate biološki neznačajnom

povišenju rektalne temperature od  $0,38 \text{ }^\circ\text{C}$ , termalni učinak nije vjerojatan. Nekoliko godina kasnije isti su autori objavili da izloženost štakora moduliranom zračenju četiriju komercijalno dostupnih aparata na opciji razgovora istih RF frekvencija; 890 MHz do 915 MHz i SAR-u  $0,52 \text{ W kg}^{-1}$ , nije utjecala na funkcionalnost testisa nakon zračenja od 20 minuta na dan tijekom mjesec dana (47). Dvije su studije provedene u razmaku od pet godina, a razlikovale su se u uvjetima provedbe pokusa. Naime, u studiji iz 2003. godine procijenjeni SAR je iznosio  $0,52 \text{ W kg}^{-1}$ , zračenje je trajalo 20 min na dan tijekom 30 dana, dok je u ranijoj studiji SAR iznosio  $0,141 \text{ W kg}^{-1}$ , a životinje su bile zračene 3 puta po 1 minutu tijekom 2 sata na dan u mjesec dana. Iako je izlaganje u studiji iz 2003. dulje trajalo, a vrijednost SAR-a bila viša u odnosu na vrijednost iz ranije studije, nije nađen učinak na reproduktivni sustav štakora za razliku od značajnih promjena objavljenih u radu iz 1999.

Posljedicom termalnih učinaka RF zračenja svakako se može smatrati nastajanje reaktivnih kisikovih radikala. Za njih je, naime, pokazano da mogu uzrokovati programiranu staničnu smrt, odnosno apoptozu germinativnih stanica tkiva testisa te tako usporiti ili zaustaviti proces spermatogeneze (57). Sun i Jurisicova su 1997. godine pokazali da reaktivni kisikovi radikali uzrokuju fragmentaciju DNA u spermalnim stanicama tako da blokiraju protaminaciju (58). Protaminacija je proces kojim se omogućuje da se genski materijal spermalnih stanica gušće pakira kako bi njegov volumen bio što manji, što je bitno za diferencijaciju glave spermija. Naime, protaminacijom se histoni, proteini koji stabiliziraju DNA u somatskim stanicama, zamjenjuju pozitivno nabijenim protaminima. Posljedica narušene protaminacije u spermalnim stanicama u epididimisu mogla bi biti smanjena pokretljivost spermija (58, 59). Međutim, ako zračenje ne izaziva povišenje temperature u ciljnom tkivu, odnosno razina zračenja je netermogena, vjerojatnost nastajanja reaktivnih kisikovih radikala koji bi mogli utjecati na proces spermatogeneze je smanjena. Uz to, važan hormon koji sprečava nastanak radikala kisika je melatonin, antioksidans koji štiti stanice mozga, jetre, mrežnice pa čak i ljudske spermije od lipidne peroksidacije (60, 61). Melatonin sudjeluje i u regulaciji lučenja testosterona (62-64). Burch i sur. su pokazali da je u urinu osoba koje rabe mobilni telefon više od 25 minuta na dan smanjena razina spoja 6-hidroksimelatonin-sulfata (6-OHMS), urinarnog metabolita melatonina, što upućuje na smanjenu proizvodnju melatonina (65). U skladu s

time je studija Jarupata i sur., čiji su rezultati pokazali smanjenu proizvodnju melatonina u slini ljudi koji su se kontrolirano koristili mobilnim telefonom po 30 minuta svakog sata od 19.00 do 01.00 sat. Aparati su radili na frekvenciji 1,96 GHz, a prosječni SAR cijelog tijela se kretao između  $0,453 \text{ W kg}^{-1}$  do  $0,680 \text{ W kg}^{-1}$  (66). Novija istraživanja nisu pokazala značajne razlike u broju spermija, histopatološkoj analizi tkiva testisa, lipidnoj peroksidaciji i razini testosterona kod štakora zračenih 1 sat na dan tijekom 11 tjedana pulsanim moduliranim frekvencijama između 1,835 MHz i 1,850 MHz te jakosti polja  $7,3 \text{ V m}^{-1}$ . Podaci o SAR-u nisu objavljeni, jer je snaga mobilnih telefona izuzetno varirala tijekom poziva (67). Ozguner i sur. zračili su štakore frekvencijom od 900 MHz 30 min na dan, 5 dana na tjedan tijekom mjesec dana. Rezultati su pokazali znatno smanjenje promjera sjemenih kanalića i debljine zametnog epitela te ukupne razine hormona testosterona u serumu. Autori su posumnjali da bi morfološke promjene u tkivu testisa mogle biti posljedica poremećaja hormonalne ravnoteže uzrokovane zračenjem (68). Da je došlo do promjene u razini hormona testosterona nakon RF zračenja od 1800 MHz i SAR-a između  $0,018 \text{ W kg}^{-1}$  i  $0,023 \text{ W kg}^{-1}$ , pokazala je nedavno grupa mađarskih znanstvenika. Ustanovili su povećanu razinu testosterona u serumu miševa izloženih zračenju 2 sata na dan tijekom 10 dana, dok histopatološke promjene u tkivu testisa nisu našli (69). Neki autori pretpostavljaju da RF zračenje mobilnih telefona djeluje ponajprije na neuroendokrini sustav, a uočeni učinci na reproduksijski sustav mogli bi se objasniti kao indirektna posljedica. U velikoj mjeri to se odnosi na hipotalamus i hipofizu koji, između ostalih, luče hormone važne za normalan tok spermatogeneze. Narušeno lučenje FSH i LH odražava se na normalan tok procesa u reproduksijskom tkivu (69, 70). Suprotno tomu, de Seze i sur. su pokazali da dugotrajna upotreba mobilnih telefona nije uzrokovala promjene u lučenju hormona iz hipofize, uključujući FSH i LH. Razinu testosterona pri tome nisu mjerili (46). Slijedom toga moglo bi se zaključiti da novija istraživanja koja su provedena na malim glodavcima govore u prilog slabim učincima RF zračenja mobilnih telefona na većinu istraživanih parametara reproduksijskog sustava.

Kad je riječ o elektromagnetskom onečišćenju okoliša, zdravlje i dobrobit ljudi moraju biti bitne odrednice primijenjenih istraživanja u području bioelektromagnetizma. Zato se u ovom preglednom članku svakako mora naglasiti posebno zabrinjavajuća činjenica da je u proteklom desetljeću zabilježen

porast neplodnih parova reproduksijske dobi. Danas, oko 15 % parova ima poteškoća s plodnošću s time da problem ima tendenciju rasta u cijelom svijetu. Pojedini podaci iz literature ukazuju na mogući pad kvalitete sjemena kod ljudi tokom zadnjih 50 do 60 godina (71-76). U preglednom članku Carlsena i sur. analizirana je 61 studija s ukupnim brojem od 14947 fertilnih muškaraca te je pokazano da je u periodu od 1938. do 1990. godine došlo do značajnog smanjenja koncentracije spermija sa 113 milijuna na 66 milijuna spermija po mililitru sjemene tekućine i ukupnog volumena sjemena s 3,40 mL na 2,75 mL (71). Auger i sur. također su primijetili smanjenje koncentracije spermija kod zdravih muškaraca koji su donirali sjeme za banku sperme u Parizu u periodu od 1973. do 1992. godine (72). Studija provedena u Francuskoj pokazala je da postoje velike razlike u gustoći sjemena između pojedinih regija (73). U velikom broju slučajeva bračne neplodnosti, kod muškog partnera postoje promjene u spermogramu gdje je uvršteno smanjenje volumena sjemene tekućine, broja spermija i njihove pokretljivosti (77, 78). U otprilike 30 % slučajeva muške neplodnosti nije jasan uzrok smanjenja plodnosti te se takav oblik neplodnosti naziva idiopatska neplodnost (78). Poznato je da razna kemijska i fizikalna onečišćenja, toplina, stresan i neuredan način života mogu utjecati na kvalitetu sjemena (77). Bilo bi dobro saznati mogu li se ti rezultati povezati sa sve većim onečišćenjem okoliša neionizirajućim elektromagnetskim zračenjima koja potječu iz umjetnih izvora. Tako je istraživanje Fejesa i sur. bilo usmjereno na moguću povezanost između uporabe mobilnih telefona i smanjenja kvalitete sjemena kod ljudi. U studiji je sudjelovao 371 muškarac koji se obratio za pomoć zbog neplodnosti. Kod njih nije bilo poremećaja u funkcioniranju reproduksijskog sustava te nisu imali loših životnih navika kao što su pijenje alkohola, pušenje cigareta i uzimanje droga. Autori su našli osjetno smanjenje pokretljivosti spermija u odnosu na duljinu posjedovanja aparata i učestalost njegove uporabe tijekom dana. Uporabom kategorizacije Svjetske zdravstvene organizacije zapaženo je da se omjer između brzo progresivno pokretljivih spermija i sporije progresivno pokretljivih spermija promijenio u odnosu na normalne fiziološke vrijednosti. Nađen je značajno povećan broj sporije progresivno pokretljivih spermija. Rezultati studije su autore naveli na zaključak da bi se učinak zračenja mogao akumulirati te da bi dugotrajna upotreba mobilnih telefona mogla imati negativan utjecaj na pokretljivost spermija (70, 78).

## CITOSKELET SPERMIIJA

Ako radiofrekvencijsko zračenje pridonosi smanjenju pokretljivosti spermija, onda istraživanja treba usmjeriti na molekularnu razinu stanice, posebice na polarne makromolekularne strukture organizirane u unutarstaničnu proteinsku mrežu staničnog kostura - citoskeleta. Mikrotubuli i mikrofilamenti su dijelovi citoskeleta koji su odgovorni za staničnu pokretljivost, što se posebno odnosi na spermalne stanice. Mikrotubuli su polarne visokodinamične strukture koje su uključene u stanični transport, određuju oblik i polarnost stanice te su aktivno uključeni u proces razdvajanja sestrinskih kromatida tijekom mitoze. Uz to, konfiguracija mikrotubula se mijenja tijekom staničnog ciklusa te se preuređuje za vrijeme spermiogeneze. Mikrofilamenti koji se sastoje od aktina rasprostranjeni su cijelom unutrašnjosti stanice. U normalnim fiziološkim uvjetima citoskelet se stalno reorganizira te se nalazi u stanju dinamičke ravnoteže. Odgovoran je za gotovo sve životne funkcije stanice uključujući održavanje oblika, pokretanja, metabolizma i diobe stanice (79). Uz to je važno naglasiti da je citoskelet intracelularna struktura koja je vrlo osjetljiva na vanjske podražaje. Za oštećenja koja nastaju prilikom reorganizacije citoskeleta smatra se da bi mogla biti odgovorna za nastajanje abnormalnih oblika i smanjenu pokretljivost spermija.

Stanični kostur je aktivno uključen u morfološke i funkcionalne promjene koje se događaju tijekom spermiogeneze kod sisavaca gdje je uključena raspodjela genskog materijala između stanica kćeri tijekom obiju staničnih dioba; mitoze i mejoze (80). Pretpostavlja se da aktin, koji je dio mikrofilamenata, sudjeluje u akrosomskoj reakciji (81-84) i oblikovanju glave spermija prilikom sazrijevanja (85). Poznato je da su intenzivno proliferativni slojevi germinativnog epitela osjetljiviji na vanjske utjecaje od ostalih dijelova u kojima se zbiva sazrijevanje stanica. Smatramo da bi na neionizirajuća zračenja posebno mogle biti osjetljive stanice zametnog epitela i spermatocite koje su u neprestanoj proliferaciji i diferencijaciji.

Citoplazmu spermatogonija i spermatocita prožimaju mikrofilamenti koji se po potrebi mogu brzo polimerizirati i depolimerizirati. Proces polimerizacije i depolimerizacije je uvjetovan električnim nabojem linearnih polimera ili vlakana, koji su na jednom kraju pozitivno, a na drugom negativno nabijeni. Budući da je električni naboj osobina svakog pojedinog vlakna, prema logičnom slijedu fizikalnih zakonitosti polarne proteinske strukture stvaraju vlastito elektromagnetsko

polje. Strukture citoskeleta kojima je svojstven električni dipolni moment zadovoljavaju temeljne uvjete za pobuđivanje vibracija i stvaranje internog oscilirajućeg električnog polja određenog frekvencijskog područja (38). Stoga fenomen "fizikalne rezonancije" kao odgovor na vanjsko EM polje postaje vjerojatan. Fenomen može pojasniti pojavu bioloških učinaka koje izazivaju samo određene frekvencije vanjskoga radiofrekvencijskog zračenja. Vanjsko RF polje, dakle, ekscitira polarne strukture mikrotubula stvarajući mehaničke vibracije koje u konačnici mogu rezultirati mjerljivim biološkim učinkom. Pretpostavimo li da radiofrekvencijsko zračenje može djelovati na citoskelet spermalnih stanica, velika je vjerojatnost da bi se to u konačnici moglo odraziti na funkcionalnost reproduktivnog sustava.

## Zahvala

Autori srdačno zahvaljuju dr. sc. Ivančici Trošić na nesebičnoj i svestranoj pomoći tijekom pisanja ovog rada. Rad je napisan za projekt "Biološki pokazatelji djelovanja elektromagnetskog neionizirajućeg zračenja" (br. 022-0222411-2406) koji podupire Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

## REFERENCE

1. Vipnet. Vipnet kratko [pristup 10. travnja 2007]. Dostupno na <http://www.vipnet.hr/cw/show?idc=8748781&idnews=291479>.
2. T-Mobile. O T-Mobile HR. [pristup 10. travnja 2007]. Dostupno na <http://www.t-mobile.hr/0/00-00-00-00-00.asp>.
3. Mah E. GSM users to reach 2 billion mark in June. 2006. [pristup 10. travnja 2007]. Dostupno na <http://www.digitimes.com/news/a20060614PR201.html>.
4. World Health Organization (WHO). Electromagnetic Fields (300 Hz to 300 GHz). Geneva: World Health Organization; Environ Health Criteria 137; 1993.
5. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). Health Phys 1998;74:494-522.
6. Bernhardt JH, Vogel E. Electromagnetic fields; biophysical interaction mechanisms. U: Matthes R, urednik. Proceedings of the third international

- non-ionizing radiation workshop of the International Commission on Non-ionizing Radiation Protection. 22.-26. travnja 1996.; Munchen, Njemačka. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection; 1996. str. 230-44.
7. Hilyard NC, Biggin HC, urednici. Fizika za biologe. 2. izd. Zagreb: Školska knjiga; 1989.
  8. Independent Expert Group on Mobile Phones (IEGMP). Mobile phones and health. [pristup 25. travnja 2007.] Dostupno na <http://www.iegmp.org.uk>
  9. Fröhlich H. Long-range coherence and energy storage in biological systems. *Int J Quantum Chem* 1968;2:641-9.
  10. Pokorný J, Jelínek F, Trkal V, Šrobár F. Vibration in microtubules. U: Bersam F, urednik. Electricity and magnetism in biology and medicine; Bologna: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1999. str. 967-70.
  11. Brnjas-Kraljević J., urednik. Fizika za studente medicine - Struktura materije i dijagnostičke metode. Zagreb: Medicinska naklada; 2001.
  12. Hyland GJ. Physics and biology of mobile telephony. *Lancet* 2000;356:1833.
  13. Aitken RJ, Bennetts LE, Sawyer D, Wiklendt AM, King BV. Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *Int J Androl* 2005;28:171-9.
  14. Zirkin BR. Spermatogenesis: ist regulation by testosterone and FSH. *Semin Cell Dev Biol* 1998;9:412-22.
  15. McLachlan RI, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, de Kretser DM, Pratis K, Robertson DM. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. *Recent Prog Horm Res* 2002;57:149-79.
  16. Russell LD, Griswold MD, urednici. The Sertoli Cell. Clearwater. Florida: Cache River Press; 1993.
  17. França LR, Ogawa T, Avarbock MR, Brinster RL, Russell LD. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol Reprod* 1998;59:1371-7.
  18. McLachlan RI, Wreford NG, O'Donnell L, de Kretser DM, Robertson DM. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. *J Endocrinol* 1996;148:1-9.
  19. Skinner MK. Cell-cell interactions in the testis. *Endocr Rev* 1991;12:45-77.
  20. Verhoeven G, Hoeben E, De Gendzt K. Peritubular cell-Sertoli cell interactions: factors involved in PmodS activity. *Andrologia* 2000;32:42-5.
  21. Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:435-62.
  22. Fujioka H, Fujisawa M, Tatsumi N, Kanzaki M, Okuda Y, Okada H, Arakawa S, Kamidono S. Sertoli cells inhibited apoptosis of pachytene spermatocytes and round spermatids. *Endocr Res* 2001;27:75-90.
  23. Yan W, Souminen J, Toppari J. Stem cell factor protects germ cells from apoptosis in vitro. *J Cell Sci* 2000;113:161-8.
  24. Pentikainen V, Erkkila K, Suomalainen L, Parvinen M, Dunkel L. Estradiol acts as a germ cell survival factor in the human testis in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2057-67.
  25. Parks JE, Lee DR, Huang S, Kaproth MT. Prospects for spermatogenesis in vitro. *Theriogenology* 2003;59:73-86.
  26. De Rooij DG. Stem cells in the testis. *Int J Exp Pathol* 1998;79:67-80.
  27. Trosic I, Busljeta I, Modlic B. Investigation of the genotoxic effect of microwave irradiation in rat bone marrow cells: *in vivo* exposure. *Mutagenesis* 2004;19:361-4.
  28. Dasdag S, Zulkuf Akdag M, Ayyıldız O, Demirtas OC, Yayla M, Sert C. Do cellular phones alter blood parameters and birth weight of rats? *Electromagn Biol Med* 2000;19:107-13.
  29. Hyland GJ. Non-thermal bioeffects induced by low-intensity microwave irradiation of living systems. *Eng Sci Educ J* 1998;7:261-9.
  30. Jensch RP. Behavioral teratologic studies using microwave radiation: Is there an increased risk from exposure to cellular phones and microwave ovens? *Reprod Toxicol* 1997;11:601-11.
  31. Bornhausen M, Scheingraber H. Prenatal exposure to 900 MHz, cell-phone electromagnetic fields had no effect on operant-behavior performances of adults rats. *Bioelectromagnetics* 2000;21:566-74.
  32. Vijayalaxami, Frei MR, Dusch SJ, Guel V, Meltz ML, Jauchem JR. Frequency of micronuclei in the peripheral blood and bone marrow of cancer-prone mice chronically exposed to 2450 MHz radiofrequency radiation. *Radiat Res* 1997;147:495-500.
  33. Vijayalaxami, Frei MR, Dusch SJ, Guel V, Meltz ML, Jauchem JR. Erratum in "Correction of an Error in Calculation in the Article "Frequency of micronuclei in the peripheral blood and bone marrow of cancer-prone mice chronically exposed to 2450 MHz radiofrequency radiation. (Radiat. Res. 147, 495-500, 1997). *Radiat Res* 1998;149: 408.
  34. Pavičić I., Trosic I. Influence of 864 MHz electromagnetic field on growth kinetics of established cell line. *Biologia* 2006;61:272-9.
  35. Zotti-Martelli L, Peccatori M, Scarpato R, Migliore L. Induction of micronuclei in human lymphocytes exposed in vitro to microwave radiation. *Mutat Res* 2000;472:51-8.
  36. Maes A, Collier M, Verschaevae L. Cytogenetic effects of 900 MHz (GSM) microwaves on human lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 2001;22:91-6.
  37. Stagg RB, Thomas WJ, Jones RA, Adey WR. DNA synthesis and cell proliferation in C6 glioma and primary glial cells exposed to a 836.55 MHz



- modulated radiofrequency field. *Bioelectromagnetics* 1997;18:230-6.
38. Jelínek F, Pokorný J. Microtubules in biological cells as circular waveguides and resonators. *Electro Magnetobiology* 2001;20:75-80.
  39. Van Zandt LL, Davis ME. Theory of the anomalous resonant absorption of DNA at microwave frequencies. *J Biomol Struct Dyn* 1986;3:1045-53.
  40. Ortner MJ, Galvin MJ, Irwin RD. The effect of 2450-MHz Microwave radiation during microtubular polymerization in vitro. *Radiat Res* 1983;93:353-63.
  41. Sarkar S, Ali S, Behari J. Effect of low-power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. *Mutat Res* 1994;320:141-7.
  42. Lokhmatova SA. The effect of low-intensity prolonged impulse electromagnetic irradiation in the UHF range on the testes and the appendages of the testis in rats. *Radiat Biol Radioecol* 1994;34:279-85.
  43. Afromeev VI, Tkachenko VN. Change in the percent of lactate dehydrogenase isoenzyme level in testes of animals exposed to superhigh frequency radiation. *Biofizika* 1999;44:931-2.
  44. Akdag MZ, Çelik MS, Ketani A, Nergiz Y, Deniz M, Dasdag S. Effect of chronic low-intensity microwave radiation on sperm count, sperm morphology, and testicular and epididymal tissues of rats. *Electro- and Magnetobiology* 1999;18:133-45.
  45. Weyandt TB, Schrader SM, Turner TW, Simon SD. Semen analysis of military personnel associated with military duty assignments. *Reprod Toxicol* 1996;10:521-8.
  46. de Seze R, Fabbro-Peray P, Miro L. GSM Radiocellular telephones do not disturb the secretion of antepituitary hormones in humans. *Bioelectromagnetics* 1998;19:271-8.
  47. Dasdag S, Zulkuf Akdag M, Aksen F, Yilmaz F, Bashan M, Mutlu Dasdag M, Salih Celik M. Whole body exposure of rats to microwaves emitted from a cell phone does not affect the testes. *Bioelectromagnetics* 2003;24:182-8.
  48. Saunders RD, Kowalczyk CI. Effects of 2.45 GHz microwave radiation and heat on mouse spermatogenic epithelium. *Int J Radiat Biol* 1981;40:623-32.
  49. Johnson L, Lebovitz RM and Samson WK. Germ cell degeneration in normal and microwave-irradiated rats: potential sperm production rates at different developmental steps in spermatogenesis. *Anat Rec* 1984;209:501-7.
  50. Haidt SJ, McTighe AH. The Effect of Chronic Low-Level Microwave Radiation on the Testicles of Mice. *Microwave Symp Dig G-MTT Int* 1973;73:324-5.
  51. Varma MM, Traboulay EE. Biological effects of microwave radiation on the testes of Swiss mice. *Experientia* 1975;31:301-2.
  52. Cairnie AB, Harding RK. Cytological studies in mouse testis irradiated with 2.45 GHz continuous wave microwaves. *Radiat Res* 1981;87:100-8.
  53. McRee DI, Thoxton JP, Parkhurst CR. Reproduction in male Japanese Quail exposed to microwave radiation during embryogeny. *Radiat Res* 1983;96:51-8.
  54. Lebovitz RM, Johnson L. Acute, whole body microwave exposure and testicular function of rats. *Bioelectromagnetics* 1987;8:37-43.
  55. Cleary SF. Reproductive toxic effects of electromagnetic radiation. U: Witorsch RJ, urednik. *Reproductive Toxicology*. 2. izd. New York: Raven Press;1995. p. 263-80.
  56. Dasdag S, Ketani MA, Akdag MZ, Ersay AR, Sari I, Demirtas OC, Celik MS. Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urol Res* 1999;27:219-23.
  57. Ikeda M, Kodama H, Fukuda J, Shimizu Y, Murata M, Kumagai J, Tanaka K. Role of radical oxygen species in rat testicular cell apoptosis by heat stress. *Biol Reprod* 1999;61:393-9.
  58. Sun JG, Jurisicova A, Casper RF. Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm: correlation with fertilization in vitro. *Biol Reprod* 1997;56:602-7.
  59. Giwercman A, Richthoff J, Hjøllund H, Bonde JP, Jepson K, Frohm B, Spano M. Correlation between sperm motility and sperm chromatin structure assay parameters. *Fertil Steril* 2003;80:1404-12.
  60. Gavella M, Lipovac V. Antioxidative effect of melatonin on human spermatozoa. *Arch Androl* 2000;44:23-7.
  61. Trošić I, Bušljeta I, Pavičić I, Zaninovic Lj, Milković-Kraus S. Urinary 6-sulfatoxymelatonin excretion in rats after microwave irradiation. U: Kostarakis P, urednik. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Workshop On Biological Effects of Electromagnetic Fields*; 16.-20. listopada 2006.; Kreta, Grčka. str. 1220-4.
  62. Valladares L, Moraga P, Ronco AM, Pino AM, Ahumada A. A direct effect of melatonin on testicular steroidogenesis. *J Steroid Biochem* 1990;36(Suppl.):87.
  63. Jackson FL, Heindel JJ, Preslock JP, Berkowitz AS. Alterations in hypothalamic content of luteinizing hormone-releasing hormone associated with pineal mediated testicular regression in the golden hamster. *Biol Reprod* 1984;31:436-45.
  64. Kus I, Akpolat N, Özen OA, Songur A, Kavakli A, Sarsilmaz N. Effects of melatonin on Leydig cells in pinealectomized rat: an immunohistochemical study. *Acta Histochem* 2002;104:93-7.
  65. Burch JB, Reif JS, Noonan CW, Ichinose T, Bachand AM, Koleber TL, Yost MG. Melatonin metabolite excretion among cellular telephone users. *Int J Radiat Biol* 2002;78:1029-36.
  66. Jarupat S, Kawabata A, Tokura H, Borkiewicz A. Effects of the 1900 MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on nocturnal melatonin secretion. *J Physiol Anthropol* 2003;22:61-3.
  67. Ribeiro EP, Rhoden EL, Horn MM, Rhoden C, Lima LP, Toniolo L. Effects of subchronic exposure to radio

- frequency from a conventional cellular telephone on testicular function in adult rats: *J Urol* 2007;177:395-9.
68. Ozguner M, Koyu A, Cesur G, Ural M, Ozguner F, Gokcimen A, Delibas N. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J* 2005;26:405-10.
  69. Forgács Z, Somosy Z, Kubinyi G, Bakos J, Hudák A, Surján A, Thuróczy G. Effect of whole-body 1800 MHz GSM-like microwave exposure on testicular steroidogenesis and histology in mice. *Reprod Toxicol* 2006;22:111-7.
  70. Fejes I, Zavaczki Z, Szollosi J, Koloszar S, Daru J, Kovacs L, Pa LA. Is there a relationship between cell phone use and semen quality? *Arch Androl* 2005;51:385-93.
  71. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek N. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br Med J* 1992; 305:609-13.
  72. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality of fertile men during last 20 years. *N Engl J Med* 1995;332:281-5.
  73. Environment and Climate Research Programme. European Workshop on the Impact of Endocrine Disrupters on Human Health and Wildlife. 2.-4. prosinca 1996. Weybridge, U.K. Report Of Proceedings EUR 17549. European Commission 1996.
  74. Auger J, Jouannet P. Evidence for regional differences of semen quality among fertile French men. *Hum Reprod* 1997;12:740-5.
  75. Swan SH, Elkin EP, Fenster L. Have sperm density declined? A reanalysis of global trend data. *Environ Health Persp* 1997;105:1228-32.
  76. Pajarinen J, Laippala P, Penttila A, Karhunen PJ. Incidence of disorders of spermatogenesis in middle aged Finnish men, 1981-91: two necropsies series. *Br Med J* 1997;314:13-8.
  77. Nieschlag E, Behre HM. *Andrology: male reproductive health and dysfunction*. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Paris, Singapore, Tokyo: Springer-Verlag. 2000.
  78. World Health Organization (WHO). *WHO manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male*. Cambridge (UK): Cambridge University Press; 2000.
  79. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Molecular Biology of the Cell*. New York & London: Garland Publishing; 1994.
  80. Tachibana M, Terada Y, Murakawa H, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K. Dynamic changes in the cytoskeleton during human spermiogenesis. *Fertil Steril* 2005;84:1241-8.
  81. Vogl AW. Distribution and function of organized concentrations of actin filaments in mammalian spermatogenic cells and Sertoli cells. *Int Rev Cytol* 1989;119:1-56.
  82. Russel LD, Weber JE, Vogl AW. Characterization of filaments within the subacrosomal space of rat spermatids during spermiogenesis. *Tissue Cell* 1986;18:887-98.
  83. Oko R. Occurrence and formation of cytoskeletal proteins in mammalian spermatozoa. *Andrologia* 1998;30:193-206.
  84. Breitbart H, Cohen G, Rubinstein S. Role of actin cytoskeleton in mammalian sperm capacitation and the acrosome reaction. *Biol Reprod* 2005;129:263-8.
  85. Welch JA, O'Rand MG. Identification and distribution of actin in spermatogenic cells and spermatozoa of the rabbit. *Dev Biol* 1985;109:411-7.

### Summary

#### EFFECTS OF RADIOFREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELDS ON MAMMALIAN SPERMATOGENESIS

This article reviews studies about the effects of radiofrequency electromagnetic (RF EM) fields on male reproductive system and reproductive health in mammals. According to current data, there are almost 4 million active mobile phone lines in Croatia while this number has risen to 2 billion in the world. Increased use of mobile technology raises scientific and public concern about possible hazardous effects of RF fields on human health. The effects of radiofrequencies on reproductive health and consequences for the offspring are still mainly unknown. A number of *in vivo* and *in vitro* studies indicated that RF fields could interact with charged intracellular macromolecular structures. Results of several laboratory studies on animal models showed how the RF fields could affect the mammalian reproductive system and sperm cells. Inasmuch as, in normal physiological conditions spermatogenesis is a balanced process of division, maturation and storage of cells, it is particularly vulnerable to the chemical and physical environmental stimuli. Especially sensitive could be the cytoskeleton, composed of charged proteins; actin, intermedial filaments and microtubules. Cytoskeleton is a functional and structural part of the cell that has important role in the sperm motility, and is actively involved in the morphologic changes that occur during mammalian spermiogenesis.

**KEYWORDS:** *cytoskeleton, mobile phones, non-ionising radiation, reproduction, sperm cells*

#### CORRESPONDING AUTHOR:

Martina Suša, dipl. ing.  
Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada  
Ksaverska c. 2, HR-10001 Zagreb  
E-mail: [msusa@imi.hr](mailto:msusa@imi.hr)