



Modelo *in vivo* de lesiones inducidas por la radiación no ionizante de microondas sobre larvas de mosquito *Aedes aegypti*

Non-ionizing microwave radiation injuries on *Aedes aegypti* mosquito larvae in vivo model

MARCO A. ÁLVAREZ OCHOA^{*1}, AURORA V. BARRIOS RUDAS², ELIANA NAVARRO SCIOSCIA³

Resumen

Se evaluaron las lesiones de naturaleza térmica y no térmica inducidas por la radiación de microondas no ionizantes en el modelo experimental no convencional denominado *Aa-global-Tox*. Distintas poblaciones larvarias fueron sometidas a una fuente de radiación microondas de 2450 MHz, con una densidad de potencia promedio de 5 mV/cm², durante 1, 3, 6, 9, 12 y 15 segundos de exposición. Se midió la temperatura y se usó el Azul de Toluidina 0,5% para evaluar las lesiones generalizadas. La validación de los daños se realizó comparando con el agente tóxico KCl. El tiempo-temperatura letal medio, $T_{1/2}$, fue de 6,3 segundos. Bajo la condición letal y supraletal, se obtuvo un alto porcentaje de mortalidad larvaria acompañada por severas lesiones de quemadura. Bajo la condición subletal se obtuvo la reducción del 51,68% de la actividad motora, acompañada por un índice de variabilidad de 62,21±1,8 rad/s y se obtuvo una reducción del 52,25% de la actividad cardíaca contráctil, acompañada por un índice de variabilidad de 62,40±4,7. Los respectivos índices para el KCl fueron de 62,18±3,7% y de 55,23±1,78%, respectivamente, a una CI_{50} de 48,62 mM. El modelo no convencional de larvas del mosquito *Aedes aegypti* resultó ser un modelo para evaluar las lesiones de naturaleza térmica y no térmica inducidas por la radiación de microondas, conociendo la frecuencia de la fuente de emisión, la densidad promedio de la potencia incidente y estableciendo la temporalidad de los efectos a través de la relación tiempo-temperatura-lesión inducida. Dichas lesiones pudieron ser consecuencia de un fenómeno diferencial de "calentamiento dieléctrico".

Palabras clave: Larvas L4 *Aedes aegypti*, radiación microondas, lesiones térmicas y no térmicas, calentamiento dieléctrico, índices de variabilidad

Abstract

The thermal and non-thermal nature lesions induced by non-ionizing microwave radiation were studied in the unconventional experimental model called *Aa-global-Tox*. Different larval populations were subjected to a 2450 MHz microwave radiation source, with an average power density of 5 mV/cm², for 1, 3, 6, 9, 12, and 15 seconds of exposure. The temperature was measured and Toluidine Blue 0.5% was used to assess generalized lesions. The validation of the damages was carried out by comparing it with the toxic agent KCl. The median lethal time temperature, $T_{1/2}$, was 6.3 seconds. Under the lethal and supraletal conditions, a high percentage of larval mortality was obtained accompanied by severe burn injuries. Under the sublethal condition, a 51.68% reduction in motor activity was obtained, accompanied by a variability index of 62.21±1.8 rad/s, and a 52.25% reduction in cardiac contractile activity was obtained, accompanied by a variability index of 62.40. ±4.7. The respective ratios for KCl were 62.18±3.7% and 55.23±1.78%, respectively, at a CI_{50} of 48.62 mM. The unconventional model of larvae of the *Aedes aegypti* mosquito turned out to be a model to evaluate injuries of a thermal and non-thermal nature induced by microwave radiation, knowing the frequency of the emission source, the average density of the incident power and establishing the temporality of the effects through the relationship time-temperature-induced injury. Said injuries could be the consequence of a differential phenomenon of "dielectric heating".

Keywords: L4 *Aedes aegypti* larvae, microwave radiation, thermal and non-thermal injuries, dielectric heating, variability indices

Sección de Microscopía, Instituto Anatómico José Izquierdo, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. República Bolivariana de Venezuela. Caracas 1040, Distrito Capital. Correspondencia: alvarezmenator@gmail.com.

Orcid: [0000-0002-1781-4532](https://orcid.org/0000-0002-1781-4532)

²[0000-0002-4712-0793](https://orcid.org/0000-0002-4712-0793)

³[0000-0002-4049-061X](https://orcid.org/0000-0002-4049-061X)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2023.86.1-2.4](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2023.86.1-2.4)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 10/04/2023

Aprobación: 08/05/2023

Rev. Fac. Farmacia 86(1y2): 24-33. 2023

Introducción

Las lesiones inducidas por las radiaciones electromagnéticas (RE) y en particular, por aquellas radiaciones no ionizantes provenientes de los innumerables aparatos electrónicos de uso cotidiano, como por ejemplo los hornos microondas (Jones y col., 1987), han sido ampliamente descritos como una consecuencia del efecto térmico de tales radiaciones. Sin embargo, aquellas lesiones que son consecuencia del efecto no térmico continúan siendo un tema por explorar ya que, hasta donde se conoce, son pocos los modelos exitosos que aportan confiabilidad a los investigadores ante los efectos biológicos ocasionados (Lai y col., 2021). Esto ha incentivado a investigar más sobre la etiología de las lesiones producidas sobre la materia viva como consecuencia de la radiación de microondas. Su interacción con ésta, desencadena una serie de daños que ponen en peligro la salud humana; afectando, tanto la estructura como la función de órganos vitales como el cerebro y el corazón, entre otros (Stam, 2022). En tal sentido la búsqueda de nuevos modelos animales de experimentación, convencionales o no, para profundizar sobre el conocimiento de dichas lesiones, resulta prioritario. A nivel clínico, algunos efectos fisiológicos como la fatiga, la disminución de la capacidad de aprendizaje y el deterioro cognitivo, han sido reportados como lesiones de naturaleza no térmica de las microondas (Wang y col., 2015). A nivel experimental, los estudios *in vivo* con modelos animales convencionales como la rata, el ratón, el conejo, entre otros, han sido ampliamente utilizados para estudiar los efectos de la radiación de microondas sobre la actividad locomotora (Wang y col., 2015; Van Eeghem, 2017; Kim y col., 2019). También han sido de gran utilidad

para evaluar los efectos biológicos de la radiación de microondas de baja frecuencia sobre la función cognitiva (Deshmukh y col., 2015; Pall, 2016; Shahin y col., 2018; Kim y col., 2019). A pesar de tales conocimientos, los efectos no térmicos de los campos electromagnéticos continúan siendo controversiales. A ello también se le ha sumado que, hoy día los altos costos para la obtención y el mantenimiento de estos animales convencionales, así como las bien conocidas restricciones bioéticas, han limitado su uso en las investigaciones de los efectos colaterales de las RE. Todas estas limitaciones antes mencionadas, han abierto la posibilidad de buscar otros modelos no convencionales de menor costo, de más fácil adquisición y sobre todo modelos animales *in vivo* que cuentan con propiedades fisiológicas fácilmente medibles y cuantificables. En tal sentido, en la presente investigación hemos hecho uso de la etapa larvaria L4 del mosquito *Aedes aegypti*, como un modelo de experimentación *in vivo* no convencional alternativo (Álvarez y col., 2021a,b), para evaluar las lesiones inducidas por la radiación de microondas, estableciendo la temporalidad de los efectos a través de la relación tiempo-temperatura-lesión inducida y conociendo la frecuencia de la fuente de emisión así como la densidad promedio de la potencia incidente de las radiaciones.

Materiales y Métodos

MODELO LARVARIO *IN VIVO*. TIEMPO-TEMPERATURA LETAL MEDIA. T_{L50}

La etapa larvaria *in vivo* del mosquito *Aedes aegypti*, ha sido propuesta de acuerdo con el protocolo de experimentación,

previamente diseñado en nuestro laboratorio y definido como un modelo integral no convencional denominado *Aa-global-Tox* (Álvarez y col., 2022). La población larvaria de estadio L4, fue obtenida al azar del larvario del laboratorio y fueron distribuidas como grupos individuales en pozos cóncavos de 4 mm³ a razón de 10 larvas/pozo, en un volumen final de 1 mL de solución acuosa del medio larvario. Para el tratamiento, fue utilizado un horno microonda casero, de radiación no ionizante, con una fuente de radiación de 2450 MHz y una densidad de potencia promedio de 5 mV/cm². Las poblaciones larvarias/pozo, fueron categorizadas como población P1, P2, P3, P4, P5 y P6, y sometidas a tiempos de exposición de 1, 3, 6, 9, 12 y 15 segundos (s), respectivamente; tiempos estos definidos a partir de la escala de pulsos del microondas, particularmente: 59 (1s), 57 (3s), 54 (6s), 51 (9s), 48 (12s) y 45 (15s). Para cada condición de tratamiento, se midió la temperatura con el apoyo de un termómetro Berracom de tecnología digital con resolución de 0.1°C. Los efectos de la radiación en función del tiempo de exposición nos permitieron establecer la relación Tiempo-temperatura-Letal media o $T_T L_{50}$, con sus niveles de supra y sub, $T_T L_{50}+$ y $T_T L_{50}-$, respectivamente. La observación simple y directa, nos permitió establecer el porcentaje de mortalidad larvaria a través de visualizar la presencia de lesiones generalizadas sobre la estructura tegumentaria corporal, la ausencia de la actividad cardiaca y la presencia o no de parálisis de la actividad motora. En la población larvaria sobreviviente y en condición de sub-letalidad, las lesiones generalizadas fueron analizadas con el uso del colorante Vital Azul de Toluidina (AT); un colorante con metacromasia dependiente

de la carga iónica de los tejidos (Sridharan y Shankar, 2012). Para ello, las larvas fueron incubadas *in vivo*, en una solución de AT 05% en agua desionizada durante 15 minutos. Transcurrido dicho tiempo, fue removido el exceso del colorante con dos lavados en agua desionizada para ser luego observadas al microscopio. Bajo el microscopio de contraste de fase se realizaron registros fotográficos que fueron procesados con la plataforma del programa de análisis de la imagen ImageJ Fiji, haciendo uso de la segmentación de imagen y la expresión de densidad colorimétrica.

CONDUCTA DE NADO. ACTIVIDAD MOTORA (AM)

Bajo la misma condición de sub-letalidad, se procedió a cuantificar la AM, como lesión subletal. Para ello, se procedió a realizar videos cortos de 30 segundos, a una velocidad de 15 cuadros/segundos, para analizar el perfil de la actividad motora de las respectivas poblaciones larvarias, pre y post tratamiento. Dicha actividad fue referida a los movimientos zigzagueantes y cóncavo-convexo de las larvas. El análisis de los respectivos videos fue realizado con el programa Video Tracker (Conklin y col, 2015), que permitió generar un Tacograma de picos representativos de la frecuencia de movimientos oscilatorios (fmo), en función del tiempo (s), lo cual se tradujo en la velocidad angular (ω), considerada como: $\omega = 2\pi \cdot f$ (rad/s). La relación de Sensibilidad/Especificidad de la variación de la velocidad angular se usó para determinar el índice de variabilidad de la actividad motora (Iv-AM), a través de la estimación del Área Bajo la Curva (ABC) de dicha relación con el apoyo del programa GraphPad Prism.

ACTIVIDAD CARDIACA CONTRACTIL (ACC)

Bajo la misma condición de subletalidad, se procedió a cuantificar la Actividad Cardíaca Contráctil (ACC), también como lesión subletal. Para ello, se procedió a realizar videos cortos de 30 segundos a una velocidad de 15 cuadros/segundos, sobre la región cardíaca larvaria, ubicada en la porción abdominal al nivel medial de los denominados troncos traqueales longitudinales (Andereck y col., 2010). Para el video análisis, fue utilizado el mismo programa de análisis Tracker, recreando en el software la dinámica de una partícula en movimiento oscilatorio. El programa generó un Tacograma de la frecuencia promedio de los picos sistólicos y diastólicos de la contracción (fpc), en función del tiempo (s). Dicha frecuencia se utilizó para estimar la variabilidad de dicha frecuencia en términos del valor de la distancia entre los picos de contracción (c-c), equivalente al valor del segmento R-R de un electrocardiograma. La relación de Sensibilidad/Especificidad de los valores de variación del segmento c-c, fue usado para determinar el índice de variabilidad de la frecuencia cardíaca de contracción (Iv-ACC), a través de la estimación del Área Bajo la Curva (ABC), de dicha relación, con el apoyo del programa GraphPad Prism. Como garantía de que las respuestas emitidas por la población larvaria de *Aedes aegypti*, ante la acción de las microondas electromagnéticas, no eran debidas a un proceso casual sino consecuencia directa de la radiación, se compararon los índices Iv-AM y Iv-ACC, con los respectivos índices obtenidos para el cloruro de potasio (KCl), un agente usado con patrón tóxico sugerido por otros autores (Sánchez-Bain y col., 2004; Castañedo y col., 2019).

Análisis estadístico

Los valores medios, pre y postratamiento, de la cuantificación de las variables de las lesiones evaluadas, fueron analizados mediante la prueba no pareada, y considerados de manera independiente o no relacionado para determinar así las posibles diferencias significativas entre los valores pre y postratamiento. Se considero como significativo un valor de $p < 0,05$. También fue utilizado el estadístico aportado por el Área Bajo la Curva ROC (acrónimo de Receiver Operating Characteristic), para establecer los posibles índices de variabilidad de los respectivos parámetros. Esto fue realizado utilizando el programa GraphPad Prism.

Resultados

El protocolo de modelo *in vivo* para larvas de *Aedes aegypti*, permitió evaluar las variaciones de temperatura durante los distintos tiempos de exposición a las radiaciones microondas (Figura 1a). Así, se pudo determinar que, entre 1 y 3 segundos de exposición, los pozos contentivos de las poblaciones P1 y P2, no presentaron cambio significativo de la temperatura del medio, expresada entre $22,18 \pm 0,07^\circ\text{C}$ y $22,20 \pm 0,01^\circ\text{C}$. Sin embargo, los pozos contentivos de las poblaciones P3, P4, P5 y P6, los cuales fueron sometidos a mayores tiempos de exposición: 6, 9, 12 y 15 segundos, experimentaron una elevación significativa de la temperatura, incremento expresado entre $31,14 \pm 1,4$, $41,48 \pm 1,8$, $48,24 \pm 4,5$ y $51,57 \pm 2,1^\circ\text{C}$, respectivamente (Figura 1b). Las lesiones generalizadas resultaron evidentes a través de severas señales de quemadura, visibles por el

ennegrecimiento del tejido tegumentario superficial en la población larvaria expuestas a mayores tiempos de tratamiento (Figura 1c). Solo en las poblaciones P1 y P2, hubo presencia de señales de sobrevivencia, con actividad motora y con actividad cardiaca, medible y cuantificable. Al establecer la relación entre las lesiones causadas por la radiación y los tiempos de exposición, se pudo determinar una relación Tiempo-temperatura-dependiente, a mayor tiempo de exposición a las radiaciones microondas mayor mortalidad (Figura 2a). Al realizar la transformación logarítmica de la relación mortalidad y tiempo, se pudo obtener el Tiempo-temperatura letal media o T_{TL50} de 6,3 segundos,

con un IC.95% entre 3,1 y 12 segundos (Figura 2b). Cabe destacar que el patrón tóxico de KCl presento una $CL50=48,62$ mM, así como el $Iv-am=62,18\pm3,7\%$ en intervalo de confianza IC.95% 54,80 a 69,56 y el $Iv-aac=55,23\pm1,78\%$ en un intervalo de confianza IC.95% 51,78 a 58,68%. La tinción con AT en las larvas con señales de sobrevivencia, mostraron metacromasia del colorante vital a nivel del tejido tegumentario superficial. Su cuantificación histomorfométrica mostró un viraje de coloración en los controles de color azulado con intensidad concentrada en puntos bien delimitados, hacia un color de tonalidad verdosa de igual intensidad sin embargo de una distribución difusa, en

los tratados (Figura 3a). El mencionado viraje quedo representado en términos del desplazamiento del histograma hacia la derecha (Figura 3b).

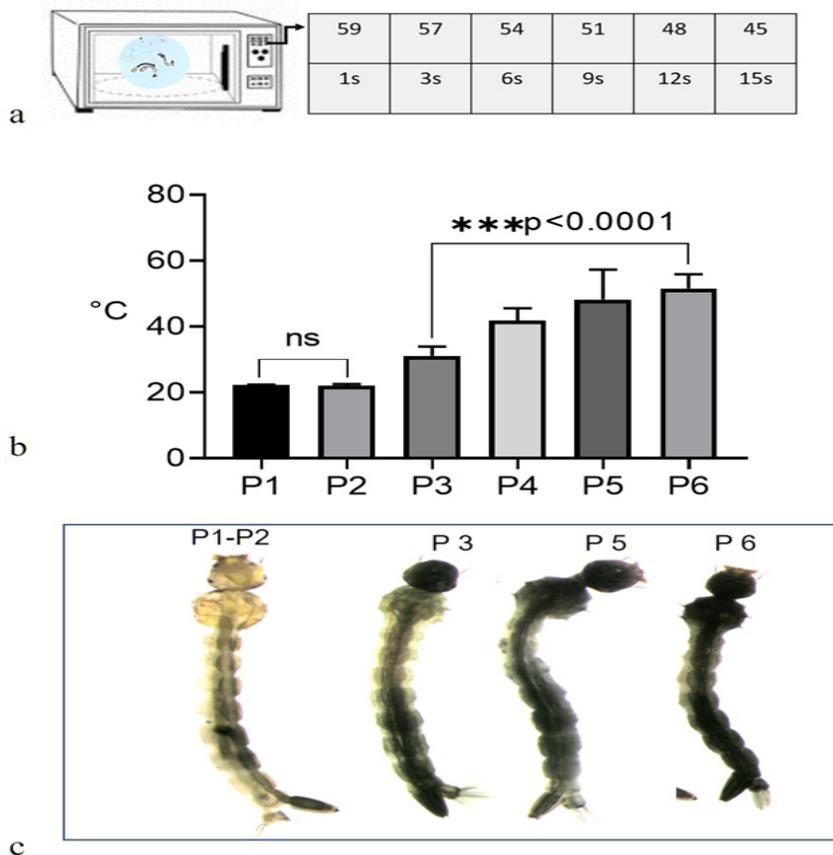


Figura 1. a) Fuente de radiación microondas y los distintos tiempos de exposición de acuerdo con la escala de pulsos descritos para el instrumento, b) representación gráfica del incremento de temperatura en las poblaciones larvarias sometidas a distintos tiempos de exposición, c) lesiones generalizadas en la población sobreviviente P1 y p2 y lesiones letales, quemaduras en las poblaciones a mayor tiempo de exposición

CONDUCTA DE NADO. ACTIVIDAD MOTORA (AM)

La AM de las poblaciones larvarias P1 y P2, sobreviviente al tratamiento (post) en el rango de tiempo subletal (TL_{50}^-), medido en términos de la velocidad angular, presentó, un Tacograma con una evidente disminución de los picos de angulación que describen la reducción significativa del desplazamiento y de los movimientos zigzagueantes de la población larvaria (Figuras

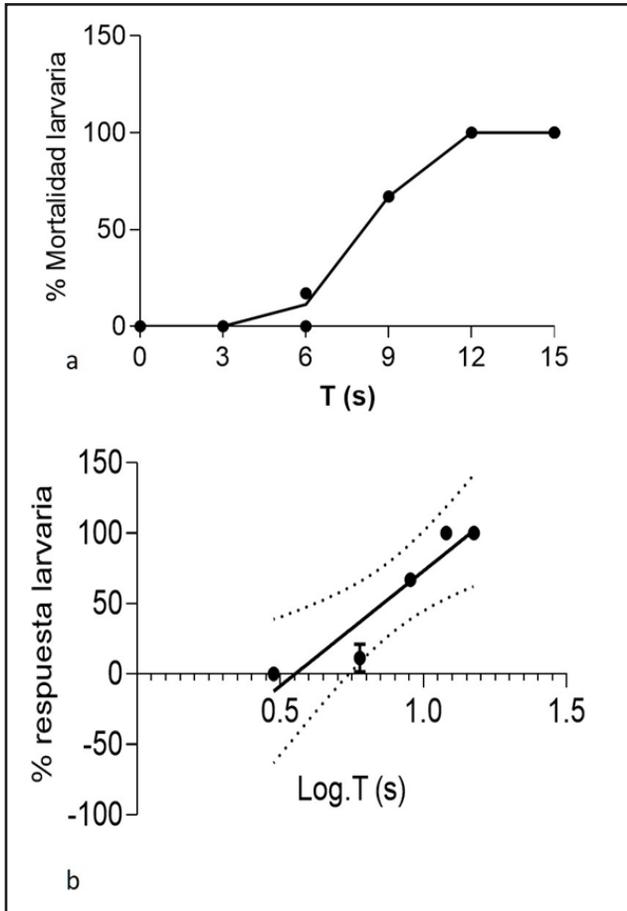


Figura 2. a) Curva sigmoidea, % de mortalidad y tiempo de exposición y b) transformación logarítmica y obtención de $T_{L_{50}}$ de 6,3 segundos, con un IC.95% entre 3.1 y 12 segundos

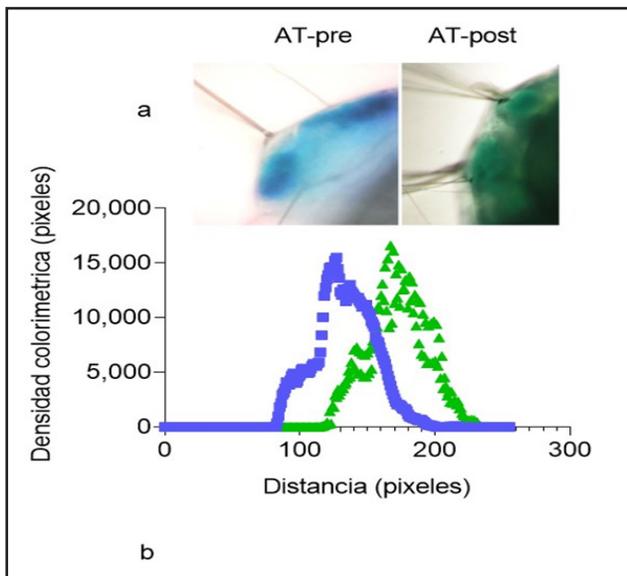


Figura 3. a) Metacromasia del colorante vital AT a nivel del tejido tegumentario superficial con viraje del color azulado concentrado en puntos bien delimitados condición control y en $T_{L_{50}}$ - y b) cuantificación por histomorfometría

4a y 4b), lo que se tradujo en una reducción significativa de la velocidad angular desde $142,7 \pm 6,3$ rad/s a $68,94 \pm 1,22$ rad/s (Figura 4c), con una pérdida significativa ($****p < 0,0001$) del 51,68% de la AM (Figura 4c). La relación Sensibilidad/Especificidad del ensayo permitió definir un índice de variabilidad de la actividad motora (Iv-AM) de $62,21 \pm 1,8$ rad/s dentro de un IC95% entre 58,54 a 65,89 $p < 0,0001$ (Figura 4d).

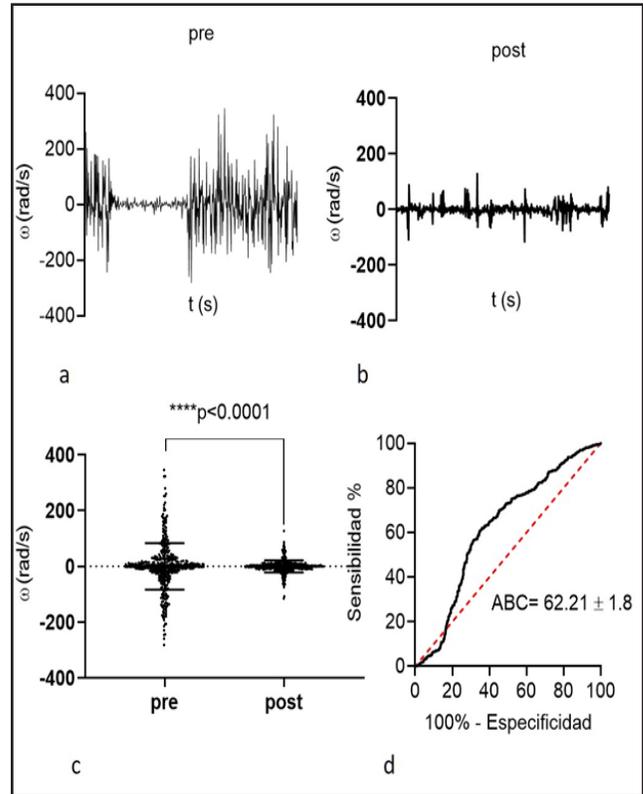


Figura 4. a) Tacograma de la velocidad angular previo al tratamiento y bajo la acción del $T_{L_{50}}$ -, se destaca la reducción de las espigas de angulación, c) representación gráfica cuantitativa de la pérdida significativa de velocidad angular, d) índice de variabilidad de la actividad motora, Iv-AM, equivalente al área bajo la curva (ABC) de la representación gráfica de sensibilidad/especificidad

ACTIVIDAD CARDIACA CONTRÁCTIL (ACC)

La ACC de las poblaciones larvarias P1 y P2, sobrevivientes al tratamiento (post) en el rango de tiempo subletal (TL_{50} -), medida en términos de la frecuencia de los picos de contracción sistólica y diastólica, presento

un Tacograma con una evidente disminución de dichos picos (Figuras 5a y 5b), lo que se tradujo en una reducción significativa desde $72,25 \pm 3,09$ c/s a $34,50 \pm 1,2$ c/s, con una pérdida significativa del 52,25% de ACC ($p=0,0038$). Dicha disminución en la frecuencia de contracción estuvo acompañada de un incremento en la amplitud sistólica y un alargamiento en el intervalo c-c, lo que permitió determinar la variabilidad de la frecuencia de contracción cardíaca sistólica con un incremento en la longitud del intervalo c-c; de 1,2 ms a 1,50 ms (Figura 5c), con una diferencia entre las medias de $0,2 \pm 0,007$ ms, en un intervalo de confianza entre 0,12 a 0,43 ms. La relación Sensibilidad/Especificidad, permitió definir un índice de variabilidad de la frecuencia promedio de ACC (Iv-ACC), de $62,40 \pm 4,7$ dentro de un IC95% de 53 a 71 y $p=0,01$ (Figura 5d).

Discusión

Los resultados demuestran que, efectivamente, las RE y particularmente las microondas no ionizantes, al interactuar con la materia viva, en este caso con un organismo *in vivo* como la larva del mosquito *Aedes aegypti*, desencadenan una serie de lesiones que pudieron ser diferenciadas como lesiones de naturaleza térmica y no térmica, como ha sido propuesto por otros autores en otros modelos orgánicos (De la Hoz y col., 2015). Las primeras de ellas, puestas en evidencia a través del alto porcentaje de mortalidad y los intensos signos de quemadura presentados sobre el epitelio tegumentario del cuerpo larvario, y las segundas caracterizadas como lesiones subletales, puestas en evidencia a través de los significativos cambios en la actividad motora (AM) y de la actividad cardíaca contráctil (ACC). Como es sabido, las microondas no ionizantes carecen de la energía suficiente para poder desencadenar el proceso de ionización sobre componentes moleculares de la materia viva, sin embargo, son capaces de generar calentamiento; una característica interpretada como un proceso de "calentamiento dieléctrico", definido, por algunos autores, como la consecuencia de lesiones mecánicas ejercida por las microondas sobre los tejidos (Ji y Brace, 2011). Dicho fenómeno ha sido vinculado con el proceso conocido en tiempos pasados como el "síndrome de microondas", una condición clínica caracterizada por un amplio espectro de lesiones multisistémicas que generalmente han sido reportadas por individuos expuestos a un medio ambiente, altamente contaminado por campos electromagnéticos (Stein y Udasin, 2020; Omer, 2021; Mumtaz y col., 2022). Ahora bien, dentro de nuestra experimentación no contamos con elementos para poner

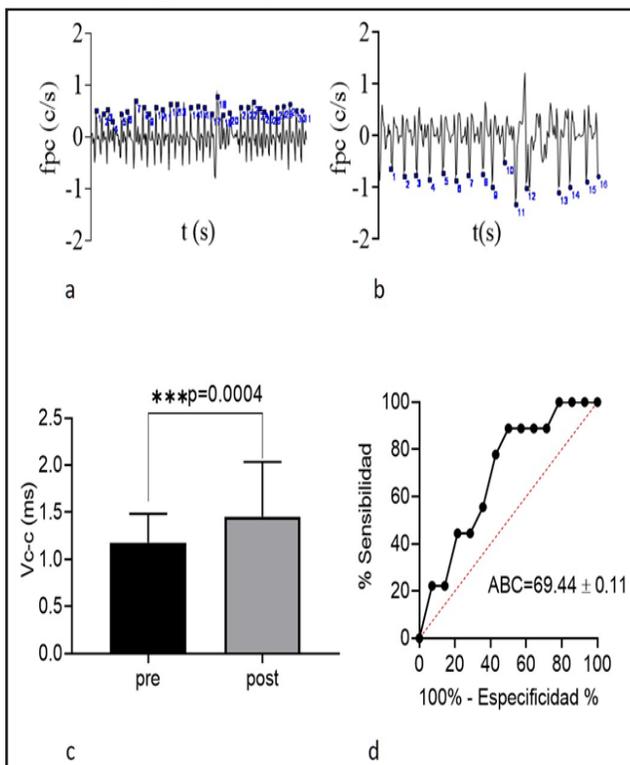


Figura 5. a) Tacograma de la frecuencia promedio de contracción previo al tratamiento y b) bajo la acción del T_{R50-} , se destaca el incremento del segmento c-c, c) representación gráfica cuantitativa de la variabilidad del segmento c-c y d) índice de la variabilidad de la actividad cardíaca contráctil, Iv-ACC, equivalente al área bajo la curva (ABC) de la representación gráfica de sensibilidad/especificidad

en evidencia dicho proceso, sin embargo, ha sido claro que la población larvaria de *Aedes aegypti*, resultó sensible a las radiaciones microondas y además de una manera tiempo-temperatura-dependiente. Por tanto, se hace factible interpretar que los resultados obtenidos pudieron estar signados por una acción supra umbral del proceso de "calentamiento dieléctrico", con lesiones ubicadas en el rango $T_{TL_{50}+}$ y una acción sub-umbral de dicho proceso, con lesiones ubicadas en el rango $T_{TL_{50}-}$. Así que, las lesiones de naturaleza térmica quedarían circunscritas dentro del espacio de "supra calentamiento dieléctrico", y las lesiones de naturaleza no térmica quedarían circunscritas dentro del espacio de "sub calentamiento dieléctrico". Ahora bien, ante el hecho de que las lesiones letales resultaron evidentes, surge la pregunta: ¿qué decir de las lesiones de naturaleza no térmica descritas con nuestros resultados? Al respecto cabe destacar que un área altamente vulnerable a la RE es el sistema nervioso central; una vulnerabilidad también reflejada a través de señales de daño en la funcionalidad del sistema cardiovascular (Sage, 2015; Roux y col., 2015). Dicha vulnerabilidad, ha sido definida como dependiente de la frecuencia de la radiación, ya que a un mayor tiempo de exposición se obtendría una mayor penetración de la radiación a través de la piel, lo que también definiría un menor o mayor daño tisular y también daño sobre las fibras nerviosas (Verma y col., 2021). Si bien no contamos con una medición del grado de absorción de la radiación utilizada, sí resultó evidente que hubo una alteración a nivel del área de las terminaciones nerviosas que conforman el sistema nervioso larvario, terminaciones ubicadas a nivel superficial del tejido tegumentario, como fue demostrado con el AT. Por tanto es

posible que haya ocurrido una alteración de los mecanorreceptores, encontrados en las estructuras anatómicas denominadas setas, con microvellosidades, ganglios y fibras nerviosas que constituyen la neuroanatomía de las larvas de *Aedes aegypti*, permitiendo así interpretar que los cambios en la AM y en la ACC registrados, sean el resultado de una acción sobre el tejido nervioso, de manera similar a la descrita por otros autores que han explorado la etiología de las lesiones inducidas por las RE, con lo cual podríamos estar contribuyendo con la constante revisión de los mecanismos subyacentes a la hipersensibilidad de los organismos vivos a las RE, en distintas condiciones de exposición que han sido analizadas por numerosos autores (Stein y Udasin, 2020; Wojtczak y Piotrowski, 2020; Vijayan y Eslick, 2022). Dichas lesiones estuvieron fortalecidas al comparar los índices de variabilidad de los parámetros AM y ACC, con los mismos índices obtenidos con el agente tóxico de referencia KCl, resultando por tanto evidente que la población larvaria de *Aedes aegypti*, experimentó un fenómeno de hipo e hipersensibilidad electromagnética dependiente del tiempo de exposición. Finalmente podemos concluir que, efectivamente, el modelo larvario L4 del mosquito *Aedes aegypti* resultó ser un modelo confiable de experimentación *in vivo* no convencional para evaluar las lesiones inducidas por la radiación de microondas, conociendo la frecuencia de la fuente de emisión, la densidad promedio de la potencia incidente y estableciendo la temporalidad de los efectos a través de la relación tiempo-temperatura-lesión inducida. Dichas lesiones pudieron ser diferenciadas, entre las de naturaleza térmica y no térmica, muy probablemente como consecuencia de un fenómeno diferencial de "calentamiento dieléctrico".

Queda abierto el desarrollar protocolos que permitan descifrar el o los posibles mecanismos celulares vinculados con dicho calentamiento, para lo cual se ha sugerido indagar sobre los posibles cambios a nivel de los neurotransmisores, así como a nivel del estado de la proteómica oxidativa, como ha sido sugerido para otros modelos de experimentación (Deshmukh y col., 2013; Shahin y col., 2018; Kim y col., 2019).

Agradecimientos

Al Biólogo Carlos Velásquez por sus oportunas opiniones durante el proceso de experimentación, así como al Sr. Danny Duran por su apoyo en la recolección y mantenimientos de la población larvaria del *Aedes aegypti*.

Los autores declaramos la ausencia de conflicto de intereses alrededor de la publicación que hemos decidido en mayoría, sea publicada.

Referencias Bibliográficas

Álvarez M, Hernández C, Barrios A. 2021a. Respuesta funcional y morfológica ante la luz UV emitida por larvas de *Aedes aegypti* tratadas bajo condiciones de oxidación avanzada: Un análisis morfométrico. RETEL, Revista de Toxicología en línea 46-64.

Álvarez M, Hernández C, Morales E, Hernández F, Velásquez V, Zuleta G. 2021b. Respuestas morfofuncionales de larvas de mosquito *Aedes aegypti* a la Tetrametrina-Real-ZZ®. Rev Toxicol 38: 34-38.

Álvarez M, Barrios A, Navarro E. 2022. Aa-Integral-Tox: un protocolo innovador para evaluar la neuro-cardio-toxicidad haciendo uso de larvas del mosquito *Aedes aegypti*: un modelo animal no convencional. Rev Fac Far 85(1-2):128-138.

Andereck JW, King JG, Hillyer JF. 2010. Contraction of the ventral abdomen potentiates extracardiac

retrograde hemolymph propulsion in the mosquito hemocoel. PloS One 5(9):e12943.

Castañedo ZA, Águila E, Marrero O, Meneses-Marcel, A; Sifontes S, Seijo M, Santana A. 2019. Bioensayo de toxicidad aguda en tres biomodelos utilizando compuestos de referencia. Rev Toxicología 36 (2): 127-142.

Conklin EE, Lee KL, Schlabach SA, Woods IG. 2015. Video hacking: automated tracking and quantification of locomotor behavior with open-source software and off-the-shelf video equipment. J Undergraduate Neuroscience Education 13(3): A120-A125.

De la Hoz A, Díaz-Ortiz A, Moreno A. 2005. Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects. Chem Soc Rev 34(2):164-78.

Deshmukh PS, Banerjee BD, Abegaonkar MP, Megha K, Ahmed RS, Tripathi AK, Mediratta PK. 2013. Effect of low-level microwave radiation exposure on cognitive function and oxidative stress in rats. Indian J Biochem Biophys 50(2):114-9.

Deshmukh PS, Nasare N, Megha K, Banerjee BD, Ahmed RS, Singh D, Abegaonkar MP, Tripathi AK, Mediratta PK. 2015. Cognitive impairment and neurogenotoxic effects in rats exposed to low-intensity microwave radiation. Int J Toxicol 34 (3): 284-90.

Ji Z, Brace CL. 2011. Expanded modeling of temperature-dependent dielectric properties for microwave thermal ablation. Physics Medicine Biology. 56(16): 5249-5264.

Jones LR, Taylor AW, Hines HC. 1987. Characteristics of frozen colostrum thawed in a microwave oven. J Dairy Sci 70(9):1941-1945.

Kim JH, Lee CH, Kim HG, Kim HR. 2019. Decreased dopamine in striatum and difficult locomotor recovery from MPTP insult after exposure to radiofrequency electromagnetic fields. Sci Rep 49 (1):1201.

Lai YF, Wang HY, Peng RY. 2021. Establishment of injury models in studies of biological effects induced by microwave radiation. Mil Med Res 1(1):12.

Mumtaz S, Rana J. N, Choi E. H, Han I. 2022. Microwave Radiation and the Brain: Mechanisms, Current Status, and Future Prospects. International J Molecular Sciences 23(16): 9288.

Omer H. 2021. Radiobiological effects and medical applications of non-ionizing radiation. Saudi J Biological Sciences 28(10):5585-5592.

Pall M. L. 2016. Microwave frequency electromagnetic fields (EMFs) produce widespread neuropsychiatric

- effects including depression. *J Chemical Neuroanatomy* 75: 43-51.
- Roux D, Catrain A, Lallechere S, Joly JC. 2015. Sunflowers exposed to high-intensity microwave-frequency electromagnetic field: electrophysiological response requires a mechanical injury to initiate. *Plant Signal Behav* 10(1): e972787.
- Sage C. 2015. The implications of non-linear biological oscillations on human electrophysiology for electrohypersensitivity (EHS) and multiple chemical sensitivity (MCS). *Rev Environ Health* 30(4): 293-303.
- Sánchez-Bain A, Forget G, Feola G, Ronco A. 2004. En: *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, Inter calibración, resultados y aplicaciones*. IMTA: México, 2004. pp.127-140.
- Shahin S, Banerjee S, Swarup V, Singh SP, Chaturvedi CM. 2018. 2.45-GHz microwave radiation impairs hippocampal learning and spatial memory: Involvement of local stress mechanism-induced suppression of iGluR/ERK/CREB signaling. *Toxicol Sci* 161(2): 349-74.
- Sridharan G, Shankar AA. 2012. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *J Oral Maxillofac Pathol* 16(2):251-255.
- Stam R. 2022. Occupational exposure to radiofrequency electromagnetic fields. *Ind Health*. 160 (3):201-215.
- Stein Y, Udasin IG. 2020. Electromagnetic hypersensitivity (EHS, microwave syndrome) - Review of mechanisms. *Environ Res* 186: 109445.
- Van Eeghem V, El Arfani A, Arta A, Walrave L, Pourkazemi A, Bentea E, Stiens J. 2017. Selective changes in locomotor activity in mice due to low-intensity microwave amplitude modulated in the EEG spectral domain. *Neuroscience* 359:40-48.
- Verma S, Keshri GK, Karmakar S, Mani KV, Chauhan S, Yadav A, Sharma M, Gupta A. 2021. Effects of Microwave 10 GHz Radiation Exposure in the Skin of Rats: An Insight on Molecular Responses. *Radiation Research* 196(4): 404-416.
- Vijayan, K, Eslick GD. 2022. A meta-analysis of the risk of salivary gland tumors associated with mobile phone use: the importance of correct exposure assessment. *Rev Environ Health* doi: 10.1515/reveh-2022-0055.
- Wang C, Wang X, Zhou H, Dong G, Guan X, Wang L, Xu X, Wang S, Chen P, Peng R, Hu X. 2015. Effects of pulsed 2.856 GHz microwave exposure on BM-MSCs isolated from C57BL/6 mice. *PLoS One* 10(2): e0117550.
- Wojtczak, M, Piotrowski Z. 2020. Radiation standards review concerning non-ionizing radiation. In: *Radio Electronic Systems Conference 2019*, Vol 11442. International Society for Optics and Photonics p. 114420J.