



UPPSALA
UNIVERSITET

Elektromagnetisk strålning från mobiltelefoner och dess inverkan på könscellernas rörelseförmåga hos människor: en systematisk genomgång och meta-analys



Olof Almqvist

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2015
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Elektromagnetisk strålning från mobiltelefoner och dess inverkan på könszellernas rörelseförmåga hos människor: en systematisk genomgång och meta-analys

Olof Almqvist

Självständigt arbete i biologi 2015

Sammandrag

Strax under en femtedel av alla par stöter på fertilitetsproblem i sitt liv. Den vanligaste orsaken till dessa besvär är dysfunktioner i sädescellerna. Under 2000-talet har forskare noterat försämrade värden med avseende på manliga fertilitetsparametrar som koncentration av könsceller, absolut antal samt rörelseförmåga. En rad orsaker till denna förändring har noterats varvid det allt vanligare inslaget av avancerad elektronik och resulterande elektromagnetism (EMS) föreslagits som en av källorna till problemen. Här gjordes en systematisk genomgång av litteraturen som beskriver kopplingen mellan elektromagnetism från mobiltelefoner och manliga könscellers motilitet. Det genomsökta materialet utvärderades sedan med en meta-analys vilket påvisade en negativ koppling mellan EMS och sädescellernas motilitet ($p=0,00007$) och redovisades grafiskt med en forest plot. En möjlig förklaringsmekanism föreslås i form av en EMS-inducerad signaltransduktion som påbörjas med ökad produktion av superoxid och avslutas med membranskador inducerade av lipidperoxidering samt sjunkande koncentrationer av aktiverat Protein Kinas A (PKA), vilket tidigare har visats ha en viktig roll för aktivering av det mikrotubulibundna motorproteinet dynein och därmed sädescellens rörelse.

Inledning

Andelen par som lider av fertilitetsproblem och efterfrågar hjälp av en fertilitetsklinik uppgår till 16-17 % i Storbritannien och 14 % i Frankrike. Den vanligaste orsaken till problemen är defekter eller dysfunktion i de manliga sädescellerna, vilket ger upphov till besvären i 24 % av fallen (Hull *et al.* 1985; Thonneau *et al.* 1991). Irvine och medarbetare (1996) följde 577 brittiska män med blandade födelseår, från 1954 och fram till 1974 under 11 år. Olika parametrar relaterade till sädescellerna jämfördes mellan grupperna och det visade sig att såväl koncentrationen, det totala antalet och motiliteten (rörligheten) reducerades avsevärt desto senare födelsedatum deltagarna hade. Sädescellernas totala motilitet skiljde 24 % mellan de som var födda 1954 och de som var födda mellan 1970-74.

Det finns många tänkbara orsaker till skador på könscellerna. I en artikel av Aitken och kollegor (2004) utkristalliserade man de främsta orsakerna vilka inkluderade cigarettrökning, syntetiska östrogener som nonylfenol samt nematocider. Författarna diskuterade även det faktum att de manliga könscellerna förlorar sin starka förmåga till basparskorrekturläsning i stamcellsstadiet när de genomgår meios och att de därmed är särdeles känsliga för skador på DNA. Sårbarheten ökar ännu mer när cellerna migrerar från sädeskanalerna till epididymis där de inte har assistans från skyddande enzymer på samma sätt som tidigare. Författarna poängterade att denna belägenhet kunde göra sädescellerna utsatta för bland annat elektromagnetisk strålning (EMS) från mobiltelefoner och att det kunde vara en bidragande orsak till manliga fertilitetsproblem.

Sage (2012) gick igenom litteraturen rörande kopplingen mellan DNA-skador och strålning av låg intensitet. Slutsatsen blev att såväl joniserande som icke-joniserande strålning av låg

intensitet agerar genotoxiskt och ger upphov till oxidativ stress som kan orsaka skador på DNA-molekylerna genom kärnbildning, singel- och dubbelsträngsskador, instabilitet i genomet och abnormala kromosomala förändringar. Koppers och medarbetare (2008) mätte fria radikaler i sädesceller samt tillsatte i olika mängd antioxidanter eller fettlösliga katjoner för att öka eller minska den oxidativa stress som cellerna utsattes för. Resultatet av studien blev att spermatozoer på egen hand kunde ge upphov till fria radikaler och att dessa kunde orsaka lipidperoxidering i cellen samt att stigande koncentrationer ROS korrelerade negativt med motilitet. Dessa fynd ledde till hypoteser för huruvida den elektromagnetism som tas upp och avges av mobiltelefoner kunde skada sädescellernas förmåga till befruktning genom att ge upphov till fria radikaler som minskar sädescellernas rörelseförmåga.

Försöken att utröna huruvida EMS från mobiltelefoner skadar sädescellerna har gett tvetydliga resultat. I ett tidigt skede gjordes studier på råttor varvid resultaten pekade mot att det inte hade någon skadlig effekt (Dasdaq *et al.* 1999; Dasdaq *et al.* 2003). Författarna till artikeln 1999 skriver dock att det finns uppenbara svagheter med råttor som modell för dessa undersökningar eftersom rattans scrotum ej är pendelformat likt människans, eftersom de har annorlunda kroppsstorlek och geometri, samt det faktum att scrotum kan migrera fritt in i inguinalkanalen hos råttor men inte hos människor. Därtill bör noteras att forskarna använde ett strålningsabsorptionsvärde (SAR) på 0.141 W/kg respektive 0.52 W/kg, vilket inte kan ses som representativt för dagens moderna mobiltelefoner – till exempel iPhone 6 – som har ett medelSAR-värde på 1.15 W/kg (Apple Inc, 2015).

Fortsatta experiment *in vitro* påvisade dock en korrelation mellan EMS och minskad motilitet och vitalitet hos mänskliga sädesceller (Erogul *et al.* 2006; Agarwal *et al.* 2009; De luliis *et al.* 2009). En studie med stort urval av (Falzone *et al.* 2009) kunde dock inte påvisa en statistiskt signifikant koppling mellan EMS-och sjunkande motilitet hos sädescellerna.

Vissa observationsstudier *in vivo* påvisar en koppling mellan mobilanvändning och minskad fertilitet. Felkällor som sannolikt ökar risken för typ-2 fel är exempelvis att en person som spenderar längre tid vid sin telefon förmodligen är mindre fysiskt aktiv än en person som spenderar kortare tid vid telefoner och det faktum att en person som talar många timmar i telefon inte nödvändigtvis exponerar sädescellerna för mer strålning än någon som bara har den i fickan (Agarwal *et al.* 2008; Yildirim *et al.* 2015).

Syftet med aktuell studie är att närmare undersöka sambandet mellan EMS från mobiltelefoner och manlig fertilitet med avseende på sädescellernas motilitet. För att utröna huruvida det föreligger ett samband genomförs en systematisk genomgång med en efterföljande meta-analys av studiernas resultat. I meta-analysen kommer endast experiment som utförts *in vitro* att undersökas, eftersom denna typ av studier har högst bevisstyrka då man kunnat kontrollera för fler parametrar än vid studier av djur eller människor. För att inrikta analysen mot effekten av mobiltelefonstrålning kommer endast artiklar som använt ett SAR-värde på under 2 W/kg att inkluderas.

H1: Elektromagnetisk strålning från mobiltelefoner sänker fertiliteten hos män

H0: Elektromagnetisk strålning från mobiltelefoner sänker inte fertiliteten hos män

Motilitetens molekylärbiologi

Överblick av sädescellernas struktur och funktion

En mänsklig sädescell består av tre huvudsakliga delar: huvuddelen, mittendelen samt den principiella delen. Huvuddelen innehåller cellkärnan med kromosomerna, och omsluts av akrosomen vilken utvecklas från golgiapparaten. I det fall att sädescellen kolliderar med en äggcell utsöndras enzymer från akrosomen som bryter ner äggcellens yttre membran – zona pellucida – vilket gör det lättare för cellerna att smälta samman (Wassarman *et al.* 1999). Mittendelen har en hög koncentration av mitokondrier vilket är nödvändigt för att facilitera cellens förmåga till förflyttning och det stora energibehov detta kräver. I den principiella delen – eller svansen - dominerar cytoskelett uppbyggt av tio mikrotubulipar vilka gemensamt benämns ”axoneme”.

Flagellens molekylärbiologi

Flagellen kan delas upp i fyra morfologiskt distinkta delar. Den sammanlänkande delen, mittendelen, den principiella delen och avslutningsdelen. Den sammanlänkande delen binder till huvuddelen där akrosomen är belägen. Vid roten av denna del finns en basalkropp vilken utvecklas från en centriol i slutfaserna av meiosen. Från basalkroppen, vilken fungerar som ett ankare i cellen, växer ett utskott av tio mikrotubulipar även kallat axoneme. Ett av dessa par bildar ”det centrala paret”, och de nio övriga formar den yttre infrastrukturen av flagellen. Mikrotubuli har en positiv och en negativ ände, och är en polymer av dimerproteinet tubulin, som formas av alfa- och betatubulin. Den negativa änden riktas mot cellens center och den positiva änden riktas utåt bort från cellkärnan. Det finns tre speciella strukturer i flagellen som tillsammans är unika för den mänskliga sädescellen. En av dessa är en cytoskelettal struktur kallad ”outer dense fibers” (ODFs). Dessa är nio till antalet och finns belägna i mittendelen och den principiella delen av flagellen. Strax innanför plasmamembranet i mittendelen omsluts axoneme av ett lager fyllt av mitokondrier vilket på engelska kallas ”the mitochondrial sheath” eller det mitokondriella skalet (MS). Detta sträcker sig längs hela mittendelen och avslutas på gränsen till den smalare principiella delen. I denna sektion sträcker sig två longitudinella kolumner av fibrös skaft (FS) längs med hela den principiella delen. Dessa tre axonomala delar (ODFs, MS, och FS), när de förekommer tillsammans, är unika för mänskliga sädesceller (Turner 2003).

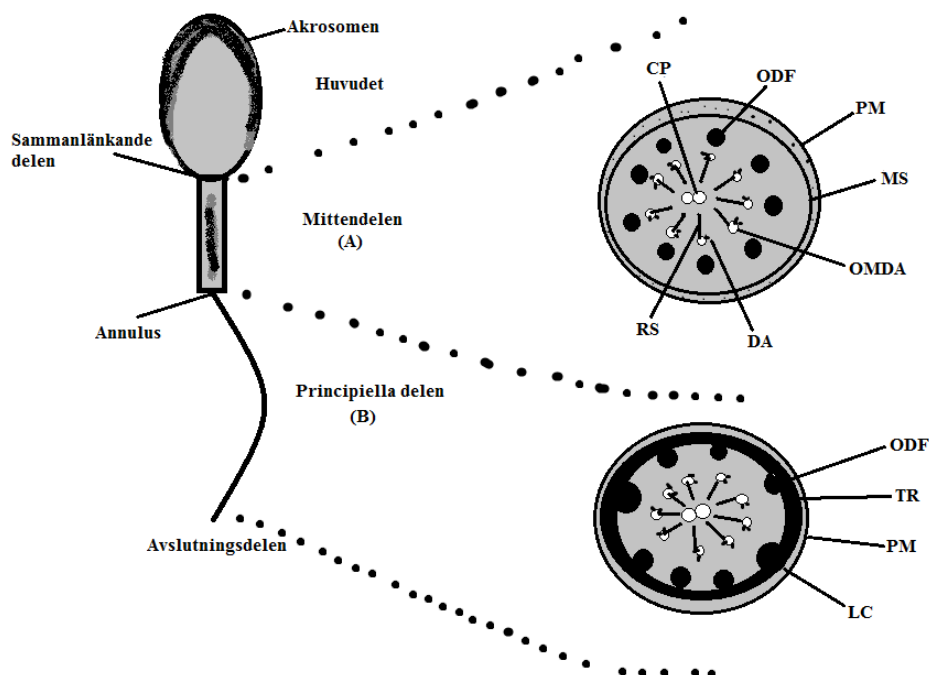
Förutom cytoskelettet finns även motorproteinerna dynein och kinesin vilka kan förflytta sig längs mikrotubulifibrerna. Det är detta som utgör den mekaniska förklaringen till hur flagellen rör sig från sida till sida, och driver sädescellen framåt. Kinesinproteinet rör sig mot mikrotubulins positiva ände, driven av hydrolys av ATP, och transporterar därmed molekyler ut från cellen. Dynein fungerar på likadant sätt med skillnaden att proteinet förflyttar sig mot mikrotubulifibrets negativa ände, och fungerar således som transportör in mot cellens centrum. Kinesin transporterar näringsämnen men är inte förankrat i axoneme vilket dynein är. Det är endast dynein som orsakar rörelse i flagellen (Rice *et al.* 1999).

Det mitokondriella skalet

Sädescellens mitokondrier är uteslutande belägna i mittendelen och huvuddelen. En viktig funktion de fyller här är att producera energi i form av ATP åt cellen. Turner skriver i sin artikel från 2003 att det finns goda skäl att misstänka andra källor än mitokondriella för generation av ATP samt existensen av molekyler anpassade för lagring och transport, av den anledningen att molekylen inte skulle kunna diffundera från mittendelen till axonemes ändar tillräckligt snabbt. En studie av Du och kollegor (1994) visade att produktionen av ATP via oxidativ fosforylering i det mitokondriella skalet inte räcker till för att möta energibehovet i

flagellens yttersta delar. Diffusionshastigheten är för långsam. Vidare har Narisawa och medarbetare (2002) visat att sädesceller från möss kan producera ATP, röra på sig och ha förmåga att befrukta en äggcell trots defekt mitokondriell oxidativ fosforylering genom avsaknad av cytokrom c. Ghaffari & Rostami (2013) har visat att kreatinkinaset kan vara ett viktigt enzym för sädescellernas motilitet genom att lagra och transportera ATP och på så vis bidra till återbildningen av ATP i flagellen.

Det är alltså det mitokondriella skalet som producerar den största delen av sädescellens ATP och denna process kompletteras av kreatinkinaset som kan transportera och lagra energibäraren hela vägen ut till den principiella delens yttersta ände. ATP är helt nödvändigt för att motorproteinet dynein skall kunna röra sig längs med mikrotubulifilamenten i flagellen, men för att detta skall ske krävs komplexa signaltransduktioner som sätter av eller på rörelsen. Det är i dessa mobiltelefonstrålningen kan ha en påverkan som resulterar i att cellen förlorar sin rörelseförmåga.



Figur 1. Sammanfattning av sädescellens rörelseorgan. Flagellen kan uppdelas i fyra delar. Den sammanlänkande delen från vilken basalkroppen utgår; mittendelen (A) där det mitokondriella skalet (MS) finns beläget; den principiella delen (B) vars kopplingspunkt kallas "annulus" med en relativt sett större ansamling av mikrotubuli via kraftiga "kolumner av longitudinala skaft" (LC). Dessa är sammankopplade av transversala revben (TR). Den sista delen kallas avslutningsdelen och har endast den inre axonemeiska delen. I centrum av flagellen finns det centrala paret (CP) mikrotubuli. Från dessa utgår radiala skaft (RS) vilka är polypeptider, dessa kopplas till yttre mikrotubulidubletter (OMDA) vilka i sin tur fungerar som förankring för dyneinproteiner (DA). Hela axonomen omsluts ytterst av plasma membranet (PM). Mittendelen erhåller stadga från tio mikrotubulipar, ett centralt (CP) och nio yttre "outer dense fibers" (ODFs). I den principiella delen finns endast sju ODFs då två av dem har ersatts av LC. Tagen och omritad från (Turner 2003).

Flagellens rörelse

Det är axonemes dyneinproteiner som genererar rörelse i sädescellen genom att förankra sig i ett mikrotubulipar med ena änden och vandra mot den negativa polen av ett annat mikrotubulipar med den andra (Tash 1989). Dessa rörelser styrs troligen via två huvudsakliga signalvägar; cykliskt AMP/ProteinKinas A (cAMP/PKA) och calciumsignaler (Trash & Means 1982). Leclerc och medarbetare (1996) har visat att cykliskt adenosinmonofosfat

(cAMP) kan stimulera sädescellernas rörelse via proteinkinase A (PKA). En känd signalväg för cAMPs aktivering av PKA är att den leder till fosforylering av proteiner associerade till axonemiskt dynein (A-kinas ankarproteiner), vilket inducerar en konformationsförändring i proteinet som leder till rörelse (Noland *et al.* 1987; Paupard *et al.* 1988). Detta verkar vara ett mycket viktigt steg i flagellens rörelse och har visats vara en evolutionärt konserverad molekylär mekanism eftersom den återfinns hos många däggdjursarter så som människor (Carrera *et al.* 1996), apor (Mahony & Gwathmey 1999) och möss (Urner *et al.* 2001).

Ett annat kinas som kan ha en viktig inverkan är proteinkinase C (PKC) vilket tros aktiveras av ökande koncentrationer av calciumjoner (Ca^{2+}) i stället för cAMP. White *et al.* (2007) har visat att sädescellen från sjögurkor blir immotil om PKC inaktiveras. En möjlig förklaring till detta kan vara att PKC aktiveras av Ca^{2+} , och dess aktiverade form minskar inflödet av vidare Ca^{2+} in i axonemet genom en hämmande inverkan på jonkanalerna. Denna verkningsmekanism visades av Wilson och kollegor (2015) genom att man inhiberade PKC och mätte calciumkoncentrationer i leverceller. Spekulativt skulle det kunna ha en liknande roll i sädescellernas flagell.

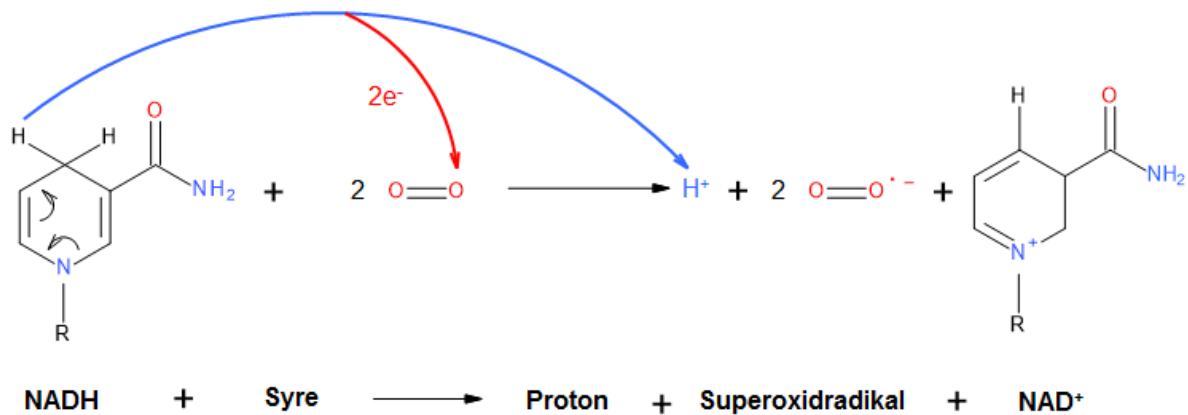
Kalcium kan verka synkroniserat med cAMP varvid fluktuationer av stigande och sjunkande koncentrationer av de båda leder till rörelse i flagellen. Konstant höga koncentrationer av Ca^{2+} för sig eller cAMP för sig leder till att cellen blir immotil. Stigande koncentration av Ca^{2+} har visats leda till stigande koncentration av cAMP, vilket leder till sjunkande koncentrationer av Ca^{2+} i en negativ feedback-mekanism (Darszon *et al.* 1999). Denna dynamiska mekanism fungerar delvis via proteinet calmodulin (CaM). CaM har fyra Ca^{2+} -bindande domäner och när dessa binder till Ca^{2+} initieras en konformationsförändring i proteinet varvid CaM går från en linjär- till alfa-helix struktur och aktiverar enzymet adenylcyklas, vilket katalyserar en reaktion där ATP omvandlas till cAMP (Rahman *et al.* 2014). En konstant hög koncentration av Ca^{2+} innebär att CaM fortsätter att befinna sig i alfa-helix struktur tills proteinet avlänkas från adenylcyklas som då inaktiveras utan att kunna återaktiveras. I det fall då Ca^{2+} koncentrationen sjunker återgår CaM till sin linjära konformation varvid proteinets Ca^{2+} -bindande domäner åter blir tillgängliga och adenylcyklas återgår till sin initiala struktur. Membranenzymet adenylcyklas blir då aktivt och kan aktiveras på nytt av CaMs konformationsförändring till alfa-helix, under inverkan av inflöde av Ca^{2+} -joner.

Det finns alltså bevis för att det är denna signaltransduktion av Ca^{2+} som inverkar på CaM, vilken genomgår strukturförändring och aktiverar adenylcyklas, som i sin tur katalyserar syntesen av cAMP. cAMP utgör sedan starten för nästa signalväg som påbörjas med aktivering av PKA och slutar med fosforylering av dyneinassocierade proteiner vilket inducerar rörelse av motorprotein mot de förankrade mikrotubulinas negativa ändar.

Molekylärbiologisk koppling mellan EMS och motilitet

Ett möjligt första steg i den process där EMS påverkar sädescellernas motilitet är via ökad generation av reaktiva syreföreningar eller ”reactive oxygen species” (ROS). Agarwal *et al.* 2009 visade i sin artikel att sädesceller som utsattes för mobiltelefonstrålning inte bara fick reducerad motilitet utan även förhöjda koncentrationer ROS. Friedman och medarbetare (2007) studerade hur ROS genererades av mobiltelefonstrålning och fann en källa i form av NADH-oxidas beläget i cellmembranet. Reaktionsformeln för bildning av superoxidradikaler via NADH-oxidas har varit känd sedan 70-talet (Badwey & Karnovsky 1979). Friedman visade att denna reaktionsväg stimuleras av elektromagnetism från mobiltelefoner genom att tillföra extra energi som exciterar ett elektropar vilket leder till ökad bildning av superoxidradikaler, protoner och NAD^+ (figur 2). Det är sedan tidigare känt att NADH-oxidas

har en betydande funktion i immunförsvarets signalering och utgör en komponent i en kedja av reaktioner som kan ge upphov till inflammation (Guzik *et al.* 2003). Det finns även tecken som tyder på att superoxidradikalen kan en roll att spela vid lyseringen av bakterier i fagosomen (Slauch 2011). Detta ledde till misstankar om att katjonen kan ha en roll att spela även i sädescellernas signaltransduktioner.



Figur 2. Reaktionsvägen för bildning av superoxidradikaler vilket är en form av ROS.

Stimuleringen av NADH-oxidas kan ge upphov till flera olika typer av påverkan på sädescellerna. Dels har det tidigare i artikeln refererats till Koppers och medarbetare (2008) som visade att ökade nivåer ROS korrelerade negativt med sädescellernas motilitet. Ökande koncentrationer av ROS kan leda till lipidperoxidering av membranlipider, vilket kan vara dödligt för cellen (Barrera 2012). En ökad risk för celldöd har i enlighet med detta påvisats då sädesceller utsatts för EMS (Agarwal *et al.* 2009; De luulis *et al.* 2009; Veerachari *et al.* 2012). Slutligen visade Friedman och kollegor (2007) inte bara att NADH-oxidas stimuleras av EMS utan även att en grupp proteiner kallade extracellulära signalreglerande kinaser (ERKs) aktiveras i ökande omfattning som en konsekvens av den högre produktionen av superoxidradikaler.

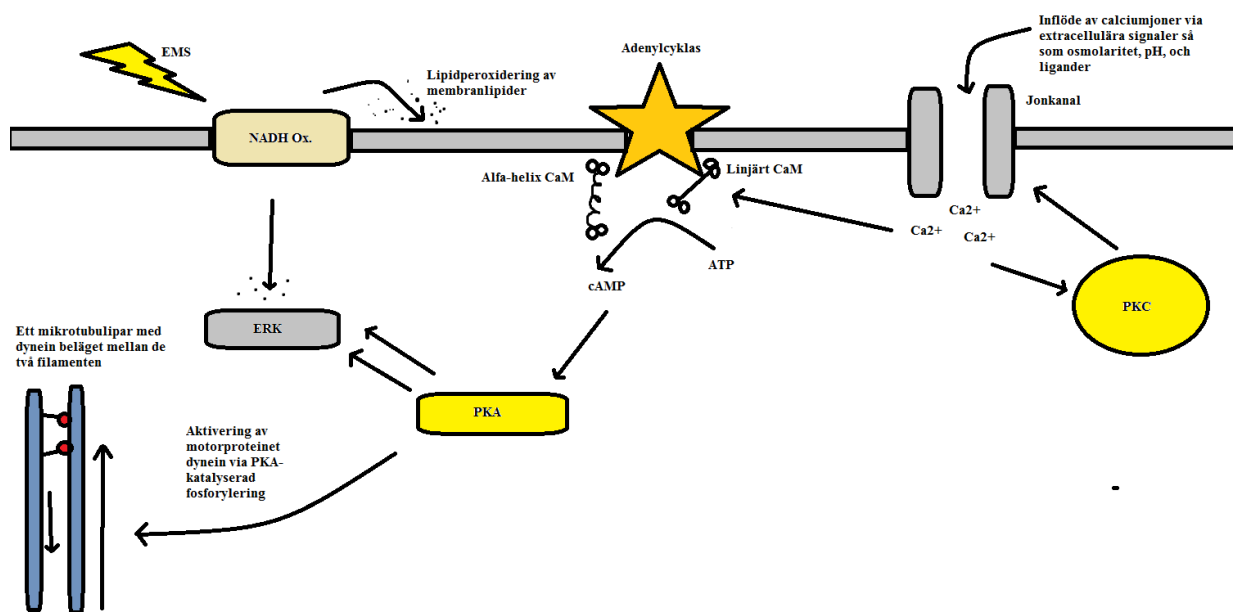
ERKs är en grupp proteiner som utgör en del i MAPK/ERK-transduktionen, vilket är en viktig signalväg i många celler där den fungerar som informationsbärare mellan membranreceptorer och nukleära transkriptionsfaktorer (Orton *et al.* 2005). ERK-proteinerna är involverade i ett stort antal signaltransduktioner. År 2006 fanns det runtomkring 160 kända substrat för ERKs som innefattade transkriptionsfaktorer, proteinkinaser, fosfataser, komponenter i cytoskelettet, molekyler involverade i apoptos, och ett antal molekyler inblandade i intercellkommunikation (Yoon & Seger 2006). En mekanism hos ERKs som är av särskilt intresse för dess inverkan på sädescellerna är deras roll i kapacitering (eller mognad) vilket sker stegvis både i epididymis och som en konsekvens av extracellulära signaler. Dessa registreras vid cellernas vandring samt genom kommunikation med äggcellen vid befruktningen (Awda & Buhr 2010). I denna process förhöjs cellernas rörlighet och akrosomreaktionen påbörjas, det vill säga den process där sädescellen utsöndrar enzymer ur huvuddelen för nedbrytning av zona pellucida och sammansmältning med äggcellen.

Lamirande och Gagnon (2001) har dock visat att det inte räcker med aktivering av endast MAPK/ERK för att fullfölja kapacitering utan signaltransduktionen måste komplimenteras av signaler från cAMP/PKA. Författarna spekulerar i sin artikel om att MAPK/ERK och cAMP/PKA kan fungera tillsammans på ett dynamiskt sätt, inte helt olik den verkningsmekanism som tidigare har beskrivits mellan Ca^{2+} och cAMP för aktiveringen av adenylyklas via CaM. Vidare har Naz och kollegor (1992) producerat bevis som tyder på att

kapaciteringsprocessen som induceras av MAPK/ERK inte minskar den totala motiliteten hos sädescellerna även om den försämrar relaterade parametrar så som progressiv rörlighet, det vill säga rörlighet i en rak linje.

Flera experiment har visat hur PKA kan balansera aktiviteten av ERK eller andra molekyler involverade i MAPK/ERK; vid ökande koncentration av aktiverat ERK kan PKA ha en begränsande inverkan genom en negativ feedback (Cook & McCormick 1993; Pursiheimo *et al.* 2002; Sevetson *et al.* 1993).

Jag föreslår här en hypotes vi kan kalla PKA-hypotesen. EMS från mobiltelefoner ökar aktiviteten av det membranbundna enzymet NADH-oxidas vilket ger ifrån sig superoxidradikaler (figur 2). Dessa stimulerar signaltransduktionen MAPK/ERK vilket leder till ökad aktivitet av kinasproteinerna ERK. Ett annat kinasprotein – PKA – har visats ha en begränsande inverkan på MAPK/ERK och i synnerhet ERK. Genom att ERK överaktiveras åtgår allt mer PKA för att hålla nere aktiviteten av ERK för att på det sättet förhindra för tidig kapacitation. Genom denna process blir allt mindre PKA tillgängligt för att fosforylera proteiner associerade till flagellens mikrotubulipar och dynein så som A kinas ankarproteiner (figur 3). Detta leder till en lägre total motilitet än hos sädesceller som inte exponeras för EMS.



Figur 3. En hypotetisk verkningsmekanism för hur EMS kan minska motiliteten hos sädesceller. PKA-hypotesen postulerar följande. EMS inverkar på membranenzymet NADH-oxidas. Stimuleringen av NADH-oxidas leder till en ökad generation av ROS. ROS initierar dels lipidperoxidering av plasmamembranet och stimulerar dels ökad aktivitet av kinaset ERK. Extracellulära signaler i form av osmolaritet, pH och ligander inducerar inflöde av Ca^{2+} . Dessa aktiverar PKC vilket stänger jonkanalen genom en negativ feedback. Ca^{2+} inverkar på CaMs calciumdomäner vilket leder till en konformationsförändring i proteinet. Denna förändring aktiverar membranenzymet adenylykylas vilket omvandlar ATP till cAMP. Den ökande koncentrationen cAMP aktiverar PKA vilket i sin tur verkar för att nedregulera ERK samt fosforylera axonemalt dynein vilket leder till motorproteinets rörelse mot den ena mikrotubuliändens negativa pol belägen i basalkroppen. Detta orsakar en glidande rörelse mellan de två mikrotubuliparen mellan vilka dyneinet är förankrat, och innebär att flagellen böjer sig. Stigande koncentrationer aktiverat ERK leder till att en större andel PKA går åt till att inaktivera ERK. Detta innebär en svagare förmåga att fosforylisera dyneinproteinerna och uppkomsten av flagellens rörelse.

Material och metoder

Strategi för litteratursök

En systematisk genomsökning av litteraturen gjordes i enlighet med riktlinjerna för systematiska granskningar och meta-analyser utgiven som standarden PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) av Moher och medarbetare (2009). Databasen PubMed genomsöktes efter artiklar (publicerade fram till Oktober 2015) med sökord relaterade till mobiltelefonstrålning och sädesvätska. Följande sökord användes: "mobile phone", "electromagnetism", "radiation", "semen quality", "semen", "fertility" and "motility". Dessa sökord användes i olika variationer i sökmotorn. Artiklar hämtades även från referenslistorna i alla tidigare artiklar innehållandes både systematisk genomsökning och meta-analys av EMS och motilitet *in vitro* (Liu *et al.* 2014 & Adams *et al.* 2014). Dessa systematiska artiklar hittades genom sökordet "mobile phone radiation meta analysis".

Selektionskriterium

Kriterier för inklusion av studier

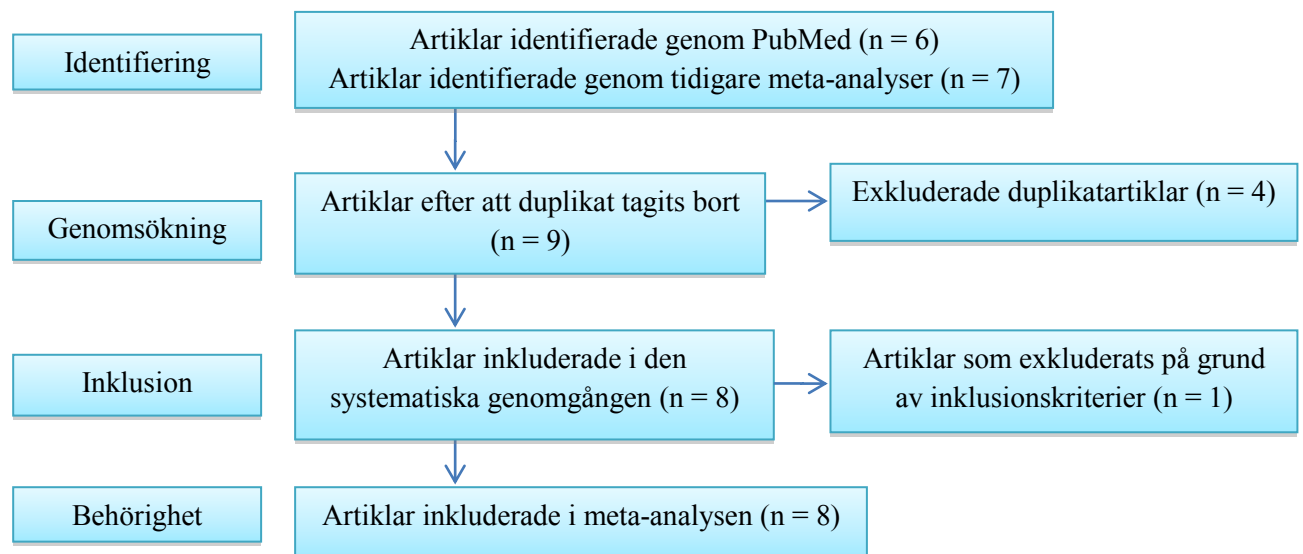
- *Typer av studier:* Studier skrivna på engelska genomförda i laboratoriemiljö *in vitro* på humana sädesceller.
- *Exponeringsvariabler:* Strålningsabsorptionsfrekvens (SAR) med en styrka av ≤ 2 W/kg från mobiltelefoner, exponeringstid samt signalavstånd.
- *Typ av utfall:* Sädescellernas totala motilitet, angiven som procentuell andel rörliga celler, användes som mått på fertiliteten och jämfördes mellan exponerings- och kontrollgrupperna.

Urval av studier

Studier som identifierades med hjälp av de aktuella sökorden bedömdes av författaren med avseende på aktuella inklusionskriterier. Alla studier inkluderades med undantag av Dkhill och kollegor (2011) vilken saknade relevanta data. Ett flödesdiagram för urvalsprocessen kan ses i Figur 4.

Urval av data

Data som extraherades ur studierna var medelvärden, standardavvikelser (om detta ej visades uthämtades standardfel i stället), provstorlek samt strålningsstyrka.



Figur 4. Arbetsgången för den systematiska genomgången.

Statistisk analys

Effektstorlekar

Det finns ett mycket stort antal olika ekvationer för att beräkna en studies effektstorlek (ES) men gemensamt är att värdet ger en indikator på storleken och riktningen av effekten mellan två parametrar. ES kan baseras på skillnaden mellan två medelvärden, procentsatser, eller korrelationer. Vanligtvis anges endast p-värden i statistiska analyser av ett utfall, men ES ger ett värde på inverkan av en parameter på en annan oberoende av huruvida resultatet är statistiskt signifikant eller inte (Durlak 2009). I denna meta-analys kommer en jämförelse av det undersökta materialet att ske i form av en exponeringsgrupp och en kontrollgrupp där effekten uttrycks som en skillnad i medelvärde mellan grupperna. Jacob Cohen beskrev för första gången 1988 sitt sätt att mäta en sådan diskrepans i form av "Cohens d".

$$\text{Cohens } d (d) = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_{\text{pooled}}}$$

Cohens d uttrycker skillnaden i medelvärden mellan exponering och kontroll dividerat med gruppernas sammanvägda standardavvikelse (S_{pooled}), effekttypen som ges av denna beräkning kallas en "standardiserad medeldifferens" (SMD).

$$S_{\text{pooled}} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 1}}$$

I sin bok "Statistical Power Analysis For the Behavioral Sciences" (1988) fortsätter Cohen med att beskriva relevansen för olika effektstorlekar. Där han menar att <0,20 är en mycket svag effekt, runt 0,50 är moderat, och över 0,80 är mycket stark. Cohens d har blivit det vanligaste sättet att mäta SMD med tillägget att ekvationen justeras med "Hedges g".

$$\text{Hedges } g (g) = \left(1 - \frac{3}{4N - 9}\right) \times d$$

Ett problem med Cohens d är att SMD uttrycks med en positiv avvikelse vilket justeras med Hedges g genom att reducera resultatet med 4 % vid n=20 och 2 % vid n=50 (Durlak 2009).

Studievikten

Hjärtat i en meta-analys är förutom effektstorlekarna studievikten. Hedges och Vevea (1998) beskriver i sin artikel hur anledningen till att meta-analysen inte helt enkelt tar fram ett medelvärde av de inkluderade studiernas effektstorlekar är på grund av att hänsyn tas till de enskilda studiernas stickprovsstorlek och standardfel. Detta görs genom att beräkna standardfelet i kvadrat, vilket är lika med effektstorlekens varians.

$$SE_g^2 = v_g = \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 \times n_2} + \frac{g^2}{2 \times (n_1 + n_2)}}$$

Den studiespecifika vikten erhålls genom att ta inversen av den studiespecifika variansen och dividera detta värde med det totala värdet för de summerade studievikterna vilket ger den procentuella studievikten.

$$w_i = \frac{1}{v_{i_g}}$$

Modeller för den meta-analytiska effekten

Det finns tre olika statistiska modeller att utgå ifrån när en meta-analys skall genomföras: den bestämda effektmodellen, den slumpvisa effektmodellen, och den hybridiserade effektmodellen. Teorin för dessa tre modeller beskrevs av Hedges och Vevea (1998). Alla tre modeller grundar sig i att ett numeriskt index för varje studie som skall inkluderas skapas. Detta index uttrycks som en effektstorlek och beräknas på olika sätt beroende på om det undersökta materialet beskriver sina fynd i form av skillnader i standardiserade medelvärden, korrelationskoefficienter, riskkvoter eller oddskvoter. De studiespecifika effektstorlekarna kombineras sedan i en sammanfattande effekt, vilket även kalas för den meta-analytiska effektstorleken.

Den huvudsakliga skillnaden föreligger mellan den bestämda och den slumpvisa modellen. I den bestämda effektmodellen behandlas de undersökta parametrarna som om de vore bestämda – men okända – konstanter. Den slumpvisa effektmodellen använder en annorlunda premis; i denna modell behandlas effektstorlekarna av de undersökta parametrarna som om de vore ett slumpvist stickprov från en population av möjliga effektstorlekar varvid parametrarna kan ses som normalfördelade till skillnad från konstanter. Den vanligaste metoden för att använda den slumpvisa effektmodellen kallas ”DerSimonian och Laird-metoden” efter författarna som använde den för första gången (DerSimonian & Laird 1986). Hedges och Vivea skriver i sin artikel från 1998 att ett sätt att utröna vilken av de två modellerna som ger den mest korrekta beskrivningen av verkligheten är att inferera från heterogeniteten i materialet man studerar. I det fall att samtliga, eller majoriteten av de undersökta studierna uppvisar en homogen effektstorlek tyder informationen på att de undersökta parametrarna bör behandlas som konstanter, varvid den bestämda effektmodellen ger den mest korrekta beskrivningen av materialet. I det fallet att heterogeniteten är stor (>40 %) passar den slumpvisa effektmodellen bättre eftersom det indikerar en stor variation i effektstorleken mellan de två undersökta parametrarna.

Homo- och heterogenitet i studiematerialet

Huruvida effektstorleken mellan de två undersökta parametrarna i en meta-analys är heterogen eller inte besvarar frågan om alla studier i det undersökta materialet beskriver samma effekt. Testet ställs upp som en nollhypotes i form av ”alla studier beskriver samma effekt”. Hypotesen testas med Cochrans Q-test vilket görs genom att summera kvadraten av avvikelserna mellan varje studies estimat av effektstorleken och den sammanvägda meta-analytiska effektstorleken. P-värden för testet erhålls genom att jämföra testet med ett chi-square med k-1 frihetsgrader, där k är antalet studier (Cochran 1954).

$$Q = \left(\sum_{i=1}^k w_i \times g_i^2 \right) - \frac{\sum_{i=1}^k (w_i \times g_i)^2}{\sum_{i=1}^k w_i}$$

En vidareutveckling av Cochrans Q-test föreslogs (2003) av Higgins och medarbetare. I artikeln argumenterar författarna för att Q-testet har svagheter i fall där studiematerialet är väldigt stort, eftersom heterogeniteten överskattas i dessa fall. De menar även att testet har bristande förmåga att identifiera heterogenitet i ett väldigt litet urval. Av dessa skäl föreslogs en vidareutveckling av testet som idag har blivit praxis att använda för meta-analyser, Higgins I²-test.

$$I^2 = \frac{Q - df}{Q} \times 100$$

I^2 -testet beskriver den totala procentuella variationen i studiematerialet som beror på en heterogen effektstorlek i stället för slump. Ett värde på 0 % indikerar att resultatet beskriver en homogen effekt. Stigande värden innebär en ökad grad av heterogenitet. Testet innebär förutom en större precision en större intuitiv förståelse för graden av heterogenitet i ett material och det går även lättare att jämföra mellan olika studier som använt olika sätt att beräkna effektstorlek.

Meta-analysen

I denna studie valdes den bestämda effektmodellen. Effektstorlekar inhämtades i form av SMD och beräknades som Cohens d vilket sedan justerades med Hedges g . Den meta-analytiska effektstorleken beräknades i enlighet med de riktlinjer som presenterats av Hedges och Vevea 1998.

$$\bar{g} = \frac{\sum_{i=1}^k w_i \times g_i}{\sum_{i=1}^k w_i}$$

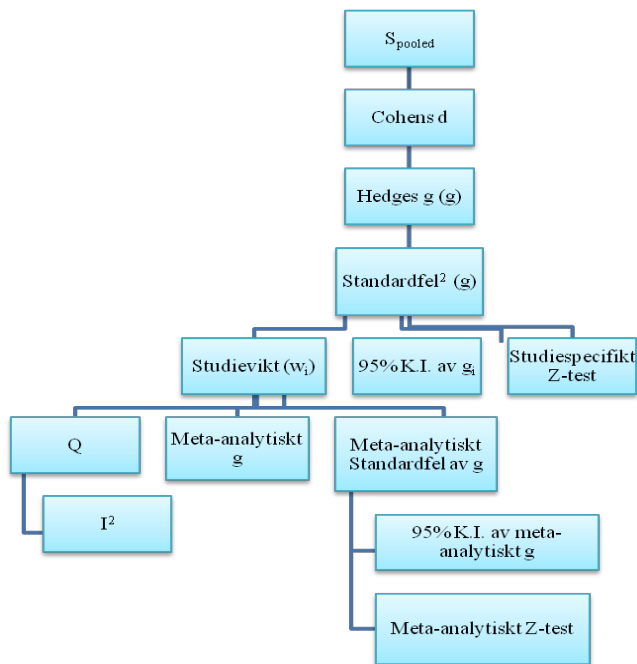
Konfidensintervall med 95 % säkerhet beräknades både för de enskilda studierna och för meta-analysen, med effektstorlekarna och standardfelen som variabler. Avslutningsvis beräknades effektstorlekarnas statistiska signifikans genom att ta fram kritiska Z -värden.

$$Z_{g_i} = \frac{g_i}{SE_{g_i}} \quad Z_{\bar{g}} = \frac{\bar{g}}{SE_{\bar{g}}}$$

Grafisk representation

Lewis och Clarke (2001) har beskrivit figurer av typen "forest plot" som lämpliga för att representera meta-analytiska data. I artikeln skriver de hur en forest plot skall vara en figur där effektstorlek visas på x-axeln. Genom 0-kordinaten på x-axeln skall en linje utgå längs y-axeln för att visa linjen av ingen effekt. På sidorna om linjen visas negativ och positiv effektstorlek. I koordinatsystemet visas sedan de inkluderade studierna i form av en cirkel eller fyrkant vars storlek korrelerar med studiens vikt. På sidorna om cirkeln eller fyrkanten sträcker sig studiens konfidensintervall. Om konfidensintervallet korsar 0-linjen är p -värdet för effektstorleken $>0,05$. Den meta-analytiska effektstorleken skall visas längst ner i figuren i form av en svart stjärna. Detta kan ses i aktuell forest plot vilken konstruerades med mjukvaruprogrammet Review Manager 5.3 och presenteras i figur 6.

De olika stegen i den statistiska analysen sammanfattas i ett flödesdiagram i figur 5. I det första steget uthämtas sammanvägt standardavvikelse för prov och kontroll i varje studie. Detta används för att beräkna effektstorlekar, först i form av Cohens d och sedan justerat i form av Hedges g . De studiespecifika effektstorlekarna används slutligen för att ta fram en meta-analytisk effektstorlek. Effektstorlekarna för de individuella studierna vägs med hjälp av standardfelet och justerar på det viset respektive studies inverkan baserat på säkerheten i resultaten. Z -test görs både för de individuella studierna samt för den sammanvägda meta-analysen för att ta fram p -värden med avseende på effektstorlekarna. Den slutgiltiga beräkningen utförs för att testa heterogeniteten i materialet med Higgins I^2 -test.



Figur 5. Flödesdiagram för den matematiska arbetsgången.

Resultat

Beskrivning av studier

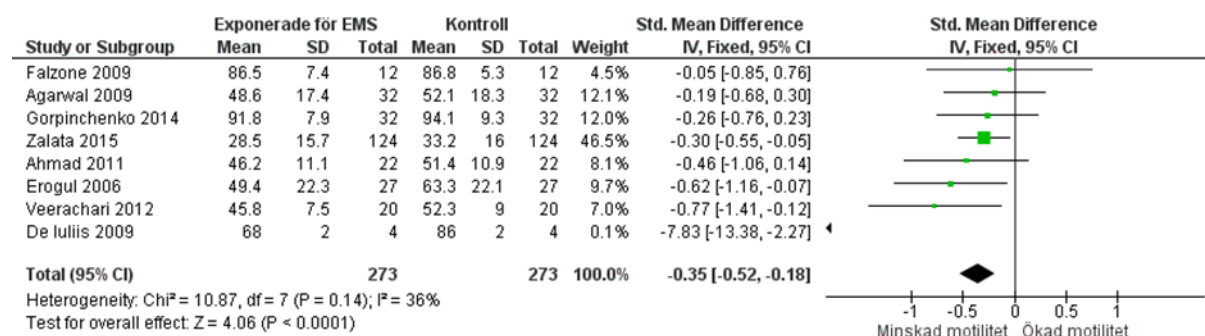
Granskningsprocessen av artiklarna kan ses i flödesdiagrammet i Figur 4. Totalt nio artiklar uppfyllde kriterierna för ”typer av studier”, en av artiklarna valdes bort eftersom den inte uppfyllde riktlinjerna i ”typer av utfall” då det inte gick att utläsa exakta data för medelvärden, standardavvikelser, eller motsvarande data som kunnat ersätta dessa. De åtta studier som inkluderades i analysen baserades på 546 stickprov från 273 män uppdelade i två grupper av kontroll och exponering. Alla studier utsatte proven för strålning under ≤ 2 timmar förutom De luliis och kollegor (2009) (16 timmar) samt Gorpinchenko och medarbetare (2014) (en uppringning var 10e minut i fem timmar). Den anmärkningsvärt långa exponeringstiden i De luliis studie kan förklara experimentets stora effektstorlek vilket dock haft låg inverkan i den sammanvägda analysen eftersom studiens vikt endast uppgick till 0,1 % av det undersökta materialet.

Tabell 1. Egenskaper hos studierna inkluderade i meta-analysen och den systematiska genomgången

Studie	Land	Deltagare	Ålder	Radiovågor	Analysmetod	Skillnad i medelvärde
Erogul <i>et al.</i> 2006	Turkiet	27 prov från friska donatorer	27 ± 3,2	900 MHz 5 minuter.	WHO kriterium 4e versionen.	-13,90%
Agarwal <i>et al.</i> 2009	USA	23 friska- och 9 med fertilitetsproblemer	-	850 MHz 60 minuter. SAR = 1.46 W/kg	WHO kriterium 4e versionen.	-3,49%
De luliis <i>et al.</i> 2009	Australien	20 friska donatorer	24,1 ± 1,1	1,8 GHz 16 timmar.	-	-18,00%

Author	Country	Sample Size	Age Range	Exposure	Control	Outcome	Effect Size
Falzone <i>et al.</i> 2009	Sydafrika	12 prov från friska donatorer	-	900 MHz 2 timmar.	WHO kriterium 4e versionen.	SAR = 1 W/kg	-0,30%
Ahmad <i>et al.</i> 2011	Pakistan	22 prov från friska donatorer	20-35	900 MHz 60 minuter.	WHO kriterium 4e versionen.	SAR = 2 W/kg Nokia 1112 Ufone.	-5,00%
Veerachari <i>et al.</i> 2012	Indien	20 prov från friska donatorer	-	900 MHz 60 minuter.	WHO kriterium 5e versionen.	SAR = 1.46 W/kg.	-6,55%
Gorpinchenko <i>et al.</i> 2014	Ukraina	32 prov från friska donatorer	27,5 ± 3.5	900 MHz 5 timmar.	WHO kriterium 5e versionen.	SAR = 1.46 W/kg.	-2,30%
Zalata <i>et al.</i> 2015	Egypten	124 prov från friska donatorer.	-	850 MHz 60 minuter.	WHO kriterium 5e versionen.	SAR = 1,46	-4,65%

Effektstorleken för de inkluderade studierna var mellan -0,045 (Falzone *et al.* 2009) och -7,830 (De luliis *et al.* 2009). Alla studier påvisade en negativ medeleffekt mellan EMS och total motilitet men endast hälften av studierna (Erogul *et al.* 2006; De luliis *et al.* 2009; Veerachari *et al.* 2012; Zalata *et al.* 2015) hade en effekt som var statistiskt signifikant. Meta-analysen visade att EMS leder till reducerad motilitet hos mänskliga sädesceller med en medeleffekt på -0,358 samt ett p-värde på 0,00007. Meta-analysens heterogenitet uppgick till 36% med Higgins I²-test men reducerades till 0 % vid exkludering av De luliis och medarbetare (2009) (effektstorlek = -0,35; n=269; p=0,0001), vilken var den enda studien som exponerat sädescellerna för strålning i mer än 2 timmar utan avbrott. Resultaten redovisas grafiskt med en forest plot i figur 6. Notera att De luliis och medarbetare (2009) ej syns på bilden av den anledningen att studien har en så kraftigt negativ effektstorlek att den inte kan ses på en skala av 2.



Figur 6. Forest plot för effektstorlekar och deras 95 %-iga konfidensintervall. De gröna fyrkanterna representerar de enskilda studierna med omkringliggande standardfel. Den svarta diamanten representerar de enskilda studierna sammanvägda i ett meta-analytiskt värde. Storleken på figurerna korrelerar med vikten vilket är representativt för storleken på urvalet.

Nedan följer en sammanställning av rådata för den statistiska analysen samt varje enskild

studies p-värde. Endast hälften av studierna har signifikanta effektstorlekar, men sammanvägda uppvisar de en stark negativ koppling mellan den oberoende variabeln EMS och den beroende variabeln motilitet ($p = 0,00007$). Den genomsnittliga reduktionen i total motilitet för ett SAR av 1,46 W/kg under 60 minuter var -4,90 % (Agarwal *et al.* 2009; Veerachari *et al.* 2012; Zalata *et al.* 2015). Effektstorleken för dessa tre studier var -0,33, [-0,54, -0,12] samt $p=0,002$ med en heterogenitet av $I^2=7\%$.

Tabell 2. Resultat av meta-analysen av effekten mellan elektromagnetism och sädescellernas totala motilitet

Studie	Hedges g	Standardfel	Vikt	Z-värde	p-värde
Erogul <i>et al.</i> 2006	-0,618	± 0,279	9,7%	-2,22	0,026
Agarwal <i>et al.</i> 2009	-0,193	± 0,251	12,1%	-0,77	0,447
De luliis <i>et al.</i> 2009	-7,830	± 2,080	0,1%	-3,76	0,00017
Falzone <i>et al.</i> 2009	-0,045	± 0,408	4,5%	-0,11	0,920
Ahmad <i>et al.</i> 2011	-0,460	± 0,306	8,1%	-1,51	0,119
Veerachari <i>et al.</i> 2012	-0,759	± 0,329	7,0%	-2,31	0,020
Gorpinchenko <i>et al.</i> 2014	-0,265	± 0,251	12,0%	-1,05	0,294
Zalata <i>et al.</i> 2015	-0,292	± 0,128	46,5%	-2,29	0,022
Meta-analysens resultat	-0,350	± 0,087	100%	-4,10	0,00007

Diskussion

I denna meta-analys sammanfattades all forskning som undersökt kopplingen mellan EMS från mobiltelefoner och dess inverkan på sädescellernas motilitet. Samtliga av de åtta undersökta studierna uppvisade en negativ effektstorlek men endast hälften av dem hade en negativ effekt som var statistiskt signifikant. Den sammanvägda meta-analytiska effektstorleken var negativ (-0,350, $p=0,00007$) vilket indikerar att mobiltelefonstrålning kan ha en inverkan på sädesceller *in vitro* som leder till att de blir mindre rörliga. Eftersom heterogeniteten i det undersökta materialet var så låg användes en bestämd effektmodell för meta-analysen.

PKA-hypotesen: en möjlig molekylär förklaring

En förklaringsmekanism för den minskade motiliteten som har visats i meta-analysen (figur 6) har presenterats i aktuell studie (figur 3). Hypotesen postulerar att EMS påverkar membranenzymet NADH-oxidas till att generera ökande mängder superoxidradikaler (figur 2). Dessa katjoner orsakar dels membranskador genom lipidperoxidering och orsakar dels förhöjda koncentrationer av aktiverat ERK. En välkänd signalväg som är viktig för sädescellen kapacitering är MAPK/ERK vilken kan nedregleras av PKA i en negativ feedback. En viktig process vid aktiveringen av flagellens rörelse har identifierats i form av att proteiner associerade till mikrotubuli fosforyleras av PKA. Då EMS bidrar till ökade nivåer av aktiverat ERK går allt mer aktiverat PKA åt till att bibehålla homeostasis i cellen för att förhindra för tidig kapacitering. Detta leder till att det blir allt mindre PKA tillgängligt för att fosforylera proteiner associerade till flagellen, vilket föreslås utgöra förklaringen till den minskade totala motilitet som har visats i studien.

Svagheter

Meta-analysen undersökte endast inverkan i laboratoriemiljö och kan därför ej extrapoleras till biologiska system *in vivo* eftersom det kan finnas skyddande enzymer, antioxidanter och

vävnader som minskar strålningens inverkan på cellerna (Koppers *et al.* 2008). En svaghet kan vara att de olika studierna har haft varierande avstånd mellan strålningskällan och provet, vilket har varierat från 2,5 cm till 10 cm. En ytterligare möjlighet till osäkerhet är att forskare är mindre villiga att publicera studier som visar resultat utan statistisk signifikans.

Jämförelser med tidigare studier

Tidigare meta-analyser av kopplingen mellan EMS och motilitet har gjorts av Adams och medarbetare (2014) samt Liu och medarbetare (2014). Vid studien utförd av Adams och kollegor (2014) *in vitro* beräknades ett medelvärde på effektstorleken till -8,1 dock utan statistisk signifikans [-17,08, 0,78] och heterogeniteten uppgick till $I^2=91,2$ %. En heterogenitet som överstiger 75 % tilldelas den starkaste graden variation i Higgins graderingstabell och kategoriseras som ”substantiell”. Med ett sådant värde är det svårt att dra slutsatser om ett resultat eftersom effekten kan bero på variation i sekundära variabler. Liu och medarbetare (2014) redovisade en effektstorlek på -4,11 med $p=0,04$, $I^2=22$ % och ett stickprov på $n=82$. I den här meta-analysen redovisas det hittills tyngsta beviset i frågan rörande huruvida EMS påverkar sädescellernas motilitet negativt. Vid exkludering av De luliis och kollegor (2009) redovisas ett urval på $n=269$, en effektstorlek på -0,35 ($p=0,0001$), och en heterogenitet på $I^2=0$ %.

Slutsats

Den aktuella meta-analysen talar för att strålning från mobiltelefoner sannolikt kan minska fertiliteten hos friska män genom att verka hämmande på sädescellernas rörelseförmåga, vilken har visats korrelera med förmågan till att befrukta en äggcell (Love 2011; David *et al.* 2015). Således förkastas nollhypotesen och alternativhypotesen accepteras på grund av att det ej gått att förkasta den tidigare med statistisk signifikans. Ytterligare studier är nödvändiga för att konfirmera detta.

PKA-hypotesen är ett möjligt teoretiskt koncept för hur mobiltelefonstrålning inverkar på sädescellens molekylärbiologi på ett sätt som minskar den totala motiliteten. Denna förklaringsmodell är i linje med modern forskning men behöver kompletteras med mer experimentella data som visar huruvida motiliteten kan bibehållas om man kontinuerligt tillsätter PKA till sädesceller som exponeras för EMS.

Tack

Jag önskar tacka ”The Campbell Collaboration” för utmärkta föreläsningar i hur man planerar och genomför en meta-analys samt hur man bäst redovisar resultaten grafiskt, vilka de valt att ladda upp gratis till allmän åskådan. Jag vill även tacka min handledare Maria Jönsson för värdefulla påpekanden och förbättringsförslag.

Referenser

- Adams JA, Galloway TS, Mondal D, Esteves SC, Mathews F. 2014. Effect of mobile telephones on sperm quality: A Systematic review and meta-analysis. *Environmental International*, doi 10.1016/j.envint.2014.04.015.
- Agarwal A, Desai NR, Makker K, Varghese A, Mouradi R, Sabanegh E, Sharma R. 2009. Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an *in vitro* pilot study. *Fertility and Sterility*, doi

- 10.1016/j.fertnstert.2008.08.022.
- Agarwal A, Deepinder F, Sharma RK, Ranga G, Li J. 2008. Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: an observational study. *Fertility and Sterility*, doi 10.1016/j.fertnstert.2007.01.166.
- Ahmad L, Baig NM. 2011. Mobile Phone RF-EMW Exposure to Human Spermatozoa: An in vitro Study. *Pakistan Journal of Zoology*, doi 10.12688/f1000research.2-40.v1.
- Aitken RJ, Koopman P, Lewis SEM. 2004. Seeds of concern. *Nature Publishing Group*, doi 10.1038/432048a.
- Apple Inc. 2015. iPhone 6 RF Exposure Information. WWW-dokument: <http://www.apple.com/legal/rfexposure/iphone7,2/en/>. Hämtad 2015-10-30.
- Awda BJ, Buhr MM. 2010. Extracellular signal-regulated kinases (ERKs) pathway and reactive oxygen species regulate tyrosine phosphorylation in capacitating boar spermatozoa. *Biology of Reproduction*, doi 10.1095/biolreprod.109.082008.
- Badwey JA, Karnovsky ML. 1979. Production of Superoxide and Hydrogen Peroxide by an NADH-Oxidase in Guinea Pig Polymorphonuclear Leukocytes. *The Journal of Biological Chemistry* **254**: 11530-11537.
- Barrera G. 2012. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. *ISRN Oncology*, doi <http://dx.doi.org/10.5402/2012/137289>.
- Carrera A, Moos J, Ning XP, Gerton GL, Tesarik J, Kopf GS, Moss SB. 1996. Regulation of protein tyrosine phosphorylation in human sperm by calcium/calmodulin-dependent mechanism: identification of A kinase anchor proteins as major substrates for tyrosine phosphorylation. *Developmental Biology*, doi 10.1006/dbio.1996.0301.
- Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. 1992. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Biomedical Journal*, doi 10.1136/bmj.305.6854.609.
- Cochran WG. 1954. The combination of estimates from different experiments. *Biometrics*, doi 10.2307/3001666.
- Cohen J. 1988. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. 2:a uppl. Lawrence Erlbaum Associates, New Jersey.
- Cook SJ, McCormick F. 1993. Inhibition by cAMP of Ras-dependent activation of Raf. *Science*, doi 10.1126/science.7694367.
- Darson A, Labarca P, Nishigaki T, Espinosa F. 1999. Ion Channels in Sperm Physiology. *Physiological Reviews* **79**: 481-510.
- Dasdag S, Ketani MA, Akdag Z, Ersay AR, Sari I, Demirtas ÖC, Celik MS. 1999. Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urological Research*, doi 10.1007/s002400050113.
- Dasdag S, Akdag MZ, Aksen F, Yilmaz F, Bashan M, Dasdag MM, Celik MS. 2003. Whole Body Exposure of Rats to Microwaves Emitted From a Cell Phone Does Not Affect the Testes. *Bioelectromagnetism*, doi 10.1002/bem.10083.
- David I, Kohnke P, Lagriffoul G, Praud O, Plourboue F, Degond P, Druart X. 2015. Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*, doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.08.006>
- DerSimonian R, Laird N. 1986. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled clinical* **7**: 177-188.
- De luliis GN, Newey RJ, King BV, Aitken RJ. 2009. Mobile Phone Radiation Induces Reactive Oxygen Species Production and DNA Damage in Human Spermatozoa In Vitro. *PLoS One*, doi 10.1371/annotation/9a8a0172-3850-4059-b852-72c330769c1b.
- Du J, Tao J, Kleinhans FW, Mazur P, Critser JK. 1994. Water volume and osmotic behavior of mouse spermatozoa determined by electron paramagnetic resonance. *Journal of Reproductive Fertility*, doi 10.1530/jrf.0.1010037.
- Durlak JA. 2009. How to Select, Calculate, and Interpret Effect Sizes. *Journal of Pediatric Psychology*, doi 10.1093/jpepsy/jsp004.

- Erogul O, Oztas E, Yildirim I, Kir T, Aydur E, Komesli G, Irkilata HC, Irmak MK, Peker AF. 2006. Effects of Electromagnetic Radiation from a Cellular Phone on Human Sperm Motility: An In Vitro Study. *Archives of Medical Research*, doi 10.1016/j.arcmed.2006.05.003.
- Falzone N, Huyser C, Fourie F, Toivo T, Leszczynski D, Franken D. 2008. In Vitro Effect of Pulsed 900 MHz GSM Radiation on Mitochondrial Membrane Potential and Motility of Human Spermatazoa. *Bioelectromagnetics*, doi 10.1002/bem.20390.
- Friedman J, Kraus S, Hauptman Y, Schiff Y, Seger R. 2007. Mechanism of short-term ERK activation by electromagnetic fields at mobile phone frequencies. *Biochemical Journal*, doi 10.1042/BJ20061653.
- Ghaffari MA, Rostami M. 2013. The effect of cigarette smoking on human sperm creatine kinase activity: as an ATP buffering system in sperm. *International Journal of Fertility & Sterility* **6**: 258-265.
- Gorpinchenko I, Nikitin O, Banyra O, Shulyak A. 2014. The influence of direct mobile phone radiation on sperm quality. *Central European Journal of Urology*, doi 10.5173/cej.2014.01.art14.
- Guzik TJ, Korbut R, Adamek-Guzik T. 2003. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of Physiological Pharmacology* **54**: 469-487.
- Hedges LV & Olkin I. 1985. *Statistical Methods for Meta-Analysis*. 1:a uppl. Academic Press, INC, Orlando.
- Hedges LV, Vevea LJ. 1998. Fixed- and Random-Effects Models in Meta-Analysis. *Psychological Methods* **3**: 486-504.
- Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. 2003. Measuring inconsistency in meta-analyses. *British Medical Journal*, doi 10.1136/bmj.327.7414.557.
- Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM. 1985. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *British medical journal* **14**: 1693-1697.
- Irvine S, Cawood E, Richardson D, MacDonald E, Aitken J. 1996. Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *British Medical Journal*, doi <http://dx.doi.org.ezproxy.its.uu.se/10.1136/bmj.312.7029.467>
- Kesari KK, Kumar S, Nirala J, Siddiqui MH, Behari J. 2013. Biophysical Evaluation of Radiofrequency Electromagnetic Field Effects on Male Reproductive Pattern. *Cellular Biochemical Biophysics*, doi 10.1007/s12013-012-9414-6.
- Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. 2001. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and sterility*, doi [http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)01679-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282(00)01679-4).
- Koppers AJ, De luliis GN, Finnie JM, McLaughlin EA, Aitken RJ. 2008. Significance of Mitochondrial Reactive Oxygen Species in the Generation of Oxidative Stress in Spermatazoa. *Endocrine Research*, doi <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2007-2616#sthash.LR7V0kKM.dpuf>.
- Lambert PA, Watt EM, Desai KM. 1985. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *British Medical Journal*, doi <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.291.6510.1693>.
- Lamirande ED, Gagnon C. 2001. The extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway is involved in human sperm function and modulated by the superoxide anion. *Molecular Human Reproduction*, doi 10.1093/molehr/8.2.124.
- Leclerc P, Lamirande ED, Gagnon C. 1996. Cyclic Adenosine 3', 5' Monophosphate-Dependent Regulation of Protein Tyrosine Phosphorylation in Relation to Human Sperm Capacitation and Motility. *Biology of Reproduction*, doi 10/1996; 55(3):684-92.
- Lewis S, Clarke M. 2001. Forest plots: trying to see the wood and the trees. *British Medical Journal* **322**: 1479-1480.

- Lewis SEM, Aitken RJ. 2005. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. *Cell and Tissue Research*, doi 10.1007/s00441-005-1097-5.
- Liu K, Li Y, Zhang G, Liu J, Cao J, Ao L, Zhang S. 2014. Association between mobile phone use and semen quality: a systematic review and meta-analysis. *American Society of Andrology*, doi 10.1111/j.2047-2927.2014.00205.x.
- Love CC. 2011. Relationship between sperm motility, morphology and the fertility of stallions. *Theriogenology*, doi 10.1016/j.theriogenology.2011.03.007.
- Mahony MC, Gwathmey T. 1999. Protein tyrosine phosphorylation during hyperactivated motility of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) spermatozoa. *Biology of Reproduction*, doi 10.1095/biolreprod60.5.1239.
- Narisawa S, Hect NB, Goldberg E, Boatright KM, Reed JC, Millan JL. 2002. Testis-specific cytochrome c-null mice produce functional sperm but undergo early testicular atrophy. *Molecular and Cellular Biology*, doi 10.1128/MCB.22.15.5554-5562.2002.
- Naz RK, Ahmad K, Kaplan P. 1992. Expression and function of ras proto-oncogene proteins in human sperm cells. *Journal of Cell Science* **102**: 487-494.
- Noland TD, Abumrad NA, Beth AH, Garbers DL. 1987. Protein phosphorylation in intact bovine epididymal spermatozoa: identification of the type II regulatory subunit of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase as an endogenous phosphoprotein. *Biology of Reproduction*, doi 10.1095/biolreprod37.1.171.
- Orton RJ, Sturm OE, Vyshemirsky V, Calder M, Gilbert DR, Kolch W. 2005. Computational modelling of the receptor-tyrosine-kinase-activated MAPK pathway. *Biochemical Journal*, doi 10.1042/BJ20050908.
- Paupard MC, MacLeod J, Wasco W, Orr GA. 1988. Major 56,000-dalton, soluble phosphoprotein present in bovine sperm is the regulatory subunit of a type II cAMP-dependent protein kinase. *Journal of Cellular Biochemistry*, doi 10.1002/jcb.240370204.
- Pursiheimo JP, Kieksi A, Jalkanen M, Salmivirta M. 2002. Protein kinase A balances the growth factor-induced Ras/ERK signaling. *FEB letters*, doi 10.1016/S0014-5793(02)02864-8.
- Rahman MS, Kwon WS, Pang MG. 2014. Calcium Influx and Male Fertility in the Context of the Sperm Proteome: An Update. *BioMed Research International*, doi <http://dx.doi.org/10.1155/2014/841615>.
- Rice S, Lin AW, Safer D, Hart CL, Naber N, Carragher BO, Cain SM, Pechatnikova E, Wilson-Kubalek EM, Whittaker M, Pate E, Cooke R, Taylor EW, Milligan RA, Vale RD. 1999. A structural change in the kinesin motor protein that drives motility. *Nature*, doi 10.1038/45483.
- Sage C. 2012. The similar effects of low-dose ionizing radiation and non-ionizing radiation from background environmental levels of exposure. *The Environmentalist*, doi 10.1007/s10669-012-9390-9.
- Sevetson BR, Kong X, Lawrence JC jr. 1993. Increasing cAMP attenuates activation of mitogen-activated protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **90**: 10305-10309.
- Slauch JM. 2011. How does the oxidative burst of macrophages kill bacteria? Still an open question. *Molecular Microbiology*, doi 10.1111/j.1365-2958.2011.07612.x.
- Tash JS. 1989. Protein phosphorylation: The second messenger signal transducer of flagellar motility. *Cytoskeleton*, doi 10.1002/cm.970140303.
- Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, Lopes P, Tabaste JM, Spira A. 1991. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1 850 000) of three French regions (1988-1989). *Human Reproduction* **6**: 811-816.
- Trash JS, Means AR. 1982. Regulation of protein phosphorylation and motility of sperm by cyclic adenosine monophosphate and calcium. *Biology of Reproduction*, doi 10.1095/biolreprod26.4.745.

- Turner RM. 2003. Tales From the Tail: What Do We Really Know About Sperm Motility? *Journal of Andrology*, doi 10.1002/j.1939-4640.2003.tb03123.x.
- Uner F, Leppens-Luisier G, Sakkas D. 2001. Protein tyrosine phosphorylation in sperm during gamete interaction in the mouse: the influence of glucose. *Biology of Reproduction*, doi 10.1095/biolreprod64.5.1350.
- Veerachari SB, Vasani SS. 2012. Mobile Phone Electromagnetic Waves and Its Effect on Human Ejaculated Semen: An in vitro Study. *International Journal of Infertility Fetal Medicine*, doi 10.5005/jp-journals-10016-1034.
- Wassarman P, Chen J, Cohen N, Litscher E, Liu C, Qi H, Williams Z. 1999. Structure and function of the mammalian egg zona pellucida. *Journal of Experimental Zoology* doi 10.1002/(SICI)1097-010X(19991015)285:3<251::AID-JEZ8>3.0.CO;2-1.
- Wilson CH, Ali ES, Scrimgeour N, Martin AM, Hua J, Tallis GA, Rychkov GY, Barritt GJ. 2015. Steatosis inhibits liver cell store-operated Ca^{2+} entry and reduces ER Ca^{2+} through a protein kinase C-dependent mechanism. *Biochemical Journal*, doi 10.1042/BJ20140881.
- White D, de Lamirande E, Gagnon C. 2007. Protein kinase C is an important signaling mediator associated with motility of intact sea urchin spermatozoa. *Journal of Experimental Biology*, doi 10.1242/jeb.007013.
- Yoon S, Seger R. 2006. The extracellular signal-regulated kinase: Multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors*, doi 10.1080/02699050500284218.
- Yildirim ME, Kaynar M, Badem H, Cavis M, Karatas OF, Cimentepe E. 2015. What is harmful for male fertility: Cell phone or the wireless internet?. *The Kaoshiung Journal of Medical Sciences*, doi 10.1016/j.kjms.2015.06.006.
- Zalata A, Samanoudy AZE, Shaalan D, Baiomy YE, Mostafa T. 2015. In Vitro Effect of Cell Phone Radiation on Motility, DNA Fragmentation and Clusterin Gene Expression in Human Sperm. *Journal of Fertility and Sterility* **9**: 129-136.

Elektromagnetisk strålning från mobiltelefoner och dess inverkan på könscellernas rörelseförmåga hos människor: en systematisk genomgång och meta-analys: etisk bilaga

Olof Almqvist

Självständigt arbete i biologi 2015

Etiska implikationer

Studien har tittat på den inverkan som finns mellan mobiltelefonstrålning och människans könsceller med avseende på de manliga. Kvantitativa fynd har gjorts som tyder på att en negativ korrelation föreligger. En hypotes av lagts fram för hur den negativa korrelationen skapas på en molekylärbiologisk nivå.

Konsekvenser av studieresultaten

Författaren har funnit en sannolik koppling mellan mobiltelefonstrålning och sjunkande fertilitet hos män. Ett inte helt orimligt påstående är att de flesta män inte känner till denna effekt, och att de flesta män inte önskar en effekt som minskar deras fertilitet. Ett ansvar finns därmed hos såväl författaren som de som läser och instämmer i resultaten samt slutsatsen för att förmedla dessa lärdomar så att de som utsätts för effekten har möjlighet att ta ställning till konsekvenserna av att utsätta könscellerna för strålning från mobilen. Författaren själv har förmedlat fynden till familj och vänner, och har själv dragit lärdom från forskningen. Detta arbete kommer att fortsätta framdeles.

Det kan finnas fog för att hävda att detta ansvar sträcker sig till mobiltelefonföretagarna och de myndigheter som fått i uppdrag att granska dem. Om det anses att de bevis som producerats i studien är tillräckligt sannolika, kan etiska regler – såväl dygdetiska (det är rättfärdigt) som utilitaristiska (det bidrar till att förbättra folkhälsan) – kräva att mobiltelefonanvändarna informeras om att strålningen från dessa apparater har potential att påverka dem på ett sätt som är skadligt och som de förmodligen inte känner till. Alla mobiltelefoner har i dag ett SAR-värde som beskriver hur mycket strålning som avges per gram eller per kilo. Det finns dock ingen information som beskriver eller tyder på att denna strålning kan ha någon som helst inverkan på användarens biologi så länge den inte överstiger de uppsatta gränsvärdena.

Forskningsetik

I detta arbete har tydliga riktlinjer för inklusion av studier satts upp med avseende på parametrar som strålningsstyrka, tydligt redovisade data och välstrukturerad metod som gjort det möjligt för författaren att undersöka hur experimenten utförts. De experiment som sedan inkluderats i studien har sammanvägts med en kvantitativ metod som sammanväger alla enskilda studier till en stor studie. Detta har minskat risken för jäv och även tagit hänsyn till storleken på de olika experimenten.

I arbetet har författaren ansträngt sig särskilt för att inte använda värdeord eller några som helst onödiga förstärkningsord. Misstankar måste dock erkännas finns om att texten presenterats undermedvetet med en lätt positiv ton, vilket ofta är fallet då man redovisar sina egna resultat.

Aktuell studie har inte utfört några experiment utan endast hämtat data från redan granskade artiklar. De etiska utmaningarna i detta steg har därför varit små. Författaren har dock inte

tagit någon hänsyn till huruvida de deltagare som inkluderats i de undersökta studierna behandlats på ett riktigt sätt utan utgått från att detta varit fallet. I djurstudierna föreligger dock tveksamheter eftersom djuren i vissa fall utsatts för skadlig behandling och dessutom senare avlivats (Dasdaq 1999; Dasdaq 2003). Slutsatsen blir att vi värderar människans välmående högre än djurens, och att vi anser det lidande som orsakas hos råttor och möss är legitimerat för att förbättra våra liv.

Teoretiserande rörande rätten till djurförsök

Ett sätt att förklara detta tillstånd skulle kunna vara att referera till näringskedjan där människan befinner sig i toppen och således har utvecklats för att dra nytta av de organismer som befinner sig längre ner. Detta innebär att det är i enlighet med naturen att inte bara äta andra djur utan även använda dem som boskap, sällskap och till forskning så länge det görs under regler som minimerar djurens lidande vid denna process.

Det kan alltså finnas fog för tesen att djuren är underställda människan och att vi därför har rätt att använda dem till vår fördel. Dock bör poängteras att varje handling som leder till onödigt lidande måste ses som ondskefull och värd att fördöma. Här uppstår ett problem med att hitta en jämvikt mellan två olika önskemål som kan vara svår att precisera. Hur tungt väger vårt behov av nyttomaximering och hur tungt väger vår önskan för att inte introducera onödigt lidande i världen? Jag tror att svaret ligger i samvetet hos var och en.

Referenser

- Dasdag S, Ketani MA, Akdag Z, Ersay AR, Sari I, Demirtas ÖC, Celik MS. 1999. Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urological Research*, doi 10.1007/s002400050113.
- Dasdag S, Akdag MZ, Aksen F, Yilmaz F, Bashan M, Dasdag MM, Celik MS. 2003. Whole Body Exposure of Rats to Microwaves Emitted From a Cell Phone Does Not Affect the Testes. *Bioelectromagnetism*, doi 10.1002/bem.10083.