

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**EVALUACION DEL POTENCIAL GENOTOXICO Y  
CITOTOXICO DE CAMPOS ELECTROMAGNETICOS DE  
60 HZ EN CELULAS DE MAMIFERO**

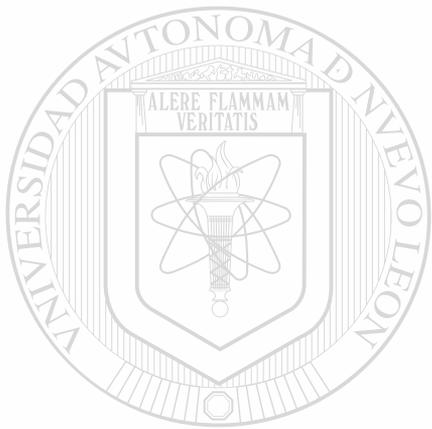
**TESIS:**

**QUE EN OPCION AL GRADO DE DOCTOR EN  
CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN  
BIOLOGIA CELULAR Y GENÉTICA**

**PRESENTA:**

**M.C. JOSE ANTONIO HEREDIA ROJAS**

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L., A  
DICIEMBRE DEL 2001**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**EVALUACION DEL POTENCIAL GENOTOXICO Y  
CITOTOXICO DE CAMPOS ELECTROMAGNETICOS DE  
60 HZ EN CELULAS DE MAMIFERO**

ANL

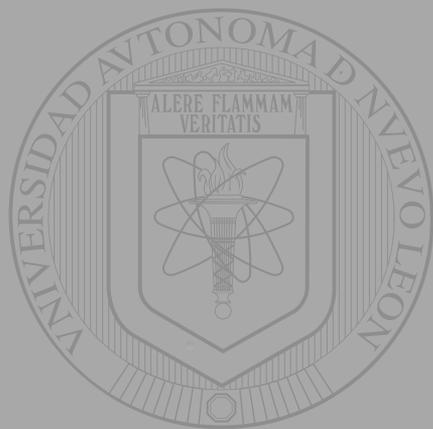
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

TD  
QP82  
.2  
.E43  
H4  
2001  
c.1



1080124464



# UANL

---

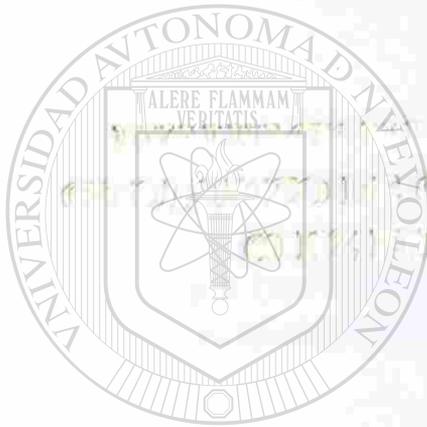
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



EVALUACIÓN DEL RIESGO GENOTÓXICO Y  
ELECTROMAGNÉTICOS DE  
UN PUNTO DE VISTA AMBIENTAL

UANL

TESIS:

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

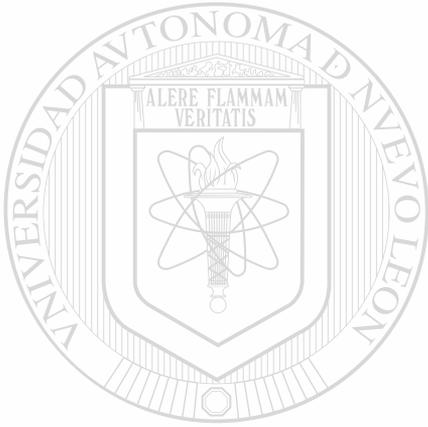
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS  
QUE EN OPCIÓN AL GRADO DE DOCTORADO EN  
CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN  
BIOLOGÍA CELULAR Y GENÉTICA.

PRESENTA:

M.C. JOSE ANTONIO HEREDIA ROJAS

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L., A.  
DICIEMBRE DEL 2001.

70  
QP82  
.2  
E43  
H4  
2001



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**EVALUACION DEL POTENCIAL GENOTOXICO Y  
CITOTOXICO DE CAMPOS ELECTROMAGNETICOS DE  
60 HZ EN CELULAS DE MAMIFERO.**



**TESIS**

**QUE EN OPCION AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN BIOLOGIA CELULAR Y  
GENÉTICA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**PRESENTA:**

**DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS**

**M.C. JOSE ANTONIO HEREDIA ROJAS**

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.**

**DICIEMBRE DEL 2001**



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**EVALUACION DEL POTENCIAL GENOTOXICO Y CITOTOXICO  
DE CAMPOS ELECTROMAGNETICOS DE  
60 HZ EN CELULAS DE MAMIFERO.**

**TESIS**

**QUE EN OPCION AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON  
ESPECIALIDAD EN BIOLOGIA CELULAR Y GENETICA**

**PRESENTA:**

**M.C. JOSE ANTONIO HEREDIA ROJAS**

**COMISION DE TESIS**

**PRESIDENTE: DR. MARIO RODOLFO MORALES VALLARTA**

**SECRETARIO: DR. BENITO DAVID MATA CARDENAS**

**VOCAL: DR. ROBERTO EDUARDO MENDOZA ALFARO**

**VOCAL: DR. ROBERTO MERCADO HERNÁNDEZ**

**VOCAL: DR. CESAR ELIZONDO GONZALEZ  
(ASESOR EXTERNO)**

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.**

**DICIEMBRE DEL 2001**

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Física del Departamento de Ciencias Exactas y Desarrollo Humano de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL., gracias al apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) No. de Registro 113515. Además, se recibió financiamiento del Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica de la UANL (PAICYT) con los proyectos CN031-98, CN183-99 y SA437-00. El autor patentiza su agradecimiento a estas instituciones por su invaluable ayuda.

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

# **AMOR ELECTROMAGNETICO**

## **POEMA A LAURA**

Un eléctrico suspiro  
cuando recuerdo tu aspecto  
cual fotón .....ya ni respiro  
se me gasta el intelecto.

Si el amor es magnetismo  
electrón articulado  
yo preferiría por siempre  
vivir electrocutado.....

Esa longitud de onda  
de tu amor que me estremece  
cual amplitud tan redonda  
mi cuántico favorece.

---

No voy en pos de un magneto  
pues atraído ya estoy  
con un profundo respeto  
por un Tesla de tu amor.

Si cual bella oscilación  
más con gran romanticismo  
y una dosis de pasión  
admiro tu feminismo.

Sí dos cargas son opuestas  
y se atraen tan fuertemente  
tal cual ondas sobrepuestas  
tu amor siempre está en mi mente.

## DEDICATORIA

*Al Divino Maestro, Jesús de Nazareth, el Alfa y el Omega, Principio y Final, Hijo del Hombre, la Simiente de Abraham, Cordero de Dios, el Segundo de la Trinidad, Él el Mesías, Jehová, Príncipe de Paz, Hijo de Dios, Creador, ya destinado desde antes de la fundación del mundo.*

*A mis padres, José Antonio Heredia Hernández (q.e.p.d.) y Laura Carmen Rojas Treviño, quienes siempre apoyaron mi desarrollo profesional.*

*A Laura Ernestina, mi esposa, mujer virtuosa, mi mejor interlocutor.*

*A mis pequeños hijos, Omar y Laura, por el tiempo que les robé en la realización de este trabajo, pero a la vez por su interés en el mismo.*

*A mis hermanos; Luis Alberto, Norma y José Santos, brillantes profesionistas, ejemplo de dedicación y esfuerzo.*

*A mis compañeros amigos, maestros del Departamento de Ciencias Exactas y Humanidades de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL: Lic. Margarita González Gutiérrez, M.C. Esperanza Castañeda Garza, Lic. Marco Antonio González Vega, Arq. Isaías Balderas Candanosa, Biol. Mercedes González Maltos, Ing. Ciro Efrén Barrera Hinojosa, Ing. Jaime Rodríguez González, M.C. Patricia Magdalena Hernández Sifuentes, Lic. Oralia Flores de la Cruz, MES Martha Alicia Santoyo Stephano, Lic. Manuel Leos Leos, Q.B.P. Miguel Angel Zúñiga Charles,*

*A la Sra. Consuelo Garza Valero, Secretaria del Departamento de Ciencias Exactas y Humanidades y a Carmen Vázquez, Secretaria de postgrado.*

*A los maestros del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL; Dra.*

*Patricia Tamez Guerra, Dr. Ricardo Alberto Gómez Flores y Dr. Juan Manuel Alcocer González, ejemplo de destacados investigadores.*

*Al Centro de Investigación Biomédica del Noreste del Instituto Mexicano del Seguro Social, semillero de grandes investigadores, en especial al Sr. Director Dr. Salvador Luis Said Fernández.*

*A la Asociación de Estudios Geobiológicos de Monterrey, A.C. en especial a David y Marycarmen Loyola.*

*A la Asociación Bioelectromagnética Europea, en especial al Dr. Ferdinando Bersani de la Universidad de Bolonia, Italia.*

*Al Dr. Ben Greenebaum, de la Universidad de Wisconsin, E.E. U.U.*

*A la memoria de mi inolvidable maestro (ex – asesor de esta Tesis), Dr. Rigoberto García Cantú, CINVESTAV – IPN (q.e.p.d.) y del Biólogo Humberto Sifuentes Amaya, quien dedicó parte de su tiempo a este trabajo (q.e.p.d.).*

*De manera muy especial a quien me inició en el camino de la investigación científica, Dr. Raúl Garza Chapa y a su gentil esposa Ma. De la Luz Uribe.*

*A mis alumnos de licenciatura y posgrado, razón de mi quehacer profesional.*

*A mis discípulos, becarios del laboratorio de Física, Fac. de Ciencias Biológicas, UANL: Karla Yadira Pérez Leor, Jessica Saraidh Jacobi Elizondo, Arnulfo Díaz Trujillo, Julián Marcilla Rendón, Antonio Cayetano Torres Flores y Miriam Martínez Chavarría.*

*A todos los estudiosos sobre campos magnéticos y sus efectos biológicos.*

## **Agradecimientos**

Al Dr. Reyes Tamez Guerra, Secretario de Educación Pública de México y al Dr. Luis Jesús Galán Wong, Rector de la Universidad Autónoma de Nuevo León, hombres con visión que han tenido a bien apoyar la capacitación del Magisterio en pro de una sociedad mejor.

Al M.C. Juan Manuel Adame Rodríguez, ex – Director de la Facultad de Ciencias Biológicas y al Dr. José Santos García Alvarado, Director actual de la misma, por su gran apoyo y buena disposición mostrada en la realización de la presente investigación.

A los integrantes de mi comisión de Tesis. Dr. Mario Rodolfo Morales Vallarta, Dr. Roberto Mercado Hernández, Dr. Benito David Mata Cárdenas, Dr. Roberto Mendoza Alfaro y Dr. César Elizondo González, por sus atinadas sugerencias que enriquecieron este trabajo.

A la M.C. Laura E. Rodríguez Flores, por la revisión crítica del escrito y su determinante ayuda en técnicas de laboratorio utilizadas en este trabajo.

A los Biólogos Diana E. Caballero Hernández y Gerardo Ramos Alfano, así como a los Q.B.P. Abraham Octavio Rodríguez de la Fuente y Andrés Mendiola Jiménez, por sus invaluable aportaciones a este estudio.

A la MES Martha Santoyo Stephano, por su ayuda en los análisis estadísticos de esta investigación.

A la Dra. Yolanda Gutiérrez Puente y Dr. Arturo Chávez Reyes, por su decidida ayuda en la consecución de literatura especializada.

Al M.C. Carlos H. Leal Garza, del CIBIN – IMSS por permitir el uso de su laboratorio y ayuda en registro fotográfico.

Al Dr. Jesús Ancer Rodríguez, Director de la Facultad de Medicina, UANL, por su apoyo a través del Departamento de Patología, en especial, a la Dra. Beatriz de la Fuente Cortez.

Al Ing. Samuel Eduardo Castillo Andrade, por el teclado del escrito y sus atinadas sugerencias.

# INDICE

<b>Resumen</b> .....	<b>1</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>2</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>3</b>

## **Capítulo I.      Diseño y caracterización de los modelos físicos de exposición de sistemas biológicos a campos electromagnéticos (CEM) de frecuencia extremadamente baja (60 Hz).**

<b>Antecedentes</b> .....	<b>7</b>
<b>Hipótesis y Objetivos</b> .....	<b>32</b>
<b>Material y Método</b> .....	<b>33</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>42</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>45</b>
<b>Conclusión</b> .....	<b>47</b>
<b>Literatura Citada</b> .....	<b>48</b>

## **Capítulo II.      Efectos citológicos de campos electromagnéticos de 60 Hz en linfocitos humanos *in vitro***

<b>Antecedentes</b> .....	<b>53</b>
<b>Hipótesis y Objetivos</b> .....	<b>64</b>
<b>Material y Método</b> .....	<b>65</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>71</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>77</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>81</b>
<b>Literatura Citada</b> .....	<b>82</b>

**Capítulo III Efecto de campos electromagnéticos (CEM) de 60 Hz sobre parámetros hemáticos de ratón (*Mus musculus*) línea BALB/c *in vivo*.**

Antecedentes .....	90
Hipótesis y Objetivos .....	100
Material y Método .....	101
Resultados .....	106
Discusión .....	113
Conclusiones .....	118
Literatura Citada .....	119

**Capítulo IV. Evaluación del efecto clastogénico de campos electromagnéticos de 60 Hz en células de médula ósea de ratón (*Mus Musculus*) línea BALB/c *in vivo* mediante la prueba de micronúcleos.**

---

Antecedentes .....	125
Hipótesis y Objetivos .....	131
Material y Método .....	133
Resultados .....	138
Discusión .....	142
Conclusiones .....	146
Literatura Citada .....	147

**Capítulo V. Efecto de campos electromagnéticos de  
60 Hz en células espermatogénicas de ratón  
(*Mus musculus* línea CD-1) *in vivo*.**

<b>Antecedentes</b> .....	152
<b>Hipótesis y Objetivos</b> .....	166
<b>Material y Método</b> .....	167
<b>Resultados</b> .....	176
<b>Discusión</b> .....	179
<b>Conclusiones</b> .....	183
<b>Literatura Citada</b> .....	184
<b>Apéndice V. A</b> .....	190
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	193
<b>PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL</b> .....	194

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESUMEN

### EVALUACIÓN DEL POTENCIAL GENOTÓXICO Y CITOTÓXICO DE CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS DE 60Hz EN CELULAS DE MAMÍFERO.

Se evaluaron los efectos genotóxicos y citotóxicos asociados con la exposición a campos electromagnéticos (CEM) de frecuencia extremadamente baja (60 Hz), en modelos *in vitro* e *in vivo* de células de mamífero. Se diseñaron, construyeron y caracterizaron dos sistemas de exposición de material biológico a CEM de 60 Hz; uno para cultivos celulares y otro para ratones de laboratorio. Los modelos biológicos de estudio incluyeron: (a) Prueba de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en linfocitos humanos *in vitro*, (b) Parámetros hematológicos de ratón *in vivo*, (c) Prueba de micronúcleos en médula ósea de ratón *in vivo* y (d) Análisis citogenético en células germinales reproductoras de ratón *in vivo*. Se utilizaron tres intensidades magnéticas; 1.0, 1.5 y 2.0 mT, además de una coexposición simultánea a CEM de 2.0 mT más Mitomicina-C (MMC), un fármaco citotóxico y genotóxico de acción conocida, que además sirvió como testigo positivo en los experimentos y asimismo como control interno. En el caso de los experimentos *in vivo*, se utilizó además un tratamiento de 10 días de exposición, 8 h diarias.

Se encontró que los CEM no alteraron la frecuencia de ICH en cultivos de linfocitos, pero sí incrementaron la proliferación celular de los mismos. Un hallazgo importante en esta etapa, fue el efecto antagónico que se observó entre el CEM y la MMC al evaluarse la cinética de proliferación celular. Por otra parte, los CEM modificaron los parámetros hemáticos de ratones *in vivo* en lo que concierne a una disminución de los linfocitos y un aumento de los neutrófilos. Con respecto al efecto en médula ósea se encontró un aumento en la frecuencia de micronúcleos, indicador de un efecto clastogénico atribuido al CEM. En este caso también se observó el efecto antagónico entre CEM y MMC. Por otro lado, no fue posible demostrar que una exposición a CEM influyera sobre las células germinales de ratón, sin embargo, también en estos experimentos se notó el mismo antagonismo del CEM con respecto al efecto de la MMC.

Con estos resultados, es posible suponer que los CEM de 60 Hz a las dosis aplicadas, son capaces de modificar actividades celulares por lo que esto debería considerado en la estimación del riesgo potencial que representa una exposición laboral o ambiental a este factor.

## ABSTRACT

### EVALUATION OF THE GENOTOXIC AND CYTOTOXIC POTENTIAL OF 60 Hz ELECTROMAGNETIC FIELDS IN MAMMALIAN CELLS.

Genotoxic and cytotoxic effects due to the exposure of extremely low frequency magnetic fields (ELF-MF) were evaluated in mammalian cells; *in vitro* and *in vivo*. Two magnetic field exposure facilities were designed and physically characterized for culture cells and animals. The cytological endpoints included: (a) Sister-chromatid exchange (SCE) test in lymphocytes *in vitro*, (b) Haematological parameters of mice *in vivo*, (c) Micronuclei test in mouse bone marrow *in vivo* and (d) Cytogenetic analysis of mice male germ cells *in vivo*. Three magnetic flux densities; 1.0, 1.5 and 2.0 mT were used and a co-exposure condition, combining 2.0 mT ELF-MF and Mytomicin-C (MMC), a well-known mutagen. MMC-treated animals were used as a positive control. Additionally, for *in vivo* experiments, a continuous ten days / 8 h daily exposure was also used.

No alterations in SCE frequencies of exposed lymphocyte cultures were observed, however and increased cell proliferation was detected. Moreover, an antagonistic effect between ELF-MF and MMC was found in term of cell proliferation. On the other hand, the ELF-MF exposure caused a decrease of blood circulating lymphocytes and an elevation of neutrophils in exposed animals. In regard to bone marrow effects, an increased micronuclei frequency of treated animals was detected. Furthermore the antagonistic effect between ELF-MF and MMC was also observed. Finally, no alterations on male germ cells of mice exposed to ELF-MF was observed, however the same antagonistic ELF-MF and MMC effect was detected.

These results suggests that ELF-MF at the dosage used, can modify cell activities which should be considered in order to establish the risk associated with magnetic field exposure.

## INTRODUCCION

A través de los años ha sido creciente la cantidad de agentes físicos y químicos a los que nos vemos expuestos como producto del desarrollo tecnológico e industrial, en consecuencia también ha aumentado el interés público por los posibles efectos negativos que para la salud pudiera tener la exposición a estos factores ambientales. Si bien para una gran cantidad de éstos (pesticidas, metales pesados, radiaciones ionizantes, etc.) ya se han comprobado efectos adversos para la salud, existen otros agentes que son objeto de gran controversia debido a que sus efectos no han sido determinados con claridad. Quizá el mejor ejemplo de esto sea la problemática planteada por la exposición a los campos electromagnéticos (CEM) de frecuencia extremadamente baja (60 Hz).

En los últimos 15 años ha existido un creciente interés por la posibilidad de que la exposición a los campos electromagnéticos de 60 Hz, generados por el tendido eléctrico y aparatos electrodomésticos, pudiera tener efectos no deseables en sistemas biológicos. Uno de los aspectos que ha despertado particular interés ha sido el riesgo de sufrir alteraciones citológicas, y en particular genéticas.

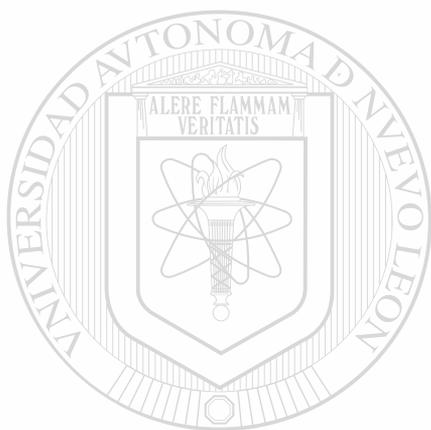
Los campos electromagnéticos son producidos cuando una corriente eléctrica fluye a través de un conductor, como por ejemplo en una línea eléctrica. De esta manera, la mayoría de los humanos nos encontramos expuestos a los CEM, los cuales están presentes tanto en ambientes residenciales como laborales. Esto se debe a que a pesar de estar usualmente asociados a líneas eléctricas de alto voltaje y subestaciones eléctricas, también

son producidos por cualquier dispositivo alimentado con energía eléctrica, como es el caso de muchos de nuestros aparatos domésticos modernos.

Existe una gran cantidad de estudios científicos que han evaluado la influencia de los CEM en los organismos. No obstante que en algunos de éstos no se ha observado respuesta alguna, un gran número de ellos muestra que la exposición a estos campos puede producir una gran variedad de efectos. Entre ellos se mencionan cambios en la tasa de proliferación celular, alteraciones en las propiedades de la superficie de las células, en la secreción de hormonas, etc. De gran importancia han sido también los estudios epidemiológicos, que han tratado de establecer una relación causal entre la exposición a estos campos y un incremento en algunos tipos de cáncer tanto en niños como en adultos. Hasta el momento los resultados obtenidos no han sido definitivos y a menudo han resultado controversiales, debido a numerosas críticas metodológicas; aunque no se duda que la radiación electromagnética pueda afectar la materia viviente, todavía no se cuantifica hasta donde puede ser causante de una patología específica.

Debido a la controversia que han arrojado los resultados sobre la posible relación entre los CEM y el potencial genotóxico o citotóxico, resulta por demás interesante la realización de experimentos en condiciones controladas que permitan determinar los efectos de estos campos a nivel citogenético, contribuyendo así a explicar algunos de los mecanismos por los cuales los CEM de 60 Hz pueden afectar la salud humana. En este estudio se presenta información concerniente al establecimiento y caracterización de los modelos físicos utilizados en la exposición de material biológico a CEM de 60 Hz *in vitro* e *in vivo* y se muestran resultados acerca del efecto producido por este factor físico en células de mamífero, evaluado mediante la utilización de técnicas citogenéticas y citológicas. Los modelos biológicos de este estudio

incluyeron: a) Prueba de Intercambio de Cromátidas Hermanas (ICH) en linfocitos humanos *in vitro*, b) Determinación de los parámetros hematológicos de ratón (*Mus musculus*, Línea BALB/c) expuestos *in vivo*, c) Prueba de Micronúcleos (cuerpos de Howell-Jolly) en médula ósea de ratón (*Mus musculus* Línea BALB/c) *in vivo* y d) Análisis Citogenético de Células Germinales Reproductoras y Morfología Espermática en ratón (*Mus musculus* Línea CD-1) *in vivo*.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

# CAPITULO I



**Diseño y Caracterización de los Modelos  
Físicos de Exposición de Sistemas  
Biológicos a Campos Electromagnéticos  
(CEM) de Frecuencia extremadamente  
baja (60 Hz).**

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## ANTECEDENTES

Para llevar a cabo la presente investigación fue necesario construir y caracterizar los aparatos para exponer el material biológico de estudio a CEM. Si bien existen en el mercado algunos modelos físicos para exposición de tejidos, sobre todo humanos, a CEM, éstos no ofrecen garantías suficientes en cuanto a dosimetría y geometría de la exposición. En vista de que uno de los propósitos de esta investigación era trabajar en condiciones altamente controladas, fue indispensable entonces avocarse a esta tarea. En esta sección se presentan los resultados de dos modelos de exposición utilizados en este trabajo; uno *in vitro* para exposición de cultivos de linfocitos humanos y otro para exponer *in vivo* ratones de laboratorio a CEM sinusoidales de 60 Hz de frecuencia.

### Física de los Campos Magnéticos

Si bien nuestro conocimiento de los fenómenos eléctricos es relativamente reciente, el hombre ha tenido noticia de los fenómenos magnéticos desde tiempos muy remotos. Así, Tales de Mileto (640-546 AC) hablaba de las atracciones magnéticas y los Chinos emplearon desde hace más de 2000 años la brújula magnética para la navegación y viajes en los desiertos de Mongolia. Este aparato se fundamenta en adoptar una orientación, la cual es ejercida por un campo magnético circundante (Wood, 1991).

La región en el espacio en la cual un objeto magnetizado puede a su vez magnetizar a otros cuerpos se llama **campo magnético**. La configuración de este campo puede obtenerse con el auxilio de una brújula o con limaduras de hierro, obteniéndose así las líneas de fuerza indicadoras de la presencia del campo magnético (Stewart, 1979).

Desde 1820 el Físico Danés Hans Oersted observó que una corriente eléctrica puede cambiar la orientación de la aguja de una brújula en forma semejante a como lo hace un imán. Este descubrimiento puso de manifiesto que en la vecindad de un conductor con corriente existe un campo magnético y, algo hasta entonces insospechado, que el movimiento de cargas eléctricas está relacionado con el origen de los campos magnéticos (Galar-Castelan, 1988).

Por otro lado, se dice que existe un campo eléctrico en un punto, si actúa una fuerza de origen eléctrico sobre un cuerpo estacionario cargado situado en dicho punto. Cualquier otra carga eléctrica colocada en un punto de ese campo eléctrico experimenta una fuerza producida por su interacción con la primera carga. La intensidad del campo eléctrico en esa zona es igual a la fuerza que el campo ejerce sobre unidad de carga eléctrica colocada en dicho sitio (Lin, 1994).

Desde otro punto de vista, el campo magnético se define como el espacio que rodea a un imán y en el que se ejerce una fuerza magnética. A las regiones donde parece concentrarse el magnetismo de los cuerpos magnéticos se les denomina polos magnéticos, los cuales son imposibles de aislar, ya que se encuentran siempre en parejas de signos opuestos. Si se rompe un imán en un intento por separar los polos, se encuentran otros nuevos formados en los extremos rotos. Si uno de estos pedazos se rompe, otra vez aparecen dos polos de clase opuesta. Tantas veces como se repita este proceso se tendrá el mismo resultado. No es posible entonces obtener un polo magnético aislado. De acuerdo a la Ley de Charles Coulomb los polos magnéticos de la misma naturaleza se repelen y los de naturaleza diferente se atraen (Parker, 1993).

**DIRECCIÓN.** La dirección del campo magnético en un lugar se determina por la orientación que adopta un pequeño imán o brújula colocado en el lugar, en

el cual el polo Norte del imán tiende a orientarlo en dirección del campo y el polo Sur queda sometido a una fuerza que tiende a moverlo en la dirección opuesta. El resultado es que ambas fuerzas producen una resultante que hace girar al imán hasta que se orienta paralelamente a la dirección del campo, cuando las fuerzas sobre los polos son directamente opuestas y la resultante es cero. Los campos magnéticos se representan por líneas de fuerza que están dirigidas de los polos Norte a los polos Sur y que son tangentes a la dirección del campo en cada punto (Parker, 1993).

Los campos magnéticos no ejercen fuerzas sobre las cargas en reposo o moviéndose en dirección paralela al campo magnético, o sea una línea de fuerza. Sin embargo, si la carga se mueve en dirección perpendicular al campo, ésta describe un movimiento circular, o cuando pasa en dirección oblicua a un campo magnético, se produce una trayectoria espiral (ya que el movimiento paralelo al campo magnético no es afectado por éste). De esto se deduce que la fuerza magnética es perpendicular al plano determinado por la velocidad de la carga y el campo magnético, de acuerdo a la siguiente fórmula  $F = qB (v \text{ sen } \theta)$ . La relación permite determinar B (campo magnético) si se conoce la fuerza, la velocidad y la carga y se mide en Teslas (T) en el Sistema Internacional de Unidades. (Newton.seg / Coulomb.metro o Volt.seg/ m<sup>2</sup> o 1 Weber (Wb) / m<sup>2</sup>), y es equivalente a 10<sup>4</sup> Gauss.

Por otro lado, el efecto del campo magnético sobre una corriente eléctrica se produce porque consiste de cargas en movimiento, y dado que  $F = qvB \text{ sen } \theta$  y que la carga recorre una longitud L en un tiempo  $\Delta t$ , entonces  $v = L/\Delta t$ , luego  $F = qLB \text{ sen } \theta / \Delta t$ . Pero como q es la carga que ha pasado en el tiempo  $\Delta t$  por el conductor, la intensidad de la corriente  $I = q/\Delta t$  y por lo tanto  $F = ILB \text{ sen } \theta$  (Rojo, 1981).

De lo anteriormente expuesto se deduce que el magnetismo se encuentra muy relacionado con la electricidad. Una carga eléctrica está rodeada de un campo eléctrico, y también de un campo magnético si se está moviendo. Esto se debe a las distorsiones que sufre el campo eléctrico al moverse la partícula. Einstein explicó este fenómeno con la teoría especial de la relatividad. Dicho de otra forma, las cargas en movimiento tienen asociados tanto un campo eléctrico como un campo magnético. El movimiento de la carga eléctrica produce un campo magnético. Curiosamente, puesto que el movimiento es relativo, también lo es el campo magnético, ya que si uno se mueve a la par de la carga de modo que no está en movimiento con respecto a nosotros no se detectará campo magnético alguno. (Hewitt, 1998)

### **Propiedades Magnéticas de la Materia**

En un imán de barra el movimiento de cargas se da porque éste está compuesto de átomos cuyos electrones se encuentran en movimiento constante alrededor del núcleo (movimiento orbital), esto constituye una minúscula corriente que genera un campo magnético, además giran en torno a su propio eje, lo cual asimismo constituye una carga en movimiento y por lo tanto genera otro campo magnético. Todos los electrones se comportan como imanes diminutos. Si dos electrones giran en el mismo sentido constituyen un imán más intenso. Pero si giran en sentido contrario, sus campos magnéticos se anulan mutuamente. Casi en todos los átomos los diversos campos se anulan uno con otro y por ello la mayoría de las sustancias no se comportan como magnetos, pero en materiales como el hierro, el níquel y el cobalto, estos campos no se anulan totalmente (Hewitt, 1998).

En función de la respuesta que los materiales presentan a un campo magnético se distinguen tres categorías: **diamagnéticos, paramagnéticos y**

**ferromagnéticos**, lo que será función del campo magnético que se genera en los átomos como consecuencia del movimiento de sus electrones. Las sustancias **diamagnéticas** al ser colocadas en un campo magnético se magnetizan en dirección contraria al campo; siendo esta magnetización unas mil veces menor que la de las sustancias paramagnéticas, aunque el efecto varía de una sustancia a otra. El diamagnetismo se debe a un efecto de distorsión de las órbitas electrónicas debido al campo magnético aplicado, lo que equivale a producir en cada átomo un momento magnético que tiene dirección opuesta a la del campo magnético, pero en una sustancia diamagnética sus átomos no poseen un **dipolo magnético neto** debido a que los momentos dipolares tanto los de orbitales como los de espín se cancelan. En consecuencia, una muestra macroscópica de estos materiales tampoco presenta un dipolo magnético; por lo que no es atraída por un imán. En cambio, un material **paramagnético** presenta la propiedad de ser atraído por un imán. Esto es consecuencia de que sus átomos o moléculas tienen momentos magnéticos permanentes que tienden a orientarse en la dirección de un campo magnético externo al que se exponen, convirtiéndose así en imanes. Este magnetismo es suprimido al momento de eliminar el campo magnético externo. La orientación promedio de los dipolos magnéticos elementales depende de la intensidad del campo aplicado que tiende a alinearlos. Entre estos materiales se encuentran los radicales y compuestos de elementos de transición. Por otro lado, en los materiales **ferromagnéticos** se presenta un efecto paramagnético muy fuerte en el que estos se encuentran magnetizados en ausencia de un campo magnético externo. Esta magnetización natural indica que los momentos magnéticos de sus átomos o moléculas tienden a orientarse paralelamente como consecuencia de las interacciones entre ellos. Un análisis cuidadoso del fenómeno ha indicado que

los que tienden a alinearse son los espines de los electrones; el fenómeno ferromagnético es puramente cuántico, por lo que no es explicable por la física clásica. El resultado de exponer este tipo de materiales ante otro campo magnético externo es la formación de un nuevo campo que se suma al externo. (Pothakamury, et al., 1993).

## **Campo Magnético de la Tierra**

El planeta tierra se comporta como si fuera un imán gigantesco cuyo norte magnético se encuentra cercano al polo Sur geográfico y el Sur magnético cercano al polo Norte geográfico, sin embargo para mantener la congruencia con la terminología usada en la literatura se prefiere llamar polo Norte magnético de la tierra al que se encuentra en las cercanías del polo Norte geográfico y polo Sur magnético al que se encuentra cercano al polo sur geográfico. El eje magnético de la tierra tiene una inclinación de aproximadamente  $11.5^\circ$  con respecto al eje de rotación de la tierra, y por lo tanto los polos magnéticos de la tierra no coinciden con los polos geográficos.

Además, existe evidencia de que el eje magnético ha sufrido inversiones completas en su dirección hasta nueve veces en los últimos 4 millones de años. En general se considera que el campo geomagnético es originado por el movimiento de cargas eléctricas en torno al eje de rotación de la tierra, constituyendo así una corriente eléctrica neta en trayectoria circular y que estas corrientes están vinculadas al movimiento de convección de partículas portadoras de carga eléctrica debido al gradiente térmico del fluido nuclear y al arrastre de las mismas por el movimiento de rotación del globo terráqueo. También existen influencias externas, principalmente el viento solar que consiste principalmente de partículas de alta energía portadoras de carga eléctrica. El campo geomagnético se considera de tipo constante, es decir no

varía con el tiempo y por lo tanto tendría una frecuencia cercana a cero (Galar-Castelan, 1988).

## **Inducción Electromagnética**

Faraday y Henry descubrieron que se podía generar corriente eléctrica en un alambre con el simple movimiento de meter y sacar un imán de una bobina, y que la producción de voltaje dependía del movimiento relativo del conductor y el campo magnético. La magnitud del voltaje inducido depende del ritmo al que el alambre corta las líneas del campo magnético, o bien que tan rápido cambia el campo magnético. El fenómeno se resume en el enunciado de la ley de Faraday: El voltaje inducido en una bobina es proporcional al producto del número de espiras y la razón de cambio del campo magnético dentro de dichas espiras. Por otra parte, la magnitud de la corriente depende de la resistencia de la bobina y del circuito al que está conectada. El fenómeno es similar al mencionado anteriormente en los efectos del campo magnético sobre una corriente eléctrica. Si la corriente fluye hacia la derecha, los electrones experimentan una fuerza perpendicular hacia arriba, como no hay trayectoria conductora por la que los electrones pueden fluir hacia arriba el alambre también experimenta una fuerza dirigida hacia arriba (efecto motor). Si desplazamos hacia abajo un alambre que inicialmente no transporta corriente, los electrones en su interior experimentan una fuerza deflectora perpendicular a su movimiento, aquí si hay trayectoria conductora en dicha dirección y los electrones la recorren, constituyéndose así una corriente, a esto último es a lo que se le ha llamado el "Efecto Generador" (Hewitt, 1998).

## **Inducción de Campos Eléctricos y Magnéticos (Campo Electromagnético)**

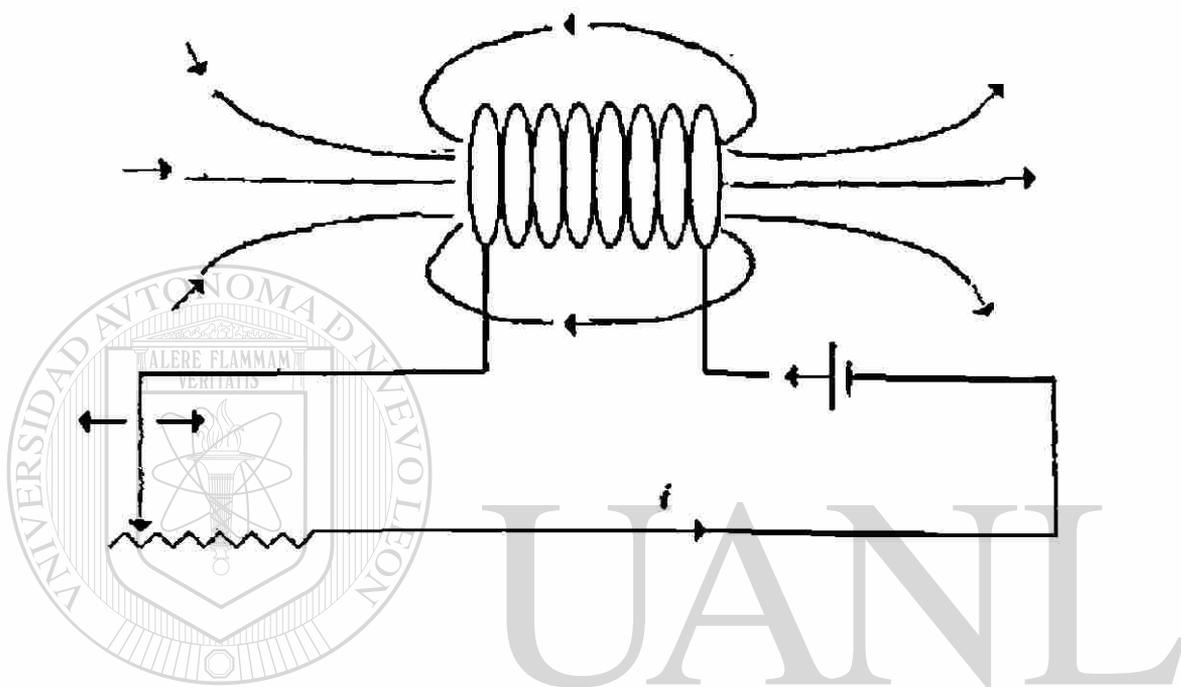
Según el concepto moderno de la inducción electromagnética, lo que se induce son campos eléctricos y magnéticos que a su vez dan lugar a los voltajes que se han estado considerando. La inducción se efectúa haya o no cables conductores o medios materiales. La ley de Faraday en un sentido más general establece que: Se induce un campo eléctrico en toda región del espacio en la que exista un campo magnético que varíe con el tiempo. La magnitud del campo eléctrico inducido es proporcional a la rapidez con la que cambia el campo magnético. La dirección del campo eléctrico inducido es perpendicular al campo magnético variable. El efecto secundario complementario es el propuesto por James Clerk Maxwell en 1860, es decir, se induce un campo magnético en toda región del espacio en la que exista un campo eléctrico que varíe con el tiempo. La magnitud del campo magnético inducido es proporcional a la rapidez con la que cambia el campo eléctrico. La dirección del campo magnético inducido es perpendicular al campo eléctrico variable (Hewitt, 1998). Estos dos campos coexistentes se denominan **campo electromagnético** (Galar-Castelán, 1988).

Por otro lado, los campos electromagnéticos pueden clasificarse en homogéneos, heterogéneos estáticos y oscilantes. En un campo magnético homogéneo, la intensidad es uniforme en el área dentro de una bobina, mientras que en uno heterogéneo es variable; un campo magnético estático implica que la intensidad y dirección del campo son constantes en el tiempo, mientras que en un oscilante, varían la intensidad y dirección (Pothakamury, 1993).

Por otra parte, los dispositivos más empleados para generar CEM son los solenoides o bobinas, éstos consisten en un conjunto de espiras de alambre conductor que se disponen una a continuación de otra. Si se hace un corte longitudinal del solenoide, podemos ver la sección transversal del alambre que forma cada espira, tanto en la parte superior como inferior (Fig.I.1). Si se coloca un núcleo de un material ferromagnético se tiene un electroimán. En los puntos muy cercanos a una espira cualquiera del solenoide, el observador no puede determinar si el alambre está doblado en arco. Magnéticamente el alambre se comporta casi como si fuera un alambre recto y las líneas de campo magnético, debidas a una espira, son casi círculos concéntricos (Moreno-Trujillo, 1997).

### **Ondas Electromagnéticas**

Cuando se agita de un lado a otro en el espacio una barra cargada se producen ondas electromagnéticas. Esto se debe a que la carga al moverse constituye una corriente eléctrica, y una corriente eléctrica siempre está rodeada de un campo magnético, como la corriente es variable, el campo magnético también es variable, el cual de acuerdo a la ley de Faraday produce un campo eléctrico variable, y el campo eléctrico variable de acuerdo a lo enunciado por Maxwell, induce a su vez un campo magnético variable. Una onda electromagnética se compone de campos eléctricos y magnéticos vibrantes que viajan juntos y no requieren medio alguno para ello. Los campos vibrantes emanan de la carga vibrante. En todo punto de la onda, el campo eléctrico es perpendicular al campo magnético y ambos son perpendiculares a la dirección de propagación de la onda. (Figura I.2). La magnitud de un campo inducido (el magnético y el eléctrico) depende de la razón de cambio de la vibración, pero también del movimiento del otro campo, es decir la rapidez

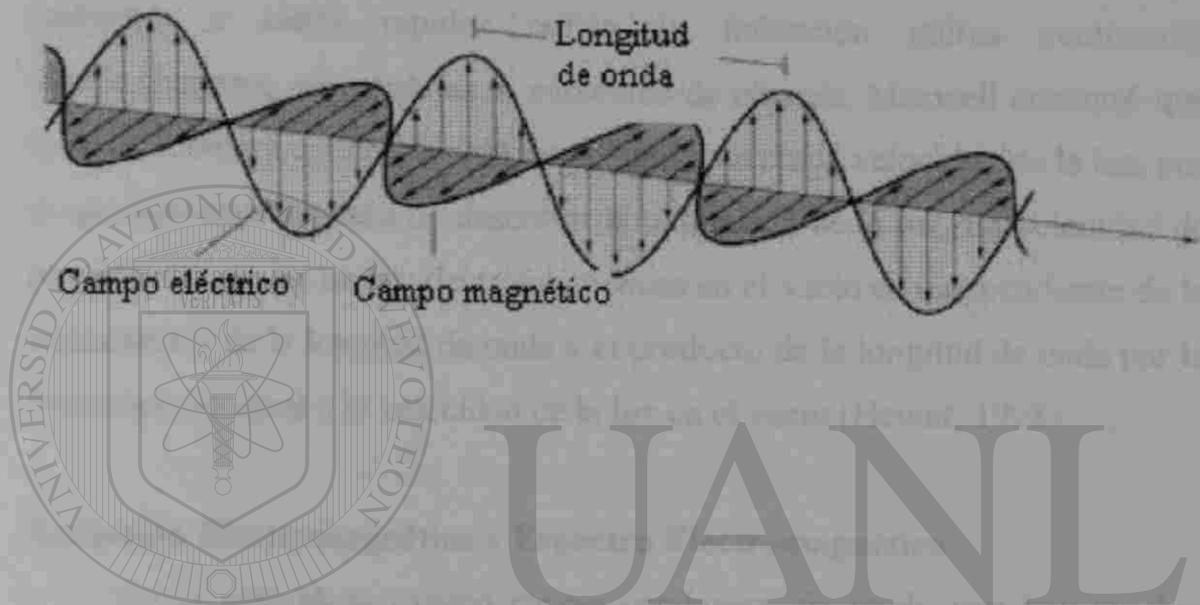


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Figura I.1** Esquema que ilustra un solenoide de  $n$  espiras de alambre. Las flechas indican las líneas de fuerza del campo electromagnético generado por la corriente eléctrica que circula a través del alambre enrollado a manera de espiras.



**Figura I.2** Propagación de una onda electromagnética. Un campo eléctrico y otro magnético, perpendiculares uno del otro viajan en el espacio a la velocidad de la luz. La interacción de ambos campos se manifiesta como una sola entidad física que es llamada campo electromagnético.

con la que el otro campo emana la carga vibrante, si la rapidez fuese muy pequeña el campo inducido es débil por lo que la inducción mutua se atenuaría hasta anularse pero en este caso se habría destruido la energía, siendo incompatible con la ley de la conservación de la energía. Si la rapidez de emanación fuera muy elevada los campos inducidos aumentarían de magnitud sin cesar, otro caso incompatible con la conservación de la energía. Sin embargo, a cierta rapidez crítica la inducción mutua continuaría indefinidamente, sin pérdidas ni aumentos de energía. Maxwell encontró que la rapidez crítica era de 300,000 km/s, pero ésta era la velocidad de la luz, por lo que entonces acababa de descubrir la naturaleza de la luz. La velocidad de propagación de las ondas electromagnéticas en el vacío es independiente de la frecuencia y de la longitud de onda y el producto de la longitud de onda por la frecuencia es igual a la velocidad de la luz en el vacío (Hewitt, 1998).

### **Radiación Electromagnética y Espectro Electromagnético**

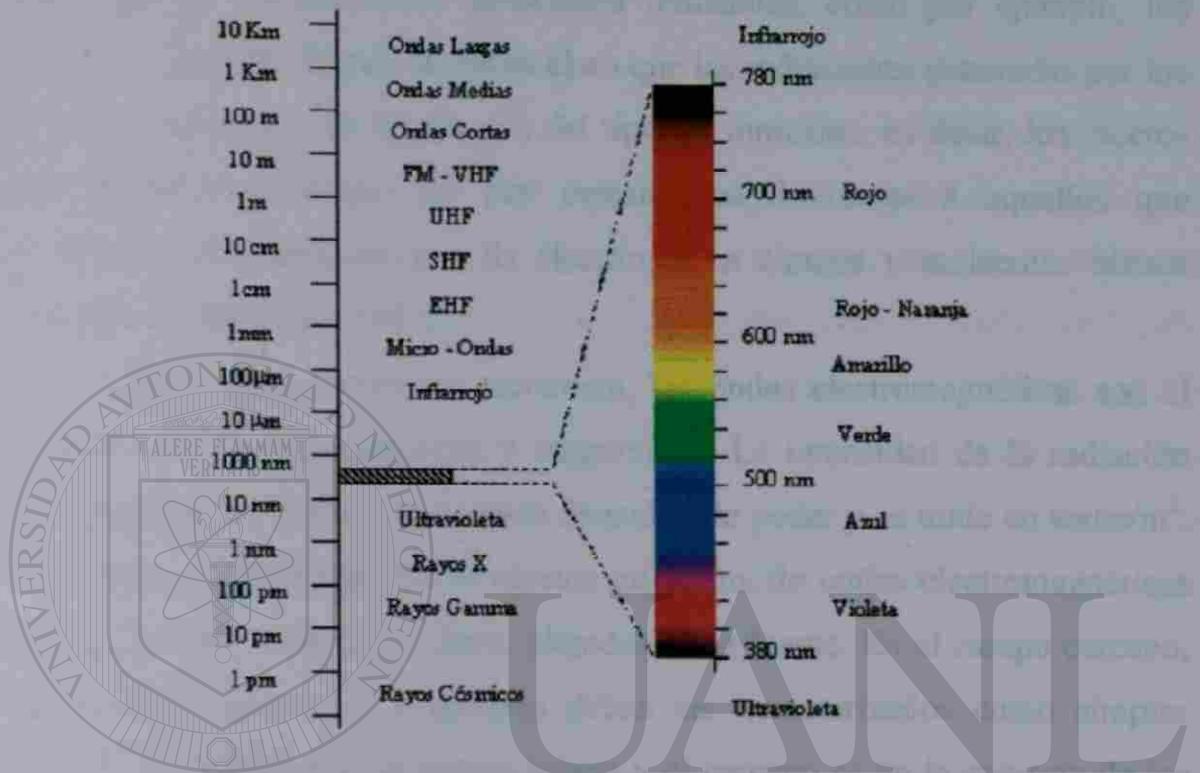
En la naturaleza existen cargas oscilantes, de modo que hay muchas fuentes naturales de radiación electromagnética. La luz y la radiación térmica, por ejemplo son ondas electromagnéticas, que son el resultado de la oscilación de cargas eléctricas en los átomos del emisor. Desde el siglo antepasado se descubrió que la luz emitida por una flama de sodio sufría pequeñas variaciones cuando se le sometía al campo magnético de un imán. El físico H.A. Lorentz por su parte, demostró que las cargas eléctricas de los átomos de vapor de sodio, al estar sometidas a las fuerzas del campo magnético producían variaciones en la frecuencia de la luz emitida, las cuales eran explicadas por la teoría de Maxwell como oscilaciones de la carga del electrón. Estas fueron las primeras evidencias de la identidad entre la radiación electromagnética y la luz (Hewitt, 1998). Antes del siglo XIX las

ondas electromagnéticas estudiadas eran las que caían dentro del espectro visible o luz, es decir aquellas cuya longitud de onda está comprendida entre los  $4 \times 10^{-7}$  y  $7.2 \times 10^{-7}$  m, pero la teoría de Maxwell predice que pueden existir ondas electromagnéticas de cualquier longitud de onda o frecuencia. El espectro electromagnético, conocido y estudiado (Figura I.3), va desde los miles de kilómetros para las ondas de los campos magnéticos hasta los  $10^{-16}$  m para los rayos gamma y los cósmicos (Parker, 1993).

La propagación de los campos electromagnéticos como un proceso ondulatorio explica satisfactoriamente muchos fenómenos importantes, pero falla en la explicación del intercambio de energía cuando la radiación electromagnética interacciona con la materia, pues solamente puede intercambiar cantidades discretas o cuantos de energía, lo que sugiere una estructura corpuscular de la radiación que Einstein llamó fotón. Actualmente se acepta que la radiación electromagnética tiene un comportamiento dual (Galar-Castelán, 1988). Esto es concebible, si se considera la sugerencia del físico francés De Broglie quien sugirió que la materia y las partículas (ya fueran fotones, electrones, átomos, balas y hasta seres humanos) tienen una longitud de onda relacionada con su momentum. La longitud de onda de una partícula de gran masa y poca rapidez es demasiado pequeña como para poder detectarse por medios convencionales, pero una partícula pequeña como un electrón que se desplaza con gran rapidez posee una longitud de onda detectable que es miles de veces menor que el de la longitud de onda de la luz visible (Hewitt, 1998).

Las oscilaciones electromagnéticas en la región de bajas frecuencias y longitudes de onda muy largas (como aquellas de los circuitos domésticos de 50-60 Hz<sup>1</sup>) irradian muy poca energía ya que se sabe que la energía de una onda electromagnética es directamente proporcional a su frecuencia e

<sup>1</sup> Hz = Hertz, en el Sistema Internacional de Unidades 1 Hz es la unidad de Frecuencia y equivale a 1 ciclo / 1 seg.



UNIVERSIDAD AUT6NOMA DE NUEVO LE6N

DIRECCI6N GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Figura 1.3 El espectro electromagn6tico**

Abarca desde las frecuencias extremadamente bajas de los campos magn6ticos a las frecuencias muy altas de los Rayos gamma y c6smicos.

inversamente proporcional a su longitud de onda. A medida que la frecuencia aumenta, se llega a longitudes de onda muy cortas y las radiaciones de esta clase llegan a depositar una cantidad de energía tan considerable que a tales emisiones se les denomina radiaciones ionizantes, como por ejemplo, los rayos X y gamma. Queda entonces claro que las radiaciones generadas por los CEM de frecuencia de 60 Hz son del tipo no ionizante, es decir, los efectos que produzcan deberán ser por mecanismos diferentes a aquellos que involucran el desplazamiento de electrones en átomos y moléculas blanco (Strother, 1980, Rojo, 1981).

Como anteriormente se mencionó, las ondas electromagnéticas son el producto de campos eléctricos y magnéticos. La intensidad de la radiación electromagnética puede ser llamada densidad de poder y se mide en  $\text{watts/m}^2$ . Los campos electromagnéticos existen en forma de ondas electromagnéticas solo en el campo lejano, es decir, alejados de la fuente. En el campo cercano, los campos eléctrico y magnético deben ser caracterizados como simples campos. El límite entre el campo lejano y el cercano es en la mayoría de los casos, su longitud de onda. En el caso de los campos de frecuencia extremadamente baja, donde la longitud de onda es de miles de kilómetros, los campos magnético y eléctrico son siempre evaluados separadamente. En los casos de frecuencias mayores como en las microondas, por otro lado, donde su longitud de onda es tan corta que la exposición humana ocurre en el campo lejano, no es necesario considerar los campos eléctrico y magnético por separado (Juutilainen y Lang, 1997).

**Forma de la Onda:** Describe el cambio, con el tiempo, de los campos magnéticos o eléctricos variables. La mayoría de las fuentes de los campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja (FEB), los de frecuencia muy baja (FMB) y de ondas de radio (RF) producen campos con

formas de onda sinusoidales, pero algunas fuentes emiten campos electromagnéticos con otras formas, como triangulares o rectangulares. Hay formas de onda con alto rango de cambio (en unidades de la intensidad del campo por unidad de tiempo) que inducen corrientes fuertes en tejidos y son biológicamente más activas que formas de onda con bajo rango de cambio (Juutilainen y Lang, 1997).

**Modulación:** Las radiofrecuencias son comúnmente moduladas por otra señal de más baja frecuencia para hacerla que lleve la información. Las formas más comunes de modulación son la amplitud modulada y la frecuencia modulada. La amplitud modulada puede ser importante en el efecto biológico de la radiación de radiofrecuencias. Muchos estudios *in vitro* señalan que las radiofrecuencias débiles, de amplitud modulada a frecuencias bajas, podrían tener efectos específicos similares a los efectos reportados por campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja (De Seeza y Juutilainen, 1996; Postow y Swicord, 1996; Simunic, 1996).

La frecuencia que se maneja en este estudio es similar a la producida por la corriente eléctrica de los cables de tendido eléctrico, ésta varía como una onda sinusoidal con una frecuencia de 60 Hz. Los CEM generados por estas corrientes tienen esa misma frecuencia, y por tanto se encuentran en la región del espectro electromagnético denominado de frecuencia extremadamente baja, región comprendida entre los 3 y los  $3 \times 10^3$  Hz (Muñoz, 1994).

## **Efectos Biológicos de los Campos Electromagnéticos**

Debido a su composición electrolítica los seres vivos son por lo general buenos conductores de la electricidad. A través de las membranas celulares y de los fluidos corporales intra y extracelulares existen corrientes iónicas,

especialmente en las células nerviosas y musculares a las cuales debe estar asociado un campo magnético. Además, en los sistemas biológicos existen estructuras magnéticamente influenciables como los radicales libres que presentan propiedades paramagnéticas y aquellas en las que intervienen sustancias ferromagnéticas. La respuesta de un sistema biológico a un campo magnético externo depende tanto de las propiedades magnéticas intrínsecas del sistema como de las características del campo externo y de las propiedades del medio en el cual tiene lugar el fenómeno. Experimentalmente se ha probado que en los cambios que sufren algunos parámetros de los sistemas biológicos por la acción de los campos magnéticos influyen no solamente la intensidad, sino también las características espaciales y temporales de dicho campo. Dentro de este contexto, es diferente el efecto de un campo estático que solo produciría una rotación de los dipolos magnéticos, tendiendo a orientarlos en la dirección del campo y restringiendo su movilidad, ocasionando un efecto significativo si éstas participan en reacciones químicas, en contraste con uno que presenta variaciones periódicas con el tiempo y que pueden inducir movimientos oscilatorios sobrepuestos a la oscilación en los dipolos magnéticos moleculares, lo que de alguna manera podría afectar la velocidad de las reacciones químicas dependiendo de la amplitud, frecuencia y sentido de las variaciones del campo magnético. En la literatura científica un gran número de trabajos prueban el efecto de los campos magnéticos sobre reacciones enzimáticas *in vitro*, dando efectos cualitativa y cuantitativamente diferentes dependiendo de la reacción que se trate y de las características del campo. Por otra parte, en los seres vivos al desplazarse en el seno de un campo magnético como el terrestre o uno artificial se induce una diferencia de potencial. Aunque el campo geomagnético es relativamente débil, estos efectos han sido observados en elasmobranchios. Se sabe que los tiburones y

rayas poseen mecanismos basados en la inducción electromagnética para orientarse y localizar a sus presas y que la intensidad del campo magnético puede ser un factor limitante en la capacidad de respuesta del sujeto. También se ha propuesto que las aves migratorias poseen un mecanismo de orientación para la navegación basado en la generación de potenciales eléctricos inducidos electromagnéticamente. Igualmente, se ha encontrado que algunos microorganismos, particularmente bacterias, tienen la propiedad de orientar su movimiento en respuesta a un campo magnético externo (magnetotactismo), estas bacterias contienen una o dos cadenas intracelulares ricas en partículas de hierro. Asimismo se han descrito propiedades de magnetosensibilidad para una gran diversidad de insectos migratorios y aún en el ser humano, aunque en éste último el hallazgo es controversial (Lin, 1994).

Las ondas de radio y algunos tipos de luz ultravioleta, son algunas radiaciones no ionizantes a las que el hombre está frecuentemente expuesto. Los efectos biológicos de las primeras están siendo determinados en la actualidad, mientras que el daño que produce la luz ultravioleta en el ADN se ha relacionado con la formación de dímeros de timina, que es la lesión más frecuentemente inducida por esta radiación, por lo general estos daños son eliminados por las células a través de mecanismos de reparación por escisión. Si las células expuestas no son eficientes en este tipo de reparación, el daño al ADN permanecerá y la célula sufrirá alteraciones considerables como en el caso del *Xeroderma pigmentosum* y del cáncer en la piel (Brusik, 1987).

Por otro lado, radiaciones no ionizantes de frecuencia extremadamente baja como es el caso de los campos magnéticos de 60 Hz han mostrado tener efectos sobre los sistemas biológicos y se ha informado que éstos pueden afectar la velocidad de las reacciones y una gran cantidad de procesos bioquímicos (Galar-Castelan, 1988).

Asimismo, se ha informado que los CEM tienen efectos sobre la síntesis de ADN, ARN y proteínas, cambios en la producción de hormonas; modificación de la respuesta inmune y en el grado de crecimiento y diferenciación celular (Tenforde, 1991).

Adicionalmente se han obtenido evidencias experimentales que sugieren que los CEM afectan el crecimiento celular en varios tipos de células (Cantini et al., 1987; Goodman et al., 1983; Liboff et al., 1984; McLeod et al., 1987; Rodan et al., 1978; Takahashi et al., 1987; Yen-Patton et al., 1988).

Desde el punto de vista físico, se ha demostrado que es el campo eléctrico inducido por el campo magnético variable el que determina la respuesta celular. Sin embargo, la influencia de un campo magnético estático añadida al campo variable, también ha quedado demostrada, por lo que el mecanismo de interacción es más complejo que la sola influencia de campos eléctricos inducidos. Se supone que la interacción principal ocurre en la membrana celular y más específicamente en los canales iónicos, siendo los del calcio los que participan más activamente en las alteraciones biológicas (Lin, 1994).

Se ha evaluado también el efecto de los campos eléctricos en embriones. En un estudio, se expusieron ratones C3H/He machos, a un campo eléctrico de 20 kV/m de 50 Hz de frecuencia por dos semanas. Después, cada ratón macho fue apareado con 2 hembras diferentes cada semana durante un período de 8 semanas para que las hembras fueran fecundadas por los ratones que habían sido expuestos al campo eléctrico y no se encontraron alteraciones en la sobrevivencia de los embriones (Kowalczyk et al., 1990).

En otro estudio Nordstrom et al. (1983) encontraron un incremento en la frecuencia de malformaciones congénitas en niños cuyos padres trabajaban en

fuentes generadoras de alta tensión, lo cual podría indicar, efecto a nivel genético de los CEM.

Por otra parte, es bien sabido que los CEM de baja frecuencia pueden producir una variedad de efectos benéficos en los sistemas biológicos. Los campos magnéticos pulsantes por ejemplo, son usados para la reparación de fracturas óseas, Andrew y Basset (1989), mostraron que el tejido óseo es sensible a campos magnéticos y eléctricos de baja frecuencia. Primero se sometió al tejido a un campo magnético variable de baja frecuencia y se detectó que en el tejido se inducía una corriente, ya que la lectura del voltímetro se modificaba en presencia de dicho campo. De este modo se inicio el estudio de la posible utilización de campos magnéticos para la terapia de fracturas persistentes y en algunos casos, de osteoporosis.

### **Campos Electromagnéticos y Cáncer**

Recientemente se ha discutido la posible relación de la exposición a CEM con el desarrollo de leucemia aguda y se ha propuesto una relación entre la forma de exposición al campo magnético en niños y adultos, sin embargo, no se han definido bien a los CEM como causantes de la enfermedad (Blank, 1995).

Asimismo, en varios estudios epidemiológicos se ha correlacionado la exposición de seres humanos a campos electromagnéticos con una alta incidencia de cáncer (Coleman et al., 1983; McDowall, 1983; Milham, 1982; Pearce et al., 1985; Tomenius et al., 1982; Wertheimer and Leeper, 1979; Wrigth et al., 1982).

En contraste, Costa y Hoffmann (1987), descubrieron que campos magnéticos de alta intensidad, en el intervalo 1 a 50 T, con una frecuencia de 5 a 1000 KHz, reducen la concentración de células malignas en tejido animal.

Por lo general para el tratamiento del cáncer, el tejido enfermo se somete de 1 a 1000 pulsos de 100  $\mu$ seg a un segundo de duración dependiendo del tipo de tumor. El efecto de este tratamiento es la reducción en el número de células malignas; después se aplica la quimioterapia. La ventaja es que no se genera calor en el tejido y aunque el tejido normal también sufre alteración, el cambio es menor comparado con el efecto que tiene en las células cancerosas. En adición, las células del sistema inmunológico no se afectan con el tratamiento por lo que el efecto neto en el organismo es favorable.

Por otro lado, se han postulado teorías acerca de la posibilidad de carcinogénesis asociada con los CEM. Así, Fitzgerald (1990), propone un mecanismo para explicar la formación de un tumor debido a esta causa en el cual, se tienen al menos dos etapas: 1) Etapa de iniciación, en la cual el ADN es dañado por un agente externo, produciendo ADN anormal y dando lugar a la expresión de proteínas anormales. Para la iniciación se requiere suficiente energía para romper los enlaces químicos del ADN (más de la que pueden proporcionar los CEM a los cuales estamos habitualmente expuestos). 2) Etapa de promoción, que es el período de latencia entre la exposición a un carcinógeno y la manifestación de cáncer. De acuerdo a lo anterior los CEM<sup>®</sup> actuarían más bien como promotores que como iniciadores, ya que acelerarían el proceso de desarrollo de cáncer más que inducirlo directamente.

En un estudio experimental Loescher et al. (1993), indujeron tumores mamarios en ratas utilizando el 7, 12 dimetilbenzantraceno (DMBA) a un grupo de 99 ratas hembras para luego exponer a campos magnéticos de 100  $\mu$ T por 24 horas diarias durante 7 días; otro grupo de 99 ratas fue utilizado como testigo bajo las mismas condiciones ambientales que el grupo expuesto al tratamiento. Los resultados indicaron que las ratas tratadas con DMBA y expuestas por un largo período al campo magnético, manifestaron un

crecimiento e incidencia de tumores mamarios malignos mayor que el del grupo no expuesto al campo magnético.

Por su parte, Perry (1994), encontró que cuando se expusieron cultivos de células cancerosas a campos magnéticos, se presentaba un aceleramiento significativo en el crecimiento celular, el cual continuaba a una tasa rápida aún después de la exposición al campo magnético. Asimismo, en ratas en las que se indujo la formación de tumores mamarios químicamente, se encontró que presentaban un grado mayor de crecimiento de tumor cuando se exponían a campos magnéticos de baja frecuencia.

Por otro lado, se ha sugerido que el riesgo de leucemia infantil puede estar relacionado con los efectos combinados de campos magnéticos estáticos y de campos magnéticos de frecuencia extremadamente baja. También se han realizado estudios epidemiológicos que han demostrado el incremento del riesgo a padecer leucemia en niños que viven cerca de líneas de distribución eléctrica (Blank, 1995; Bowman et al., 1995). También Antonopoulos et al. (1995), han sugerido que los CEM tienen relación con el cáncer, para esto, ellos incubaron cultivos de sangre periférica en presencia de un CEM de 5 mT y 50 Hz de frecuencia. Los resultados obtenidos indicaron que los efectos carcinogénicos originados por CEM no son de tipo iniciador, pero probablemente tengan efectos promotores.

sq

## **Modelos Físicos de Exposición a Campos Magnéticos**

En el estudio de los efectos biológicos de los CEM, se emplean una diversidad de aparatos de exposición, los cuales varían en estructura y características.

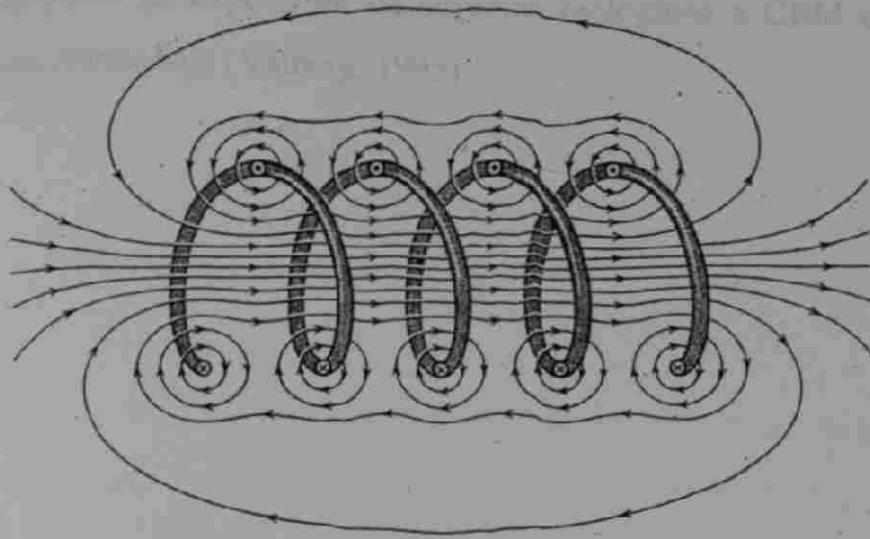
Como ya se mencionó anteriormente (Figura I.1), el dispositivo más común es el solenoide, sin embargo existen otros como los toroides o las

bobinas Helmholtz que también suelen utilizarse en una diversidad de trabajos que investigan efectos de los CEM en sistemas biológicos (Lin, 1994). En la Figura I.4 se ilustra un toroide y el sistema de bobinas Helmholtz comparándose con el ya mencionado solenoide

En lo que concierne al toroide, éste consiste básicamente en un solenoide circularizado, es decir enrollado en forma de rosquilla, el material biológico a exponerse suele colocarse en el centro del círculo donde se homogeniza el campo magnético. Sin embargo, la desventaja de este sistema es que, en contraste con el solenoide, el CEM generado, no es constante en toda la sección transversal del toroide y por lo tanto se deben hacer cálculos cuidadosos que consideren una minuciosa geometría de la exposición (Leonard et al., 1990; Yasui y Okada, 1993).

En lo que respecta a las bobinas tipo Helmholtz, éstas consisten en un par de bobinas planas circulares con igual número de vueltas y de diámetros iguales dispuestas en un eje imaginario común y conectadas en serie para así tener una misma corriente. El propósito de este arreglo es para obtener un campo magnético que sea más uniforme que el de una bobina simple, como es el caso del solenoide y sin la necesidad de usar una bobina muy larga (solenoide simple) en la que sí se lograría obtener un campo uniforme. El arreglo óptimo en un sistema de bobinas Helmholtz es aquel donde la distancia entre las dos bobinas es igual al radio de una de ellas, en este caso, la variación en la intensidad del campo cerca del centro del sistema es mínimo y asimismo presenta uniformidad. La intensidad del campo es la suma de los campos producidos por las bobinas individuales (Parker, 1993).

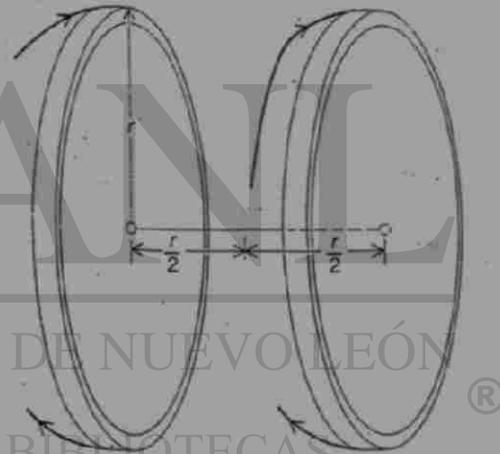
Para el presente trabajo, se prefirió la utilización de solenoides que debidamente caracterizados y cuidadosamente contruídos son aceptados



A



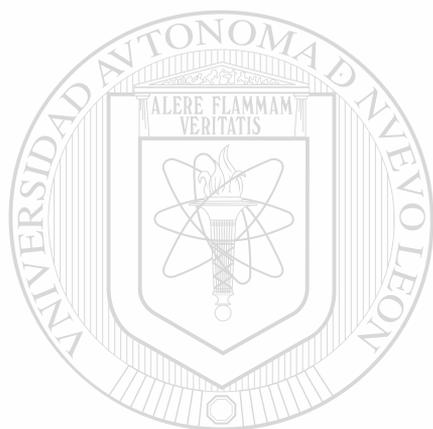
B



C

**Figura I.4** Dispositivos para generar campos electromagnéticos  
(A) Solenoide, (B) Toroide y (C) Sistema dual de bobinas Helmholtz

como aparatos de exposición de sistemas biológicos a CEM de frecuencia extremadamente baja (Valberg, 1995).



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### HIPÓTESIS

Es posible construir solenoides, que debidamente caracterizados, puedan ser utilizados como modelos físicos confiables para exposición de sistemas biológicos a campos electromagnéticos de 60 Hz.

### OBJETIVO GENERAL

Establecer modelos físicos, tipo solenoide, para exposición de sistemas biológicos (*in vitro* e *in vivo*) a campos electromagnéticos de 60 Hz.

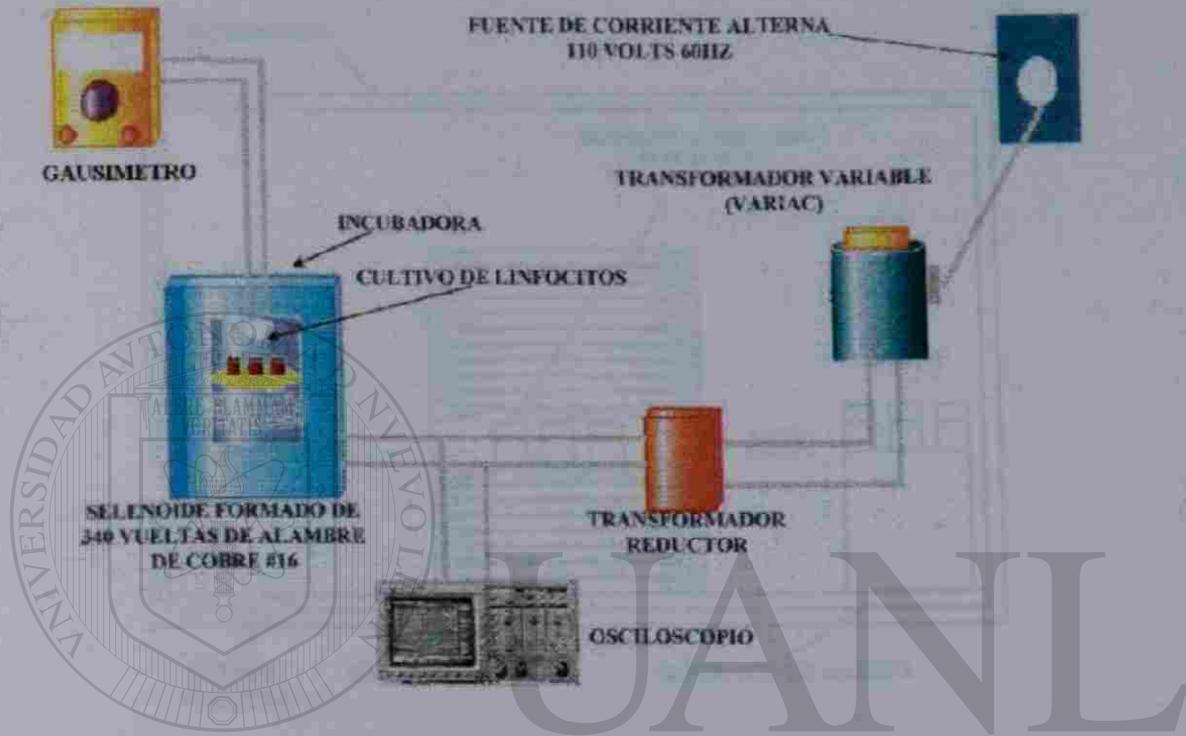
### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- A) Diseñar y caracterizar un modelo físico de exposición para cultivos celulares (*in vitro*) a campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja (60 Hz).
- B) Diseñar y caracterizar un modelo físico de exposición para ratones de laboratorio (*in vivo*) a campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja (60 Hz).

## MATERIAL Y METODO

### I.- Sistema de Exposición *in vitro*

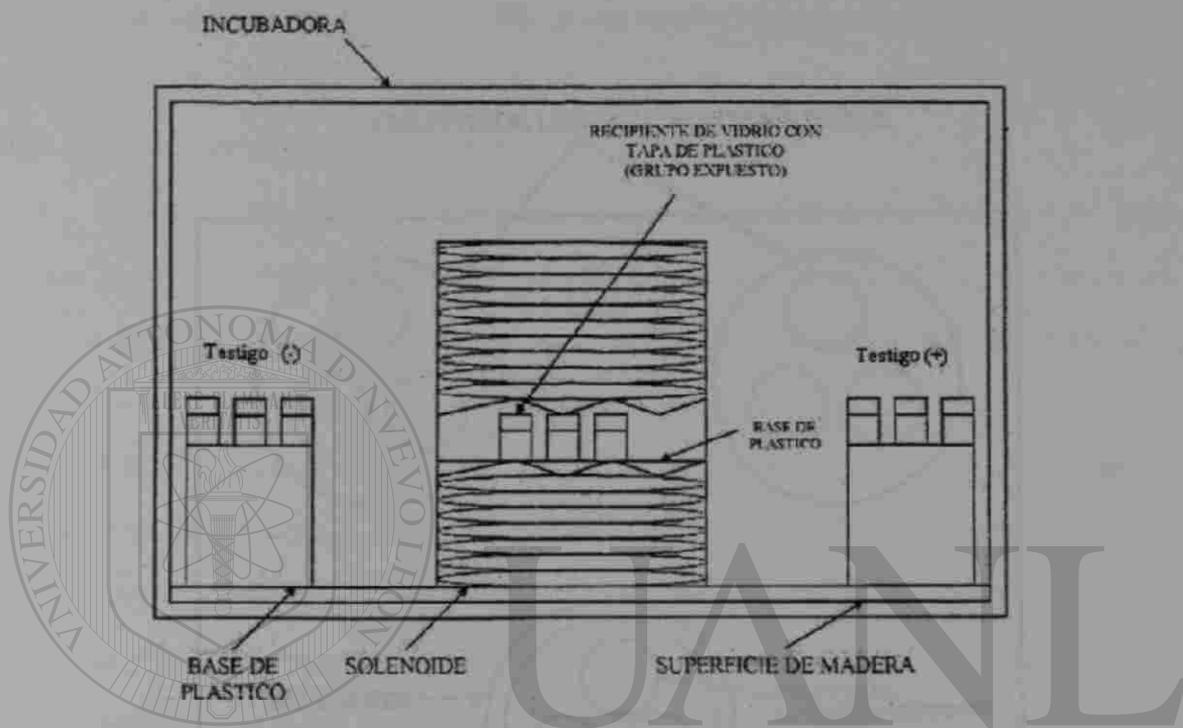
Este modelo se implementó para llevar a cabo la exposición de cultivos de linfocitos humanos obtenidos de sangre periférica. Para tal efecto se construyó un solenoide o bobina generadora del CEM, el cual estaba formado por un devanado de 340 vueltas de alambre de cobre calibre No.16 enrollado alrededor de un tubo de PVC, el cual tuvo una altura de 25 cm, un radio de 5.27 cm y una resistencia de salida de 1.9 ohms. El solenoide se conectó a un transformador-reductor, con una alimentación de entrada de  $127\text{ V} \pm 10\%$  y una salida de 12 V, éste a su vez se unió a un transformador variable que tuvo un máximo de 140 V y 7.5 Amp de salida con una alimentación de 120 V y una frecuencia de 60 Hz. En la Figura I.5 se presenta el diagrama general de este sistema de exposición. El solenoide que contenía los frascos de cultivo se colocó en el interior de una incubadora que tuvo una temperatura constante de  $36.5^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ . En el presente estudio se utilizaron tres intensidades magnéticas (1.0, 1.5 y 2.0 mT) de onda sinusoidal de 60 Hz de frecuencia, esto fue constatado monitoreando el sistema con un osciloscopio (marca BK-Precision 5120). En el mismo sistema de incubación de los cultivos y en forma simultánea, se colocaron los cultivos testigo en una área en la cual no recibieron la influencia del CEM. En la Figura I.6 se muestra una vista frontal de esta disposición. Por otro lado, en la Figura I.7 se presenta otro diagrama que ilustra la forma en que fueron colocados los cultivos a exponerse al CEM y la de los grupos no expuestos, en donde se puede apreciar otro aspecto de la disposición entre ellos. Cabe mencionar que se consideró estrictamente la geometría de la exposición y para ello los cultivos expuestos fueron colocados



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

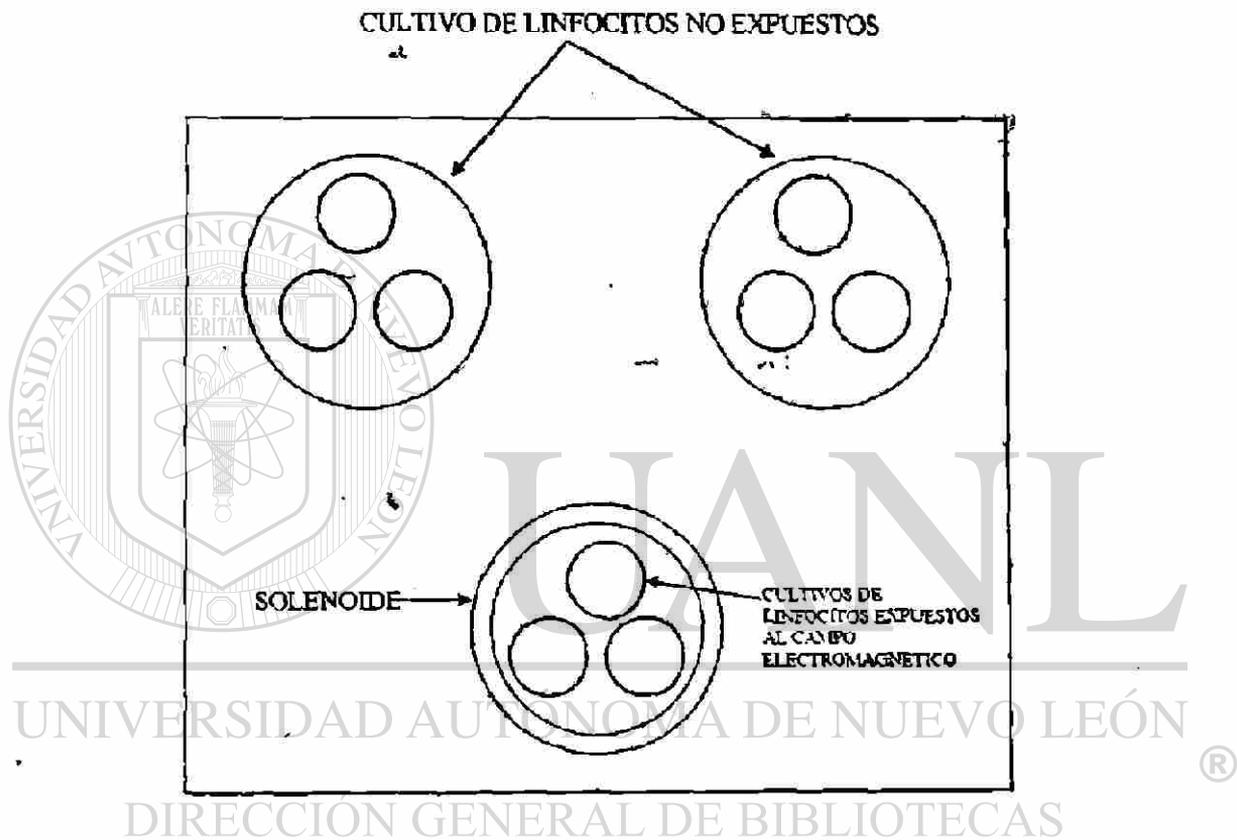
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Figura I.5** Diagrama general del sistema de exposición utilizado para el tratamiento magnético *in vitro* de cultivos de linfocitos humanos de sangre periférica



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Figura I.6** Representación esquemática que ilustra una vista frontal de la exposición de cultivos de linfocitos a CEM oscilantes de 60 Hz. Se indican además los testigos que fueron colocados dentro de la misma incubadora, en sitios predeterminados donde no se detectó campo magnético.



**Figura I.7** Diagrama que ilustra una vista superior de la forma en que fueron dispuestos los cultivos de linfocitos. Los que se expusieron al CEM de 60 Hz y los testigos. Los tres juegos de tres cultivos se ubicaron a una distancia máxima de 10 cm entre cada uno.

sobre una base de acrílico que tenía círculos concéntricos marcados para cuidar así que la distancia del cultivo del centro a la periferia del solenoide fuera la misma, ya que se sabe que el campo eléctrico inducido por el CEM es dependiente del radio en el cual se encuentra la muestra.

Por otra parte, la Figura I.8 muestra el diagrama de los componentes eléctricos para generar y medir el CEM utilizado en la exposición *in vitro*.

## **II.- Sistema de Exposición *in vivo*.**

Con este modelo se llevó a cabo la exposición de ratones *in vivo* para llevar a cabo la determinación de los parámetros hematológicos, la prueba de micronúcleos y el análisis citogenético de células espermatogénicas (capítulos III, IV y V respectivamente) de ésta tesis investigación.

Los ratones utilizados en los experimentos fueron colocados en el interior de un solenoide, el cual constaba de 552 vueltas de alambre de cobre laqueado, de calibre 14, enrollado en una matriz de plástico de 27 cm de diámetro y 71 cm de alto. Este fue alimentado por una corriente eléctrica que provenía de una fuente de corriente alterna de 60 Hz a la cual se conectó a un transformador variable CONTROVAC-AC modelo A8.cp. con una entrada de 120 volts y 12 amperes. Todo esto se hizo pasar a su vez por un transformador reductor que permitió manejar el amperaje requerido para producir la intensidad magnética deseada (1.0, 1.5 y 2.0 mT). A excepción del solenoide, los componentes de este sistema fueron similares a los presentados en la Figura I.5 para el caso de la exposición *in vitro* de linfocitos, anteriormente descrito. Asimismo, el diagrama de componentes eléctricos para este sistema, es similar al anteriormente descrito (*in vitro*), en la Figura I.8

También en este caso, con objeto de establecer la geometría de la exposición, se construyeron separadores plásticos de PVC y acrílico que permitieron exponer tres ratones simultáneamente en posiciones



predeterminadas donde el pico máximo de medición indicó el valor de densidad de flujo magnético deseada. Asimismo se colocaron alimentadores acrílicos y botellas con agua para el suministro de los animales durante el tiempo que duró el experimento. En la Figura I.9 se muestra una fotografía en donde se aprecia una vista superior del solenoide que contenía a los tres ratones durante el tratamiento magnético.

### **Cuantificación del CEM**

Tanto para el modelo de exposición *in vitro* para tratamiento de cultivos de linfocitos como el de ratones *in vivo*, la medición del CEM se realizó mediante la utilización de un gausímetro (Marca RFL Modelo 912) y de una bobina de prueba que al ser sometida a la influencia del campo detecta un voltaje (FEM inducida) que es proporcional a la intensidad de flujo magnético medido en Teslas. La bobina de prueba fue a su vez calibrada con el gausímetro con una referencia de 10.1 Gauss (1.01 mT) que fue igual a 1.7 mV de corriente alterna detectados en esta bobina. Dicha bobina de prueba se construyó enredando en un tubo de plástico de 6.8 mm de diámetro, alambre de cobre laqueado del No.32, un total de 50 vueltas. Se constató asimismo con la Bobina de prueba que el CEM era homogéneo dentro del solenoide donde se expusieron los cultivos de linfocitos o en la zona en que se colocaron los ratones.

Criterios para la selección de los animales

En ambos casos, la selección de los animales se hizo de

modo aleatorio y se colocaron en los compartimentos del



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

**Figura I.9** Fotografía que ilustra una vista superior del solenoide utilizado para exposición *in vivo* a CEM de 60 Hz. Se aprecian los tres compartimentos equidistantes donde se colocan los animales para ser sometidos al tratamiento magnético.

## **Criterios para Caracterización del CEM**

En ambos sistemas de exposición antes descritos, se hizo la caracterización física requerida para que hubiera reproducibilidad en los resultados, dicha caracterización de acuerdo a Cadossi et al. (1992), debía incluir, la frecuencia, amplitud y forma de la onda así como la geometría de la exposición. Con respecto a ésta última, se tomó en cuenta que el campo eléctrico inducido por el CEM en el sistema a exponer, es proporcional al radio con respecto al centro de la bobina (Liburdy, 1993), por esta razón se colocó un anillo acrílico concéntrico que permitía exponer las células y los animales siempre en la misma posición. Esto es de gran importancia si consideramos que el efecto biológico de un CEM está directamente relacionado con ese campo eléctrico inducido en las células (Leonard y cols. 1990). Para llevar a cabo la caracterización física de los modelos se utilizó además un osciloscopio de 2 canales marca BK modelo 2120 No. de serie 201-01787.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESULTADOS

En la Tabla I.1, se muestran los valores obtenidos en las mediciones eléctricas y magnéticas realizadas al sistema de exposición *in vitro* utilizado para la exposición de cultivos de linfocitos humanos, cada valor representa el promedio de 10 mediciones. Se comprobó que el sistema fue capaz de generar un campo electromagnético alternante u oscilante con una frecuencia de 60 Hz que es la que se encuentra comunmente en las tomas de corriente alterna en el continente americano. Como puede observarse los valores presentaron una mínima dispersión y se mostraron bastante regulares a lo largo de las mediciones realizadas.

Cabe mencionar que durante todo el tiempo en que los cultivos o animales fueron tratados con el campo magnético, la bobina de prueba permaneció en el interior de los solenoides para constatar la fidelidad en la intensidad del CEM.

Por otra parte la Tabla I.2, presenta asimismo estas variables eléctricas y magnéticas pero en este caso para el sistema de exposición de ratones *in vivo*, en el cual también se comprobó la generación de un CEM oscilante de 60 Hz el cual fue homogéneo en la zona de exposición, al centro de la bobina. Para este caso se observó asimismo una mínima variación en los datos obtenidos producto de 10 mediciones consecutivas aplicadas al sistema.

$B$ (mT)	$V_{rms}$ FEM Inducida en mV AC $\bar{x} \pm DS$	V Alimentado al Solenoide $\bar{x} \pm DS$	Tipo de Onda	Amplitud de Onda (V) $\bar{x} \pm DS$	Frecuencia Hz
1.0	$1.08 \pm 0.001$	$0.78 \pm 0.003$	Sinusoidal	$4.65 \pm 0.002$	60
1.5	$2.52 \pm 0.001$	$1.15 \pm 0.001$	Sinusoidal	$6.90 \pm 0.001$	60
2.0	$3.36 \pm 0.002$	$1.34 \pm 0.002$	Sinusoidal	$9.30 \pm 0.002$	60

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

**Tabla I.1** Mediciones eléctricas y magnéticas obtenidas del sistema de exposición *in vitro* para ser utilizado con cultivos de linfocitos humanos, donde  $B$  = campo electromagnético en miliTeslas,  $V_{rms}$  = raíz cuadrada media del Voltaje, detectado en la bobina de prueba, V = Volts, AC = Corriente Alterna, Hz = Hertz, que es la unidad de frecuencia de una onda en el Sistema Internacional de Unidades. El valor de la amplitud de onda fue registrado con ayuda del osciloscopio.

$B$ (mT)	Vrms FEM Inducida en mV AC $\bar{x} \pm DS$	V Alimentado al Solenoide $\bar{x} \pm DS$	Tipo de Onda	Amplitud de Onda (V) $\bar{x} \pm DS$	Frecuencia Hz
1.0	$1.08 \pm 0.001$	$4.0 \pm 0.001$	Sinusoidal	$7.21 \pm 0.002$	60
1.5	$2.52 \pm 0.001$	$7.8 \pm 0.001$	Sinusoidal	$9.34 \pm 0.001$	60
2.0	$3.36 \pm 0.002$	$14.0 \pm 0.002$	Sinusoidal	$11.78 \pm 0.002$	60

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**Tabla I.2** Mediciones eléctricas y magnéticas obtenidas del sistema de exposición *in vivo* para utilizarse con pequeños mamíferos (ratones), donde  $B$  = campo electromagnético en miliTeslas, Vrms = raíz cuadrada media del Voltaje, detectado en la bobina de prueba, V = Volts, AC = Corriente Alterna, Hz = Hertz, que es la unidad de frecuencia de una onda en el Sistema Internacional de Unidades. El valor de la amplitud de onda fue registrado con ayuda del osciloscopio.

## DISCUSION

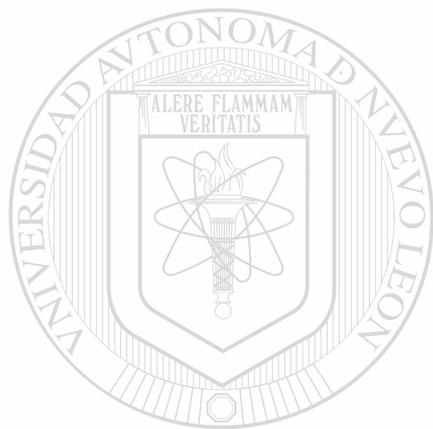
De acuerdo a los resultados de la caracterización física de los sistemas de exposición empleados en este trabajo se puede asumir que se utilizaron sistemas físicamente confiables para llevar a cabo los experimentos propuestos. Básicamente se consideraron los criterios internacionalmente recomendados para sistemas de exposición a campos magnéticos de frecuencia extremadamente baja previamente recomendados (Cadossi et al., 1992; Valberg, 1995).

Si bien es cierto que existen desde hace tiempo en el mercado bobinas comerciales y sistemas de exposición que son utilizados por diversos investigadores, como es el caso de las bobinas Helmholtz (McLeod et al., 1983), otros investigadores recomiendan la construcción de sistemas propios que debidamente caracterizados son capaces de brindar exposiciones confiables.

El sistema que más problemas presentó en este trabajo fue el de exposición *in vivo* con el cual se pretendía exponer animales en forma aguda por 72 horas continuas y por 10 días durante 8 horas diarias. Sin embargo se mantuvo una adecuada higiene y el consumo de alimento y agua fueron adecuados durante el período de tratamiento magnético. El modelo físico de exposición aquí presentado, cumplió con las expectativas y es más simple que otros como aquel de Yasui y Otaka (1993), aunque con éste último se pueden exponer una mayor cantidad de animales por experimento.

Una de las críticas más frecuentes a las investigaciones acerca del efecto biológico de campos magnéticos, es la falta de reproducibilidad de los resultados, atribuible en la mayoría de los casos, a la falta de estandarización de los modelos de exposición (Pilla, 1993). La ventaja de la utilización de solenoides, como el de este estudio, es que son modelos muy simples, fáciles

**de reproducir, aunado a lo económico y que, adecuadamente caracterizados, brindan exposiciones magnéticas confiables y con variaciones mínimas.**



# UANL

---

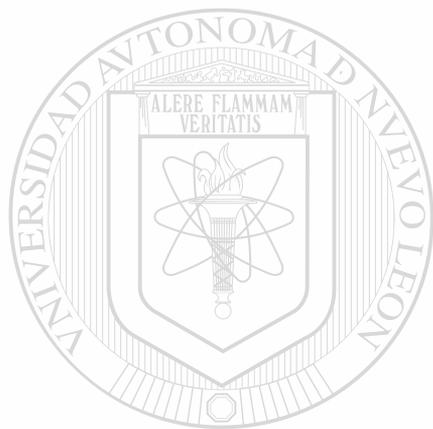
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CONCLUSION

Se logró la construcción y caracterización física de dos sistemas de exposición a CEM oscilantes de 60 Hz, *in vitro* e *in vivo* los cuales cumplen con las características requeridas a nivel internacional, para el estudio del efecto biológico de campos magnéticos.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

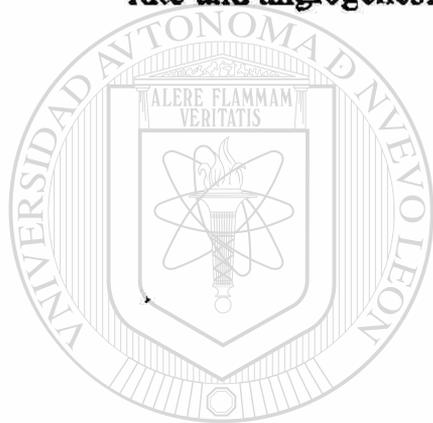
## LITERATURA CITADA

- Andrew C. y Basset L.(1989). Aspectos prácticos y fundamentos de usos terapéuticos de campos electromagnéticos pulsados. *Revista de Ingeniería Biomédica*, 5: 451-529.
- Antonopoulos A., Yang B.C., Estamm A., Heller WD., Obe G. (1995). Cytological Effects of 50 Hz Electromagnetic Fields on Human Lymphocytes *in vitro*. *Mutat. Res. Letters*. 346: 157.
- Blank M. (1995). Biological effects of environmental electromagnetic fields : Molecular mechanism. *Biosystems*. 35:175-178.
- Bowman J.D., Thomas D.C., London S.J., Peters J.M. (1995). Hypothesis: The risk of childhood leukemia is related to combinations of power-frequency and static magnetic fields. *Bioelectromagnetics*. 16: 48-59.
- Brusik D. (1987). Principles of genetic toxicology. New York. Plenum Press. 1st Edition. pp 53-76.
- Cadossi R., Bersani F., Cossarizza A., Zucchini P., Emilia G., Torelli G. and Franceschi C. (1992). Lymphocytes and Low-Frequency Electromagnetic Fields. *The Faseb Journal*. 6: 2667-2674.
- Cantini M., Cossarizza A., Bersani F., Cadossi R., Cecherelli G., Tenconi R., Gatt C. and Franceschi C. (1987). Enhancing effects of pulsed electromagnetic fields on lectin-induced human lymphocyte proliferation. *J. Bioelectric*. 5: 91-104.
- Coleman M., Bell J. and Skeet R. (1983). Leukemia incidence in electrical workers. *Lancet*. 982-983.
- Costa J.L. and Hoffmann G.A. (1987). Malignancy treatment. US Patent No.65898.
- De Seez, R. and Juutilainen J. (1996). Biological effects relevant to amplitude modulated radiofrequency fields, in: Simunic D (Ed), COST 244 Position Papers. COST 244: Biomedical Effects of Electromagnetic Fields, CEC-XIII-PP01/96, European Union.
- Fitzgerald K. (1990). Electromagnetic fields: the jury's still out. *IEEE Spectrum*. August. 800: 22-35.
- Galar-Castelan I. (1988). Electricidad y magnetismo para Estudiantes de Ciencias Biológicas. Editorial Limusa. 1ª. Edición. Mex., pp. 223-237.
- Goodman R., Bassett C.A.L. and Henderson A.S. (1983). Pulsing electromagnetic Fields induce cellular transcription. *Science*. 220: 1283-1285.
- Hewitt. (1998). Física Conceptual. Addison Wesley Longman (Editorial). Séptima reimpresión. pp. 616-629.

- Juutilainen J. and Lang S. (1997). Genotoxic, carcinogenic and teratogenic effects of electromagnetic fields. Introduction and overview. *Mutat. Res.* 387: 165-171.
- Kowalczyk C.I., Robbins L., Thomas J.M., Saunders R.D. (1996). Dominant lethal studies in male mice after exposure to 50 Hz magnetic field. *Mutation Research. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* 328: 2 pp. 229-237.
- Leonard A., Neutre R., Yust M. and Lee G. (1990). *Electromagnetic and Magnetic Fields. Measures and Possible Effects on Human Health.* Health Service Department. Cal. U.S.A. p 13.
- Liboff A.R., Williams T., Strong D.M., and Wistar R. (1984). Time-varying magnetic fields: effects on DNA synthesis. *Science.* 223: 818-820.
- Liburdy R.P. (1993). Biological Interactions of Cellular Systems with Time-Varying Magnetic Fields. *Ann. N.Y. Acad. of Sci.* III: 74-95.
- Lin J.C. (1994). *Advances in electromagnetic fields in living systems. Volume I. First Edition.* Plenum Press. N.Y. pp. 18-20.
- Loescher W., Mevissen M., Lehmacher W. and Stamm A. (1993). Tumor promotion in a breast cancer model by exposure to a weak alternating magnetic field. *Cancer letters* 71:75-81.
- McDowall M.E. (1983). Leukemia mortality in electrical workers in England and Wales. *Lancet.* 16: 243.
- McLeod K., Lee R. and Erlich. (1987). Frequency dependence of electric fields modulation of fibroblast protein synthesis. *Science.* 236:1465-1469.
- McLeod B.R., Pilla A.A., Sampsel M.N. (1983). Electromagnetic Fields Induced by Helmholtz Aiding Coils Inside Saline-Filled Boundaries. *Bioelectromagnetics* 4: 357-370.
- Milham S. (1982). Mortality from leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *New Engl. J. Med.* 307: 249.
- Moreno-Trujillo O.A. (1997). *Diseño de un equipo de Tesla modulado en baja frecuencia para el tratamiento experimental de la osteoporosis aplicable al laboratorio de fisiología de la escuela médico militar. Universidad del ejército y fuerza aérea escuela militar de ingenieros. Tesis inédita.* pp 33-45.
- Muñoz R. (1994). *Estudios jurídicos sobre la regulación y reglamentación que existe en materia de riesgos, derivados de problemas que se producen en los campos electromagnéticos y sobre el reconocimiento en la legislación del peligro potencial de daño que existe en instalaciones eléctricas de alto voltaje . Comisión Federal de Electricidad.* pp 1-10.

- Nordstrom S., Birke E. And Gustavsson L. (1983). Reproductive Hazards Among Workers at High Voltage Substations. *Bioelectromagnetics*.4: 91-101.
- Parker S.P. (1993). *Encyclopedia of Physics*. Second Edition. McGraw-Hill, USA. pp. 337-339.
- Pearce N.E., Sheppard R.A., Howard J.K., Fraser J. and Lilley B.M. (1985). Leukemia in electrical workers in New Zeland. *Lancet*. 18: 811-812.
- Perry T.S. (1993). Today's view of magnetic fields *IEEE SPECTRUM*. December 14-23.
- Pilla A.A. (1993). State of the art in electromagnetic therapeutics. *Electricity and Magnetism in Biology and Medicine*. 3: 17-22.
- Postow E. and Swicord M.L. (1996). Modulated Fields and "window" Effects, in: Polk C., Postow E. (Eds). *Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields*. CRC Press, Boca Ratón, USA. pp. 535-581.
- Pothakamury U.R., Barletta B.J., Barbosa G.V. y Swanson B.G. (1993). Inactivación de microorganismos en alimentos usando campos magnéticos oscilantes. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de alimentos*. 33: 479-489.
- Rodan G.A., Bourret L.A. and Norton L.A. (1978). DNA synthesis in cartilage cells is stimulated by oscillating electric fields. *Science*. 199:690-692.
- Rojo A. (1981). *Física de campos y ondas*. Primera edición. Editorial Fondo Educativo Moderno Interamericano. pp. 132 - 145.
- Simunic D (Ed). (1996). Biological Effects Relevant to Amplitud Modulated RF Fields. *Proceedings of a COST244 Workshop*. Kuopio, 3-4 september, 1995. COST244: Biomedical Effects of EMF. CEC. XIII. 244/6/96, European Union.
- Stewart J.R. (1979). The electrostatic and electromagnetic effects of A.C. transmission Lines. *IEEE*. U.S.A. pp 4-10.
- Strother G.K. (1980). *Física aplicada a las ciencias de la salud*. Mc Graw Hill p 312.
- Takahashi K., Kaneko I., Date M. and Fukada E. (1987). Influence of pulsing electromagnetic field on the frequency of sister-chromatid exchanges in cultured mammalian cells. *Experientia*. 43:331-332.
- Tenforde T.S. (1991). ELF field interactions at the animal, tissue, and cellular levels. *Electromagnetics in biology and medicine*. 39: 225-245.
- Tomenius L., Hellstroem L. and Enander B. (1982). Electrical constructions and 50 Hz magnetic field at the dwelling of tumor cases (0-18 years of ages) in the county of Stockholm. *Proceedings of the International Symposium on Occupational Health and Safety in Mining and Tunneling*, Prague. p 117.

- Valberg P.A. (1995). Designing EMF experiments: What is required to characterize exposure?. *Bioelectromagnetics* 16: 396-401.
- Wertheimer C.L. and Leeper E. (1979). Electrical wiring configurations and childhood cancers. *Am. J. Epidemiol.* 109: 273-284.
- Wood R. (1991). *Magnetismo: De la brújula a los imanes superconductores.* 1ª. Edición. McGraw-Hill. Capítulo 12 Biomagnetismo. pp 165-173.
- Wright W., Peters J.M. and Mack T.M. (1982). Leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *Lancet.* 15: 1160-1161.
- Yasui M., Otaka Y. (1993). Facility for chronic exposure of rats to ELF magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 14: 535-544.
- Yen-Patton G.P.A., Patton W.F., Beer D.H. and Jacobson B.S. (1988). Endothelial response to electromagnetic fields: stimulation of growth rate and angiogenesis in vitro. *J. Cell. Physiol.* 134:37-46.

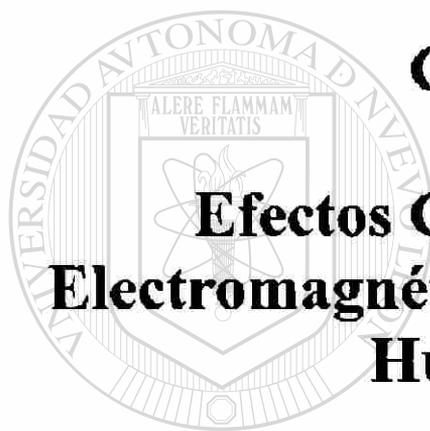


# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## **CAPITULO II**

# **Efectos Citológicos de Campos Electromagnéticos de 60 Hz en Linfocitos Humanos *in vitro*.**

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## ANTECEDENTES

Se han realizado diversas investigaciones que utilizan al linfocito y células linfoides como modelo de estudio para evaluar el efecto biológico de CEM (Maimon et al., 1986; Rosenthal y Obe, 1989; García-Sagredo et al., 1990; Khalil y Qassem, 1991; Cadossi et al., 1992; Antonopoulos et al., 1995; McCann et al., 1998). Asimismo, en lo que concierne a los efectos genotóxicos y citotóxicos de los CEM se han realizado una gran diversidad de estudios en diferentes organismos desde bacterias hasta mamíferos, incluyendo al hombre. A continuación se expondrá, a manera de marco teórico, los fundamentos de las técnicas citogenéticas empleadas en este estudio, así como algunos de los trabajos más relevantes que utilizaron éstos y otros procedimientos en la evaluación del potencial citotóxico y/o genotóxico de los campos electromagnéticos.

### Citogenética

La mitosis es el mecanismo por el cual se dividen los núcleos de las células somáticas. En esencia, en este proceso de división una célula produce dos células hijas idénticas. La división celular por mitosis ocurre en todos los tejidos del organismo a partir de la formación del cigoto y continúa toda la vida, aunque a un ritmo menos acelerado (Lisker y Armendaris, 1994).

La mitosis puede dividirse en etapas, el proceso global es continuo y no ocurre en partes separadas. Se divide en las siguientes fases (Emery, 1981):  
PROFASE: En esta etapa es posible observar los cromosomas duplicados, además se comienza a formar el huso entre los dos centriolos y la envoltura nuclear prácticamente ha desaparecido.

**PROMETAFASE:** Desaparece la membrana nuclear y los cromosomas se orientan hacia el centro del núcleo, en el llamado plano o placa ecuatorial. Al mismo tiempo se forma el huso, estructura de la cual dependen los desplazamientos de los cromosomas durante la mitosis.

**METAFASE:** Los cromosomas se encuentran alineados en el centro, justo en la placa ecuatorial.

**ANAFASE:** El centrómero de cada cromosoma se divide en dos partes y las dos cromátides se desplazan a los extremos o polos opuestos del huso.

**TELOFASE:** Los cromosomas hijos se han separado por completo, comienza a reaparecer la membrana nuclear. Las dos células nuevas se separan y sus núcleos una vez más pasan a la siguiente interfase.

**CITOCINESIS:** Implica la división del citoplasma con la correspondiente repartición de organelos.

Por más de medio siglo los citogenetistas han estudiado los cromosomas de las plantas y de los vertebrados, relacionando las anomalías numéricas y estructurales de los cromosomas con las características que transmiten, lo cual hizo posible que dejara de ser motivo de debate el papel de los cromosomas como portadores de genes (Armendares, 1968).

Hay 46 cromosomas en cada célula humana y cada cromosoma es un miembro de un par homólogo. Existen por lo tanto 23 pares de cromosomas en cada célula: un miembro de cada par procede del padre del individuo, y el otro de la madre. Veintidós pares son iguales en los machos y hembras y se denominan autosomas, pero el par restante, los cromosomas sexuales, difieren en ambos sexos y son de gran importancia en su determinación. En la hembra humana, los cromosomas sexuales son también idénticos y se denominan cromosomas X. En el macho humano, los dos cromosomas sexuales son muy diferentes: uno posee una forma igual al cromosoma femenino X, el otro,

mucho mas pequeño, se denomina cromosoma Y (Thompson y Thompson, 1968).

El estudio cuidadoso de una metafase revela que los cromosomas difieren en tamaño, lo que permite clasificarlos en grandes, medianos y pequeños. Por otra parte, la posición del centrómero, que es el elemento que une las dos cromátides, es variable: puede encontrarse casi a la mitad del cromosoma, en cuyo caso recibe el nombre de metacéntrico, o cerca de la parte terminal, y entonces se trata de un acrocéntrico, o finalmente puede ocupar una posición media entre la parte central y posición terminal, constituyendo así el cromosoma llamado submetacéntrico. Con estos dos parámetros, tamaño de los cromosomas y posición del centrómero, fue posible ordenar en forma convencional el cariotipo humano normal y a la vez hacer la clasificación de las variaciones patológicas del mismo (González-Ramos, 1985).

### **Técnica Citogenética para determinar los Intercambios de Cromátidas**

#### **Hermanas (ICH)**

Al inicio de la década de los años 1970, se desarrollaron trabajos clásicos que establecieron una metodología que permitía la tinción diferencial de las cromátides. El procedimiento consiste en adicionar al medio de cultivo, 24 horas después de la siembra, una base análoga de 5' Bromodeoxiuridina (BrdU) la cual es incorporada en las células en vez de la timina. Aquellas cromátides que difieren en el número de cadenas de ADN que han sido sustituidas por BrdU pueden distinguirse fácilmente si los cromosomas se ponen en contacto con el fluorocromo de Hoescht 33258, que tiñe el ADN normal pero no aquel cuyas dos cadenas han sido sustituidas por BrdU (Salamanca, 1990).

El intercambio de cromátidas hermanas resulta del rompimiento y unión de ADN en sitios aparentemente homólogos de dos cromátidas de un cromosoma, esto fue visualizado por primera vez al utilizar timidina tritiada para marcar el ADN en células en división (Chaganti et al., 1974).

Por otra parte se sabe que este fenómeno ocurre durante la replicación del material genético (Wolff et al., 1974), y probablemente involucra rompimientos, recombinación y nuevamente la unión del ADN.

La técnica para determinar el ICH es relativamente simple y es ampliamente usada en estudios de toxicología genética. Mediante este procedimiento se ha demostrado que la frecuencia de ICH es aumentada dramáticamente cuando células o animales (incluyendo al humano), son expuestos a mutágenos y carcinógenos conocidos (Perry y Evans, 1975; Lambert et al., 1976; Latt, 1981).

La frecuencia normal de ICH en linfocitos humanos periféricos fluctúa entre 7-10 por célula, pero también se ha reportado en un rango de 2 hasta 45 por célula en individuos no expuestos a mutágenos (Alhadeff y Cohen, 1976; Lambert et al., 1976; Crossen et al., 1977; Galloway, 1977; Carrano et al., 1980).

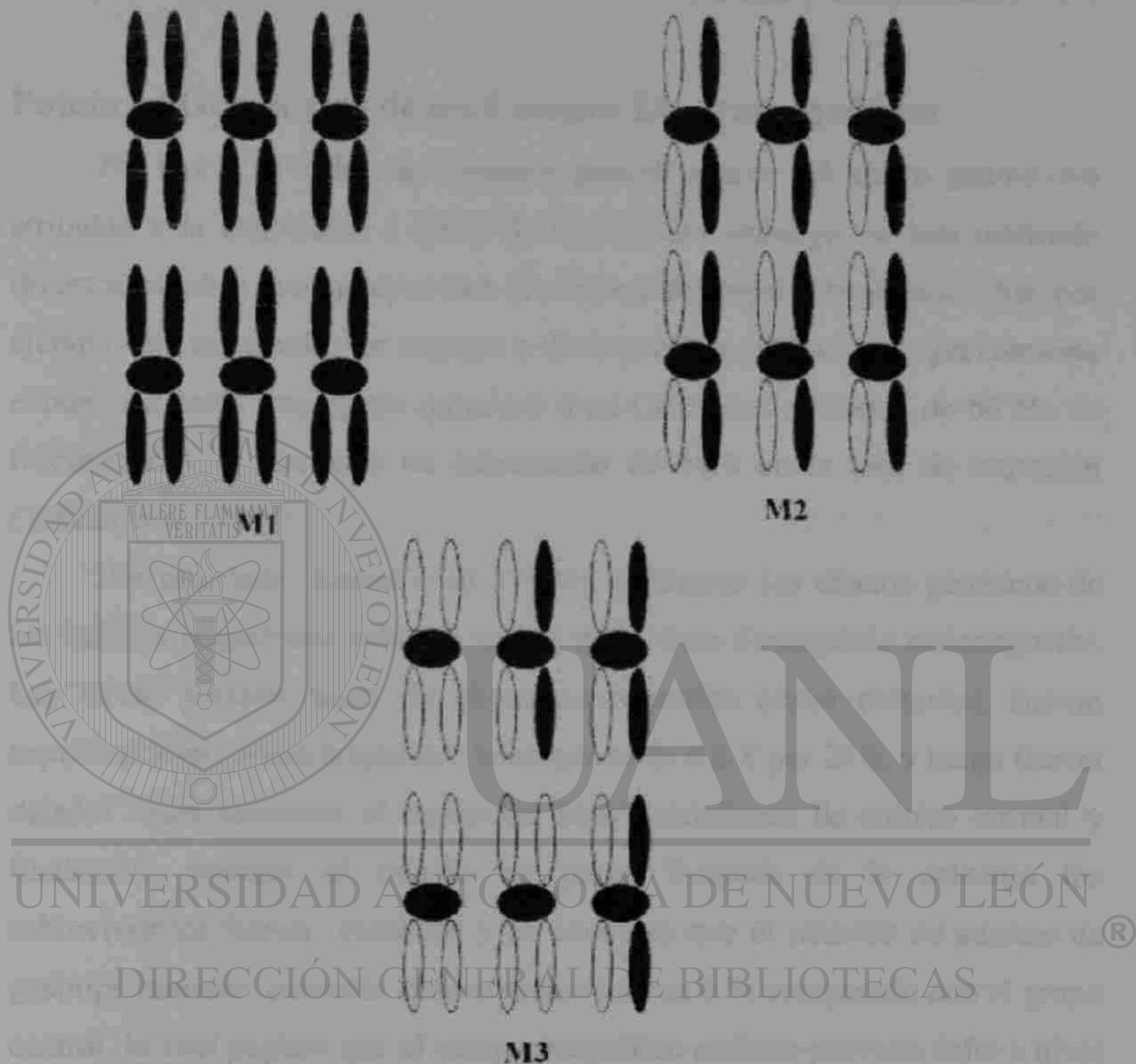
Se ha observado que los ICH se incrementan en enfermedades como el síndrome de Bloom (Chaganti y cols., 1974), esclerosis múltiple (Sutherland y cols., 1980) y en células de individuos con *xeroderma pigmentosum* expuestos a luz ultravioleta y agentes alquilantes (Wolff, 1977).

Por otra parte los estudios realizados por diversos grupos (Perry y Evans, 1975; Steka y Wolff, 1976; Raposa, 1978) muestran que varios clastógenos (factores que rompen el DNA) son capaces de inducir un incremento en la frecuencia de ICH por lo que ésta técnica se empezó a utilizar en la detección de mutágenos tanto *in vivo* como *in vitro*. Los primeros

estudios indicaron que la prueba tenía una alta sensibilidad, ya que se requerían concentraciones mucho menores de una sustancia para inducir intercambio de cromátidas hermanas que para producir aberraciones cromosómicas. Estudios posteriores han demostrado que esta alta sensibilidad se presenta en la mayoría de los casos cuando se usan agentes alquilantes, pero no es tan sensible cuando se utilizan otros agentes químicos.

Una ventaja adicional del análisis citogenético de intercambio de cromátidas hermanas, es que además de poderse evaluar la frecuencia de éstas, es posible medir otros parámetros que son indicadores del grado de proliferación celular. Así por ejemplo, contabilizando las células que se encuentran en primera, segunda y tercera división se estima la cinética de proliferación celular. Esto último se hace observando células cuyos pares de cromátidas están teñidas de oscuro y se encuentran en primera división, aquellas con una cromátida teñida y otra no, o sea una cromátida como "arlequín", se consideran en segunda división y aquellas metafases en que las dos cromátidas se tiñen claro (como fantasma o arlequín) se clasifican en tercera división. En la Figura II.1 se puede apreciar un esquema que ilustra lo anterior. La cinética de proliferación celular es considerada como un biomarcador para determinar agentes tóxicos, y se piensa que uno de los mecanismos por el cual los compuestos químicos pudieran afectar las células, es por la interacción con moléculas claves en la superficie de los linfocitos (Synder y Valle, 1991).

Otro parámetro que se determina junto con la cinética de proliferación celular es el índice mitótico, el cual consiste en determinar el porcentaje de células que están en mitosis. Este índice ha sido utilizado para la evaluación del crecimiento de cultivos desde los años 60, pero recientemente ha vuelto a



**Figura II.1**

primera división, (M2) metafases en segunda y (M3) tercera división. En la tercera división no siempre el 100 % de los cromosomas aparecen claros pero con algunos que aparezcan así ya se considera la tercera generación celular.

ser utilizado en la investigación de mecanismos de toxicidad sobre todo de fármacos antineoplásicos con actividad citotóxica (Rojas y cols., 1992).

## **Potencial Genotóxico de los Campos Electromagnéticos**

No hay a la fecha un consenso general acerca del efecto genotóxico atribuido a la exposición a CEM de 60 Hz. Sin embargo, se han realizado diversos estudios que incluyen una diversidad de modelos biológicos. Así, por ejemplo en un estudio se expuso a *Salmonella typhimurium* previamente expuesta a azida (mutágeno químico) a un CEM de 2 Gauss y de 60 Hz de frecuencia, y se encontró un incremento de 14% en la tasa de mutación (Tabrah et al., 1994).

Por otro lado, Koana et al. (1995), estimaron los efectos genéticos de los campos magnéticos sobre la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*: Las larvas jóvenes tanto de genotipos normales como mutantes, fueron expuestas a un campo magnético homogéneo de 0.6 T por 24 h, y luego fueron dejadas para continuar el desarrollo bajo condiciones de cultivo normal y finalmente emerger al estadio de pupa. Después de la eclosión los sobrevivientes fueron contados y se encontró que el número de adultos de genotipo mutante, aumentó aproximadamente un 8 % comparado con el grupo control, lo cual sugiere que el campo magnético estático provoca daño a nivel del DNA de células larvarias eliminando los homocigóticos recesivos.

En otro estudio Kowalczyk et al. (1996), investigaron el potencial mutagénico usando un ensayo letal dominante en ratones. Un total de 42 ratones macho fueron expuestos por 8 semanas a un CEM de 10 mT y 50 Hz de frecuencia. Por otro lado 47 ratones macho fueron manejados como grupo control. Cada animal se apareó con 2 hembras en la primera, tercera, quinta, séptima y novena semana después de la exposición al campo magnético. Se

encontró que las exposiciones a campos magnéticos de 10 mT no parecen inducir mutaciones letales en las células germinales de los animales tratados.

### **CEM y Efectos en Cromosomas**

En lo que respecta al efecto en cromosomas, Nordenson et al. (1994) expusieron células amnióticas de humano a un campo magnético sinusoidal de  $30\mu\text{T}$  y de 50 Hz por espacio de 72 h y encontraron un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas comparado con un grupo no expuesto. En contraste con esto, Galt et al. (1995) probaron el efecto de un CEM de  $30\mu\text{T}$  de 50 Hz sobre células amnióticas humanas durante un período de exposición de tres días, con el fin de confirmar los experimentos realizados por Nordenson (op. Cit.) en los cuales el rompimiento de cromosomas y la formación de gaps era relativamente alta después de la exposición. Pero ellos no encontraron incremento de daño a los cromosomas en las células expuestas a campos electromagnéticos.

En un estudio realizado por D'Ambrosio et al. (1985), se encontró un incremento significativo de aberraciones cromosómicas cuando exponían cultivos de linfocitos periféricos de bovino a CEM de 50 Hz. También encontraron un incremento en el número de aberraciones cromosómicas en células tumorales de ratón después de exponerlas a campos electrostáticos y también en linfocitos expuestos a microondas.

En otra investigación, Cohen et al. (1986) expusieron líneas celulares linfocíticas de pacientes con síndromes de inestabilidad cromosómica a campos magnéticos de 1-2 Gauss de 60 Hz, y no encontraron efecto en la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas y rompimiento de cromosomas.

En otro trabajo (Bauchinger et al., 1981) se analizaron linfocitos humanos periféricos de 32 trabajadores ocupacionalmente expuestos a transformadores que generan campos magnéticos intensos por más de 20 años y no se encontraron cambios en la frecuencia de aberraciones cromosómicas ni del intercambio de cromátidas hermanas.

En otra investigación, se expusieron linfocitos humanos *in vitro* a campos electromagnéticos de 2.5 mT. y los resultados obtenidos no demostraron efecto genotóxico ocasionado por los mismos (Bersani et al., 1988).

Por otra parte Rosenthal y Obe (1989), expusieron linfocitos humanos periféricos a CEM y encontraron que no alteraban la frecuencia espontánea de intercambio de cromátidas hermanas y aberraciones cromosómicas, pero cuando se sometían linfocitos previamente expuestos a mutágenos químicos a la acción de los CEM, se encontró una frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas mayor que cuando estaban en presencia del mutágeno químico, pero en ausencia del campo magnético, lo cual sugería un efecto sinérgico.

En otro trabajo se estudió el efecto *in vitro* de los campos electromagnéticos pulsantes de 10, 20 y 40 Gauss por 48 horas sobre linfocitos humanos periféricos, utilizando la prueba citogenética de intercambio de cromátidas hermanas y no encontraron diferencia estadísticamente significativa entre los grupos expuestos a CEM y el testigo (García-Sagredo et al., 1990).

Sin embargo Khalil y Qassem (1991) expusieron linfocitos humanos a CEM de 1.05 mT y frecuencia de 50 Hz por 24, 48 y 72 h y encontraron disminuida la actividad mitótica y un alto índice de aberraciones cromosómicas.

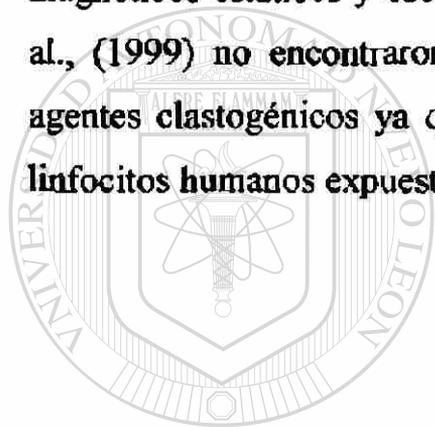
Por otra parte, Scarfi y Franceschetti (1991) realizaron exposiciones de linfocitos humanos a campos eléctricos (0.5,2.0,5.0 kV/m) de 50 Hz para ver si estos producían efecto genotóxico (estudiando la formación de micronúcleos) *in vitro*. Se encontró que los campos eléctricos de 50 Hz de frecuencia no producen efectos genotóxicos a nivel cromosómico.

En otro trabajo realizado en seres humanos, se determinó la frecuencia de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, índice de replicación y micronúcleos en linfocitos periféricos de 27 muestras de trabajadores de fuentes de alta tensión, que tuvieron periodos prolongados de exposición a los CEM de 50 Hz y 27 muestras de trabajadores de la línea telefónica que servían como grupo de referencia. Lo que se obtuvo fue que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en el análisis de intercambio de cromátidas hermanas, índice de replicación o formación de micronúcleos. Sin embargo, se observó un incremento con el rompimiento de cromosomas en los trabajadores de fuentes de alta tensión comparado con el grupo de referencia, por lo cual se sugiere que la exposición a CEM 50 Hz está asociada con un incremento en el rompimiento de cromátidas (Valijis et al., 1993).

Zwingleberg y cols. (1993) investigaron el efecto de exposiciones prolongadas a campos magnéticos de 30 mT de 50 Hz de frecuencia sobre la proliferación celular y la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos humanos periféricos por 7 y 28 días. Se utilizó como control positivo ciclofosfamida (mutágeno químico). Los resultados indicaron que los campos magnéticos no afectaron a la proliferación celular ni el intercambio de cromátidas hermanas.

Más recientemente, tratando de aportar datos al posible daño cromosómico ocasionado por CEM, fueron expuestos linfocitos periféricos

humanos a campos magnéticos estáticos y oscilantes, para luego utilizar la prueba citogenética de micronúcleos y determinar el efecto producido por agentes genotóxicos a los cromosomas. El primer grupo se expuso a un campo magnético de 150 $\mu$ T de 50 Hz y de 75 y 150  $\mu$ T de 32 Hz con el campo geomagnético estático nulificado. En el segundo grupo, las células fueron expuestas a 75 y 150 $\mu$ T de 32 Hz junto con un campo magnético estático de 42 $\mu$ T. Se encontró un incremento de micronúcleos estadísticamente significativo con respecto a un testigo cuando se exponían linfocitos a campos magnéticos estáticos y oscilantes (Tofani et al., 1995). En contraste, Scarfi et al., (1999) no encontraron indicios de que los campos magnéticos fueran agentes clastogénicos ya que no se afectó la frecuencia de micronúcleos de linfocitos humanos expuestos a CEM de 50 Hz.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## HIPÓTESIS

Los campos electromagnéticos de 60 Hz son potencialmente capaces de afectar la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas, índice mitótico y cinética de proliferación celular de linfocitos humanos *in vitro*.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto genotóxico y citotóxico de campos electromagnéticos de 60 Hz en linfocitos humanos *in vitro* expuestos a densidades de flujo magnético de 1.0, 1.5 y 2.0 mT en lo que concierne a frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas, índice mitótico y cinética de proliferación celular.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- A) Evaluar el efecto genotóxico y citotóxico de CEM de 60 Hz a intensidades de 1.0, 1.5 y 2.0 mT sobre cultivos de linfocitos humanos expuestos por 72 h continuas.
- B) Evaluar el efecto genotóxico y citotóxico de una exposición combinada de un CEM de 2.0 mT de 60 Hz por 72 h más el mutágeno químico Mitomicina-C,  $10^{-7}$  M.

## **MATERIAL Y METODO**

### **MATERIAL BIOLÓGICO.**

Se utilizaron linfocitos humanos obtenidos de sangre venosa periférica procedente de un individuo de sexo masculino, clínicamente sano, no fumador de 23 años de edad.

### **EXPOSICIÓN DE CULTIVOS CELULARES A LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS.**

Los cultivos de linfocitos fueron colocados dentro de un solenoide como el indicado en el Capítulo I de este trabajo y que corresponde al sistema de exposición *in vitro*. Por su parte, las Figuras I.6 y I.7 detallan la forma en que fueron dispuestos los frascos del cultivo dentro de la incubadora. Las intensidades magnéticas utilizadas en estos experimentos fueron de 1.0, 1.5 y 2.0 mT.

---

### **CULTIVOS DE SANGRE VENOSA.**

Utilizando una jeringa de 10 ml heparinizada (1000 U/ml) se tomaron 5 ml de sangre venosa periférica, se agitó la sangre para después sembrar 11 gotas de ésta en 4 ml de medio de cultivo RPMI 1640 adicionado con L-glutamina (GIBCO), y 1 ml de suero fetal de ternera (GIBCO). El procedimiento de cultivo se realizó en una campana de flujo laminar, de acuerdo a la técnica propuesta por Moorhead et al. (1960).

Posteriormente los cultivos se incubaron a 37°C. A las 24 hr se agregó 1.0 ml de 5'-Bromodeoxiuridina (20 µg/ml) y se mantuvieron en obscuridad. Cumplidas las 72 hr se añadieron 0.1 ml de colchicina (3.9 µg/ml) durante 1

hr. Después el contenido de los frascos se pasó a tubos cónicos de 15 ml y se centrifugaron a 1200 rpm por 10 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió suavemente la pastilla celular con 5 ml de KCl 0.075 M con una pipeta Pasteur y por 20 minutos se mantuvieron a 37°C, enseguida se centrifugaron a 1200 rpm por 10 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendieron con 5 ml de solución fijadora (metanol-ácido acético 3:1). El lavado con la solución fijadora se repitió hasta que se obtuvo un botón celular blanco, el cual se resuspendió en 1 ml de solución fijadora y se mantuvo a 4°C por 24 h.

## **PREPARACION DE LAMINILLAS**

Finalizado el tiempo, las células se centrifugaron a 1200 rpm por 10 minutos y se eliminó el sobrenadante hasta 0.5 ml de la misma solución fijadora. Con una pipeta Pasteur se resuspendió y se goteó desde una altura de 30 cm sobre un portaobjetos desengrasado en etanol absoluto, el cual se secó a la flama. Se observó al microscopio en contraste de fases para asegurarse de que se habían obtenido preparaciones aceptables para su posterior procesamiento.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **TINCION**

Después de 24 hrs, las laminillas se sumergieron por 30 min en una solución de colorante Hoechst 33258 (1 µg/ml) por una hora en ausencia de luz, se lavaron en agua destilada y se secaron. Posteriormente se colocaron en amortiguador McIlvane a pH 6.8 (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2 M y ácido cítrico 0.1 M) y se expusieron a luz ultravioleta y a una temperatura de 60°C durante 1.5 hr a una distancia de 10 cm. Finalizado este proceso las laminillas se lavaron con agua

bidestilada y se tiñeron con colorante Giemsa pH 6.8 (Sigma chemical CO. St. Louis USA) por 3 minutos.

### **FRECUENCIA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS (I.C.H.)**

Este aspecto fue evaluado en 50 metafases en segunda división de cultivos de 72 h. Se determinaron intercambios terminales e intersticiales, éstos últimos con un valor del doble de los primeros debido a que su formación requiere el doble de eventos que los terminales.

### **INDICE MITOTICO**

Las preparaciones se observaron en un microscopio de luz en objetivo 10X y se contaron 2,000 núcleos totales, de cultivos de 72 h y de éstos se determinó cuantas metafases existían. El valor del índice mitótico se determinó de la siguiente manera:

Numero total de metafases

I.M. =

Numero total de nucleos

### **CINÉTICA DE PROLIFERACIÓN CELULAR (C.P.C.)**

La C.P.C. fue evaluada en las primeras 100 metafases observadas, determinando el número de células en primera división (M1), segunda división (M2) y tercera división (M3). Se consideraron metafases en primera división aquellas cuyos cromosomas se encontraron teñidos completamente de oscuro, segunda división a los cromosomas que estaban conformados por una cromátida oscura y una clara y tercera división a las metafases que se caracterizan por presentar algunos cromosomas completamente claros como se

observa en la microfotografía de la Figura II.2. Un indicador de la C.P.C. es el Índice Proliferativo (IP) que se calculó de la siguiente forma:

$$I.P. = (1)M1 + (2)M2 + (3)M3$$

## **DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se realizaron cuatro experimentos independientes, que consistieron en lo siguiente:

Experimento No.1.- Tratamiento con CEM de intensidad 1.0 mT

Experimento No.2.- Tratamiento con CEM de intensidad 1.5 mT

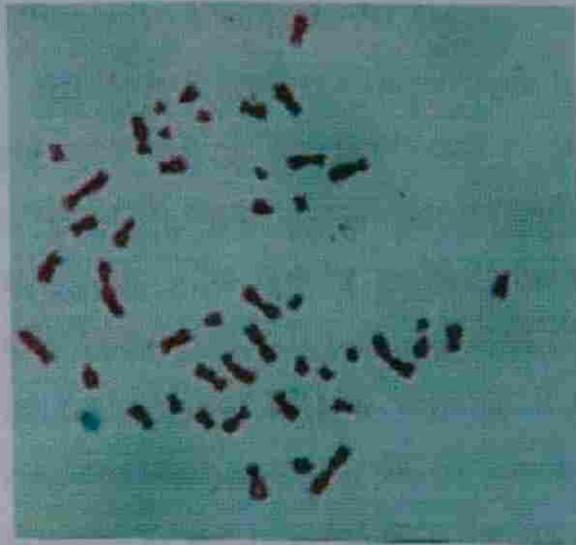
Experimento No.3.- Tratamiento con CEM de intensidad 2.0 mT

Experimento No.4.- Tratamiento combinado con Mitomicina-C  $10^{-7}$  M más CEM de intensidad 2.0 mT/72 h.

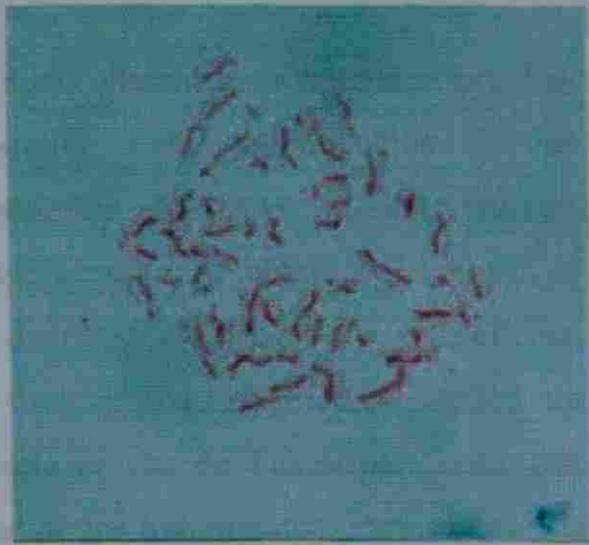
Para cada uno de los tratamientos se realizaron tres cultivos, y se compararon con un testigo negativo T(-) no expuesto a factores físicos o químicos, y un testigo positivo T(+), Mitomicina-C ( $10^{-7}$  M), éste sirvió como control interno de los experimentos, ya que se sabe que esta sustancia actúa como un depresor de la división celular, además de ser un agente genotóxico bien conocido (Craig-Holmes y Shaw, 1977). Esto también se llevó a cabo por triplicado, es decir en cada experimento se procesaron un total de nueve cultivos.

## **PREPARACION DEL TESTIGO POSITIVO CON MITOMICINA-C**

Este consistió en agregar 50  $\mu$ l de Mitomicina-C (a una concentración final de  $1 \times 10^{-7}$  M) a los cultivos de 48 horas, para después continuar el procesamiento de la forma antes mencionada.



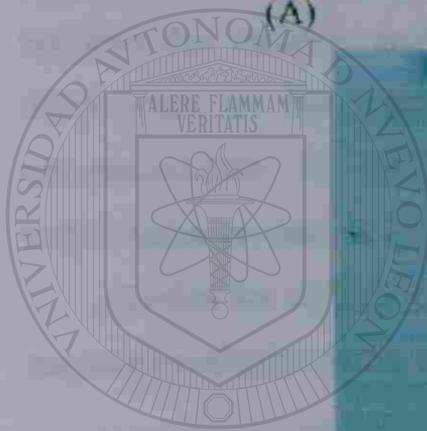
(A)



(B)



(C)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

**Figura II.2** Microfotografía que muestra metafases de linfocitos humanos teñidos mediante la Técnica de Intercambio de Cromátidas Hermanas (A) Metafase en primera división (B) Metafase en segunda división y (C) en tercera división (100 x).

## **ANALISIS ESTADISTICO**

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos, se utilizaron pruebas paramétricas y no paramétricas. Posterior a la determinación de las estadísticas descriptivas correspondientes, las diferentes variables fueron sometidas a la prueba de Kolmogorov-Smirnov con objeto de conocer la distribución de cada una. Aquellas con distribución normal, que para el caso de este estudio solo la variable ICH tuvo esta distribución, se aplicó un Análisis de Varianza y la correspondiente prueba de Tukey para comparar diferencias individuales entre las medias de los tratamientos. Para el caso de las otras dos variables analizadas, Índice Mitótico e Índice Proliferativo cuya distribución no fue normal, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis y la correspondiente U de Mann-Whitney para observar las diferencias individuales en caso de haber significancia en la primera prueba aplicada.

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante la utilización del paquete estadístico SPSS versión 8.0 (Ferrán-Aranaz, 1996).

---

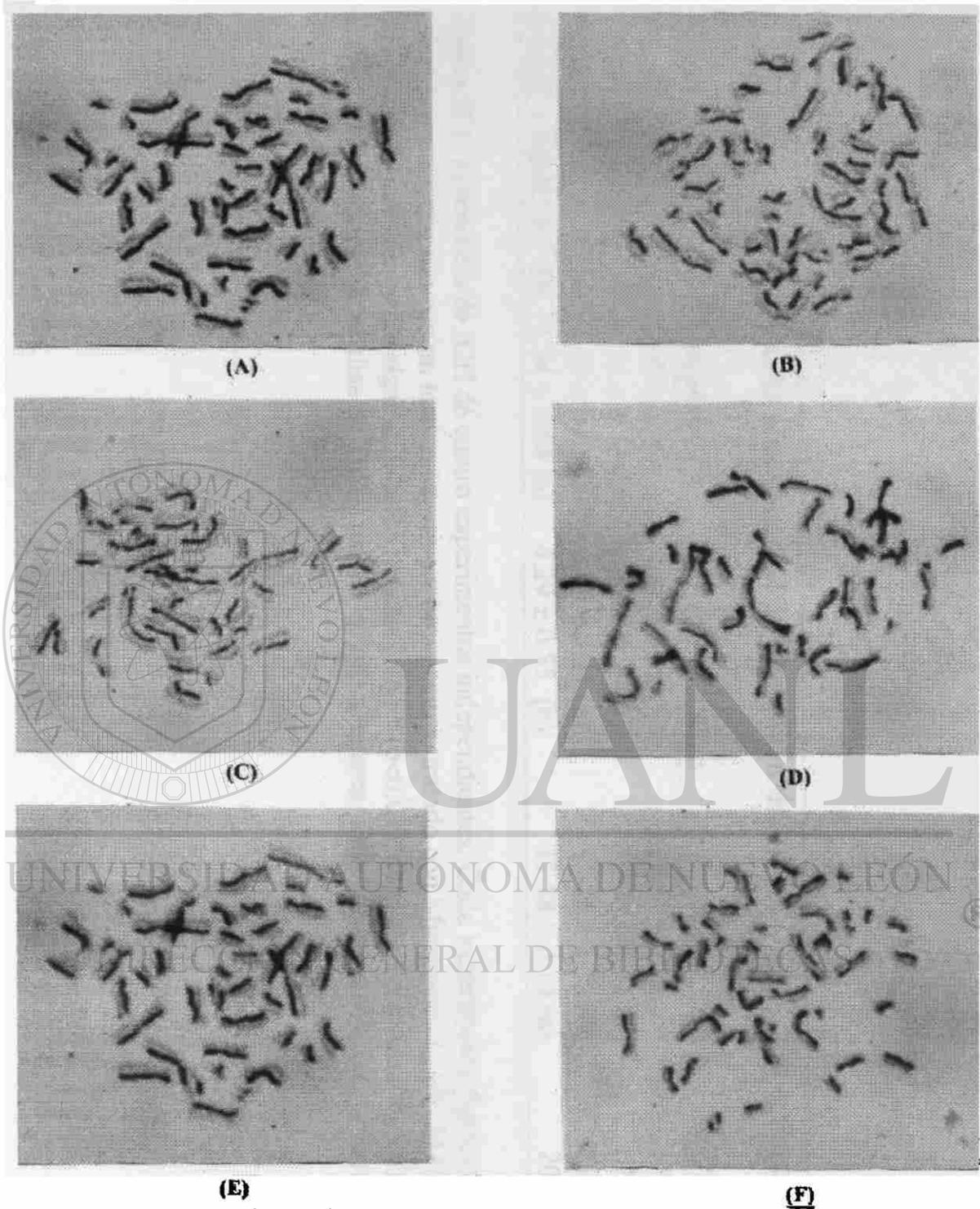
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESULTADOS

En la Figura II.3 se muestran metafases con la técnica de ICH en linfocitos humanos periféricos tratados con CEM oscilantes de 60 Hz así como el testigo positivo tratado con Mitomicina-C y el testigo negativo, asimismo se muestra el tratamiento combinado de Mitomicina-C  $10^{-7}$  M y 2.0 mT de CEM. Por otra parte en la tabla II.1 se muestran los resultados de la frecuencia de ICH para los cuatro experimentos independientes. Los valores expresados como la media aritmética, aparecen comparados con sus testigos para cada uno de los tratamientos. El análisis de varianza reveló que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre el testigo negativo y el tratamiento con campo magnético a las tres intensidades usadas. Asimismo se constató que no hubo un efecto sinérgico de la Mitomicina-C y el tratamiento con 2.0 mT de CEM. Como era de esperarse, el testigo positivo que contenía Mitomicina-C, mostró una frecuencia significativamente mayor que el testigo negativo ( $p < 0.05$ ).

Por otro lado, se estimó el efecto de los CEM sobre la división celular, en la tabla II.2 se presentan los valores promedio del Índice Mitótico obtenidos para los diferentes tratamientos y sus respectivos testigos. Estos resultados analizados estadísticamente mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y posteriormente por parejas con la U de Mann-Whitney, determinaron que el CEM, en todas sus intensidades incrementó significativamente la división de los linfocitos ( $p < 0.05$ ). Asimismo, se observó un efecto antagónico del campo magnético y la Mitomicina-C, ya que en el tratamiento que combina los dos factores se presentó un incremento del Índice Mitótico cuando se expuso a 2.0 mT de CEM mas Mitomicina-C  $10^{-7}$  M con respecto a un cultivo tratado solamente con la droga ( $p < 0.05$ ).

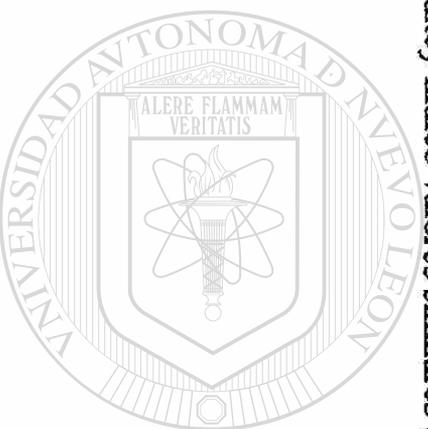


**Figura II.3** Microfotografía de metafases de cromosomas obtenidas de linfocitos humanos sometidos a diferentes tratamientos in vitro (A): Testigo negativo (B): Testigo positivo, expuesto a Mitomicina-C (C): 1.0 mT (D): 1.5 mT (E): 2.0 mT (F): 2.0 mT / Mitomicina-C.

Media aritmética de la frecuencia de ICH ± Desviación estandar

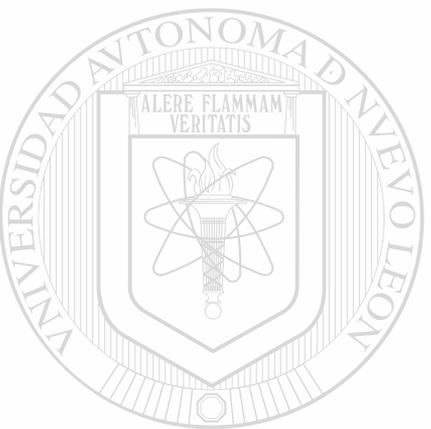
Experimento	Tratamiento	Testigo negativo	Testigo positivo	Valor F
1.0 mT	5.05 ± 0.08 (a)	4.85 ± 0.12 (a)	13.70 ± 0.23 (b)	3090.75 *
1.5 mT	4.58 ± 0.16 (b)	4.84 ± 0.29 (a)	11.96 ± 0.35 (b)	679.05 *
2.0 mT	4.45 ± 0.65 (a)	3.99 ± 0.24 (a)	11.46 ± 1.32 (b)	70.36 *
2.0 mT + MMC 10 <sup>-7</sup> M	11.34 ± 0.64 (a)	4.29 ± 0.55* (b)	11.58 ± 0.16 (a)	208.41 *

**Tabla II.1.** Frecuencia de ICH de cuatro experimentos independientes. Cada experimento fue realizado por triplicado y comparado con un testigo negativo y otro positivo tratado con Mitomicina C 10<sup>-7</sup> M (MMC). Las diferencias estadísticamente significativas se indican como \* (p<0.01), después del análisis de varianza. La comparación múltiple de medias de Tukey indicó valores similares (a) y diferentes (b). Los valores del estadístico F son asimétrico mostrados.



Media aritmética del índice mitótico ± Desviación estandar				
Experimento	Tratamiento	Testigo negativo	Testigo positivo	Valor $\chi^2$
1.0 mT	6.2 ± 0.20	4.4 ± 0.20	3.4 ± 0.10	7.26 *
1.5 mT	6.6 ± 0.10	5.6 ± 0.20	3.3 ± 0.10	7.32 *
2.0 mT	6.1 ± 0.10	4.7 ± 0.30	3.1 ± 0.20	6.87 *
2.0 mT + MMC $10^{-7}$ M	3.5 ± 0.10	4.6 ± 0.10	2.8 ± 0.20	7.26 *

Tabla II.2. Resultados del Índice Mitótico de cuatro experimentos independientes. Cada experimento fue realizado por triplicado y comparado con un testigo negativo y otro positivo tratado con Mitomicina C  $10^{-7}$  M (MMC). Se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y se encontraron diferencias estadísticamente significativas indicadas como \* ( $p < 0.05$ ). Los valores del estadístico  $\chi^2$  se indican.



En lo concerniente al análisis de la cinética de proliferación celular (C.P.C.) mediante el recuento de metafases en primera, segunda y tercera división que se observaron con la técnica de ICH, se determinó el Índice Proliferativo. En la tabla II.3 se presentan los valores promedio de los Índices Proliferativos para cada uno de los tratamientos y sus testigos. Se aprecia que en las tres intensidades magnéticas se presentó un incremento en el Índice Proliferativo con respecto al testigo negativo. El análisis estadístico no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis y posteriormente por parejas con la U de Mann-Whitney reveló diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Asimismo se observó, como era de esperarse, una baja en la división celular en el testigo positivo. En el caso del tratamiento combinado de 2.0 mT de CEM más Mitomicina-C se observó que aunque la proliferación celular disminuye con respecto al testigo negativo, esta disminución fue menor que la observada en el testigo positivo, tratado únicamente con Mitomicina-C, lo que sugiere un efecto antagónico del CEM con respecto al mutágeno químico, mismo efecto que previamente había sido observado para el caso del Índice Mitótico.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

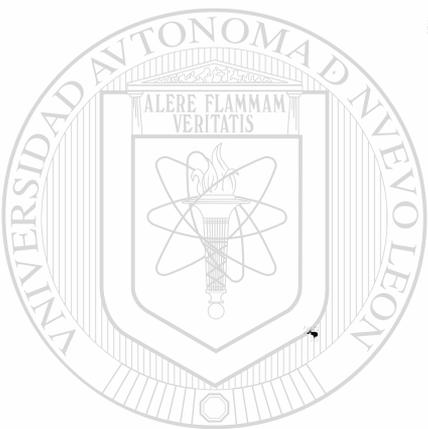


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Media aritmética del Índice Proliferativo  $\pm$  Desviación estándar

Experimento	Tratamiento	Testigo negativo	Testigo positivo	Valor $\chi^2$
1.0 mT	2.34 $\pm$ 0.04	2.12 $\pm$ 0.12	1.89 $\pm$ 0.06	6.87 *
1.5 mT	2.52 $\pm$ 0.02	2.06 $\pm$ 0.07	1.77 $\pm$ 0.04	7.20 *
2.0 mT	2.52 $\pm$ 0.02	2.20 $\pm$ 0.03	1.58 $\pm$ 0.04	5.80 *
2.0 mT + MMC $10^{-7}$ M	1.85 $\pm$ 0.02	2.18 $\pm$ 0.07	1.64 $\pm$ 0.05	6.25 *

Tabla II.3. Resultados del Índice Proliferativo de cuatro experimentos independientes. Cada experimento fue realizado por triplicado y comparado con un testigo negativo y otro positivo tratado con Mitomicina C  $10^{-7}$  M (MMC). Se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y se encontraron diferencias estadísticamente significativas indicadas como \* ( $p < 0.05$ ). Los valores del estadístico  $\chi^2$  se indican.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN CENTRAL DE BIBLIOTECAS

## DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se puede asumir que no fue posible demostrar un efecto genotóxico inducido por los CEM de 60 Hz de frecuencia sobre cultivos de linfocitos humanos periféricos expuestos a intensidades de flujo magnético de 1.0, 1.5 y 2.0 mT, a juzgar por los datos encontrados mediante el análisis de la frecuencia de ICH, al menos a este nivel, no se encontraron cambios citogenéticos al comparar los cultivos expuestos a las tres intensidades con cultivos no expuestos. Estos hallazgos se relacionan con los encontrados por Cohen et al. (1986) quienes expusieron linfocitos a CEM de 60 Hz a intensidades de 0.1 y 0.2 mT y no encontraron efecto sobre la frecuencia de ICH. Asimismo, Rosenthal y Obe (1989) no encontraron alteraciones en la frecuencia de ICH de cultivos de linfocitos tratados con intensidades más altas a las utilizadas en este trabajo (5.0 y 7.5 mT). Por otro lado, se ha investigado el efecto de CEM *in vivo* sobre la frecuencia de ICH a grandes intensidades (30 mT) y tampoco se han detectado alteraciones en la frecuencia de ICH en ratas (Zwingelberg, 1993).

Es posible, no obstante, que con la prueba de ICH no se hubiesen detectado cambios que con otros análisis citogenéticos sí se llegasen a presentar, ya que en un estudio más reciente, Khalil y Qassem (1991), encontraron que no se afectaba la frecuencia de ICH en linfocitos expuestos a CEM de 1.05 mT y de 50 Hz por 72 h, pero por otra parte sí observaron un incremento en las aberraciones cromosómicas de las células tratadas magnéticamente.

En lo que concierne al tratamiento combinado CEM más Mitomicina-C<sub>9</sub>, no se encontró efecto sinérgico aparente y nuestros hallazgos concuerdan con los señalados por Zwingelberg et al. (1993) quienes utilizaron un tratamiento

combinado de ciclofosfamida y CEM y tampoco encontraron efecto sinérgico al exponer linfocitos a dichos agentes. En contraste, Rosenthal y Obe (1989) probaron la acción combinada de agentes químicos mutagénicos con CEM y detectaron sinergismo.

En otros trabajos, también se han intentado probar el sinergismo de los CEM con factores físicos tales como radiación ionizante, Cossarizza et al. (1989) trataron linfocitos previamente irradiados con rayos Gamma y expuestos a agentes químicos antiproliferativos y no hallaron efecto sobre la cinética de proliferación celular.

Por otra parte, en el presente estudio se observaron cambios significativos en lo que respecta a la proliferación celular de linfocitos expuestos a los CEM, manifestándose como un incremento en el Índice Mitótico así como en el Índice Proliferativo en todas las intensidades aquí probadas. Estos resultados son muy parecidos a aquellos obtenidos por Antonopolus et al. (1995) quienes al exponer cultivos de linfocitos a 5.0 mT de CEM de 50 Hz señalan un incremento en la división celular.

Otros estudios han revelado también que cuando linfocitos en cultivo se exponen a CEM que van de los 2.5 a los 7.5 mT presentan aumentos en la cinética de proliferación celular (Bersani et al. y Cols, 1988 ; Rosenthal y Obe, 1989). Por el contrario, Zwingelberg et al. (1993) no detectaron cambios en la cinética de proliferación celular cuando expusieron linfocitos *in vivo*, aunque ellos usaron una intensidad significativamente mayor a la aquí utilizada (30mT) y la exposición fue de siete días. Asimismo Cohen et al. (1986), no encontraron cambios significativos en el Índice Mitótico en linfocitos humanos *in vivo*, aunque en este trabajo se usaron intensidades de 0.1 y 0.2 mT que son 10 veces menores a las probadas en la presente investigación.

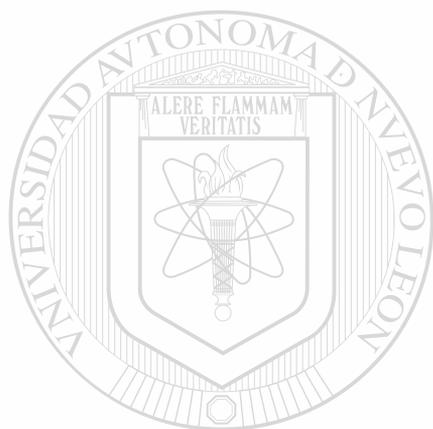
El presente estudio no concuerda con lo observado por Khalil y Qassem (1991), quienes informaron una disminución en la actividad mitótica de linfocitos expuestos a una intensidad muy parecida a la nuestra, ellos usaron 1.05 mT, sin embargo cabe mencionar que los CEM empleados eran pulsantes.

Para el tratamiento combinado de Mitomicina-C y CEM de 2.0 mT se pudo observar un efecto antagónico, ya que hubo una disminución menor en la cinética de proliferación celular en comparación con los cultivos que solo fueron tratados con Mitomicina-C. A la fecha no se ha encontrado en la literatura revisada el hallazgo de efectos antagónicos de los CEM y mutágenos químicos en células tratadas simultáneamente con ambos factores.

El incremento en la proliferación celular de los linfocitos sometidos a la acción de los CEM, ha sido explicado por cambios en las concentraciones de calcio intracelular que pueden ser los responsables de muchos de los efectos biológicos entre ellos la promoción de la división celular (Lichtman et al., 1983 ; Metcalf et al., 1986; Grinstein y Dixon, 1989). Por su parte, Liburdy (1992) también ha propuesto que durante la exposición a CEM oscilantes se ven sensiblemente alterados los flujos de calcio y en particular la concentración intracelular de este catión lo que estimularía el proceso de división celular.

Con los resultados encontrados en este trabajo se puede aseverar que bajo las condiciones experimentales aquí utilizadas, los campos electromagnéticos sí son capaces de modificar actividades celulares, como en este caso, la división celular. No se pudo demostrar un efecto genotóxico, sin embargo sería conveniente la utilización de otros procedimientos citogenéticos, como por ejemplo el análisis de aberraciones cromosómicas o de los sitios frágiles que aumentarían la sensibilidad del estudio. Otra

posibilidad de incrementar la confiabilidad de los resultados, sería el aumentar el tamaño muestral y contar así con linfocitos humanos de varios donadores. Asimismo, se recomienda un estudio *in vivo* en donde los mecanismos de reparación propios de la célula pudiesen revertir el efecto provocado por estas radiaciones de frecuencia extremadamente baja.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CONCLUSIONES

- a) Los campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia en intensidades de 1.0, 1.5 y 2.0 mT no modificaron la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas de linfocitos humanos periféricos expuestos *in vitro*.
- b) Los campos electromagnéticos incrementaron la velocidad de división de los linfocitos en todas las intensidades probadas.
- c) Se observó un efecto antagónico de los campos electromagnéticos con respecto a la Mitomicina-C en lo concerniente a la cinética de proliferación celular.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LITERATURA CITADA

- Alhadeff B. and Cohen M.M.(1976). Frequency and distribution of sister-chromatid exchanges in human peripheral lymphocytes. *I. med Sci.* 12:1440-1447.
- Antonopoulos A., Yang B.C., Estamm A., Heller W.D., Obe G. (1995). Cytological effects of 50 Hz electromagnetic fields on human lymphocytes *in vitro*. *Mutat. Res. Lett.* 346: 157.
- Armendares S.S. (1968). *Citogenética Humana y Patológica*. Editorial Interamericana. Primera Edición. pp 53-54.
- Bauchinger M., Hauf R., Schmid E. and Dresp J. (1981). Analysis of structural chromosome changes and SCE after occupational long-term exposure to electric and magnetic fields from 380 kV-systems. *Radiat Environ. Biophys.* 19, 235-238.
- Bersani F., Franceschi C., Monti D., Bologni A., Gatti C., Cadossi R. Nichelatti M., Moschini G. and Cossarizza A. (1988). The effects of extremely low frequency pulsed electromagnetic fields (ELF) on human lymphocyte proliferation *in vitro* and DNA repair. Engineering in medicine and biology society 10th annual international conference. CH2566-8/88/0000-0906.
- Cadossi R., Bersani F., Cossarizza A., Zucchini P., Emilia G., Torelli G. and Franceschi C. (1992). Lymphocytes and low-frequency electromagnetic fields. *The Fase b J.* 6: 2667-2674.
- Carrano A.V., Minkler J.L., Stetka D.G. and Moore D.H. (1980). Variation in baseline sister-chromatid exchange frequency in human lymphocytes. *Environ. Mutagen.* 2:325-337.

Chaganti R.S., Schonberg S. and German J. (1974). A many fold increase in sister chromatid exchange in Bloom's syndrome lymphocyte. Proc. Natl. Acad. Sci. 71:4508-4512.

Cohen M.M., Kunska A. Astemborski J.A. and McCulloch D. (1986). The effect of low-level 60 Hz electromagnetic fields on human lymphoid cells. Mutat. Res. 172:177-184.

Cossarizza A., Monti D., Bersani F., Canitini M., Cadossi R. Sacchi A. and C. Franceschi C. (1989). Extremely low frequency pulsed electromagnetic increase cell proliferation in lymphocytes from young and aged subjects. Biochemical and biophysical research communications. 160: 692-698.

Craig-Holmes A.P. and Shaw M. (1977). Effects of six carcinogens on SCE frequency and cell kinetics in culture human lymphocytes. Mutat. Res. 163: 375-384.

Crossen P.E., Drets M.E., Arrighi F.E. and Johnston D.A. (1977). Analysis of the frequency and distribution of sister-chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. Hum. Genet. 35:345-352.

D'Ambrosio G., Scaglione A., Berardino D.D., Lioi M.B., Iannuzzi L., Mostacciolo E. and Scarfi M.R. (1985). Chromosomal aberrations induced by ELF electric fields. J. Bioelectric. 4: 279-284.

Emery A.E. (1981). Genética Médica, Editorial Interamericana, Cuarta edición. pp. 44-45.

Ferran-Aranaz M. (1996). SPSS para Windows. Editorial Mc Graw-Hill. Primera edición. pp 560.

- Galloway S.M. (1977). Ataxia telangiectasia: the effects of chemical mutagens and X rays on sister chromatid exchanges in blood lymphocytes. *Mutat. Res.* 45:343-349.
- Galt S., Wahistrom J., Hamnerius Y., Holmqvist D. and Johannesson J. (1995). Study of effects of 50 Hz magnetic fields on chromosome aberrations and growth-related enzyme ODC in human amniotic cells. *Bioelectrochem. and Bioen.* 36: 1-9.
- Garcia-Sagredo J.M., Parada L.A. and Monteagudo J.L. (1990). Effect on SCE in human chromosomes in vitro of low-level pulsed magnetic field. *Environ. and mol. mutagen.* 16:185-188.
- González-Ramos M. (1985). *Tratado de Citogenética Clínica*. Ed. Salvat. Primera edición. pp 249-259.
- Grinstein S. and Dixon S.J. (1989). Ion Transport, membrane potential and cytoplasmic Lymphocytes: Changes during activation. *Physiol Rev.* 69: 417-481.
- Khalil A.M. and Qassem W. (1991). Cytogenetic effects of pulsing electromagnetic field on human lymphocytes *in vitro*: Chromosome aberrations, sister-chromatid exchanges and cell kinetics. *Mutat. Res.* 247:141-146.
- Koana T., Ikehata M., Nakagawa M. (1995). Estimation of genetic effects of a static magnetic field by a somatic cell test using mutagen-sensitive mutants of *Drosophila melanogaster*. *Bioelectrochem. and Bioen.* 36: 95-100.
- Kowalczyk C.I., Robbins L., Thomas J.M., Saunders R.D. (1996). Dominant lethal studies in male mice after exposure to 50 Hz magnetic field. *Mutat. Res.* 328: 229-237.

- Lambert B., Hansson K., Lindsten J., Sten M. and Werelius B. (1976). Bromodeoxyuridine induced sister-chromatid exchanges in human lymphocytes. *Hereditas*. 82:163-174.
- Latt S.A. (1981). Sister-chromatid exchange formation. *Genetic. Rev.* 15: 11-55.
- Liburdy R.P. (1992). Calcium signaling in Lymphocytes and ELF Fields, evidence for an electric field metric and a site of interaction involving the calcium ion channel. *Fed of Europ. Biochem Societies*, 30: 53-59.
- Lichtman A.H., Segel G.B. and Lichtman M.A. (1983). The role of calcium in Lymphocyte proliferation (an interpretative review) *Blood* 61: 413-422.
- Lisker R. y Armendares S. (1994). Introducción a la Genética Humana. Editorial Manual Moderno. Primera edición. pp 16-18.
- Maimon M., Cohen A.K., Astemborski J.A. and McCulloch D. (1986). The effect of low-level 60 Hz electromagnetic fields on human lymphoid cells. II sister-chromatid exchange in peripheral lymphocytes and lymphoblastoid cells. *Mutat. Res.* 172: 171-184.
- Mc Cann J., Dietrich F. and Rafferty Ch. (1998). The genotoxic potential of electric and magnetic fields an update. *Mutat. Res.* 411: 45-86.
- Metcal F.J.C., Moore J.P., Smith G.A. and Hesketh T.R. (1986). Calcium and cell proliferation. *British Med. Bull.* 42: 405-412.
- Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M. and Hunger-Ford D.A. (1960) Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 20: 613-616.
- Nordenson I., Mild K.H., Anderson G., and Sandstrom M. (1994). Chromosomal aberrations in human amniotic cells after intermittent exposure to fifty hertz magnetic fields. *Bioelectromagnetics*. 15: 293-301.

- Perry P. and Evans H.J. (1975). Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*. 258: 121-125.
- Raposa T. (1978). SCE studies for monitoring DNA damage and repair capacity after cytostatic *in vitro* and *in vivo* lymphocyte of leukaemia patients under cytostatic therapy. *Mutat. Res.* 53:241-251.
- Rojas E., Montero R., Herrera L.A., Sordo M., Gonsebatt M.E., Rodriguez R. y Ostrosky-Wegman P. (1992). Are mitotic index and lymphocyte proliferation kinetics reproducible endpoints in genetic toxicology testing?. *Mutat. Res.* 282:283-286.
- Rosenthal M. and Obe G. (1989). Effects of 50 Hertz electromagnetic fields on proliferation and on chromosomal alterations in human peripheral lymphocytes untreated or pretreated with chemical mutagens. *Mutat. Res.* 210:329-325.
- Salamanca F. (1990). Citogenética Humana. Primera edición. Editorial Panamericana. pp 27-30, 58-60.
- Scarff M.R. and Franceschetti. (1991). Micronuclei formation in human lymphocytes exposed to 50 Hz AC electric fields. *Electromag. in Biol. and Med.* 27:159-162.
- Scarfi M.R., Lioi M.B., Zeni O., Dellanoce M., Franceschi B. and Bersani F. (1999). Micronucleus Frequency and cell proliferation in human lymphocytes exposed to 50 Hz sinusoidal magnetic fields. *Health, phys.* 76: 244-250.
- Steka D. and Wolff S. (1976). SCE as an assay for genetic damage induce by mutagen-carcinogens. II *In vitro* test for compounds requiring metabolic activation. *Mutat. Res.* 41:343-350.

Sutherland G.R., Baker E., Saeshadri R.S. and Black A. (1980). Increased sister chromatid exchange in multiple sclerosis. *New Eng. J. Med.* 303:1126-1129.

Synder C.A. and Valle G. (1991). Lymphocyte proliferation assays as potential biomarkers for toxicant exposures. *J. Toxicol. Environ. Health*, 34, 127-139.

Tabrah F.L., Mower H.F., Batkin S. and Greenwood P.B. (1994). Enhanced Mutagenic Effect of a 60 Hz time-varying magnetic field on numbers of azide-induced TA100 revertant colonies. *Bioelectromagnetics* 15:85-93.

Thompson J.S. y Thompson M.W. (1968). *Genética Médica*. Editorial Salvat Primera Edición. pp 6-11.

Tofani S., Ferrara A., Anglesio L., Gilli G. (1995). Evidence for genotoxic effects of resonant ELF magnetic fields. *Bioelectrochem. Bioener.* 36: 9-13.

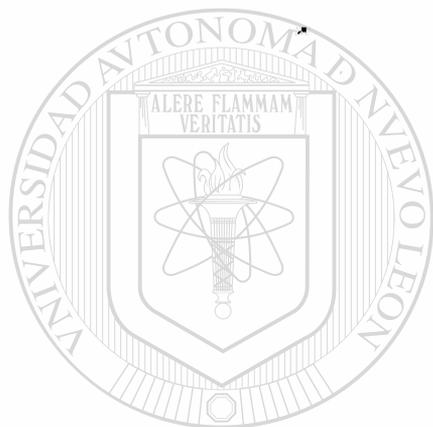
Valijus J., Norppa H., Jarventaus H., Sorsa M., Nykyri E., Salomaa S., Jarvinen P., Kajander J. (1993). Analysis of chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei among power linesmen with long-term exposure to 50 Hz electromagnetic fields. *Journal. Radiat. Environ. Biophys.* 32: 325-336.

Wolff S., Bodycote J. and Painetr R.B. (1974). Sister Chromatid exchanges induce in Chinese hamster cell by U.V. radiation of different stages of the cell cycle: the necessity for cell to pass through S. *Mutat. Res.* 25:73-81.

Wolff S. (1977). Sister chromatid exchange. *Ann. Rev. Genet.* 11:183-201.

Zwingelberg R., Obe G., Mevissen M., Buntenkotter S., Loscher W. (1993).

Exposure of rats to 50 Hz, 30 mT magnetic field influences neither the frequencies of sister chromatid exchanges nor proliferation characteristics of cultured peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.* 302: 39-44.



UANL

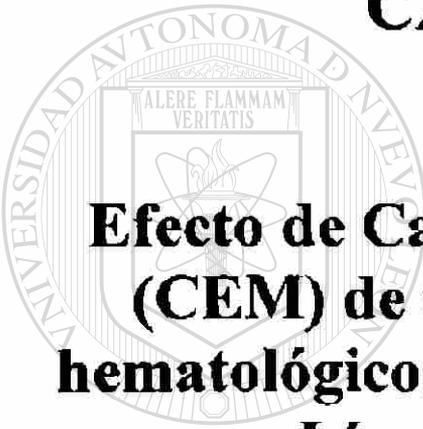
---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **CAPITULO III**



**Efecto de Campos Electromagnéticos  
(CEM) de 60Hz sobre parámetros  
hematológicos de ratón (*Mus musculus*)  
Línea BALB/c *in vivo***

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## ANTECEDENTES

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos sobre diversos parámetros hemáticos de ratones expuestos a campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja (60 Hz) *in vivo*.

Debido a que el tejido sanguíneo es un indicador eficaz del estado fisiológico de un mamífero superior, incluyendo al ser humano, se han descrito muchos parámetros medibles en la sangre, por lo cual este tejido ha sido frecuentemente utilizado como modelo de estudio para evaluar el efecto de diferentes factores, desde deficiencias nutricionales, hasta la influencia del estrés y diversas sustancias químicas derivadas de exposición ocupacional o producto de la contaminación ambiental (Baez-Villaseñor, 1961; Bloom-Fawcett, 1988).

Asimismo, el tejido sanguíneo se ha utilizado para estimar el efecto de factores físicos tales como las radiaciones ionizantes (Casarett, 1968).

---

### CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO SANGUÍNEO

La sangre consiste en una matriz líquida llamada plasma y una gran variedad de células que desempeñan funciones tales como el transporte de oxígeno y bióxido de carbono, inmunológica y distribución de nutrientes, además juegan un papel esencial en la función integradora del sistema endócrino. Estas células sanguíneas conocidas también como elementos formes de la sangre, se hayan representadas por diversos tipos entre los que se cuentan los siguientes (Sánchez-Yllades, 1992; William-Banks, 1995):

**Eritrocitos:** La eliminación de su núcleo y su forma bicóncava, garantiza que los glóbulos rojos tengan capacidad máxima para transportar oxígeno.

**Neutrófilos:** Son los granulocitos que se encuentran con mayor frecuencia. Son células que se aproximan al doble del tamaño de los glóbulos rojos y tienen el núcleo segmentado con 3 a 5 lóbulos, unidos por filamentos de cromatina.

**Eosinófilos:** Constituyen el segundo grupo de granulocitos que se encuentra con mayor frecuencia, su núcleo es bilobulado, pero puede ser polimorfo y los granulos acidófilos grandes y alargados en el citoplasma como característica distintiva.

**Basófilos:** Son los menos numerosos de los granulocitos, tienen mas o menos el mismo tamaño que los neutrófilos con núcleo bilobulado se caracterizan por que los granulos se tiñen más oscuros que el núcleo y generalmente suelen ocultarlo.

**Linfocitos:** Son los agranulocitos que se encuentran con mayor frecuencia. Su núcleo siempre es esférico, tiene heterocromatina condensada en su periferia con un núcleo muy denso.

**Monocitos:** Son las células sanguíneas de mayor tamaño, su núcleo tiene forma de riñón, pero puede ser esférico o trilobulado. La cromatina es más clara y reticulada que la del núcleo de los linfocitos. Por lo general el citoplasma es grisáceo, pero la presencia de granulaciones distribuidas de manera uniforme le confiere el aspecto de vidrio despulido.

**Plaquetas:** Son pequeños discos que constituyen fragmentos citoplásmicos de los megacariocitos unidos a las membranas que contienen una región basófila central y otra periférica pálida y homogénea.

## **Efectos de los CEM en sangre**

Las células sanguíneas, en especial los linfocitos, han sido usados como un modelo de gran importancia para estudiar los efectos biológicos de CEM debido a su gran radiosensibilidad (Cadossi et al., 1992).

Durante la segunda guerra mundial se estudiaron los efectos de los CEM emitidos por radares y radios de alta frecuencia sobre la sangre de trabajadores expuestos a estos aparatos, el análisis de los resultados mostró un incremento en el conteo de células blancas (Marino et al., 1977).

Cossarizza et al. (1989) por su parte, estudiaron el efecto producido por los CEM de frecuencia extremadamente baja sobre la proliferación de linfocitos humanos periféricos de personas jóvenes y de edad avanzada. La exposición al campo electromagnético fue durante un periodo de 3 días. Se encontró que el efecto fue mayor sobre los individuos de edad avanzada, ya que se observó una acentuada reducción de la capacidad proliferativa.

Con el objeto de evaluar la producción sinérgica de efectos clastogénicos por radiación ionizante y campos magnéticos de 60 Hz, se realizaron experimentos usando linfocitos humanos de sangre periférica. Después de la exposición a radiación ionizante, las células fueron cultivadas con CEM de 60 Hz y de 1.4  $\mu$ T. Se encontró que las células expuestas a radiación ionizante y CEM de 60 Hz mostraban una elevada frecuencia de complementos cromosómicos tetraploides, característica no observada cuando son expuestas únicamente a radiación ionizante (Hintenlang, 1993).

Estudios citológicos muestran que al aplicar CEM de rangos milimétricos en ratones durante una hora, estimula la eritropoyésis e induce cambios en el número de linfocitos en sangre; la reacción del sistema biológico a estos campos depende de la zona de irradiación y el estado inicial del animal y en base a esto se concluyó que el efecto de dichos CEM provoca

una combinación de cambios locales y generales, pero todavía está en discusión tanto el mecanismo de acción en el organismo, como el nivel del efecto y su trascendencia (Didenko et al., 1986).

En un estudio realizado en ratas Wistar macho expuestas a CEM pulsados a una intensidad de 20 mT, 2.5 horas por un día y una exposición crónica por 6 horas durante 30 días a una intensidad de 0.1 mT, se encontraron cambios en la tiroides y glándulas sexuales, también se encontró una linfopenia y disminución de los eosinófilos (Zagorskaia, 1990).

Por otro lado, se realizó un estudio *in vivo* para estudiar los efectos de la exposición prolongada a los CEM de 50-60 Hz en leucocitos de ratones Swiss. La fuerza promedio del campo magnético fue de 5  $\mu$ T. El grupo control fue colocado en una habitación donde la fuerza del campo estuvo siempre por debajo de 0.1  $\mu$ T. Los parámetros hematológicos fueron medidos cada 3 semanas. El análisis de diferencias se hizo a los días 0, 20, 43, 90 y 190. Al día 20, el recuento de leucocitos fue más bajo para el grupo expuesto, y se observó un descenso significativo para linfocitos y monocitos. No se registraron diferencias al día 43. Sin embargo, a los 90 días el recuento de linfocitos, neutrófilos y eosinófilos fue significativamente más bajo en el grupo expuesto que en el grupo control. A los 190 días también fue observada la neutropenia (Bonhomme-Faivre et al., 1994).

Por otra parte, hay estudios epidemiológicos que mencionan la relación entre la exposición a los CEM con las leucemias y desordenes del sistema inmune (Werheimer y Leper, 1979). Sin embargo Selmaoui et al. (1996), realizaron un estudio con 32 hombres jóvenes entre los 20 y 30 años de edad donde 16 sujetos fungieron como un grupo control no expuestos y los 16 restantes fueron expuestos a CEM de 10  $\mu$ T por intervalos de 1 hora. Se estudiaron los parámetros de hematocrito, conteo de eritrocitos, total de

leucocitos y variables inmunológicas (CD3, CD4, CD8, NK y células B) no encontrando resultados significativos.

Por otro lado, un estudio realizado en ratas para investigar el efecto a largo plazo de los CEM de 50 Hz a una intensidad magnética de 30 mT en periodos de 7 a 28 días sobre la proliferación celular de linfocitos en sangre periférica, mostró que éstos campos no tienen efecto alguno sobre los parámetros estudiados (Zwingelberg et al., 1993).

Con la finalidad de asociar la exposición a largo plazo a CEM de baja intensidad, se realizó un estudio donde se expusieron ratas macho albinas de 12 semanas de edad por 22 horas diarias durante 32 semanas a una dosis de 5  $\mu$ T, fueron evaluados los parámetros hematológicos sin encontrar cambios en éstos (Margonato et al., 1995).

Por otro lado, se llevó a cabo un estudio experimental acerca del efecto del estrés y de los campos magnéticos sobre parámetros hemáticos *in vivo* utilizando ratas Wistar. Se encontró que el estrés produce elevaciones generalizadas de los elementos formes de la sangre y una disminución en las proteínas totales plasmáticas. Sin embargo en los animales sometidos a CEM, no apareció este efecto (Valderrama-Zurian, 1997).

Asimismo, Ubeda et al. (1997) trataron *in vivo* ratas Wistar con CEM a una intensidad de 1.5 mT y no encontraron cambios significativos en comparación con un grupo no expuesto, en lo que respecta a células sanguíneas y proteínas plasmáticas. Sin embargo mencionan que es necesario llevar a cabo más estudios al respecto para así establecer conclusiones sólidas.

En otro estudio experimental donde se midieron los cambios hematológicos y bioquímicos en ratones de 6 semanas de edad expuestos durante 350 días a CEM con una intensidad de 5.0  $\mu$ T, producidos por transformadores y líneas de alta tensión utilizadas para autobuses eléctricos, se encontró que a los 20 días de

exposición se disminuían significativamente los eritrocitos, linfocitos y monocitos, y que la hemoglobina y el hematocrito se incrementaban en comparación con animales no expuestos. Entre los 43 y 63 días de exposición no se encontraron diferencias significativas en comparación con el testigo negativo. A los 90 días se encontró una disminución significativa en linfocitos neutrófilos polimorfonucleares y eosinófilos en comparación con el testigo negativo, a los 190 días se encontró un descenso en el cortisol y a los 350 días no se encontraron diferencias en los parámetros estudiados (Bonhomme-Faivre, 1998-a).

Un estudio realizado en 13 trabajadores que se encontraban expuestos a transformadores de alta tensión que generaban CEM de  $0.2 \mu\text{T}$  a  $6.6 \mu\text{T}$  de intensidad magnética por un periodo de 8 horas diarias durante 1 a 5 años y mostró que tales individuos presentaron desordenes físicos y emocionales tales como fatiga, disminución de la libido, tendencia a la depresión e irritabilidad. Además los individuos estudiados presentaron una disminución importante en el total de linfocitos, CD4, CD3 y CD2, así como un incremento en células NK, leucopenia y neutropenia en comparación con personas que no se encontraban expuestas a campo magnético (Bonhomme-Faivre et al., 1998-b).

Por su parte, este mismo grupo de investigadores en un estudio más reciente (Bonhomme-Faivre et al., 1999) mostraron que los parámetros hematológicos pueden ser modificados por campos magnéticos. En un estudio crónico con CEM a intensidades de  $0.03 \mu\text{T}$  y  $0.8 \mu\text{T}$  por un periodo de hasta 160 días en ratones Swiss de 4 semanas de edad se encontró que a los 21 días de exposición los eritrocitos y la hemoglobina se incrementaban significativamente en comparación con el testigo, al día 56 los neutrófilos y monocitos descendían con respecto al testigo y al día 106 los neutrófilos y monocitos se encontraron

bajos en comparación con animales no expuestos. Estos resultados sugieren el potencial efecto de los CEM sobre los parámetros hematológicos.

### **Efecto de Campos Eléctricos en Parámetros Hemáticos**

Existe una gran diversidad de estudios que han investigado el efecto de campos eléctricos en los parámetros hematológicos de mamíferos. En esta subsección se decidió incluir algunos de los más relevantes por la relación que éstos tienen con los estudios de campos magnéticos previamente mencionados.

Desde los años 60 se ha estudiado formalmente el efecto de campos eléctricos en el tejido sanguíneo así, por ejemplo en un estudio realizado con ratones expuestos a campos eléctricos de 157 kV/m durante 1500 horas en el que se midieron los neutrófilos, los leucocitos y proteínas en el plasma, se encontró que éstos parámetros no sufrieron cambios por causa de la exposición (Knickerbocker et al., 1967).

Por otro lado Meda et al. (1972) realizaron un estudio para evaluar los posibles efectos de los campos eléctricos de 10 kV/m sobre las células blancas de la sangre de ratas expuestas en forma aguda por 6 horas, mostrando que los eosinófilos y los neutrófilos se incrementaban y que los linfocitos disminuían considerablemente en comparación con un grupo de animales no expuesto.

En un estudio con ratones, hecho para evaluar los efectos de los campos eléctricos de 50 Hz de frecuencia a una intensidad de 10 kV/m sobre los parámetros sanguíneos, se expusieron animales por un período crónico de 55 días y se encontró que los eosinófilos y los neutrófilos se incrementaban en comparación con un grupo no expuesto, mientras que los linfocitos disminuían por influencia del campo aplicado (Blanchi et al., 1973).

Por otro lado, una investigación realizada en ratas utilizando campos eléctricos de 50 Hz con una intensidad de 0.1-5 Kv/m por 4 meses, detectó una

disminución de los eosinófilos, así como también una elevación de la glucosa en sangre periférica (Dumarsky et al., 1976).

En otro estudio experimental para ver los efectos de los campos eléctricos en ratas y conejos Le Bars y Andre (1976) colocaron los animales exponiéndolos al campo por un periodo de entre 100 - 300 días a una intensidad de 50 kV/m y encontraron que los eritrocitos, los reticulocitos, los neutrófilos y los linfocitos no se veían afectados, sólo las proteínas plasmáticas se vieron incrementadas por dicho campo.

En otro trabajo realizado en ratas expuestas durante un periodo de un año a campos eléctricos de 100 kV/m se encontró que estos afectaban a los leucocitos mostrando una considerable disminución de éstos en comparación con el testigo no expuesto (Bayer et al., 1977).

Otros experimentos realizados con ratas expuestas a campos eléctricos de 50 Hz a una intensidad de 15 kV/m durante 30 días mostraron un incremento de algunas proteínas del plasma con respecto a los controles (Marino et al., 1977).

En ese mismo año se publicaron los resultados de un experimento realizado con ratones, los cuales fueron expuestos a campos eléctricos de 50 Hz con una intensidad de 25-50 kV/m durante 6 semanas, éstos mostraron cambios en algunos parámetros sanguíneos como un aumento significativo de los leucocitos, corticosteroides y algunas de las proteínas del plasma, así como también una disminución de los eritrocitos (Poznaiak et al., 1977).

En otro estudio realizado para evaluar el efecto de los campos eléctricos de 50 Hz a una intensidad de 100 kV/m en linfocitos de ratas, los animales se expusieron al campo 8 horas diarias durante 2 meses y se encontró que los linfocitos se incrementaban durante el periodo de exposición (Cerretelli et al., 1979).

**Referencias**

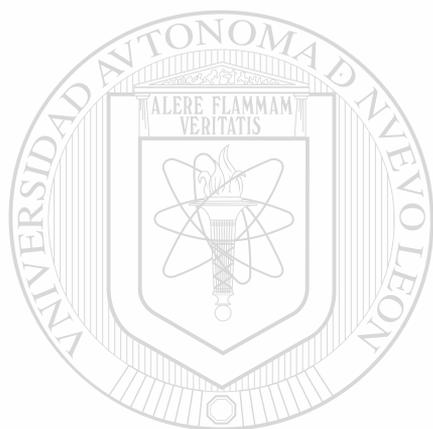
Sin embargo en otro trabajo muy relacionado con el anterior, se evaluaron los efectos de estos campos eléctricos de 50 Hz a una intensidad de 100 kV/m sobre los parámetros sanguíneos de ratas durante un período de exposición de 60 días no mostró cambios en los eritrocitos y proteínas plasmáticas mientras que los neutrófilos se incrementaron considerablemente en comparación con el testigo negativo y por otro lado los linfocitos se vieron disminuidos (Malaguti et al., 1980).

Por otro lado se llevó a cabo un estudio con grupos de ratones hembra y macho para evaluar los efectos de los campos eléctricos sobre eritrocitos, leucocitos y proteínas del plasma, sometiéndolos a un campo eléctrico de 50 Hz con 240 kV/m de intensidad durante un período de 22 horas diarias entre 83 - 188 días. Los resultados mostraron que tanto los eritrocitos como los leucocitos en los ratones hembra se vieron notoriamente disminuidos y que en el caso de los ratones macho, las proteínas plasmáticas en especial la albúmina se vieron incrementadas (Fam, 1980).

En un estudio efectuado para evaluar los efectos de los campos eléctricos de 50 Hz a una intensidad de 5 kV/m sobre los eritrocitos, fueron expuestos grupos de ratones por un período de 2 días encontrándose que los eritrocitos se veían disminuidos en comparación con animales no expuestos (Marino et al., 1980).

Según Ragan et al. (1983) numerosos estudios sobre los efectos de los campos eléctricos sobre la sangre periférica no arrojan resultados significativos. Se replicaron algunos experimentos utilizando campos eléctricos de 60 Hz a una intensidad de 100 KV/m de exposición que oscilaban entre los 15 y 120 días de exposición y al ser replicados dichos experimentos y ser sometidos a rigurosas pruebas estadísticas se concluyó que estos campos no inducen cambios sobre la sangre periférica de los organismos

**expuestos en comparación con sus testigos negativos no expuestos. Se menciona la necesidad de realizar los experimentos en condiciones altamente controladas.**



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### HIPÓTESIS

Los CEM oscilantes de 60 Hz son capaces de modificar los parámetros sanguíneos de ratones (*Mus musculus*) de la línea BALB/c.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de CEM oscilantes de 60 Hz sobre parámetros hematológicos de ratones (*Mus musculus*) de la línea BALB/c expuestos *in vivo*.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- A) Evaluar el efecto de los CEM oscilantes de 60 Hz en intensidades de 1.0, 1.5, y 2.0 mT por un periodo de 72 h sobre los parámetros hematológicos de ratones *Mus musculus* línea BALB/c expuestos *in vivo*.
- 
- B) Evaluar el efecto de los CEM oscilantes de 60 Hz a una intensidad de 2.0 mT combinado con Mitomicina-C (5 mg/kg) por un periodo de 72 h sobre los parámetros hematológicos de ratones *Mus musculus* línea BALB/c expuestos *in vivo*.
- C) Evaluar el efecto de los CEM oscilantes de 60 Hz a una intensidad de 2.0 mT por un periodo de 10 días/8 h diarias sobre los parámetros hematológicos de ratones *Mus musculus* línea BALB/c expuestos *in vivo*.

# MATERIAL Y MÉTODO

## MATERIAL BIOLÓGICO

En el presente trabajo se utilizaron ratones (*Mus musculus*) macho de tres meses de edad de la línea BALB/c proporcionados por el bioterio de la Facultad de Medicina, U.A.N.L.

## EXPOSICIÓN DE LOS ANIMALES A LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS

Los ratones usados para el tratamiento magnético fueron colocados en el interior de un solenoide como el que se especifica en el Capítulo I de esta tesis y que corresponde al modelo de exposición *in vivo*. Las intensidades magnéticas aplicadas fueron; 1.0, 1.5 y 2.0 mT.

## PRUEBAS SANGUÍNEAS

Se realizaron pruebas hematológicas al inicio y al final del tratamiento con la finalidad de comparar las variaciones. La toma de la muestra se realizó por vía periorbital (cavidad ocular) tomando la muestra por la mañana y a la misma hora, usando capilares de vidrio heparinizado para la toma de las mismas. Con la finalidad de evitar infecciones que pudieran interferir en los resultados, a los ratones se les aplicó Cloranfenicol oftálmico en solución, al ojo del animal antes y después de la extracción de sangre. Las pruebas hematológicas a realizar fueron:

- a) **microhematocrito (Htc).**- Que expresa el porcentaje de glóbulos rojos por volumen de sangre total, se realizó llenando 2 capilares heparinizados de  $\frac{1}{2}$  a  $\frac{3}{4}$  partes, sellándose con un tapón de creatoseal por el extremo donde se realizó el llenado. Los capilares fueron

centrifugados con una microcentrífuga (marca Sol-bat modelo PI.16) a 11000 r.p.m., por espacio de 5 minutos. Utilizando un lector para microhematocrito se determinó su lectura correspondiente (Blaxhall y Daisely, 1973).

**b) Proteína total del plasma (PP).**- Para determinar éste parámetro se utilizaron los capilares centrifugados para la prueba del microhematocrito, los cuales fueron seccionados, tomando solamente la porción del plasma, el cual se colocó en un refractómetro (modelo A 300 CL) para determinar por gravimetría la proteína del plasma, haciendo la lectura en la escala con unidades g/dl.

**c) Hemoglobina (Hb).**- Para medir la cantidad de hemoglobina se utilizó un hemoglobinómetro marca BMS, para esto se colocó una gota de sangre (0.1 ml) en la cámara, se hemolizó la sangre con un aplicador (marca Cida) que contiene saponina (200 mg. aprox.), se colocó la cámara en su compartimento. Se observó por el ocular deslizando el indicador de la escala hasta igualar los colores de la pantalla, se tomó la lectura en la escala con unidades g/dl.

**d) Concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH).**- Esta es la concentración media de hemoglobina en un volumen determinado de concentración de eritrocitos. Se calcula a partir de la concentración de hemoglobina y del hematocrito como lo indica la siguiente fórmula:

$$\text{CCMH} = \text{Hb(g/dl)} / \text{H t c, y se expresa en g/dl.}$$

**e) Recuento diferencial de leucocitos.**- Que determina el número relativo de cada tipo de leucocitos presentes en la sangre (Lynch, 1972). El recuento diferencial se realizó usando un frotis de sangre teñido con hemocolorante

rápido (marca Hycel de México S.A. de C.V.). Se colocó una gota de sangre en uno de los extremos del portaobjetos y con otro portaobjetos formando un ángulo de 40 grados aproximadamente, se desliza hacia el extremo opuesto del portaobjetos que inicialmente tenía la sangre, secado al aire y posteriormente fijado con metanol por espacio de 30 min, se coloreó con hemocolorante por espacio de 15 a 20 seg en la solución 1 enjuagando con agua y eliminando el exceso de ésta para ser colocado el mismo lapso de tiempo en la solución 2, se lavaron y secaron al aire y una vez terminado este proceso el frotis se observó bajo un microscopio marca Carl Zeiss con objetivo de inmersión (100X), deslizando el frotis para revisar diferentes campos, hasta contar cien células blancas. Para determinar la proporción de cada una de ellas se contabilizaron; neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizaron cinco experimentos independientes utilizando un diseño preexperimental, es decir, los ratones fueron sangrados al inicio y al final del experimento. Los resultados obtenidos antes y después, se analizaron estadísticamente. Los experimentos fueron llevados a cabo de la siguiente manera:

- Experimento No.1.- Tratamiento con CEM de intensidad 1.0 mT  
Por un período de 72 hrs.
- Experimento No.2.- Tratamiento con CEM de intensidad 1.5 mT  
Por un período de 72 hrs.
- Experimento No.3.- Tratamiento con CEM de intensidad 2.0 mT  
Por un período de 72 hrs.

Experimento No.4.- Tratamiento combinado con Mitomicina-C  $10^{-7}M$  más CEM de intensidad 2.0 mT. Por un periodo de 72 hrs.

Experimento No.5.- Exposición fraccionada con CEM de intensidad 2.0 mT por un periodo de 10 días 8 h diarias.

Para cada uno de los experimentos 1, 2, 3 y 4 se utilizaron tres animales, y se compararon con un testigo negativo el cual no se expuso al factor físico ni al químico, y un testigo positivo al cual se le suministraron intraperitonealmente 5 mg de Mitomicina-C por cada kilogramo de peso del animal. En total por cada experimento se utilizaron nueve ratones. En el caso del experimento 5 solo contó con el testigo negativo ya que no se pudo obtener una dosis que fuera fraccionada y causara el mismo efecto que la dosis única utilizada en los demás experimentos.

Los ratones que se expusieron en el sistema fueron alimentados *ad libitum* y mantenidos a una temperatura entre los 25-28 °C.

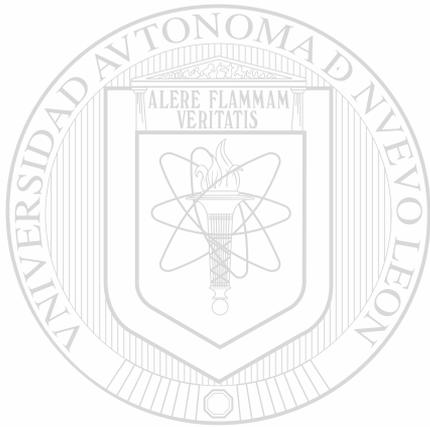
## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño antes y después utilizado en el presente trabajo permitió incrementar la capacidad de detectar diferencias estadísticas, donde la variabilidad de los resultados fuera menor que la variabilidad intratratamientos, al utilizar la información en pareamiento (es decir, que cada animal es su propio testigo) se eliminan fuentes de varianza extraña que puedan intervenir con los resultados (Steel y Torrie, 1985).

Los datos se analizaron mediante pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas. Se aplicó inicialmente a los datos la prueba de Kolmogorov-Smirnov que determina si la distribución de los datos era normal o no. En el

caso de los eosinófilos y basófilos que mostraron una distribución normal se analizaron por medio de una “prueba de t” para dos muestras relacionadas, el resto de las variables se analizaron mediante la prueba no paramétrica de contrastes de Wilcoxon.

Dichos análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software para Windows 95 SPSS versión 8.0 de acuerdo a Ferrán-Aranaz (1996),



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESULTADOS

### **EXPERIMENTO No. 1 Exposición de ratones a CEM de 60 Hz a 1.0 mT / 72 h continuas.**

En la Tabla III.1 se muestran los resultados obtenidos en este experimento donde se encontró en el caso del tratamiento magnético un incremento en los neutrófilos y monocitos mientras que los linfocitos y la CCMH se vieron disminuidos ( $P < 0.05$ ). Aunque otras variables en el tratamiento mostraron diferencias estadísticas significativas no se considera que el factor haya sido la causa del cambio ya que el testigo negativo mostró la misma diferencia. Por su parte el grupo tratado con Mitomicina-C (testigo +) manifestó los mismos efectos que el tratamiento magnético en los neutrófilos y linfocitos pero no en los monocitos ni en la CCMH.

### **EXPERIMENTO No.2 Exposición de ratones a CEM de 60 Hz a 1.5 mT / 72 h continuas.**

En la Tabla III.2 se muestran los resultados encontrados para este experimento, donde se observó que el tratamiento magnético a una intensidad de 1.5 mT por un periodo de 72 horas continuas de exposición produjo un incremento de la CCMH y los neutrófilos así como una disminución en los linfocitos ( $p < 0.05$ ), el resto de las variables no mostraron alteraciones.

### **EXPERIMENTO No.3 Exposición de ratones a CEM de 60 Hz a 2.0 mT / 72 h continuas.**

En la tabla III.3 se muestran los resultados para este experimento en el caso del tratamiento a 2.0 mT por un período agudo de 72 horas se encontró

que la PP y los linfocitos disminuyen mientras que los neutrófilos se incrementan ( $p < 0.05$ ). Los demás parámetros hematológicos no mostraron modificaciones atribuibles al tratamiento magnético. Hasta este experimento, se puede observar que el resultado más consistente es el aumento en los neutrófilos y la disminución de linfocitos que se ha encontrado a las tres intensidades magnéticas aplicadas.

#### **EXPERIMENTO No.4 Exposición de ratones a CEM de 60 Hz a 2.0 mT por 72 h combinado con Mitomicina-C a 5 mg/kg.**

En la Tabla III.4 se muestran los resultados correspondientes a este experimento donde se encontró que para el tratamiento se incrementó ( $p < 0.05$ ) la concentración corpuscular media de hemoglobina mientras que en el resto de las variables no mostró diferencia estadísticamente significativa. El grupo tratado con Mitomicina-C (testigo +) mostró sus efectos sobre linfocitos, neutrófilos y monocitos, así como en la hemoglobina, proteína del plasma y concentración corpuscular media de hemoglobina.

#### **EXPERIMENTO No.5 Exposición de ratones a CEM de 60 Hz a 2.0 mT, 8 h diarias / 10 días.**

En la Tabla III.5 se muestran los resultados obtenidos en este experimento, donde encontramos que en el caso del tratamiento magnético no mostró diferencia estadísticamente significativa sobre ninguna de las variables estudiadas en comparación con el grupo de animales no expuesto al campo magnético. Es decir, que el campo magnético aplicado de esta manera no modificó los parámetros hemáticos.

PRUEBAS	Experimento N°1: CEM de 60 Hz a 1.0 mT.												
	#REP	X			DESV EST.			P			EST		
		(-)	(+)	1.0 mT	(-)	(+)	1.0 mT	(-)	(+)	1.0 mT	(-)	(+)	1.0 mT
Hb 0 hrs	9	17.33	17.66	17.16	±0.661	±0.567	±0.500	0.007 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	0.084	-2.719	-2.67	-1.73
Hb 72 hrs		15.83	13.88	16.83	±0.559	±1.219	±0.485						
PP 0 hrs	9	5.53	3.800	6.280	±0.489	±0.477	±0.437	0.018 <sup>a</sup>	0.056	0.041 <sup>a</sup>	-2.375	-1.914	-2.041
PP 72 hrs		6.02	5.440	7.950	±0.210	±0.371	±0.538						
Htc 0 hrs	9	55.33	55.88	59.88	±1.658	±2.571	±3.550	0.008 <sup>a</sup>	0.007 <sup>a</sup>	0.012 <sup>a</sup>	-2.67	-2.675	-2.524
Htc 72 hrs		51.44	45.44	50.11	±1.833	±1.130	±3.829						
CCMH 0 hrs	9	3.190	3.160	3.490	±0.104	±0.131	±0.155	0.594	0.374	0.011 <sup>a</sup>	-0.534	-0.889	-2.547
CCMH 72 hrs		3.250	3.300	2.980	±0.158	±0.374	±0.298						
NEU 0 hrs	9	36.44	38.00	23.11	±4.186	±7.952	±9.701	0.859	0.008 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-0.178	-2.666	-2.666
NEU 72 hrs		35.22	71.66	74.55	±2.438	±9.394	±4.013						
ES0 0 hrs	9	0.330	0.110	0.000	±0.050	±0.033	±0.000	0.594 <sup>b</sup>	0.594 <sup>b</sup>	0.081 <sup>b</sup>	0.555 <sup>c</sup>	-0.555	-2
ES0 72 hrs		0.220	0.220	0.330	±0.044	±0.044	±0.050						
BAS 0 hrs	9	0.000	0.110	0.000	±0.000	±0.333	±0.000	0.347 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	0.347 <sup>b</sup>	-1	0 <sup>c</sup>	-1
BAS 72 hrs		0.110	0.000	0.110	±0.333	±0.000	±0.333						
LIN 0 hrs	9	61.00	60.00	77.44	±4.000	±7.297	±8.308	0.314	0.008 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-1.007	-2.666	-2.668
LIN 72 hrs		63.33	27.11	24.11	±2.549	±8.462	±4.400						
MON 0 hrs	9	2.110	1.440	0.220	±1.536	±0.726	±0.440	0.084	0.33	0.038 <sup>a</sup>	-1.725	-0.973	-2.07
MON 72 hrs		1.110	1.000	1.000	±0.600	±1.224	±0.707						

Tabla III 1.- Promedios de los parámetros hematológicos y valores estadísticos obtenidos de ratones *Mus musculus* línea Balb/c expuestos *in vivo* a CEM de 60 Hz y 1.0 mT de intensidad magnética.

Hb= Hemoglobina, PP= Proteína Total en Plasma, Htc= Hematocrito, CCMH= Concentración Corpuscular Media de Hemoglobina, NEU= Neutrófilos, ESO= Eosinófilos, BAS= Basófilos, LIN= Linfocitos, MON= Monocitos, 0 hrs= Antes del Tratamiento, 72 hrs= Después del Tratamiento, #REP= Número de Repeticiones,  $\bar{X}$ = Media, DESV EST= Desviación Estandar, P= Probabilidad, Est= Estadístico, (-) = Testigo Negativo, (+) = Testigo Positivo, 1.0 mT= Tratamiento del CEM, a= Significativos Estadísticamente, b= Analizados por pruebas paramétricas.

PRUEBAS	Experimento N°2 CEM de 60 Hz a 1.5mT.												
	#REP	$\bar{X}$			DESV EST.			P			Est		
		(-)	(+)	1.5 mT	(-)	(+)	1.5 mT	(-)	(+)	1.5 mT	(-)	(+)	1.5 mT
Hb 0 hrs	9	17.33	17.66	18.39	±0.661	±0.567	±0.416	0.007 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-2.719	-2.67	-2.67
Hb 72 hrs		15.83	13.88	14.80	±0.559	±1.219	±1.563						
PP 0hrs	9	5.53	3.800	5.870	±0.489	±0.477	±0.244	0.018 <sup>a</sup>	0.056	0.041 <sup>a</sup>	-2.375	-1.914	-2.047
PP 72 hrs		6.02	5.440	6.067	±0.210	±0.371	±0.223						
Htc 0 hrs	9	55.33	55.88	55.33	±1.658	±2.571	±3.122	0.008 <sup>a</sup>	0.007 <sup>a</sup>	0.015 <sup>a</sup>	-2.67	-2.675	-2.433
Htc 72 hrs		51.44	45.44	51.20	±1.833	±1.130	±1.418						
CCMH 0 hrs	9	3.190	3.160	3.010	±0.104	±0.131	±0.216	0.594	0.374	0.008 <sup>a</sup>	-0.534	-0.889	-2.666
CCMH 72 hrs		3.250	3.300	3.500	±0.158	±0.374	±0.366						
NEU 0 hrs	9	36.44	38.00	25.70	±4.186	±7.952	±8.366	0.859	0.008 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-0.178	-2.666	-2.666
NEU 72 hrs		35.22	71.66	67.56	±2.438	±9.394	±9.988						
ESO 0 hrs	9	0.330	0.110	0.660	±0.500	±0.333	±0.707	0.594 <sup>b</sup>	0.594 <sup>b</sup>	0.195 <sup>b</sup>	0.555	-0.555	1.414
ESO 72 hrs		0.220	0.220	0.220	±0.440	±0.440	±0.440						
BAS 0 hrs	9	0.000	0.110	0.000	±0.000	±0.333	±0.000	0.347 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	0.347 <sup>b</sup>	-1	0	-1
BAS 72 hrs		0.110	0.000	0.220	±0.333	±0.000	±0.440						
LIN 0 hrs	9	61.00	60.00	71.20	±4.000	±7.297	±6.418	0.314	0.008 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-1.007	-2.666	-2.666
LIN 72 hrs		63.33	27.11	30.11	±2.549	±8.462	±9.993						
MON 0 hrs	9	2.110	1.440	2.000	±1.536	±0.726	±1.224	0.084	0.33	0.831	-1.725	-0.973	-0.213
MON 72 hrs		1.110	1.000	1.660	±0.600	±1.224	±1.224						

Tabla III.2 Promedios de los parámetros hematológicos y valores estadísticos obtenidos de ratones *Mus musculus* Línea Balb / C expuestos *in vivo* a CEM de 1.5 mT de intensidad magnética.

Hb= Hemoglobina, PP= Proteína Total en Plasma, Htc= Hematocrito, CCMH= Concentración Corpuscular Media de Hemoglobina, NEU= Neutrófilos, ESO= Eosinófilos, BAS= Basófilos, LIN= Linfocitos, MON= Monocitos, 0 hrs= Antes del Tratamiento, 72 hrs= Después del Tratamiento, #REP= Número de Repeticiones,  $\bar{X}$ = Media, DESV EST= Desviación Estandar, P= Probabilidad, Est= Estadístico, (-) = Testigo Negativo, (+) = Testigo Positivo, 1.5 mT= Tratamiento del CEM, a= Significativos Estadísticamente, b= Analizados por pruebas paramétricas.

PRUEBAS	Experimento N°3 CEM 60 Hz a 2.0 mT.													
	#REP	X			DESV EST.			P			Z			Est
		(-)	(+)	2.0 mT	(-)	(+)	2.0 mT	(-)	(+)	2.0 mT	(-)	(+)	2.0 mT	
Hb 0 hrs	9	17.92	17.92	19.58	±1.111	±0.484	±0.353	0.023 <sup>a</sup>	0.011 <sup>a</sup>	0.007 <sup>a</sup>	-2.271	-2.556	-2.68	
Hb 72 hrs		16.42	15.00	15.17	±1.023	±1.858	±1.038							
PP 0hrs	9	6.650	6.700	7.383	±0.714	±0.367	±0.109	0.722	0.21 <sup>a</sup>	0.031 <sup>a</sup>	-0.356	-2.313	-2.154	
PP 72 hrs		6.700	1.050	7.150	±0.456	±0.414	±0.334							
Htc 0 hrs	9	55.50	51.5	57.67	±2.000	±2.264	±2.165	0.008 <sup>a</sup>	0.007 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-2.666	-2.675	-2.666	
Htc 72 hrs		47.00	44.17	46.00	±2.437	±5.906	±7.404							
CCMH 0 hrs	9	3.110	2.870	2.940	±0.195	±0.118	±0.101	0.051	0.859	0.441	-1.955	-0.178	-0.77	
CCMH 72 hrs		2.880	3.000	3.050	±0.295	±0.635	±0.530							
NEU 0 hrs	9	13.00	8.440	26.11	±5.545	±4.187	±4.285	0.066	0.015 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-1.836	-2.429	-2.666	
NEU 72 hrs		21.89	36.56	55.22	±9.253	±19.11	±8.526							
ESO 0 hrs	9	0.333	0.222	0.111	±0.707	±0.441	±0.333	0.447 <sup>b</sup>	0.347 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	0.8	.1	0	
ESO 72 hrs		0.111	0.111	0.111	±0.333	±0.333	±0.333							
BAS 0 hrs	9	00.00	00.00	00.00	±00.00	±00.00	±00.00	0.347 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	.1	0	0	
BAS 72 hrs		0.111	00.00	00.00	±0.333	±00.00	±00.00							
LIN 0 hrs	9	85.56	90.33	90.33	±5.102	±4.555	±4.157	0.51	0.015 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-1.955	-2.429	-2.668	
LIN 72 hrs		77.56	62.89	62.89	±8.791	±19.11	±8.526							
MON 0 hrs	9	1.111	1.000	1.000	±0.781	±0.707	±0.500	0.81 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	2	2.294	0	
MON 72 hrs		0.444	0.444	0.444	±0.527	±0.527	±0.500							

111

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Tabla III.3.-Promedios de los parámetros hematológicos y valores estadísticos obtenidos de ratones *Mus musculus* línea Balb/c expuestos *in vivo* a CEM de 2.0 mT. DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

Hb = Hemoglobina, PP = Proteína Total en Plasma, Htc = Hematocrito, CCMH = Concentración Corpuscular Media de Hemoglobina, NEU = Neutrófilos, ESO = Eosinófilos, BAS = Basófilos, LIN = Linfocitos, MON = Monocitos, 0 hrs = Antes del tratamiento, 72 hrs = Después del tratamiento, #REP = Número de Repeticiones,  $\bar{X}$  = Media, DESV EST = Desviación Estándar, P = Probabilidad, Est = Estadístico, (-) = Testigo Negativo, (+) = Testigo Positivo, 2.0 mT = Tratamiento del CEM, a = Significativos Estadísticamente, b = Analizados por pruebas paramétricas.

PRUEBAS	Experimento N°4 CEM de 60 Hz a 2.0 mT +MMC..												
	#REP	X			DESVEST.			P			EST		
		(-) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.	(-) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.	(-) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.	(-) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.	(+) 2.0 mT + M.C.
Hb 0 hrs	9	16.78	16.33	17.61	±1.481	±0.968	±0.820	0.141	0.012 <sup>a</sup>	0.203	-1.474	-2.524	-1.272
Hb 72 hrs		15.72	14.44	16.83	±1.121	±1.210	±2.092						
PP 0 hrs	9	6.889	6.378	6.567	±0.372	±0.205	±0.324	0.635	0.012 <sup>a</sup>	0.307	-0.475	-2.527	-1.022
PP 72 hrs		6.800	5.678	6.400	±0.218	±0.424	±0.320						
Htc 0 hrs	9	51.33	49.67	53.44	±1.732	±1.936	±1.333	0.008 <sup>a</sup>	0.144	0.066	-2.67	-1.461	-1.84
Htc 72 hrs		45.44	46.78	57.89	±1.569	±3.701	±5.578						
CCMH 0 hrs	9	3.170	3.050	3.040	±0.222	±0.200	±0.150	0.173	0.05 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	-1.362	-1.956	-2.31
CCMH 72 hrs		2.900	3.240	3.470	±0.243	±0.185	±0.355						
NEU 0 hrs	9	28.11	23.33	20.44	±10.26	±4.950	±5.593	0.008 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	0.008 <sup>a</sup>	-2.666	-2.666	-2.666
NEU 72 hrs		21.11	57.67	22.67	±10.71	±8.276	±9.798						
ESO 0 hrs	9	0.222	0.333	0.222	±0.441	±0.500	±0.441	0.594 <sup>b</sup>	0.081 <sup>b</sup>	0.169 <sup>b</sup>	0.555	2	1.512
ESO 72 hrs		0.111	00.00	00.00	±0.333	±00.00	±00.00						
BAS 0 hrs	9	00.00	00.00	00.00	±00.00	±00.00	±00.00	0.347 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	-1	0	0
BAS 72 hrs		0.111	00.00	00.00	±0.333	±00.00	±00.00						
LIN 0 hrs	9	70.33	74.78	77.78	±10.14	±5.118	±5.911	0.26	0.008 <sup>a</sup>	0.594	-1.125	-2.666	-0.533
LIN 72 hrs		77.89	41.56	76.22	±10.73	±8.172	±9.497						
MON 0 hrs	9	1.222	1.556	1.333	±0.666	±0.527	±0.866	0.799 <sup>b</sup>	0.023 <sup>ab</sup>	0.512 <sup>b</sup>	0.263	2.8	0.686
MON 72 hrs		1.111	0.777	1.111	±0.782	±0.667	±0.601						

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla III.4. - Promedios de los parámetros hematológicos y valores estadísticos obtenidos de ratones *Mus musculus* línea Balb/c expuestos *in vivo* a CEM de 2.0 mT + MMC.

Hb= Hemoglobina, PP= Proteína Total en Plasma, Htc= Hematocrito, CCMH= Concentración Corpuscular Media de Hemoglobina, NEU= Neutrófilos, ESO= Eosinófilos; BAS= Basófilos, LIN= Linfocitos, MON= Monocitos, 0 hrs= Antes del Tratamiento; 72 hrs= Después del Tratamiento, #REP= Número de Repeticiones,  $\bar{X}$ = Media, DESV EST= Desviación Estandar, P= Probabilidad, Est= Estadístico, (-) = Testigo Negativo, (+) = Testigo Positivo, 2.0 mT + MMC= Tratamiento del CEM, a= Significativos Estadísticamente, b= Analizados por pruebas paramétricas.

PRUEBAS	Experimento N°5 CEM 60 Hz exposición fraccionada.								
	#REP.	X		DESV EST.		P		EST	
		(-)	CRONICO	(-)	CRONICO	(-)	CRONICO	(-)	CRONICO
Hb 0 hrs	9	15.89	16.06	±1.244	±0.464	0.36	0.287	-0.916	-1.065
Hb 80 hrs	9	15.33	15.78	±0.559	±0.755				
PP 0hrs	9	6.111	6.567	±0.621	±0.543	0.008 <sup>a</sup>	0.018 <sup>a</sup>	-2.668	-2.366
PP 72 hrs	9	7.767	7.622	±0.510	±1.151				
Htc 0 hrs	9	50.67	51.22	±1.581	±0.972	0.007 <sup>a</sup>	0.012 <sup>a</sup>	-2.675	-2.524
Htc 80 hrs	9	53.89	53.89	±1.537	±1.269				
CCMH 0 hrs	9	3.200	3.190	±0.181	±0.089	0.028 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	-2.194	-2.31
CCMH 80 hrs	9	3.520	3.420	±0.218	±0.188				
NEU 0 hrs	9	31.44	21.89	±3.779	±8.695	0.086	0.051	-1.718	-1.955
NEU 80 hrs	9	47.56	31.44	±23.72	±6.560				
ESO 0 hrs	9	0.111	00.00	±0.333	±00.00	1 <sup>b</sup>	0.347 <sup>b</sup>	0	-1
ESO 80 hrs	9	0.111	0.111	±0.333	±0.333				
BAS 0 hrs	9	00.00	00.00	±00.00	±00.00	0.347 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	-1	0
BAS 80 hrs	9	0.111	00.00	±0.333	±00.00				
LIN 0 hrs	9	67.67	76.67	±3.873	±8.775	0.139	0.066	-1.481	-1.836
LIN 80 hrs	9	55.33	66.67	±23.23	±6.000				
MON 0 hrs	9	0.778	1.444	±0.971	±1.130	0.088	0.438	-1.709	-0.776
MON 80 hrs	9	1.88	0.444	±1.054	±0.726				

Tabla III.5 Promedios de los parámetros hematológicos y valores estadísticos obtenidos de ratones *Mus musculus* línea Balb/c expuestos *in vivo* a CEM de 2.0 mT por un periodo fraccionado.

Hb= Hemoglobina, PP= Proteína Total en Plasma, Htc= Hematocrito, CCMH= Concentración Corpuscular Media de Hemoglobina, NEU= Neutrófilos, ESO= Eosinófilos, BAS= Basófilos, LIN= Linfocitos, MON= Monocitos, 0 hrs= Antes del Tratamiento, 72 hrs= Después del Tratamiento, #REP= Número de Repeticiones,  $\bar{X}$ = Media, DESV EST= Desviación Estandar, P= Probabilidad, Est= Estadístico, (-) = Testigo Negativo, (+) = Testigo Positivo, CRONICO= Tratamiento del CEM, a= Significativos Estadísticamente, b= Analizados por pruebas paramétricas.

## DISCUSION

En el presente estudio se encontró evidencia de que los CEM de 60 Hz son capaces de modificar algunos de los parámetros hematológicos de los ratones *Mus musculus* línea Balb/c *in vivo*.

En el caso de la hemoglobina no se encontró cambio entre los grupos expuestos a las intensidades de 1.0 mT, 1.5 mT, 2.0 mT, 2.0 mT + M.M.C y 2.0 mT durante 10 días 8 hrs diarias con respecto al grupo testigo (-). Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos en otras investigaciones, (Margonato et al., 1995 ; Bonhome-Faivre et al., 1999), aunque ellos expusieron los animales a CEM de 5  $\mu$ T durante períodos prolongados no encontrando diferencia entre los grupos expuestos a la radiación comparados con el grupo testigo (-). Sin embargo, en un estudio reciente Bonhome-Faivre et al. (1999) expusieron ratones a intensidades de 0.03 y 0.8  $\mu$ T durante un periodo de 160 días y encontraron un incremento en la concentración de hemoglobina.

Asimismo, en el presente estudio, se encontró que no había alteraciones en la concentración de la proteína total del plasma al ser expuestos los ratones a las intensidades 1.0, 1.5, al tratamiento combinado de 2.0 mT + MMC y el tratamiento fraccionado de 2.0 mT. Sin embargo, se observó un incremento en los valores de la proteína total del plasma en el tratamiento agudo de 2.0 mT. Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con otros trabajos en los cuales utilizaron CEM menores de 1.5 mT para evaluar el efecto sobre este parámetro en ratones y en los cuales no se encontró influencia del CEM en la concentración de la proteína total del plasma (Margonato et al., 1995; Valderrama, 1997; Ubeda et al., 1997). Por otra parte, Le Bars y Andre (1976)

encontraron un incremento en la concentración de la proteína total del plasma en ratas al ser expuestas a campos eléctricos de 50 kV/m.

En cuanto a los resultados obtenidos al evaluar el efecto de los CEM sobre la concentración del hematocrito; éste no mostró diferencia estadísticamente significativa en los experimentos a 1.0, 1.5 y 2.0 mT, tratamiento combinado y fraccionado con respecto a los testigos (-). Estos resultados son similares a los obtenidos por Margonato et al. (1995), sin embargo, ellos expusieron ratas a una intensidad de 5  $\mu$ T durante 12 semanas y no encontraron diferencia entre el grupo tratado con dicha radiación y el grupo control. Por otra parte se ha evaluado el efecto de los CEM en el ser humano y en ratones y no se han encontrado efectos sobre la concentración del hematocrito (Selmaoui et al., 1996; Bonhome-Faivre et al., 1998-a).

Tampoco se encontró diferencia en la CCMH del grupo expuesto a 2.0 mT de 60 Hz de frecuencia y el grupo crónico comparado con su respectivo testigo (-). Esto concuerda con los resultados obtenidos por Margonato et al. (1995). Sin embargo, se encontró efecto a las intensidades de 1.0 mT, 1.5 mT, así como en el tratamiento combinado de CEM y MMC.

Por otro lado, se encontró que la exposición aguda de CEM a 1.0, 1.5 y 2.0 mT de 60 Hz de frecuencia provoca un incremento en el número de neutrófilos circulantes en sangre, siendo este uno de los resultados más consistentes en esta investigación. Estos hallazgos concuerdan con aquellos de otros investigadores; los cuales determinaron cual era el efecto de los CEM sobre tejido hemático de ratones y encontraron diferencias entre los grupos expuestos a CEM y los grupos no expuestos a dicho factor (Malaguti et al., 1980; Bianchi et al., 1973; Poznaniak et al., 1977). Sin embargo, en el presente estudio no se encontraron diferencias estadísticas en los grupos combinados y crónicos (exposición fraccionada) comparados con los grupos

testigo. Estos resultados tienen similitud a los obtenidos por Bonhome-Faivre et al. (1998-a), quienes expusieron ratones a CEM de 5  $\mu$ T durante 365 días no encontrando alteraciones en los neutrófilos. Por otra parte Selmaoui et al. (1996) evaluó el efecto de los CEM de 10  $\mu$ T en seres humanos no encontrando diferencias en estas células entre los individuos expuestos a CEM y los individuos del grupo testigo.

No se encontró efecto de los CEM en ninguno de los tratamientos aplicados sobre el número de eosinófilos. Estos resultados confirman lo observado por otros investigadores (Margonato et al., 1995; Valderrama-Zuriel, 1997; Ubeda et al., 1997; Bonhome-Faivre et al., 1998-a) quienes tampoco obtuvieron efecto de los CEM sobre este parámetro. Sin embargo, en otros estudios se han revelado efectos de los CEM sobre eosinófilos observándose una disminución de los mismos (Bonhome-Faivre et al., 1988-b; Zagoroskaia, 1990).

Resultados similares se obtuvieron con basófilos ya que no se encontraron diferencias entre los grupos tratados con CEM y los grupos testigo. Lo cual concuerda con Ubeda et al. (1997) quienes expusieron ratas a un CEM de 1.5 mT no obteniendo cambios en el número de basófilos circulantes en sangre. Otros trabajos igualmente demuestran que los CEM no tienen efectos sobre basófilos (Marino et al., 1977; Margonato et al., 1995; Bonhome-Faivre et al., 1998-a), sin embargo las intensidades fueron menores a las utilizadas en la presente investigación.

Por otra parte se observó que el número de linfocitos disminuía en los animales expuestos a intensidades de 1.0, 1.5 y 2.0 mT. Esto concuerda con varios trabajos presentados (Meda et al., 1976; Bayer et al., 1977; Malaguti et al., 1980; Bianchi et al., 1973; Cossarizza et al., 1989; Bonhome-Faivre et al., 1998-b; Zagoroskaia, 1990). Como en el caso de los neutrófilos mencionados

anteriormente, esta alteración en los linfocitos fue observada en todas las intensidades magnéticas aplicadas.

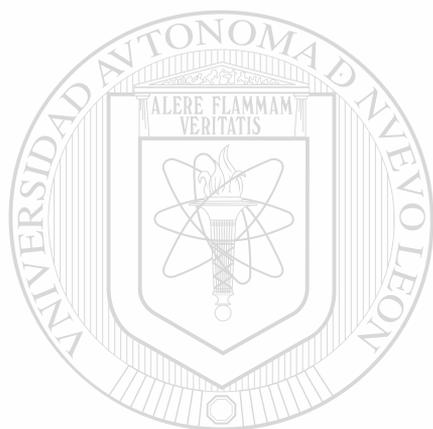
Una gran cantidad de estudios indican que los CEM similares a los utilizados en esta investigación son capaces de provocar efectos sobre el metabolismo de la célula, dando alteraciones en la síntesis de DNA, RNA y proteínas. Algunos de los efectos que se han observado a nivel celular son: supresión de la proliferación de linfocitos T y alteración de componentes de la membrana (Adey, 1981).

Por otra parte, no se encontró efecto combinado de los CEM y la MMC sobre linfocitos de ratón. Se sabe que el efecto principal del mutágeno MMC es a nivel del DNA y además es inhibidor de la división celular (Matter y Granwiler, 1975) y por su parte los CEM tienen como sitio principal de acción a la membrana celular (Liburdy, 1992). Sin embargo, si se ha informado de efectos de los CEM sobre el DNA, al menos en forma indirecta (Goodman y Blank, 1997).

En cuanto al tratamiento crónico de CEM sobre linfocitos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado con CEM y el grupo control. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Le Bars y Andre (1976); quienes expusieron ratas a CEM durante un período de 300 días no encontrando alteraciones en los grupos expuestos a CEM. Además, hay que tomar en cuenta los mecanismos de reparación, pues los animales pasaron 16 horas sin exponerse al campo y en este tiempo bien podrían revertirse algunos efectos citotóxicos provocados por los campos magnéticos (Cadossi et al., 1992).

Finalmente, y en lo que respecta al efecto de los CEM sobre el número de monocitos, se encontró que solamente el grupo expuesto a la intensidad de 1.0 mT fue el que presentó un incremento significativo en estas células. Este

aumento en el número de monocitos fue obtenido también por Poznaniak et al. (1977) al exponer ratones a CEM por 6 semanas encontrando un aumento en el número de monocitos comparado con el grupo control, además de un aumento en la concentración de corticosteroides.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CONCLUSIONES

Los CEM de 1.0 mT de 60 Hz aplicados por 72 h provocaron incrementos en el porcentaje de neutrófilos y monocitos en sangre, así como una disminución en la CCMH y linfocitos en ratones *Mus musculus* Línea BALB/c *in vivo*.

Los CEM de 1.5 mT de 60 Hz aplicados por 72 h provocaron un incremento en los valores de CCMH y porcentaje de neutrófilos en sangre además de una disminución de linfocitos de ratones *Mus musculus* Línea BALB/c *in vivo*.

Los CEM de 2.0 mT de 60 Hz aplicados por 72 h provocaron un incremento de neutrófilos y una disminución de proteína total del plasma y linfocitos de ratones *Mus musculus* Línea BALB/c *in vivo*.

Los CEM de 2.0 mT de 60 Hz aplicados por 72 h en combinación con MMC (5mg/kg) incrementaron los valores de CCMH de ratones *Mus musculus* Línea BALB/c *in vivo*.

La exposición a CEM de 2.0 mT de 60 Hz por un período diario de 8 horas por 10 días consecutivos no provocaron alteraciones en los parámetros hematológicos de ratones *Mus musculus* Línea BALB/c *in vivo*.

## LITERATURA CITADA

- Adey N.R. (1981). Tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields. *Physiol. Rev.* 61: 435-437.
- Baez-Villaseñor L. (1961). *Hematología Clínica*. Ediciones de Hospital de Enfermedades de la Nutrición, Primera edición. México. pp.17-19.
- Bayer A. Brinkman J, and Wittke G. (1977). Experimenta research on rats for determining the effect of electrical ac fields on living beings. *Elektrizitaetswirtschaft.* 76 :77-81.
- Blanchi D., Cedrini L., Ceria F., Meda E. and Re, GG. (1973). Exposure of mammals to strong 50 Hz electric fields. I. Effects on the proportion of the different leukocyte types. *Arch. Fisiol.* 70 :30-32.
- Blaxhall, P.C. and Daisely. (1973). Routine hematological methods for use with fish blood. *J. Fish. Biol.* Vol.5. pp:771-781.
- Bloom-Fawcet D.W. (1988). *Tratado de Histología*. McGraw-Hill Interamericana 12<sup>a</sup>. Edición. pp. 44-46.
- Bonhomme-Faivre L., Bizi E., Marion S., Bezie Y., Rudant E., Auclair H. and Orbach-Arbouys S. (1994). Hematology of mice exposed to environmental 50-Hz, 5  $\mu$ T magnetic fields. *Environ. Pathol. and Toxicol.* 37: 5564-5568.
- Bonhomme-Faivre L. Mace A, Bezie Y, Marion S, Bindoula G, Szekely A.M. Frenois N., Auclair H., Orbach-Arbouys S. and Bizi E. (1998-a). Alterations of biological parameters in mice chronically exposed to low-frequency (50 Hz) electromagnetic fields. *Life Sci.* 62:1271-80.

Bonhomme-Faivre L., Marion S., Bezie Y., Auclair H., Fredj G. and Hommeau C. (1998-b). Study of human neurovegetative and hematologic effects of environmental low-frequency (50 Hz) electromagnetic fields produced by transformers. *Arch. Environ. Health*. 53 :2. 87-92.

Bonhomme-Faivre L., Santini R., Marion S., Bizi E., Auclair H., Bottius L., Orbach-Arbouys S. and Bui N.L. (1999). Hematological effects of television emitted-radiation in mice : a parallel study with a protective equipment. *Bioelectromagnetics*. poster A1. International Meeting of Biological effects of magnetic and electric fields. N.Y. USA.

Cadossi R.R., Bersani F., Cossarizza A., Zucchini P., Emilia G., Torelli G. and Franceschi C. (1992). Lymphocytes and low-frequency electromagnetic fields. *The fase b. Journal*. 6:2667-2674.

Casarett A.P. (1968). *Radiation Biology*. Prentice-Hall. First Edition. USA. pp. 12-18.

Cerretelli P., Veicsteinas A., Margonato V, Cantone A., Viola D., Malaguti C., and Previ A. (1979). 100 kV project: Research on the biological effects of 50 Hz electric fields in Italy. CONF-781016. Springfield : NTIS, pp 241-257.

Cossarizza A., Monti D., Bersani F., Canitini M., Cadossi R., Sacchi A. and C. Franceschi C. (1989). Extremely low frequency pulsed electromagnetic fields increase cell proliferation in lymphocytes from young and aged subjects. *Biochem. and Biophys. Res. Comun.* 160:692-698.

Didenko N.P., Perel'muter V.M., Gurevich M.E., Rzhhevskaja Z.I. and Cha V.A. (1986). Effect of electromagnetic fields of a millimeter range on the blood system of animals depending upon their initial state and the zone of irradiation. *Biofizika* 31: 882-885.

- Dumarsky Y.D., Popovich V.M. and Prokhvatilo Y.V. (1976). Hygienic evaluation of an electromagnetic field generated by high-voltage electric power transmission lines. *Gig. Sanit.* 8 :19-23.
- Fam W.Z. (1980). Long-term biological effects of very intense 60-Hz electric field on mice. *IEEE Trans Biomed Eng BME-27* :376-381.
- Ferran-Aranaz M. (1996). *SPSS para Windows*. Editorial Mc Graw Hill. Primera edición. p.560.
- Goodman R. and Blank M. (1997). Do electromagnetic fields interact directly with DNA?. *Bioelectromagnetics* 18: 111-115.
- Hintenlang D.E. (1993). Synergistic effects of ionizing radiation and 60 Hz. magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 14:545-510.
- Knickerbocker G., Kouwenhoven W.B. and Barnes H. (1967). Exposure of mice to a strong ac electric field-An experimental study. *IEEE Trans power Appar Syst Pas* 86 :498-505.
- Le Bars H. and Andre G. (1976). Biological effects of an electric field on rats and rabbits. *Jurnal of Gen. Electr. (special issue)* 12: 91-97.
- Liburdy R.P. (1992). Calcium signaling in lymphocytes and ELF fields, evidence for an electric field metric and asite of interaction involving the calcium ion chanel. *Fed of Europ. Biochem. Societies.* 30: 53-59.
- Lynch A. (1972). *Métodos de laboratorio*, Editorial Interamericana, 2ª edición, pp 34-70.
- Malaguti C., Previ A., Cantone A., Cerreteli P. and Veicsteina A. (1980). Biological effects of exposure to electrical fields at 50-Hz. *Proceedings Assciazionne Electrotecnici de Electronici Italiano*. Trieste. Italy.
- Margonato V., Nicolini P., Conti R., Zecca L., Veicsteinas A. and Cerretelli P. (1995). Biologic effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats: II. 50 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics.* 16: 343-55.

- Marino A.A., Berger T.J., Austin B.P., Becker R.O. and Hart, F.X. (1977). *in vivo* bioelectrochemical changes associated with exposure to extremely low frequency electric fields. *Physiol. Chem. Phys.* 9 :433-441.
- Marino A.A., Berger T.J., Austin B.P., Becker R.O. and Hrt F.X. (1980). Sensitivity to change in electrical enviroment : A new bioelectric effect. *Am J. Physiol.* 239 :R424-R427.
- Matter B.E. and Granwiler J. (1975). The micronucleus test as a simple model, *in vivo* for the evaluation of drug-induced chromosome aberrations: comparative studies with thirteen compounds. *Mutat. Res.* 29:198-199.
- Meda E., Carrescia V. and Cappa S. (1972). Experimental results from exposure of animals to ac electric fields in: "Second international colloquium on the prevention of ocupational risks due to electricity". Cologne, Germany. Nov. 30 to Dec. 1.
- Poznaiak D.T., Graves H.B. and McKee G.W. (1977). Biological effects of hig-intensity 60-Hz electric on the growth and development of plants and animals. *J Microwave Power.* 12 :41-42.
- 
- Ragan H.A., Buschbom R.L., Pipes M.J., Phillips R.D. and Kaune W.T. (1983). Hematologic and serum chemistry studies in rats exposed to 60 Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 4: 79-90.
- Sánchez-Yllades L. (1992). Hematología topográfica, su importancia en la patología clínica. Salvat. 1ª edición. p.p.1-7.
- Selmaoui B., Bogdan A., Auzeby A., Lambrozo J. and Touitou Y. (1996). Acute exposure to 50 Hz magnetic field does not affect hematologic or immunologic functions in healthy young men: a circadian study. *Bioelectromagnetics* 17: 364-372.
- Steel R.G. y Torrie J.H. (1985), Bioestadística. Principios y fundamentos, Editorial Mc Graw-Hill, México, pp520-539.

Ubeda A., Diaz-Enriquez M., Martinez-Pascual M.A. and Parrero A. (1997). Hematological changes in rats exposed to weak electromagnetic fields. *Life Sci.* 61:1651-1656.

Valderrama-Zurian L. (1997). Aportaciones al conocimiento de los efectos de los campos magnéticos de baja intensidad y frecuencia sobre bioquímica hemática en el stress experimental y su repercusión sobre la glándula suprarrenal. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad de Málaga. España.

Wertheimer N. and Leper E. (1979). Electrical wiring configurations and childhood cancer. *Am. J. Epidemiol.* 109:273-284.

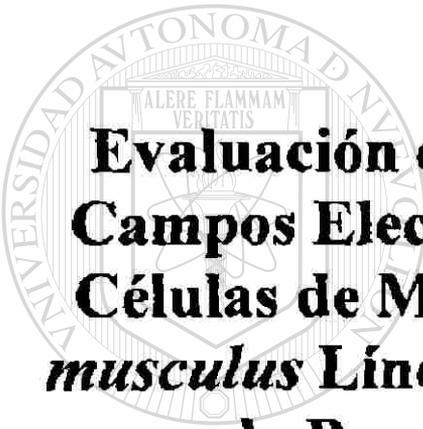
William-Banks J. (1995). *Histología Veterinaria Aplicada*. Editorial el Manual Moderno. Segunda edición. México D.F. pp. 211-243.

Zagoroskaia E.A., (1990). Reaction of the endocrine system and peripheral blood of rats to a single and chronic exposure to pulsed low-frequency electromagnetic field. *Kosm. Biol. Aviakosm. Med.* 24: 56-60.

Zwingelberg R., Obe G., Mevissen M., Buntenkotter S. and Loscher W.

(1993). Exposure of rats to 50 Hz, 30 mT magnetic field influences neither the frequencies of sister chromatid exchanges or proliferation characteristics of cultured peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.* 302: 39-44.

## CAPÍTULO IV



**Evaluación del Efecto Clastogénico de  
Campos Electromagnéticos de 60 Hz en  
Células de Médula Ósea de Ratón *Mus  
musculus* Línea BALB/c *in vivo* Mediante  
la Prueba de Micronúcleos.**

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## ANTECEDENTES

Como se señaló en el capítulo anterior, ha existido en los últimos años una gran polémica acerca del potencial efecto genotóxico y citotóxico asociado a la exposición a campos electromagnéticos (CEM) de frecuencia extremadamente baja, similares a los que comúnmente estamos expuestos.

En este capítulo se presentan los resultados del efecto clastogénico (ruptura del material genético) que un campo magnético puede ejercer en un modelo murino utilizando como blanco a la médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c. Cabe mencionar que un punto fuerte de la polémica en torno al efecto genético de los CEM, radica en el hecho de que éstos tienen una energía tan baja (  $\approx 10$  electrón Volts ) que en forma directa no deberían romper la molécula de DNA (Goodman y Blank, 1997) sin embargo, estos mismos autores sugieren un efecto de los campos magnéticos sobre el DNA ya que la molécula de este ácido posee una conducción electrónica sumamente alta de alrededor de  $1.6 \times 10^{-13}$  coulombs / seg , lo cual podría verse afectado por la influencia de un CEM. Asimismo, previamente se había informado que el DNA puede curvarse cuando las cargas en un segmento de una de sus cadenas son neutralizadas y en sí esto originaría, inestabilidad (Strauss y Maber, 1994).

A continuación se presenta el marco teórico que corresponde a la prueba que se eligió para tratar de demostrar si hay algún efecto de los campos magnéticos en la ruptura de DNA, esta es la llamada prueba de micronúcleos.

### Fundamento de la Técnica de Micronúcleos

Los micronúcleos (MN) son cuerpos redondeados de origen nuclear encontrados en el citoplasma, fuera del núcleo principal. Se asemejan al

núcleo en forma y propiedades de tinción y pueden variar ampliamente en tamaño. Se originan de fragmentos acéntricos, los cuales han sido excluidos del núcleo hijo durante la división celular; pueden ser también formados por cromosomas enteros que se rezagaron durante las divisiones celulares precedentes debido a que no se unieron al huso acromático (Rooney y Czepulkowski, 1992).

Los micronúcleos, también conocidos por mucho tiempo por los hematólogos como los cuerpos de Howell-Jolly, se identificaron en los eritrocitos policromáticos (EPC) que quedaban después de la expulsión del núcleo principal, pero que aún conservan gran cantidad de ácido ribonucleico, lo que hace que adquieran una tonalidad azul al ser teñidos con el colorante de Wright, contrastando con el color rojizo de los eritrocitos normocromáticos (ENC). Esta observación, dio origen a la llamada prueba de micronúcleos, al observar estos como la alteración principal en médula ósea de hámsters tratados con un agente mutagénico (Boller y Schmid, 1970; Schmid, 1970; Schmid, 1975). La simplicidad de la técnica, su fácil determinación y adecuada sensibilidad la hicieron una prueba muy valiosa en ensayos de mutagenicidad habiendo sido primero establecida en médula ósea de roedores y posteriormente ampliándose a linfocitos humanos (Rooney y Czepulkowski, 1992). Asimismo, los EPC expresados en porcentaje de aparición con respecto a los ENC, son un buen indicador del tiempo requerido para que una célula eritropoietica nucleada pierda el núcleo y se convierta en un EPC y con esto evaluar la maduración y división de las células eritrocíticas (Vijayalaxmi et al., 1999).

## Micronúcleos y Campos Magnéticos

Una de las primeras investigaciones que trató de evaluar genotoxicidad producto de un efecto clastogénico ocasionado por los campos electromagnéticos es aquella llevada a cabo por Nordenson et al. (1984) que al medir daños en el material genético de 20 trabajadores de línea eléctricas; *in vivo* observaron un incremento significativo en rupturas cromosómicas comparado con el grupo control, pero, al exponer linfocitos en cultivo de sangre periférica a 50 Hz con  $1 \text{ mA/cm}^2$ , se encontró que no se inducía ningún daño al material genético.

Por otra parte, en un estudio llevado a cabo por Nordenson et al. (1988), para evaluar aberraciones cromosómicas y células micronucleadas en 38 trabajadores de una subestación eléctrica, se observó que al ser comparadas con un grupo control, los trabajadores expuestos presentaron un incremento significativo en aberraciones cromosómicas y células con MN.

De la misma manera, en otro estudio El Nahas y Oraby (1989), encontraron un incremento de los MN en médula ósea de ratones expuestos a campos eléctricos de frecuencia baja y éste incremento mostró dependencia de la dosis de campo aplicado.

Shimizu et al. (1991) reportan un incremento en la frecuencia de MN en células de mamíferos pretratadas con fluoruro de sodio y expuestas *in vitro* a campos magnéticos estáticos de 0.15 a 1.0 T con respecto a aquellas que solo fueron expuestas al fluoruro de sodio.

Sin embargo, Scarfi et al. (1991) informan que al comparar cultivos de linfocitos humanos de 16 donadores sanos se observó que el grupo expuesto a un campo magnético pulsante de frecuencia extremadamente baja presentó una frecuencia de MN similar a la del grupo control, asimismo un grupo expuesto al campo pulsante y con el mutágeno químico Mitomicina-C (MMC)

no resultó afectado en la frecuencia de MN inducidos por el fármaco en comparación con un grupo sin exposición al campo pero con el mutágeno.

Un análisis hecho por Valjus et al. (1993) a 27 trabajadores no fumadores de líneas eléctricas con una considerable exposición a CEM de 50 Hz y 27 no fumadores instaladores de líneas telefónicas como grupo de referencia, mostró que no hubo diferencias en cuanto a formación de cromátidas hermanas, índices de replicación o MN, pero el rango principal de linfocitos con ruptura en las cromátidas fue más alto entre los hombres expuestos que entre los del grupo de referencia.

En otro estudio Scarfi et al. (1993), utilizaron linfocitos humanos de 33 donadores sanos, y demostraron que la exposición a 50 Hz de CEM sinusoidales sobre un amplio rango de intensidades (0.15-10 kV/m en aire) no aumentaba la frecuencia espontánea de MN. Además, estos campos no afectan las mutaciones por MMC, sugiriendo que no producían ningún efecto sinérgico o antagónico.

Por otro lado, Scarfi et al. (1994) expusieron cultivos de linfocitos humanos de sangre periférica a un campo magnético pulsante de 50 Hz, buscando evaluar el efecto genotóxico con la inducción de MN, inducción de aberraciones cromosómicas e índice mitótico, y observaron que no hay efectos genotóxicos ni incremento en el índice mitótico en los cultivos expuestos comparados con el grupo control.

En otro estudio hecho por Tofani et al. (1995) se encontró que la exposición de linfocitos humanos a campos de 140  $\mu$ T a 50 Hz o a campos de 75 ó 150  $\mu$ T a 32 Hz, con el campo geomagnético anulado no mostraban un incremento en la formación de MN; la exposición al campo tampoco afectó a la genotoxicidad inducida por drogas. Asimismo, cuando no se anulaba el

campo geomagnético (42  $\mu$ T en paralelo al campo AC), no se observó un incremento significativo de células micronucleadas.

Al evaluar la frecuencia de MN inducida por MMC en células de hámster chino CHL/TU bajo el efecto de un campo magnético estático (CME) de 4.7 T *in vitro*, se observó una disminución significativa en el grupo expuesto al CME cada 6 hrs en células micronucleadas inducidas con MMC, estimada en los cultivos a las 18, 42, 54 y 66 hrs. La frecuencia más alta de células MN por MMC fue observada en los cultivos con un tiempo de 42 hrs y disminuyó gradualmente de la misma forma en el expuesto al CME así como en el control (Okonogi et al., 1996).

Por otra parte, pruebas realizadas por Scarfi et al. (1997) indican que campos pulsados de 1300  $\mu$ T de intensidad a 100 Hz incrementaron la formación de MN en linfocitos humanos expuestos durante 72 h.

En un estudio más reciente de Simkó et al. (1998) se observó que al estudiar la inducción de MN en células de fluido amniótico (CFA) humano *in vitro* expuestas continuamente a un campo magnético de frecuencia extremadamente baja (50 Hz y 1 mT) y a la vez, tratar de comparar la eficiencia de dos sistemas de exposición a diferentes tiempos (Bobina Helmholtz y Bobina Merrit), así como también comparar el efecto de la orientación del campo magnético con respecto a la superficie del medio de cultivo; encontraron que: hubo un incremento estadísticamente significativo con respecto al grupo control en frecuencia de MN en las células expuestas después de 72 h en exposición vertical en la Bobina Merrit, este mismo efecto no se logró establecer después de la exposición en la Bobina Helmholtz. Sin embargo, después de 24, 48 y 72 h ocurre el aumento en MN al tomar una geometría de exposición horizontal en la Bobina Helmholtz en comparación con los controles y, por otro lado, en la Bobina Merrit no se inducen efectos

genotóxicos con dicha exposición horizontal. Por otra parte, utilizando el químico N-acetil.p-aminofenol como inhibidor de los mecanismos de reparación de DNA no se observó en las CFA un incremento en la frecuencia de MN después de la exposición magnética. Por lo tanto, se concluye que el campo electromagnético no está estrictamente relacionado con mecanismos clastogénicos que inducen la formación de MN.

Recientemente, un grupo de investigadores estudiaron la inducción de MN así como la proliferación celular en linfocitos humanos de sangre periférica en cultivo, expuestos a un campo magnético sinusoidal de 50 Hz por 72 h a intensidades de 0.05 mT y concluyeron que no se encontró un efecto genotóxico a las densidades de flujo magnético utilizadas, pero, por otro lado, el índice de proliferación celular se considera afectado significativamente en todas las intensidades utilizadas (Scarfí et al. 1999).

Han resultado interesantes los estudios realizados no solo con campos electromagnéticos de 60 Hz, sino también frecuencias mayores como el llevado a cabo por Vijayalaxmi et al. (1999) con ratones expuestos a radiación electromagnética de banda ultra amplia (REMBUA), tratando de evaluar la frecuencia de MN en médula ósea en EPC, sin encontrar una diferencia en el porcentaje de EPC con respecto al control, asimismo, no observaron un aumento en la frecuencia de MN en el grupo expuesto con respecto al control, por lo cual, concluyen que no hay efecto genotóxico en células de médula ósea de ratones expuestos a REMBUA.

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Los campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia son potencialmente capaces de producir efectos genotóxicos y citotóxicos en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto genotóxico y citotóxico de los campos electromagnéticos oscilantes de 60 Hz de frecuencia a densidades de flujo magnético de 1.0, 1.5 y 2.0 mT en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar el efecto genotóxico de los CEM de 60 Hz de frecuencia a densidades de flujo magnético de 1.0, 1.5 y 2.0 mT a las 72 h de exposición mediante el uso de la prueba de micronúcleos en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.
2. Evaluar el efecto genotóxico de una exposición combinada de un CEM de 60 Hz de frecuencia a una densidad de flujo magnético de 2.0 mT más MMC (5 mg/Kg) a las 72 h de exposición mediante el uso de la prueba de micronúcleos en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.
- 3.- Evaluar el efecto genotóxico de los CEM de 60 Hz de frecuencia a una densidad de flujo magnético de 2.0 mT a los 10 días con 8 h diarias de exposición mediante el uso de la prueba de micronúcleos en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.

- 4.- Evaluar el efecto citotóxico de los CEM de 60 Hz de frecuencia a densidades de flujo magnético de 1.0, 1.5 y 2.0 mT a las 72 h de exposición mediante el % EPC en médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.
- 5.- Evaluar el efecto citotóxico de una exposición combinada de un CEM de 60 Hz de frecuencia a una densidad de flujo magnético de 2.0 mT más MMC (5 mg/Kg) a las 72 h de exposición mediante el % EPC en médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.
- 6.- Evaluar el efecto citotóxico de los CEM de 60 Hz de frecuencia a una densidad de flujo magnético de 2.0 mT a los 10 días 8 h diarias de exposición mediante el % EPC en médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## MATERIAL Y METODO

### Material Biológico.

Se utilizaron 54 ratones macho *Mus musculus* Línea BALB/c de entre 10 y 12 semanas de edad procedentes del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UANL.

### Reactivos.

Medio RPMI (GIBCO), Suero fisiológico (PiSA, Lote 119464), Heparina, Suero Fetal de Ternera (GIBCO), Mitomicina-C (SIGMA): Lote 41F-0239. Se disuelve el frasco de 0.5 grs en 5.0 ml de suero fisiológico estéril para una concentración final de 100 mg/ml, Colorante de Wright 0.3 % (CTR), Solución amortiguadora de Fosfatos pH 6.8 :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.06 M, 0.852 grs,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.06 M, 0.816 grs., Xilol puro (Baker), Alcohol etílico 70 % (Merck).

### Cristalería.

Tubos de vidrio para centrifuga de 15 ml de volumen, Pipetas Pasteur, Pipetas de vidrio de 5 ml., Bulbos de hule para pipeta, Cajas petri desechables, Portaobjetos y cubreobjetos.

### Material y equipo quirúrgico.

Estuche de disección, Algodón, Gasas, Jeringas de 100 U para Insulina con aguja (29 x 13 mm, PLASTIPAK), Jeringas de 3 ml (21 x 25 mm, PLASTIPAK).

### **Equipo de Laboratorio.**

Centrífuga DYNAC II Clay Adams No. serie 251086, Microscopio compuesto con objetivo de Inmersión (ZEISS, No. serie 1107J13877).

### **Diseño Experimental**

Las dosis de densidad de flujo magnético utilizadas fueron de: 1.0, 1.5, y 2.0 mT y además de una exposición combinada a un CEM de 2.0 mT más el mutágeno químico Mitomicina-C a una concentración de 5 mg/kg, el tiempo y tipo de exposición fue aguda de 72 hrs, cada uno comparado con un testigo negativo sin exposición a factores físicos o químicos y un testigo positivo tratado con MMC (5 mg/Kg). Asimismo, debido a la importancia en lo referente a exposición laboral a CEM se manejó una exposición fraccionada a una intensidad magnética de 2.0 mT, ya que ésta es considerada una densidad de flujo magnético presente en las subestaciones eléctricas (Benz y cols, 1987), simulando por un periodo de 10 días una exposición de ocho horas diarias de las 8:00 h a las 16:00 h al grupo tratamiento comparando los resultados con un testigo negativo; en este experimento no se utilizó un testigo positivo inductor de micronúcleos para evitar riesgos de muerte por intoxicación crónica a los animales expuestos. Debido a la ya mencionada relevancia de un experimento fraccionado, se realizaron dos repeticiones más de éste para un total de tres a los 6 y 12 meses después de llevar a cabo el primero. Para todos los tratamientos y testigos mencionados se manejaron un mínimo de tres repeticiones.

### **Tratamiento Magnético de los Animales.**

Los animales fueron expuestos a campos electromagnéticos oscilantes de 60 Hz, dentro de un solenoide como el especificado en el capítulo I de esta

investigación, en lo correspondiente al modelo de exposición *in vivo*. Las dosis utilizadas fueron 1.0, 1.5 y 2.0 mT.

### **Tratamiento del Testigo Positivo.**

Se seleccionó el compuesto químico Mitomicina-C como testigo positivo, debido al efecto clastogénico conocido que provoca en eritrocitos de médula ósea (Matter y Granwiler, 1975), la concentración elegida fue la de 5 mg/kg ya que es la de mayor poder de inducción de micronúcleos de acuerdo a Montes de Oca-Luna (1982).

Se procedió a una aplicación única del mutágeno suspendido en suero fisiológico como anteriormente se mencionó, inyectándolo de forma aséptica por vía intraperitoneal y se ajustó de acuerdo al peso de cada animal. La inyección se realizó momentos antes de exponer el grupo tratamiento a la estimulación magnética.

### **Obtención y procesamiento de médula ósea.**

Posterior a la exposición de los grupos, se llevó a cabo la prueba de micronúcleos y la de proliferación celular en EPC de médula ósea, utilizando la técnica clásica de Schmid (1975). Primero se procedió al sacrificio del animal el que se realizó por dislocación cervical, se extrajeron ambos fémures y se colocaron en cajas petri que contenían suero fisiológico y con gasa se retiró el exceso de músculo adherido al hueso. Posterior a esto se cortaron las epifisis de cada hueso femoral, de esta forma quedó a la vista el canal medular. Previo a esto, se preparó un tubo de centrifuga con 3.0 ml de medio RPMI más 10 gotas de heparina, se extrajo 2.0 ml de esta solución con ayuda de una jeringa con aguja, para introducirla al canal medular y extraer por

goteo la médula ósea y recibirla en el tubo de centrífuga. La muestra se suspendió y fue agitada suavemente para evitar coagulación.

Se procedió a centrifugar la muestra por cinco minutos a 1500 rpm, desechándose el sobrenadante y se agregó nuevo medio RPMI repitiéndose la operación tres veces para obtener una separación homogénea de la muestra. Finalmente se agregaron de cuatro a cinco gotas de suero fetal bovino a la pastilla celular y se resuspendió de nuevo. Una gota de la suspensión se colocó en un portaobjetos desengrasado y limpio para llevar a cabo la extensión de la muestra por barrido con ayuda de otro portaobjetos.

### **Tinción de Laminillas.**

Cada portaobjetos con la extensión celular se cubrió en forma horizontal con colorante Wright 0.3 % con 1 % de glicerina por un tiempo de 3.5 min. A continuación se añadió la solución amortiguadora de fosfatos sobre el colorante dejándolo reposar por 4.5 min. Se lavó en agua corriente y se secó al aire, posterior a esto se introdujo la laminilla en Xilol puro por 45 seg para aclarar la muestra.

### **Lectura de Laminillas.**

La lectura de las muestras se llevó a cabo en un microscopio compuesto con objetivo de inmersión (100 x) y se contabilizó la frecuencia de micronúcleos en 1000 eritrocitos policromáticos (EPC) considerando la aparición de estos cuerpos. Aparte, se contabilizaron los primeros 1000 eritrocitos vistos bajo el microscopio para obtener el número de EPC y de ENC, para de esta manera expresar el resultado en % EPC.

## **Análisis Estadístico.**

Los resultados de la prueba de micronúcleos y % EPC fueron analizados con la ayuda del paquete de computación SPSS versión 8.0 (Ferrán-Aranaz, 1996); Para el caso de la prueba de MN se obtuvo primero el tipo de distribución que presentaron los datos para cada experimento con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, al no presentar una distribución normal, a dichos datos se les aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para establecer si existía diferencia entre los testigos y tratamiento de cada uno de los experimentos. Para los diferentes grupos analizados, aquellos que presentaron diferencias significativas se sometieron a la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney para establecer cual grupo marca la diferencia. Para el caso del % EPC, se aplicó la transformación Arcoseno (Zar, 1996) y se convirtieron los resultados a radianes, y con esta transformación los valores tuvieron una distribución normal. A los datos transformados se les aplicó un análisis de varianza para establecer la diferencia entre cada tratamiento para cada experimento.

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESULTADOS

En la Tabla I se muestran los resultados del experimento de 1.0 mT de intensidad y 72 h de exposición. Se puede observar que resalta una homogeneidad entre el testigo negativo y el tratamiento ya que éstos no presentaron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, el mutágeno químico utilizado como control positivo mantiene el esperado efecto clastogénico induciendo la formación de MN. Se asume que, a esta intensidad magnética no se presentó un efecto genotóxico de los campos electromagnéticos, asimismo, no se observó un cambio en la proliferación celular al evaluarse por medio del % EPC.

Por otro lado, en el experimento de 1.5 mT de intensidad magnética y 72 h de exposición se encontró que al comparar el grupo tratamiento con el testigo negativo se presentaron diferencias significativas entre ellos, asimismo, se observó una diferencia entre el tratamiento y el testigo positivo como se esperaba. Por otra parte, la proliferación celular no se vio afectada ya que en esta variable no se presentaron diferencias al realizar el análisis de los resultados. (Tabla I).

Con respecto al análisis estadístico de los resultados del experimento de 2.0 mT de intensidad y 72 h de exposición denotó una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de micronúcleos entre los grupos testigo y el tratamiento, se observó que este último presentó un número mayor de aparición de estos cuerpos nucleares. Al evaluar la proliferación celular por medio del % EPC, se observó un ligero aumento en el tratamiento expuesto al CEM en relación con el testigo negativo, sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Tabla I).

EXPERIMENTO	MEDIA DE LA FRECUENCIA DE MN EN 1000 EPC ( $\pm$ DE)	MEDIA % EPC ( $\pm$ DE)
1.0 mT	2.00 (2.00) b	55.86 (3.97)
Testigo (-)	2.33 (0.58) b	51.16 (3.23)
Testigo (+)	10.00 (1.73) a	60.23 (7.22)
1.5 mT	5.33 (1.15) a,b	54.06 (6.37)
Testigo (-)	2.43 (0.54) b	52.18 (3.21)
Testigo (+)	11.00 (1.65) a	61.93 (6.98)
2.0 mT	25.33 (3.51) a,b	55.23 (2.22)
Testigo (-)	7.00 (2.65) b	53.76 (2.66)
Testigo (+)	19.67 (2.89) a	57.83 (1.26)
2.0 mT + MMC	8.33 (0.58) b	59.73 (4.80)
Testigo (-)	6.00 (1.73) b	64.73 (3.91)
Testigo (+)	13.00 (3.00) a	56.73 (3.80)

Tabla I. Resultados de la evaluación del efecto genotóxico y citotóxico al exponer a CEM de diferentes intensidades por 72 h eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c *in vivo* mediante la frecuencia de micronúcleos y % EPC. (a) presenta diferencia significativa con el testigo negativo ( $p < 0.05$ ), (b) presenta diferencia significativa con el testigo positivo ( $p < 0.05$ )

En lo que concierne al experimento de 2.0 mT de intensidad magnética por 72 h combinado con el mutágeno químico Mitomicina-C se observó un efecto antagónico del mutágeno con el CEM, ya que los animales tratados con los dos factores presentaron un menor índice de frecuencia de MN en comparación con el testigo positivo tratado solamente con el mutágeno y como se esperaba, éste a su vez mostró una diferencia significativa con el testigo negativo ( $p < 0.05$ ). En cuanto a la proliferación celular estimada por el % EPC, no se encontró ninguna diferencia entre los grupos (Tabla I).

Por su parte, la Tabla II muestra los valores promedio de la frecuencia de MN y % EPC de los experimentos fraccionados de 2.0 mT de intensidad magnética durante 10 días con 8 h diarias de exposición. En el primer experimento fraccionado, se observa un aumento en la frecuencia de micronúcleos al comparar los resultados del grupo tratamiento con el grupo testigo negativo. Debido a la ya mencionada importancia de éste tratamiento y a los resultados obtenidos en este primer experimento fraccionado, se replicó el mismo a los 6 meses y a los 12 meses, y se obtuvieron datos que avalan el hallazgo inicial en cuanto a un aumento en la frecuencia de micronúcleos inducida por un CEM de 2.0 mT de densidad de flujo magnético. Por otra parte, no se observó un cambio estadísticamente significativo en la proliferación celular al evaluarla por medio del % EPC en ninguno de los experimentos realizados.

EXPERIMENTO	MEDIA DE LA FRECUENCIA DE MN EN 1000 EPC (+ DE)	MEDIA % EPC (+ DE)
Inicial		
2.0 mT	13.33 (5.03)	54.69 (2.43)
Testigo (-)	4.33 (2.52)	53.67 (6.26)
Replicación a los 6 meses		
2.0 mT	15.67 (1.53)	61.80 (4.65)
Testigo (-)	5.67 (3.06)	56.20 (6.67)
Replicación a los 12 meses		
2.0 mT	11.00 (1.00)	53.23 (9.22)
Testigo (-)	4.33 (1.53)	59.27 (2.48)

Tabla II.- Resultados iniciales y replicados a los 6 y 12 meses de la evaluación del efecto genotóxico y citotóxico al exponer a CEM de 2.0 mT de intensidad por 10 días 8 h diarias eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c mediante la frecuencia de micronúcleos y % EPC, donde los grupos expuestos al CEM presentan diferencia significativa en comparación a los grupos testigo ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSION

En general, de acuerdo a los resultados del presente estudio, se observó un aumento en la frecuencia de micronúcleos de médula ósea de ratón inducida por los campos electromagnéticos a intensidades de 2.0 y 1.5 mT a las 72 horas, sin embargo, a la densidad de flujo magnético de 1.0 mT este efecto ya no se presentó. Asimismo, se encontró un efecto antagónico entre un CEM de 2.0 mT y el mutágeno Mitomicina-C. La dosis fraccionada que simula una exposición laboral a los CEM de 2.0 mT con una duración de 10 días y 8 horas diarias de exposición indicó, al igual que a las 72 h, un aumento en la frecuencia de MN. Por otra parte, no se encontró una variación estadísticamente significativa en la proliferación celular estimada por medio del % EPC en ninguno de los casos mencionados.

Los resultados experimentales obtenidos a una intensidad magnética de 1.5 y 2.0 mT concuerdan con los reportados por algunos autores tales como Nordenson et al. (1984 y 1988), El Nahas y Oraby (1989), Shimizu et al. (1991), Scarfi et al. (1997) y Simikó et al. (1998); quienes reportan un aumento en la frecuencia de MN. Es importante mencionar que todas las investigaciones anteriores fueron llevadas a cabo en diferentes tipos celulares, y también existe una variación en el tipo de campo utilizado y su intensidad.

Por el contrario, Scarfi et al. (1993, 1994 y 1999) mencionan que CEM sinusoidales y pulsantes no afectan la frecuencia de MN, esto es ratificado por Tofani et al. (1995) con CEM oscilantes. Las pruebas realizadas por Scarfi et al. (1993 y 1994) se pueden comparar con las hechas por Nordenson et al.

(1984) quienes al igual que ellos realizaron experimentos con cultivos de linfocitos de sangre periférica y sin registrar cambios en la frecuencia de MN. Estos resultados cambian notablemente al realizar las pruebas *in vivo*; de aquí que estas variaciones se interpretaron como diferencias de condiciones al realizar las pruebas *in vitro* e *in vivo*. Lo mismo ocurre con la investigación hecha por Tofani et al. (1995) en la cual aparte de la condición anterior, también se observó que se utilizó una intensidad de CEM menor (150  $\mu$ T).

Cabe destacar que en los resultados presentados por Scarfi et al. (1999) no se encontraron efectos genotóxicos de los campos magnéticos al exponer cultivos de linfocitos humanos, al igual que el presente trabajo, a la intensidad magnética de 1.0 mT no se presenta el efecto clastogénico observado en las dosis mayores. El trabajo realizado por ellos utiliza un rango de intensidad magnética de 0.05 a 1.0 mT. Por otra parte, estos autores mencionan un cambio en la proliferación celular que no se observó en este estudio por medio de la prueba de % EPC.

Otras investigaciones difieren en los resultados observados en la investigación, tal como aquellos obtenidos en la frecuencia de micronúcleos por Vijayalaxmi et al. (1999), sólo que ellos evaluaron el efecto con radiación electromagnética de banda ultra amplia (REMBUA); y esto podría ser explicado por el cambio de energía electromagnética, lo que también se ha observado en otros estudios como el de Prasad et al. (1984) quienes utilizaron resonancia magnética nuclear como fuente de exposición.

En cuanto al efecto antagónico encontrado entre un CEM de 2.0 mT y MMC (5 mg/Kg) se reportan resultados parecidos usando un campo magnético estático (CME) con MMC (Okonogi et al., 1996), donde se expusieron al CME células pretratadas con MMC y con esto se disminuía la frecuencia de aparición de MN en comparación con el grupo que solo tenía

MMC. La diferencia con presente estudio es que aquí los animales fueron expuestos simultáneamente a los dos factores.

En contraste, estudios realizados por Shimizu et al. (1991) mencionan un efecto sinérgico de los CME con el mutágeno químico fluoruro de sodio en la frecuencia de MN en células de mamíferos. Por el contrario, Scarfi et al. (1991 y 1993) no observaron efectos sinérgicos o antagónicos tanto de un campo magnético pulsante como de un CEM y el mutágeno químico MMC. Sin embargo, Heredia-Rojas et al. (2001) al trabajar con linfocitos humanos en cultivo y evaluar proliferación celular a la misma dosis magnética utilizada aquí y combinado con MMC encontraron un efecto antagónico de los CEM con la MMC, esto puede atribuirse a que ocurran cambios fisicoquímicos en la MMC al igual que ocurren con otras moléculas de origen biológico que se encuentran bajo la influencia de un CEM (Mitnik et al., 1995).

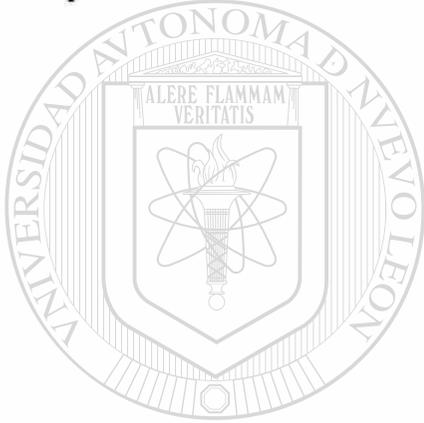
En lo que concierne al experimento de exposición fraccionada que simuló condiciones laborales (10 días, 8 h diarias a 2.0 mT) en donde se observó un aumento en la frecuencia de MN, esto concuerda con lo informado por Nordenson et al. (1984 y 1988) en trabajadores de líneas eléctricas. Por el contrario, un análisis realizado por Valjus et al. (1993) menciona no encontrar diferencias en la frecuencia de MN de trabajadores de líneas eléctricas, sin embargo, se reporta que ocurre un rompimiento de cromátides lo cual se vislumbra como una alteración clastogénica atribuida al campo magnético.

Al analizar la proliferación celular bajo estas condiciones por medio del % EPC se encontró que no ocurren cambios estadísticamente significativos, lo cual coincide con lo reportado por Vijayalaxmi et al. (1999) aunque ellos utilizaron REMBUA.

Es importante observar las diferencias encontradas por Simkó et al. (1998) en lo referente a la geometría de exposición a un campo magnético, así

como también el tipo de bobina utilizado para tal fin; ya que este experimento marca una diferencia clara entre cada investigación publicada, por lo cual, debe buscarse la estandarización de los métodos de exposición a CEM, así como el sistema inductor del campo, de esta forma estos investigadores tratan de dar una explicación a la variabilidad de los resultados obtenidos por cada investigador en lo referente al efecto clastogénico de los CEM.

En vista de estos resultados controversiales será necesaria la realización de más estudios al respecto tratando de controlar al máximo las variables experimentales.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CONCLUSIONES

Ben

1. La exposición *in vivo* a campos electromagnéticos de 60Hz de frecuencia a 1.5 y 2.0 mT de densidad de flujo magnético durante 72 h produce un efecto genotóxico en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c al evaluarse por medio de la prueba de micronúcleos.
2. Los campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia y 2.0 mT de densidad de flujo magnético a las 72 h tienen un efecto antagónico sobre el efecto genotóxico de la Mitomicina-C en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c al evaluarse por medio de la prueba de micronúcleos.
3. La exposición fraccionada a campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia y 2.0 mT de densidad de flujo magnético durante un período de 10 días con 8 h diarias de influencia magnética produce un efecto genotóxico en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c al evaluarse por medio de la prueba de micronúcleos.
4. Los campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia y 1.0, 1.5 y 2.0 mT de densidad de flujo magnético no indujeron efecto citotóxico en eritrocitos de médula ósea de ratón *Mus musculus* Línea BALB/c al evaluarse por medio de la prueba de % EPC.

## LITERATURA CITADA

- Benz D.R., Carsten A.R., Baum J.W. and Kuehner A.V. (1987) Mutagenicity and toxicity of 60 Hz magnetic and electric fields: New York State Power Lines Project. Associates Universities, Inc. Wadsworth Center for Laboratories and Research Albany, NY. pag.3.
- Boller K. and Schmid W. (1970) Chemische mutagenese beim sauger, das knochenmark deschinesischen hamsters als *in vivo* test system hamatologische befunde nach behandlung mitnitrosimidon. Human Genetik. 2:34-54.
- El Nahas S. and Oraby H.A. (1989) Micronuclei formation in somatic cells of mice exposed to 50 Hz electric fields. Environ. and Mol. Mutagen. 13: 107-111.
- Ferran-Aranaz M. (1996) SPSS para Windows. Editorial Mc Graw-Hill. Primera Edición. pp.560.
- Goodman R. and Blank M. (1997) Do electromagnetic fields interact directly with DNA?. Bioelectromagnetics 18: 111-115.
- Heredia-Rojas J.A., Rodríguez de la Fuente A.O., Velazco-Campos M.R., Leal-Garza C.H., Rodríguez-Flores L.E., De la Fuente Cortez B. (2001). Cytological effects of 60 Hz magnetic fields on human lymphocytes *in vitro*. Sister chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic rate. Bioelectromagnetics 22: 145-149.
- Matter B.E. and Grauwiler J. (1975) The micronucleus test as a simple model, *in vivo* for the evaluation of drug-induced chromosome aberrations: comparative studies with thirteen compounds. Mutat. Res. 29: 198-199.
- Mitnik L., Heller C., Prost J. and Viogy J.L. (1995) Segregation in DNA

solutions induced by electric fields. *Science*. 267: 219-222.

Montes de Oca-Luna R. (1982) Micronucleos e intercambio entre cromátides hermanas, como pruebas indicadoras de la acción mutagénica de sustancias químicas. Tesis *Inédita*. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 60 pp.

Nordenson I., Milt K.H., Nordstrom S., Sweins A. and Birke E. (1984) Clastogenic effects in human lymphocytes of power frequency electric fields: *in vivo* and *in vitro* studies. *Radiat. Environ. Biophys.* 23:191-201.

Nordenson I., Milt K.H., Ostman U. and Ljunberg H. (1988) Chromosomal effects on lymphocytes of 400 kV substation workers. *Radiat. Environ. Biophys.* 27: 39-47.

Okonogi H., Nakagawa M. and Tsuji Y. (1996) The effects of a 4,7 tesla static magnetic field on the frequency of micronucleated cells induced by mitomycin C. *Tohoku J Exp Med.* 180:209-215.

Prasad N., Bushong S.C., Thornby J.I., Bryan R.N., Hazlewood C.F. and Harrell J.E. (1984) Effect of nuclear magnetic resonance on chromosomes of mouse bone marrow cells. *Magn. Reson. Imaging.* 2: 37-39.

Rooney D.E. and Czepulkowski B.H. (1992) Human cytogenetics. A practical approach. Vol. II Oxford University Press. N.Y. USA.

Scarfi M.R., Bersani F., Cossarizza A., Monti D., Castellani G., Cadossi R., Franceschetti G. and Franceschi C. (1991) Spontaneous and mitomycin-c induced micronuclei in human lymphocytes exposed to extremely low frequency pulsed magnetic fields. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 176:194-200.

Scarfi M.R., Bersani F., Cossarizza A., Monti D., Zeni O., Lioi M.B., Franceschetti G., Capri M. and Franceschi C. (1993) 50 Hz AC sinusoidal electric fields do not exert genotoxic effects (micronucleus formation) in human lymphocytes. *Radiat. Res.* 135: 64-68.

Scarfi M.R., Lioi M.B., Zeni O., Franceschetti G., Franceschi C., and Bersani F. (1994) Lack of chromosomal aberration and micronucleus induction in human lymphocytes exposed to pulsed magnetic fields. *Mutat. Res.* 306: 129-133.

Scarfi M.R., Lioi M.B., Zeni O., Franceschetti G., Franceschi C. and Bersani F. (1997) Exposure to 100 Hz pulsed magnetic fields increases micronucleus frequency and cell proliferation in human lymphocytes. *Bioelectrochem. Bioenerget.* 43:77-81.

Scarfi M.R., Lioi M.B., Zeni O., Della-Noce M., Franceschi C. and Bersani F. (1999) Micronucleus frequency and cell proliferation in human lymphocytes exposed to 50 Hz sinusoidal magnetic fields. *Health Phys* 76:244-250.

---

Schmid W. (1975). The micronucleus test. *Mutat. Res.* 31:9-15.

Shimizu H., Li J., Suzuki Y. and Seki Y. (1991) The effects of magnetic field on the micronucleus inducibility of sodium fluoride. *Mutat. Res.* 252:107-110.

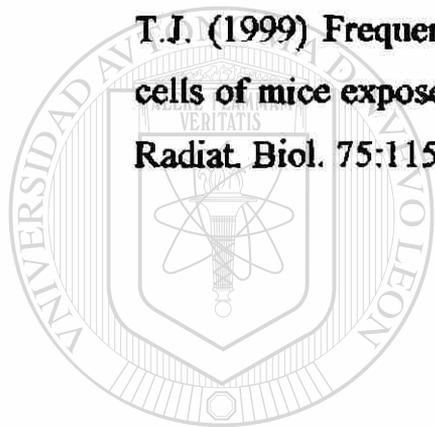
Simkó M, Kriehuber R. and Lange S. (1998) Micronucleus formation in human amnion cells after to 50 Hz MF applied horizontally and vertically. *Mutat. Res.* 418:101-111.

Strauss J.K. and Maher L.J. (1994) DNA bending by assymetric phosphate neutralization. *Science* 266: 1829-1834.

Tofani S., Ferrara A., Anglesio L. and Gilli G. (1995) Evidence for genotoxic effect of resonant ELF magnetic fields. *Bioelectrochem Bioenerg.* 36:9-13.

Valjus J., Norppa H., Jarventaus H., Sorsa M., Nykyri E., Salomaa S., Jarvinen P. and Kajander J. (1993) Analysis of chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei among power linesmen with long-term exposure to 50-Hz electromagnetic fields. *Radiat. Environ. Biophys.* 32: 325-336.

Vijayalaxmi R., Seaman L., Belt M.L., Doyle J.M., Mathur S.P. and Prihoda T.J. (1999) Frequency of micronuclei in the blood and bone marrow cells of mice exposed to ultra-wideband electromagnetic radiation. *Int J Radiat. Biol.* 75:115-120.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



# CAPÍTULO V

**Efecto de Campos Electromagnéticos  
de 60 Hz en Células espermatozógenicas  
de Ratón (*Mus musculus* Línea CD-1)**

*in vivo*

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## ANTECEDENTES

Los estudios sobre el potencial genotóxico o citotóxico de campos electromagnéticos (CEM) se han realizado mayormente en células somáticas (Murphy et al. 1983; Juutilainen y Lang, 1997; McCann et al. 1998), sin embargo las células meióticas son también un buen modelo para el estudio del efecto de estos campos, además de ofrecer información sobre el riesgo reproductivo de los mismos (De Vita et al., 1995; Furuya et al., 1998).

En este capítulo se presentan los resultados acerca del efecto de CEM de 2.0 mT sobre células espermatogénicas de ratones expuestos *in vivo*. Los efectos evaluados incluyeron las aberraciones en cromosomas meióticos de espermatoцитos y morfología de espermatozoides.

**Las células espermatogénicas como modelo de estudio de agentes genotóxicos.**

Las evidencias más directas para detectar agentes ambientales con potencial mutagénico provienen de estudios epidemiológicos. Sin embargo, este tipo de investigaciones son muy costosas y los resultados que se obtienen son retrospectivos; es decir, se observan solamente después que las poblaciones han estado en contacto con un agente determinado. Por esto, desde hace algunos años se han buscado modelos biológicos que *in vivo* o *in vitro*, sean capaces de predecir el potencial mutagénico de agentes físicos y químicos a los cuales los seres humanos pueden estar expuestos accidental, ocupacional o terapéuticamente (Salazar y Herrera-Montalvo, 1992).

Un buen ejemplo de modelo de estudio adecuado para evaluar agentes mutagénicos es el proceso espermatogénico, el cual está constituido de diferentes etapas caracterizadas por el tipo celular presente. Las

espermatogonias constituyen una población permanente que incluye a su vez una población transitoria formada por las etapas de mayor diferenciación de las células germinales. Las espermatogonias subsecuentemente se transformarán en espermatoцитos primarios, los cuales por divisiones meióticas darán origen a los espermatoцитos secundarios y espermátides que se diferenciarán finalmente en espermatozoides. (Leonard, 1973). Tanto las espermatogonias como los espermatoцитos son los tipos celulares más utilizados para el análisis cromosómico (Adler, 1982).

La observación de cromosomas meióticos en espermatoцитos de machos que han sido tratados con agentes mutagénicos es un método simple y demostrativo para probar rutinariamente el potencial mutagénico de diversos factores en células de mamíferos (Leonard, 1973).

Como ya se mencionó anteriormente, durante el proceso espermatogénico la población celular se encuentra en transición hacia fases más diferenciadas, de esta forma las células en un estadio A pasan obligatoriamente a un estadio B, con lo cual progresan a través de la meiosis. El daño a la población celular puede alterar la proporción o tasa a la cual las células pasan de un estadio a otro (Lyon, 1981). El arresto en una fase dada es entonces, indicativo de fallas en la espermatogénesis (Chehval et al., 1977).

Por su parte, la célula espermática madura proporciona una forma rápida y sencilla de cuantificar los efectos de agentes ambientales sobre células germinales (Wyrobeck, 1979). En el ratón, numerosos mutágenos, teratógenos y carcinógenos han demostrado inducir aumentos marcados en la fracción de espermatozoides con anomalías en la cabeza (Wyrobeck et al., 1975). Al evaluar la relación entre los cambios en la morfología del espermatozoide y la mutagenicidad de diversos agentes, se ha encontrado que la prueba de morfología de espermatozoides es altamente sensible a los

mutágenos de células germinales (Wyrobeck et al., 1983). Evidencias preliminares sugieren que estos cambios pueden ser transmitidos a las siguientes generaciones (Hugengoltz y Bruce, 1983).

## **Meiosis**

La producción de descendencia por medio de la reproducción sexual implica la unión de dos células, cada una con un juego completo de información cromosómica. La duplicación del número cromosómico al momento de la fecundación debe compensarse con una reducción equivalente en el número de cromosomas en un estadio previo a la formación de los gametos. El proceso por medio del cual se reduce el número cromosómico, es decir, las células que se forman contienen solo un miembro de cada par de cromosomas homólogos, recibe el nombre de *meiosis*.

### **La división celular por medio de meiosis (Karp, 1987)**

El preámbulo de la meiosis, como en el caso de cualquier división celular incluye la replicación del DNA. La profase meiótica (Fig. V.1, A-D) es particularmente larga, durando en la mayoría de los mamíferos 3 semanas. El primer subestadio de la profase I es el *leptoteno* (Fig. V.1, A), y se caracteriza por la gradual aparición de los cromosomas al microscopio de luz. La condensación continúa a través del leptoteno a manera de cuentas de rosario. Las regiones de esta estructura que se ensanchan reciben el nombre de cromómeros y se supone que representan las regiones de los cromosomas que han sufrido algún enrollamiento relacionado con sus segmentos no cromoméricos. Otra característica importante del cromosoma leptoténico es la presencia de un componente proteínáceo lateral que corre a lo largo de cada

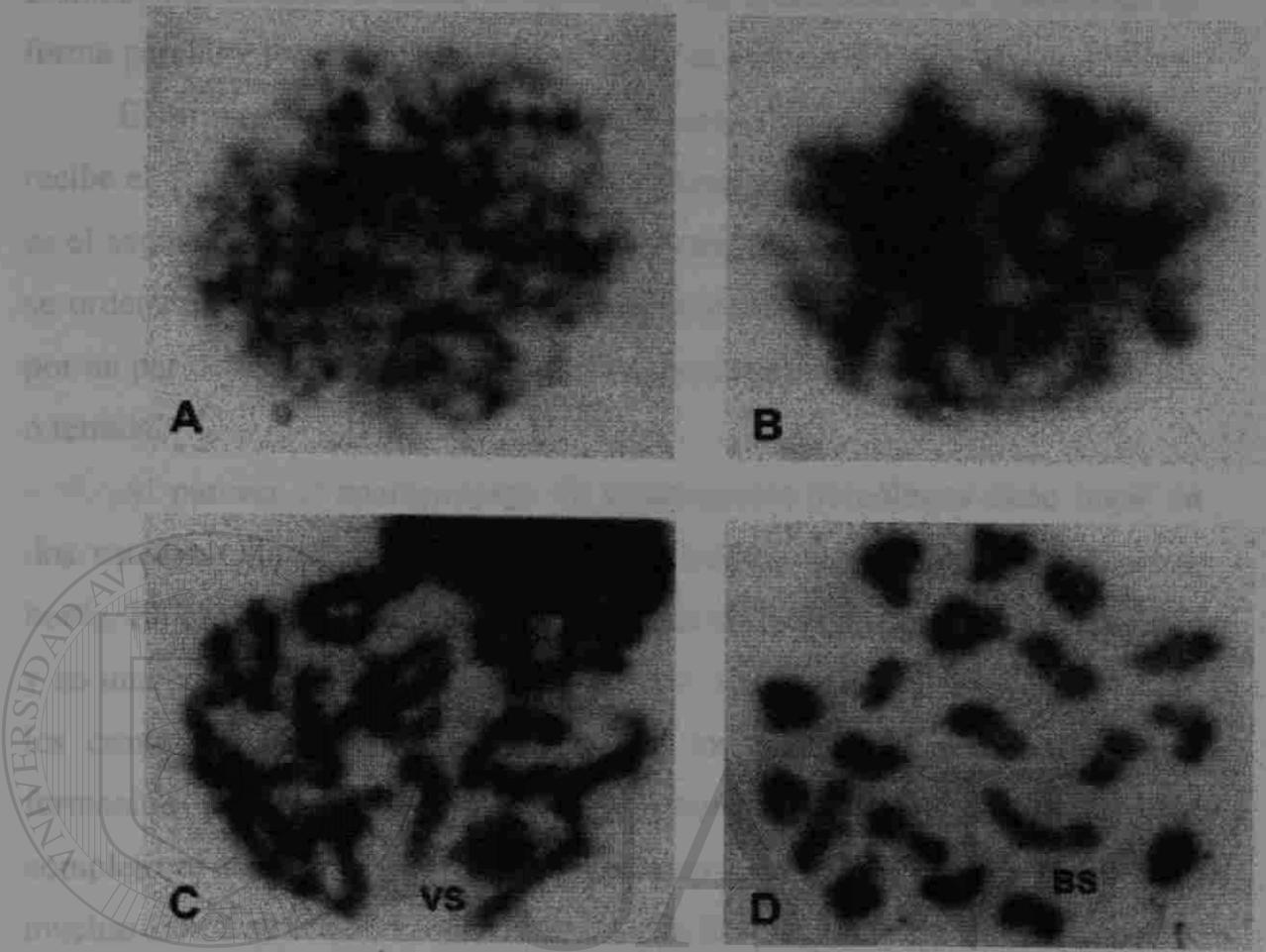


Figura V.1. Profase meiótica. Es la fase de mayor duración y por ello más fácil de encontrar de la meiosis. En el ratón se observan cuatro etapas principales: leptoteno (A), en esta etapa los cromosomas son evidentes como finas hebras de material cromatínico con una distribución al azar. Durante la etapa de cigoteno (B) las hebras de cromatina se aparean con sus homólogos, hacia el final de esta etapa los cromosomas X y Y, que no son homólogos se compactan en un cuerpo denso llamado vesícula sexual (VS). Es entonces cuando las células entran a la etapa más identificable de la profase, el paquiteno (C) donde la cromatina se vuelve menos condensada y separada. Durante la etapa final de la profase, llamada diacinesis (D), los cromosomas se acortan y condensan. Los quiasmas en su terminalización producen configuraciones circulares o cuadrirradiales. El bivalente sexual (BS) usualmente presenta una configuración característica de signo de exclamación.

cromosoma. Cuando termina el leptoteno, los cromosomas se condensan en forma parcial y los cromosomas homólogos se asocian con facilidad.

El proceso por medio del cual se unen los cromosomas homólogos recibe el nombre de *sinapsis* y tiene lugar durante el cigoteno (Fig.V.1, B) que es el segundo subestadio de la profase I. Durante la sinapsis los cromosomas se ordenan dentro de los confines del espacio nuclear. El complejo formado por un par de cromosomas homólogos recibe el nombre de complejo bivalente o tétrada.

Al parecer el apareamiento de cromosomas homólogos tiene lugar en dos estadios. En el primero, los cromosomas quedan alineados de manera burda. En el segundo estadio, los cromosomas se aproximan más estrechamente y en una precisa asociación punto por punto. Las micrografías electrónicas de los cromosomas en sinapsis indican que los procesos tienen lugar por la formación de una figura llamada el *complejo sinaptonémico* (CS). Este complejo es una estructura escalonada compuesta por tres barras paralelas y muchas fibras atravesadas que conectan a la fibra central con las dos laterales; las barras del CS simplemente participan en la estabilización de la condición de apareamiento.

El final de la sinapsis marca la terminación del cigoteno y el inicio del siguiente estadio de la profase I, el *paquiteno* (Fig.V.1, C). El paquiteno es el primero de los subestadios de la profase que tiende a ser extraordinariamente largo. Durante este lapso, los homólogos se mantienen juntos estrechamente debido al complejo sinaptonémico.

El inicio del *diploteno*, el siguiente subestadio de la profase I de la meiosis, se reconoce por la disolución del CS y la tendencia de los cromosomas homólogos de los bivalentes (tétradas) a separarse de alguna manera, conforme se separan los cromosomas homólogos puede observarse

que permanecen unidos en puntos específicos que reciben el nombre de *quiasmas*. Los quiasmas generalmente se localizan dentro del cromosoma en sitios donde ha tenido lugar el intercambio genético durante el entrecruzamiento. Este sub-estadio suele ser incóspicuo en el ratón y por lo tanto no se ilustra en la figura V.1.

El subestadio final de la profase I de la meiosis recibe el nombre de *diacinesis* (Fig.V.1, D), y prepara a los cromosomas para unirse con la fibras del huso meiótico. En muchos casos, los quiasmas desaparecen por deslizamiento a lo largo del cromosoma por un proceso que recibe el nombre de *terminalización*. La diacinesis termina con la desaparición de los nucleólos, la degradación de la envoltura nuclear y la movilización de las tétradas hacia la placa de metafase.

La *Metafase I* encuentra a cada par de cromosomas homólogos orientados de tal manera que ambas cromátidas de un cromosoma se encuentran dispuestas hacia el mismo polo.

Durante la anafase I, los cromosomas homólogos se separan. Puesto que no existe interacción entre una tétrada y la otra, los cromosomas materno y paterno de cada tétrada se segregan en dos células hijas (espermatoцитos secundarios u ovocitos secundarios). La anafase I es el fenómeno citológico que corresponde a la distribución independiente en las leyes de Mendel.

La *Telofase I* de la meiosis produce cambios menos dramáticos que la telofase de la mitosis. Puesto que los cromosomas por lo general no se revierten a una condición de verdadera *interfase*. Aunque en muchos casos los cromosomas llegan a sufrir alguna dispersión, no alcanzan el estado de extensión extrema como sucede en el núcleo interfásico.

El estadio entre las dos divisiones meióticas recibe el nombre de *intercinesis* y generalmente es de corta duración. Estas células se caracterizan

por tener una cantidad diploide de DNA nuclear y un número haploide de cromosomas, puesto que a cada cromosoma todavía lo representa un par de cromátidas unidas.

La *Profase II* sigue a la *intercinesis* y es una profase mucho más simple que su predecesora. Los cromosomas se recondensan y se alinean en el plano ecuatorial y quedan unidos con juegos opuestos de fibras del huso. Las cromátidas entonces quedan separadas en la *anafase II*, como cada uno de los miembros de un par de cinetócoros hermanos, los cuales quedan separados uno del otro. Los productos de la *meiosis normal* son células haploides tanto en la cantidad de DNA nuclear como en el número de cromosomas.

De acuerdo a Loidl (1994), un aspecto sumamente importante de la *meiosis* es la *recombinación genética*, la cual produce progenie con nuevas combinaciones de características heredables que pueden ser probadas por *selección natural*. La *recombinación en meiosis* es un importante factor en la *evolución*. La fuente primaria de *recombinación meiótica* son organismos con un número haploide de cromosomas. La segunda fuente es el *entrecruzamiento*, el cual es la *recombinación intracromosomal de tipo intergénico*. Desde el punto de vista citológico, la función primaria del *entrecruzamiento* es proveer *quiasmas* como contactos estables entre cromosomas homólogos en orden para asegurar su *segregación regular*.

### **Consecuencias de las alteraciones en células espermatogénicas**

Las mutaciones genéticas pueden ser transmitidas a la progenie a través de las células germinales lo cual se considera un riesgo serio (Leonard, 1973). Por otra parte, las mutaciones en las células germinales pueden causar desarrollo anormal del feto, resultando en aborto prematuro, muerte fetal, muerte al nacimiento o descendencia con desarrollo anormal. Más

preocupante aún es que las mutaciones germinales pueden afectar el desarrollo del individuo en una etapa posterior o en tejidos específicos, resultando en pubertad anormal, enfermedades neurológicas, muerte prematura o pueden dar origen a los llamados errores innatos del metabolismo. Por otro lado, una mutación en las células germinales puede ser letal a la siguiente generación debido a que las células diploides pueden contener una combinación no viable de cromosomas mutados, por ejemplo un cromosoma de una translocación puede haber perdido importante información y en cambio haber ganado información innecesaria (Freese, 1971).

### **Efectos de radiación electromagnética de alta frecuencia sobre células germinales.**

El modelo de las células germinales reproductoras ha sido utilizado para evaluar el efecto genotóxico o citotóxico de radiaciones electromagnéticas de alta frecuencia de tipo ionizante, por ejemplo con rayos X, así encontramos que Kirk y Lyon (1984) estudiaron la inducción de malformaciones congénitas entre la prole de ratones machos tratados con rayos X en etapas pre-meióticas y post-meióticas. Observaron un incremento en letalidad dominante y en la pérdida de embriones en la etapa de preimplantación. Además hubo una clara inducción de malformaciones congénitas en las etapas post-meióticas.

Por otro lado, Matsuda et al. (1989) observaron las aberraciones cromosómicas inducidas en la primera metafase de óvulos fertilizados con espermatozoides recuperados de células espermiogénicas que fueron irradiadas con rayos X y tratadas con Mitomicina-C (MMC) en varios estadios, usando técnicas de fertilización *in vitro* y cultivo de embriones. La frecuencia de aberraciones cromosómicas observadas fue marcadamente alta en los óvulos

expuestos a rayos X de 4 grays de 16 a 20 días, no así en los expuestos de 0 a 8 días. Las aberraciones inducidas fueron predominantemente en la estructura de los cromosomas; brechas, rupturas y fragmentos o conformación en anillo.

También han sido estudiados los efectos de las microondas (otro tipo de radiación electromagnética de alta frecuencia, pero no ionizante) sobre las células espermatozógenas, específicamente en cromosomas meióticos de ratón, evaluado por la presencia de aberraciones cromosómicas, uno de estos trabajos fue realizado por Manikowska et al. (1978) con microondas pulsantes de 9.4 GHz, en él reportan perturbaciones en la meiosis consistentes en el aumento de translocaciones y univalentes en metafase. Resultados similares fueron observados con microondas de 2.45 GHz (Manikowska-Czerska et al., 1985), de acuerdo a estos autores sus hallazgos indican interferencia con el desarrollo normal de la espermatogénesis. Sin embargo, Beechey et al. (1986) realizaron una réplica de este estudio y aunque encontraron un efecto similar, aclaran que este fue menos severo que el reportado por Manikowska-Czerska et al. (1985), y atribuyen el efecto observado en su estudio, al aumento en la temperatura provocado por la exposición (efecto térmico) y no a la exposición en sí.

## DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

### **Efecto de los campos magnéticos, eléctricos y electromagnéticos en células germinales.**

Se han encontrado pocos informes acerca del potencial genotóxico o citotóxico de los campos magnéticos, eléctricos y electromagnéticos en células germinales, de los trabajos existentes las metodologías empleadas suelen ser muy diversas. Las observaciones más indirectas provienen de estudios realizados sobre embriogénesis, ya que los parámetros analizados (porcentaje de implantación de embriones, letalidad fetal total, número y peso de los fetos

vivos, letalidad dominante, etc.) proveen información sobre la calidad genética de los espermatozoides (y por consiguiente de las células espermatogénicas en sí) involucrados en los procesos reproductivos. Kokoreva et al. (1990) encontraron que la exposición crónica a campos magnéticos constantes de 0.4 T durante el proceso espermatogénico en ratas, provocaba un incremento pequeño pero significativo en la letalidad de fetos preimplantados, lo cual puede indicar una mayor frecuencia de mutaciones letales en los gametos. Observaron además que los espermatozoides maduros son resistentes a una exposición aguda al campo magnético y que esta exposición no causa mutaciones en los gametos.

Por otro lado Kowalzuk y Saunders (1990) determinaron los efectos de los campos eléctricos sobre embriogénesis empleando la prueba de letales dominantes, para esto expusieron ratones machos continuamente durante dos semanas a un campo eléctrico vertical de 50 Hz a 20 kV/m. Las densidades de corriente inducidas se estimaron en cerca de 100 mA/m<sup>2</sup>. No se encontraron diferencias significativas en función de la exposición, en cuanto a los porcentajes de fertilización y sobrevivencia de embriones después de la implantación. Por su parte Benz et al. (1987) emplearon también esta prueba para determinar el posible efecto de la exposición a los campos magnéticos y eléctricos producidos por las líneas de alto voltaje (60 Hz, 10 gauss - 50 kV/m y 3 gauss - 15 kV/m) sobre las células germinales, sus resultados no muestran efectos significativos sobre parámetros como número de mutaciones letales dominantes, embriones viables y muertes prematuras.

Se han empleado análisis morfológicos del epitelio seminífero para detectar el posible efecto de los campos electromagnéticos sobre tejido. Galaktionova et al. (1985), examinaron citológicamente el epitelio espermatogénico de ratones expuestos durante 30 días a campos magnéticos

constantes de 1.6 T y observaron la destrucción de elementos celulares maduros, debido a lo cual la cantidad total de células espermatoogénicas fue significativamente menor durante e inmediatamente después de la exposición. Asimismo, Ivanova y Kartashev (1991) observaron la supresión de la espermatoogénesis en ratón bajo la influencia crónica de un campo eléctrico alternante (40 kV/m, 50 Hz), como resultado de alteraciones en espermatoogonias y espermátides. Otros estudios realizados por Lokhmatova y Pastukhova (1993) y por Lokhmatova (1993) han reportado un efecto degenerativo sobre el epitelio espermatoogénico a consecuencia de la exposición de ratones a campos eléctricos de 17 KHz (100 kV/m), algunas de las observaciones incluyeron la descamación de las capas del epitelio germinativo, reducción del número de células productoras de testosterona y cambios microcirculatorios, ambos estudios sugieren un posible efecto acelerador de envejecimiento reproductivo.

Para determinar los efectos celulares de los campos magnéticos de frecuencia extremadamente baja en la espermatoogénesis del ratón se ha empleado también citometría de flujo del DNA, técnica que permite analizar la distribución del contenido de DNA en los diferentes tipos celulares involucrados en la espermatoogénesis. De Vita et al. (1995) expusieron ratones macho híbridos a un campo de 50 Hz, con una intensidad de 1.7 mT. En los grupos de 4 horas de exposición se halló un descenso estadísticamente significativo en las espermátides elongadas después de 28 días del tratamiento. Este cambio sugiere un posible efecto citotóxico y/o citostático. También Furuya et al. (1998) emplearon este método, esta vez con campos magnéticos de 50 Hz y 1.0 mT durante diferentes períodos de tiempo, y encontraron evidencia de un posible efecto en la diferenciación y proliferación de las espermatoogonias, al encontrar variaciones en la distribución de los distintos

tipos celulares involucrados en la espermatogénesis (espermatogonias, espermocitos primarios y espermátides) y en la concentración de testosterona sérica.

Otros estudios se han enfocado a esclarecer los posibles efectos adversos de la exposición a campos magnéticos provenientes de dispositivos de diagnóstico, como la Resonancia Magnética (RM), Withers et al. (1985) analizaron el efecto citotóxico de un campo magnético de 0.3 T, originado por un dispositivo de imagen de RM, sobre diferentes clases de células espermatogénicas de ratón. Sus resultados no mostraron efectos adversos a consecuencias del empleo de estos dispositivos de diagnóstico. En contraste, otro estudio realizado por Narra et al. (1996), muestra que la exposición a un campo magnético de 1.5 T generado por RM parece causar algunos efectos deletéreos sobre espermatogénesis y embriogénesis en el ratón, ya que se encontró una disminución en conteo espermático y un efecto importante en el desarrollo y preimplantación de embriones.

También ha sido analizada la posible relación entre la exposición a campos magnéticos, debida a actividades laborales y subfertilidad masculina, definida ésta por parámetros como morfología, motilidad y concentración espermática (Lundsberg et al., 1995). Los resultados obtenidos no encuentran asociación entre la exposición a campos magnéticos menores de 0.3  $\mu$ T y efectos deletéreos sobre la salud reproductiva masculina.

Tateno et al. (1998), evaluaron el efecto clastogénico de los CEM (50 Hz; 20 mT) sobre cromosomas espermáticos humanos; no observaron diferencias significativas en la incidencia de espermatozoides con anomalías cromosómicas entre el grupo expuesto y el grupo control. Los tipos de aberraciones observadas y sus incidencias fueron similares en ambos grupos.

Por otra parte, Stankevich et al. (1981) expusieron ratones blancos 6 horas diarias durante 2 meses a campos eléctricos estáticos de 15-70 kV/m y observaron incrementos significativos en translocaciones y otras anomalías en cromosomas meióticos.

Viñals-Bellido, (1990) estudió los efectos de los campos magnéticos pulsantes de baja frecuencia sobre las células de la línea seminal de la rata albina y encontró alteraciones morfológicas a nivel de los túbulos seminíferos y variaciones en los niveles de hormonas en la sangre, al comparar las ratas tratadas con las no tratadas, además observó una disminución en el número de espermatogonias del tipo A, de espermátocitos leptoténicos y de espermátocitos paquiténicos.

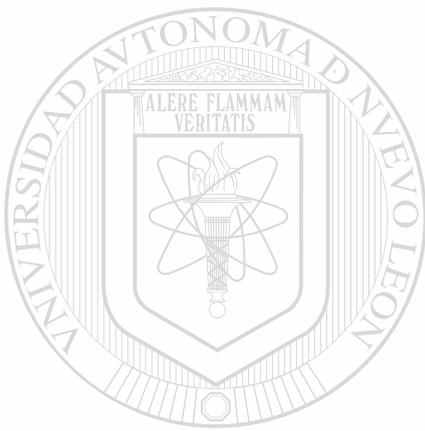
Como parte de un estudio muy amplio encaminado a esclarecer los posibles efectos de imanes comerciales con aplicaciones terapéuticas (Terapión, Valencia, España), Tablado (1996) examinó la posible influencia de los campos magnéticos estáticos producidos por dicho imán (0.7 T), en el desarrollo del testículo y el epidimio y sobre la formación de los espermatozoides en el ratón; encontró que al parecer los campos magnéticos generados por el imán Terapión-Plus no alteran los procesos mencionados. ®

En otro estudio relacionado al anterior, se verificaron parámetros cinemáticos de espermatozoides de ratón (motilidad y patrones de desplazamiento). Aunque fueron observados cambios en motilidad y el patrón de desplazamiento en los grupos tratados con campos magnéticos, los procesos de iniciación de la motilidad espermática y de los patrones de desplazamiento no fueron afectados por el tratamiento magnético (0.7 T), además la producción espermática no presentó cambios (Tablado et al., 1996).

Más recientemente este mismo grupo de investigadores (Tablado et al., 1998), realizaron un estudio sobre los posibles efectos de este imán comercial

(Terapión-Plus) sobre las características morfológicas y morfométricas de los espermatozoides de ratón. De acuerdo a sus resultados, estos parámetros no fueron afectados por la exposición a campos magnéticos estáticos (0.7 T), aunque mencionan un posible efecto en el proceso espermatogénico.

En la literatura revisada hasta el momento, no se encontró un estudio similar a este; en donde se considerarán los aspectos cromosómicos y morfológicos en conjunto en células espermáticas de ratones expuestos *in vivo* a campos electromagnéticos oscilantes de 60 Hz.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

# HIPOTESIS Y OBJETIVOS

## HIPÓTESIS

Los campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia y 2.0 mT de intensidad, son capaces de inducir cambios citogenéticos a nivel cromosómico y morfológico en células espermatozógenicas de ratón *Mus musculus* línea genética CD1 *in vivo*.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto citogenético de los campos electromagnéticos de 60 Hz en la estructura cromosómica y morfología de células espermatozógenicas de ratón *Mus musculus* línea genética CD1 *in vivo*.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A) Determinar el efecto citogenético *in vivo* de una exposición aguda (72 hrs) a campos electromagnéticos de 60 Hz y 2.0 mT de intensidad sobre células espermatozógenicas de ratón *Mus musculus* línea CD1.
- B) Estimar el potencial sinérgico *in vivo* de una exposición a campos electromagnéticos de 60 Hz y 2.0 mT de intensidad en combinación con la aplicación de Mitomicina-C (5 mg/kg) sobre los cambios citogenéticos en células espermatozógenicas de ratón *Mus musculus* línea CD1.
- C) Determinar el efecto citogenético *in vivo* de una exposición fraccionada (10 días/8 h diarias) a campos electromagnéticos de 60 Hz y 2.0 mT de intensidad sobre células espermatozógenicas de ratón *Mus musculus* línea CD1.

# MATERIAL Y METODO

## MATERIAL BIOLÓGICO

En el presente estudio se utilizaron 24 ratones macho *Mus musculus* línea genética CD1, de 3 meses de edad, con un peso aproximado de 25-35 g, los cuales fueron proporcionados por el bioterio del Departamento de Embriología de la Facultad de Medicina U.A.N.L. Durante el periodo previo a la exposición los animales fueron mantenidos en jaulas plásticas y se les administró alimento Purina Inc. Co. y agua *ad libitum*. Al término de la exposición los animales fueron sacrificados inmediatamente por dislocación cervical.

## EXPOSICIÓN AL CAMPO MAGNÉTICO

Los animales fueron tratados con campos electromagnéticos de 60 Hz y de 2.0 mT de intensidad, dentro de un solenoide como el que previamente se especificó en el capítulo I de este documento y que corresponde al modelo de exposición *in vivo*, tal y como ahí se describe.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizaron tres experimentos independientes, con tres animales para cada uno de los tratamientos y los testigos.

- 1) Exposición aguda (72 horas continuas) a un campo electromagnético de 2.0 mT.
- 2) Exposición aguda (72 horas continuas) a un campo electromagnético de 2.0 mT, combinada con la aplicación del agente químico mutagénico Mitomicina-C, a dosis de 5 mg/kg.

Estos dos experimentos se realizaron con tres grupos experimentales: un grupo tratado (expuesto), un testigo negativo que no fue expuesto a agentes químicos ni físicos, y un testigo positivo al cual le fue aplicado Mitomicina-C (5mg/kg), intraperitonealmente.

- 3) Exposición fraccionada a un campo electromagnético de 2.0 mT., durante 10 días, 8 horas diarias (de 8:00 a 16:00 horas). Dos grupos experimentales: un grupo tratado (expuesto) y un grupo testigo negativo (no expuesto a ningún agente físico ni químico). En este caso no se usó testigo positivo debido a que no fue posible establecer la intoxicación crónica de los animales con el mutágeno químico Mitomicina-C.

## **CITOGENÉTICA DE CELULAS ESPERMATOGENICAS**

### **Obtención del material de estudio**

Para obtener las muestras de estudio (testículos y epidídimo) se hizo necesario el sacrificio de los animales, que se llevó a cabo mediante dislocación cervical. Una vez hecho esto, con ayuda de un bisturí se practicó una incisión ventral en dirección longitudinal y se extrajeron los testículos y el epidídimo que acompaña a cada uno.

### **Procesamiento del material**

Para las especificaciones de reactivos y equipo empleados en el procesamiento del material de estudio ver el Apéndice V.A de este capítulo.

El método seguido para la obtención de cromosomas meióticos de ratón es el descrito por Evans et al. (1964), con algunas modificaciones, en resumen, se procedió de la siguiente manera:

1. Se removieron los testículos y se colocaron en solución isotónica de citrato de sodio (2.2%) a temperatura ambiente. Se rasgó la túnica albugínea y se agitaron los testículos en la solución para remover la grasa adherida.
2. Se transfirieron los testículos a una caja Petri que contenía solución de Citrato de sodio 2.2% fresca y suavemente se retiraron los tubulos seminíferos. Con ayuda de unas pinzas finas y de un bisturí se retiró el contenido de los túbulos hasta obtener una suspensión. Se transfirió el fluido sobrenadante a un tubo de centrifuga de 10 ml.
3. Se centrifugó la suspensión celular obtenida a 500 r.p.m. durante 5 minutos. Esto generalmente deja la mayor parte de espermatozoides en suspensión y sedimenta las células más grandes, incluyendo los espermatocitos. Se descartó el fluido sobrenadante y se suspendieron las células sedimentadas en aproximadamente 4 ml de solución hipotónica de citrato de sodio 0.7 %.
4. Se dejaron las células en solución hipotónica por 20 minutos en baño maría (37°C) al término de este tiempo se centrifugó a 500 r.p.m. por otros 5 minutos.
5. Se removió tanto sobrenadante como fue posible. Enseguida se resuspendieron las células en el resto con ayuda de una pipeta Pasteur. Se añadieron rápidamente 0.25 ml de fijador, directamente en las células suspendidas. Se añadió más fijador por las paredes del tubo, gota a gota, colocando el tubo cónico en un vortex para mantenerlo en movimiento y permitir así que las suspensión se mezcle con el fijador, hasta completar 4 ml. Después de 5 minutos en reposo, se sedimentaron las células de nuevo por centrifugación y se resuspendieron en fijador fresco. Se repitió el cambio de fijador después de 10 minutos.

6. Para la preparación de las laminillas, se tomó un poco de la suspensión con una pipeta Pasteur. Se goteó sobre un portaobjetos desengrasado a temperatura ambiente, hasta cubrir la mayor parte del portaobjetos. Es importante gotear desde una altura de aproximadamente 1.2 mts para así obtener figuras más dispersas que permiten una mejor observación. Se gotearon 10 laminillas por ratón (5 con material del testículo derecho y 5 del izquierdo).
7. La tinción de las laminillas preparadas se llevó a cabo con Giemsa.

## **ANÁLISIS CITOGENETICO**

Las laminillas de cromosomas meióticos se emplearon para la observación de aberraciones cromosómicas en espermatoцитos. Para la morfología y número cromosómicos se empleo microscopía de luz (Zeiss) primeramente con objetivo 10X para localizar la fase a analizar (diacinesis), una vez localizadas cada imagen se observó en objetivo 100X para revisar el número de bivalentes y su morfología, se analizaron 60 figuras en diacinesis por grupo experimental y los resultados se expresaron como porcentaje de anormalidades cromosómicas. En la Figura V.2 se muestran las principales figuras de cromosomas meióticos consideradas en este estudio.

## **MORFOLOGÍA ESPERMATICA**

La técnica empleada para la obtención de espermatozoides de ratón fue adaptada de la previamente descrita por Wyrobek (1979) y consistió de lo siguiente:

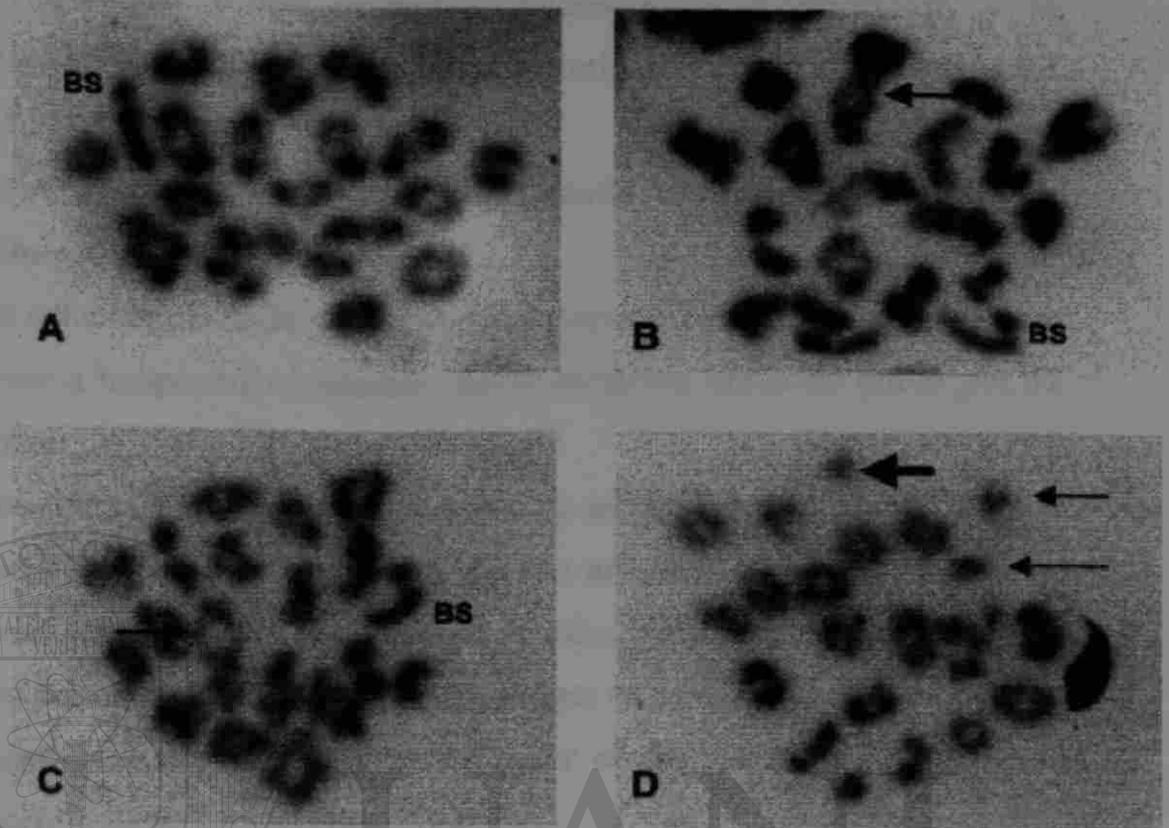


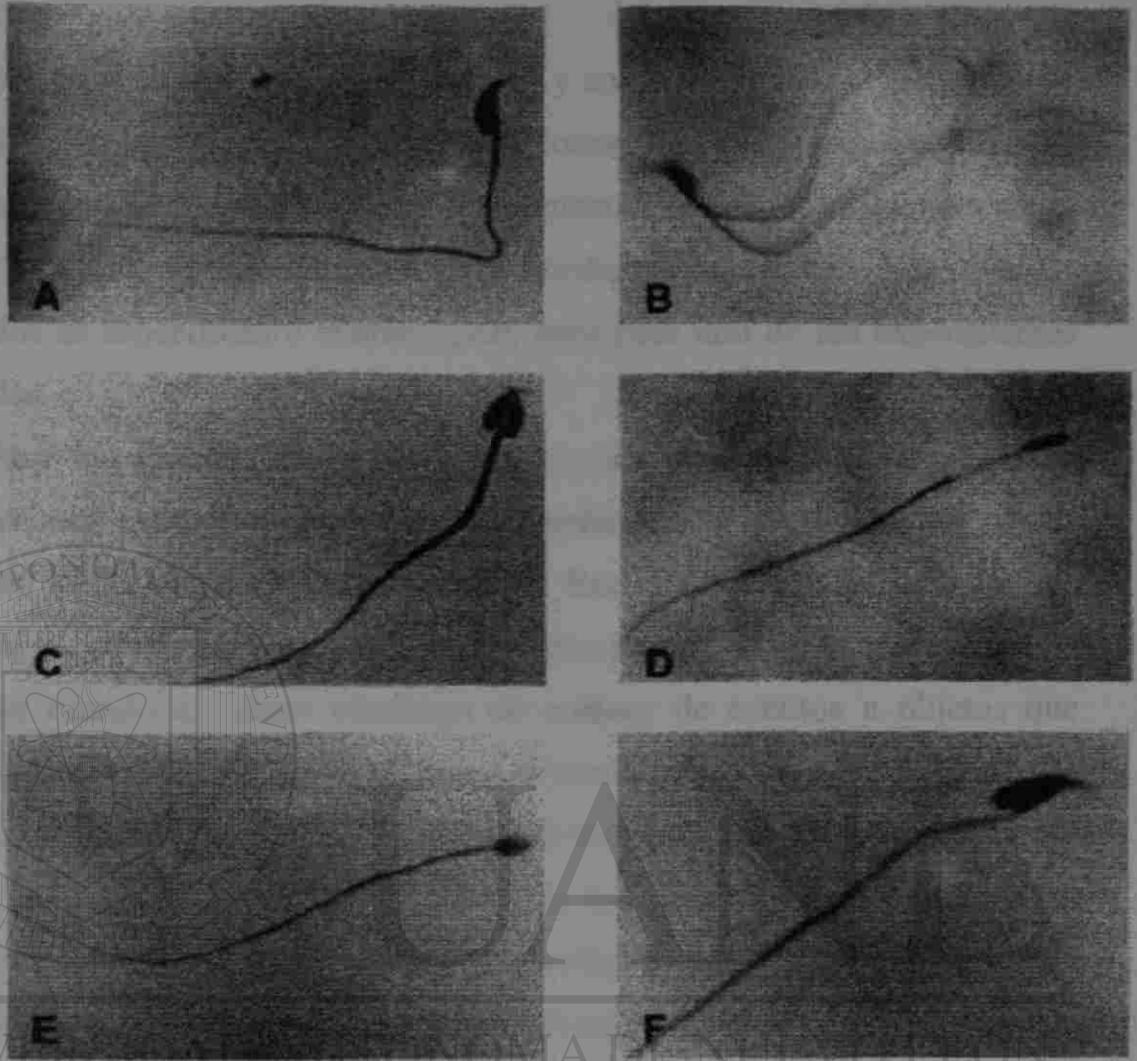
Figura V.2. Análisis citogenético en espermatocitos primarios en etapa de diacinesis. A) cromosomas en diacinesis con una conformación normal de 19 bivalentes autosómicos y un bivalente sexual (BS) con el X y Y en una configuración que recuerda a un signo de exclamación. B-C) señaladas con una flecha, figuras con alteraciones del tipo translocación. Las translocaciones recíprocas involucran el intercambio de segmentos terminales entre cromosomas no homólogos y requieren dos rupturas y uniones. D) diacinesis que presenta un fragmento (flecha gruesa) y univalentes autosómicos (flechas delgadas), los fragmentos son aberraciones que suelen ser eliminadas durante el proceso mitótico, sin embargo algunos pequeños fragmentos acéntricos pueden encontrarse en espermatocitos en división. Los univalentes autosómicos resultan de asinapsis (ausencia de apareamiento entre segmentos homólogos) o de desinapsis (separación debido a fallas en la formación de quiasmas).

1. El epidídimo y los conductos deferentes se fragmentaron y se suspendieron en 1.0 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.2 M pH 7.3
2. La solución obtenida se filtró en una malla de cobre de 200 mesh para eliminar los fragmentos de tejido.
3. La solución obtenida se utilizó para preparar los frotis que se dejaron secar a temperatura ambiente, manteniéndolos libres de polvo por 12 horas.
4. Los frotis se fijaron en una solución de metanol, formaldehído, y ácido acético en las mismas proporciones, por una hora.
5. Finalmente estos frotis se lavaron en agua y se tiñeron con Eosina Y al 1% por una hora. Se lavaron nuevamente en agua corriente y se dejaron secar durante 24 horas antes de hacer el análisis microscópico de la morfología de los espermatozoides.

Se revisaron 10 frotis de cada animal contando 100 células por preparación (3000 células por grupo experimental) con microscopía de luz (Zeiss) en objetivo 100X para determinar el porcentaje de espermatozoides alterados, contabilizando además las diversas anomalías observadas. Entre estas se consideraron formas bioflageladas, espermas bicefálicos, filamentosos, con cabeza amorfa y aquellos con gancho deforme, tal y como se ilustra en la figura V.3. Los resultados fueron expresados como porcentaje de anomalías espermáticas.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados obtenidos de cada uno de los experimentos fueron procesados usando el paquete estadístico SPSS versión 8.0, de acuerdo a Ferrán-Aranaz (1996).



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Figura V.3. Anomalías morfológicas del espermatozoide que fueron consideradas en este estudio, en células germinales de ratón *Mus musculus* Línea CD-1. A) espermatozoide normal, en el ratón la cabeza del espermatozoide tiene forma de garfio; B) espermatozoide biflagelado; C) espermatozoide bicéfalo; D) espermatozoide filamentosos; E) espermatozoide amorfo; F) espermatozoide con gancho deforme (100 x).

Las pruebas realizadas (paramétricas y no paramétricas) dependieron de la distribución de los datos, por lo cual en todas las fases de experimentación, así como en cada uno de los grupos experimentales se aplicó primeramente la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar normalidad. Los análisis realizados se especifican a continuación, para cada uno de los experimentos realizados.

Para las pruebas de aberraciones cromosómicas en espermatozoides, como primer paso, fue necesario la transformación de los datos a raíz cuadrada (Square Root Transformation). Este tipo de transformación es aplicable cuando las varianzas son proporcionales a las medias. Esto es frecuente cuando los datos consisten de conteos de eventos u objetos que ocurren al azar (Zar, 1999). La ecuación aplicada fue:  $X' = x + 3/8$ . Esta es la fórmula recomendable en los casos en que los datos son muy pequeños y/o algunas de las observaciones son ceros, como sucedió en este estudio. En todos los casos donde fue necesaria una transformación de datos, la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov fue aplicada a los datos transformados.

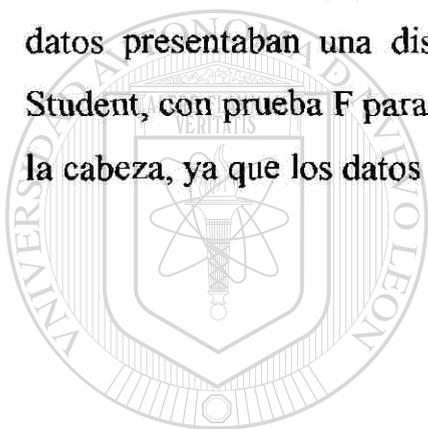
### **Exposición aguda (72 hrs) y combinada a un Campo Electromagnético de 2.0 mT + 5.0 mg / kg de Mitomicina-C (Experimentos 1 y 2).**

Para la prueba de aberraciones cromosómicas en espermatozoides, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para comparar entre sí los tres grupos experimentales (Tratamiento, testigo negativo, testigo positivo), en el caso de los grupos que tuvieran diferencia significativa, fue necesario además aplicar el análisis no paramétrico U de Mann Whitney por parejas, para determinar cual de los grupos marcaba la diferencia.

Para la prueba de morfología de espermatozoides se empleó Análisis de varianza con prueba de Tukey a los grupos con distribución normal, y Kruskall Wallis con U de Mann Whitney a los de distribución no normal.

**Exposición fraccionada 10 días / 8 horas diarias a un campo electromagnético de 2.0 mT (Experimento 3).**

La comparación de los grupos experimentales empleados en cada una de las pruebas realizadas en esta fase fue la siguiente: se realizó la prueba de U de Mann Whitney para el porcentaje de aberraciones cromosómicas cuyos datos presentaban una distribución de tipo no normal; y una prueba t de Student, con prueba F para el porcentaje de espermatozoides con anomalías en la cabeza, ya que los datos presentaban distribución normal.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESULTADOS

### **Exposición aguda (72 horas) a un CEM de 60 Hz y 2.0 mT (Experimento # 1).**

Los resultados del análisis citogenético se presentan en la Tabla V.1. El análisis estadístico de este experimento, no mostró diferencias significativas entre el grupo tratamiento y el testigo negativo en lo que corresponde a la prueba de aberraciones cromosómicas, pero si se encontró, como era de esperarse, una diferencia significativa entre el grupo tratamiento y el testigo positivo (Mitomicina-C), ya que este grupo presentó un aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas en espermaticitos.

Por otra parte la prueba de anomalías en la cabeza del espermatozoide mostró un aumento en el porcentaje del grupo tratamiento al compararse con el testigo negativo, el cual no obstante, no fue significativo, sin embargo se encontró diferencia estadística en el grupo testigo positivo como cabría esperar, ya que presentó un porcentaje de espermatozoides con anomalías en la forma de la cabeza atribuidos al efecto citotóxico de la Mitomicina-C.

### **Exposición a un CEM de 60 Hz, 2.0 mT combinado con MMC (5 mg/kg). (Experimento # 2).**

Los resultados de este experimento mostraron una diferencia significativa entre los grupos para la prueba de porcentaje de aberraciones cromosómicas y anormalidades en la morfología espermática de acuerdo a la prueba Kruskall Wallis, sin embargo, el análisis con la U de Mann Whitney indicó que la diferencia fue entre los grupos tratamiento y testigo negativo contra el testigo positivo, ya que este último presentó un mayor porcentaje de

Grupo Experimental	Media Aritmética % ACM ( ± DS )	Media Aritmética % AME ( ± DS )
2.0 mT / 72 h	1.02 (0.070)	3.93 (2.33)
Testigo no expuesto	0.61 (0.01)	2.60 (1.57)
Control positivo con MMC	1.63 (0.17)*	6.00 (3.14)*
2.0 mT / 72 h + 5.0 mg.Kg <sup>-1</sup> de MMC	0.79 (0.32)	2.40 (1.54)
Testigo no expuesto	0.98 (0.32)	3.10 (1.97)
Control positivo con MMC	1.59 (0.16)*	5.10 (1.77)*
2.0 mT / 10 días / 8 h diarias	1.60 (0.16)	2.17 (1.42)
Testigo no expuesto	1.51 (0.79)	1.70 (1.29)

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla V.1 Porcentaje de aberraciones cromosómicas en espermatocitos meióticos (ACM) y anormalidades en la morfología del espermatozoide (AME) en células germinales de ratones expuestos a campos magnéticos oscilantes de 60 Hz. Se realizaron tres experimentos independientes con tres repeticiones cada uno. Las diferencias estadísticas son marcadas como \* ( $p < 0.05$ ).

aberraciones como cabía esperar debido al efecto mutagénico de la Mitomicina-C (Ver Tabla V.1), de esto se interpreta que el campo magnético no causó efectos en estos parámetros. Un hallazgo importante en este experimento fue que se observó un efecto antagónico entre la Mitomicina-C y el campo magnético aplicado ya que los animales sometidos a ambos tratamientos simultáneamente mostraron porcentajes de aberraciones cromosómicas y anomalías espermáticas menores que los del grupo testigo positivo que fue tratado con el mutágeno solamente.

**Exposición Fraccionada (10 días / 8 h diarias) a un CEM de 60 Hz y 2.0 mT (Experimento # 3).**

Los resultados de este experimento no mostraron relación estadística entre la exposición a un CEM y un aumento en la ocurrencia de aberraciones cromosómicas en espermaticitos primarios. Tampoco se observó ninguna diferencia en el porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas de acuerdo al análisis con la prueba paramétrica de t de Student con prueba F.

Los porcentajes correspondientes obtenidos para el grupo tratado y el testigo se presentan asimismo en la tabla V.1.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se asume que no fue posible demostrar un efecto genotóxico o citotóxico inducido por CEM de 60 Hz en células germinales de ratones expuestos a una intensidad de 2.0 mT, tanto en forma aguda (72 horas), combinada con el mutágeno químico Mitomicina-C, y fraccionada (10 días, 8 horas diarias).

No es fácil contrastar estos resultados con otras investigaciones ya que el modelo de las células germinales ha sido empleado en pocas ocasiones para evaluar la genotoxicidad de los CEM de 60 Hz, y las metodologías empleadas han sido muy diversas entre sí, lo que dificulta la comparación de un trabajo a otro. Algunos de los trabajos más próximos en metodología a esta investigación fueron realizados con microondas (también una radiación electromagnética pero de mayor frecuencia). Así Manikowska et al. (1978) trabajaron con células meióticas para la detección de aberraciones cromosómicas, hallando un aumento en la frecuencia de éstas, estos resultados fueron confirmados por el estudio de Manikowska-Czerska et al. (1985). Sin embargo, al trabajar con microondas el efecto térmico provocado por la exposición es un factor que disminuye la fidelidad de las observaciones hechas y se sugiere que el efecto no es debido a la exposición al campo en sí sino a las condiciones provocadas por la exposición, como ponen en relieve Beechey et al. (1986), ya que en su estudio encontraron evidencia de que el aumento en la temperatura asociado con la exposición a microondas puede provocar un incremento en la aparición de aberraciones, debido a esto los resultados de estos trabajos son cuestionables. Una ventaja experimental de utilizar radiaciones de frecuencia extremadamente baja (60 Hz) como el campo magnético utilizado en este estudio, es que el incremento en la

temperatura atribuido a la exposición, es prácticamente despreciable (Lin, 1994).

En el presente estudio se encontró que la exposición aguda a un CEM de 60 Hz, con una intensidad de 2.0 mT, no afectó la frecuencia de aberraciones en espermatoцитos ni la frecuencia de anomalías morfológicas en espermatozoides de ratón. Estos resultados coinciden con las observaciones de Withers et al. (1985). Sin embargo, Narra et al. (1996) mencionan en su trabajo un ligero efecto supresor de la espermatogénesis a consecuencia de una exposición a un campo magnético estático.

Por otro lado, los resultados aquí presentados aportan evidencia de que los CEM pudieran tener un efecto antagónico al de la Mitomicina-C, ya que se observó una disminución en la aparición de aberraciones cromosómicas y de anomalías en espermatozoides en el grupo tratado con ambos agentes simultáneamente, en comparación con el grupo testigo positivo tratado únicamente con la Mitomicina-C. Estos resultados se ven apoyados por observaciones similares obtenidas en otros trabajos de esta línea de investigación, ya que también se encontró un efecto antagónico de los CEM sobre la proliferación celular en linfocitos humanos tratados con Mitomicina-C (Heredia-Rojas et al., 2001) así como los resultados mostrados en el capítulo anterior de este documento en donde se observó este mismo efecto *antagónico entre el campo magnético y la Mitomicina-C en lo que respecta a la producción de micronúcleos en eritrocitos de médula ósea de ratón.* Asimismo, Okonogi et al. (1996) han observado que un campo magnético es capaz de influir sobre el efecto de la Mitomicina-C en la síntesis de DNA y de esta manera provocar el antagonismo entre ambos tratamientos, sin embargo el mecanismo preciso requiere investigación adicional.

En contraste, otros investigadores como Scarfi et al. (1991) no encontraron ningún cambio cuando evaluaron el efecto clastogénico de la Mitomicina-C en linfocitos humanos expuestos a CEM pulsantes de frecuencia extremadamente baja.

Por otro lado, con respecto al experimento # 3 que correspondió a la exposición fraccionada de 10 días consecutivos y 8 horas diarias, tampoco se observaron efectos significativos en las variables analizadas. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Kowalczyk y Saunders (1990), Benz et al. (1987), Tablado et al. (1996 y 1998), Lundsberg (1995), Tateno et al. (1998), Galaktionova et al. (1985). Aunque existen trabajos que han encontrado efectos supresores de la espermatogénesis y degenerativos en células germinales por exposición crónica a campos magnéticos y eléctricos: Kokoreva et al. (1990), Ivanova y Kartashev (1991); Lokhmatova y Pastukhova (1993) y Lokhmatova (1993).

En los casos de las exposiciones aguda y crónica es importante señalar que en aquellos trabajos donde se observaron efectos significativos sobre células germinales (Narra et al., 1996; Kokoreva et al., 1990, Ivanova y Kartashev, 1991; Lokhmatova y Pastukhova, 1993 y Lokhmatova, 1993) fueron empleadas intensidades de CEM o de campo eléctrico mayores a la empleada en este estudio y además el tipo de campo utilizado fue diferente, ya que algunos de estos trabajos incluyeron estudios con campos magnéticos estáticos.

Por otra parte, el análisis cualitativo de las aberraciones y anomalías morfológicas observadas en este estudio (resultados no mostrados) tampoco apoya la idea de un efecto nocivo o dañino sobre las células germinales, ya que los tipos de anomalías observadas en los animales tratados son similares a los de los animales testigo negativo. Asimismo, se sabe que en animales no

tratados pueden aparecer en forma espontánea diversas anomalías estructurales en cromosomas (Leonard, 1973) y la proporción en que aparecen suele variar entre diversas líneas genéticas e incluso puede haber variabilidad entre un mismo grupo de animales. En el presente estudio los porcentajes de aberraciones cromosómicas en espermaticitos de animales expuestos al campo magnético y los del testigo negativo fueron bajos y comparables con los de otros investigadores (Manikowska-Czerska et al., 1985). Tampoco se observaron anomalías en la cabeza de los espermatozoides fuera de los tipos reportados por autores como Wyrobek (1979) y Tablado (1996).



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CONCLUSIONES

1. Una exposición aguda de 72 h *in vivo* a campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia a la intensidad de 2.0 mT no tiene efecto genotóxico o citotóxico sobre las células espermatogénicas de ratón *Mus musculus* Línea CD-1.
2. Los campos electromagnéticos de 60 Hz a una intensidad de 2.0 mT y una duración de exposición de 72 h tienen un efecto antagónico al de la Mitomicina-C en el porcentaje de aberraciones cromosómicas en espermatoцитos primarios y anomalías de la morfología espermática de ratones *Mus musculus* Línea CD-1 expuestos *in vivo*.
3. La exposición fraccionada (10 días / 8 h diarias) *in vivo* a campos electromagnéticos de 60 Hz de frecuencia a la intensidad de 2.0 mT no tiene efecto genotóxico o citotóxico sobre las células espermatogénicas de ratón *Mus musculus* Línea CD-1.

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LITERATURA CITADA

- Adler I.D. (1982). Mouse spermatogonia and spermatocyte sensitivity to chemical mutagens. *Cytogenet. Cell Genet.* 33:1-2, 95-100.
- Beechey C.V., Brooker D., Kowalczyk C.I., Saunders R.D., Searle A.G. (1986). Cytogenetic effects of microwave irradiation on male germ cells of the mouse. *Int. J. Radiat. Biol. Relat Stud. Phys. Chem. Med.* 50: 909-918.
- Benz R.D., Carsten A.R., Baum J.W., Kuehner A.V. (1987). Mutagenicity and toxicity of 60 Hz magnetic and electric fields. Contractors final report. New York State Power Lines. Project. New York, U.S.A.
- Cehval M.J., Mehan D.J., Volk L.R. (1977). Meiotic figures in the testicular biopsy of subfertile man. *Fertility and Sterility* 29:3.
- De Vita R., Caballo D., Raganella L., Eleuteri P., Grollino M.G. and Calugi A. (1995). Effects of 50 Hz Magnetic fields on mouse spermatogenesis monitored by flow cytometric analysis. *Bioelectromagnetics* 16:330-334.
- Evans E.P., Brecken G. and Ford C.E. (1964). An air-drying method for meiotic preparations from mammalian testes. *Cytogenetics* 3: 289-294.
- Ferrán-Aranaz M. (1996). SPSS para Windows. Programación y análisis estadístico. Primera edición. Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S.A. Pag.560.
- Freese E. (1971). Molecular mechanisms of mutations. Consequences of genetic alterations in higher organisms. Alexander Hollaender (Ed.). *Chemical Mutagens. Principles and methods for their detection. Volume 1.* Plenum Press New York-London.

- Furuya H., Aikawa H., Hagino T., Yoshida T. and Sakabe K. (1998). Flow cytometric analysis of the effects of 50 Hz magnetic fields on mouse spermatogenesis. *Nippon Eiseigaku Zasshi* 53: 420-425.
- Galaktionova G.V., Mastriukova V.M., Strzhizhovskii A.D. (1985). Sensitivity of mammalian tissues to prolonged exposure to high-tension permanent magnetic fields. *Kosm. Biol. Aviakosm. Med.* 19: 78-81.
- Heredia-Rojas J.A., Rodríguez-De la Fuente A.O., Velazco-Campos M.R., Leal-Garza C., Rodríguez-Flores L.E., De la Fuente-Cortez B. (2001). Cytological effects of 60 Hz magnetic fields on human Lymphocytes *in vitro*. Sister chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic rate. *Bioelectromagnetics* 22: 145-149.
- Hugenholtz A.P., Bruce W.R. (1983). Radiation induction of mutations affecting sperm morphology in mice. *Mutat. Res.* 107: 177-185.
- Ivanova L.A., Kartashev A.G. (1991). The effect of alternating electric field of industrial frequency on testicles of white mice. *Fiziol Zh* 37: 71-78.
- Juutilainen J., Lang S. (1997). Genotoxic, carcinogenic and teratogenic effects of electromagnetic fields. Introduction and overview. *Mutat. Res.* 387:165-171.
- Karp G. (1987). *Biología Celular. Proliferación celular y división*. Editorial McGraw-Hill de México. pp. 744-753.
- Kirk K.M. and Lyon M.F. (1984). Induction of congenital malformations in the offspring of male mice treated with X-rays at pre-meiotic and post-meiotic stages. *Mutat. Res.* 125: 75-85.
- Kokoreva L.V., Chuvpilo T.A., Postynnikova A.M. (1990). Effect of a constant high-density magnetic field on reproductive functions in male rats. *Kosm. Biol. Aviakosm. Med.* 24: 28-30.

Kowalczyk C.I. and Saunders R.D. (1990). Dominant lethal studies in male mice after exposure to 50-Hz electric field. *Bioelectromagnetics* 11:129-137.

Leonard A. (1973). Observations on meiotic chromosomes of the male mouse as a test of the potential mutagenicity of chemicals in mammals. A. Hollander (Ed.) *Chemical Mutagens. Principles and methods for their detection. Volume 3.* Plenum Press. New York-London. U.S.A.

Lin J.C. (1994). *Advances in electromagnetic fields in living systems. Volume 1. First Edition.* Plenum Press. N.Y. pp. 18-20.

Lokhmatova S.A. (1993). An ultrastructural analysis of the testes in mice subjected to long-term exposure to a 17 kHz electrical field. *Radiobiologia* 33: 342-346.

Lokhmatova S.A. and Pustukhova Iu.R. (1993). Morphologic and histoenzymologic analysis of effect of electrical fields at 17 kHz on testis and testis appendages in mice. *Aviakosm. Ekolog. Med.* 27: 50-54.

Loidl J. (1994). Cytological aspects of meiotic recombination. *Experientia* 50:285-294 Birkhäuser Verlag, CH 4010 Basel/Switzerland.

Lundsberg L.S., Bracken M.B. and Belanger K. (1995). Occupationally related magnetic field exposure and male subfertility. *Fertility and Sterility* 63: 384-391.

Lyon M.F. (1981). Sensitivity of various germ-cell stages to environmental mutagens. *Mutat. Res.* 87:323-345.

Manikowska E., Luciani J.M., Servantie B., Gerski P., Obrenovitch J. and Stahl A. (1978). Effects of 9.4 GHz microwave exposure on meiosis in mice. *Experientia* 35: 3-5.

- Manikowska-Czerska E., Czerski P., Leach W.M. (1985). Effects of 2.45 GHz microwaves on meiotic chromosomes of male CBA/CAY mice. *J Hered.* 76: 71-73.
- Matsuda Y., Seki N., Utsugi T., Takeuchi and Tobarí I. (1989). X-Ray and mitomycin C (MMC)-induced chromosome aberrations in spermiogenic germ cells and the repair capacity of mouse eggs for the X-Ray and MMC damage. *Mutat. Res.* 211:65-75.
- McCann J., Dietrich F. and Rafferty Ch. (1998). The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. *Mutat. Res.* 411: 45-86.
- Murphy J.C., Kaden D.A., Warren J. and Sivak A. (1993). Power frequency electric and magnetic fields: A review of genetic toxicology. International Commission for protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. *Mutat. Res.* 296: 221-240.
- Narra V.R., Howell R.W., Goddu S.M. and Rao D.V. (1996). Effects of a 1.5 –Tesla static magnetic field on spermatogenesis and embryogenesis in mice. *Invest. Radiol.* 31: 586-590.
- Okonogi I., Nakagawa M., Tsugi Y. (1996). The effects of a 4.7 Tesla Static Magnetic Field on the frequency of micronucleated cells induced by Mitomycin. *Tohoku T. Exp Med.* 180: 209-215.
- Salazar A.M. y Herrera-Montalvo L.A. (1992). Daño Genético inducido por agentes físicos y químicos. *Rev Fac Med UNAM* 35: 75-82.
- Scarfí M.R., Bersani F., Cossarizza A., Monti D., Castellani G., Cadossi R., Franceschetti G., Franceschi C. (1991). Spontaneous and Mitomycin C induced micronuclei in human lymphocytes exposed to extremely low frequency pulsed magnetic fields. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 176: 194-200.

Stankevich K.I., Badaeva L.N., Samosh L.V. and Shumoua L.Z. (1981). Cytogenetic and gonadotoxic effect of static electric field. (English translation). *Gig. Sanit.* 9-11.

Tablado L. (1996). Efectos de los campos magnéticos estáticos sobre el desarrollo del testículo y el epidídimo y sobre la formación de los espermatozoides en el ratón. Tesis Doctoral. Facultad de Biología de la Universidad de Valencia. Valencia, España.

Tablado L., Perez-Sanchez F. and Soler C. (1996). Is sperm motility maturation affected by static magnetic fields? *Environ. Health. Perspect.* 104: 1212-1216.

Tablado L., Perez-Sanchez F., Nuñez J. (1998). Effects of exposure to static magnetic fields on the morphology of mouse epididymal sperm. *Bioelectromagnetics*, 19:377-383.

Tateno H., Iijima S., Nakanishi Y., Kamiguchi Y., Asaka A. (1998). No induction of chromosome aberrations in human spermatozoa exposed to low frequency electromagnetic fields. *Mutat. Res.* 414: 31-35.

Viñals-Bellido P. (1990). Aportaciones al estudio experimental de la influencia de los campos magnéticos pulsantes sobre las células espermatogénicas de la rata albina. Tesis Doctoral. Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de Valencia. Valencia, España.

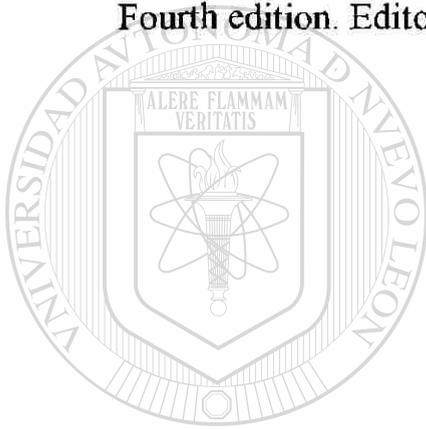
Withers H.R., Mason K.A. and Davis C.A. (1985). MR effect on murine spermatogenesis. *Radiology*, 156: 741-741.

Wyrobek A.J., Heddle J.A., Bruce W.R. (1975). Chromosomal abnormalities and the morphology of mouse sperm heads. *Can. J. Genet. Cytol.* 17: 675-681.

Wyrobeck A.J. (1979). Changes in mammalian sperm morphology after X-ray and chemical exposures. *Genetics* 92:1 Pt 1 Suppl. 105-119.

Wyrobek A.J., Gordon L.A., Burkhardt J.G., Francis M.W., Kapp R.W. Jr., Malling H.V., Topham J.C., Whorton M.D. (1983). An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in nonhuman mammals. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 115:1 1-72.

Zar J.H. (1999). *Biostatistical analysis*. Chapter 13 Data Transformations. Fourth edition. Editorial Prentice Hall, U.S.A. pp.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## APENDICE V.A

### REACTIVOS

- \* Eosin Y Fisher Certified Biological Stain 25 g. (0.88 oz.) Lote No. 701532 Fisher Scientific Company Chemical Manufacturing Company Fair Lawn, New Jersey.
- \* Colorante de Giemsa (polvo) Standard Técnica química S.A. México.
- \* Aceite de Inmersión Tipo B 100 ml. Lote No. 950927 Analytica de México S.A. de C.V.
- \* Colchicine Lote No. 108F0564 Sigmal Chemical Co. St. Louis, MO, U.S.A.
- \* Glicerina  $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$  P.M. 92.10 1000 ml. Lote No. 3\*2136 Reactivo Analítico NORMA ACS Control Técnico y Representaciones, S.A. de C.V.

---

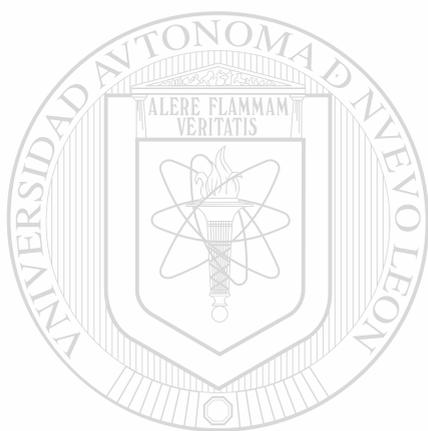
- \* Acido Acético Glacial  $\text{CH}_3\text{COOH}$  P.M. 60.05 Lote No. 02AA9607 1000 ml. Reactivo Analítico NORMA ACS Control Técnico y Representaciones, S.A. de C.V.
- \* Cloroformo  $\text{CHCl}_3$  P.M. 119.39 Lote No. 39758 Seg. Especific. A.C.S. 900 ml. J.T. Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, México.
- \* Eter Etilico Anhidro  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$  P.M. 74.12 Lote No. 21TF9240 Reactivo Analítico NORMA ACS Control Técnico y Representaciones.
- \* Fosfato de Sodio Monobasico  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  P.M. 137.99 Lote No. 001037 Productos Químicos Monterrey S.A.

- \* Fosfato de Potasio Monobásico  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  P.M. 136.09 Lote NO. 970725-5 Analytica de México, S.A. de C.V.
- \* Líquido especial para limpieza de material clínico y de laboratorio Texatron Neutro Lote No. 970728 Analytica de México S.A. de C.V.
- \* Formaldehído 37%  $\text{HCHO}$  P.M. 30.03 Lote No. 001075 Productos Químicos Monterrey S.A.
- \* Cloruro de Sodio (Cristales)  $\text{NaCl}$  P.M. 58.44 Lote No. 001075 Productos Químicos Monterrey, S.A.
- \* Solución CS Fórmula: Cloruro de Sodio 0.9 g Agua Inyectable 100 ml Laboratorios Pisa S.A. de C.V.
- \* (Mytomicin-C (Cristalline) From *Streptomyces caespitosus* Lote No. 41F-0239 2 mg vial Sigma Chemical Company.

**EQUIPO**

- \* Parafilm "M" Laboratory Film American National Can TM Greenwich, C.T. 06836
- \* Portaobjetos 25 X 75 mm x 1.2 mm ERIE Scientific Company<sup>®</sup> Made in U.S.A.
- \* Surgical Gloves Sensi Touch Ansell-Medical Ansell Incorporated Alabama.
- \* Disposable Pasteur Pipettes Flint Glass Length 9" Chase Instruments Corp. Cat. No. 93
- \* Algodón Absorbente PROTEC Derivados de Gasa S.A. de C.V.
- \* Gasa Absorbente Tejido 20 x 12 Derivados de Gasa S.A. de C.V.
- \* Tubo Cónico Graduado 15 ml. No. 8080 Pyrex

- \* SIP Vortex Mixer Baxter Scientific Products Cat. 58223-1
- \* Laboratory Stirrer/Hotplate Corning Model PC-320
- \* General Laboratory Centrifuge Type GLC-1 Bio-Medical Equipment Sorvall Newtown, Connecticut U.S.A.
- \* Jeringas Estériles de Plastico, 3 ml. Plastipak B-D Con aguja 21 x 33 mm Becton Dickinson and Co.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CONCLUSIONES GENERALES

De acuerdo a los resultados encontrados, del presente estudio se puede concluir lo siguiente:

1.- Se diseñaron, construyeron y caracterizaron dos sistemas de exposición de material biológico, *in vitro* e *in vivo*, a campos electromagnéticos oscilantes de 60 Hz que satisficieron las características de confiabilidad requeridas.

2.- Una exposición a campos magnéticos de 60 Hz a intensidades de 1.0, 1.5 y 2.0 mT es capaz de incrementar la proliferación celular de linfocitos humanos *in vitro*.

3.- Los parámetros hemáticos de ratones expuestos *in vivo*, fueron modificados por campos magnéticos de 60 Hz y de 1.0, 1.5 y 2.0 mT, en lo que concierne a una disminución de los linfocitos y un aumento en los neutrófilos.

4.- Los campos magnéticos de 60 Hz a dosis de 1.5 y 2.0 mT produjeron efectos clastogénicos en eritrocitos de médula ósea de ratones expuestos *in vivo*.

5.- La exposición a campos magnéticos de 60 Hz y de 1.0, 1.5, y 2.0 mT de intensidad magnetica, no produjo alteraciones en aberraciones cromosómicas de espermatoцитos primarios y morfología espermática de ratones expuestos *in vivo*.

6.- Se observó un efecto antagónico entre campos magnéticos oscilantes de 60 Hz y el mutágeno químico Mitomicina-C en lo que respecta a proliferación celular de linfocitos *in vitro*, inducción de micronúcleos en médula ósea de ratón *in vivo*, aberraciones cromosómicas en espermatoцитos de ratón y anomalías morfológicas del espermatozoide *in vivo*.

## PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS DOCTORAL

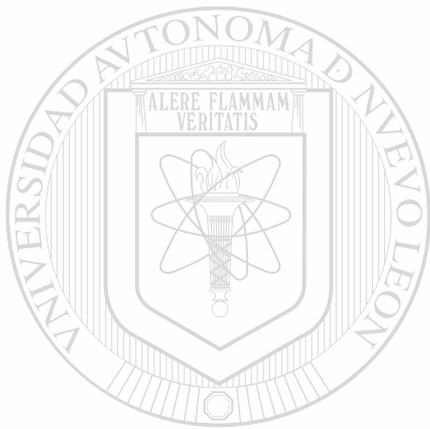
Jacobi-Elizondo J.S., Heredia-Rojas J.A., Rodríguez-Padilla C., Tamez-Guerra R.S., Gomez-Flores R. (2000). Los campos electromagnéticos y el sistema inmune. Ciencia-UANL. Vol III No.2: 166-175.

Heredia-Rojas J.A., Rodriguez-De la Fuente A.O., Velazco-Campos M.R., Leal-Garza C.H., Rodríguez-Flores L.E. and De la Fuente-Cortez B. (2001). Cytological effects of 60 Hz magnetic fields on human lymphocytes *in vivo*: Sister-chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic rate. Bioelectromagnetics 22: 145-149.

Jacobi-Elizondo J.S., Gomez-Flores R., Tamez-Guerra R.S., Rodríguez-Padilla C., and Heredia-Rojas J.A. (2001). Acute effects of 60-Hz electromagnetic fields on *ex vivo* murine Lymphocyte and macrophage functions and *in vitro* tumor cell growth. Rev. Lat. de Microbiol. y Parasitol. Vol. 43 No.3 pp ---

Heredia-Rojas J.A., Caballero-Hernandez D.E., Rodriguez-De la Fuente A.O., Ramos-Alfano G. And Rodriguez-Flores L.E. (2001). Lack of alterations on meiotic chromosomes and morphological characteristics of male germ cells in mice exposed to a 60 Hz and 2.0 mT magnetic field. Bioelectromagnetics (in revision). 

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



