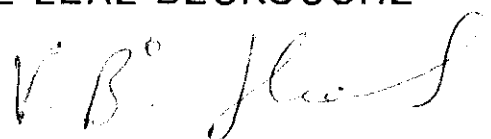


Autora: LUCIA CHACON VARGAS



EFECTOS DE CAMPOS ELECTROMAGNETICOS DEBILES
SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO

Directora: JOCELYNE LEAL BECKOUCHE



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
Facultad de Ciencias Biológicas

Año 1995

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento a los integrantes del Servicio de Bioelectromagnetismo del Hospital Ramón y Cajal, del que formo parte desde el año 1984.

En primer lugar, a la Dra. Jocelyne Leal, Directora de esta Tesis y Jefa del Servicio de Bioelectromagnetismo, por su confianza en mí. Su entusiasmo, dedicación y su capacidad investigadora me han servido de guía en momentos difíciles. La continuidad de este Servicio, e incluso del Departamento de Investigación, no hubiera sido posible sin su esfuerzo.

Los consejos inteligentes y las críticas constructivas del Dr. Alejandro Ubeda han elevado considerablemente, la calidad de este trabajo. Le agradezco sus inyecciones de optimismo en los momentos adecuados.

A la Dra. Angeles Trillo le debo casi todo lo que sé sobre desarrollo embrionario y trabajo de laboratorio. Espero poder seguir aprendiendo de su minuciosidad y habilidad, en el futuro.

Ma^a Antonia Martínez, con su permanente generosidad silenciosa ha sido de gran ayuda en la realización de esta Tesis.

Gracias también a Aurora Delgado, secretaria de este Servicio, por su disponibilidad.

A mi amiga la Dra. Carmen Barrenechea, le agradezco su interés científico y personal a lo largo del desarrollo de esta Tesis.

Agradezco a José Luis Sanz, ingeniero de Telecomunicaciones y ex miembro de este Departamento, y a los Dres. Bernard Veyret, director de "Recherche en Chimie Physique, Centre National de la Recherche Scientifique" de la Universidad de Burdeos y Alessandro Chiabrera, jefe del "Dipartimento di Ingegneria, Biofisica ed Elettronica", de la

Universidad de Génova, su ayuda en las dificultades técnicas planteadas en el Capítulo II de esta memoria.

También deseo agradecer el constante apoyo moral y la paciencia que han demostrado conmigo a lo largo de los años que ha durado la redacción de esta Tesis, mis buenas amigas, Livia Castillo y Asunción Núñez.

Los trabajos presentados en esta Tesis han sido subvencionados por el U. S. Office of Naval Research (Grant Nº N00014-85-G-0177; años 1985-1989) y por el Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (años 1990-1994).

INDICE GENERAL

| | |
|--|-----|
| INTRODUCCION GENERAL | |
| Conceptos fundamentales sobre Bioelectromagnética. Efectos biológicos de los campos DC y AC. El estado actual de la cuestión (Mayo de 1995). | 1 |
| CAPITULO I | |
| El embrión de pollo como material biológico. | 105 |
| CAPITULO II | |
| Respuesta embrionaria a CMs diferentes entre sí por décimas de microtesla. | 133 |
| CAPITULO III | |
| Experimentos realizados con un CM pulsado unipolar de 1 μ T y 100 Hz (Proyecto Henhouse). | 166 |
| CAPITULO IV | |
| Experimentos realizados con un CEM pulsado bipolar de 1 μ T y 30 Hz de frecuencia. | 199 |
| CAPITULO V | |
| Exposición embrionaria a CMs bajo condiciones de resonancia para iones calcio o sodio. | 216 |
| CAPITULO VI | |
| Efectos de los CEMs sobre la orientación embrionaria e influencia de ésta en la respuesta de los organismos ante la exposición electromagnética. | 270 |
| DISCUSION GENERAL | 317 |
| CONCLUSIONES | 334 |
| BIBLIOGRAFIA | 337 |

I N T R O D U C C I O N G E N E R A L

Conceptos fundamentales sobre Bioelectromagnética.
Efectos biológicos de los campos DC y AC. El estado actual de
la cuestión (Mayo de 1995).

INTRODUCCION GENERAL

Conceptos Fundamentales sobre Bioelectromagnética. Efectos biológicos de los campos DC y AC. El estado actual de la cuestión (Mayo de 1995).

| | | |
|---------|---|----|
| 1.- | Revisión Histórica. | 4 |
| 2.- | Conceptos Fundamentales sobre Electromagnetismo. | 9 |
| 2.1.- | El Campo Eléctrico. | 9 |
| 2.2.- | El Campo Magnético. | 11 |
| 2.3.- | Campos Eléctrico y Magnético Constantes. | 13 |
| 2.4.- | Interacción Eléctrica y Magnética. | 13 |
| 2.5.- | El Espectro de Radiaciones. | 14 |
| 3.- | Fuentes Naturales de Campos Electromagnéticos. | 15 |
| 3.1.- | Fuentes Naturales de Campos Eléctricos. | 15 |
| 3.2.- | Fuentes Naturales de Campos Magnéticos. | 17 |
| 3.2.a.- | El Campo Geomagnético Interno. Origen y Variaciones. | 19 |
| 3.2.b.- | El Componente Ambiental del Campo Geomagnético. | 19 |
| 3.3.- | Posibles Formas de Detección del CGM por los Seres Vivos. | 20 |
| 3.3.1.- | Efecto Faraday. | 20 |
| 3.3.2.- | Magnetosomas. | 21 |
| 3.3.3.- | La Glándula Pineal como Magnetorreceptor. | 22 |
| 3.4.- | Orientación mediante el Campo Geomagnético. | 23 |
| 4.- | Campos Implicados en Funciones Biológicas Normales. | 25 |
| 5.- | Fuentes Artificiales de Campos Electromagnéticos ELF. | 27 |
| 5.1.- | Campos Eléctricos ELF cerca de las Líneas de Transmisión. | 28 |
| 5.2.- | Campos Magnéticos ELF cerca de las Líneas de Transmisión. | 30 |
| 5.3.- | Campos Magnéticos y Eléctricos ELF en el Ambiente Doméstico. | 31 |
| 5.4.- | CEMs ELF en el Ambiente Laboral. | 32 |
| 5.5.- | Aplicaciones Terapéuticas. | 33 |
| 6.- | Interacciones Físicas de Campos ELF con los Organismos. | 34 |
| 6.1.- | Inducción Eléctrica. | 34 |
| 6.2.- | Inducción Magnética. | 34 |
| 7.- | Efectos Biológicos de Campos Estáticos (DC). | 36 |
| 7.1.- | Efectos Biológicos de Campos Magnéticos DC. | 36 |
| 7.1.1.- | Estudios in vitro. | 36 |
| 7.1.2.- | Estudios in vivo. | 37 |
| 7.2.- | Efectos Biológicos de Campos Eléctricos DC. | 37 |
| 7.2.1.- | Estudios in vitro. | 37 |
| 7.2.2.- | Estudios in vivo. | 38 |
| 8.- | Efectos Biológicos de Campos Electromagnéticos ELF. | 39 |
| 8.1.- | Estudios in vitro. | 40 |
| 8.1.1.- | Modulación de flujos iónicos. | 41 |
| 8.1.2.- | Efectos sobre ácidos nucleicos. | 43 |
| 8.1.3.- | Proliferación celular y cáncer. | 45 |

| | | |
|----------|---|----|
| 8.1.4.- | Regeneración. | 47 |
| 8.1.5.- | Efectos sobre membrana. | 48 |
| 8.1.6.- | Efectos sobre AMPc. | 49 |
| 8.1.7.- | Tejido endocrino. | 49 |
| 8.2.- | Estudios in vivo. | 50 |
| 8.2.1.- | Conducta, aprendizaje y otros efectos neurofisiológicos. | 50 |
| 8.2.2.- | Reproducción y desarrollo. | 54 |
| 8.2.3.- | Regeneración. | 55 |
| 8.2.4.- | Sistemas de regulación circadiana. | 56 |
| 8.2.5.- | Efectos sobre el sistema cardiovascular y hematológicos. | 56 |
| 8.2.6.- | Carcinogénesis y mutagénesis. | 57 |
| 8.2.7.- | Efectos sobre conducta y ritmos circadianos en humanos. | 58 |
| 8.2.8.- | Crecimiento y reparación ósea. | 59 |
| 8.2.9.- | Estudios realizados con plantas. | 60 |
| 9.- | Estudios Epidemiológicos. | 60 |
| 9.1.- | Exposición en Viviendas por Proximidad a Líneas de Alta Tensión. | 61 |
| 9.1.1.- | Relación entre niveles de exposición e incidencia de cáncer. | 61 |
| 9.1.2.- | Otras enfermedades. | 67 |
| 9.2.- | Exposición a CEMs procedentes de Electrodomésticos. | 69 |
| 9.2.1.- | Estudios sobre reproducción. | 69 |
| 9.2.2.- | Otros. | 70 |
| 9.3.- | Profesiones Relacionadas con la Electricidad o la Electrónica. | 72 |
| 9.3.1.- | Riesgo de leucemia. | 72 |
| 9.3.2.- | Otros tipos de cáncer. | 77 |
| 9.3.3.- | Reproducción. | 81 |
| 9.3.4.- | Otros | 82 |
| 9.4.- | Uso de VDTs. | 83 |
| 9.5.- | Limitaciones y Perspectivas de los Estudios Epidemiológicos. | 87 |
| 10.- | Efectos Biológicos de Radiaciones de Radiofrecuencia. | 88 |
| 10.1.- | Estudios in vitro. | 90 |
| 10.1.1.- | Estudios sobre membranas celulares. | 90 |
| 10.1.2.- | Cerebro y células nerviosas. | 90 |
| 10.1.3.- | Flujo de calcio. | 91 |
| 10.1.4.- | Respuesta inmunológica. | 92 |
| 10.1.5.- | Otros efectos. | 92 |
| 10.2.- | Estudios in vivo. | 93 |
| 10.2.1.- | Efectos neurofisiológicos. | 93 |
| 10.2.2.- | Efectos sobre el sistema inmunitario. | 94 |
| 10.2.3.- | Reproducción y desarrollo. | 95 |
| 10.2.4.- | Barrera hematoencefálica. | 96 |
| 10.2.5.- | Sistema ocular. | 96 |
| 10.2.6.- | Seres humanos. | 96 |
| 11.- | Tablas y Figuras. | 97 |

1.- REVISION HISTORICA.

Definiremos la Bioelectromagnética como el estudio de las fuerzas electromagnéticas generadas por los seres vivos, y de los efectos de los campos electromagnéticos externos, naturales y artificiales, sobre los seres vivos.

Aunque la brújula se empleaba ya para la navegación en el siglo VI antes de nuestra era, no fue hasta el siglo XVI que el magnetismo se abordó de una manera científica.

William Gilbert (1540-1603), fue el primer científico que realizó estudios detallados y cuantitativos sobre el magnetismo. Publicó su tratado "De Magnete Magneticisque Corporibus et de Magno Magnete Tellure Physiologia Nova" en el año 1600. En su trabajo, Gilbert revisó las aplicaciones de la piedra imán o magnetita (llamada así por Magnesia, ciudad de Macedonia, rica en este mineral). Describió las propiedades físicas del imán y los conceptos de ejes y polos magnéticos.

Galvani (1727-1798) descubrió, en 1791, la corriente constante generada por dos metales diferentes en una solución conductora. Demostró que, bajo ciertas condiciones, el tejido vivo puede producir electricidad sin la intervención de contactos metálicos. Sus descubrimientos pasaron desapercibidos hasta que Matteucci, treinta años después, los sacó a la luz y demostró que lo que Galvani había descubierto en su último trabajo era la "corriente de lesión", es decir, la capacidad de producción de corriente eléctrica por el tejido biológico dañado.

En la misma época, Oersted (1777-1851) demostró que una corriente eléctrica constante que circula a través de un hilo conductor produce un campo magnético que se propaga en el espacio desde las inmediaciones del hilo conductor.

Siguiendo las observaciones de Matteucci, Du Bois-Raymond (1818-1896) halló que la estimulación de un nervio producía un impulso eléctrico que se propagaba a lo largo del nervio desde

el punto de estimulación. Sus investigaciones culminaron en el tratado, publicado en 1848, "Researches on Animal Electricity".

Michael Faraday (1791-1867) centró sus estudios en los acontecimientos físicos asociados con los campos magnéticos. Estudió los campos eléctricos y magnéticos generados por los seres vivos y estableció una relación entre estos campos y las funciones fisiológicas de los animales que los generan. De hecho, fundó los conceptos modernos de la ciencia bioelectromagnética.

Bernstein, en 1868, propuso la hipótesis de la diferente polarización de la cara interna y la externa de la membrana de la célula nerviosa, basado este hecho en algún mecanismo que permitiera a la membrana admitir iones de un solo signo. Postuló que el impulso nervioso era una interrupción de esta polaridad, el cuál se propagaba a lo largo de la fibra nerviosa. Esta hipótesis sigue siendo válida.

J.C. Maxwell (1831-1879) descubrió que un campo eléctrico que varía con el tiempo produce una fuerza magnética, no sólo en un medio conductor, como se creía hasta entonces, sino también en un medio aislante o en el vacío. Su "Tratado sobre la Electricidad y el Magnetismo", donde aparecen sus ecuaciones del campo electromagnético, es el resultado de más de veinte años de trabajo. En 1864, Maxwell postuló matemáticamente la existencia de un espectro continuo de campos electromagnéticos en una escala de relación inversa entre frecuencia y longitud de onda.

Según la teoría de Maxwell, la introducción en un dieléctrico de una fuerza eléctrica que varía con el tiempo, produce fuerzas de desplazamiento a la velocidad de la luz. El frente de ondas abarca vibraciones eléctricas perpendiculares a la dirección de propagación y una fuerza magnética perpendicular al desplazamiento eléctrico. Por éso se le llama onda electromagnética.

Sus descubrimientos dieron lugar a multitud de aplicaciones técnicas.

Unos veinte años después del postulado de Maxwell sobre el espectro electromagnético, Hertz (1857-1894) demostró la existencia física de esos campos y su capacidad de transmitirse a través del espacio, sin necesidad de cables.

Mientras tanto, desde finales del siglo XIX, a raíz de las observaciones de Galvani, la electromedicina se utilizaba para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades. Sin embargo, debido al desconocimiento de las leyes, tanto biológicas como físicas, en que se basaba este método terapéutico no era aceptado por la medicina de la época.

En 1929, Berger realizó el primer electroencefalograma humano.

Durante los años treinta y cuarenta los investigadores empezaron a estudiar, experimentalmente, el papel de las fuerzas eléctricas en los procesos biológicos, pero sus experimentos carecían de rigor por falta de instrumentos precisos. La opinión generalizada en la época era que las corrientes eléctricas no producían ningún tipo de efecto sobre los seres vivos.

Los conceptos clásicos de la física no contemplaban ningún modelo de interacción entre cualquier forma de radiación electromagnética no ionizante y los organismos vivos.

Las raíces de los conceptos modernos sobre bioelectromagnetismo se establecieron durante el periodo posterior a la Segunda Guerra Mundial, debido a la puesta en marcha de nuevas tecnologías. En los años cincuenta empezaron a aparecer los primeros estudios epidemiológicos en los que se puso de manifiesto el riesgo para la salud que suponían las radiaciones electromagnéticas de altas frecuencias entre los operadores de radar.

En los años sesenta se pensaba que los efectos adversos,

por radiaciones en el rango de microondas, eran única y exclusivamente, debidos a una elevación de temperatura de los tejidos expuestos. Actualmente se sabe que ésta era una idea equivocada.

El uso de instrumentación, cada vez más precisa, llevó a los investigadores a desarrollar nuevas nociones sobre el papel de la electricidad en los seres vivos.

A principio de los años sesenta se empezaron a estudiar potenciales de corriente, producidos por el sistema nervioso central de la salamandra. Posteriormente, se compararon los potenciales en miembros amputados entre animales capaces y animales incapaces de regeneración, siendo diferentes, unos de otros (Becker, 1961).

Asimismo, se midieron potenciales en tejido óseo, cuando se le fuerza mecánicamente (Bassett, 1962). Esta capacidad de producción de potenciales se relacionó con el crecimiento óseo en respuesta a la tensión.

Todas estas observaciones sugerían la existencia de corrientes continuas, funcionales, en los organismos vivos.

A partir de entonces, las técnicas de estimulación electromagnética de crecimiento óseo, aplicadas a la reparación de fracturas, se vienen utilizando asiduamente. (Para una revisión sobre el tema, véase Dal Monte, 1988).

En 1968, Cohen publicó sus observaciones sobre la existencia de un campo magnético producido por la actividad cerebral. Con el posterior desarrollo del magnetómetro SQUID (Superconducting Quantum Interference Device), en 1969, se han podido medir con precisión estos campos magnéticos (magnetoencefalogramas).

A principios de los años setenta se puso en evidencia una correlación entre inversión del campo geomagnético (CGM) y extinciones masivas de especies. Brown, en 1972 expuso su teoría sobre el papel del CGM como regulador de los ritmos circadianos de los seres vivos. Sus conclusiones no fueron

aceptadas. En 1973 tuvo lugar, por vez primera, una conferencia internacional, organizada por la Academia de Ciencias de Nueva York, que estableció por primera vez la disciplina del Bioelectromagnetismo como científicamente válida. El título de la conferencia fue: "Electrically mediated growth mechanisms in living systems". En ella se presentaron 47 comunicaciones.

Desde entonces, los progresos realizados en esta materia multidisciplinaria han sido enormes. Así, en 1992 tuvo lugar en Florida (EEUU) el "Primer Congreso Mundial sobre Electricidad y Magnetismo en Biología y Medicina", que reunió en uno sólo los congresos anualmente convocados por las cuatro sociedades internacionales dedicadas al estudio del bioelectromagnetismo (BEMS, EBEA, BES y BRAGS). El número de trabajos presentados superó los seiscientos.

Los conceptos de la física clásica no contemplan ningún mecanismo que explique de qué manera campos eléctricos o magnéticos pueden afectar los procesos biológicos. Sin embargo, la evidencia experimental de que estos procesos resultan afectados, es cada vez mayor. Recientemente se han propuesto mecanismos, que comentaremos con más detalle en capítulos posteriores; entre ellos cabe destacar los siguientes:

La interacción del CM con depósitos de magnetita que han sido localizados en múltiples organismos: En 1975, Blakemore describió la presencia de depósitos de magnetita en algunas bacterias. Posteriormente, también se han descubierto en otros organismos, incluido el ser humano (Kirsavichnsky et al., 1992).

La glándula pineal se ha identificado como un órgano magneto-sensible, que puede responder incluso a pequeñas fluctuaciones del CGM (Semm et al., 1980).

También han sido propuestos recientemente mecanismos moleculares, que identifican a la membrana plasmática como

blanco de los campos electromagnéticos (Liboff, 1985; Lednev, 1991; Blanchard y Blackman, 1994).

2.- CONCEPTOS FUNDAMENTALES SOBRE ELECTROMAGNETISMO

2.1.- El Campo Eléctrico (CE)

Cualquier sistema de cargas eléctricas produce un campo eléctrico (E). E es un vector cantidad, es decir, que tiene dirección y magnitud y toma un valor diferente en cada punto del espacio.

Una partícula cargada, situada en un campo eléctrico, experimentará una fuerza (F) que se relaciona con E por la expresión:

$$F = q \times E \quad (1)$$

siendo q la carga eléctrica de la partícula.

La fuerza que se ejerce sobre una carga positiva tiene la misma dirección que E, mientras que la que se ejerce sobre una carga negativa tiene dirección opuesta.

- Unidad de carga eléctrica (q). La unidad de carga eléctrica es el Culombio (C). La cantidad de carga eléctrica más pequeña observada, es la de un electrón ($-1,6 \times 10^{-19}$ C) o un protón ($+1,6 \times 10^{-19}$ C).

- Intensidad de campo eléctrico (E). De acuerdo con la fórmula (1), la intensidad de un campo eléctrico en un punto, es igual a la fuerza por unidad de carga presente en ese punto:

$$E = F/q \quad (2)$$

La unidad es el voltio por metro (V/m).

- Potencial eléctrico (V). Una carga eléctrica colocada en un campo eléctrico tiene energía potencial, debido a su interacción con el campo.

El potencial eléctrico en un punto se define como la energía potencial por unidad de carga localizada en dicho punto. Siendo V , el potencial eléctrico y E_p , la energía potencial, tenemos,

$$V = E_p/q \quad (3)$$

El potencial eléctrico se mide en voltios (V).

- Corriente eléctrica. Una corriente eléctrica consiste en un chorro de partículas cargadas o iones.

A fin de que se produzca una corriente eléctrica, debe aplicarse un campo eléctrico para mover las partículas cargadas en una dirección determinada.

- Intensidad de corriente (I). La intensidad de una corriente eléctrica se define como la carga eléctrica que pasa, por unidad de tiempo, a través de una sección de la región donde ésta fluye. Siendo t el tiempo en el que pasan N partículas, cada una con carga q , a través de una sección del medio conductor, la carga total, Q que ha pasado es,

$$Q = Nq \quad (4)$$

y la intensidad de la corriente es

$$I = Nq/t = Q/t \quad (5)$$

La intensidad se mide en amperios (A). Un amperio es la intensidad de una corriente eléctrica que corresponde al paso de un culombio a través de una sección del conductor, en un

segundo.

- Densidad de corriente (J). La distribución de una corriente en un cuerpo tridimensional se caracteriza por el vector densidad de corriente, J , cuya dirección es la dirección del flujo de corriente y cuya magnitud es igual a dI/dA , donde dI es la corriente que cruza una pequeña superficie de área, dA , orientada perpendicularmente a J . J es directamente proporcional a E , mediante la ecuación:

$$J = \sigma E \quad (6)$$

donde la constante de proporcionalidad, σ es llamada "conductividad eléctrica del medio". Se mide en siemens por metro (S/m). La densidad de corriente se mide en Amperios por metro cuadrado (A/m^2).

2.2.-El Campo Magnético (CM).

Ciertos minerales, como la piedra imán (variedad de la magnetita) tienen la propiedad, concentrada en ciertos lugares del mineral, llamados polos magnéticos, de atraer pequeños trozos de hierro. Un cuerpo magnetizado se denomina imán.

Un imán produce un campo magnético en el espacio que le rodea. Cuando una carga eléctrica se mueve en un espacio donde hay un campo magnético, éste ejerce una fuerza sobre la carga, además de las debidas a sus interacciones gravitacional y eléctrica. Esta fuerza no se ejerce sobre una carga eléctrica en reposo.

La fuerza, F , ejercida por un campo magnético sobre una carga en movimiento es proporcional a la carga eléctrica, q , y a su velocidad, v . Su dirección es perpendicular a la velocidad de la carga.

$$F = qvB \quad (7)$$

En esta ecuación, B es un vector que se determina en cada punto comparando el valor observado de F en ese punto con los valores de q y v .

El vector B puede variar de punto a punto en un campo magnético, pero en cada punto se ha encontrado experimentalmente, que es el mismo para todas las cargas y velocidades.

Cuando la partícula se mueve en una región donde hay un campo eléctrico y uno magnético, la fuerza total es la suma de la fuerza eléctrica, qE , y la fuerza magnética, qvB , es decir,

$$F = q (E + vB) \quad (8)$$

Esta expresión se denomina Fuerza de Lorentz.

Igual que el campo eléctrico, el campo magnético se representa gráficamente por grupos de líneas.

En cualquier punto dado del espacio, tanto la dirección como el módulo de F dependen de la dirección del movimiento de las cargas; en cada instante, el vector fuerza es perpendicular al vector velocidad. Además, el vector fuerza es siempre perpendicular al vector campo magnético, B .

La dirección de la fuerza de Lorentz se puede determinar por medio de la comúnmente conocida como regla de la mano izquierda: si la mano izquierda abierta, con el pulgar separado y los otros cuatro dedos juntos, se coloca de tal forma que el vector B penetre por la palma de la mano y el vector v esté dirigido a lo largo de los cuatro dedos, el pulgar indicará el sentido de la fuerza con que el campo magnético actúa sobre la carga positiva. Sobre una carga negativa, que se mueva en la misma dirección y en el mismo campo, la fuerza actuará en sentido contrario.

Los campos magnéticos se definen mediante dos vectores cantidad, la densidad de flujo magnético, B , y la intensidad de campo magnético, H . Las unidades son el Tesla (T) o el

Gauss (G) ($1 \text{ T} = 10^4 \text{ G}$) para B, y Amperios/metro (A/m) para H.

En el vacío, aire y, aproximadamente, en los materiales no magnéticos tales como tejidos vivos, B y H se relacionan por

$$B/H = 4\pi \times 10^{-7} \text{ (T x m)/A} \quad (9)$$

Ambas expresiones, B y H se usan indistintamente en la literatura.

El flujo magnético para una superficie dada es el producto del área por el componente de la densidad de flujo magnético normal a su superficie. La unidad correspondiente es el weber (wb); $1 \text{ wb} = 1 \text{ T.m}^2$.

2.3.- Campos Eléctricos y Magnéticos Constantes. (DC)

Por constante se entiende una situación en que todas las cargas están inmóviles en el espacio o se mueven en un flujo regular, de tal forma que la carga eléctrica por unidad de volumen o densidad de carga, δ , y la densidad de corriente, J son constantes en el tiempo.

2.4.- Interacción Eléctrica y Magnética.

La relación entre electricidad y magnetismo no fue descubierta hasta el siglo XIX. Se había observado que ambos fenómenos tenían características parecidas. La barra de ámbar, al frotarse, ejerce una atracción electrostática sobre pequeños trozos de papel. El imán atrae trozos de hierro. Una carga eléctrica está rodeada de un campo eléctrico. Un imán crea a su alrededor un campo magnético. El campo alrededor del imán es muy parecido al campo eléctrico que crean dos cargas de signos contrarios. La diferencia estriba en que la carga eléctrica positiva y la carga eléctrica negativa pueden

existir independientemente una de otra, mientras que los polos del imán no pueden separarse.

En 1820, Oersted descubrió que al colocar una aguja magnética cerca de un conductor de corriente eléctrica, la aguja se desviaba. Si las cargas estaban en reposo, la aguja magnética no se movía. La interpretación de este hecho fue que la corriente eléctrica que pasa por el conductor genera una carga magnética.

Por otra parte, según la Ley de Faraday-Henry (1830) sobre el fenómeno de inducción electromagnética, un CM variable en el tiempo (AC) induce en el medio un campo eléctrico (CE) tal, que la fuerza electromotriz (V_E) generada en cualquier conductor expuesto a él es igual a menos la derivada con respecto al tiempo del flujo magnético a través de la superficie limitada por el conductor:

$$V_E = -dB/dt \quad (10)$$

Es decir, la intensidad del CE inducido en el medio por un CM AC es función de la velocidad con que varía el flujo magnético de éste en el tiempo.

Maxwell postuló que los campos electromagnéticos (CEMs) deberían ser capaces de propagarse a través del espacio en forma de ondas.

La frecuencia de un CEM AC se mide en Hertzios (Hz) o ciclos por segundo.

2.5.- El Espectro de Radiaciones (ver Fig. 1).

El quantum es la unidad más pequeña de transmisión de energía electromagnética. Se transmite por el espacio a la velocidad de la luz.

El ojo humano puede ver cuantos de energía desde $4,3 \times 10^{14}$ Hz hasta $7,5 \times 10^{14}$ Hz.

Los dos efectos clásicos de incidencia de los CEMs sobre organismos vivos son ionización y calor. La ionización, o formación de partículas cargadas, ocurre a altas frecuencias, rayos equis y rayos gamma. La ionización puede provocar desorganización del material genético y no genético, conduciendo a muerte celular o mutación. La producción de calor ocurre con radiaciones infrarrojas o microondas.

Las radiaciones ELF, es decir, de frecuencias hasta 300 Hz están muy lejos de producir ionización y en cuanto a aumento de temperatura, para producir una tasa de calor de 1W/Kg, los CEs deben alcanzar niveles entre 10^7 y 10^8 V/m y los CMs entre 1 y 10 T. CEs mayores de 10^6 V/m no pueden ser mantenidos en el aire (tendrían lugar descargas). CMs de 1 T a 10 T se usan en aplicaciones médicas como las de diagnóstico o resonancia magnética nuclear.

Las intensidades máximas de CEMs bajo líneas eléctricas de transmisión de alto voltaje adquieren valores entre 1×10^3 y 15×10^3 V/m y 1×10^{-5} y 5×10^{-5} T. (Aldrich et al., 1987).

3.- FUENTES NATURALES DE CAMPOS ELECTROMAGNETICOS.

Los seres vivos se han adaptado a un medio relativamente estable en cuanto a energía gravitatoria y radiaciones ionizantes cósmicas y locales. Los campos magnéticos naturales forman parte del medio desde el origen de la vida, hace, aproximadamente, 3,5 billones de años.

3.1.- Fuentes Naturales de Campos Eléctricos.

Los campos eléctricos atmosféricos no han sido estudiados en profundidad. Las teorías aceptadas hoy día, consideran la parte baja de la troposfera como el dieléctrico de un condensador de dimensiones terrestres formado por la

superficie de la Tierra, y por la zona baja de la atmósfera, ambas conductoras de electricidad. Este condensador se carga continuamente a razón de unas 100 a 200 descargas por segundo, generadas por las tormentas que se producen simultáneamente en todo el mundo, y que dan lugar a campos eléctricos desde 3 Kv/m hasta 20 Kv/m (Hauf, 1982). Puesto que la atmósfera tiene una conductividad eléctrica finita, el condensador, de cubierta concéntrica, constituye un sistema de condensador--resistencia en paralelo, con una constante de tiempo de aproximadamente 10 milisegundos. El campo eléctrico se mantiene en unos niveles estables aún en ausencia de perturbaciones locales.

La carga neta de la superficie terrestre es negativa, mientras que la atmósfera transporta cargas positivas. El campo eléctrico estático resultante cerca de la superficie terrestre tiene una intensidad de, aproximadamente, 130 V/m (Dolezalek, 1979).

Este campo varía con la altura, siendo alrededor de 100 V/m a 100 m de altura, 45 V/m a 1 Km y menos de 1 V/m a 20 Km. Los valores reales varían ampliamente, dependiendo de la temperatura local, la humedad y la presencia de iones contaminantes. Bajo nubes tormentosas, e incluso cuando se están aproximando, se experimentan grandes variaciones del campo eléctrico a nivel del suelo (Polk, 1974). Normalmente la parte baja de una nube está cargada negativamente mientras que la parte alta contiene cargas positivas; además hay un espacio cargado entre la nube y el suelo. Según se aproxima la nube, el campo, a nivel del suelo, puede aumentar al principio, y luego invertirse, quedando el suelo cargado positivamente. Durante este proceso se pueden generar campos desde 100 V/m hasta 3 KV/m. Las inversiones de campo ocurren en un minuto, aproximadamente, y altas intensidades de campo pueden persistir durante el transcurso de la tormenta.

Existen variaciones diurnas del CE de más de un 200 %.

Son debidas a cambios de temperatura, humedad, o ionización local, así como a la transferencia de cargas por movimientos de aire.

Se encuentran también CEs alternos de bajas amplitudes y frecuencias (1-10 Hz) relacionadas con la actividad tormentosa y con pulsaciones geomagnéticas producidas por corrientes en el interior de la tierra (Sheppard et al., 1977). Para campos de frecuencias superiores a 10 Hz, la amplitud decrece sensiblemente al aumentar la frecuencia (Koenig, 1974).

3.2.- Fuentes Naturales de Campos Magnéticos.

El campo magnético natural es la suma de un campo interno, debido a la actuación de la tierra como un imán permanente, y un campo externo generado por la actividad solar y por factores atmosféricos.

3.2.1.- El campo geomagnético interno (CGM). Origen y Variaciones.

Una barra imantada suspendida de un hilo se orienta siempre en una dirección determinada: Es el principio de la brújula. Fue en el siglo XVI, gracias al investigador inglés, Gilbert, cuando se dio una respuesta científica a este fenómeno.

En su trabajo "De Magnete Magneticisque Corporibus et de Magno Magnete Tellure Physiologia Nova", Gilbert expuso los resultados de sus experimentos. De un trozo de magnetita formó una esfera y estudió la orientación de una aguja magnética suspendida sobre distintas partes de ella. Así llegó a la conclusión de que la Tierra es un enorme imán cuyo eje está dirigido a lo largo del eje terrestre. Este campo tiene dos polos donde su magnitud es mayor, lo que revela que es un campo dipolar.

El CGM puede representarse por medio de líneas de fuerza magnética, como se indica en la Figura 2. Estas líneas describen trayectorias curvas, la mayoría de las cuales emergen en las proximidades del polo Sur y entran por los alrededores del polo Norte.

Como se observa en la Figura 2, los polos magnéticos y geográficos de la tierra no coinciden. Existe la llamada "declinación magnética" o ángulo entre las direcciones de los meridianos magnético y geográfico.

La magnitud del CGM alcanza en los polos magnéticos el valor de 56 A/m, correspondiente a una densidad de flujo magnético de, aproximadamente, 70 μ T, y en el ecuador, unos 28 A/m correspondiente a, aproximadamente, 35 μ T.

- Origen del CGM interno. El proceso que mantiene el CGM es la geodinamo:

Alrededor del núcleo interno sólido de la tierra circula hierro fundido, actuando como una dinamo que genera el campo magnético terrestre. Este hierro líquido, que fluye como el agua y conduce la electricidad mejor que el cobre, levanta tempestades magnéticas. En la superficie de la tierra, a 3000 Km del núcleo, estas tempestades pueden detectarse por variaciones de intensidad del CGM.

Las características de la geodinamo se conocen desde los años cincuenta. Bajo la influencia de la rotación y del calor de la tierra, el hierro fundido circula por el núcleo externo e interacciona con el CGM cuya presencia podemos considerar continua. Esta interacción genera una corriente eléctrica, del mismo modo que se induce una corriente en una espira que se moviera en presencia de un imán. Una vez establecida la corriente, ésta crea, a su vez, un campo que refuerza el campo magnético terrestre. Mientras persistan las fuerzas que resultan, tanto de la rotación de la tierra como de su energía térmica, responsables de la circulación del fluido conductor

en torno al núcleo, aparecerán corrientes eléctricas y existirá un campo magnético terrestre.

- Variaciones del CGM interno. De década en década, el campo se debilita cerca de un uno por ciento. Cada millón de años, más o menos, el campo invierte su polaridad. Durante el último millón de años, el polo Norte magnético se ha desplazado desde la Antártida hasta el Artico. Estos cambios no han podido ser explicados todavía.

También se observan variaciones bruscas del campo magnético en muchos sitios de la superficie terrestre. Estas regiones reciben el nombre de "regiones de anomalía magnética". La causa de las anomalías magnéticas, en la mayoría de los casos es la existencia de grandes masas de minerales magnéticos en el subsuelo.

3.2.2.- El Componente Ambiental del CGM.

Como hemos señalado anteriormente, las tormentas y la actividad solar producen campos magnéticos, variables con el tiempo, en el rango ELF. Estos campos son, generalmente, de bajas intensidades, con una media de, aproximadamente, $10 \mu\text{T}$. Sin embargo, durante las tormentas magnéticas intensas, estos campos pueden alcanzar intensidades del orden de $500 \mu\text{T}$ (Grandolfo y Vecchia, 1985).

Las variaciones del CGM tienen ciclos de 24 horas, 27 días y 11 años.

Hay variaciones diarias, relacionadas con el ciclo lunar, existiendo dos máximas y dos mínimas durante el día.

En la Tabla 1 se resumen las principales características de las variaciones del CGM en el rango de ELF.

3.3.- Posibles Formas de Detección del CGM por los Seres Vivos.

3.3.1.- Efecto Faraday.

Los peces elasmobranquios son capaces de detectar la dirección y polaridad del campo geomagnético mediante electrorreceptores, llamados "ampollas de Lorenzini". Pequeños poros en la piel dan acceso a canales que contienen gelatina, los cuáles acaban en receptáculos sensoriales, que serían las ampollas, propiamente dichas. La pared de los canales ofrecen alta resistencia, mientras que el interior gelatinoso es un buen medio conductor.

Las células receptoras, en la pared de la ampolla, junto con otras de soporte, forman un tejido epitelial sensorial. La membrana apical de las células receptoras recibe el estímulo eléctrico y conduce la excitación a la membrana basal, desde la cual, mediante transmisión química, la señal atraviesa la sinapsis para propagar la información a las fibras nerviosas aferentes (Bennett y Clusin, 1978).

Los elasmobranquios parecen detectar, de esta forma el CGM, mediante transducción de la información magnética a información eléctrica, a través de las "ampollas de Lorenzini". Este mecanismo inductivo electromagnético requiere que el animal esté en un medio altamente conductor, tal como el agua de mar.

El efecto Faraday, para los animales aéreos, requeriría un circuito cerrado de dimensiones milimétricas en el interior de los tejidos del animal (Jungerman y Rosenblum, 1980). No hay ninguna evidencia estructural de la existencia de esos circuitos en animales aéreos.

3.3.2.- Magnetosomas.

Una segunda manera, por la cual los seres vivos podrían detectar el CGM es a través de interacciones magnéticas directas. En este caso necesitarían una sustancia magnética permanente en el interior de sus tejidos.

En 1975, Blakemore observó en bacterias un tipo de conducta no conocido hasta entonces. Se trataba de bacterias acuáticas que se desplazan a lo largo de líneas de campo magnético. Mediante observación por microscopía electrónica se puso de manifiesto la existencia, en estas bacterias, de cristales citoplásmicos que contienen hierro (Frankel y Blakemore, 1979; Towe y Moench, 1981). Posteriormente, se demostró que estos cristales eran de magnetita (Fe_3O_4) y se les denominó "magnetosomas" (Balkwill et al., 1980).

Desde entonces se ha descubierto la presencia de magnetita en todos los organismos en los cuales se ha buscado, incluido el hombre: abejas (Gould et al., 1978), mariposas (Jones et al., 1982), moluscos (Lowenstam, 1962), atunes (Walker et al., 1984), delfines (Zoeger et al., 1981), cetáceos (Bauer et al., 1983), tortugas (A. Perry et al., 1981), palomas (Walcott et al., 1979), pájaros migratorios (Ueda et al., 1982), ratones (Mather y Baker, 1981) y muy recientemente en corteza cerebral y cerebelo de humanos (Kirschvink et al., 1992).

Se han observado dos formas de magnetosomas: prismas octaédricos truncados (Mann et al., 1984 a) o prismas hexagonales truncados (Mann et al., 1984 b).

En algunos tipos celulares, los magnetosomas se encuentran en agrupaciones predominantes en un lado de la célula. En otros, se encuentran a lo largo de una cadena, alineados según el eje de motilidad celular (Mann et al., 1984 a).

3.3.3.- La Glándula Pineal como Magnetorreceptor.

La glándula pineal convierte una señal neuronal en endocrina. La señal neuronal se origina en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, cuya actividad está regulada por el ciclo de luz-oscuridad. Entre las hormonas secretadas por la glándula pineal, la melatonina es la más estudiada. El proceso de síntesis de melatonina es el siguiente: El triptófano se convierte en serotonina, que a través del enzima N-acetiltransferasa (NAT), pasa a N-acetil serotonina. Este compuesto resulta metilado por el enzima hidroxiindol-O--metiltransferasa (HIOMT) para dar lugar a melatonina. Hay un ciclo de 24 horas en la producción de melatonina, siendo la noche la fase más activa.

La función neuroendocrina de la glándula pineal se relaciona con el estrés y la reproducción. Inhibe la síntesis de LH, FSH, prolactina y testosterona. También está conectada con el funcionamiento del hipotálamo, pituitaria, gónadas y las glándulas tiroides y paratiroides. Algunos desórdenes en el comportamiento tienen que ver con su funcionamiento: se ha encontrado asociación entre niveles de melatonina en plasma y síntomas depresivos. La melatonina parece tener un efecto estimulador sobre la función inmunológica. Es un factor que puede reducir el crecimiento y metástasis de algunos tipos de cáncer. Se ha encontrado asociación entre niveles de melatonina y cáncer de mama. Ver Blask (1993) para una revisión de melatonina como un factor endógeno antitumor.

En la actualidad hay multitud de estudios que demuestran una relación entre exposición a campos eléctricos y magnéticos y alteraciones de la función de la glándula pineal. Para una revisión sobre el tema, véase Wilson y Anderson (1990). Se ha observado en ratas una inhibición de la actividad de la NAT, en respuesta a la aplicación de campos magnéticos (Welker et

al., 1983). Se han descrito influencias magnéticas sobre la actividad espontánea de las células pineales en palomas, cobayas y ratas (Welker et al., 1983; Semm, 1983).

Según algunos autores (Rudolph et al., 1988) la reducción de la síntesis de melatonina provocada por los CEMs podría deberse a una previa reducción en el nivel de AMPc en la glándula pineal.

El sistema visual parece estar implicado en la percepción de campos magnéticos a través de conexiones con la glándula pineal: Así se ha observado en: Larvas de *Xenopus laevis* (Leucht, 1987), rata (Olcese et al., 1985), palomas (Semm, 1983), codornices y humanos (Cremer-Bartels et al., 1983).

3.4.- Orientación Mediante el Campo Geomagnético (CGM).

Se ha comprobado que diferentes especies animales son capaces de orientarse mediante coordenadas geomagnéticas:

- Bacterias: Las bacterias magnetotáxicas, es decir, capaces de orientarse, mediante líneas del campo geomagnético, fueron descubiertas por Blakemore en 1975. Esas bacterias se desplazaban hacia el polo sur de un imán, alejándose del polo norte. Se han encontrado bacterias magnetotáxicas en los sedimentos de muchos medios acuáticos.

Esta capacidad, que exhiben las bacterias magnetotáxicas, se ha comprobado en experimentos de laboratorio, aplicando campos magnéticos constantes en una u otra dirección o anulando el CGM.

Kalmijn y Blakemore (1978), usando campos magnéticos constantes, producidos por bobinas de Helmholtz, observaron que las bacterias se desplazaban siguiendo las líneas de campo magnético, esta vez en dirección norte. Si se revertía la dirección de la corriente magnética, las bacterias respondían

girando y orientándose hacia la nueva dirección del campo.

En el hemisferio norte predominan las bacterias que se desplazan de sur a norte. En el hemisferio sur predominan las bacterias que se desplazan de norte a sur (Frankel, 1989, Blakemore et al., 1980). El componente vertical del CGM podría ejercer una selección, favoreciendo las células cuya polaridad (que depende de la orientación del dipolo magnético en la célula, Blakemore y Frankel, 1981) las permite dirigirse hacia los sedimentos y alejarse de los efectos tóxicos de la superficie acuática, rica en oxígeno. En el ecuador geomagnético, donde el componente vertical del CGM es prácticamente nulo, las bacterias exhiben ambas polaridades (Frankel et al., 1981). Según Frankel y Blakemore (1989), el movimiento horizontal resultante, es beneficioso para los organismos al reducir la migración perjudicial hacia la superficie.

- Zooplankton: Se ha observado que las concentraciones de plancton aumentan en las capas más profundas de un lago natural, en el momento en que la luna está más alta (período geomagnético mínimo). En el período de máxima intensidad del CGM, que precede al período en que la luna está más baja, ocurre un desplazamiento de los organismos hacia la superficie.

Se discute la hipótesis de que las fluctuaciones del CGM puedan servir como mecanismo de puesta en marcha de fuerzas magneto-hidrodinámicas que actúan sobre el movimiento de organismos, cargados eléctricamente, que forman parte del plancton (Aleksandrov y Kutikova, 1984).

- Aves: Se ha comprobado que palomas y otras especies de aves utilizan el CGM para orientarse (para una revisión sobre el tema véase Southern, 1988).

Las aves pueden usar el CGM para captar el ángulo de

orientación (Wiltschko et al., 1983) y posiblemente también la latitud o posición a lo largo de una ruta y en relación al lugar de procedencia (Gould, 1982).

Según Keeton et al. (1974), la conducta de dos especies de pájaros migratorios es alterada por ligeros cambios de su entorno magnético. Southern (1972) ha obtenido datos que sugieren una sensibilidad de otro ave migratoria a fluctuaciones magnéticas menores de 0,05 μ T (50 gammas).

Algunos autores han sugerido que el efecto observado sobre la orientación de aves en CMs no se debe a una influencia directa de los CMs, sino que puede estar mediado por el sentido del olfato, quizás modificando las interacciones entre moléculas aromáticas y receptores en la membrana olfativa (Wallraff, 1986; Papi et al., 1988).

Otros autores sugieren que la capacidad de detección de campos magnéticos podría tener lugar en los fotorreceptores y vía núcleo supraquiasmático, núcleo paraventricular e inervación simpática del ganglio cervical superior, influir sobre la secreción de melatonina (Semm, 1988).

- Otras especies: También se ha demostrado la capacidad de orientación mediante el CGM en: abejas (Walker y Bitterman, 1989), termitas (Rickli et al., 1988), moluscos marinos (Lohmann et al., 1987), salamandras (J.B. Phillips, 1986), cocodrilos (Rodda, 1984), peces (M.M. Walker et al., 1986), ratas (Burda et al., 1990), humanos (Baker, 1980), aunque Adler et al. (1985) y Gould et al. (1981) no confirmaron los resultados sobre humanos, y Madden y col. (1987) no encontraron indicios de capacidad para determinar la dirección del CGM en experimentos con zarigüeyas y hamsters.

4.- CAMPOS IMPLICADOS EN FUNCIONES BIOLÓGICAS NORMALES.

Los campos magnéticos y eléctricos en el rango ELF, y las

corrientes asociadas con ellos, juegan un papel importante en muchas funciones biológicas.

La electroencefalografía, medición del potencial eléctrico de las células cerebrales, mediante electrodos colocados en el cráneo del individuo, y la magnetoencefalografía, medición de los campos magnéticos producidos por las corrientes eléctricas que transportan información entre neuronas, mediante la técnica no invasiva (SQUID), han permitido conocer las magnitudes y variaciones de los campos eléctricos y magnéticos cerebrales. En el organismo humano, las frecuencias de los potenciales eléctricos, registrados en la superficie del cuero cabelludo varían de 1 Hz a 50 Hz, aunque son predominantemente inferiores a 20 Hz y las amplitudes varían de 20 a 100 μV . El campo magnético en el cerebro humano es del orden de 10^{-7} μT .

Las bandas de frecuencia, registradas en seres humanos, son las siguientes: Delta, de 1,5 a 3,9 Hz; Theta, de 4,1 a 6,3 Hz; Alfa, de 6,6 a 13,9 Hz y Beta, de 14,2 a 20 Hz.

Las neuronas propagan pulsos de corriente eléctrica a través de vías de longitud variable creando señales eléctricas que afectan las funciones glandular o muscular.

La regeneración del hueso después de una lesión está asociada a corrientes eléctricas estáticas y alternas. Existe un CE muy intenso (con una media de 10^7 V/m) localizado en las membranas celulares, debido a la diferencia de potencial existente entre el interior y el exterior de las células.

Durante las primeras fases de desarrollo embrionario, la masa celular se caracteriza por un alto grado de contactos eléctricos intercelulares y potenciales estáticos, asociados con procesos de diferenciación.

Se pueden medir potenciales estáticos en seres humanos sobre la superficie epidérmica, con valores entre 0,05 pT* y

(*): 1 pT = 10^{-6} μT

50 pT.

La señal más débil que se registra, es la del sistema de Purkinje (unos 0,05 pT). Las respuestas evocadas somáticas y auditivas son, aproximadamente, de la misma amplitud, y por orden de magnitud creciente: La respuesta evocada visual, las ondas cerebrales beta, la actividad media del corazón de un feto, las ondas cerebrales alfa, las ondas cerebrales theta, las ondas cerebrales delta, el miograma de la flexión de los músculos del brazo, el oculograma del campo estable del ojo y la más fuerte de todas las señales, la generada por la actividad cardiaca (unos 50 pT).

5.- FUENTES ARTIFICIALES DE CAMPOS ELECTROMAGNETICOS ELF.

Con la llegada de la era tecnológica, el uso generalizado de la energía eléctrica en el ambiente laboral y en el hogar ha hecho aumentar enormemente los niveles de CEM ambiental.

Los campos producidos artificialmente por el hombre son más intensos que los naturales en muchos órdenes de magnitud. Las fuentes principales de campos electromagnéticos de frecuencias extremadamente bajas (ELF) son las líneas de transmisión de alto voltaje y todos los utensilios que funcionan a través de cables de conducción eléctrica, incluyendo equipamiento industrial, sistemas de comunicación militar y navegación y aparatos electrodomésticos, con una frecuencia de 50 Hz en Europa y 60 Hz en América.

Los campos eléctricos asociados con las líneas de transmisión de alto voltaje y algunos equipos industriales son los más intensos a los que se pueden ver expuestos, de forma crónica, los seres humanos de las sociedades desarrolladas.

Las líneas de alto voltaje operan a valores normalizados de 69, 138, 230, 345, 735, 500, 765, 1200 ó 1500 KV para 60 Hz y 220, 330, 400, 500, o 750 KV, para 50 Hz.

Los campos magnéticos asociados con las líneas de transmisión son del orden de 10 μT a 50 μT a una distancia de un metro, pero cerca de grandes imanes, hornos eléctricos u otros aparatos que emplean corrientes altas, pueden existir campos magnéticos alternos de hasta 1,5 T y constantes de hasta 5 T (Stuchly, 1986).

Los trabajadores de subestaciones eléctricas o los encargados del mantenimiento de las líneas de transmisión, así como las personas que viven cerca de líneas de transmisión de alto voltaje forman un grupo especialmente expuesto, de forma crónica, a campos de altas intensidades.

La mayoría de la población está crónicamente expuesta a densidades de flujo magnético entre 0,05 μT y 0,2 μT y sólo las personas que trabajan cerca de máquinas de alta tensión pueden estar expuestas a niveles que sobrepasan los 0,5 mT durante un periodo importante de su jornada laboral, como los operarios de reactores termonucleares, de generadores de superconducción o de líneas de transmisión (Stuchly, 1986).

5.1.- Campos Eléctricos ELF cerca de las Líneas de Transmisión.

Las líneas de transmisión de energía eléctrica se caracterizan por su voltaje y por la intensidad de la corriente. El voltaje o potencial eléctrico (V) es una medida de la energía potencial que permite que las cargas eléctricas fluyan a través de un circuito. Se mide en voltios (V). La intensidad de corriente (I) es una medida de la tasa de flujo de las cargas eléctricas en un cable de transmisión. Se mide en amperios (A). La cantidad de energía eléctrica que transmite una línea es producto de su voltaje y su intensidad de corriente. Los sistemas eléctricos están diseñados de forma

que el voltaje de la línea se mantenga relativamente constante en el tiempo, mientras que la intensidad puede aumentar o disminuir según la demanda de energía.

Los generadores eléctricos en las centrales eléctricas producen un voltaje de unos 20 KV. Se usan grandes transformadores "de aumento" que incrementan el voltaje para la transferencia de energía a grandes distancias mediante líneas de transmisión de alto voltaje.

Las líneas de transmisión operan a voltajes de hasta 1500 KV y transportan intensidades de corrientes de más de 2000 Amperios. Normalmente, están montadas sobre estructuras de metal o madera a unos 50 metros de altura. Las líneas de transmisión pasan por subestaciones donde unos transformadores "de reducción" transfieren la energía eléctrica de bajo voltaje a las líneas de distribución. Estas líneas distribuyen la energía, a través de centros de carga, hasta los usuarios. Los sistemas de distribución comprenden dos circuitos diferentes: 1) Un circuito "primario" (5-35 KV) que distribuye la electricidad desde la subestación hasta un transformador local de distribución, subterráneo o mediante postes y 2) un circuito "secundario" de bajo voltaje que distribuye la energía eléctrica desde el transformador local hasta los hogares. El voltaje de este circuito secundario es de 115 o 230 V.

Las líneas de transmisión y distribución inducen, en el espacio que las rodea, campos eléctricos transversales de alta impedancia es decir, campos que inducen flujos de corriente débiles en los objetos cercanos.

El CE puede alcanzar un máximo de 10 KV/m. Los parámetros más importantes para determinar la fuerza de campo en un punto, son la altura y la distancia lateral con respecto a la línea de transmisión.

En la Tabla 2 se dan valores de intensidad del CE a 0,5 m y 1,5 m sobre el nivel del suelo a varias distancias laterales de una típica línea de transmisión, trifásica.

5.2.- Campos Magnéticos ELF cerca de las Líneas de Transmisión.

En ausencia de materiales ferromagnéticos, las líneas de campo magnético son solenoides, es decir que forman círculos concéntricos con el filamento que transporta la corriente, en el centro.

El campo magnético generado por un conductor de corriente, recto y de una longitud infinita, tiene una intensidad dada por:

$$H = I / 2\pi R \quad (11)$$

donde H es la fuerza de CM (en amperios por metro), I, la corriente (en amperios), y R, la distancia radial desde el conductor (en metros). Esta fórmula es válida para los cálculos de CM de las líneas de transmisión y distribución. La máxima densidad de flujo magnético por unidad de corriente, a nivel del suelo, para los sistemas de transmisión de energía eléctrica, usados generalmente, es aproximadamente, 10 nT/A; por lo tanto, la máxima densidad de flujo magnético, a nivel del suelo, asociado con las líneas de transmisión, es del orden de 10 μ T a 50 μ T y depende de la altura de la línea y de la corriente que fluye por el cable de transmisión.

La fuerza del campo magnético decrece con la distancia, como se observa en la Figura 3 en la que se muestra el perfil de los tres componentes del CM (vertical, horizontal, y axial) a una altura de 1,5 m. sobre el nivel del suelo, bajo una línea de 765 KV y 60 Hz a 15,5 m. de altura.

5.3.- Campos Magnéticos y Eléctricos ELF en el Ambiente Doméstico

En el último decenio ha crecido el interés por los campos magnéticos en el interior de los hogares a causa de ciertos estudios epidemiológicos que indican una relación entre intensidad de campo magnético y cáncer (Wertheimer y Leeper, 1979 y 1982; Savitz et al., 1988; Feychting y Ahlbom, 1993).

El campo magnético en el interior de una casa está sujeto a variaciones horarias, estacionales y otras, dependiendo del uso de la corriente. Wertheimer y Leeper (1982), en Estados Unidos, donde la red eléctrica es de 60 Hz y 120 V, midieron el campo en el interior de numerosas casas, llegando a un valor medio para densidad de campo magnético de 0,25 μT en casas cercanas a configuraciones de alta corriente. Otras casas tenían un valor medio de menos de 0,05 μT .

Medidas de CM, llevadas a cabo en el interior de las viviendas, en Estados Unidos, han indicado valores medios de, aproximadamente, 0,1 μT . Los valores medios de CMs procedentes de los aparatos electrodomésticos, durante su uso, oscilan entre 0,9 μT y 2 μT (Silva et al., 1988), o desde 0,03 μT a 27 μT con un 95 % de las medidas por debajo de 10 μT , a una distancia de 30 cm (Gauger, 1985).

La Tabla 3 presenta valores de densidades de flujo magnético producido por algunos aparatos electrodomésticos, a 60 Hz.

En los hogares, los campos eléctricos son normalmente menores de 10 V/m, excepto a menos de 1 m de los cables eléctricos y aparatos electrodomésticos, donde se pueden medir campos de varios cientos de voltios por metro.

En la Tabla 4 se muestran valores de intensidad de CE en la proximidad de algunos aparatos electrodomésticos.

Los campos eléctrico y magnético decrecen con la distancia, pero en muchos casos, el aparato eléctrico se

utiliza casi en contacto directo con el cuerpo, como ocurre, por ejemplo con los secadores de pelo o las mantas eléctricas, e inducen corrientes en el cuerpo que pueden ser comparables a las inducidas por el CE de una línea de transmisión.

A estos niveles de CEMs ambientales domésticos, hay que sumar la contaminación exterior procedente de la proximidad de líneas de transmisión eléctrica o de estaciones emisoras de radio y televisión.

5.4.- Campos Electromagnéticos ELF en el Ambiente Laboral.

Existen grupos de trabajadores sometidos a fuertes intensidades de CEMs. Por ejemplo, en la industria electrolítica un operador puede estar sometido a densidades de flujo magnético tan altas como 50 mT (Grandolfo y Vecchia, 1985).

Procesos industriales basados en nuevas tecnologías también pueden implicar exposiciones a campos magnéticos altos: Los operadores de reactores de fusión pueden estar expuestos a un nivel de CM de 6 mT o los de aceleradores de partículas que pueden recibir niveles de CM tan altos como 0,50 T o 1,5 T. Lovsund y col. (1982) han descrito CMs desde 8 mT hasta 70 mT en la industria del acero, en Suecia.

También en las inmediaciones de calentadores inductivos para procesos térmicos de tubos electrónicos de alta potencia y lasers, que se usan en la industria, se han medido campos eléctricos y magnéticos. La potencia, según el tipo de inductor, variaba entre 2,5 KW a 15 KW, operando a frecuencias entre 300 KHz y 790 KHz. Se midieron intensidades de CE de hasta 8 KV/m y de CM de hasta 20 A/m (Andreuccetti et al., 1988).

En las oficinas, existe otra fuente característica de

contaminación electrónica: las pantallas de ordenador o VDTs. En los últimos años se ha incrementado enormemente el uso de los ordenadores en los trabajos de oficina, con lo que miles de personas están sometidas diariamente a valores de CMs que dependen de la proximidad a la pantalla, del tiempo de exposición, y del tipo de ordenador. Se han medido densidades de flujo magnético a 30 cm de la pantalla de hasta 0,7 μ T (Tofani et al., 1991).

5.5.- Aplicaciones Terapéuticas.

Los recientes avances en medicina incluyen el uso de CMs AC para el tratamiento de fracturas óseas y medidas de tasas de flujo sanguíneo. Las densidades de flujo usadas en estas técnicas oscilan entre 1mT y 10 mT.

El fenómeno de la resonancia magnética nuclear (RMN) se conoce desde 1945, y desde entonces se utiliza en análisis químicos, determinación de estructura molecular y en investigaciones sobre movimientos moleculares en materiales sólidos y líquidos. Desde 1980 se utiliza también en la clínica como un método no invasivo de análisis bioquímico tisular, bien mediante la obtención de espectros de moléculas para estudios de metabolismo, o de imágenes bidimensionales y tridimensionales de un determinado órgano.

La RMN se basa en la capacidad de absorción de radiación electromagnética de radiofrecuencia, por parte de los núcleos atómicos, cuando éstos se sitúan en un campo magnético fuerte.

Para la obtención de imágenes, se aplica un CM constante y después, un campo magnético variable con el tiempo.

Durante el procedimiento, que dura unos diez minutos, el paciente reposa acostado sobre una mesa y todas las partes del cuerpo quedan expuestas a las radiaciones, que son del orden de 0,07 T hasta 2 T. (Budinger, 1981)

6.- INTERACCIONES FISICAS DE CAMPOS ELF CON LOS ORGANISMOS.

El cuerpo humano contiene cargas eléctricas libres (sobre todo en los fluidos ricos en iones, tales como la sangre y la linfa) que pueden moverse como respuesta a fuerzas ejercidas por cargas o corrientes ambientales, como las producidas por las líneas de transmisión de electricidad o los aparatos eléctricos. Los procesos que originan estas corrientes corporales, se conocen como inducción eléctrica y magnética.

6.1.- Inducción Eléctrica.

En la inducción eléctrica, las cargas de un cable conductor o de un aparato eléctrico, atraen o repelen las cargas libres intracorporales. Dado que los fluidos corporales son buenos conductores de electricidad, las cargas se mueven hacia la superficie corporal bajo la influencia de esta fuerza eléctrica. Puesto que, en las líneas de transmisión eléctrica, la carga cambia de signo varias veces por segundo, el signo de las cargas inducidas en la superficie corporal cambiará también. Las cargas negativas, inducidas en la parte superior del cuerpo, fluirán hacia la parte inferior. De esta forma, se producen corrientes en el interior del cuerpo y cargas en su superficie en respuesta a campos ambientales.

La Tabla 5 muestra los valores aproximados, de CE medio (de 0,7 a 2,7 KV/m) y máximo (de 3,7 a 18 KV/m), producido por un CE vertical de 1 KV/m, sobre la superficie corporal del hombre y diferentes especies animales.

6.2.- Inducción Magnética.

Al contrario de lo que ocurre con la exposición a CE, los cuerpos de los seres vivos no perturban, de una forma mensurable, un CM ELF al cual están expuestos. Hay dos razones

que explican ésto: 1) Los tejidos vivos no contienen cantidades significativas de materiales magnéticos, y por lo tanto, sus propiedades magnéticas son casi idénticas a las del aire. 2) La modificación del CM aplicado, debido a CMs secundarios, producidos por corrientes inducidas en el cuerpo del sujeto es muy débil (Kaune, 85).

Según la ley de Faraday, los CMs AC generan CEs mediante inducción. Por lo tanto, un organismo vivo expuesto a un CM también estará expuesto a un campo eléctrico inducido que produce las llamadas corrientes "eddy" o espúreas, en su interior. Estas corrientes son circulares y perpendiculares a la dirección del campo magnético (Tenforde, 1986). Son mayores cerca de la superficie corporal y menos intensas en el centro.

Normalmente, para hacer cálculos de inducción magnética o eléctrica se emplean maniqués con forma, volumen y peso lo más parecido posible a un ser humano. En el torso de un modelo humano, en contacto con el suelo, y expuesto a un CE de 10 KV/m y 60 Hz, se ha calculado una densidad de corriente de, aproximadamente, 3×10^{-3} A/m². Asumiendo una conductividad media tisular de unos 0,2 S/m el CE máximo sería de unos 15 mV/m (Kaune y Gillis, 1981).

La magnitud de la carga de superficie y de las corrientes corporales internas inducidas dependen de factores como la magnitud de las cargas y corrientes de la fuente de exposición, la distancia del cuerpo a la fuente, la presencia de otros objetos que podrían apantallar o concentrar el campo, forma, orientación, postura del cuerpo y propiedades eléctricas de los tejidos. Por esta razón, las cargas de superficie y las corrientes inducidas son muy distintas de un organismo a otro.

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS CAMPOS DC Y AC.

Debido al creciente interés que los posibles efectos de los CEMs sobre la salud suscitan en la comunidad científica y la opinión pública, en esta memoria se expondrán, exhaustivamente, los estudios experimentales, tanto in vitro como in vivo, así como los estudios epidemiológicos de los que disponemos hasta la fecha.

7.- EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS CAMPOS ESTÁTICOS (DC).

Los seres vivos están permanentemente expuestos a un campo magnético estático: el campo magnético terrestre. Como se dijo previamente, este campo tiene una intensidad de 30 μ T a 70 μ T, dependiendo de la latitud. También varía con el tiempo, dependiendo de la actividad solar y muestra variaciones locales, llamadas anomalías magnéticas. Otros campos eléctricos o magnéticos DC naturales proceden de la actividad tormentosa, etc. pero los de mayor magnitud son los de origen artificial, por ejemplo el CM DC usado en la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) (véase el Apartado 5.5. de la Introducción).

7.1.- Efectos Biológicos de Campos Magnéticos DC.

7.1.1.- Estudios in vitro.

Se ha observado fenómenos de orientación en campos magnéticos superiores a 1 T en diferentes tipos celulares: Fibras musculares (Arnold et al., 1958), cloroplastos (Geacintov et al., 1971), bastones (Chagneux et al., 1977; Chambre, 1978), eritrocitos (Murayama, 1965), membranas (Hong, 1977), ácidos nucleicos (Maret et al., 1977).

También se ha observado que cultivos celulares expuestos

a fuertes campos magnéticos de 4×10^3 T inducen transformaciones morfológicas e inhibición de la síntesis de ADN en linfocitos murinos, y supresión de la síntesis de hemoglobina en células de eritroleucemia Friend (Malinin et al., 1976)

7.1.2.- Estudios in vivo.

Hemos descrito en el apartado 3.4 de esta Introducción que algunas especies animales poseen la capacidad de orientarse en un campo magnético constante. Otros efectos observados son los siguientes:

Potenciación de la respuesta inmunológica en ratas expuestas a CMs de 600 G. (Jankovic et al., 1991).

Cambios en la orientación (Veneziano, 1965, Saali y Juutilainen, 1988) e inducción de anomalías (Joshi et al., 1978), en embriones de pollo expuestos a CMs entre 110 μ T y $3,1 \times 10^3$ μ T (Veneziano, 1965), 34 μ T (Saali et al., 1988) y 500 mT (Joshi et al., 1978).

Efectos fisiológicos: Aumento reversible de la amplitud de señal de la onda T en electrocardiogramas de monos Macaca expuestos a CMs de intensidades entre 0,1 T y 1,5 T (Tenforde et al., 1983); Aumento o disminución del ritmo cardíaco en humanos, por exposición a un CM de 2 T (Jehenson et al., 1988) o a una combinación de campos eléctricos y magnéticos de 9 Kv/m y 20 T (Graham et al., 1987), respectivamente.

7.2.- Efectos Biológicos de Campos Eléctricos DC.

7.2.1.- Estudios in vitro.

El efecto de galvanotropismo y galvanotaxis es bien conocido: Muchos tipos de células responden a CE's débiles, mediante cambios de forma y orientación respecto a las líneas

de campo (galvanotropismo). Algunas células migran en una dirección determinada (galvanotaxis), generalmente hacia el cátodo, aunque otras lo hacen hacia el ánodo. Algunas de estas células manifiestan galvanotaxis a intensidades tan bajas de CE como 80 mV/cm, es decir, en el rango de intensidades eléctricas fisiológicas, encontradas en tejidos biológicos. Se ha hipotetizado que esas corrientes eléctricas fisiológicas podrían constituir un método de comunicación intercelular a larga distancia.

Se han encontrado fenómenos de galvanotropismo y galvanotaxis en una amplia variedad de células: Células de la cresta neural (Stump et al., 1983; Nuccitelli et al., 1983; Cooper et al., 1984); Células nerviosas (Jaffe et al., 1979; Patel et al., 1982; Mc Caig, 1986); Fibroblastos (Soong, H.K., 1990; Yang et al., 1984; Erickson et al., 1984; Ross et al., 1989); Leucocitos (Orida et al., 1982); Células epidérmicas (Robinson, 1985; Cooper et al., 1986; Luther et al., 1983); Mioblastos (Hinkle et al., 1981); Osteoclastos y osteoblastos (Ferrier et al., 1986).

Para una revisión sobre el tema, véase (Robinson, 1985 y Nuccitelli, 1988).

Otros efectos observados son los siguientes:

Promoción del crecimiento axonal mediante un CE de baja intensidad, aplicado directamente mediante electrodos en médula espinal de conejillos de India (Borgens et al., 1986) y en ratas (Politis, et al. 1988).

7.2.2.- Estudios in vivo.

Estudios sobre reparación de tejido blando han mostrado que la aplicación de un electrodo negativo a una úlcera evitaba la infección, mientras que un electrodo positivo estimulaba la regeneración (Rowley et al., 1974).

Se han observado efectos antitumorales en el tratamiento de tumores murinos con un campo DC de 0,6 mA (Miklavcic et al., 1990).

8.- EFFECTOS BIOLÓGICOS DE CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS ELF.

Hasta la mitad de los años 70, en los países occidentales, no había ningún dato acerca de efectos biológicos de campos magnéticos o eléctricos ambientales, producidos por el uso de la energía eléctrica; en la URSS ya se había realizado algún estudio en los años sesenta (Asanova y Rakov, 1966; Sazonova, 1967). En el año 1978 la Organización Mundial de la Salud, concluyó que no había ningún mecanismo de acción conocido por el que campos magnéticos ambientales pudieran afectar directamente a los seres vivos.

Esto es debido, en parte, al hecho de que estos campos transfieren, solamente, pequeñas cantidades de energía a las células y, por lo tanto, no pueden romper uniones químicas, como lo hacen las radiaciones ionizantes. Estos campos tampoco generan suficiente energía como para calentar la célula, como lo hacen las radiaciones microondas o de radiofrecuencia.

Sin embargo, desde hace unos 15 años, las evidencias de que los CEMs débiles pueden tener efectos sobre los seres vivos, se han venido produciendo en número considerable. En el año 1990, la Agencia para la protección del medio ambiente (EPA) de Estados Unidos concluyó que la exposición a los CEMs ELF es un probable factor de riesgo cancerígeno.

En cuanto a los posibles mecanismos biológicos de actuación, se manejan hipótesis, que discutiremos más adelante.

En el estudio de los efectos de la exposición a los campos electromagnéticos se pueden considerar tres categorías:

- 1) Experimentos "in vitro": Experimentos de laboratorio,

que utilizan cultivos celulares o tisulares, expuestos a los campos.

2) Experimentos "in vivo": Experimentos realizados, o no, en el laboratorio, sobre animales vivos o seres humanos, bajo exposición a los campos. En este apartado incluiremos los efectos terapéuticos de los campos.

3) Estudios epidemiológicos, que implican poblaciones humanas expuestas a CEMs en el trabajo (estudios ocupacionales) o en el hogar (estudios residenciales).

8.1.- Estudios in vitro

Los efectos de campos eléctricos y magnéticos sobre sistemas in vitro están siendo estudiados en muchos laboratorios. Estos estudios permiten el manejo de grandes muestras y un control adecuado de las variables experimentales. Sin embargo, no resulta fácil extrapolar resultados a organismos y especialmente a seres humanos.

Diferentes experimentos in vitro (Smith et al., 1987; Blackman et al., 1985) e in vivo (Delgado et al., 1982; Ubeda et al., 1983; Thomas et al., 1986) han mostrado que algunos efectos biológicos dependen de combinaciones específicas de frecuencia y/o intensidad de campo. Son los llamados "efectos ventana", característicos de la interacción entre energía electromagnética y sistemas biológicos, a diferencia de lo que ocurre con los agentes químicos, con los que normalmente se obtiene una curva dosis-respuesta, aunque algunos efectos producidos por los CEMs también obedecen al modelo dosis-respuesta.

Los estudios experimentales de los efectos de la exposición de cultivos celulares a campos ELF, se pueden dividir en siete secciones:

1) Modulación de flujos iónicos.

- 2) Efectos sobre ácidos nucleicos.
- 3) Proliferación celular, ciclo celular, diferenciación, cáncer.
- 4) Regeneración.
- 5) Membrana y proteínas de membrana.
- 6) Efectos sobre AMPc.
- 7) Tejido endocrino.

8.1.1.- Modulación de flujos iónicos, especialmente calcio.

El ion calcio juega un papel importante en muchos procesos biológicos a nivel celular. En los últimos años ha habido un gran incremento en el número de estudios acerca de los efectos de los CEMs sobre el transporte de calcio:

Los primeros trabajos sobre este tema corresponden a Bawin y Adey (1976), que observaron una disminución del flujo de calcio hacia el exterior de la célula, en preparaciones de tejidos cerebrales de pollo expuestos a campos eléctricos de una determinada frecuencia e intensidad.

Posteriormente, Blackman y colaboradores observaron un cambio en el flujo de calcio de los hemisferios cerebrales de pollo, expuestos a CEMs, pero esta vez consistía en un aumento del flujo hacia el exterior, en vez de una disminución, mostrando también complejos efectos "ventana" para frecuencia e intensidad (Blackman et al., 1979, 1982, 1985 a, 1985 b y 1990).

En 1985, Blackman introduce la variable "campo geomagnético local" (CGML) como un parámetro a tener en cuenta en este tipo de estudios. Observa respuestas en función de la frecuencia del CEM y la intensidad del CGML.

Basándose en los resultados de Blackman y Bawin, Liboff postula la hipótesis de "resonancia de ciclotrón para iones", según la cuál determinadas combinaciones de frecuencia del CM

ELF e intensidad del CM DC pueden afectar el flujo de una especie iónica dada (Liboff, 1985).

La teoría ha sido confirmada experimentalmente por algunos autores: Smith et al. (1987) y Reese et al. (1991), en diatomeas, cuyo movimiento depende de la cantidad de calcio transportado a través de la membrana celular. Ross et al. (1990) obtuvieron una reducción de la proliferación celular, en fibroblastos de ligamento de conejo en condiciones de resonancia para iones calcio. Rochev et al. (1990) encontraron una aceleración del crecimiento de fibroblastos sin alteración del crecimiento de células linfoblastoides bajo condiciones de resonancia para iones calcio y una reducción en la tasa de proliferación de células linfoblastoides, en condiciones de resonancia para iones potasio. Blasiak et al. (1990) obtuvieron un aumento o una disminución del flujo de calcio hacia el exterior de la membrana, en cultivos de cerebro de pollo, dependiendo de la magnitud del CGML. Smith et al. (1991) observaron modificaciones de flujos de calcio, potasio y magnesio en cultivos de fémur de pollo bajo exposición a CMs en resonancia con dichos iones.

Otros autores no observan ningún efecto, bajo condiciones de resonancia de ciclotrón: Parkinson y col. (1989) no observan cambios en la concentración de calcio en el interior celular de cuatro líneas celulares de rata en condiciones de resonancia para calcio. Durney et al. (1992) no encuentran fenómenos de resonancia de ciclotrón en membranas fosfolipídicas sintéticas sin canales iónicos y Sandblom et al. (1989) tampoco, en membranas artificiales con canales.

Se han realizado otros estudios sobre flujo de calcio en respuesta a CMs:

Aumento de la incorporación de calcio a macromoléculas de la matriz extracelular en cultivos de condroblastos hipertróficos de la epífisis tibial, esternón y fibroblastos de piel de embriones de pollo, expuestos a CEMs pulsados,

similares a los usados en el tratamiento óseo (Norton et al., 1988). Alteración de la dinámica de calcio citosólico en cultivos de células de osteosarcoma de rata (ROS 17/2.8) expuestos a campos eléctricos sinusoidales de baja frecuencia (McLeod et al., 1991). Reducción del flujo de calcio en islotes de Langerhans de conejo, expuestos a campos similares a los usados en el tratamiento óseo (Jolley et al., 1983). Recientes estudios muestran un aumento o una inhibición de la entrada de calcio en linfocitos humanos, estimulados con mitógenos, dependiendo del valor del campo eléctrico y de la edad del donante (Walleczek et al., 1990 y 1992). Carson et al. (1990) encontraron un aumento del calcio citosólico en células HL-60 expuestas a CEMs pulsados.

Estudios sobre el comportamiento de otros iones son los siguientes: Reducción o aumento del flujo de sodio de la mucosa a la serosa de epitelio de colon de conejo, dependiendo de la orientación del tejido respecto a las líneas de un CEM pulsado, similar a los descritos para la reparación de fracturas óseas. (Collis et al., 1988). Reducción de la entrada de potasio en cultivos de células de ovario de hamster chino expuestas a CEMs de 0,5 G a 8 G o a CEMs de 60 Hz (Stevenson et al., 1985). Modificaciones en la actividad de transporte de aminoácidos y electrolitos a través de la membrana celular de piel de rata de 21 días, expuesta a un CEM pulsado (De Loecker et al., 1989).

8.1.2.- Efectos sobre ácidos nucleicos.

Algunos estudios, realizados en su mayoría por el grupo de Reba Goodman, han mostrado cambios significativos en la transcripción de RNA :

Inducción de la transcripción, en cromosomas de las

glándulas salivares del díptero "Sciara coprophila", expuestos a diferentes pulsos electromagnéticos (Goodman et al., 1983, 1986, 1987 y 1988). Aumento de la transcripción de c-myc, histona H2B (Wei et al., 1990 y Goodman et al., 1991) y b-actina (Goodman et al., 1989), en cultivos de células humanas HL-60 expuestas a CEMs sinusoidales.

Aumento transitorio de la tasa de síntesis de ARN total en cultivos de células humanas HL-60, expuestas a un CEM sinusoidal (Krause et al., 1991). Aumento del contenido de ARN total y de la síntesis de ARNm en cultivos de células humanas de la línea T-linfoblastoide, CCRF-CEM, expuestas a un CEM pulsado (Phillips et al., 1991).

Respecto a la tasa de síntesis de ADN, se ha encontrado un aumento de la misma en los siguientes medios celulares:

Eritrocitos de rana, expuestos a un CEM similar a los usados en la reparación ósea (Chiabrera et al., 1980); Cultivos de fibroblastos humanos expuestos a campos sinusoidales, con intensidades comparables a las del campo geomagnético (Liboff et al., 1984); Cultivos de células de hamster chino, V79, expuestas a CEMs pulsados de diferente amplitud y frecuencia (Takahashi et al., 1986); Células cancerosas de colon humano, expuestas a un CM sinusoidal de 60 Hz (Winters, 1986); Osteoblastos de ratón (MC3T3-E1), sometidos a campos eléctricos de alto voltaje, mediante un mecanismo, que según los autores, parece implicar iones calcio (Ozawa et al., 1989).

En experimentos diseñados para determinar si los campos ELF son capaces de dañar directamente el DNA, no se ha observado ningún efecto, ni en células CHO expuestas a campos eléctricos y magnéticos de 60 Hz (Reese et al., 1988), ni en linfocitos humanos (Cohen et al., 1986), sin embargo D'Ambrosio et al. (1985 y 1988) observaron aberraciones

cromosómicas en cultivos de linfocitos bovinos expuestos a un CE de 50 Hz.

8.1.3.- Proliferación celular, ciclo celular, diferenciación y cáncer.

Los linfocitos han sido el modelo celular más estudiado en las investigaciones sobre los efectos de los campos ELF en la proliferación celular porque sus condiciones de cultivo, factores de crecimiento, así como sus características biofísicas son bien conocidas:

Se ha observado un aumento de la proliferación celular, sólo en células previamente estimuladas con mitógenos, en linfocitos periféricos humanos expuestos a campos pulsados (Emilia et al., 1985; Cossarizza et al., 1989 b). Estos resultados podrían explicarse, al menos en parte, por una anómala producción y utilización de linfoquinas (Cossarizza et al., 1989 a). Conti et al. (1983 y 1986) y Mooney et al. (1986) obtuvieron resultados opuestos, es decir, una disminución de la proliferación en linfocitos humanos activados con mitógenos, expuestos a un CM de onda cuadrada.

Otros resultados sobre proliferación celular son los siguientes:

Incremento de la tasa de crecimiento en cultivos de células endoteliales humanas expuestas a CEMs pulsados (Yen-Patton et al., 1988). Inhibición o estimulación de la proliferación celular, dependiendo de los parámetros de campo, en cultivos de fibroblastos de ligamento de conejo. (Ross, 1990). Incremento de la proliferación celular en cultivos de tibia de pollo y en cultivos de calvaria expuestos a un campo eléctrico de baja amplitud y frecuencia (Fitzsimmons et al., 1986 y 1989). Estimulación de la división celular en "Paramecium tetraurelia", expuestos a CEMs pulsados similares a los usados en el tratamiento de fracturas óseas (Dihel et

al., 1985).

Estudios epidemiológicos indican una relación entre cáncer y exposición a CEMs (véase, el apartado 9 de la Introducción). Estudios in vitro apoyan la hipótesis de que los CEMs podrían ser promotores o copromotores cancerígenos:

Cain y col. (1992) han mostrado que CEMs de 60 Hz pueden jugar un papel de copromoción en la carcinogénesis promovida por ésteres de forbol. Se ha observado inhibición de la citotoxicidad de linfocitos-T del tipo CTLL-1, de ratón (que atacan específicamente células cancerosas), expuestos a campos eléctricos de 60 Hz. El grado de inhibición dependía de la intensidad del CE aplicado (Lyle et al., 1986). Aumento de la síntesis de ADN y de la capacidad proliferativa de células cancerosas de colon humano expuestas a un CM sinusoidal de 60 Hz (Winters, 1986). Aumento de la actividad de ornitina decarboxilasa (ODC) (enzima que regula la biosíntesis de poliaminas y cuyos niveles aumentan en células o tejidos en proceso de crecimiento y durante la promoción tumoral), en cultivos de células humanas de linfoma, en células de mieloma de ratón, y aumento (después de dos horas de exposición), o disminución, (después de tres horas) en células de hepatoma, expuestas a CMs de 60 Hz (Byus et al., 1987). Campos similares aumentaban el crecimiento de fibroblastos de ratón, preincubados con un promotor tumoral químico (Cain et al., 1988). Se ha observado un incremento en el número y actividad tumoral de células hepáticas, no parenquimales, de rata, expuestas a CMs pulsados. (Malter et al., 1987). Sin embargo, Omote y col. en 1990 observaron potenciación del efecto antitumor de mitomicina C en cultivos de fibrosarcoma "KMT-17" y carcinoma hepatocelular "KDH-8", en ratas expuestas a un CEM pulsado. Akamine y col. en 1985 hallaron aumento del crecimiento, e inhibición de la diferenciación, inducidos por ácido retinoico, en células embrionarias de carcinoma murino

de la línea celular "F9", expuestas a CEMs pulsados, similares a los usados en el tratamiento de fracturas óseas.

Los campos electromagnéticos ELF, pueden también alterar el índice mitótico y el ciclo celular en un gran número de tipos celulares y especies:

Aumento de la duración del ciclo celular y disminución de la tasa de respiración (E.M. Goodman et al., 1976 y 1979; Greenebaum et al., 1982), o aumento de la tasa de respiración (E.M. Goodman et al., 1984), dependiendo de la duración de la exposición, en cultivos de amebas "Physarum polycephalum" expuestos a CEMs de 75 Hz.

Se han encontrado efectos sobre la diferenciación celular:

Estimulación de la diferenciación en: Cultivos de células de melanoma murino de la línea celular Cloudman S91, expuestas a CEMs pulsados, similares a los usados en la reparación de fracturas óseas (Jones et al., 1986), cultivos de fibroblastos humanos (HH-8, W138 y W138SV40), mediante exposición a CEMs sinusoidales o pulsados (Rodemann et al., 1989).

Se ha observado dediferenciación de eritrocitos de rana, expuestos a un CEM (Chiabrera et al., 1980)

8.1.4.- Regeneración.

Dado que los campos pueden aumentar la tasa de síntesis de ADN, de ARN, la proliferación celular y la diferenciación, como hemos visto, podrían ejercer efectos positivos sobre regeneración tisular. Sin embargo, los estudios sobre esta cuestión son escasos:

Se ha observado neovascularización en cultivos de células endoteliales de vena umbilical humana, expuestos a CEMs pulsados (Yen-Patton et al., 1988) y un aumento significativo

de crecimiento de neuritas, en cultivos de ganglio de embriones de pollo por exposición a un CEM pulsado de 2 Hz (Sisken et al., 1990).

8.1.5.- Efectos sobre membrana y proteínas de membrana.

Numerosos resultados experimentales sugieren que la membrana celular es el sitio principal de interacción entre los campos ELF y los organismos (Adey, 1975, 1980, 1981 y 1990; Bawin et al., 1978).

Se ha observado un aumento de la carga negativa y disminución de la hidrofobicidad de la membrana celular en cultivos de amebas "Physarum polycephalum" expuestos a campos eléctricos o magnéticos de 60 Hz (Goodman et al., 1986; Marron et al., 1988), y aumento de la carga negativa de membrana, sin cambios en la hidrofobicidad, en cultivos de la línea celular humana, no adherente "U937" expuestos a un CM pulsado (O.M. Smith et al., 1991).

En cuanto a receptores de membrana, se ha descrito un incremento en el número de receptores para transferrina, en cultivos de las líneas celulares "Colo 205" y "Colo 320 DM", derivadas de adenocarcinomas del colon, expuestas a un CM o a un CEM de 60 Hz, y disminución del número de receptores en cultivos expuestos a un campo eléctrico de 60 Hz (J.L. Phillips et al., 1986). También se ha observado un incremento en la utilización de receptores para Interleucina-2 en cultivos de linfocitos humanos, estimulados por mitógenos, expuestos a un campo magnético pulsado (Cossarizza et al., 1989 a) y una distribución asimétrica de receptores para Concanavalina A en la membrana celular de mioblastos de embriones de "Xenopus laevis", en cultivos expuestos a CEs de 10 Hz o 100 Hz (Lin-Liu et al., 1984).

8.1.6.- Efectos sobre AMPc.

Los CEMs, del orden de los que estamos describiendo, no parecen poseer energía suficiente como para afectar directamente la actividad eléctrica de las membranas celulares. Se ha sugerido (Adey, 1990) que podría existir un mecanismo de amplificación del estímulo electromagnético que se traduciría en cambios de la respuesta celular a nivel de segundos mensajeros: Así, se ha observado reducción en los niveles del segundo mensajero, AMPc, en respuesta a la hormona paratiroidea (PTH) en: Células craneales de ratón expuestas a CEMs (Luben et al., 1982); células óseas calvarias de embrión de rata, expuestas a un campo eléctrico (Brighton et al., 1988); condrocitos de conejo (Hiraki et al., 1987) y en células óseas primarias de ratón, por reducción de la eficacia de ensamblaje de los componentes de la adenilato ciclasa (Cain et al., 1987).

8.1.7.- Tejido endocrino.

Pocos estudios han sido realizados en cultivos de tejido endocrino:

Se ha observado un aumento en la producción de corticosterona en respuesta a la hormona ACTH, en tejido adrenal de rata, expuesto a un CE de 60 Hz (Lymangrover et al., 1983 y 1987), así como reducción de la secreción de insulina, mediante estimulación por glucosa, en islotes de Langerhans de conejo expuestos a un CEM pulsado (Jolley et al., 1983).

8.2.- Estudios In Vivo.

La clasificación de estos estudios corresponde a 9 categorías:

- 1) Conducta, aprendizaje y otros efectos neurofisiológicos
- 2) Reproducción y desarrollo.
- 3) Regeneración.
- 4) Efectos sobre los sistemas de regulación circadiana en animales.
- 5) Efectos sobre el sistema cardiovascular y hematológicos.
- 6) Carcinogénesis y Mutagénesis.
- 7) Efectos sobre conducta y ritmos circadianos en humanos.
- 8) Crecimiento y reparación ósea.
- 9) Experimentos con plantas.

8.2.1.- Conducta, aprendizaje y efectos neurofisiológicos

La mayor parte de los estudios experimentales, encaminados a determinar si los campos ELF causan alteraciones de la conducta, se han realizado con frecuencias de 50 o 60 Hz. Se han observado modificaciones de la conducta en diversas especies animales, sometidos a pruebas de laboratorio:

En abejas expuestas a CEs de 60 Hz (Bindokas y Greenberg, 1984).

En ratas expuestas a una combinación de CM DC y CEM de 60 Hz (Thomas et al., 1986), CEMs de 50 Hz y alto voltaje (Behari et al., 1986), un CEM de 50 Hz y baja intensidad (Rudolph et al., 1984), campos ELF de diferentes frecuencias y 25 - 35 KV/m (Hjeresen et al., 1980; Rosenberg et al., 1983).

En primates expuestos a campos eléctricos de diferentes frecuencias (Gavalas et al., 1970; Coelho et al., 1991). Easley y col. (1991) observaron alteraciones de la conducta

social de Babuinos expuestos a CEs de 60 Hz y 60 KV/m.

Se ha comprobado que algunas especies son capaces de percibir campos electromagnéticos: ratas (Hjeresen et al., 1980), cerdos (Hjeresen et al., 1982). El umbral de detección para ratas, según S. Stern y colaboradores (1983) estaría entre 4 KV/M y 10 KV/m y en ratones, cerdos, palomas y gallinas, entre 25 KV/m y 35 KV/m (Moss, 1964; Rosenberg et al., 1983; Kaune et al., 1978; Graves et al., 1978). No se tienen indicios de que los primates tengan capacidad de detección electromagnética (De Lorge, 1974).

La relación entre los niveles de los neurotransmisores norepinefrina y epinefrina y el stress está bien establecida.

Se ha encontrado un aumento en los niveles de epinefrina, pero no de norepinefrina en sangre y orina de ratas, después de exposición aguda a campos de 100 KV/m y 60 Hz, pero ningún cambio después de exposiciones más largas (Groza et al., 1978) y aumento de norepinefrina en suero de ratas expuestas a CEs de 50 V/m, 50 Hz, y 50 V/m o 5,3 KV/m (Mose, 1978), y en cerebro de ratas, después de 15 minutos de exposición, y disminución por debajo de los niveles del grupo control después de diez días de exposición (Fischer et al., 1978). Sin embargo, Portet y Cabanes (1988) no encontraron cambios en los niveles de epinefrina o norepinefrina en ratas expuestas a un campo de 50 KV/m y 50 Hz, ocho horas al día, durante 30 días.

Las discrepancias observadas entre los diferentes resultados, podrían ser explicadas, en parte, según Vasquez et al. (1988) por las fluctuaciones circadianas en los niveles de neurotransmisores, con lo cual, la hora de recogida de la muestra puede ser crucial para la identificación o no de un efecto.

Algunos autores han sugerido que los CEMs podrían actuar como estresantes suaves (Dumansky et al., 1977).

Se han observado, también, efectos de estimulación de otros parámetros endocrinos como: Actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en suero de ratas expuestas a campos eléctricos de 50 Hz, 15 KV/m, durante 60 días. Aumento de los niveles de prolactina, ACTH y proteínas totales, en pituitaria de ratas expuestas durante cuatro semanas a un CEM de 100 Hz y 25 G (Oroza et al., 1987). Aumento de los niveles de hormona de crecimiento en ratas adultas expuestas a un CE de 60 Hz (Quinlan et al., 1985). Wolpaw y colaboradores (1987) encontraron una disminución de las concentraciones de dopamina, serotonina, ácido homovanílico y ácido hidroxyindolacético, en fluido cerebroespinal de monos expuestos a CEs y CMs de diferentes frecuencias e intensidades.

Mediciones de corticosteroides en animales expuestos a CEs han dado resultados contradictorios. En algunos estudios se observa un aumento de corticosterona plasmática. Así sucede en ratones expuestos a 25 o 50 KV/m (Hackman y Graves, 1981) y en ratas expuestas a 5 KV/m (Dumansky et al., 1976). En estudios realizados en ratas no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de corticosterona (Free et al., 1981), (Quinlan et al., 1985); tampoco se encontraron en conejos (Portet y Cabanes, 1988), ni en perros (Gann, 1976) expuestos a CEs de 100 KV/m, 50 KV/m, 15 KV/m u 80 KV/m respectivamente.

Algunos laboratorios han examinado la morfología del tejido cerebral en animales expuestos a CEs ELF: Carter y Graves (1975) y Banskoske et al. (1976) no observaron ningún efecto sobre la morfología del sistema nervioso central en pollos expuestos a CEs de 40 KV/m. Phillips et al. (1978) obtuvieron los mismos resultados en ratas expuestas durante 30 días a un CE de 100 KV/m.

Hansson (1981), en conejos cuyo período fetal transcurrió bajo exposición a un CE de 100 KV/m, observó desintegración de los corpúsculos de Nissl y de la estructura tridimensional del retículo endoplásmico, exceso de cuerpos lamelares, particularmente, en las células de Purkinje del cerebelo y en general, menor número de mitocondrias, arborización reducida de las terminaciones dendríticas, y ausencia de cisternas hipolemales en cerebelo. Albert y colaboradores (1984) intentaron replicar este trabajo, sin obtener los mismos resultados. Portet y Cabanes (1988) tampoco observaron anomalías neuroanatómicas en cerebelo de conejos expuestos a un CE de 50 KV/m.

Otros estudios han medido la actividad del sistema nervioso central mediante electroencefalogramas (EEGs): Gavalas et al., en 1970, observaron que campos de 7 y 10 Hz, y de 7 V/m alteraban la actividad EEG en monos. Bianchi et al., en 1973 observaron cambios significativos en la actividad EEG, en conejillos de Indias expuestos durante media hora a un campo de 100 KV/m, 50 Hz. Graves et al. (1978) no observaron cambios en los EEGs de pollos expuestos durante 3 semanas a CEs de más de 80 KV/m. Tampoco se observó ningún cambio en los EEGs de gatos expuestos a un CE de 50 Hz y 80 KV/m (Silney, 1981).

Otros efectos neurofisiológicos observados son los siguientes:

Disminución de las amplitudes de algunos de los componentes del potencial somatosensorial evocado, en monos macacos adultos, expuestos a CEs o CEMs sinusoidales de diferentes intensidades y 60 Hz de frecuencia (Dowman et al., 1989). Estimulación de mecanorreceptores cutáneos por un CE de alto voltaje, en gatos (Weigel et al., 1987 a). Movimiento de vibrisas del morro de ratas, expuestas a un CE de 60 Hz

(Weigel y Lundstrom, 1987 b). Reducción de los efectos analgésicos debidos a morfina y otros opiáceos exógenos, en caracoles (Kavaliers y Ossenkopp, 1991 a, 1991 b) y ratones (Kavaliers y Ossenkopp, 1985 a, 1985 b, 1986 a, 1986 b, 1987 a, 1987 b y 1988) expuestos a CEMs de 0,5 Hz o 60 Hz. Disminución transitoria de la concentración de ácido homovanílico, y disminución crónica de ácido 5-hydroxyindolacético en líquido cefalorraquídeo de monos macacos adultos, expuestos a CEs y CEMs de diferentes intensidades y 60 Hz de frecuencia (Seegel et al., 1989).

8.2.2.- Efectos sobre Reproducción y Desarrollo.

Los organismos en desarrollo son más sensibles que los animales adultos a los agentes físicos o químicos. Numerosos estudios han examinado los efectos de exposición ELF sobre reproducción y desarrollo:

En mamíferos, se han observado anomalías del desarrollo en diferentes especies, por exposición durante el período prenatal a CEMs o CEs ELF: Así lo observó Sikov y colaboradores (1987) en cerdos expuestos a un CE de 30 KV/m y 60 Hz. Si bien, experimentos posteriores, realizados por el mismo grupo, no confirmaron estos resultados (Rommereim et al., 1987). También se han observado anomalías del desarrollo en ratas expuestas a CEs de 60 Hz (Seto et al., 1983; Burack et al., 1984; Rommereim et al., 1990; Salzinger et al., 1990). Aumento de anomalías esqueléticas en ratas expuestas durante los 20 primeros días de desarrollo fetal a un CM de 50 Hz sinusoidal o un CM pulsado, de 50 Hz, semejante al producido por algunas pantallas de ordenadores (Huuskonen et al., 1993). Tribukait y colaboradores (1987) observaron un aumento de malformaciones fetales en ratones expuestos a un CM pulsado semejante al producido por algunas pantallas de ordenadores. Frolen et al. (1993) no confirmaron los resultados de

Tribukait et al. (1987): No observaron un aumento de malformaciones fetales, pero sí un aumento de abortos muy tempranos (antes del estadio de gástrula). Según Frolen et al. (1993), los resultados podrían explicarse por las diferentes razas de ratones utilizadas por ambos grupos.

En otras especies: Anomalías morfológicas en embriones de pollo, expuestos a CEMs pulsados (Delgado et al., 1982; Ubeda et al., 1983; Leal et al., 1986 y 1988; Juutilainen et al., 1986 a; Chacón et al., 1990; Berman et al., 1990; Martin, 1988 y 1992) o sinusoidales (Juutilainen et al., 1986 b y 1987). Retraso en el desarrollo de embriones de erizo de mar expuestos a un CEM de 60 Hz (Zimmerman et al., 1990), y de peces Medaka expuestos a un CE de 60 Hz o a una combinación de CE y CEM (Cameron et al., 1985). Aumento de mortalidad en huevos de Drosophila, expuestos a un CEM pulsado de 100 Hz o a un CEM sinusoidal de 50 Hz y disminución de la puesta en los individuos expuestos al CEM pulsado (Ramirez et al., 1983). Walter et al. (1987) repitieron este último experimento, esta vez a 60 Hz, pero no encontraron ningún efecto.

Se han observado cambios en la concentración de cobre, hierro, manganeso y cobalto, en riñón de ratas preñadas, expuestas a un CEM de 50 Hz (Duda y Pawlicki, 1991).

8.2.3.- Regeneración.

Los estudios sobre regeneración han sido efectuados, en su mayor parte, utilizando campos eléctricos constantes, pero algunos han sido realizados con campos electromagnéticos:

Un CEM pulsado de 2 Hz (Sisken et al., 1989) o sinusoidal de 50 Hz (Rusovan et al., 1991) aumentan la tasa de regeneración del nervio ciático de ratas. Se ha observado incremento de la tasa de regeneración en hígado de ratas, expuestas a un CEM sinusoidal de 50 Hz, después de

hepatectomía parcial (Ottani et al., 1984 a y 1984 b). Dependiendo de la forma de onda del CEM pulsado, Smith y Pilla (1981) obtuvieron una inhibición o aceleración de la tasa de regeneración, en miembros amputados de tritones.

8.2.4.- Efectos sobre los Sistemas de Regulación Circadiana.

Los seres vivos exhiben ritmos biológicos que responden a factores exógenos. Cualquier disfunción de estos ritmos puede afectar el organismo.

Ya hemos mencionado anteriormente el efecto de los CEMs sobre el metabolismo de la glándula pineal:

Se ha observado disminución reversible de las concentraciones nocturnas de melatonina y 5-methoxy tryptophol, en la glándula pineal de rata (Wilson et al., 1981 y 1983) y reducción de la actividad de N-acetil-transferasa (Wilson et al., 1981 y 1986). Wilson et al. (1981, 1983, 1986) y Reiter et al. (1988) han descrito una desaparición del pico que se produce normalmente durante la noche, de la síntesis de melatonina, en ratas expuestas a campos eléctricos ELF.

Se ha sugerido que la retina podría ser el posible blanco de la interacción con los CEMs ELF a través de la cuál se produciría la respuesta pineal (Olcese et al., 1985; Reuss y Olcese, 1986).

8.2.5.- Efectos sobre el Sistema Cardiovascular y Hematológicos.

Las funciones cardiovasculares se han estudiado midiendo la presión sanguínea y la frecuencia cardíaca y realizando medidas electrocardiográficas. Se ha descrito un aumento del ritmo cardíaco en perros expuestos a un campo de 15 KV/m y 60 Hz (Gann, 1976) y en pollos expuestos a 80 KV/m / 60 Hz

(Carter y Graves, 1975). Hilton y Phillips (1980) no encontraron tales efectos en ratas expuestas a 100 KV/m y 60 Hz. Cerretelli et al. (1976) observaron aumentos transitorios de la presión sanguínea en perros expuestos a CEs de más de 10 KV/m y 50 Hz. Silney (1985) encontró estimulación cardíaca en fase diastólica, con latidos ectópicos en perros expuestos a un campo de 2 T / 50 Hz.

Se ha observado también, aumento de amplitudes de las ondas T y R del EEG, en ratas expuestas crónicamente a CEMs de 50 Hz (Behari et al., 1986).

Respecto a efectos hematológicos:

La mayor parte de los estudios se han realizado en ratas: Se ha observado disminución de la concentración de eritrocitos y reticulocitos y aumento de leucocitos (Ragan et al., 1983) y disminución de linfocitos y eosinófilos (Seto et al., 1986) mediante exposición a CEs de 60 Hz. Con otros parámetros de campo, esta vez, 100 Hz y 25 G, se observó un aumento de leucocitos (Oroza et al., 1987).

Zucchini y colaboradores (1991) encontraron un efecto sinérgico de ciclofosfamida y un CEM pulsado, sobre el sistema hematopoiético de ratas, disminuyendo el número de leucocitos.

Otros estudios hematológicos no han demostrado ningún efecto asociado al campo (Beischer et al., 1973; De Lorge, 1974; Fam, 1981; Sander et al., 1982).

8.2.6.- Carcinogénesis y Mutagénesis.

Un gran número de estudios epidemiológicos sugieren una asociación entre exposición a campos electromagnéticos ELF y cáncer. Numerosos estudios in vitro apoyan esta asociación. Sin embargo, hay pocos estudios realizados in vivo sobre este tema:

Leung et al. (1988) observaron un incremento en el número de tumores por animal, después de 180 días de exposición a

CEs de 60 Hz, en ratas pretratadas con un iniciador tumoral. Shima y Tomura (1988) observaron inducción de mutaciones en genes responsables de la forma de las alas en *Drosophila melanogaster* expuestas a CEMs. Aumento de tumores mamarios en ratas expuestas simultáneamente a CEMs AC o DC y a un iniciador cancerígeno, sin observar cambios en ratas expuestas sólo a los CEMs (Beniashvili et al, 1994). Otaka et al. (1992) no encontraron aumento de mutaciones letales recesivas en *Drosophila* expuestas a CEMs de 50 Hz y $7,5 \times 10^3 \mu\text{T}$ o $5 \times 10^3 \mu\text{T}$. Mikhail y Fam, en 1992, hallaron una mayor proporción de linfomas en ratones expuestos durante 363 días a un CEM de $25 \times 10^3 \mu\text{T} / 60 \text{ Hz}$. Thomson et al. (1988) no encontraron diferencias en cuanto al tiempo de supervivencia o peso corporal entre ratones expuestos a CEMs de 60 Hz y diferentes intensidades, y sus respectivos controles. Tanto el grupo de los ratones expuestos como el de los tratados habían recibido una implantación de células leucémicas.

8.2.7.- Efectos sobre Conducta y Ritmos Circadianos en Humanos.

Como otras especies animales, los seres humanos pueden detectar CEs débiles:

Deno y Zaffanella (1982) encontraron que el umbral de percepción dependía de la postura corporal y variaba ampliamente entre individuos. El umbral medio de percepción para un estudio realizado con 136 individuos fue de 7 KV/m. El umbral medio para estos 136 individuos colocados en otra postura era de 23 KV/m. En ambas posturas, los individuos más sensibles podían detectar campos más débiles que 2 KV/m.

Graham et al. (1987) corroboraron estos resultados, comprobando que sujetos voluntarios podían detectar un campo de 60 Hz y 9 KV/m.

Los mismos autores (Graham et al., 1988) evaluaron los

efectos de CEs y CMs de 60 Hz sobre percepción humana a dichos campos, éxito en la realización de pruebas y actividad eléctrica del cerebro. Las intensidades de los campos magnético y eléctrico, eran de 0 a 32 A/m y 15 KV/m respectivamente. Los experimentos sobre percepción mostraban que los sujetos diferían en su sensibilidad a los campos. Las respuestas eran iguales con independencia de que los campos se aplicaran separadamente o en combinación. Se detectaron cambios en el ritmo cardíaco y alguna variación en la actividad eléctrica del cerebro, detectada mediante EEG. No resultaban afectados por la exposición a los campos otros parámetros fisiológicos como la conducta, los tiempos de reacción, memoria, fatiga o la capacidad para tomar decisiones.

Un campo eléctrico de 36 KV/m y 50 Hz disminuía la efectividad en pruebas de razonamiento (Stollery, 1986). Se encontró un aumento del tiempo de reacción ante pruebas en sujetos expuestos a un CEM de 12 Hz (Hamer, 1968). En individuos expuestos a CEMs de 60 Hz se han descrito alteraciones de la capacidad de concentración (Gibson et al., 1974) y disminución de la memoria a 5 Hz (Persinger y Nolan, 1985).

8.2.8.- Crecimiento y Reparación Ósea.

Las aplicaciones de los CEMs en Ortopedia y Traumatología no son recientes. El cirujano belga, J.B. Van Helmont escribió en 1621 una tesis sobre este tema titulada "De magnetica vulnerum naturali et legitima curatione". Hoy día, el método de reparación ósea mediante energía electromagnética es de uso habitual.

Los campos electromagnéticos pulsados resultan eficaces en la reparación de fracturas óseas y artrosis. Las corrientes eléctricas inducidas en el tejido óseo por los CEMs pulsados

podrían acelerar la reparación mediante la alteración de las concentraciones intracelulares de iones calcio, modificando, de esta forma, el metabolismo celular y estimulando el crecimiento de osteoblastos y condrocitos (Luben et al., 1982; Bassett, 1978).

Para el tratamiento de la pseudoartrosis, se suelen aplicar dos tipos de señales: un pulso simple, con una frecuencia de 77 Hz y un tren de pulsos, con una frecuencia de 15 Hz. Ambos son asimétricos. Se cree que cada una de las señales tiene propiedades diferentes: la primera promueve la vascularización y la segunda, la calcificación (Dal Monte et al., 1988).

Además del tratamiento de la pseudoartrosis congénita, o adquirida, que ya es de uso común, se han propuesto, recientemente, nuevas aplicaciones terapéuticas: Necrosis avascular de la cabeza del fémur, uniones espinales fallidas y tendinitis. Para una revisión sobre el tema, véase Dal Monte et al. (1988).

8.2.9.- Estudios realizados con Plantas.

Se ha observado una disminución de la tasa de crecimiento, en raíces de "Vicia faba" (Inoue et al., 1985 a y 1985 b), "Pisum sativum" (Brulfert et al., 1985) y "Zea mays" (Brayman et al., 1990), expuestas a CEs de 60 Hz.

9.- ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS.

El gran incremento en el uso de la energía eléctrica ha planteado en la comunidad científica cuestiones acerca de los posibles riesgos para la salud que puede llevar consigo la exposición crónica, tanto en el ambiente laboral como en el doméstico, a campos eléctricos y magnéticos.

En esta sección se expondrán los trabajos más

significativos en este área, realizados en los últimos quince años.

9.1.- Exposición en Viviendas Próximas a Líneas de Alta Tensión.

9.1.1.- Relación entre Niveles de Exposición e Incidencia de Cáncer.

En 1979, Wertheimer y Leeper publicaron el primer estudio epidemiológico en el que se sugería una relación entre exposición a campos ELF por proximidad a líneas de alta tensión y cáncer infantil. Desde entonces han aparecido numerosos trabajos sobre la cuestión. Sin embargo, la metodología empleada no ha sido la misma en todos, y por lo tanto es difícil establecer comparaciones entre ellos. Los métodos de determinación de exposición han sido tres, al menos:

- 1.- Mediciones directas en el interior de los hogares.
- 2.- Identificación y codificación de instalaciones eléctricas y subestaciones cercanas, en algunos casos en combinación con cálculos teóricos de los valores de campos magnéticos. La codificación se relaciona más con la capacidad de transporte de energía de la línea que con los campos generados realmente.
- 3.- Evaluación histórica de la media de fuerzas de campo, para cada hogar.

Los estudios de los efectos de exposición en viviendas cercanas a líneas de alta tensión se han realizado teniendo en cuenta niveles de campo magnético y no de campo eléctrico. Ambos campos inducen corrientes en el organismo, pero una diferencia importante entre ellos a la hora de realizar

estudios epidemiológicos es su diferente susceptibilidad al apantallamiento. Todos los materiales conductores (edificios, árboles, seres vivos) distorsionan y apantallan los campos eléctricos, pero sólo unos pocos materiales apantallan los campos magnéticos. Por lo tanto, los estudios sobre exposición debida a líneas de alta tensión son interpretados como efectos de campos magnéticos y no de eléctricos.

Como hemos mencionado anteriormente, el primer estudio que puso en evidencia una posible relación entre exposición a CMs ELF y cáncer fue realizado por Wertheimer y Leeper en 1979, utilizando el método de codificación. Los autores observaron una asociación entre cáncer infantil y hogares clasificados como "de ubicación cercana a líneas de distribución de electricidad de alta corriente". El estudio se realizó en Denver (EEUU), sobre 344 niños y jóvenes menores de 19 años, que habían muerto de cáncer entre 1950 y 1973, y 344 controles también menores de 19 años. El riesgo relativo de leucemia, para los niños expuestos a las líneas eléctricas, era estadísticamente significativo y tres veces mayor que para los controles. El riesgo relativo para tumores del sistema nervioso central era 2,4 veces más alto y estadísticamente significativo. El riesgo de linfoma era 2,1 veces más alto pero no era estadísticamente significativo.

En 1980, Fulton et al, en Rhode Island (EEUU) intentaron reproducir el diseño del estudio de Wertheimer y Leeper para leucemia pero no para otros tipos de cáncer. Estudiaron 110 casos de leucemia, diagnosticados en el período 1964-1978 en individuos menores de 21 años, y los compararon a 225 controles de la población general, con la misma edad que el grupo afectado. No encontraron ninguna asociación entre leucemia y grado de exposición.

Wertheimer y Leeper en 1980 reanalizaron los datos de Fulton et al. (1980) y encontraron una asociación entre leucemia y lugar de residencia para niños menores de 9 años. El grado de asociación era de 1,65, significativo (aproximadamente, la mitad de lo que ellos habían encontrado en su primer estudio).

Las diferencias en cuanto al análisis del estudio en ambos grupos, consistían en que Fulton et al., asumían una disminución de la intensidad del campo inversamente proporcional al cuadrado de la distancia, mientras que Wertheimer y Leeper consideraban esta disminución como inversamente proporcional a la distancia.

Wertheimer y Leeper realizaron un segundo estudio, en Colorado (EEUU) en el año 1982, sobre 1179 adultos con cáncer, registrados entre los periodos de 1967 a 1975 y 1179 controles, seleccionados según su edad, sexo y nivel socioeconómico. Se detectó una asociación altamente significativa entre casos de cáncer y residencias con valores altos de CEMs de 60 Hz. La asociación era significativa para todos los tipos de cáncer en conjunto. También era significativa para cáncer del sistema nervioso central, útero, mama y linfomas.

Un estudio de 771 casos de leucemia, registrados en cuatro barrios de Londres (Inglaterra), entre 1965 y 1980 no puso de manifiesto ningún riesgo por la proximidad a líneas de alta tensión o subestaciones (Coleman et al., 1988).

Mc Dowall, en 1986, estudió un grupo de 7631 personas en East Anglia (Inglaterra) que en 1971 vivían a menos de 30 m de una línea de alta tensión o a menos de 50 m de una subestación transformadora, y determinó su índice de mortalidad hasta diciembre de 1983. La mortalidad por leucemia era más alta en

mujeres, aunque no era significativa. No se encontró ninguna otra asociación.

En Inglaterra, la distribución local de la electricidad se realiza predominantemente por cables subterráneos. Los campos ELF procedentes de estas líneas subterráneas son mucho más débiles que los procedentes de las líneas de la superficie, ya que la configuración helicoidal de los conductos de los cables subterráneos producen un campo neto muy débil, que decae muy rápidamente con, aproximadamente, el cubo de la distancia. Sólo un 1% de la población británica vive cerca de líneas de alta tensión aéreas. Esto quizás explicaría el hecho de que los dos estudios realizados en Gran Bretaña no mostraran una correlación entre cercanía a líneas conductoras de electricidad, y riesgo de cáncer.

Myers et al. en 1985, estimaron la exposición a CMs de líneas de transmisión eléctrica, no subterráneas, en Yorkshire (Inglaterra). Los autores encontraron un aumento significativo (O.R.* = 1,5) para casos de leucemia y un aumento no significativo (O.R. = 1,2) para otros tipos de cáncer, en niños residiendo a menos de 100 metros de una línea de alta tensión.

Tomenius (1986), estudió 716 individuos menores de 19 años, cuyos tumores habían sido diagnosticados en Estocolmo, durante los años 1958 a 1973. Encontró una relación estadísticamente significativa entre la existencia de líneas de alta tensión de 200 KV e incidencia de tumores de cualquier tipo para los individuos cuya residencia estaba emplazada muy cerca de las instalaciones eléctricas. La asociación era más evidente para individuos del sexo femenino y para niños menores de 5 años. El riesgo relativo de cáncer para

(*): O.R. = $\frac{\text{Número de casos en el grupo expuesto}}{\text{Número de no casos en el grupo expuesto}} / \frac{\text{Número de casos en el grupo control}}{\text{Número de no casos en el grupo control}}$.

individuos residentes en viviendas con intensidades de CMs de 0,3 μ T o más era de 2,7. Cuando el estudio se restringía a sujetos que vivían en la misma casa desde el nacimiento, este riesgo llegaba a ser del 5,6.

Savitz et al. publicaron, en el año 1988, un estudio sobre la exposición residencial a CMs y desarrollo de cáncer infantil. Se eligieron 356 niños menores de 15 años que habían sido diagnosticados de cualquier tipo de cáncer, entre 1976 y 1983. Los controles se eligieron de tal forma que su distribución por edad y sexo fuera la misma que la de los casos a estudiar. Todos los niños residían en un área determinada de Denver durante el periodo comprendido entre enero de 1976 y diciembre de 1983.

Los resultados mostraron una asociación entre casos de leucemia e intensidad del CM medido, mientras que se observó una asociación entre tumores cerebrales y estimación del CM. Según los autores, esta discrepancia podría deberse a que las medidas realizadas in situ indican la intensidad de CM en un instante determinado pero no tienen por qué mantenerse constantes a lo largo del tiempo. Sin embargo, las mediciones calculadas se aproximan más a los valores medios, producidos a lo largo del tiempo.

Severson et al. (1988) no encontraron asociación entre intensidades de CM, medidas en el interior de las viviendas, y casos de leucemia aguda no linfocítica. Los análisis se basaron en 114 casos diagnosticados desde 1981 a 1984, y 133 controles elegidos al azar.

London et al., (1991) investigaron la posible relación entre exposición a CEMs en el interior del hogar, procedentes de aparatos electrodomésticos y líneas de alta tensión, y leucemia infantil. El estudio fue realizado en Los Angeles,

California (EEUU) sobre niños menores de 11 años. Encontraron una asociación significativa (O.R.= 2,15; 1,08-4,28) entre riesgo de leucemia infantil y estimación de valores de CM segun cálculo por configuraciones de las instalaciones eléctricas, pero no encontraron asociación cuando los valores de CM o CE se medían in situ. También hallaron mayor riesgo entre niños que usaban habitualmente aparatos de televisión en blanco y negro y/o secadores de pelo.

Feychting y Ahlbom, en 1993 publicaron un estudio basado en toda la población que había vivido a menos de 300 metros de cualquiera de las líneas de alta tensión de 220 o 400 KV, en Suecia, durante el período de tiempo comprendido entre 1960 y 1985. Los controles fueron escogidos dependiendo del momento del diagnóstico, edad, sexo y distrito. El número de casos estudiados fue de 690 y el de controles fue de 1649. Se realizaron medidas in situ y también se calcularon las intensidades de campo, dando medias anuales.

Los resultados para leucemia infantil muestran un riesgo relativo de 2,7 (1,0-6,3; $p=0,02$) para valores calculados de campo mayores de $0,2 \mu T$ y un riesgo relativo de 3,8 (1,4-9,3; $p=0,005$) para valores calculados mayores de $0,3 \mu T$.

Cuando se tuvieron en cuenta las medidas reales, realizadas in situ no se encontró asociación. Tampoco se encontró asociación, en ninguno de los casos, para tumores cerebrales ni para cáncer en adultos.

En 1993 fue realizado un estudio en Dinamarca (Olsen et al., 1993) sobre el total de niños (1707) diagnosticados de leucemia, tumores del sistema nervioso central o linfoma, durante el período de tiempo comprendido entre 1968 y 1986. Los casos fueron estudiados en relación con la dosis calculada a lo largo de los años de exposición a los campos magnéticos. En este caso, no se encontró riesgo asociado con leucemia,

pero había una relación entre el total de todos los tipos de cáncer estudiados y exposición a campos magnéticos mayores de 0,4 μ T. El riesgo relativo era de 5,6 (1,6-19). Para exposiciones a campos magnéticos mayores de 0,1 μ T, el riesgo relativo para linfoma era de 5,0.

Recientemente, ha sido realizado otro estudio en Suecia. Los autores (Feychting y Ahlbom, 1994) pretendían testar la hipótesis de que la exposición a CMs generados por las líneas de alta tensión aumentan la incidencia de leucemia y tumores del sistema nervioso central en adultos. El estudio estaba basado en la población que, entre 1960 y 1985 había vivido a menos de 300 metros de una línea de alta tensión de 220 KV o 400 kV. Se realizó sobre 325 casos de leucemia y 223 casos de tumores del sistema nervioso central. Se tuvieron en cuenta valores de exposición por medidas puntuales y por cálculo de los CMs generados por las líneas de alta tensión. Para valores calculados, de 0,2 μ T o más, cercanos al tiempo del diagnóstico, encontraron un riesgo elevado para leucemia mieloide aguda (RR= 1,7; 95 % CI= 0,7-3,8). Usando valores acumulados de exposición para los 15 años anteriores al diagnóstico, encontraron un RR de 2,3 (95 %, CI= 1,0-4,6) y 2,1 (95 %, CI= 0,9-4,7) para leucemia mieloide aguda y crónica, respectivamente. Para leucemia linfática crónica y para tumores del sistema nervioso central el RR era igual o cercano a la unidad.

9.1.2.- Otras Enfermedades.

Hay pocos estudios sobre enfermedades del comportamiento y proximidad a líneas de alta tensión, por lo tanto no es posible obtener conclusiones.

Reichmans et al., en 1979, describieron una relación entre personas que se habían suicidado y la intensidad

estimada de campos eléctricos y magnéticos resultantes de la transmisión de electricidad. Se estudiaron 598 hombres y mujeres que se habían suicidado en la región de West Midlands (Gran Bretaña) en el periodo de 1969-1976. Se escogieron 598 controles al azar.

En un estudio posterior sobre los mismos casos, Perry et al. (1981), visitaron cada vivienda y obtuvieron medidas de intensidad del CM de 50 Hz en el interior de los hogares. En las residencias de los suicidas se observaban CMs de intensidad más alta, que en las residencias de los controles. El riesgo relativo de suicidio se estimó como de 1,5 (estadísticamente significativo) en hogares con "alta" intensidad de CM (100 μ T o más). Se encontró una correlación lineal significativa, entre riesgo de suicidio e intensidad de campo.

Poole et al. (1993) realizaron un estudio en 1987 para comprobar la hipótesis de relación entre proximidad a líneas de alta tensión y síntomas depresivos o dolores de cabeza. La proximidad a la línea, definida como "residencia en una propiedad instalada bajo las líneas de corriente o cercana a las torres de alta tensión", se asoció positivamente con síntomas depresivos (OR= 2,8, 95 % CI= 1,6-5,1). La relación no se podía deber a variables demográficas u otros factores de confusión, según los autores. Los dolores de cabeza, no asociados a migraña, mostraban una débil relación con la proximidad a la línea (OR= 1,5, 95 %, CI= 0,76-2,8), y las migrañas no mostraban ninguna asociación (OR= 0,99, 95 %, CI= 0,29-3,4).

9.2.- Exposición a CEMs Procedentes de Electrodomésticos.

9.2.1.- Estudios Sobre Reproducción.

Wertheimer y Leeper, en 1986, estudiaron las posibles consecuencias del uso de mantas eléctricas y camas de agua con calefacción eléctrica, en mujeres embarazadas.

El CM producido por estos aparatos es de 1,5 a 3,3 μT , con un valor medio de 2,2 μT para mantas eléctricas y de 0,3 a 0,4 μT para camas de agua (Florig et al., 1990). El estudio se hizo sobre 1.256 mujeres embarazadas en 1982, en Colorado (EEUU). Los autores observaron que la frecuencias de nacimientos, para parejas que usaban mantas o camas eléctricas seguía un patrón estacional: entre septiembre y junio, cuando los aparatos eran utilizados debido a las bajas temperaturas, las gestaciones eran de mayor duración y los pesos de los niños recién nacidos eran más bajos que para los concebidos en Julio y Agosto. Los nacimientos de hijos de parejas que no usaban camas con calefacción eléctrica no seguía ningún patrón estacional.

En un trabajo realizado en 1989, por los mismos autores (Wertheimer y Leeper) se estudiaron los nacimientos acaecidos en Oregon (EEUU) entre los años 1983 y 1985. Las fuentes de CEMs, consideradas en este estudio, eran calefacciones eléctricas por cables a través del techo y camas calentadas mediante electricidad (mantas eléctricas o camas de agua). Observaron un aumento significativo en el número de abortos ocurridos durante los meses de baja temperatura, en comparación con los meses cálidos ($p < 0,01$).

Un estudio reciente, realizado por Juutilainen y col., en 1993, en Finlandia, sugiere una asociación entre casos de aborto e intensidades medidas de CM en los hogares superiores

a 0,63 μ T (O.R.= 5,1; 1,0-2,5).

Dlugosz et al., (1992) no encontraron mayor proporción de defectos del tubo neural ni del paladar, en niños cuyas madres habían usado mantas eléctricas o camas de agua, durante el embarazo. El estudio se realizó sobre 663 casos y 685 controles, en Nueva York.

9.2.2.- Otros.

Verreault et al., (1990) estudiaron la incidencia de cáncer testicular, en Washington, durante el período comprendido entre 1981 y 1984. Se examinó la relación entre exposición a CEMs procedentes de mantas eléctricas y la incidencia de cáncer testicular en 182 casos y 658 controles de edades comprendidas entre 20 y 69 años.

Observaron diferencias, pero no significativas (O.R.= 1,4; 0,9-2,3) entre usuarios y no usuarios de mantas eléctricas.

Un estudio sobre relación entre cáncer infantil, en niños menores de 15 años, cuyos cánceres fueron diagnosticados entre 1976 y 1983 y exposición pre o postnatal a mantas eléctricas, camas de agua y relojes eléctricos, fue realizado en Denver, en 1990. La exposición prenatal a mantas eléctricas estaba asociada con un pequeño incremento de la incidencia de cáncer infantil (1,3 ; 0,7-2,2) que era más pronunciado para leucemia (1,7; 0,8-3,6) y cáncer cerebral (2,5; 1,1-5,5). La exposición postnatal a mantas eléctricas también estaba asociada con cáncer infantil (1,5; 0,6-3,4) y leucemia linfocítica aguda (1,9; 0,6-6,5), en ambos casos no significativamente.

Las camas de agua y los relojes eléctricos no estaban relacionados con la incidencia de cáncer. Según los autores el escaso número de usuarios de estos aparatos, en el estudio,

hace estos resultados poco fiables (Savitz et al., 1990).

Entre 1981 y 1984, Lovely y col. (1994) llevaron a cabo un estudio, en Washington, sobre la hipótesis de que la utilización de aparatos eléctricos de uso personal puede estar asociada con un elevado riesgo de leucemia no linfocítica en adultos. El estudio se llevó a cabo sobre 114 casos y 133 controles. Los casos fueron obtenidos de un registro de cáncer del Estado, y los controles del mismo área, mediante llamadas telefónicas al azar. Se escogieron tres utensilios eléctricos personales, cuyo funcionamiento es mediante motor, por sus más altos valores de campo magnético (secadores de pelo, unidades de masaje y máquinas de afeitar eléctricas). La intensidad de CM a la que se ve expuesta la parte del cuerpo cercana al aparato, según cálculos, puede exceder 0,5 mT.

Considerando cada utensilio por separado, las unidades de masaje fueron más utilizadas por los casos que por los controles (OR= 1,33, 95 %, CI: 1,43-6,32), mientras que los secadores de pelo fueron más utilizadas por los controles que por los casos (OR= 0,38, 95 %, CI: 0,22-0,66). El uso de máquinas de afeitar fue superior, no significativamente, entre los casos (OR= 1,33, 95 %, CI: 0,80-2,23).

Según los autores, estos datos deben ser interpretados con cautela por el limitado número de casos y por los errores debidos a que la encuesta se realizó a los familiares, en el caso de los fallecidos.

Algunos tipos de cáncer (sobre todo del sistema nervioso) se han encontrado asociados a dos tipos de exposición a CMs AC: Personas potencialmente expuestas, por vivir cerca de líneas de alta tensión y las expuestas por sus ocupaciones. Los modelos de incidencia, según la edad, sugieren que la exposición prolongada a CMs AC puede actuar como promotor de cáncer más que como iniciador (Wertheimer y Leeper, 1987).

9.3.- Profesiones Relacionadas con Electricidad o Electrónica.

Se han realizado gran número de estudios sobre este tema, mediante los cuales se puede concluir que existe una relación entre exposición crónica y tumores cerebrales y, posiblemente leucemia según el "National Radiological Protection Board" del Reino Unido (NRPB, 1992).

El problema subyacente a estos estudios es que en los ambientes laborales relacionados con la electricidad y la electrónica, otros agentes químicos pueden ser factores de confusión (Floderus et al., 1992). Por otro lado, grupos laborales, no relacionados directamente con la electricidad o la electrónica, y que sirven de controles, pueden estar expuestos también, a campos electromagnéticos. Además, en la mayoría de los estudios se consideran las exposiciones debidas a radiofrecuencias junto a las debidas a bajas o extremadamente bajas frecuencias.

9.3.1.- Riesgo de Leucemia.

Milham, en 1982, realizó un análisis entre 438.000 hombres mayores de 20 años, muertos por leucemia en Washington (EEUU), de 1950 a 1979. En 11 grupos de trabajadores de la electricidad, la relación proporcional de mortalidad (RPM) para todo tipo de leucemias era de 137 ($p < 0,01$). Para leucemias agudas, el RPM era 163 ($p < 0,01$). El RPM era alto, en 10 de los 11 grupos y era específicamente alto en operadores de estaciones eléctricas, trabajadores de plantas de reducción de aluminio y operarios cinematográficos.

Wright et al., en 1982, examinaron la incidencia de leucemia entre hombres de raza blanca, en Los Angeles (EEUU) desde 1971 a 1979. Los grupos ocupacionales eran similares a los definidos por Milham (1982). Encontraron una relación de

incidencia proporcional (RIP) altamente significativa para todas las leucemias (RIP=129, $p<0,05$) siendo alta en 8 de los 11 grupos estudiados, especialmente en operadores de las compañías eléctricas y de la compañías telefónicas.

Mc Dowall, en 1983, estudió todos los casos de fallecimiento en hombres de edades comprendidas entre 15 y 74 años en Inglaterra y Gales, desde 1970 a 1972, entre 10 ocupaciones relacionadas con la electricidad. El RPM para todas las leucemias no difería de lo esperado. Cuatro de los 10 grupos ocupacionales tenían una tasa de mortalidad, debida a leucemia, más alta que lo esperado, particularmente para leucemia mieloide aguda. Estos 4 grupos incluían ingenieros eléctricos y electrónicos, y operadores de telégrafo. Un estudio, de 537 hombres muertos de leucemia en 1973 y 1074 controles, también mostraba un riesgo 2 veces superior de leucemia para las ocupaciones relacionadas con la electricidad.

Howe y Lindsay, en 1983, estudiaron la mortalidad de un diez por ciento de todos los trabajadores canadienses del sexo masculino, entre los años 1965 y 1979; el total de individuos era de 400.000. Entre los 4.583 operadores de líneas telefónicas y eléctricas, se encontró un incremento significativo de mortalidad, 2 veces superior, debido a leucemia y linfoma. El radio de mortalidad estandarizado (RME) para todas las leucemias era 244 (basado en 7 muertos; $p=0,03$) y para linfoma era de 283 (basado en 6 muertos; $p=0,02$). En ningún otro grupo de ocupación relacionado con la electricidad, se encontró una asociación significativa.

Coleman et al., en 1983, estudiaron 125.887 hombres con tumores, de edades comprendidas entre 15 y 74 años en Inglaterra, durante 1961 y 1979. Para las diez ocupaciones

eléctricas clasificadas por Mc Dowall (1983), el RIP fue de 117 ($p < 0,05$) para todas las leucemias. Ocho de los 10 grupos mostraban un exceso de todas las leucemias, aunque sólo era estadísticamente significativo para reparadores eléctricos y electrónicos y operadores de radio y telégrafo. Siete de los diez grupos ocupacionales presentaban un RIP elevado para leucemia mieloide aguda.

Calle y Savitz, en 1985, no encontraron ningún aumento significativo de mortalidad por leucemia, en trabajadores de la electricidad de raza blanca y mayores de 19 años, entre 1963-1978 en Wisconsin (EEUU). El RPM total para todos los tipos de leucemia era 103 y 113 para leucemia aguda, en los mismos grupos ocupacionales descritos por Milham (1982) y Wright et al. (1982). Para los ingenieros eléctricos, el RPM era 186 para todas las leucemias y 257 para las leucemias agudas, pero éste era el único grupo ocupacional para el que ambos RPM, eran significativamente altos.

Milham (1985 a), en un estudio realizado en Washington y California, observó un índice de mortalidad por leucemia dos veces superior al normal entre radioaficionados (RPM=191, $p < 0,01$); para leucemia mieloide aguda el RPM era 289 ($p < 0,01$). Estos resultados se han visto reforzados por estudios posteriores de Wangler et al. (1985) y Coleman et al. (1985).

En un análisis ocupacional de 468.000 varones adultos, fallecidos en el estado de Washington entre los años 1950 y 1982, los casos de leucemia y linfomas eran significativamente más altos entre empleados expuestos a CEMs comparados con otros trabajadores. (Milham, 1985 b).

En un estudio de 53 muertos por leucemia entre trabajadores de un astillero para la fabricación de barcos de

guerra nucleares, en New Hampshire (EEUU) se encontró un inesperado exceso de casos de leucemia entre electricistas. El aumento observado era 3 veces el esperado. Este incremento persistía después de realizar ajustes por posibles factores de confusión, como exposición a radiaciones ionizantes o disolventes químicos (Stern et al., 1986).

En un estudio sobre incidencia de leucemia en personal de la Armada Americana, de 16 profesiones estudiadas, sólo la de oficial electrónico, daba una incidencia estadísticamente significativa (2,4) de riesgo de leucemia, comparada con las otras profesiones de la Armada.

Otras profesiones relacionadas con la electricidad y sus riesgos correspondientes eran: Técnico de sonar (1,6), técnico electrónico (1,1), encargado de transmisiones (1,1). (Garland et al., 1990).

Juutilainen et al. en 1990 estimaron la incidencia relativa de leucemia, particularmente leucemia mieloide aguda, y tumores cerebrales entre trabajadores del sexo masculino, en Finlandia, expuestos en su lugar de trabajo a CEMs ELF. El estudio mostraba un riesgo relativo para todas las leucemias de 1,9 (1,0-3,5) y de 1,4 (1,1-1,8) y para tumores del sistema nervioso central de 1,3 (0,7-2,3) y de 1,3 (1,0-1,6), dependiendo de la categoría de la exposición.

Floderus y col. (1992) estudiaron todos los casos de tumores, en hombres de 20 a 64 años de edad, ocurridos entre 1984 y 1987, en Suecia central. Se realizaron medidas de campo, en los lugares de trabajo. Se tomaron en cuenta otros factores de riesgo, como exposición a benceno, radiaciones ionizantes, solventes, pesticidas y hábito de fumar. Se encontró una relación entre exposición y riesgo de leucemia, y el riesgo relativo se incrementaba según aumentaba el nivel de

exposición.

Gueneil et al. (1993) estimaron la exposición electromagnética según categorías laborales durante el período de tiempo comprendido entre el año 1970 y el 1987. Utilizaron el "Registro de casos de cáncer de Dinamarca" y el "Registro central de población". El estudio refleja un aumento de leucemia (sin especificar de qué clase) para hombres con exposición continuada en su trabajo (O.R. = 1,64; 1,20-2,24). Las profesiones afectadas eran, principalmente, instaladores eléctricos y fundidores de hierro. No se encontró riesgo para tumores cerebrales.

Matanoski et al. (1993) estudiaron la incidencia de muertes por leucemia, excepto leucemia linfocítica crónica, en una población de trabajadores de la compañía "ATT" (American Telephone and Telegraph Company). Encontraron mayor riesgo de leucemia en trabajadores con larga duración en empleos con exposiciones intermitentes que en los que habían tenido una exposición constante a lo largo de su vida laboral. El riesgo estaba asociado a exposiciones que ocurrieron 10 o más años antes del fallecimiento. Los trabajadores con picos de exposiciones sobre la media tenían un O.R. entre 2,4 y 6,6 para períodos de latencia de 10 y 15 años, respectivamente.

En otros estudios no se ha encontrado riesgo de leucemia por exposición electromagnética, como por ejemplo, el de Wiklund et al. en 1981, en el que investigaron la incidencia de leucemia entre empleados de Telecomunicaciones de la Administración sueca. Se basaron en datos del "Swedish Cancer Environment Registry". No encontraron una asociación significativa (12 casos de leucemia en controles, comparado con 11,7 en expuestos).

9.3.2.- Otros Tipos de Cáncer.

Diferentes estudios indican una posible asociación entre trabajadores, expuestos por su profesión a CEMs, y tumores del sistema nervioso:

Milham, en 1979, encontró un aumento significativo de mortalidad por tumores del sistema nervioso entre trabajadores de la industria del aluminio, particularmente entre aquellos cuya ocupación les exponía a campos electromagnéticos.

Preston-Martin et al. (1982) hallaron los mismos resultados entre electricistas e ingenieros de la industria aérea, en un estudio sobre tumores del sistema nervioso central, basado en el "Registro de cáncer de la ciudad de Los Angeles".

Mancuso, en 1982, observó que los individuos que trabajaban con maquinaria eléctrica (entre el total de trabajadores de la industria, en Ohio) presentaban la mayor tasa de mortandad por tumores del sistema nervioso central.

Milham, en 1983, encontró un exceso de casos de muertes por tumores cerebrales entre electricistas e ingenieros, en un estudio sobre mortandad laboral, en el estado de Washington.

Swerdlow, en 1983, encontró un exceso significativo de cáncer ocular entre trabajadores eléctricos y electrónicos, del sexo masculino, en edades comprendidas entre 15 y 74 años, en Inglaterra y Gales. Los RIP eran más altos que los esperados para muestras similares de la población (27 casos observados, 11,1 esperados). El estudio abarcaba el período comprendido entre 1968 y 1975.

Vagero y Olin (1983) basándose en el "Swedish Cancer Environment Registry", examinaron la incidencia de cáncer en la industria electrónica sobre 70.000 trabajadores de ambos sexos, en el período comprendido entre 1960 a 1973. Encontraron un ligero, pero significativo, aumento de incidencia de todos los tipos de cáncer (riesgo relativo, 1,15 para hombres y 1,08 para mujeres). Había una incidencia dos veces superior de cáncer de faringe, pero ningún exceso de leucemia.

Vagero y col., en 1985, estudiaron la población laboral de una compañía electrónica sueca durante el periodo comprendido entre 1958 y 1979. El único aumento significativo fue de 2,5 veces, para melanoma maligno (8 casos observados, 3,2 esperados), siendo la incidencia para el total de todos los tipos de cáncer observados, igual que la esperada.

Olin y col., en 1985, estudiaron la mortalidad de 1254 ingenieros electrónicos, en el período comprendido desde su graduación en Estocolmo (entre 1930 y 1959) hasta diciembre de 1979. No había exceso de muertes por cáncer en general, pero se observaron 3 muertes por melanoma, (0,9 esperado), dos de estos 3 casos eran trabajadores en estaciones de transmisión de energía.

Lin et al., 1985, llevaron a cabo un estudio de 951 hombres adultos de raza blanca que murieron de tumores del sistema nervioso central durante el periodo de 1969 a 1982 en Maryland (USA). El riesgo de tumores cerebrales en trabajadores eléctricos era dos veces superior al esperado. Encontraron una relación positiva entre riesgo y exposición estimada a CEMs. El riesgo era significativo para gliomas y astrocitomas.

Otro estudio sueco se realizó sobre 3358 operadores de líneas de transmisión, y 6703 de estaciones de energía eléctrica clasificados en el censo de población sueca en 1960. Se calculó la incidencia de cáncer entre 1961 y 1979, en relación con otros trabajadores. No se encontró exceso de riesgo de leucemia o tumor cerebral. Había un riesgo de cáncer del sistema urinario (Tornqvist et al., 1986).

Se estudió la incidencia de cáncer entre soldadores, expuestos a CEMs ELF (densidades de flujo magnético de hasta 100 mT) y a aerosoles metálicos que pueden contener cromo y níquel, dos posibles cancerígenos. No se encontró riesgo de leucemia, pero sí de cáncer del sistema respiratorio, que según el autor sería debido a la exposición a los aerosoles (Stern, 1987).

Thomas y col., en 1987, realizaron un estudio en el que encontraron un aumento de cáncer cerebral entre electricistas, pero achacaron el efecto a posibles exposiciones a agentes químicos.

Mack y col., en 1991, investigaron la asociación entre exposición a campos eléctricos y magnéticos de baja frecuencia, en el ambiente laboral y riesgo de tumores cerebrales. El estudio fue realizado en Los Angeles, sobre 272 individuos del sexo masculino, afectados de gliomas o meningiomas, y 272 controles. Se encontró un mayor riesgo, no significativo estadísticamente, (O.R.=1,7) para gliomas y un menor riesgo, no significativo (O.R.= 0,3), para meningiomas en el grupo expuesto. Para astrocitomas (un subtipo de gliomas) el riesgo fue de O.R.= 10,3, estadísticamente significativo. Se observó una relación significativa ($p=0,01$) entre incidencia de tumores y duración en el empleo. La mayoría de afectados por astrocitomas eran electricistas o

ingenieros eléctricos.

Algunos resultados experimentales apoyan la hipótesis de que la exposición a CEMs ELF reduce la producción nocturna de melatonina, y por lo tanto, podría aumentar la susceptibilidad a cánceres relacionados con las hormonas sexuales, tales como el cáncer de mama. Basándose en dicha hipótesis, se han realizado algunos estudios epidemiológicos:

Demers et al., en 1991, examinaron la hipótesis de exposición ocupacional a CEMs y cáncer de mama en hombres. El riesgo para cualquiera de los trabajos analizados (todos ellos implicaban exposición a CEMs) resultó ser significativa (O.R.=1,8) y más alta entre electricistas, operadores de líneas telefónicas y operadores de compañías eléctricas (O.R.=2,9). El riesgo era más alto en sujetos empleados antes de los treinta años de edad y cuya permanencia en el trabajo era de, al menos, treinta años.

Loomis y col. (1994) estudiaron una población de mujeres, seleccionadas en los registros del "National Center for Health Statistics", que habían muerto de cáncer de mama, entre los años 1985 y 1989. Los controles eran mujeres seleccionadas al azar, que habían muerto por otras causas, excluyendo leucemia y cáncer cerebral. El análisis se basó en 68 mujeres con cáncer de mama y 199 controles, todas con ocupaciones relacionadas con la electricidad, y 27.814 mujeres con cáncer de mama frente a 110.750 controles, con otras profesiones. El grupo de trabajadoras relacionadas con la electricidad presentaba un exceso de mortalidad, debido a cáncer de mama, en comparación con otras trabajadoras (OR= 1,38; 95 % CI= 1,04-1,82). Las ocupaciones con más casos eran: Ingeniería electrónica, técnicas en electricidad, instaladoras o reparadoras de teléfono y operadoras de líneas eléctricas.

Los autores critican el estudio por las limitaciones inherentes a los datos de certificados de defunción, aunque consideran que los resultados son consistentes con la hipótesis inicial.

9.3.3.- Reproducción.

En un estudio, llevado a cabo en 1981, sobre tumores infantiles y ocupación de los padres en la industria aeronáutica, se encontró un aumento de tumores entre los hijos de trabajadores cuya ocupación les hacía exponerse a campos electromagnéticos (Peters et al., 1981).

Nordstrom et al., en 1983 estudiaron 372 matrimonios en edad fértil, en los que el marido trabajaba o había trabajado en una de las 2 compañías suecas de electricidad. Las muertes perinatales, malformaciones congénitas y abortos espontáneos se consideraban como embarazos fallidos. Las mujeres, cuyos maridos estaban empleados en trabajos que implicaban exposición a CEMs de alto voltaje, sufrieron más casos de abortos que otras mujeres (19% contra 11%). El exceso se debía a una mayor frecuencia de malformaciones congénitas (8% comparado con 2%; $p < 0,01$). Según los autores del trabajo, la diferencia no podía ser explicada por factores de confusión como alcohol, tabaco, drogas o por exposición a radiaciones ionizantes durante el embarazo.

Spitz y Johnson (1985) estudiaron la asociación entre neuroblastoma en niños y la ocupación paterna en la fecha del nacimiento. Compararon la ocupación de los padres de 157 niños, menores de 15 años, que habían muerto por neuroblastoma en Texas (EEUU) entre 1963 y 1978, con la de un grupo de 314 niños, elegidos al azar, en el mismo Estado, y con la misma distribución por año de nacimiento que los casos estudiados.

Cuando se agrupaban las ocupaciones paternas por exposición a CEMs, el riesgo relativo de neuroblastoma en los niños, era de 2,1; dentro de este grupo, el riesgo relativo solamente para hijos de trabajadores electrónicos era de 11,3 (basado en 6 casos). Los autores no descartan que el efecto sea debido a otros tipos de contaminantes químicos: polvo, humo o hidrocarburos.

Wilkins, et al., en 1990, llevaron a cabo un estudio similar al de Spitz y Johnson (1985). Estudiaron el riesgo de padecer neuroblastoma en hijos de individuos expuestos a CEMs, en razón de su oficio, basándose en el "Registro de tumores del hospital infantil de Columbus", Ohio (EEUU). Los 101 casos, así como los 404 controles, habían nacido entre los años 1942 y 1967. Encontraron asociación entre exposición parental y riesgo de neuroblastoma (OR= 1,9; 0,4-8,2 y OR=2,0; 0,7-6,1), al igual que Spitz y Johnson.

Posteriormente, otro estudio sobre incidencia de neuroblastoma en hijos de padres expuestos a CEMs por su tipo de trabajo, se realizó en Filadelfia sobre casos diagnosticados entre 1970 y 1979. Los controles fueron seleccionados según similitudes con los casos diagnosticados, de acuerdo con la raza, fecha de nacimiento y proximidad residencial. Se encontró un aumento, no significativo, de incidencia de neuroblastoma entre niños cuyos padres estaban expuestos a los CEMs (seis casos frente a un control) (Bunin et al., 1990).

9.3.4.- Otros.

El primer estudio sobre exposición ocupacional a CEMs y CE fue llevado a cabo por Asanova y Rakov, en 1966, en la URSS. Describieron varios síntomas entre trabajadores de la

electricidad, que incluían: molestias funcionales en los sistemas nervioso, circulatorio y gastrointestinal, y trastornos hematológicos.

Estas observaciones fueron confirmadas posteriormente por Sazonova (1967): Los síntomas subjetivos, de incidencia anormalmente alta, eran: fatiga, dolores de cabeza, vértigos, falta de memoria, náuseas, pérdida de fuerza en brazos y piernas, dificultades respiratorias, insomnio, irritabilidad y pérdida de libido. Los efectos mensurables eran: presión sistólica disminuída, arritmia, taquicardia observada mediante ECG, actividad alfa desincronizada y activación focal en el EEG.

Estudios posteriores no han confirmado estos resultados: Broadbent et al. (1985) no encontraron correlaciones significativas entre estado de salud y exposición a CEs en un estudio realizado entre 390 trabajadores de distribución y transmisión de energía eléctrica.

Gamberale et al. (1989) estudiaron los efectos por exposición aguda (48 horas) a CEMs entre 26 operarios de líneas de transmisión de 25 a 52 años de edad, en Suecia. La media de exposición para el día, era 2,8 KV/m y 23,3 μ T. No se encontró ningún efecto mediante pruebas de conducta, EEG, o cambios endocrinos.

9.4.- Uso de VDTs.

Se han realizado algunos estudios epidemiológicos sobre el riesgo potencial del uso de VDTs y problemas de desarrollo fetal.

Los ordenadores producen CEMs en el rango ELF (30 Hz-300 Hz), en el rango VLF (300-3000 Hz) o a frecuencias entre 10 KHz y 500 KHz, pertenecientes al rango RF. La densidad de flujo magnético depende del modelo de VDT del que se trate,

siendo del orden de 0,06 a 0,7 μ T en el rango ELF, de 0,02 a 0,06 μ T, en el rango VLF y de unos 0,14 μ T, en el rango RF, a unos 30 cm de distancia de la pantalla (Jokela et al., 1989; Tofani et al., 1991).

Uno de los problemas a la hora de evaluar los estudios epidemiológicos sobre VDTs, es el factor stress, producido por las horas de trabajo delante del ordenador, y capaz por sí mismo de provocar problemas en la gestación.

Kurppa y col., en 1985, realizaron un estudio de malformaciones congénitas en Finlandia, usando un registro de población. Los autores no encontraron un aumento de malformaciones totales, pero sí de malformaciones cardiovasculares (O.R.=1,6) que no era estadísticamente significativo. Según los autores, este resultado no podía ser debido a otros factores, como edad de la madre, consumo de cigarrillos, alcohol, u otros agentes.

Mc Donald et al., en 1986, realizaron un estudio sobre 5000 mujeres en 11 hospitales de Montreal (Canadá). Compararon las frecuencias de abortos espontáneos entre mujeres que trabajaban con VDTs y las frecuencias esperadas para la población general de mujeres trabajadoras. Las mujeres trabajadoras que no usaban VDTs tenían una tasa de abortos espontáneos más baja que la esperada (0,89) respecto a la población general; las mujeres que usaban VDTs menos de 30 horas a la semana tenían un aumento significativo de abortos, respecto a la población general (O.R.=1,25). El O.R. de las que usaban VDTs más de 30 horas a la semana era de 1,12, no significativo. No se encontró un exceso de malformaciones congénitas en ninguno de los grupos.

Estos resultados son difíciles de evaluar, debido a que entre las mujeres que usaban VDTs, las que tenían una tasa de

abortos más alta eran aquellas que menos horas lo usaban.

Brix y Butler, en 1986, realizaron un estudio en Michigan (EEUU), sobre embarazos de 817 mujeres en el período comprendido entre 1980 y 1985. Compararon las frecuencias de abortos espontáneos entre tres categorías de mujeres, según las horas semanales de uso: menos de 20 horas, más de 20 horas y las que no usaban VDTs. No encontraron un riesgo de abortos espontáneos en usuarias a tiempo parcial; las mujeres que usaban VDTs más de 20 horas a la semana presentaban un mayor riesgo de aborto, pero no significativo (O.R.=1,25).

Ericson y Kallen publicaron dos estudios en 1986. El primero de ellos estudiaba una posible relación entre mujeres cuyos trabajos implicaban uso de VDTs, localizadas mediante registros, de abortos espontáneos y malformaciones congénitas. Las frecuencias de abortos espontáneos y malformaciones se compararon a la población total. No encontraron un aumento de abortos ni de malformaciones.

En el segundo estudio los autores no encontraron un aumento de abortos espontáneos para mujeres que usaban VDTs más de 20 horas a la semana, pero sí un aumento significativo para el conjunto de malformaciones, muertes tempranas neonatales y menor peso del recién nacido.

Goldhaber et al. (1988) examinaron el uso de VDTs por 1583 mujeres embarazadas, en California, entre 1981 y 1982. Estudiaron el riesgo de aborto y defectos congénitos en mujeres que usaban VDTs menos de 5 horas a la semana, entre 5 y 20 horas y más de 20 horas por semana. Se encontró un riesgo elevado, estadísticamente significativo (1,8; 1,2-2,8) de casos de aborto precoz entre mujeres que usaban VDTs más de 20 horas por semana durante el primer trimestre de embarazo, comparado con otras mujeres que no usaban VDTs. Según los

autores, el riesgo no podía deberse a factores de edad, educación, ocupación, consumo de cigarrillos, o de alcohol.

Schnorr et al., en 1991, estudiaron una posible asociación entre el uso de VDTs y la incidencia de abortos espontáneos. Compararon la tasa de abortos, en telefonistas de 2 compañías, en ocho estados de América del Norte, que usaban VDTs en el trabajo, con las que no usaban. También determinaron el número de horas de uso de VDTs a la semana. No hallaron riesgo de abortos espontáneos en usuarias de VDTs (O.R.= 0,93), ni una relación según el número de horas de uso de VDTs por semana (O.R.= 1,04).

Midieron los CEMs en el lugar de trabajo, tanto de las usuarias de VDTs como de las que no lo eran, hallando que la exposición a CEMs en el rango de VLF era mayor en usuarias de VDTs, pero la exposición, en el rango ELF era similar para ambos grupos. Este trabajo pone de manifiesto el problema respecto a la validez de los controles, dado que éstos pueden estar sometidos al mismo rango de densidades de flujo magnético que los casos, supuestamente expuestos a CEMs más intensos.

Lindbohm et al., en 1992, realizaron un estudio entre empleadas de tres compañías de Finlandia. Los casos (191 abortos espontáneos) y los controles (394 nacimientos) fueron identificados a partir de los registros médicos finlandeses entre los años 1975 y 1985. Realizaron medidas de campos de los VDTs. No se encontró un aumento de abortos espontáneos entre las usuarias de VDTs (OR= 1,1; 0,7-1,6). Sin embargo, para usuarias de VDTs con altos niveles de intensidad de campo magnético ($> 0,9 \mu T$) en el rango ELF, el riesgo relativo era de 3,4 (1,4-8,6) comparado con usuarias de VDTs con menores niveles de campo magnético ($< 0,4 \mu T$). Según los autores, los resultados no podían deberse a otros factores de

riesgo.

9.5.- Limitaciones y Perspectivas de los Estudios Epidemiológicos.

La principal dificultad para interpretar los datos epidemiológicos disponibles, es la ausencia de mediciones simples y objetivas. Generalmente se han usado medidas indirectas. Estas medidas han sido criticadas porque no toman en cuenta las variaciones temporales de exposición ni reflejan con exactitud la cantidad o intensidad de exposiciones ocurridas en el pasado.

La exposición a campos ELF se produce tanto en el lugar de trabajo, como en la vivienda; la mayoría de los estudios han considerado sólo uno de los dos tipos de exposición.

Esta falta de precisión puede ser muy importante a la hora de determinar la posible asociación entre exposición y enfermedad, dado que el riesgo, si lo hay, es pequeño (aproximadamente un riesgo relativo de 1,5-2,0).

La importancia para la salud pública de un riesgo, incluso tan pequeño puede ser sustancial, dada la ubicuidad de la exposición, en los seres humanos.

Basándose en el estudio de Savitz et al. (1988) sobre cáncer infantil y proximidad a líneas de alta tensión se ha estimado que si las asociaciones observadas son reales, de un diez a un quince por ciento de todos los casos de cáncer en niños, se pueden atribuir a los CMs (Ad Hoc, 1992).

La Agencia Internacional para la Investigación del cáncer convocó una reunión, en Mayo de 1988, en la que participaron 18 grupos de investigadores de Europa, America del Norte y Australia. El fin de esta reunión era diseñar los futuros estudios epidemiológicos, de tal forma que los resultados pudieran ser comparados, y permitir una valoración lo más clara posible del potencial riesgo de los campos ELF.

Entre las recomendaciones surgidas de la citada reunión figuran:

Los magnetómetros utilizados en los estudios, deben proporcionar diferentes tipos de medidas de exposición, incluyendo: densidades medias a lo largo del tiempo, distribuciones de la densidad de campo, la proporción de tiempo en que una densidad de campo excede un nivel dado y la obtención de registros detallados de exposiciones individuales para un número elevado de trabajadores, en diferentes ocupaciones.

Se deben tener en cuenta otros factores de riesgo. En el caso de los estudios ocupacionales estos factores serían, la exposición a radiación ionizante y disolventes químicos. En los estudios residenciales debe contemplarse el nivel socioeconómico, si la residencia es urbana o rural, educación, etc.

Se deberá obtener información acerca del tiempo transcurrido después de la última exposición, así como otras variables relacionadas con el tiempo de exposición, tales como la duración o el tiempo transcurrido desde la primera exposición. Estos factores relacionados con el tiempo son importantes, ya que se sospecha que los campos ELF, podrían actuar como promotores tardíos en el proceso de carcinogénesis.

10.- EFECTOS BIOLÓGICOS DE RADIACIONES DE RADIOFRECUENCIA

El rango de radiaciones de radiofrecuencia (RF) se extiende desde 300 KHz hasta 300 GHz, e incluye las microondas (MW), desde 300 MHz hasta 300 GHz.

Las interacciones de campos RF con tejidos biológicos dependen de numerosos parámetros. Las ondas, en el vacío, se caracterizan por la frecuencia e intensidad de los campos eléctrico y magnético, dirección y polarización.

La intensidad de los campos internos, generados en los organismos por campos externos, depende de la frecuencia, intensidad y polarización del campo externo, del tamaño, forma y propiedades dieléctricas del tejido expuesto, de las relaciones espaciales entre la fuente de exposición y el cuerpo expuesto y de la presencia de otros objetos en las inmediaciones.

Por lo tanto, los campos internos generados, por ejemplo, en un ratón y un hombre expuestos al mismo campo externo serán muy diferentes, y también lo serán sus respuestas biológicas.

Una medida universalmente aceptada de campos internos es la SAR (Specific Absorption Rate), definida como "la derivada respecto al tiempo del incremento de la energía (dW) absorbida, o disipada en una masa (dm) contenida en un volumen (dV) de una densidad dada (δ)".

$$SAR = d/dt (dW/dm) = d/dt [dW/\delta(dV)] \quad (1)$$

Usando el teorema de Poynting para campos electromagnéticos sinusoidales, la ecuación (1) se convierte en:

$$SAR = \sigma/2\delta |E_i|^2 = W\epsilon_0\epsilon''/2\delta |E_i|^2$$

donde σ es la conductividad del tejido, en siemens por metro (S/m).

ϵ_0 , la constante dieléctrica en el vacío.

ϵ'' , el factor de pérdida

$W = 2\pi f$, frecuencia en hercios (Hz)

E_i , valor en pico del campo eléctrico interno, en voltios por metro (V/m).

SAR se expresa en Watios por kilogramo (W/Kg) y el SAR medio se define como la tasa de energía total absorbida por el cuerpo expuesto, respecto a su masa.

El efecto mejor conocido de la exposición a radiaciones

de RF es el calentamiento de tejidos. Por encima de 100 KHz, según aumenta la frecuencia, la absorción de energía aumenta y disminuye la penetración. Cuando la tasa de absorción de energía RF excede la de disipación, la temperatura corporal aumenta. Sin embargo, no todos los efectos biológicos por exposición a RF pueden ser atribuidos a un incremento de la temperatura del tejido u organismo.

10.1.- Estudios In Vitro.

Las investigaciones de efectos celulares por RFs, in vitro, evidencian alteraciones celulares, dependientes de la frecuencia e intensidad del campo. Estos efectos no pueden ser atribuidos a un aumento de temperatura por sí sólo.

10.1.1.- Estudios sobre Membranas Celulares.

Los eritrocitos han sido empleados en muchos estudios sobre efectos de RF, sobre todo en los posibles efectos sobre la membrana plasmática:

Se han observado alteraciones de los transportes activo y pasivo de cationes, a través de la membrana de eritrocitos, expuestos a campos entre 2,45 MHz y 8,42 GHz (Olcerst et al., 1980; Cleary et al., 1982; Fisher et al., 1982; Liburdy y Penn, 1984 a). Inhibición de la actividad de la adenosina trifosfatasa (ATPasa) para sodio-potasio en eritrocitos expuestos a 2,45 GHz y 87 V/m (Allis et al., 1987). Alteración de las regiones de contacto lípido-proteínas en membranas de eritrocito de rata, por efecto térmico a 340-900 MHz (Kim et al., 1985).

10.1.2.- Estudios en Cerebro y Células Nerviosas.

Hay numerosos estudios in vitro, sobre exposición de

células cerebrales a RFs, ya que se ha sugerido que el sistema nervioso central es el órgano más sensible a las radiaciones RF.

Se han observado alteraciones de impulsos eléctricos en neuronas de gasterópodos expuestas a 1,5 y 2,45 GHz (Wachtel et al., 1975; Seaman y Wachtel, 1978), y en ganglios de peces expuestos a 11 GHz (Yamaura et al., 1967). Se ha descrito también una hiperpolarización en neuronas de moluscos expuestas a 2,45 GHz (Arber, 1976), un aumento de la conductancia de membrana, en neuronas de caracol expuestas a 2,45 GHz (Arber, 1986), una disminución de la incorporación de timidina y uridina en células de glioma humano "LN71", expuestas a 27 MHz y 160 V/m o un aumento de la incorporación de timidina a 2,45 GHz y menos de 1,3 V/cm (Cleary et al., 1989).

10.1.3.- Flujo de Calcio.

Los primeros estudios sobre flujo de calcio, realizados por Bawin et al. (1976, 1978a y 1978 b) fueron hechos usando microondas moduladas a frecuencias ELF: Observaron aumento del flujo de calcio en cultivos de tejido cerebral de pollo expuestos a 147 MHz, modulados a 6-10 Hz, y disminución con una modulación a 16 Hz. Blackman et al., (1979 y 1980) intentaron replicar los resultados de Bawin et al. En este caso, observaron un aumento del flujo de calcio hacia el exterior, a 147 MHz modulados a 16 Hz. Dutta et al. (1986 y 1989) obtuvieron los mismos resultados en cultivos de neuroblastoma humano expuestos a 915 MHz, modulados a 16 Hz. Schwartz et al., en 1990, también observaron un aumento del flujo de calcio en corazones de rana, expuestos a 240 MHz con modulación a 16 Hz.

10.1.4.- Respuesta Inmunológica.

Muchos de los resultados obtenidos en estudios sobre el sistema inmunitario se podrían explicar por un aumento de temperatura inducida por la exposición a radiaciones RF. Sin embargo, los resultados de Lyle et al., (1983) son un ejemplo de efectos no debidos a un aumento de temperatura: Observaron una supresión de la citotoxicidad de linfocitos-T de ratón expuestos a una radiación MW de 450 MHz modulada a frecuencias entre 3 Hz y 100 Hz. La supresión era máxima a 60 Hz, mientras que los campos no modulados no tenían efecto.

Deschaux et al., 1984 también observaron reducción de la citotoxicidad y aumento de la actividad de células NK de ratones, en cultivos expuestos a 2,4 GHz.

Otros estudios con linfocitos, cuyos efectos no pueden ser debidos a hipertermia inducida, han mostrado lo siguiente: Reducción de la actividad de histona quinasa en cultivos de linfocitos humanos, a 450 MHz modulados a frecuencias entre 16 y 60 Hz (Byus et al., 1984). Alteración de la unión inmunoglobulina-linfocitos de bazos de ratón, expuestos a 2,5 GHz (Liburdy y Wyant, 1984 b). Supresión de la capacidad de mitogénesis en linfocitos humanos expuestos a 27 MHz, o su aumento a 2,45 GHz (Cleary et al., 1989).

También se ha observado una inhibición irreversible de la capacidad proliferativa de células precursoras de neutrófilos humanos (CFU-C) expuestas a 2,45 GHz (Ottenbreit et al., 1981)

10.1.5.- Otros Efectos.

Otros efectos observados son los siguientes: Inhibición específica de la proliferación en cultivos de células "L60T" expuestas a 2,45 GHz (Peters et al., 1979). Promoción de la transformación celular en cultivos de fibroblastos "C3H/10T½" de embriones de ratón expuestos a 2,45 GHz (Balcer-Kubiczek et

al., 1985). Alteración de la función mitocondrial de células hepáticas de ratas en cultivos a 2,45 GHz (Dutton et al., 1984). Aumento de la actividad enzimática y alteraciones de las paredes celulares en bacterias expuestas a 2,45 GHz (Spencer et al., 1985). Daños en la lente de ratas por exposición a 918 MHz (Stewart-De Haan et al., 1985). Roturas en DNA aislado de E. coli por campos de 2 a 8,75 GHz (Sagripanti et al., 1987). Inducción de bradicardia en corazones de tortugas a 960 MHz (Lords et al., 1973). Reducción de la fertilización de óvulos de ratones "in vitro" a 2,45 GHz (Cleary et al., 1989). Aumento de la expresión de B-galactosidasa en E. coli por 2,55 GHz (Saffer y Profenno, 1992).

10.2.- Estudios In Vivo.

10.2.1.- Efectos Neurofisiológicos.

Se han observado cambios en el EEG, debido a exposición a RFs en conejos (Goldstein et al., 1974) y ratas (Thuroczy et al., 1990). Aumento del número de células gliales en retina, cerebelo, hipocampo y corteza cerebral de conejos expuestos a 3,1 GHz modulados a 300 Hz (Persson et al., 1984). Inhibición de la cadena de transporte de electrones y del metabolismo de fosfato creatina en cerebros de ratas expuestas a campos de 2 GHz y 5,91 GHz (Sanders et al., 1984). Disminución de las concentraciones de succinato deshidrogenasa y monoamina oxidasa en hipocampos e hipotálamos de ratones expuestos a 3 GHz (Chiang et al., 1984). Disminución del contenido de ADP, serotonina y fosfato inorgánico en cerebros de ratas expuestas a 2,45 GHz (Jamakosmanovic et al., 1983 a y 1983 b; Jevric et al., 1983 a y 1983 b). Aumento de la concentración de receptores para benzodiazepina en la corteza cerebral de ratas, expuestas a 2,45 GHz (Lai et al., 1992). Alteraciones

de la actividad colinérgica en ratones (Monahan, 1986) expuestos a 2,45 GHz. Potenciación de analgesia inducida por bajas dosis de morfina en ratas expuestas a 1,2 GHz (Frey et al., 1984). Disminución de la conducta agresiva en ratas expuestas a 1,3 GHz (Frey et al., 1986).

Algunos efectos respecto a la regulación de temperatura son los siguientes: Cambios en la termorregulación de monos expuestos a 2,45 GHz. (Adair et al., 1984; Bruce-Wolfe y Adair, 1985) y atenuación de los efectos hipotérmicos del etanol, en ratas expuestas a 2,45 GHz (Hjeresen et al., 1988 y Lai et al., 1984).

También se ha observado un aumento transitorio del ritmo cardíaco en ratas expuestas a 5,6 GHz (Jauchem et al., 1984) e inducción de ondas de presión acústica en gatos a 2,45 GHz (Lin et al., 1988).

10.2.2.- Efectos sobre el Sistema Inmunitario.

La mayor parte de los efectos descritos sobre el sistema inmunitario podrían ser debidos a un aumento de la temperatura corporal. Para una revisión véase Saunders et al. (1991).

Se ha observado un aumento transitorio de la concentración de granulocitos de conejos infectados con estafilococos, expuestos a 3 GHz (Szmigielski et al., 1975). Aumento de anticuerpos en bazos de hamster a 2,45 GHz (Rama--Rao et al., 1985). Aumento o disminución, dependiendo de la amplitud de modulación del campo de 9,4 GHz, de células formadoras de plaquetas, en ratones inmunizados con eritrocitos de oveja, y de anticuerpos, en ratones inmunizados con albúmina bovina conjugada (Veyret et al., 1991). Disminución de la concentración de gamma-globulina en ratas expuestas a 2,95 GHz (Parreño et al., 1984).

10.2.3.- Reproducción y Desarrollo.

La mayoría de los estudios se han realizado con un estrecho rango de frecuencias, particularmente 2,45 GHz, correspondiente al rango de microondas.

Se han encontrado efectos teratógenos sobre el desarrollo embrionario en diferentes estudios:

- En mamíferos: Menor peso corporal y retraso de la osificación en fetos de ratas expuestos a 2,45 GHz (Berman y Carter, 1984); Aumento de resorción fetal en ratones expuestos a 2,45 GHz (Nawrot et al., 1985). Retraso en el crecimiento de fetos de ratas expuestos a 6 GHz (Jensh, 1984 a y 1984 b). Disminución de implantaciones y menor peso corporal en fetos de ratas expuestas a 27,1 MHz (Tofani et al., 1986). Se han observado efectos teratógenos, dependientes de la temperatura ambiental: Exencefalia en fetos de ratones expuestos a campos de 2,45 GHz (Berman et al., 1978) y reducción de masa corporal en ratas, expuestas a campos de 2,45 GHz (O'Connor, 1985).

- Otros vertebrados: Disminución de la viabilidad en huevos de codorniz expuestos a 2,45 GHz (Byman et al., 1985). Aumento de muerte fetal y retraso en el nacimiento de embriones de pollo expuestos a 428 MHz durante todo el desarrollo embrionario. El efecto no era debido a un aumento de temperatura corporal (Saito et al., 1991).

- Invertebrados: Inducción de anomalías y reducción de viabilidad en larvas de escarabajos expuestos a 10, 35 y 74 GHz (Whitney y Kharadly, 1984).

En cuanto al comportamiento, en animales expuestos en periodos tempranos de su desarrollo a campos RF, no hay resultados concluyentes:

No se han encontrado cambios en la conducta postnatal de ratas expuestas durante el periodo fetal a campos de 918 MHz

(Guy et al., 1979; Lovely et al., 1983). Jensch y colaboradores (1983 a, 1983 b, 1984 a, y 1984 b) observaron cambios en la actividad de ratas hembras de 60 y 90 días de edad, expuestas durante el período prenatal a 2,45 GHz, y retraso en el crecimiento y alteraciones neurofisiológicas al término de la gestación en individuos de ambos sexos expuestos a 6 GHz.

10.2.4.- Barrera Hematoencefálica.

La barrera hematoencefálica es permeable selectivamente e hidrofóbica. Los efectos, observados en diferentes estudios podrían ser debidos a un aumento de temperatura y aumento del flujo sanguíneo (Oscar et al., 1982). Los estudios realizados han puesto de manifiesto los siguientes efectos:

Aumento de permeabilidad de la barrera, en ratas, debido a hipertermia inducida por 2,45 GHz (Williams et al., 1984 a, 1984 b; Goldman et al., 1984; Neubauer et al., 1990) y potenciación de la letalidad provocada por el virus de la encefalitis japonesa en ratones, por alteración de la barrera hematoencefálica (Lange y Sedmak, 1991).

10.2.5.- Sistema Ocular.

La lente ocular es susceptible de sufrir daños por exposición a RFs, particularmente entre 1 y 10 GHz (Kues et al., 1985).

10.2.6.- Seres Humanos.

Se ha observado aumento de enfermedades cardíacas por exposición crónica en el ambiente laboral a campos RF de 27 MHz (Hamburger et al., 1983), y un aumento de cataratas en reparadores de radio y TV, expuestos a campos de 558 KHz a 27 MHz (Hollows y Douglas, 1984).

T A B L A S Y F I G U R A S

| Naturaleza y origen | Cambios de amplitud A/m | Frecuencia | Tiempo |
|--|---|-----------------------------|--------------------------|
| Variación regular cada 24 horas relacionada con las corrientes de la ionosfera debido a influencias solares o lunares. | 0,024-0.04 (solar) 0,004-0,005 (lunar) Mayor durante el verano y en el ecuador. | — | — |
| Variación irregular, tormentas magnéticas relacionadas con erupciones solares. | 0,8-2,4 | Amplio rango de frecuencias | — |
| Fluctuaciones naturales (micropulsaciones) dependientes de las condiciones de la ionosfera y la magnetosfera. | $8 \cdot 10^{-5}$ - $4 \cdot 10^{-2}$ | 0,001-5 | Por el día durante horas |

Tabla 1. Características del CGM en el rango ELF.

| Voltaje de la línea (KV) | Distancia lateral desde la línea (m) | CE a 0,5 m sobre el nivel del suelo (V/m) | CE a 1,5 m sobre el nivel del suelo (V/m) |
|--------------------------|--------------------------------------|---|---|
| 110 | 0 | 1560 | ----- |
| | 10 | 540 | ----- |
| | 20 | 150 | ----- |
| | 30 | 50 | ----- |
| 750-765 | 0 | 900 | 21000 |
| | 10 | 8000 | 9000 |
| | 20 | 2500 | 3500 |
| | 30 | 1000 | 1800 |
| | 50 | 300 | 350 |
| 1300 | 0 | 15000 | 29000 |
| | 10 | 11000 | 15000 |
| | 20 | 3000 | 6000 |
| | 30 | 1000 | 2500 |

Tabla 2. Intensidades de campo eléctrico (CE) a 0,5 m y 1,5 m sobre el nivel del suelo y a varias distancias laterales de una típica línea de transmisión trifásica.

| Aparatos | Densidades de flujo magnético (μT) a una distancia z | | |
|----------------------|--|-------------|--------------|
| | z = 3 cm | z = 30 cm | z = 1 m |
| Secadora de ropa | 0,3 - 8 | 0,08 - 0,3 | 0,02 - 0,06 |
| Frigorífico | 0,5 - 1,7 | 0,01 - 0,25 | 0,01 |
| Lavadora | 0,8 - 50 | 0,15 - 3 | 0,01 - 0,15 |
| Horno eléctrico | 1 - 50 | 0,15 - 0,5 | 0,01 - 0,04 |
| Cafeteras | 1,8 - 25 | 0,08 - 0,15 | 0,01 |
| Ventiladores | 2 - 30 | 0,03 - 4 | 0,01 - 0,35 |
| Televisión | 2,5 - 50 | 0,04 - 2 | 0,01 - 0,15 |
| Lavavajillas | 3,5 - 20 | 0,6 - 3 | 0,07 - 0,3 |
| Secadores de pelo | 6 - 2000 | 0,01 - 7 | 0,01 - 0,3 |
| Tostadoras | 7 - 18 | 0,06 - 0,7 | 0,01 |
| Planchas | 8 - 30 | 0,12 - 0,3 | 0,01 - 0,025 |
| Máquinas de afeitar | 15 - 1500 | 0,08 - 9 | 0,01 - 0,3 |
| Licuadoras | 25 - 130 | 0,6 - 2 | 0,03 - 0,12 |
| Lámpara fluorescente | 40 - 400 | 0,5 - 2 | 0,02 - 0,25 |
| Hornos microondas | 75 - 200 | 4 - 8 | 0,25 - 0,6 |
| Triturador de basura | 80 - 250 | 1 - 2 | 0,03 - 0,1 |
| Aspiradoras | 200 - 800 | 2 - 20 | 0,13 - 2 |
| Sierras eléctricas | 250 - 1000 | 1 - 25 | 0,01 - 1 |
| Taladro | 400 - 800 | 2 - 3,5 | 0,08 - 0,2 |
| Abridores de latas | 1000 - 2000 | 3,5 - 30 | 0,07 - 1 |

Tabla 3. Densidades de flujo magnético producidas en las cercanías de algunos aparatos eléctricos a 60 Hz (rango de valores para tres o cinco modelos).

| Aparatos | Campo eléctrico (V/m) |
|-------------------------------|-----------------------|
| Bombilla de luz incandescente | 2 |
| Cocina eléctrica | 4 |
| Reloj | 15 |
| Cafetera | 30 |
| T.V. color | 30 |
| Secador de pelo | 40 |
| Tostador | 40 |
| Batidora | 50 |
| Plancha | 60 |
| Frigorífico | 60 |
| Asador | 130 |
| Manta eléctrica | 250 |

Tabla 4. Valores de campos eléctricos a 60 Hz medidos a 30 cm de algunos aparatos eléctricos.

| Especies | Valores medios de CE (KV/m) | Valores en pico de CE (KV/m) |
|----------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Ser humano | 2,7 | 18 |
| Cerdo | 1,4 | 6,7 |
| Rata (reposo) | 0,73 | 3,7 |
| Rata (erguida) | 1,5 | - |
| Caballo | 1,5 | - |
| Vaca | 1,5 | - |

Tabla 5. Valores medios y en pico de campos eléctricos inducidos sobre la superficie corporal de seres humanos y animales, expuestos a un CE de 1 KV/m.

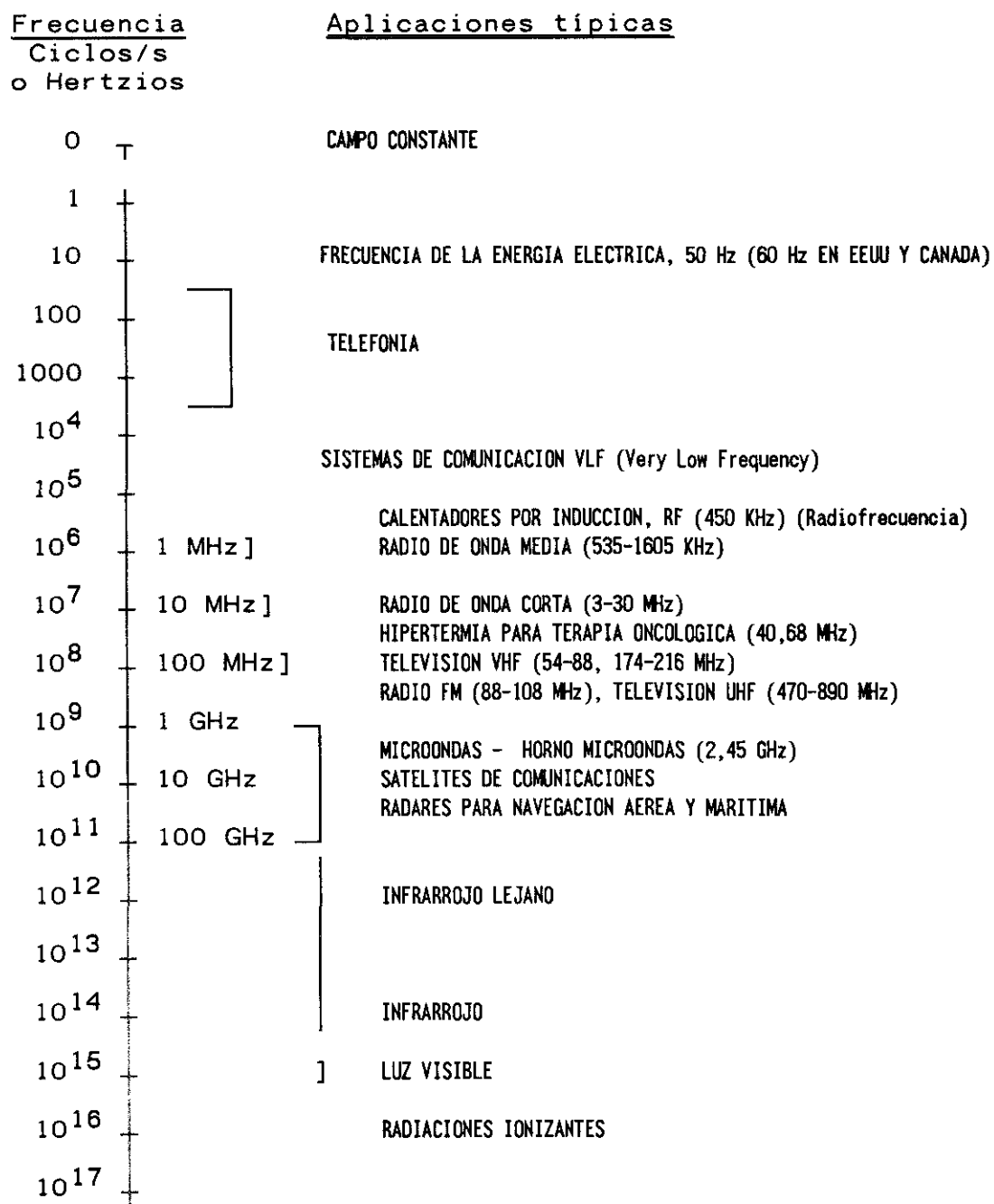


Fig. 1. Espectro de radiaciones.

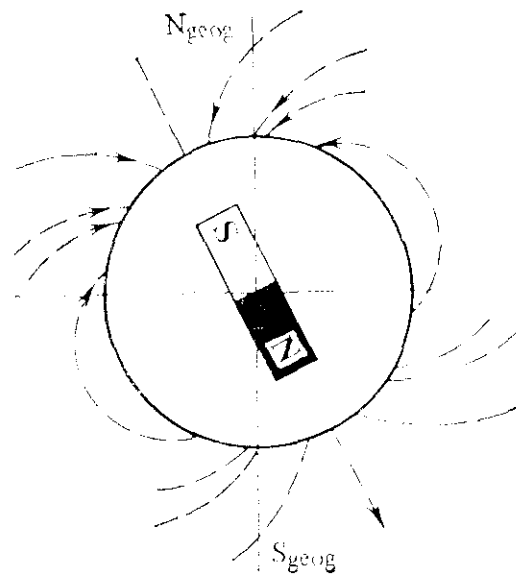


Fig. 2. Esquema del campo geomagnético (CGM). Los polos magnéticos y geográficos de la Tierra no coinciden: la aguja magnética no señala exactamente la dirección norte-sur geográfica. Existe la llamada "declinación magnética" o ángulo entre las direcciones de los meridianos magnético y geográfico, cuya magnitud varía, dependiendo de la posición sobre la esfera terrestre. Además las líneas de inducción del CGM no son paralelas a la superficie de la Tierra, por lo que la aguja magnética forma con el plano del horizonte, en un lugar dado, un cierto ángulo, al que se le llama "inclinación magnética". La declinación y la inclinación magnéticas determinan la dirección del CGM en un punto dado.

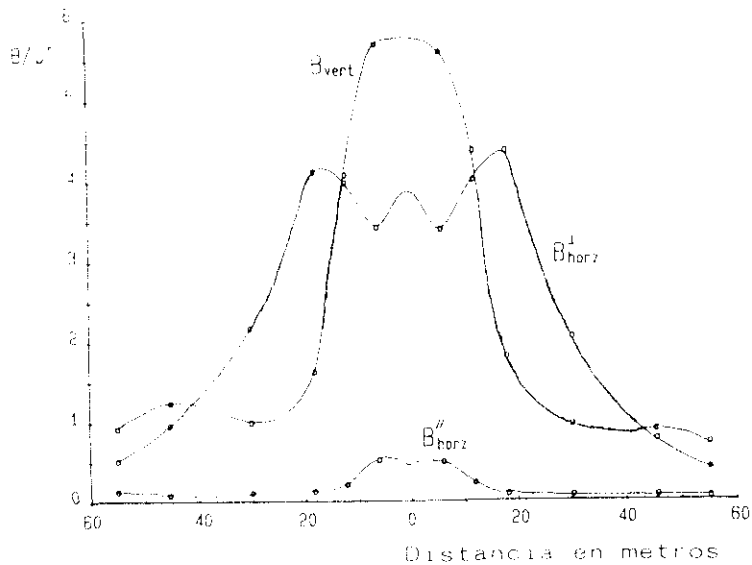


Fig. 3. Valores en microteslas (μT) de los tres componentes del campo magnético AC: Vertical (B_{vert}), horizontal perpendicular a la línea (B_{horz}^{\perp}), y horizontal paralelo a la línea (B_{horz}^{\parallel}), medidos a 1,5 m sobre el nivel del suelo, bajo una línea de alta tensión de 765 KV, 60 Hz, y una altura, aproximada de 15,5 m.

C A P I T U L O I

El Embrión de Pollo como Material Biológico

CAPITULO I

El Embrión de Pollo como Material Biológico.

| | |
|--|-----|
| 1.- El embrión de pollo de 0-48 h. de incubación como modelo para el estudio de la sensibilidad de los organismos a su entorno electromagnético. | 107 |
| 2.- Fases precoces del desarrollo del embrión de pollo. | 108 |
| 2.1.- Ovogénesis. | 108 |
| 2.2.- Segmentación y formación de la blástula. | 110 |
| 2.3.- Formación del blastodermo bilaminar. | 110 |
| 2.4.- Formación del blastodermo trilaminar. | 111 |
| 2.5.- Neurulación. | 113 |
| 3.- Descripción de la morfología normal del embrión de pollo en estadíos 11, 12 y 13. | 114 |
| 3.1.- Estadío 11. | 114 |
| 3.2.- Estadío 12. | 114 |
| 3.3.- Estadío 13. | 115 |
| 4.- Clasificación de los embriones: criterios adoptados adoptados sobre normalidad y anormalidad embrionaria. | 115 |
| 4.1.- Embriones anormales. | 116 |
| 4.2.- Embriones malformados. | 117 |
| 4.3.- Embriones no desarrollados. | 117 |
| 5.- Condiciones de incubación. | 117 |
| 5.1.- Factores relacionados con las características de los progenitores, peso y estado de la cáscara del huevo. | 118 |
| 5.2.- Variabilidad estacional. | 119 |
| 6.- Tablas y Figuras. | 120 |

1.- EL EMBRION DE POLLO DE 0-48 HORAS DE INCUBACION COMO MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DE LOS ORGANISMOS A SU ENTORNO ELECTROMAGNETICO.

Hemos adoptado el embrión de pollo durante sus 48 horas de desarrollo post-puesta como modelo experimental de nuestros estudios de los efectos de los CEMs sobre el desarrollo temprano de vertebrados amniotas.

El embrión de pollo presenta las ventajas siguientes:

- Las fases muy precoces comportan mecanismos de desarrollo similares en todos los vertebrados amniotas incluido el embrión humano (Lemire et al., 1975; Desmond, 1982). Debido a esto, el embrión de pollo ha sido uno de los modelos más utilizados para la investigación teratológica (Fineman et al., 1986). Los estadios del embrión de pollo, utilizados en este estudio corresponden a los de un embrión humano de 22 a 25 días de desarrollo (ver en la Tabla I.1. la cronología comparada de los estadios de desarrollo del pollo, ratón, rata, y ser humano).

- Durante los estadios tempranos de su desarrollo, los procesos celulares tales como multiplicación, diferenciación, migración, etc, tienen lugar de forma particularmente activa y una perturbación en algunos de los procesos celulares puede provocar anomalías en el desarrollo de varios sistemas, debido a las intensas interacciones entre los diferentes tejidos (Packard y Jacobson, 1976; Peters y De Geus, 1981).

- En embriones de aves, los posibles efectos de los CEMs serían la consecuencia de una interacción directa de los campos con el embrión. Sin embargo, en mamíferos, la exposición electromagnética podría provocar alteraciones fisiológicas en la madre, capaces de alterar el desarrollo fetal de forma indirecta.

Además una hembra grávida que se desplaza en un CEM

produce corrientes espúreas a las cuales se ven sometidos los embriones. Este inconveniente no se produce en embriones que se desarrollan en el interior de un huevo que puede permanecer estático durante los primeros días de incubación sin alterar el desarrollo del embrión.

- Las etapas del desarrollo embrionario del pollo se conocen con bastante precisión, por lo tanto cualquier anomalía dismorfogénica es fácilmente reconocible mediante la descripción morfológica de las muestras.

- La fase del desarrollo seleccionada para los estudios que se incluyen en esta memoria está comprendida entre las 0 y las 48 horas de desarrollo post-puesta. Durante este período, el embrión pasa de ser una estructura trilaminar sencilla a un estadio en el que están ya presentes los esbozos del cerebro y médula espinal, de la columna vertebral, del tubo digestivo, del corazón y de los grandes vasos sanguíneos.

- Las primeras 48 horas de su desarrollo postpuesta conducen al embrión de pollo a un estadio semejante al alcanzado por un feto humano entre los días 17 y 30 de su desarrollo post fecundación.

- La alta tasa con que tienen lugar los procesos biológicos en el embrión de pollo hacen de éste un sistema especialmente sensible a la acción de agentes químicos o infecciosos y a cambios físicos de su entorno, como temperatura, humedad, etc.

2.- FASES PRECOCES DEL DESARROLLO DEL EMBRION DE POLLO.

2.1.- Ovogénesis.

No nos referiremos a la formación del espermatozoide, ya que ésta es muy similar en todos los grupos de vertebrados.

Aunque los procesos implicados en la formación del óvulo de gallina muestran similitudes con los de los otros grupos de

vertebrados, se observan diferencias en la cantidad de material nutritivo almacenado como yema en las células.

Todos los óvulos de vertebrados contienen más o menos cantidad de yema. En el caso de los mamíferos (excepto en Monotremas) la yema es escasa y distribuida uniformemente en forma de finos gránulos. Tales huevos son llamados alecitos. En anfibios, la yema es mayor en cantidad y está situada hacia un polo del óvulo. Tales huevos son llamados telolecitos. En el óvulo de reptiles y aves hay gran cantidad de yema y por lo tanto el protoplasma que contiene la vesícula germinal aparece como un pequeño disco (blastodisco) en la superficie de la yema.

La yema se acumula de forma gradual en el citoplasma del huevo antes de ser liberada del ovario. Contiene proteínas, hidratos de carbono, esteroides y vitaminas (A, B1, B2, D y E).

Todavía en el ovario, el huevo recibe dos cubiertas, una cubierta primaria, llamada membrana vitelina, secretada por el mismo huevo y una cubierta secundaria o membrana folicular, secretada por las células del folículo.

El huevo sale del ovario (ovulación) por ruptura de la pared del folículo y pasa por el oviducto antes de salir al exterior. La fertilización tiene lugar cuando el huevo está entrando al oviducto. En el oviducto adquiere las llamadas membranas terciarias:

- 1- El albúmen, que se adhiere a la membrana vitelina y debido a la rotación del huevo a través de la cloaca va adquiriendo la forma de cuerdas espirales que se proyectan a ambos lados de la yema (chalazas).
- 2- Membrana de la cáscara.
- 3- La cáscara.

2.2.- Segmentación y Formación de la Blástula.

Inmediatamente después de la fertilización, durante el período que el huevo está atravesando el oviducto, empieza el proceso de segmentación, que consiste en una serie de rápidas divisiones mitóticas.

El proceso de segmentación se limita al blastodisco o disco de protoplasma, localizado sobre la superficie de la yema.

La porción central del blastodisco está rodeada por un área marginal con un aspecto algo más oscuro, conocida como periblasto, donde el proceso de segmentación empieza más tarde.

Al final de la segmentación, el embrión ha llegado a un estadio consistente en una masa de células, blastómeros, en forma de disco, blastodermo, localizado sobre la yema. Este es el llamado estadio de mórula, de corta duración.

Inmediatamente después, ocurre una rápida reordenación de blastómeros, de modo que se forma una fina capa exterior encerrando una cavidad central, llamada blastocele. Este es el estadio de blástula

En el blastodermo se distinguen dos tipos de blastómeros: los Centrales y los Marginales. Estos últimos están en contacto con la yema, debido a lo cual esta región aparece opaca y es conocida como área opaca. El área central del blastodermo al estar separada de la yema por el blastocele tiene un aspecto transparente y es llamada área pelúcida (Fig. I.1).

2.3.- Formación del Blastodermo Bilaminar.

En este estadio, la porción central del blastodermo consiste en una sola capa de células. La formación del

hipoblasto transforma el blastodermo unilaminar en blastodermo bilaminar.

El hipoblasto se forma de dos maneras: El hipoblasto primario se forma mediante un proceso de poliingresión (o poliinvaginación), es decir, mediante migraciones hacia el interior, de células individuales y grupos de células procedentes de la capa epitelial que compone el área pelúcida.

Según se va formando el hipoblasto primario, a la capa superior del blastodermo se le denomina epiblasto.

El hipoblasto secundario empieza a formarse desde un engrosamiento de células del epiblasto, en la zona marginal posterior, llamado "Hoz de Koller" debido a su forma. El hipoblasto secundario se extiende hacia la zona anterior y se une a las células del hipoblasto primario hasta formar una capa monolaminar conocida simplemente como hipoblasto (Fig. I.2).

2.4.- Formación del Blastodermo Trilaminar en la Fase de Gastrulación.

A.- Esta es una fase que implica una gran coordinación intercelular debido a los múltiples movimientos que darán lugar a la formación de las tres capas celulares primarias: ectodermo, mesodermo y endodermo (Fig. I.3).

A las tres o cuatro horas del comienzo de la incubación post-puesta, un cuadrante del área pelúcida está más engrosado que el resto (Fig. I.1). El epiblasto es más grueso en este área por acumulación de las células precursoras de la línea primitiva, debido al flujo en dirección caudal de células de cada lado de la línea media longitudinal del blastodermo.

El engrosamiento se va estrechando y alargando desde la zona posterior a la anterior hasta formar la línea primitiva definitiva que marca el eje antero-posterior del embrión.

Según las células convergen para formar la línea

primitiva, surge una depresión en el interior de la línea, llamada surco primitivo, a través del cual las células pasan al blastocele.

En el límite anterior de la línea primitiva se forma un engrosamiento de células llamado "Nódulo de Hensen" en cuyo centro se forma una depresión a través de la cual, las células penetran al blastocele.

Tan pronto como se ha formado la línea primitiva, las células del blastodermo empiezan a migrar sobre los bordes de la línea primitiva y penetran al blastocele; como hemos señalado anteriormente, otras células penetran al blastocele a través del Nódulo de Hensen y migran hacia la zona anterior, formando el mesodermo cefálico y la notocorda. Las células que pasan a través de los bordes de la línea primitiva daran lugar a la mayor parte de los tejidos mesodermicos y endodermicos.

B.- Hacia las 22 horas de incubación, la mayoría de las células endodérmicas ya han migrado al interior del embrión; las mesodermicas continuaran migrando hacia el interior durante más tiempo.

En este momento empieza la segunda fase de gastrulación. Mientras la ingesión mesodermica continúa, la línea primitiva empieza a desaparecer. Se desplaza el Nódulo de Hensen desde el centro del área pelúcida hasta una posición posterior, mientras que la notocorda va creciendo en sentido posterior-- anterior. Cuando el Nódulo de Hensen regresa a su posición más posterior, el epiblasto se ha diferenciado por entero en Ectodermo.

Como consecuencia de este proceso, los embriones de aves exhiben un gradiente antero-posterior de desarrollo. Mientras las células de las porciones posteriores del embrión estan todavía en proceso de gastrulación, las de la porción anterior estan en procesos de desarrollo más avanzados.

2.5.- Neurulación.

La interacción entre el Mesodermo y el Ectodermo dorsales inicia el proceso de Organogenesis, es decir, la formación de tejidos y órganos.

La Notocorda induce al ectodermo para formar el Tubo Neural, que dará lugar al Cerebro y Médula espinal. La acción por la cual, la capa de células ectodérmicas se transforma en una estructura tubular, es llamada Neurulación.

Las células destinadas a formar el tubo neural adquieren una morfología alargada, de tal forma, que se observa una elevación sobre el ectodermo circundante, creándose la placa neural. Inmediatamente después, los límites de la placa neural engrosan y se elevan hasta formar los pliegues neurales, formándose en el centro de la placa, una estructura en forma de U, llamada Surco Neural. Los pliegues neurales convergen hacia la región media del embrión fusionándose para formar el tubo neural.

Las células de la región más dorsal del tubo neural serán las células de la Cresta Neural, que migrarán a través del embrión y formaran varias poblaciones celulares, incluyendo las células pigmentadas y las del Sistema Nervioso Periférico.

La formación del tubo neural no ocurre simultáneamente en la totalidad del ectodermo. En un embrión de 24 horas la neurulación en la zona cefálica está progresando, mientras que la zona caudal está en proceso de gastrulación.

Según Hamilton (1952), cuyos criterios hemos adoptado por ser los más precisos en su enunciado, y los de mayor divulgación, el estadio promedio alcanzado por los embriones al final del segundo día de incubación es el estadio 12 en la escala de Hamburger y Hamilton (1951), aunque dependiendo de la raza, período reproductor de las progenitoras y otras condiciones individuales el estadio alcanzado varía de un

embrión a otro y de una muestra a otra. En nuestras condiciones experimentales el estadio final varía entre el 11 y el 13.

3.- MORFOLOGIA NORMAL DEL EMBRION DE POLLO EN ESTADIOS, 11, 12 Y 13.

3.1.- Estadio 11.

El embrión de pollo de estadio 11 está constituido, esencialmente por cinco sistemas organogénéticos:

1- El Sistema Nervioso Cefálico que presenta una ligera flexión hacia la derecha del organismo. Aparecen bien diferenciadas cuatro vesículas cerebrales: prosencéfalo, mesencéfalo, metencéfalo y mielencéfalo. Están bien diferenciadas las vesículas ópticas. El neuroporo anterior está abierto.

2- El Sistema Nervioso Truncal es ya un tubo cerrado excepto a nivel caudal, región del neuroporo posterior, que permanecerá abierto hasta el estadio 13 o 14.

3- Somitos: el número de segmentos de somitos es de 13 pares.

4- El corazón está inclinado hacia la derecha.

5- Las dos venas vitelinas anteriores son visibles, al igual que el seno venoso, formado en la base del corazón por la fusión de las venas onfalomesentéricas.

3.2.- Estadio 12. (Fig I.4)

1.- La cabeza ha empezado a reclinarse sobre su lado

izquierdo. El neuroporo anterior está cerrado. Hay indicación de telencéfalo. El pedúnculo óptico está bien diferenciado. Las fosas óticas son profundas, pero todavía muy abiertas.

2.- Somitos: el número de segmentos de somitos es de 16 pares.

2.- El corazón, en forma de S, late, haciendo circular sangre primitiva entre el embrión y el área extraembrionaria.

3.- La vascularización extraembrionaria está bien desarrollada.

3.3.- Estadio 13.

1.- La cabeza ha girado, o está a punto de girar completamente hacia la izquierda. Las flexiones cefálica y cervical han llegado a su término. Se produce un alargamiento del telencéfalo y un estrechamiento de la apertura de las fosas óticas. Todavía no existe indicación de hipófisis.

2.- El canal atrio-ventricular está indicado por constricción

3.- El neuroporo posterior está cerrado en la mayoría de embriones de este estadio

4.- CLASIFICACION DE LOS EMBRIONES: CRITERIOS ADOPTADOS SOBRE NORMALIDAD Y ANORMALIDAD EMBRIONARIA.

Nuestros criterios de clasificación se basan en nuestra experiencia en el manejo y estudio de un gran número de embriones a lo largo de los años, basándonos, en los criterios de Hamburger y Hamilton (1951).

El embrión es clasificado como Normal o No Normal y dentro de este segundo grupo hemos considerado tres

categorías:

- Anormales
- Malformados
- No Desarrollados.

4.1.- Embriones Anormales.

Son aquellos embriones que se alejan ligeramente de las características propias de su estadio, según Hamburger y Hamilton (1951) y aquellos que no han llegado al estadio de 7 pares de somitos (estadio 9) al cabo de las 48 horas de incubación, es decir aquellos que presentaban un retraso de más de 17 horas (más de la cuarta parte de las 48 horas de incubación (48 horas).

Consideramos anomalías "ligeras", aquellas que probablemente permitirían el desarrollo del embrión hasta su eclosión, por ejemplo, flexión del sistema nervioso cefálico hacia el lado izquierdo mientras que el corazón se dirige hacia el lado derecho del embrión (Fig. I.5 B)

En las figuras I.5 B, I.5 C, I.6 E, I.7, I.9, I.10, I.11 y I.12 se observan algunos tipos de anomalías ligeras con sus controles correspondientes.

Entre estas anomalías incluimos las siguientes:

- Desfase de más de un estadio entre el grado de desarrollo de dos o más órganos (Fig. I.5 C).
- Flexión truncal muy pronunciada (Fig. I.7)
- En general, ligeras desviaciones de la morfología considerada como normal según nuestra experiencia:

Ligeras aperturas del sistema nervioso truncal en relación con el estadio del embrión (Fig. I.6 E); disminución de tamaño de alguno de los órganos, o del embrión entero (Fig. I.9); ligeras asimetrías de cualquiera de los sistemas (Figs.

I.10, I.11 y I.12).

4.2.- Embriones Malformados.

Hemos incluido en este grupo, aquellos embriones que se alejaban de forma muy evidente de la morfología normal, según su estadio: embriones con asimetrías importantes de cualquiera de los órganos o con ausencia o desorganización de alguno de los sistemas (ver Figs. I.5 E, I.5 G, I.6 B, I.6 C, I.6 D y I.8).

4.3.- Embriones No Desarrollados.

Fueron considerados embriones no desarrollados, aquellos que no se desarrollaron más allá del estadio 4, el de máxima elongación de la línea primitiva.

5.- CONDICIONES DE INCUBACION.

Las condiciones de temperatura y humedad consideradas idóneas para el desarrollo embrionario dependen de las características de la raza, edad, alimentación de los progenitores y de factores climáticos estacionales (Kuhlman y Kolesari, 1984; Landauer, 1967).

Tanto la temperatura como la humedad relativa de incubación, así como el período y temperatura de almacenamiento de los huevos antes de su incubación fueron elegidos según experiencias realizadas en nuestro laboratorio (véase Ubeda, 1989 y Trillo, 1989).

Hemos adoptado como temperatura idónea de incubación, durante las primeras 48 horas de desarrollo embrionario, $38,0 \pm 0,2$ ° C, y como humedad relativa, 60 ± 5 %.

El período de almacenamiento de los huevos, desde su

llegada al laboratorio hasta el principio de su incubación, no sobrepasó los tres días. Durante este período, los huevos se mantuvieron, en posición horizontal, a 10 ° C.

5.1.- Factores Relacionados con las Características de los Progenitores, Peso y Estado de la Cáscara del Huevo.

La edad de las reproductoras u otros factores ambientales son decisivos en la viabilidad de las muestras. Para la raza White leghorn, variedad Hisex, el porcentaje más alto de embriones viables se da en hembras de 6 a 18 meses de edad, aproximadamente, y para la raza White rocks, en hembras de 6 a 15 meses de edad, según datos facilitados por el veterinario de la granja suministradora.

El control de estos factores fue garantizado por los veterinarios y otro personal de la granja "Los Arcángeles", que nos suministraba los huevos. Los veterinarios nos han mantenido al corriente de cualquier cambio que pudiera producirse en la manada.

El peso de los huevos incrementa progresivamente a lo largo de la fase de madurez sexual de la gallina. Experimentos realizados en nuestro laboratorio indican que durante los dos primeros días de incubación el desarrollo embrionario es independiente del peso del huevo, al menos cuando dicho peso se encuentra entre los 50 y 70 gramos. Por lo tanto, hemos empleado, en nuestros experimentos, huevos cuyos pesos estuvieran comprendidos entre 50 y 70 gramos.

Los huevos con cáscaras frágiles, muy porosas o con fisuras fueron rechazados, debido a que estas condiciones permiten la contaminación del huevo por microorganismos que pueden provocar anomalías en el desarrollo (San Gabriel, 1980).

También fueron rechazados los huevos cuya cáscara

contenía restos fecales.

5.2.- Variabilidad Estacional.

Hemos observado, que el porcentaje de embriones no normales se incrementa en los meses de verano (datos no mostrados), probablemente debido a las altas temperaturas a las que se pueden ver sometidos los huevos en algún momento del proceso.

El porcentaje de embriones no normales también es dependiente del valor del campo geomagnético (Leal et al., 1986 y 1988).

T A B L A S Y F I G U R A S

| <u>Nº SOMITOS</u> | <u>POLLO</u> | | <u>RATA</u> | <u>RATON</u> | <u>SER HUMANO</u> |
|-------------------|-----------------|-------|-------------|--------------|-------------------|
| | Estadio | Horas | Días | Días | Días |
| 1 | 7 | 23-26 | 8 | 9 | 17 |
| 5 | 8 ⁺ | 27-29 | 8½ | 9½ | 19-22 |
| 10 | 10 | 33-38 | 8½ | 9½-10 | 22-23 |
| 15 | 12 ⁻ | 44-48 | 9 | - | 26 |
| 20 | 13 ⁺ | 49-52 | 9-10 | 11 | 29-30 |
| 25 | 15 | 50-55 | 9½-10 | 11-12 | 33-35 |

Tabla I. 1. Cronología del desarrollo temprano del embrión de pollo comparada con el de la rata, ratón y ser humano. En rata, ratón y ser humano, el número de días está contabilizado desde la fecundación. En el pollo, desde el comienzo de la incubación.

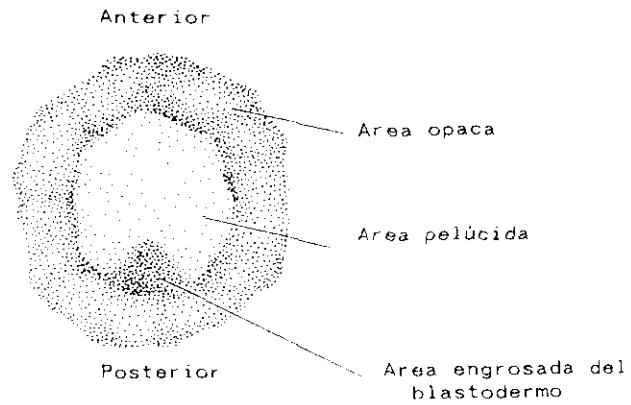


Fig. I.1. Vista dorsal del blastodermo a las 3 o 4 horas de incubación.

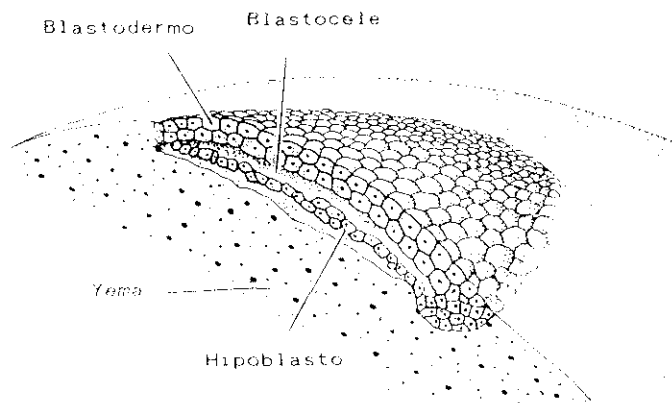
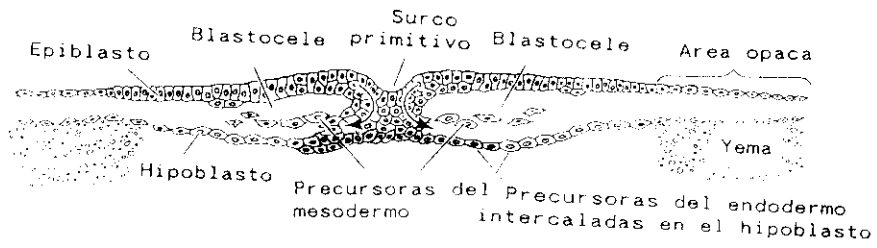


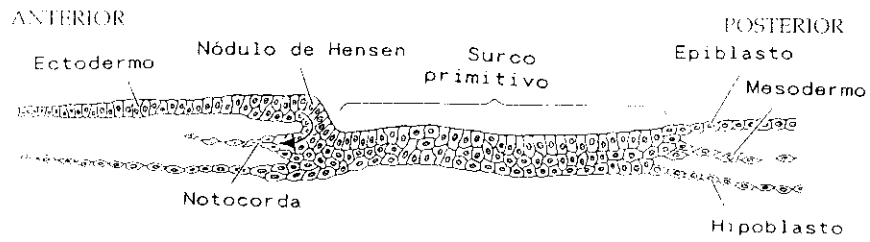
Fig. I.2. Formación del hipoblasto en el embrión de pollo. (Gilbert, 1991).

Figura. 1.3. Migración de células endodérmicas y mesodérmicas a través de la línea primitiva. A: Sección transversal a través de un embrión de 17 horas, señalando el movimiento lateral de células endodérmicas y mesodérmicas penetrando en el blastocele. B: Sección longitudinal del mismo embrión, mostrando que las células que migran a través del nódulo de Hensen se condensan para formar la notocorda. C: Vista tridimensional de un embrión en fase de gastrulación, mostrando la relación entre línea primitiva, las células emigrando, y las dos capas primitivas del blastodermo. D: Esquema de los movimientos celulares de formación de la línea primitiva (Gilbert, 1991).

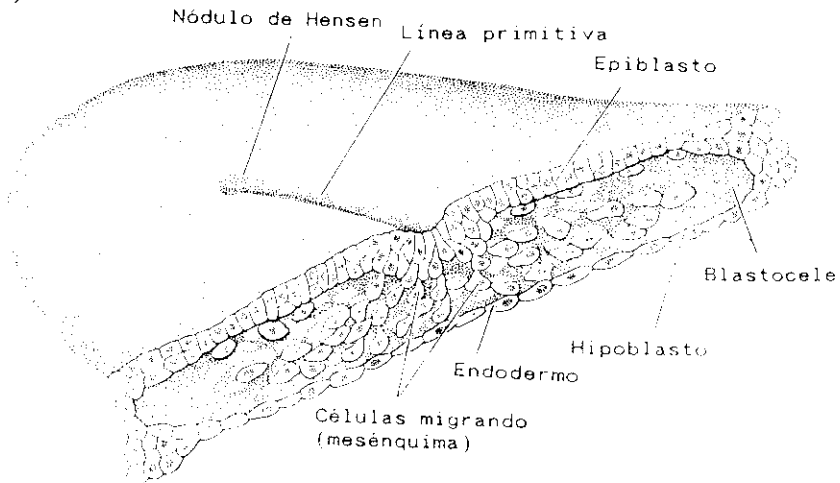
A)



B)



C)



D)

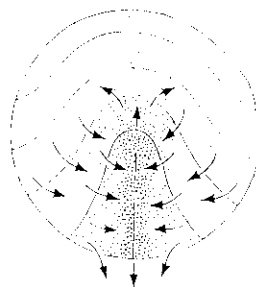


Figura. I.4. Fotomicrografía de un embrión normal de estadio 12 (izquierda) y su interpretación (derecha):

SNC, Sistema Nervioso Cefálico: vo, vesícula óptica; pr, prosencéfalo; ms, mesencéfalo; my, mielencéfalo; po, placoda ótica.

SNT, Sistema Nervioso Truncal: tn, tubo neural.

Somitos: SXVI, somito del decimosexto par.

CO, Corazón: ta, tronco arterial; v, ventrículo; at, atrio.

VASC, Vascularización: vvd, vena vitelina derecha; vom, vena onfalomesentérica; ps, plexo sanguíneo; aom, arteria onfalomesentérica.

Otras estructuras: ec, ectodermo cefálico; ba, borde del amnios; ia, intestino anterior; mb, mesoblasto de las láminas laterales;

sr, sinus rhomboidalis; lp, resto de la línea primitiva.

(Ubeda, 1989).

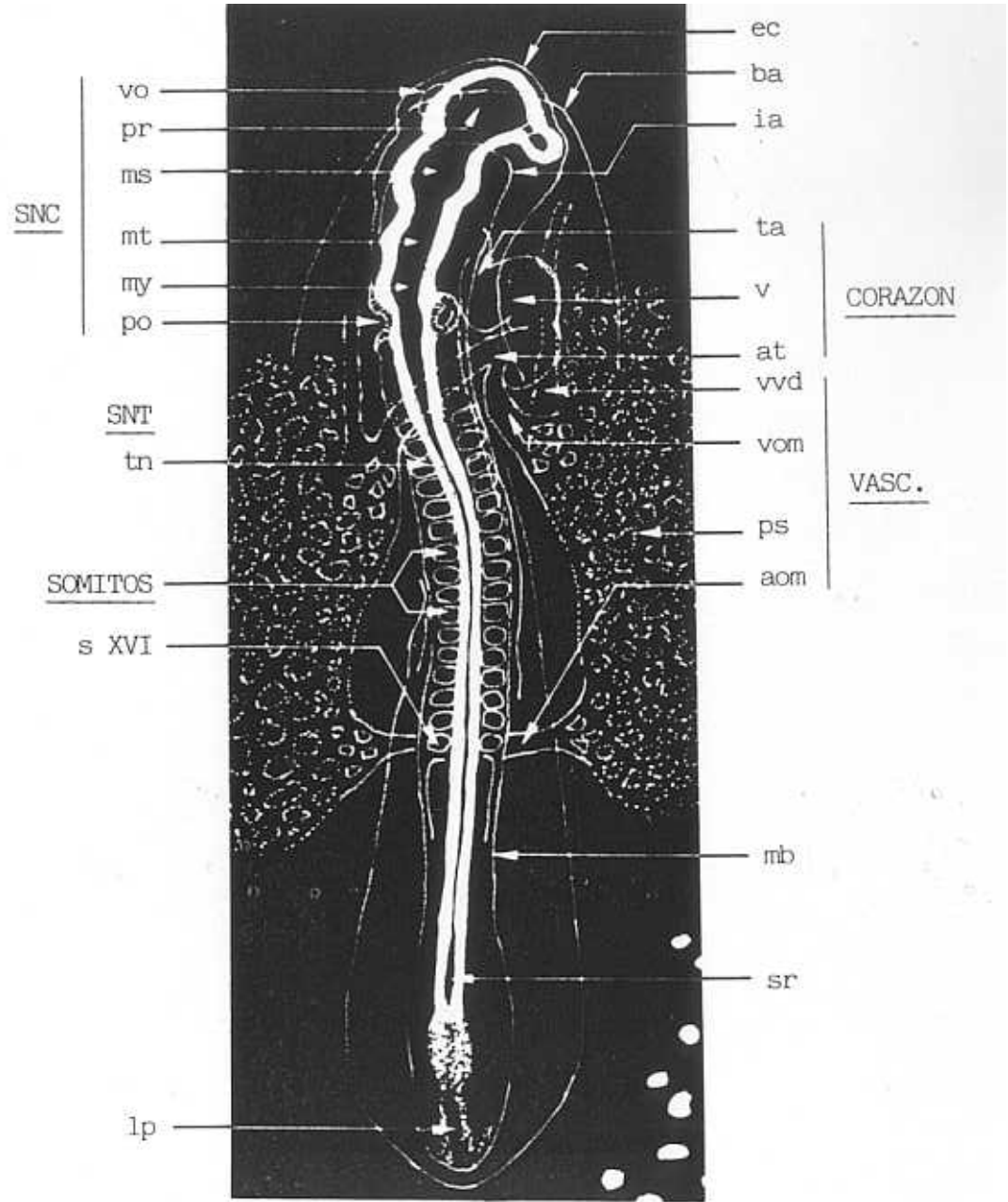


Figura. 1.5. Anomalías del sistema nervioso cefálico (SNC).
(A-C): Sección anterior dorsal de embriones en estadio 13^+
(X 20). A: Embrión normal. B: Embrión anormal. Presenta torsión cefálica hacia el lado izquierdo y corazón a la derecha. C: Embrión anormal. Se observa retraso del SNC de más de un estadio y elongación insuficiente de las vesículas cerebrales.
(D-E): Sección anterior ventral de embriones en estadio 13^+
(X 20). D: Embrión normal. E: Embrión malformado. SNC retrasado con la vesícula óptica derecha invaginada, y corazón malformado.
(F-G): Vista general de embriones en estadio 12^- (X 9).
F: Embrión normal. G: Embrión malformado con mala organización del SNC y SNT, y somitos poco desarrollados.

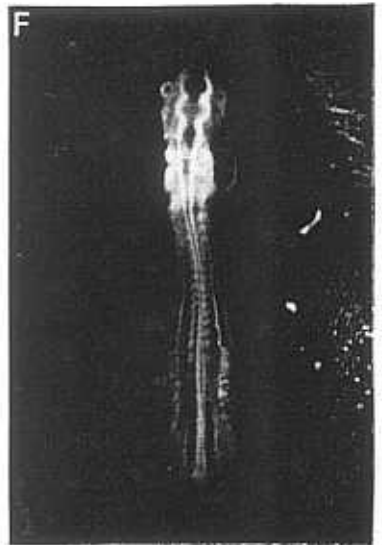
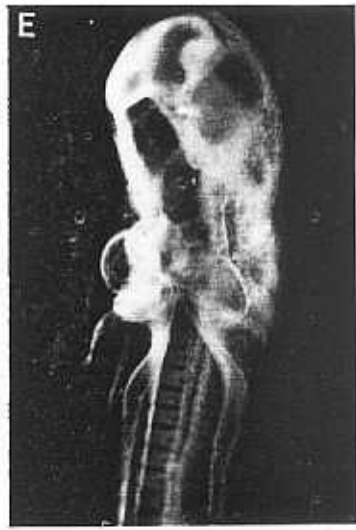
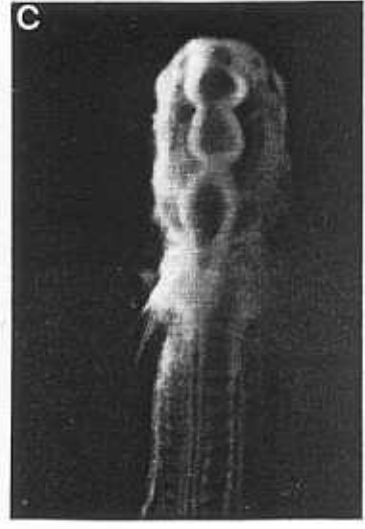
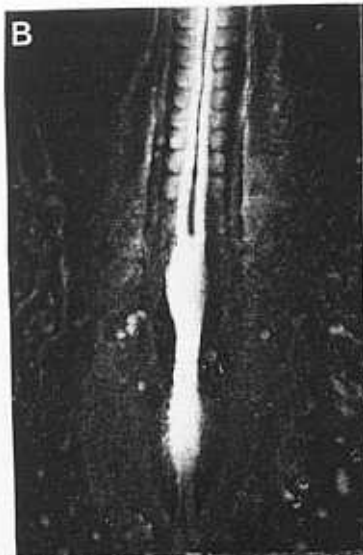
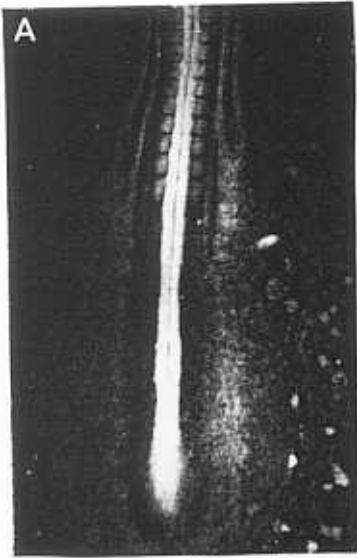


Figura. I.6. Anomalías del sistema nervioso truncal (SNT).
(A-E): Sección posterior dorsal de embriones de pollo en estadio 12⁺ (X 20). A: Embrión normal. B y C: Embriones malformados. Se observa engrosamiento y desorganización del tubo neural (TN) en la zona caudal. D: Embrión malformado con apertura irregular del TN. E: Embrión anormal. Lumen y grosor de las paredes del TN asimétricos.



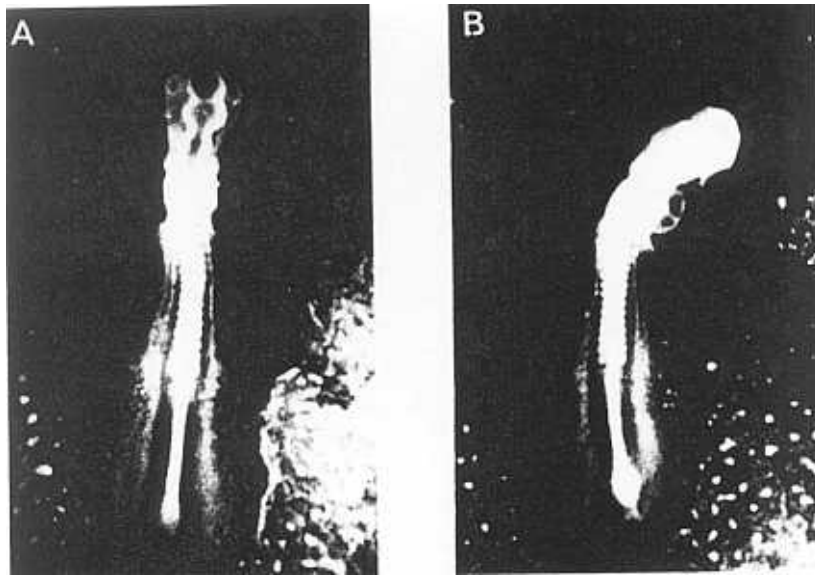


Fig. I.7. Vista general de embriones de estadio 12 (X 9).
 A: Embrión normal. B: Embrión anormal con flexión atípica del tubo neural.

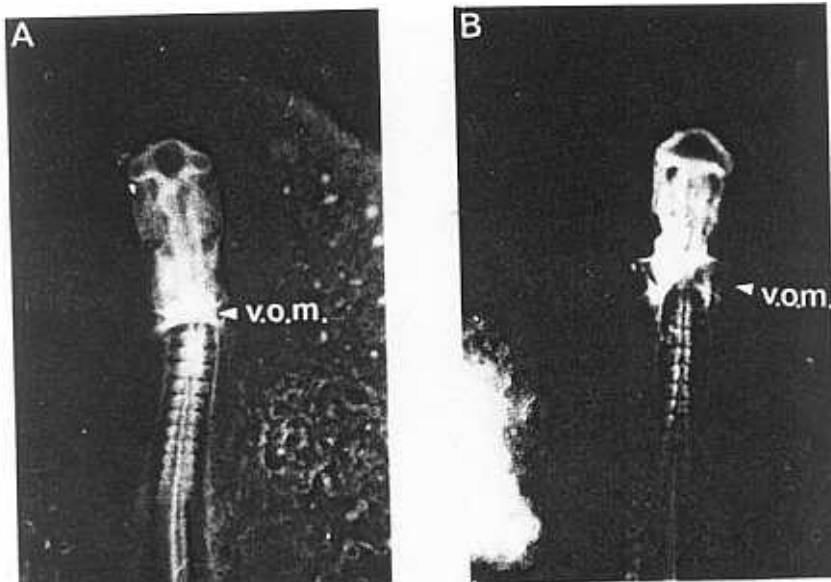


Fig. I.8. Región anterior ventral de embriones de estadio 11 (X 15). A: Embrión normal. B: Embrión malformado. Presenta un corazón morfológicamente anormal y con escaso desarrollo. Venas onfalomesentéricas (v.o.m.) muy dilatadas.

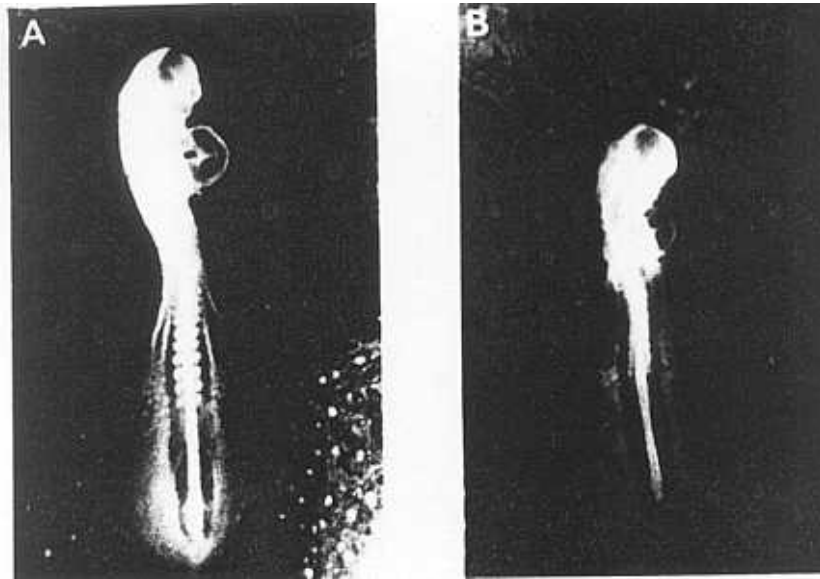


Fig. I.9. Vista general dorsal de embriones de estadio 12^r (X 9). A: Embrión normal. B: Embrión anormal. Talla reducida.

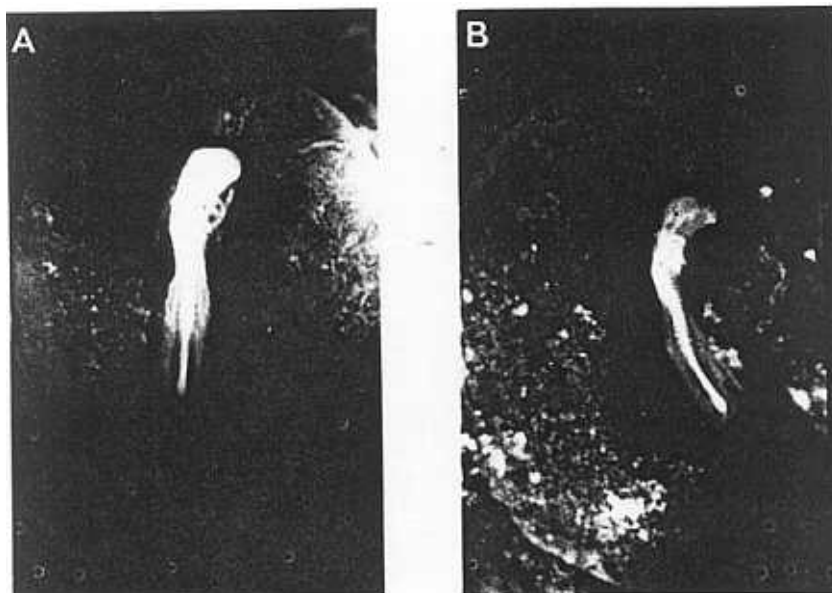


Fig. I. 10. Vista general dorsal de embriones de estadio 13^r (X 5) A: Embrión normal. B: Embrión anormal. Vascularización asimétrica, flexión del tubo neural anormal y retraso organogenético.

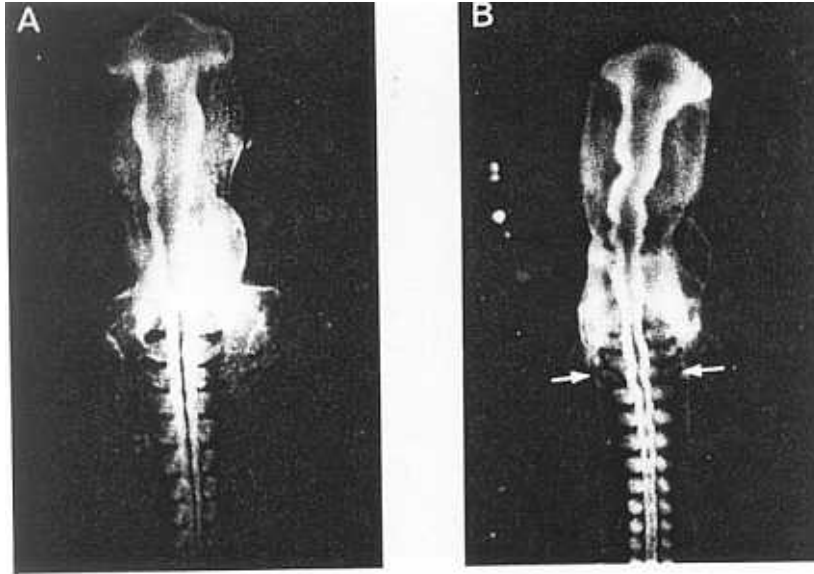


Fig. I. 11. Región anterior dorsal de embriones de estadio 11^+ (X 20). A: Embrión normal. B: Embrión anormal. SNC con asimetrías y retraso morfológico. Tercer par de somitos disgregados (flechas). Resto de los somitos pequeños.

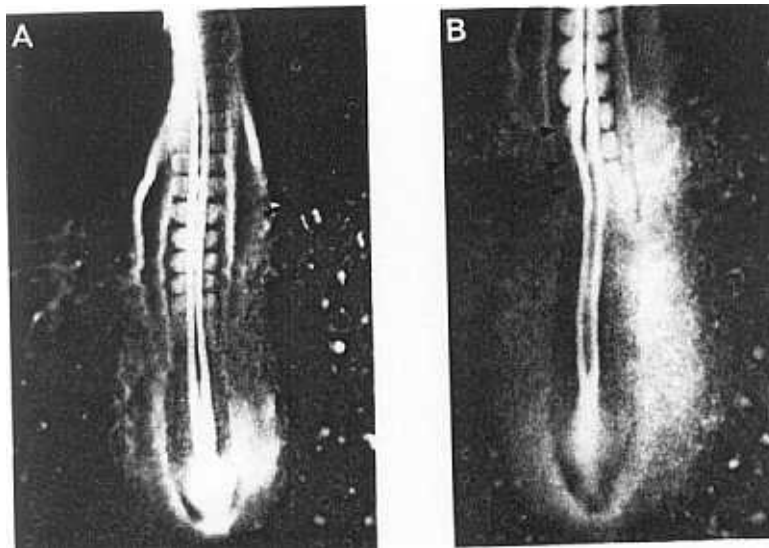


Fig. I.12. Región posterior dorsal de embriones en estadio 13^+ (X 20). A: Embrión normal. B: Embrión anormal. Últimos tres somitos del lado izquierdo de morfología anormal (flechas) y SNT irregular.

C A P I T U L O I I

Respuesta Embrionaria a CMs diferentes entre sí
por Décimas de Microtesla

CAPITULO II
RESPUESTA EMBRIONARIA A CMs DIFERENTES ENTRE SI
POR DECIMAS DE MICROTESLA

| | |
|--|-----|
| 1- Introducción. | 135 |
| 2- Material y métodos | 137 |
| 2.1.- Condiciones de exposición. | 137 |
| 2.2.- Características del circuito eléctrico. | 138 |
| 2.3.- Descripción de los embriones. | 140 |
| 2.4.- Criterios estadísticos. | 141 |
| 3.- Resultados. | 142 |
| 3.1.- Condición experimental tipo A. | 142 |
| 3.1.1.- Estudio del total de la población. | 142 |
| 3.1.2.- Análisis de la fracción de embriones clasificados como Anormales. | 143 |
| 3.1.3.- Análisis de la fracción de embriones clasificados como Malformados | 144 |
| 3.1.4.- Relación entre porcentaje de embriones clasificados como malformados y valores de campo magnético. | 144 |
| 3.2.- Condición experimental tipo B. | 145 |
| 3.2.1.- Estudio del total de la población. | 145 |
| 3.2.2.- Análisis de la fracción de embriones clasificados como Anormales . | 146 |
| 3.2.3.- Análisis de la fracción de embriones, clasificados como Malformados. | 146 |
| 3.3.- Condición experimental tipo C. | 146 |
| 3.3.1.- Estudio del total de la población. | 147 |
| 3.3.2.- Análisis de la fracción de embriones, clasificados como Anormales. | 147 |
| 3.3.3.- Análisis de la fracción de embriones clasificados como Malformados. | 148 |
| 4.- Discusión. | 149 |
| 5.- Tablas y Figuras. | 153 |

1.-INTRODUCCION.

El embrión de pollo ha mostrado ser sensible a valores específicos de intensidad y frecuencia de CM AC, (Delgado et al., 1982; Ubeda et al., 1983, 1987 y 1989; Juutilainen et al., 1986 a, 1986 b y 1987).

Las conclusiones extraídas de numerosos estudios han puesto en evidencia que, en diferentes sistemas biológicos, la respuesta a los CEMs ELF no obedece a una relación sencilla dosis-efecto, sino que parece implicado algún mecanismo de resonancia. La teoría, propuesta por Liboff (1985), de resonancia iónica predice modificaciones del flujo de iones a través de los canales iónicos en la membrana celular según la fórmula:

$$f = 1/2\pi (q/m) B_0,$$

donde f es la frecuencia de resonancia del ion implicado, es decir, la frecuencia a la que hay que ajustar el CM AC aplicado; q/m es la relación carga/masa iónica y B_0 es la intensidad del CM DC aplicado.

Según esta fórmula sólo determinadas combinaciones de f y B_0 producirán una respuesta biológica que se traducirá en alteraciones del flujo de iones a través de los canales de membrana.

Sin embargo, algunos estudios epidemiológicos parecen mostrar una relación dosis-efecto, siendo la intensidad de CM AC del orden de $1 \mu T$, en estos estudios (Tomenius, 1986; Feytching et al., 1993; Floderus et al., 1992; Lindbohl et al., 1992).

En este trabajo se ha utilizado un sistema de bobinas de Helmholtz que produce un CEM no uniforme espacialmente, es decir, existe un gradiente de intensidad en el espacio limitado por las bobinas. Estas condiciones nos han permitido

comparar la respuesta de los organismos ante los diferentes valores de CEM que existen entre los diferentes puntos del sistema de estimulación electromagnética. Ni el campo eléctrico ni el magnético eran uniformes, aumentando, el eléctrico, desde el centro hacia los extremos del espacio comprendido entre las bobinas y disminuyendo, el magnético, desde el centro hacia los extremos.

Aunque ni los valores del componente eléctrico ni del magnético eran uniformes, hemos considerado en este estudio solamente los valores del componente magnético. El campo magnético que recibe cada embrión no resulta distorsionado por la presencia de los otros huevos en las inmediaciones, ni por la cáscara, puesto que los organismos son permeables a este campo. Sin embargo, no son permeables al componente eléctrico, y de hecho, la membrana vitelina debido a su gran conductividad apantalla en gran medida el valor de éste (Miller, 1991).

2.- MATERIAL Y METODOS.

El objeto de este estudio, por tanto, consiste en averiguar si la respuesta embrionaria varía dependiendo de magnitudes del CEM diferentes entre sí por décimas de microtesla.

Se emplearon huevos fértiles de gallina de la raza White leghorn, variedad Hisex.

Las muestras se obtenían de una granja situada en Alcalá de Henares (Madrid), y se recibían en el laboratorio en el intervalo de las 12 horas siguientes a la puesta.

Se rechazaban los huevos con cáscara rota o muy porosa.

Las muestras se almacenaban a una temperatura de $10 \pm 0,5$ ° C, en posición horizontal, durante no más de tres días.

Antes de la incubación los huevos se marcaban con una clave, a lápiz, y se dividían, al azar, en dos grupos; uno serviría como control y el otro era expuesto al campo electromagnético.

Ambos grupos se incubaban simultáneamente en dos estufas similares, marca Memmert, separadas entre sí por una distancia de 3 metros, a una temperatura de $38 \pm 0,2$ °C y una humedad relativa (HR) de 60 ± 5 %.

Cada grupo de huevos se colocaba en el interior de un sistema de bobinas de Helmholtz, de iguales características, donde eran expuestos y/o incubados simultáneamente durante las primeras 48 horas de desarrollo embrionario post-puesta.

2.1.- Condiciones de Exposición.

La exposición tenía lugar en el interior de un par de bobinas de Helmholtz cuadradas, de 30 cm de lado, con una separación entre ellas de 20 cm, formadas por 30 espiras de hilo de cobre aislado de 1,5 mm de diámetro.

Cada par de bobinas podía albergar 30 huevos, colocados en un soporte con 3 niveles de altura (A, B y C) cada uno con 10 huevos. Cada lado de la bobina medía 30 cm. El soporte de madera tenía una longitud de 28 cm, y una anchura de 16 cm. (Fig. II.1). Los huevos se colocaban siempre en las mismas coordenadas espaciales, con su eje longitudinal en posición horizontal y su extremo agudo orientado hacia el oeste geomagnético.

Las coordenadas espaciales de cada una de las 30 posiciones eran identificadas de acuerdo con el estante en que se encontraba y del lugar que ocupaba dentro de cada estante. Por ejemplo, la posición B8 correspondería al estante central (B) y al lugar número 8 (véase Fig. II.1).

El CEM inducido por las bobinas era generado mediante un estimulador Grass SD9 que producía pulsos casi rectangulares, bipolares, con una frecuencia de 100 Hz, 500 μ s de duración y un tiempo de subida de 2 μ s.

Como hemos mencionado previamente, en el tipo de bobina de Helmholtz, de forma cuadrada, empleada en este estudio, la distribución de los campos magnético y eléctrico, no es uniforme. El campo eléctrico, inducido por la bobina, es mayor en la parte más cercana a las espiras de las bobinas y menor en el centro, y el campo magnético es mayor en el centro y menor en la periferia.

2.2.- Características del Circuito Eléctrico.

Al circuito compuesto por el generador SD9 y las bobinas de Helmholtz, conectadas en paralelo, se le añadió un condensador de 10 microfaradios (μ F), con objeto de conseguir una onda bipolar de valor medio nulo.

Mediante una sonda calibrada, colocada en el centro geométrico de las bobinas, se ajustó el valor del CM a 1 μ T y se comprobó mediante un osciloscopio Tektronix 5113 que la

tensión de pico de los impulsos de excitación era de 13,69 V.

Debido al rango de sensibilidad de la sonda ($\pm 0,2 \mu T$), las medidas que realizamos en cada una de las 30 posiciones carecían de la precisión suficiente como para poder discriminar entre ellas. Para conseguirlo, amplificamos 1000 veces el impulso de salida del generador y, situando la sonda en cada una de las 30 posiciones que ocupan los huevos, se obtuvieron los valores de CM relativos en esas coordenadas. Por lo tanto, los valores que citaremos no son absolutos, sino relativos.

Agrupando las posiciones cuyo valor de CM es el mismo, se pueden formar nueve grupos con las 30 posiciones. Cada grupo está formado por posiciones simétricas respecto a las coordenadas del CM. Estos grupos con sus valores correspondientes de CM están representados en la Tabla II.1. Como puede observarse, la diferencia entre el centro de la bobina (posiciones B3 y B8) asignando a estos puntos de máximo CM un valor de 1000, y el valor mínimo de CM (801), que corresponde a las posiciones A1, A5, A6 y A10, es de un veinte por ciento.

Se consideraron 3 tipos de condiciones experimentales, a las que llamaremos A, B y C, dependiendo del número y localización de las posiciones ocupadas. Los parámetros del CEM aplicado eran los mismos para los tres casos.

- En la condición experimental tipo A, se exponían 30 huevos al CEM y 30 huevos servían como controles. Es decir, se ocupaban todos los espacios disponibles de nuestro sistema de exposición. Se realizaron ocho experimentos de este tipo. En otros dos experimentos quedaron libres las posiciones correspondientes a los números 1, 5, 6 y 10 de los tres estantes, por problemas de suministro de huevos.

- En la condición experimental tipo B, sólo eran ocupadas

9 posiciones, las denominadas: A3, A4, A8, B2, B3, B8, C3, C8 y C9, que corresponden a posiciones con valores de CM relativamente altos respecto al resto de posiciones no ocupadas (Tabla II.1). Se realizaron 11 experimentos. La intensidad media de CM para la condición experimental B era de $944,1 \pm 47 \times 10^{-3} \mu T$.

- En la condición experimental tipo C, eran 12 las posiciones ocupadas: las correspondientes a los 4 puntos extremos de cada estante: A1, A5, A6, A10, B1, B5, B6, B10, C1, C5, C6 y C10 cuyos valores de CM eran relativamente bajos respecto a las demás posiciones (Tabla II.1). Se realizaron 9 experimentos. La intensidad media de CM para la condición experimental C era de $844,3 \pm 35 \times 10^{-3} \mu T$.

En cada caso, los huevos que servían como controles se colocaban en otra bobina, en las mismas posiciones que sus correspondientes expuestos. Mediante experiencias realizadas en nuestro laboratorio (Ubeda, 1989) se ha mostrado que la incubación en el interior de bobinas no estimuladas no provoca anomalías embrionarias, en comparación a embriones incubados sin bobinas.

2.3.- Descripción de los embriones.

Tras 48 horas de exposición y/o incubación, los huevos eran retirados de sus correspondientes estufas y se procedía a la descripción a ciegas de los embriones, mediante los siguientes pasos:

1) Los embriones eran extraídos de los huevos a través de una ventana practicada en la parte superior de la cáscara.

2) Los ejemplares eran sumergidos en Tyrode (Ubeda, 1989), se limpiaban de restos de vitelo y se extraía la membrana vitelina.

3) Se procedía a su descripción, a través de un estereeo

microscopio (Nikon SMZ-2T). Se determinaba el estadio de desarrollo y la morfología de cada embrión siguiendo los criterios establecidos en el Capítulo I.

4) Los embriones eran fijados en líquido de Carnoy (Ubeda, 1989), descritos nuevamente, y fotografiados con una cámara Nikon, adosada al estereomicroscopio.

5) El exámen histológico de los ejemplares fue llevado a cabo tras su deshidratación a través de una serie de alcoholes y su inclusión en Histosec (Merk 11609). Las piezas fueron cortadas en secciones transversales consecutivas de 7 μ m de espesor, mediante un microtomo de rotación (Leitz, 1512). Las secciones fueron montadas, teñidas con ácido periódico-schiff (Luna, 1968) y azul alcían a pH 2,5 (Gabe, 1968), y contrastadas con hematoxilina. Las preparaciones fueron estudiadas a través de un microscopio de luz (Nikon Apophot) equipado con accesorio fotográfico (Cámara Nikon de 35 mm).

2.4.- Criterios Estadísticos.

Para el análisis estadístico de los resultados, fueron empleados el test binomial de comparación de porcentajes y el test de regresión lineal (Snedecor y Cochran, 1967). El límite de significatividad para las diferencias apreciadas entre los grupos a comparar fue establecido en un valor de $p \leq 0,05$.

3.- RESULTADOS

3.1.- Condición Experimental Tipo A.

3.1.1.- Estudio del Total de la Población.

Se estudió un total de 267 embriones expuestos y 270 controles en un conjunto de 10 experimentos.

En la muestra expuesta al CEM, un 26,6% de la población presentaba algún tipo de anomalía (71 embriones). En la muestra control, el porcentaje de embriones con algún tipo de anomalía, era de 24,1% (65 embriones). Esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p = 0,502$). (Tabla II.2)

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambas poblaciones fue similar: $13,2 \pm 1,5$ (N= 176) entre los embriones expuestos y $13,0 \pm 1,6$ (N= 183) entre los controles.

La población de embriones con anomalías alcanzó una media de desarrollo de $12,7 \pm 1,5$ (N= 55), entre los expuestos y de $12,1 \pm 2,3$ (N= 52), entre los controles.

Haciendo un análisis del grado de anomalías, según se explicó en el Capítulo I, se obtuvieron los siguientes resultados:

El porcentaje de embriones no normales (con una o varias anomalías leves) alcanzó en la población expuesta el 12% (32 embriones) y en la población control, el 15,9% (43 embriones), no siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,188$). En cuanto a los embriones malformados (con una o varias anomalías importantes), el porcentaje sobre la población total en el grupo expuesto, fue de un 11,6% (31 embriones) y de un 5,6% (15 embriones) en el grupo control, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,012^*$) y E/C= 2,1. El porcentaje de embriones no

desarrollados, es decir que no alcanzaron el estadio de línea primitiva definitiva, fue similar en ambos grupos: 3,0 % en expuestos (8 embriones) y 2,6 % en controles (7 embriones) ($p= 0,800$) (Tabla II.3).

El estudio del tipo de anomalías (leves + severas) reveló un total de 139 anomalías en los embriones tratados y 116 en los controles ($p= 0,035^*$). La distribución de anomalías para cada grupo se muestra en la Tabla II.3.

3.1.2.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Anormales.

Como se ha explicado en el Capítulo I, estos embriones presentaban alguna anomalía leve en uno o varios de los cinco sistemas en desarrollo (SNC, SNT, Somitos, Corazón o Vascularización) o su grado de desarrollo era deficiente, no habiendo alcanzado el estadio 9.

Se observó entre los embriones anormales tras ser expuestos al CEM, una disminución del número de anomalías leves del SNC, SNT, Somitos, Corazón y de embriones deficientemente desarrollados. Estas diferencias no son significativas, y tampoco lo es el aumento de las anomalías que afectan a la vascularización, observado también en el grupo de los embriones expuestos.

Aunque el número de anomalías para el SNT es similar en ambos grupos, hemos encontrado un porcentaje superior en la población expuesta, respecto a la control, de embriones con un tipo de alteración que consiste en una flexión anómala del eje cefalocaudal (2,6% vs. 0,4%; $p= 0.037^*$) (Tabla II.4 y Fig. I.7).

3.1.3.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Malformados.

El CEM produjo un aumento significativo del número de embriones con anomalías graves ($p=0,012^*$). En la Tabla II.4 puede verse el análisis detallado de los sistemas en desarrollo gravemente alterados en las dos poblaciones.

Se observó un aumento de malformaciones para los siguientes sistemas: SNC ($p=0,025^*$) (véase un típico aspecto de un SNC malformado, a nivel microscópico en la Fig. II.3), SNT ($p=0,008^{**}$) y Somitos ($p=0,036^*$), siendo similar el número de malformaciones para corazón y vascularización entre controles y expuestos.

El número de malformaciones era de 38 para los embriones controles y 83 para los tratados, siendo significativamente diferente ($p=0,000^{**}$).

3.1.4.-Relación entre Porcentaje de Embriones Malformados y valores de intensidad del campo magnético.

Se realizaron medidas de CM, según hemos visto en el apartado de Material y Métodos de este capítulo (Tabla II.1).

Se calculó la proporción de embriones malformados para cada uno de los nueve grupos, tanto de la población expuesta como de la control y la de embriones no normales en la población expuesta. (Tabla II.5).

El test de regresión lineal puso en evidencia una relación positiva ($p=0,007^{**}$) entre la frecuencia de embriones malformados y la intensidad del CM (Fig II.2 A).

No se obtuvo ninguna relación lineal en la población control ($p=0,304$) (Fig. II.2 B).

Tampoco se obtuvo relación entre el porcentaje de embriones no normales en la población expuesta y valores de intensidad del CM ($p= 0,168$) (Fig. II.2 C).

3.2.- Condición Experimental Tipo B.

Como hemos señalado, en el apartado de Material y Métodos de este capítulo, en este tipo de experimentos se ocupaban las posiciones con valores de intensidad de CM altos respecto al resto de posiciones.

Se utilizaron nueve huevos expuestos al campo y nueve controles en cada uno de los 11 experimentos, ocupando las siguientes posiciones: A3, A4, A8, B2, B3, B8, C3, C8 y C9 (Fig.II.1).

3.2.1.- Estudio del total de la población.

El estudio se realizó sobre un total de 94 embriones expuestos al CEM y 95 embriones controles. En la muestra expuesta, un total de 24 embriones (25,5%) presentaba algún tipo de anomalía, mientras que en la muestra control, sólo 10 embriones no eran normales (10,5%). (E/C= 2,4; p= 0,008**) (Tabla II.6).

El grado medio de desarrollo al que llegaron los embriones normales de la población expuesta, fue de $13,2 \pm 0,9$ (N= 73), y de $12,9 \pm 0,9$ (N= 85), los controles.

Los embriones no normales en el grupo de los tratados alcanzaron un grado medio de desarrollo de $12,6 \pm 0,6$ (N= 17) y en el de los controles, de $12,8 \pm 1,4$ (N= 8).

En la muestra tratada, se observó un aumento de las tres categorías de embriones no normales: con anomalías leves (E/C= 2,3), anomalías severas (E/C= 2,5) y no desarrollados (E/C= 2,5). Estas diferencias, sin embargo, no alcanzaron el límite de significatividad (p= 0,163, 0,104 y 0,279 respectivamente) (Tabla II.7).

En cuanto al número de alteraciones morfológicas (leves o graves), se observó un aumento de anomalías, en la población expuesta para los cinco sistemas: SNC (E/C= 1,9), SNT (E/C=

=1,7), Somitos (E/C= 2,5), Corazón (E/C= 2,0), Vascularización (E/C= 2,0) y un aumento de embriones deficientemente desarrollados (E/C > 1,9). El número de anomalías totales fue de 47 en la muestra tratada y 23 en la control (p= 0,000**) (Tabla II.8).

3.2.2.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Anormales.

El número de anomalías leves en la población expuesta fue de 38, en comparación con las 17 registradas en la población control (p=0,001**).

El incremento en la muestra tratada, fue debido a los siguientes órganos: SNT (E/C = 2,3), Somitos (E/C = 4,0), Vascularización (E/C = 2,0) y grado de desarrollo (E/C \geq 2) (Tabla II.9).

3.2.3.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Malformados.

El SNC, fue el órgano con mayor grado de alteraciones graves en los embriones expuestos respecto a los controles (E/C= 2,5; p= 0,104).

El número de malformaciones fue de 17 en la población tratada y de 9 en la población control (p= 0,095) (Tabla II.10).

3.3.- Condición Experimental Tipo C.

En este tipo de experimentos, se ocupaban las posiciones con valores de intensidad de CM más bajos respecto al resto de posiciones (Tabla II.1).

En cada experimento, se utilizaban 12 huevos expuestos al CEM y 12 controles. Las posiciones en las que estaban

colocados ambos grupos de huevos eran las siguientes: A1, A5, A6, A10, B1, B5, B6, B10, C1, C5, C6 Y C10. (Fig. II.1)

3.3.1.- Estudio del Total de la Población.

Se empleó un total de 103 embriones expuestos y 105 controles.

El porcentaje de embriones con algún tipo de anomalía era similar en ambos grupos, 21 embriones en la población expuesta (20,4 %) y 19, en los controles (18,1 %); (E/C = 1,1).

El estadio medio de los embriones normales expuestos fue de $13,0 \pm 1,0$ (N= 75) y el de los controles fue de $12,7 \pm 1,2$ (N= 77).

El estadio medio de los embriones no normales expuestos fue de $12,3 \pm 1,8$ (N= 10), y el de los controles fue de $12,5 \pm 1,6$ (N = 12).

El porcentaje de embriones con anomalías leves fue algo superior en la muestra expuesta (10,7 % vs. 6,7 %; p=0,303). Las proporciones de embriones malformados fueron similares en ambos grupos: 3,9 % en expuestos y 5,7 % en controles. El porcentaje de embriones no desarrollados fue similar en ambos grupos (E/C= 1,0) (Tabla II.11).

La distribución de alteraciones morfológicas para cada órgano no presentaba diferencias entre ambos grupos (Tabla II.12).

3.3.2.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Anormales.

No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de anomalías leves para cada sistema o grado de desarrollo, entre el grupo tratado y el control. Se registró un aumento (no significativo) en el número de anomalías leves para el SNC en el grupo de los tratados, respecto a los

controles (E/C= 2,6; p= 0,277), así como un aumento (tampoco significativo) de un tipo de anomalía mencionado en el apartado 1.2 de este capítulo referente a una flexión anómala del eje cefalocaudal (E/C= 4,9; p= 0,117). (Fig I.7 y Tabla II.13)

3.3.3.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Malformados.

Se observó una disminución de malformaciones para todos los sistemas, en el grupo de los embriones expuestos, no siendo las diferencias entre expuestos y controles, estadísticamente significativas (Tabla II.14).

4.- DISCUSION.

Los resultados de este capítulo confirman que un CEM pulsado bipolar de 100 Hz y 1 μ T puede producir efectos teratógenos sobre el desarrollo temprano del embrión de pollo.

El efecto observado, que consistió en un aumento en la proporción de embriones malformados, parece depender de la magnitud del campo magnético, en una relación directa dosis-respuesta, en la que pequeñas diferencias en la intensidad del CM pueden ser determinantes.

Sin embargo, no podemos concluir que los efectos sean debidos exclusivamente al campo magnético ya que existe un campo eléctrico asociado que no podemos despreciar. Quizás la interacción de ambos campos con los organismos sea la causante de los efectos observados. En este sentido, algunos autores (J.L. Phillips et al., 1986; E.M. Goodman et al., 1979; Marron et al., 1988) han descrito diferentes efectos, ya se trate de la aplicación del campo eléctrico o del magnético, mientras que otros autores (Blackman et al., 1985 b; Cameron et al., 1985) han observado pérdida de la respuesta biológica tras reducir, hasta niveles considerados despreciables, uno de los campos.

Como discutiremos en el Capítulo IV, el mecanismo que parece explicar, al menos en parte, los efectos provocados por los CEMs, en el rango ELF, se basa en la existencia de rangos determinados de valores de frecuencia de CEM en las que los sistemas biológicos son sensibles específicamente, y en la interacción del CM estático.

Estos hechos sugieren que un fenómeno de resonancia puede estar implicado en los efectos de CEMs ELF. Liboff, en 1985, postuló la teoría de resonancia del ciclotrón para iones, según la cual sólo determinadas combinaciones de la frecuencia del CEM y de la intensidad del CM DC serían efectivas,

alterando el flujo de iones a través de las membranas celulares.

Según esta teoría, en lo referente a intensidades de campo magnético, la intensidad del DC es el parámetro más importante. Sin embargo, experimentalmente se ha observado que algunos efectos parecen estar relacionados con la intensidad del CM AC (Blanchard y Blackman, 1994). Según un estudio experimental de Liboff y colaboradores (1987), la incorporación de Ca^{45} en cultivos de linfocitos dependía de la intensidad del CM AC aplicado, mostrando una relación lineal dosis-respuesta hasta una intensidad de 20 μT seguida por una bajada de efectividad a más altas intensidades (Fig. II.4)

Nuestros resultados sugieren también la existencia de una relación dosis-respuesta. Es probable que intensidades tan bajas como las empleadas en el presente estudio se encontraran en la zona ascendente de una curva con un pico de máxima efectividad, como la obtenida por Liboff (Fig. II.4).

Por otro lado, resultados de algunos estudios epidemiológicos (Tomenius, 1986; Feytching et al., 1993; Floderus et al., 1992; Lindbohm et al., 1992) también muestran que el riesgo de sufrir determinadas enfermedades oncológicas en personas expuestas crónicamente a CEMs ELF, depende de la intensidad del CEM.

Las intensidades de CEM testadas por estos autores son del orden de las utilizadas en este capítulo: Tomenius (1986) encuentra que a intensidades de 0,079 μT , en el interior de los hogares, no existe riesgo de tumores en la población infantil, mientras que a 0,1 μT el riesgo relativo (RR) es 2,1, estadísticamente significativo.

Feytching y col. (1993) mostraron una relación dosis--efecto entre valores de CM calculados, en el interior de los hogares y leucemia infantil: a intensidades de $\text{CM} \leq 0,009 \mu\text{T}$ el RR era de 1,0; a intensidades de CM comprendidas entre 0,1 μT y 0,19 μT el RR era 2,1, no significativo; a intensidades

$\geq 0,2 \mu\text{T}$, el RR era 2,7, estadísticamente significativo y a intensidades $\geq 0,3$, el RR era 3,8, estadísticamente muy significativo.

Floderus y col. (1992) también encuentran una relación dosis-efecto, para leucemia linfocítica crónica en hombres expuestos a CEMs en su lugar de trabajo: a intensidades de CM $\leq 0,15 \mu\text{T}$ el RR era de 1,0; a intensidades comprendidas entre 0,16 y 0,19 μT el RR era 1,1; a intensidades comprendidas entre 0,20 y 0,28 μT , el RR era 2,2, estadísticamente significativo; a intensidades $\geq 0,29 \mu\text{T}$ el RR era 3,04 y a intensidades $\geq 0,41 \mu\text{T}$ el RR era 3,72.

Lindbohl y col. (1992) observaron riesgo significativo de aborto entre mujeres que trabajaban con VDTs con magnitudes de CM $> 0,9 \mu\text{T}$ (RR = 3,4), menor riesgo entre las que trabajaban con VDTs con magnitudes de CM entre 0,4 y 0,9 μT (RR = 1,3) y ningún riesgo entre las que trabajaban con VDTs con magnitudes de CM $< 0,4 \mu\text{T}$.

Los trabajos comentados muestran dos hechos que coinciden con nuestros datos:

12) Pequeñas diferencias de magnitud de CM pueden ser determinantes en la producción o no de una respuesta específica:

En el primer trabajo epidemiológico comentado anteriormente (Tomenius, 1986), una intensidad de CM de 0,079 μT no resultaba teratógena, sin embargo, un incremento de sólo 0,021 μT aumentaba en 2,1 el riesgo de tumores infantiles. En el estudio de Feytching y col. (1993) el intervalo de 0,1-0,19 μT no resultaba estadísticamente significativo. Sin embargo, a partir de 0,2 μT el RR era 2,7, significativo. También en este caso, un incremento de menos de 0,1 μT parece fundamental. En el estudio de Floderus y col. (1992) no se observa incremento de leucemia en trabajadores expuestos a valores de CM comprendidos entre 0,16 y 0,19 μT . Los expuestos a valores de CM entre 0,20 y 0,28 μT están

sometidos a un riesgo significativo, es decir, una diferencia menor o igual a 0,12 μT entre valores de campo teratogénos y no teratogénos. Lindbohm y col. (1992) encuentran una diferencia menor o igual a 0,5 μT entre valores de CM teratogénos o no.

Si agrupamos nuestros valores de CM inducido en tres rangos, según la intensidad, en μT (0,801-0,875; 0,876-0,950; 0,951-1,000) observamos que sólo en el último rango la diferencia de organismos malformados entre controles y tratados es significativa ($p= 0,001$). Es decir, una diferencia menor o igual a 0,075 μT parece ser decisiva en los efectos sobre el desarrollo embrionario, al menos en estas condiciones experimentales.

2º) Se observa una relación dosis - efecto:

En el estudio de Feytching y col. (1993) el RR aumenta (1; 2,1; 2,7; 3,8) según aumenta la intensidad de CM a la que se ven expuestos los niños estudiados. Floderus y col. (1992) también hallan una relación dosis - efecto, con valores de RR: 1; 1,1; 2,2; 3,04 y 3,72, según aumentan los valores de CM, y Lindbohm y col. (1992) observan una relación de este tipo para sus tres franjas de valores de CM, con RRs de 1,0; 1,3 y 3,4.

Por lo tanto, nuestros resultados y los de otros autores, comentados en este capítulo, parecen indicar que, la intensidad del CM AC es un factor decisivo para la obtención de una determinada respuesta biológica e importante para entender el, o los mecanismos de actuación de los CEMs, al menos en el rango de intensidad de 0,1 a 1 μT , y que, al menos en este rango de intensidad, la respuesta biológica parece obedecer a una relación dosis-efecto.

T A B L A S Y F I G U R A S

POSICIONES SIMÉTRICAS RESPECTO A LAS COORDENADAS DE CM Y SUS VALORES CORRESPONDIENTES DE CM.

| <u>POSICIONES</u> | <u>Valores relativos del campo magnético.</u> |
|--|---|
| A ₁ , A ₅ , A ₆ , A ₁₀ | 801 |
| B ₁ , B ₅ , B ₆ , B ₁₀ | 881 |
| C ₁ , C ₅ , C ₆ , C ₁₀ | 851 |
| A ₂ , A ₄ , A ₇ , A ₉ | 875 |
| B ₂ , B ₄ , B ₇ , B ₉ | 967 |
| C ₂ , C ₄ , C ₇ , C ₉ | 941 |
| A ₃ , A ₈ | 886 |
| B ₃ , B ₈ | 1000 |
| C ₃ , C ₈ | 971 |

Tabla II.1. Posiciones simétricas respecto a las coordenadas de CEM y sus valores correspondientes de CM, en μT . Estos valores están aumentados por un factor de 1000.

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO A

| | <u>CONTROLES (270)</u> | | <u>EXPUESTOS (267)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-------------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------|----------|
| | <u>no</u> | <u>%</u> | <u>no</u> | <u>%</u> | | |
| <u>no N</u> | 65 | 24,1 | 71 | 26,6 | 1,1 | 0,502 |
| <u>A</u> | 43 | 15,9 | 32 | 12,0 | 0,8 | 0,188 |
| <u>M</u> | 15 | 5,6 | 31 | 11,6 | 2,1 | 0,012* |
| <u>ND</u> | 7 | 2,6 | 8 | 3,0 | 1,2 | 0,800 |

Tabla II.2. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo A, sobre la proporción de embriones no normales (no N), anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND). Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO A

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO NO NORMALES

| | <u>CONTROLES (270)</u> | | <u>EXPUESTOS (267)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 38 | 14,1 | 45 | 16,9 | 1,2 | 0,373 |
| SNT | 24 | 8,9 | 34 | 12,7 | 1,4 | 0,151 |
| STOS | 25 | 9,3 | 28 | 10,5 | 1,1 | 0,633 |
| CORZ | 16 | 5,9 | 18 | 6,7 | 1,1 | 0,698 |
| VASC | 6 | 2,2 | 11 | 4,1 | 1,9 | 0,228 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 7 | 2,6 | 3 | 1,1 | 0,4 | 0,339 |
| TOTAL | 116 | | 139 | | | 0,035* |

Tabla II.3. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo A, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones no normales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización; DES (4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. El número de embriones no normales puede ser menor que el total de anomalías, ya que cada embrión no normal puede tener más de una anomalía. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO A

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO ANORMALES

| | <u>CONTROLES (270)</u> | | <u>EXPUESTOS (267)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 23 | 8,5 | 16 | 6,0 | 0,7 | 0,259 |
| SNT | 18 | 6,7 | 15 | 5,6 | 0,8 | 0,613 |
| STOS | 16 | 5,9 | 8 | 3,0 | 0,4 | 0,143 |
| CORZ | 11 | 4,1 | 9 | 3,4 | 0,8 | 0,820 |
| VASC | 3 | 1,1 | 5 | 1,9 | 1,7 | 0,503 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 7 | 2,6 | 3 | 1,1 | 0,4 | 0,339 |
| TOTAL | 78 | | 56 | | | 0,034* |
| FLEX | 1 | 0,4 | 7 | 2,6 | 6,6 | 0,037* |

Tabla II.4. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo A, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones Anormales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización.

DES (4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles). FLEX: Anomalías en la flexión del eje cefalocaudal, incluidas dentro de las anomalías del SNT.

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO A

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO MALFORMADOS

| | <u>CONTROLES (270)</u> | | <u>EXPUESTOS (267)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-------|------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 15 | 5,6 | 29 | 10,9 | 1,9 | 0,025* |
| SNT | 6 | 2,2 | 19 | 7,1 | 3,2 | 0,008** |
| STOS | 9 | 3,3 | 20 | 11,6 | 6,1 | 0,036* |
| CORZ | 5 | 1,9 | 9 | 3,4 | 1,8 | 0,293 |
| VASC | 3 | 1,1 | 6 | 2,2 | 2,0 | 0,337 |
| TOTAL | 38 | | 83 | | | 0,000** |

Tabla II.5. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo A, sobre los cinco sistemas estudiados en la población de embriones Malformados. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO A

| <u>POSICIONES</u> | <u>CONTROLES</u> | | | <u>EXPUESTOS</u> | | | | | |
|--|--------------------|-----------|----------|--------------------|-----------|----------|--------------------|-----------|----------|
| | <u>MALFORMADOS</u> | | | <u>MALFORMADOS</u> | | | <u>NO NORMALES</u> | | |
| | <u>T</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>T</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>T</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> |
| A ₁ , A ₅ , A ₆ , A ₁₀ | 32 | 2 | 6,3 | 30 | 1 | 3,3 | 30 | 6 | 20,0 |
| B ₁ , B ₅ , B ₆ , B ₁₀ | 32 | 0 | - | 30 | 3 | 10,0 | 30 | 7 | 23,3 |
| C ₁ , C ₅ , C ₆ , C ₁₀ | 32 | 5 | 15,6 | 31 | 1 | 3,2 | 31 | 5 | 16,1 |
| A ₂ , A ₄ , A ₇ , A ₉ | 40 | 3 | 7,5 | 38 | 5 | 13,2 | 38 | 11 | 28,9 |
| B ₂ , B ₄ , B ₇ , B ₉ | 39 | 1 | 2,6 | 39 | 9 | 23,1 | 39 | 18 | 46,2 |
| C ₂ , C ₄ , C ₇ , C ₉ | 36 | 3 | 8,3 | 39 | 3 | 7,7 | 39 | 9 | 23,1 |
| A ₃ , A ₈ | 20 | 0 | - | 20 | 2 | 10,0 | 20 | 5 | 25,0 |
| B ₃ , B ₈ | 19 | 0 | - | 20 | 4 | 20,0 | 20 | 6 | 30,0 |
| C ₃ , C ₈ | 20 | 1 | 5,0 | 20 | 3 | 15,0 | 20 | 4 | 20,0 |

Tabla II.6. Número (nº) y porcentaje (%) de embriones malformados en controles y expuestos, y no normales en expuestos, sobre el total (T) de embriones descritos en cada uno de los nueve grupo de posiciones.

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO B

| | <u>CONTROLES (95)</u> | | <u>EXPUESTOS (94)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-------------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|------------|----------|
| | <u>no</u> | <u>%</u> | <u>no</u> | <u>%</u> | | |
| <u>no N</u> | 10 | 10,5 | 24 | 25,5 | 2,4 | 0,008** |
| <u>A</u> | 4 | 4,2 | 9 | 9,6 | 2,3 | 0,163 |
| <u>M</u> | 4 | 4,2 | 10 | 10,6 | 2,5 | 0,104 |
| <u>ND</u> | 2 | 2,1 | 5 | 5,3 | 2,5 | 0,279 |

Tabla II.7. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo B, sobre la proporción de embriones no normales (no N), anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND). Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO B

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO NO NORMALES

| | <u>CONTROLES (95)</u> | | <u>EXPUESTOS (94)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 8 | 8,4 | 15 | 16,0 | 1,9 | 0,125 |
| SNT | 7 | 7,4 | 12 | 12,8 | 1,7 | 0,237 |
| STOS | 4 | 4,2 | 10 | 10,6 | 2,5 | 0,104 |
| CORZ | 2 | 2,1 | 4 | 4,3 | 2,0 | 0,444 |
| VASC | 2 | 2,1 | 4 | 4,3 | 2,0 | 0,444 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 0 | | 2 | 2,1 | >2 | 0,246 |
| TOTAL | 23 | | 47 | | | 0,000** |

Tabla II.8. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo B, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones no normales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. DES (4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. El número de embriones no normales puede ser menor que el total de anomalías, ya que cada embrión no normal puede tener más de una anomalía. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO B

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO ANORMALES

| | <u>CONTROLES (95)</u> | | <u>EXPUESTOS (94)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 4 | 4,2 | 5 | 5,3 | 1,3 | 0,747 |
| SNT | 4 | 4,2 | 9 | 9,6 | 2,0 | 0,163 |
| STOS | 2 | 2,1 | 8 | 8,5 | 4,1 | 0,058 |
| CORZ | 2 | 2,1 | 2 | 2,1 | 1,0 | 1,000 |
| VASC | 2 | 2,1 | 4 | 4,2 | 2,0 | 0,444 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 0 | - | 2 | 2,1 | >2 | 0,246 |
| TOTAL | 14 | | 30 | | | 0,006** |
| FLEX | 2 | 2,1 | 4 | 4,3 | 2,0 | 0,444 |

Tabla II.9. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo B, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones Anormales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. DES(4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles). FLEX: Anomalías en la flexión del eje cefalocaudal, incluidas dentro de las anomalías del SNT.

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO B

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO MALFORMADOS

| | <u>CONTROLES (95)</u> | | <u>EXPUESTOS (94)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 4 | 4,2 | 10 | 10,6 | 2,5 | 0,104 |
| SNT | 3 | 3,2 | 3 | 3,2 | 1,0 | 1,000 |
| STOS | 2 | 2,1 | 2 | 2,1 | 1,0 | 1,000 |
| CORZ | 0 | - | 2 | 2,1 | > 2,0 | 0,246 |
| VASC | 0 | - | 0 | - | - | 1,000 |
| TOTAL | 9 | | 17 | | | 0,095 |

Tabla II.10. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo B, sobre los cinco sistemas estudiados en la población de embriones Malformados. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización; TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO C

| | <u>CONTROLES (105)</u> | | <u>EXPUESTOS (103)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-------------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| <u>no N</u> | 19 | 18,1 | 21 | 20,4 | 1,1 | 0,675 |
| <u>A</u> | 7 | 6,7 | 11 | 10,7 | 1,6 | 0,303 |
| <u>M</u> | 6 | 5,7 | 4 | 3,9 | 0,7 | 0,748 |
| <u>ND</u> | 6 | 5,7 | 6 | 5,8 | 1,0 | 1,000 |

Tabla II.11. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo C, sobre la proporción de embriones no normales (no N), anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND). Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO C

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO NO NORMALES

| | <u>CONTROLES (105)</u> | | <u>EXPUESTOS (103)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 7 | 6,7 | 9 | 8,7 | 1,3 | 0,575 |
| SNT | 11 | 10,5 | 10 | 9,7 | 0,9 | 0,854 |
| STOS | 7 | 6,7 | 5 | 4,9 | 0,7 | 0,768 |
| CORZ | 6 | 5,7 | 4 | 3,9 | 0,7 | 0,748 |
| VASC | 4 | 3,8 | 3 | 2,9 | 0,8 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 0 | - | 0 | - | | |
| TOTAL | 35 | | 31 | | | 0,616 |

Tabla II.12. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo C, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones no normales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. DES(4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. El número de embriones no normales puede ser menor que el total de anomalías, ya que cada embrión no normal puede tener más de una anomalía. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO C

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO ANORMALES

| | <u>CONTROLES (105)</u> | | <u>EXPUESTOS (103)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 2 | 1,9 | 5 | 4,9 | 2,6 | 0,277 |
| SNT | 5 | 4,8 | 6 | 5,5 | 1,1 | 0,767 |
| STOS | 5 | 4,8 | 4 | 3,9 | 0,8 | 1,000 |
| CORZ | 4 | 3,8 | 3 | 2,9 | 0,8 | 1,000 |
| VASC | 2 | 1,9 | 2 | 1,8 | 0,9 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 0 | - | 0 | - | | |
| TOTAL | 18 | | 20 | | | 0,671 |
| FLEX | 1 | 1,0 | 5 | 4,9 | 4,9 | 0,117 |

Tabla II.13. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo C, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones Anormales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. DES(4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles). FLEX: Anomalías en la flexión del eje cefalocaudal, incluidas dentro de las anomalías del SNT.

CONDICION EXPERIMENTAL TIPO C

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO MALFORMADOS

| | <u>CONTROLES (105)</u> | | <u>EXPUESTOS (103)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-------|------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 5 | 4,8 | 4 | 3,9 | 0,8 | 1,000 |
| SNT | 6 | 5,7 | 4 | 3,9 | 0,7 | 0,748 |
| STOS | 2 | 1,9 | 1 | 1,0 | 0,5 | 1,000 |
| CORZ | 2 | 1,9 | 1 | 1,0 | 0,5 | 1,000 |
| VASC | 2 | 1,9 | 1 | 1,0 | 0,5 | 1,000 |
| TOTAL | 17 | | 11 | | | 0,244 |

Tabla II.14. Efectos del CEM, en la condición experimental tipo C, sobre los cinco sistemas estudiados en la población de embriones Malformados. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

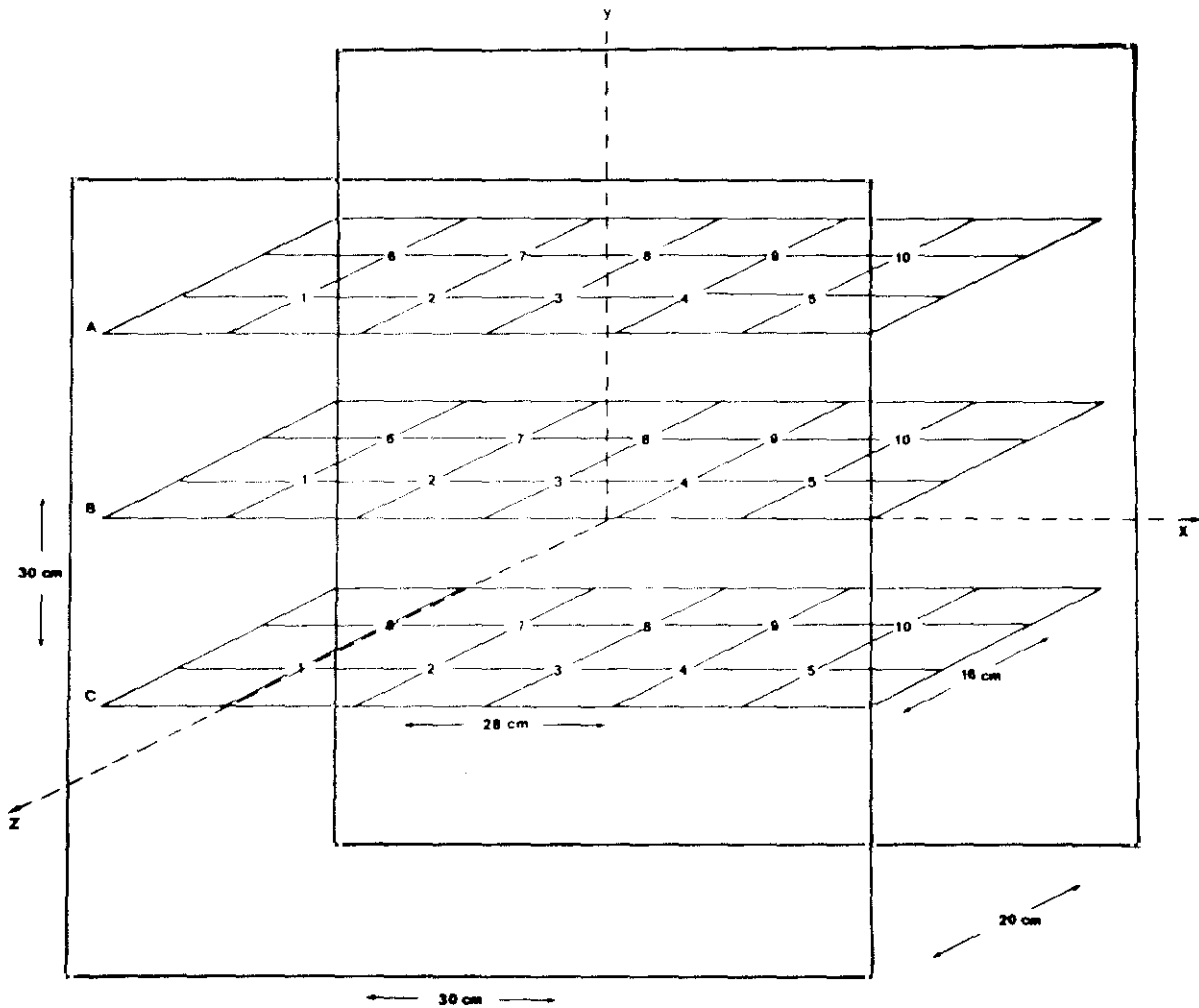
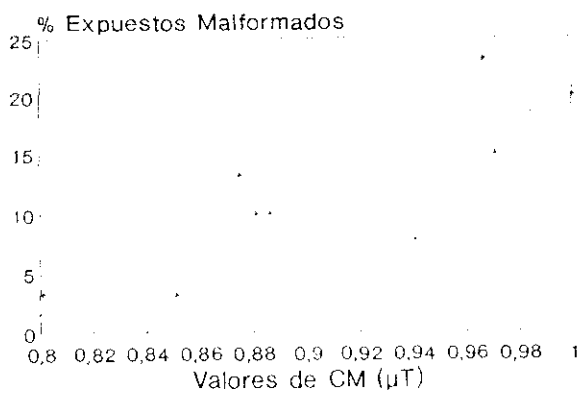
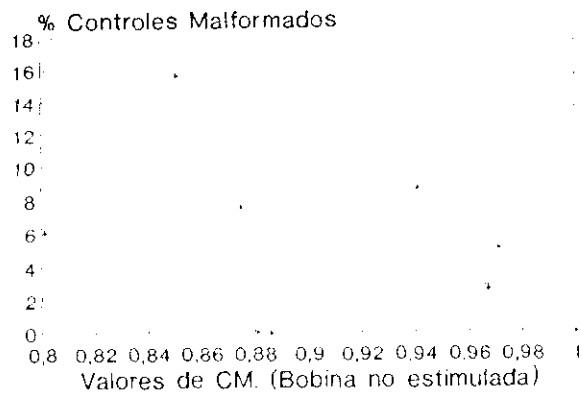


Fig. II. 1. Esquema representativo del soporte para los treinta huevos y sus medidas correspondientes. A, B y C son los tres estantes. La posición de los huevos en cada estante está representada por los números del 1 al 10.



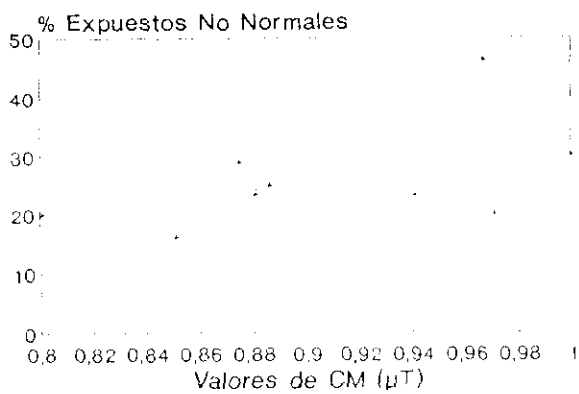
$r = 0,819$; $p = 0,007^{**}$

Fig. II.2 A



$r = -0,387$; $p = 0,304$

Fig. II.2 B



$r = 0,500$; $p = 0,168$

Fig. II.2 C

Fig. II.2. A: Proporción de embriones expuestos malformados en función de los valores de intensidad del CM AC. $r = 0,819$; $p = 0,007^{**}$.
 B: Proporción de embriones controles malformados en los mismos grupos de posiciones que en A. $r = -0,387$; $p = 0,304$.
 C: Proporción de embriones expuestos no normales en función de los valores de intensidad del CM AC. $r = 0,500$; $p = 0,168$.

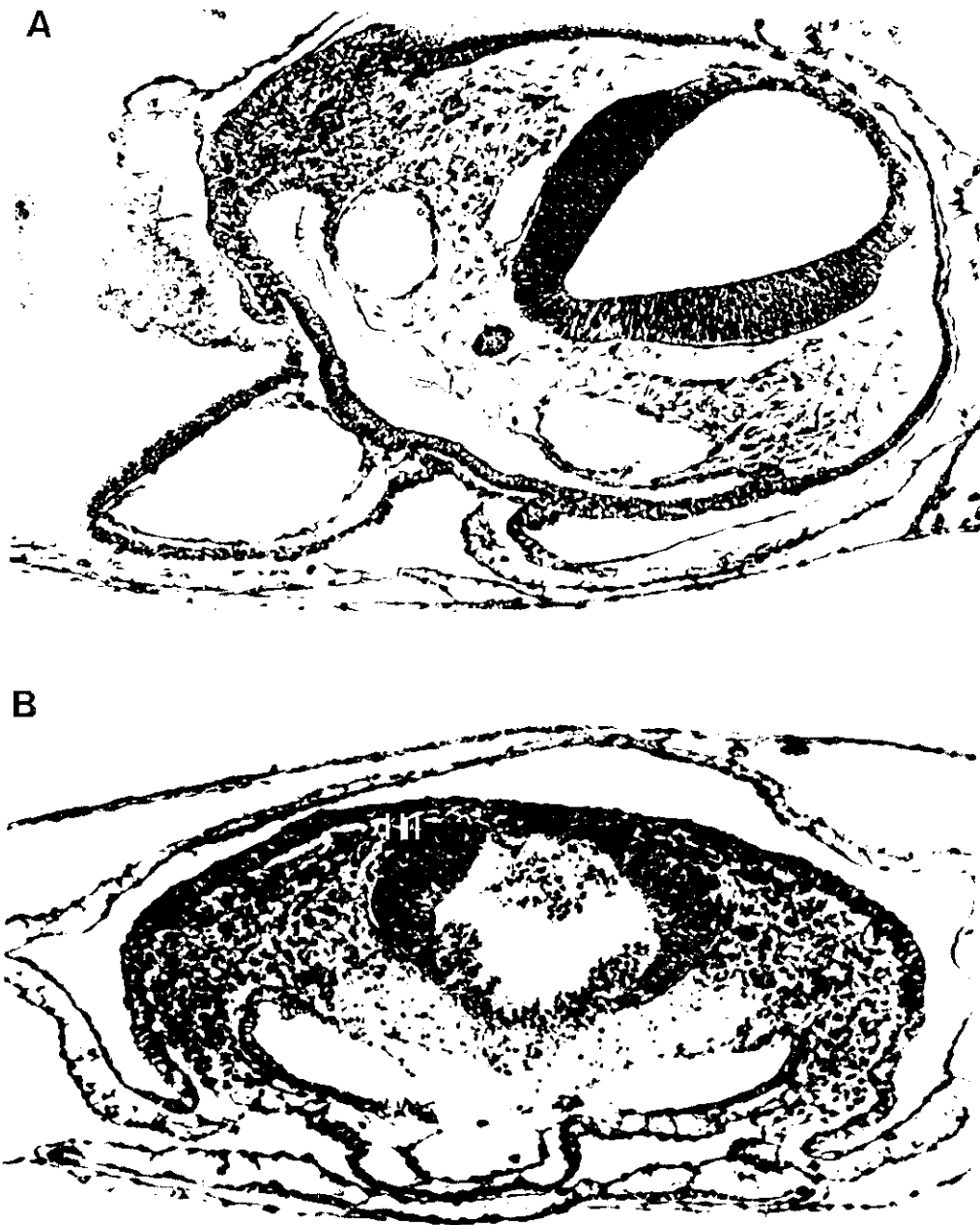


Fig. II.3. Sección transversal a nivel del romboencéfalo de embriones en estadio 12⁺. A: Embrión normal. B: Embrión con el sistema nervioso central malformado. Lumen invadido por células necrosadas. Espacios intercelulares muy reducidos en zona del mesénquima. Notocorda con signos de necrosis. Arterias dorsales anormales (X 200).

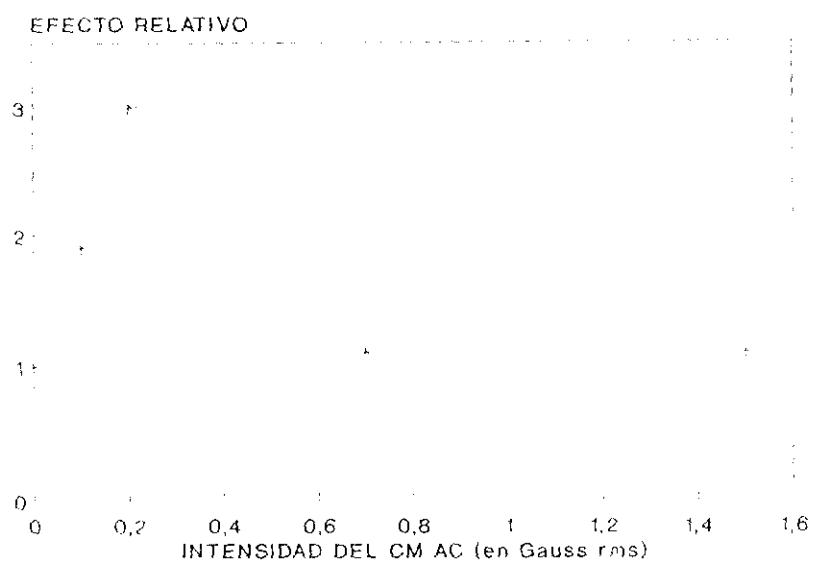


Fig. II. 4: Incorporación de Ca ⁴⁵ en linfocitos, en función de la intensidad de un CM AC sinusoidal/ 14,3 Hz. (Liboff et al., 1987).

C A P I T U L O I I I

Experimentos Realizados con un CM Pulsado Unipolar
de 1 μ T y 100 Hz (Proyecto HENHOUSE).

CAPITULO III
EXPOSICION A UN CM PULSADO UNIPOLAR DE 1 μ T Y 100 HZ.
(PROYECTO HENHOUSE)

| | |
|--|-----|
| 1- Introducción. | 169 |
| 2- Material y métodos. | 171 |
| 2.1.- Condiciones de incubación. | 172 |
| 2.1.1.- Control de temperatura, humedad relativa y vibraciones. | 173 |
| 2.1.2.- Características del pulso. | 173 |
| 2.1.3.- Fuentes externas de campos eléctrico y magnético. | 174 |
| 2.1.4.- Descripción de embriones. | 175 |
| 2.1.5.- Método estadístico. | 175 |
| 3- Resultados. | 177 |
| 3.1.- Resultados Globales. | 177 |
| 3.2.- Diferencias entre grupos | 178 |
| 3.3.- Relación entre valores de campos ambientales DC y AC y los efectos del CEM pulsado. | 179 |
| 3.4.- Resultados de nuestro laboratorio. | 180 |
| 3.4.1.- Análisis de anomalías (leves o graves) para cada órgano | 181 |
| 3.4.2.- Análisis de anomalías leves para cada órgano. | 181 |
| 3.4.3.- Análisis de malformaciones para cada órgano. | 181 |
| 4.- Discusión | 182 |
| 4.1.- Análisis de los resultados globales. | 182 |
| 4.1.1.- Características de los embriones controles en cada laboratorio. | 183 |
| 4.1.2.- Intensidades de CM AC ambiental en las incubadoras. | 184 |
| 4.1.3.- Intensidades de CM DC ambiental en las incubadoras. | 184 |

| | |
|--|-----|
| 4.2.- Análisis de los resultados de nuestro laboratorio. | 187 |
| 5.- Conclusiones. | 189 |
| 6.- Tablas y Figuras | 190 |

1.- INTRODUCCION

Numerosos estudios han demostrado la sensibilidad de diversos sistemas biológicos a los campos electromagnéticos (véase Introducción general).

Los posibles efectos de los CEMs ELF sobre el desarrollo embrionario han sido estudiados por diversos autores:

Falugi y col. (1987) observaron aceleración del desarrollo embrionario precoz en erizo de mar, por exposición a un CEM de características similares a los empleados en el tratamiento de fracturas óseas; Campos electromagnéticos sinusoidales de 60 Hz indujeron retraso en el desarrollo embrionario de peces Medaka (Cameron y col., 1985); Delgado et al., en 1982, observaron efectos teratógenos sobre embriones de pollo expuestos a CEMs pulsados. La efectividad teratógena dependía de la frecuencia, siendo mayor a 100 Hz; Ubeda et al. (1983) muestran que el efecto teratógeno de CEMs pulsados, sobre el embrión de pollo, depende de la densidad de flujo magnético y de la forma de la onda.

Dada la trascendencia de los resultados de Delgado et al. (1982) y Ubeda et al. (1983) que sugieren que CEMs pulsados, en el rango ELF y con una densidad de flujo magnético tan débil como 1 μ T, pueden afectar el desarrollo de un embrión de vertebrado, otros investigadores adoptaron esa línea de trabajo sobre embriones de pollo (Juutilainen et al., 1986 a, 1986 b, 1987; Sisken et al., 1986; Sandström et al., 1986; Martin, 1988, 1992; Koch et al., 1991) u otras especies (Tribukait et al., 1987; Cameron et al., 1985; Frölen et al., 1993). Sin embargo, no todos los autores encontraron efectos de CEMs pulsados ELF sobre el embrión de pollo en estadios tempranos (Sisken et al., 1986; Maffeo et al., 1984, 1988; Sandström et al., 1986; Koch y Koch, 1991). Aunque dichos autores intentaron replicar los trabajos de Delgado et al. (1982) y Ubeda et al. (1983), introdujeron diferencias en la

metodología que pudieran ser la causa de los diferentes resultados.

A raíz de éstos y otros estudios se ha puesto en evidencia la importancia del control riguroso de las condiciones experimentales. Por este motivo, y debido al sorprendente resultado de que intensidades de campo tan bajas pudieran causar un efecto teratógeno sobre el desarrollo de un embrión de vertebrado, la Oficina de Investigación Naval (ONR) de Estados Unidos, convocó a seis grupos de investigadores de diferentes partes de América y Europa (uno en Canadá, tres en Estados Unidos, uno en Suecia y uno en España) que planificaron una serie de experimentos bajo idénticas y estrictamente controladas condiciones. Participé en calidad de investigadora, integrada en el grupo español, durante los cuatro años que duró el proyecto (1985 - 1988).

El estudio pretendía dar respuesta a dos cuestiones, fundamentalmente:

1º ¿Puede un CEM pulsado de 1 μ T, 100 Hz, unipolar, modificar significativamente el desarrollo embrionario de un vertebrado amniota?

2º Entre distintos laboratorios ¿pueden existir diferencias en la respuesta embrionaria al CEM?

En este capítulo describiremos y analizaremos los resultados del proyecto Henhouse, publicados en 1990 (Berman et al., 1990), con nuevas aportaciones en cuanto al análisis de los datos y las variables que han podido intervenir en los diferentes resultados de cada grupo y añadiremos un análisis más profundo de los datos obtenidos en nuestro laboratorio. También, intentaremos dar respuesta a una tercera cuestión: ¿Cuál o cuáles pueden ser las causas de las posibles diferencias en la respuesta embrionaria al CEM?.

2.- MATERIAL Y METODOS

Este trabajo forma parte de un proyecto internacional, conocido como "Henhouse Project", en el que han participado 18 investigadores integrados en 6 laboratorios.

Los investigadores pertenecían a los siguientes centros de investigación:

- Departamento de Investigación, Hospital Ramón y Cajal, Madrid (*).
- US Environmental Protection Agency (EPA), Research Triangle Park, North Carolina, USA.
- Universidad de North Carolina, Chapel Hill, North Carolina, USA (*).
- Universidad de Umea, Suecia.
- National Institute of Occupational Health (NIOH), Umea, Suecia (*).
- US Environmental Protection Agency, Las Vegas, Nevada, USA (*).
- Universidad de Western Ontario, London, Ontario, Canadá (*).
- Food and Drug Administration (FDA), Rockville, Maryland, USA (*).

Los laboratorios señalados con un asterisco (*) son los lugares donde se realizaron los experimentos.

El número de identificación del laboratorio, su investigador principal y su localización se especifican en la Tabla III.1.

El método de trabajo así como el equipo empleado era equivalente en los seis laboratorios implicados. Este equipo fue diseñado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Las Vegas, USA.

2.1.- Condiciones de Incubación.

Los huevos empleados en este estudio eran de la raza White leghorn, variedad Hisex, en 5 laboratorios. En el sexto (Lab. 5), eran de gallinas Arbor Acre, cruzadas con gallos Peterson (cruce comercial, derivado de la raza White rock).

Los huevos eran suministrados por granjas cercanas o facilitados por universidades locales, excepto en un caso (Lab 1), que eran donados por una universidad de otro Estado. En el laboratorio, los huevos se almacenaban a una temperatura de 15°C a 19°C, horizontalmente, con el extremo agudo orientado hacia el oeste geomagnético.

Entre la llegada al laboratorio y el principio de la incubación transcurría un tiempo nunca superior a cinco días.

Los huevos se pesaban antes de la incubación y se eliminaban aquellos cuyos pesos no estuvieran comprendidos en el rango de 50 a 70 gramos.

Las incubadoras empleadas, tipo VWR Modelo 6.000, fueron modificadas para suministrar calor mediante 83 litros de agua contenida en un tanque que servía como cubierta.

En cada laboratorio, dos incubadoras servían, alternativamente, para albergar los embriones expuestos o los controles. La humedad relativa (RH) en las incubadoras, estabilizada entre un 74,7% y 74,9%, se conseguía mediante una bandeja de agua destilada sobresaturada con ClNa (ASTM ,1985).

La temperatura se mantenía a $37,8^{\circ} \text{C} \pm 0,2^{\circ} \text{C}$. La diferencia de temperatura entre la parte inferior del soporte de los huevos y la superior era $0,1^{\circ} \text{C}$.

Las incubadoras fueron colocadas, de forma que la puerta estaba orientada hacia el este geomagnético. Se encontraban separadas entre sí por una distancia superior a dos metros con objeto de evitar a los controles la contaminación electromagnética procedente de la incubadora experimental.

2.1.1.- Control de temperatura, humedad relativa y vibraciones.

La temperatura era medida mediante un termistor (Yellow Springes Instruments Modelo 013-44032-NA-FP-300-ST) situado cercano a las muestras.

La humedad se medía mediante una sonda Cole Parmer, Modelo NE 3312-50.

Las vibraciones, tomadas como aceleraciones verticales en pico, se medían en cada incubador por un acelerómetro sísmico (PCB Piezotronics Modelo KL 30 8B02). La aceleración mínima que podía ser medida con fiabilidad era de $0,1 \text{ m/s}^2$. Ninguna de las medidas registradas en cada experimento eran superiores a esa cantidad.

Los termistores, las sondas de humedad y los acelerómetros estaban conectados a un registrador Chessel Modelo 306 de seis canales que registraba las tres variables, para cada estufa, cada 15 segundos.

2.1.2.- Características del Pulso.

El campo magnético horizontal era creado haciendo pasar una corriente pulsada a través de un par de bobinas de Helmholtz. Las bobinas, formadas por 2 espiras de hilo de cobre aislado, de 0,82 mm de calibre, estaban conectadas en serie.

Los soportes para los huevos, colocados en el interior de cada par de bobinas, podían albergar 10 huevos en posiciones equidistantes del eje de la bobina. Para asegurar una exposición uniforme de los huevos, el sistema fue diseñado de tal forma, que ningún huevo estuviera a más de 7,5 cm, radialmente, del eje de la bobina o a más de 6,5 cm, axialmente, del centro de la bobina. Se realizaron medidas de campo magnético en cada posición de los huevos, haciendo

circular una corriente sinusoidal de 1 MHz a través de la bobina; estas medidas mostraron que la mayor variación de CM de una posición a otra no sobrepasaba un 5%. Los huevos que servían como grupo control eran situados en un sistema idéntico, formado por el par de bobinas y el soporte.

La corriente pulsada era producida por un generador Wavetek Modelo 801, que proporcionaba un pulso unipolar, con una frecuencia de 100 Hz y una duración de 500 μ s. La forma del pulso se comprobaba haciendo circular la corriente a través de una resistencia de 10 Ω y midiendo el voltaje con un osciloscopio B&K Precisión Modelo 1522 de 20 MHz. El potencial a través de la resistencia de 10 Ω se ajustó a 1,23 V de valor de pico. Este voltaje corresponde a una corriente de 0,123 A, que creaba un CM de 1 μ T de pico, en el sistema de bobinas de Helmholtz.

Las corrientes inducidas en las paredes de la incubadora, de acero inoxidable, reducían la intensidad de los componentes de altas frecuencias del pulso, dando como resultado una forma de onda modificada. El resultado era un pulso que crecía linealmente hasta 0,67 μ T en los 2 μ s de tiempo de subida. El máximo de la derivada del tiempo era, aproximadamente, 0,3 T/s. El pulso continuaba subiendo, hasta 0,93 μ T al final de los 500 μ s de duración. Después caía linealmente hasta 0,25 μ T en 2 μ s.

El campo eléctrico inducido por el campo magnético en las bobinas de Helmholtz fue medido con una sonda (Nanofart Modelo EFS). Las magnitudes de los componentes del CE eran 0,12, 0,05 y 0,10 V/m en las direcciones axial, vertical y horizontal, respectivamente.

2.1.3.- Fuentes Externas de Campos Eléctricos y Magnéticos.

Los campos eléctricos de fuentes exteriores al incubador

no penetran en su interior. Las dos principales fuentes de campos magnéticos eran el CGM (CM DC) y el calefactor del incubador (CM AC)

Los campos magnéticos estáticos locales fueron medidos con una sonda de efecto Hall (Bell Modelo MOW4-2506) con una sensibilidad de $\pm 2 \mu\text{T}$ acoplada a un gausímetro modelo 640. Estas medidas se muestran en la Tabla III.2.

Los CMs AC debidos al calefactor se midieron con una bobina acoplada a un multímetro, con una sensibilidad de $\pm 5 \%$. Los datos pueden verse en la Tabla III.3.

2.1.4.- Descripción de Embriones.

Los embriones eran extraídos de los huevos y examinados según el método descrito en el Capítulo II excepto para la discriminación de embriones malformados. En el trabajo publicado, los embriones no normales, eran clasificados en anormales y no desarrollados.

Sin embargo, en el apartado correspondiente al análisis de los resultados de nuestro grupo, dentro de este capítulo, mantendremos la división de los embriones no normales, en anormales, malformados y no desarrollados, tal y como se hace en el resto de los capítulos que componen la presente memoria.

El estadio de desarrollo embrionario fue determinado según criterios propuestos por Hamburger y Hamilton (1951).

Todos los experimentos fueron realizados entre el 1 de Abril y el 31 de Julio, de 1987.

2.1.5.- Método Estadístico.

El método estadístico empleado fue el test binomial de comparación de porcentajes (Snedecor y Cochran, 1967).

Se utilizó el test de Wilcoxon para datos apareados, en el análisis de las medias de embriones no normales expuestos

en comparación a las medias de embriones no normales
controles, para los 60 experimentos.

3.- RESULTADOS.

El estudio de los resultados presentados en este capítulo, aunque basado en el trabajo ya publicado, no ha sido realizado con la misma metodología que se utilizó en la publicación e incluso no coincide exactamente en algunos puntos (véase Berman et al., 1990). Además, se ha añadido un análisis más profundo de las variables que pueden intervenir en los resultados globales y se ha analizado en detalle los resultados obtenidos en nuestro laboratorio, como ya hemos señalado en la Introducción de este capítulo.

3.1.- Resultados Globales.

El total de embriones estudiados fue de 1.137: 561 embriones controles y 576 embriones expuestos, al final de 60 experimentos (10 por laboratorio).

Se observó un aumento muy significativo en la proporción de embriones no normales en el grupo de los expuestos (25,5 %) respecto a los controles (18,9 %); E/C=1,3; $p=0,007^{**}$ (Tabla III.4)

Dentro de la fracción de embriones no normales, el porcentaje de no desarrollados fue similar: 4,9 % en los embriones expuestos y 4,6 % en los controles; Sin embargo, el porcentaje de embriones anormales fue netamente superior en el grupo de embriones expuestos: 20,7 % frente a 14,3 % en el grupo de los controles (E/C= 1,4; $p=0,005^{**}$) (Tabla III.4).

El test de Wilcoxon para el total de los 60 experimentos demuestra que la diferencia entre las medias de los embriones no normales de los grupos controles respecto a los grupos expuestos, es significativa ($p=0,001^{**}$).

En cuanto al estadio de desarrollo alcanzado, no hubo diferencias significativas entre ambos grupos: la media de desarrollo del grupo de los expuestos fue de $12,8 \pm 0,05$,

sobre un total de 429 embriones, y de $12,9 \pm 0,05$ en el grupo de los controles, sobre un total de 455 embriones (Tabla III.5).

3.2.- Diferencias entre Grupos.

Un análisis de las proporciones de embriones no normales en las diferentes muestras control revela diferencias significativas entre grupos. En el laboratorio 1 se observa una proporción de embriones no normales diferente a los laboratorios 4 ($p= 0,000^{**}$), 5 ($p= 0,016^*$) y 6 ($p= 0,002^{**}$). También hay diferencias significativas entre los laboratorios 2 y 4 ($p= 0,011^*$) y entre los laboratorios 3 y 4 ($p=0,001^{**}$).

En cuanto a la proporción de embriones controles no desarrollados, el laboratorio 3 muestra diferencias significativas con los laboratorios 2 ($p= 0,020^*$), 4 ($p= =0,000^{**}$) y 6 ($p= 0,010^{**}$). Los laboratorios 4 y 5 también muestran diferencias significativas ($p= 0,014^*$).

Se hallaron diferencias significativas en la proporción de embriones expuestos no normales entre el laboratorio 5 y los laboratorios 1 ($p= 0,003^{**}$) y 3 ($p= 0,012^*$). También se hallaron diferencias significativas en la proporción de embriones expuestos no desarrollados entre el laboratorio 3 y los laboratorios 6 ($p= 0,011^*$), 5 ($p= 0,029^*$) y 2 ($p= 0,000^{**}$) y entre el laboratorio 1 y 2 ($p= 0,014^*$).

La diferencia en el porcentaje de embriones no normales entre los embriones expuestos y los controles sólo fue significativa en el laboratorio 4 ($p= 0,003^{**}$) (Tabla III.4).

3.3.- Relación entre Valores de Campos Ambientales DC y AC y los Efectos del CEM Pulsado.

En la Tabla III.5 pueden verse las medidas del CM DC en

cada una de las doce incubadoras utilizadas, y el efecto relativo del CEM pulsado para cada una de las incubadoras, expresado como la diferencia entre el porcentaje de embriones no normales en el grupo de los expuestos y el grupo de los controles (E-C).

Se halló una recta de regresión lineal (Fig. III. 1), en la que cada punto se obtuvo haciendo corresponder las medidas del CM DC en un incubador con el efecto relativo del CEM (E-C) en los experimentos en los que ese incubador albergaba a los embriones expuestos al CEM. La correlación resultó significativa ($p= 0,027$). Es decir, como discutiremos más adelante, el CM DC ambiental podría estar interviniendo junto con el CEM pulsado en los efectos observados.

A fin de eliminar, en la medida de lo posible, artefactos o azares en la interpretación del resultado anterior, también se hallaron las siguientes rectas de regresión lineal, sin mostrar ninguna de ellas relación significativa:

1.- Valores de intensidad del CM DC en las incubadoras que albergaban los embriones expuestos y porcentaje de embriones no normales controles.

2.- Valores de intensidad del CM DC en las incubadoras que albergaban los embriones controles y porcentaje de embriones no normales controles.

3.- Valores de intensidad del CM DC en las incubadoras que albergaban los embriones controles y efecto relativo del CEM pulsado, calculado como E-C.

4.- Valores de intensidad del CM DC en las incubadoras que albergaban los embriones expuestos y porcentaje de embriones no normales expuestos.

Con objeto de evaluar la posible influencia del CM AC ambiental, realizamos los siguientes tests de regresión lineal, sin obtener en ninguno de ellos valores significativos:

1.- Valores de intensidad del CM AC ambiental en las

incubadoras que albergaban los embriones expuestos y efecto relativo del CEM pulsado, expresado como E-C.

2.- Valores de intensidad del CM AC ambiental en las incubadoras que albergaban los embriones controles y porcentaje de embriones controles no normales.

3.- Valores de intensidad del CM AC ambiental en las incubadoras que albergaban los embriones expuestos y porcentaje de embriones no normales expuestos.

3.4.- Resultados de Nuestro Laboratorio (Laboratorio 3).

El número de embriones estudiados fue de 194: 100 expuestos y 94 controles, en un total de 10 experimentos llevados a cabo por nuestro grupo. (Tabla III.7).

Los resultados obtenidos, haciendo un análisis similar al descrito en anteriores capítulos fue el siguiente:

La diferencia de porcentajes de embriones no normales entre la muestra tratada y la control no fue significativa (31% vs. 26,6%; E/C=1,2. Observamos un porcentaje similar de embriones no desarrollados en ambos grupos (12% en expuestos 11,7% en controles). En la población expuesta, se encontró una disminución en el número de embriones con anomalías leves (anormales): 3% en expuestos; 10,6% en controles; $p=0,044^*$ y un aumento de embriones malformados: 16 % en el grupo de los expuestos frente a un 4,3% en el grupo de los controles (E/C=3,7; $p=0,009^{**}$).

El estadio de desarrollo que alcanzaron ambos grupos fue similar; siendo la media para los 69 embriones normales expuestos de $12,3 \pm 0,11$ y para los 69 embriones normales controles de $12,4 \pm 0,09$.

El estadio medio alcanzado por los embriones no normales desarrollados (Anormales + Malformados) fue algo superior en el grupo de los 18 expuestos: $11,7 \pm 1,3$, siendo de $11,2 \pm 1,2$ para los 14 embriones controles.

3.4.1.- Análisis de Anomalías (Leves o Graves) para cada Organo.

En el grupo de embriones expuestos se observó un aumento no significativo de anomalías del SNC (E/C = 2; p=0,089).

Para el conjunto de todas las anomalías en el total de embriones se registró un incremento no significativo en el grupo de los expuestos respecto al grupo control (p= 0,138) (Tabla III.8).

3.4.2.- Análisis de Anomalías Leves para cada Organo.

Se observó una disminución no significativa (p=0,228; E/C=0,5) en el porcentaje de anomalías para el SNT en el grupo de los expuestos, respecto al grupo control.(Tabla III.9)

3.4.3.- Análisis de Malformaciones para cada Organo.

En el grupo expuesto, el sistema que resultó afectado por un mayor número de malformaciones fue el SNC: 14% frente a un 4,3 % en controles (E/C=3,3; p=0,025*). El número de embriones con el SNT malformado fue de 2,9 veces mayor en el grupo de los expuestos que en el de los controles. Sin embargo, esta diferencia no alcanzó los límites de significatividad (p=0,281).

La exposición al CEM provocó un aumento de malformaciones totales (24,0 % vs. 8,5 %; p= 0,004**) (Tabla III.10).

4.- DISCUSION.

4.1.- Análisis de los Resultados Globales.

Los resultados del proyecto Henhouse, en su conjunto (Tabla 3), muestran que un CEM pulsado unipolar de 100 Hz y de muy baja intensidad ($1 \mu T$) puede producir efectos teratógenos sobre los procesos del desarrollo embrionario precoz. Por lo tanto, estos datos apoyan las conclusiones de Delgado et al. (1982) y Ubeda et al. (1983) que describieron efectos teratógenos con CEMs pulsados de la misma frecuencia e intensidad que los empleados en el presente estudio, aunque utilizaron campos bipolares y no unipolares, como en el presente estudio.

Según Juutilainen et al. (1987), los CEMs sinusoidales y los pulsados bipolares son efectivos, mientras que los campos pulsados unipolares no lo son. Sin embargo, los resultados de nuestro estudio, utilizando un campo pulsado unipolar, demuestran que un campo de estas características puede ser efectivo.

En la Tabla III.4 se representan los resultados de los experimentos, realizados por los seis grupos. En cada uno de los laboratorios el porcentaje de embriones expuestos al campo que resultaron anormales, es mayor que en el grupo de los controles, pero sólo en el laboratorio 4 la diferencia es estadísticamente significativa ($p=0,003^{**}$) y en el laboratorio 6 se acerca al límite de significatividad ($p=0,054$).

La exposición no parece haber afectado la tasa de desarrollo embrionaria siendo los estadios alcanzados por las poblaciones expuestas semejantes a los observados en las poblaciones controles (Tabla III.5).

El diferente comportamiento de los embriones, en respuesta a la exposición, podría deberse a posibles diferencias en las condiciones experimentales entre los

diferentes laboratorios, a saber:

4.1.1.- Características de los Embriones Controles en cada laboratorio.

Las características de los embriones no expuestos al CEM resultaron ser heterogéneas. Así, se observaron diferencias significativas en el porcentaje de embriones no normales entre los diferentes grupos: los porcentajes oscilan entre un 8,4 % en el LAB. 4 y un 29,8 % en el LAB. 1 (Tabla III.4).

Hay que hacer notar que es precisamente en el laboratorio 4 donde el efecto teratógeno, debido a la exposición electromagnética, es mayor ($E/C= 2,4$; $p= 0,003^{**}$).

En el LAB. 6, donde el E/C fue de 1,9, el porcentaje de embriones controles, no normales, fue de un 11,6 %.

Es decir, en los dos laboratorios donde el efecto teratógeno fue mayor, el porcentaje de embriones controles no normales ha resultado ser menor que en el resto de laboratorios.

Parece que el efecto del CEM no puede apreciarse cuando la población está "saturada" de anomalías.

Esta hipótesis de "saturación de anomalías" se ve reforzada por los resultados obtenidos en nuestro laboratorio (LAB. 3) en el que el CEM no aumentó significativamente la proporción de embriones no normales (31,0 % vs. 26,6 %; $p=0,529$). Sin embargo, la proporción de individuos malformados aumentó 3,7 veces en el grupo expuesto al CEM ($p=0,009^{**}$), disminuyendo la de los casos de anomalías leves ($p=0,044^*$). (Tabla III.7)

Es decir, al menos en el caso del LAB. 3, el CEM pudiera haber actuado preferentemente sobre los embriones que, aún sin el tratamiento electromagnético, hubieran tenido alguna anomalía morfogénica, aumentando la gravedad de ésta.

Por lo tanto, parece que el CEM actuaría sobre una

fracción de la población más débil. Cuando otros factores desconocidos provocan la aparición de anomalías morfogénicas en dicha fracción, el posible efecto teratógeno del CEM pasaría inadvertido sin un análisis profundo del tipo de anomalías de los embriones expuestos, comparado con el de los embriones controles.

4.1.2.- Intensidades de CM AC Ambiental en las Incubadoras.

El CM, debido al funcionamiento de las incubadoras, oscila entre 0,53 μ T y 1,2 μ T (Tabla III.3). Las intensidades mínimas corresponden a los dos laboratorios europeos (3 y 5) que operan a 50 Hz. En Estados Unidos y Canadá, la frecuencia de las líneas eléctricas es de 60 Hz.

No hemos hallado relación lineal entre los valores del CEM ambiental en cada una de las incubadoras que sirvieron para albergar los embriones expuestos y el efecto del CEM aplicado. Tampoco hemos observado relación entre valores del CEM ambiental en cada una de las incubadoras que albergaba los embriones expuestos, y porcentaje de embriones expuestos no normales, ni entre valores del CEM ambiental en cada una de las incubadoras que albergaba a los embriones controles y el porcentaje de embriones controles no normales.

Por lo tanto, el CM AC ambiental no parece ejercer ninguna influencia decisiva, al menos en estos experimentos, sobre los efectos observados.

4.1.3.- Intensidades de CM DC Ambiental en las Incubadoras.

Diversos autores han sugerido que el campo geomagnético local pudiera ser un factor decisivo en la efectividad de los CEMs. Según Blackman y col. (1985), el flujo de calcio de

cultivos cerebrales de pollo expuestos a un CEM dependía del CM DC local. Otros autores han confirmado la importancia del CM DC en la efectividad de los CEMs ELF (Thomas et al., 1986; Smith et al., 1987; Liboff et al., 1987). Leal et al., (1986 y 1989) observaron que el efecto teratógeno de un CEM pulsado bipolar sobre embriones de pollo depende de la magnitud del campo geomagnético local.

Con esta base, hemos analizado la posibilidad de que el CM DC del interior de las incubadoras pueda ser un factor responsable de la diferencia de resultados entre los diferentes laboratorios.

Se comprobó la existencia de una relación lineal entre densidad de CM DC en el interior de las incubadoras y efecto relativo (E-C) de la exposición (Fig. III.1). Sin embargo no se halló relación entre la magnitud del CM DC local y el porcentaje de embriones no normales en el grupo de los expuestos al CEM. Lo anterior supone que no es sólo la variable "CM DC" la que está interviniendo en el efecto del CEM AC. Las características fisiológicas propias de cada grupo de embriones, también deben ser un factor a tener en cuenta.

Hemos comprobado otras relaciones lineales, para excluir la posibilidad de un artefacto. No se halló relación entre las siguientes variables:

- Densidad de CM DC en la incubadora que albergaba los embriones expuestos y porcentaje de embriones anormales controles.

- Densidad de CM DC en la incubadora que albergaba los embriones controles y porcentaje de embriones anormales controles.

- Densidad de CM DC en la incubadora que albergaba los embriones controles y efecto relativo del CEM pulsado, calculado como E-C.

Es decir, en estos experimentos, la efectividad del CEM pulsado parece estar modulada por el valor del CM DC. Liboff

(1985) sugirió la teoría de resonancia del ciclotrón (véase Capítulo IV), según la cuál, determinadas combinaciones de frecuencia del CEM e intensidad del CM DC actuarían sobre el movimiento iónico, a través de la membrana plasmática, según la fórmula:

$$f = q/m \ 1/2\pi \ B \quad (1)$$

donde f es la frecuencia del CEM, q y m , la carga y la masa iónica, respectivamente y B , la intensidad del CM DC.

Según Liboff (1985), f , podría sustituirse por cualquiera de sus armónicos impares.

En los experimentos que nos ocupan, la frecuencia aplicada fue de 100 Hz, primer armónico de 33,3 Hz. Las condiciones de resonancia para el ion calcio vendrían dadas por:

$$33,3 = 0,16 \times 4,8 \times B$$

por lo tanto, obtendríamos un valor de intensidad de CM DC (B) de 43,4 μ T. En dos de los incubadores, utilizados en esta serie de experimentos, el valor del CM DC se aproximó bastante al calculado según la fórmula (1). Nos referimos a los incubadores número 2 (LAB 4) y número 6 (LAB 6), cuyos valores de campo magnético constante fueron de 43 μ T, en ambos casos y cuyo efecto relativo, cuando albergaban a los embriones expuestos, calculado como E/C , fue de 4,2 y 1,6, respectivamente.

Por lo tanto, según la teoría de resonancia del ciclotrón, el efecto teratógeno del CEM unipolar pulsado podría deberse al menos en parte a una alteración del transporte de calcio a través de la membrana celular. Hay que hacer notar que las condiciones de resonancia no serían, exactamente, las formuladas por la teoría, ya que ésta predice

efecto de resonancia con CEMs sinusoidales y el CEM utilizado en estos experimentos es pulsado. Aún así, creemos que la teoría de resonancia del ciclotrón podría explicar, al menos en parte, los resultados.

4.2.- Análisis de los Resultados de Nuestro Laboratorio. (LAB.3).

El CEM no alteró significativamente la proporción de embriones anormales; Sin embargo, incrementó notablemente el número de malformaciones (E/C= 3,7; $p= 0,009^{**}$), reduciendo la cantidad de anomalías leves o irregularidades morfológicas (E/C= 0,3; $p= 0,044^*$) (Tabla III.7).

En la Tabla III.8 se observa que el total de anomalías (ligeras o graves) para cualquiera de los órganos ha aumentado en la población expuesta: 43 anomalías en la población expuesta y 30 en la control ($p= 0,138$). Esto parece confirmar la incidencia del campo sobre aquellos individuos "debilitados", actuando de dos maneras: 1º aumentando la gravedad de la anomalía, es decir los anormales ligeros ahora son malformados debido a la exposición y 2º provocando más anomalías en los embriones que ya eran anormales, lo que incrementa la media de anomalías por embrión.

El sistema que resultó más afectado por la exposición electromagnética fue el sistema nervioso central, con un aumento de 3,3 veces de embriones malformados para ese sistema, sobre la población control ($p= 0,025^*$) (Tabla III.9). La exposición ha provocado, también, un aumento de 2,9 veces de embriones malformados para el sistema nervioso truncal, aunque este aumento no es significativo ($p= 0,281$). Otros autores han descrito una sensibilidad diferencial a los CEMs entre distintos tejidos, para sistemas in vitro (Byus y Adey, 1987; Jones et al., 1984 y 1986) e in vivo (Ubeda, 1989;

Trillo, 1989). Las causas de dicha sensibilidad diferencial pudieran encontrarse en las características particulares de los diversos tipos celulares o en el coeficiente de viscosidad propio de cada tejido (Durney et al., 1988).

5.- CONCLUSIONES.

1.- Un CEM pulsado unipolar de 100 Hz y 1 μ T puede provocar efectos teratógenos en embriones de pollo en sus estadios precoces.

2.- El efecto fue diferente en distintos laboratorios, dependiendo de variables como la magnitud del CM estático local o condiciones fisiológicas de los organismos.

3.- En particular, en nuestro laboratorio, el CEM provocó un aumento de la gravedad de las anomalías características de la muestra y un aumento en el número de anomalías por embrión, afectando, preferentemente, al sistema nervioso central.

T A B L A S Y F I G U R A S

| Laboratorio ID | Investigador principal | Localización |
|-------------------|---------------------------|----------------------------------|
| LAB 1 | G.I. Martucci | Las Vegas, Nevada, USA |
| LAB 2 | W.E. Koch | Chapel Hill, North Carolina, USA |
| LAB 3 | J. Leal | Madrid, España |
| LAB 4 | A.H. Martin | London, Ontario, Canada |
| LAB 5 | K.H. Mild | Umea, Sweden |
| LAB 6 | J.C. Monahan | Rockville, Maryland, USA |

Tabla III.1: Identificación numérica (ID) del laboratorio, el investigador principal y la localización.

| Laboratorio | Incubadora | Intensidad | | | |
|-------------|------------|------------|------------|-------|-------|
| | Nº | Vertical | Horizontal | Axial | Total |
| LAB 1 | 1 | -27 | +20 | -4 | 34 |
| | 12 | -32 | +16 | -4 | 36 |
| LAB 2 | 4 | -25 | +21 | -7 | 33 |
| | 5 | -31 | -1 | -5 | 31 |
| LAB 3 | 8 | -4 | +11 | -1 | 12 |
| | 11 | -22 | +23 | -2 | 32 |
| LAB 4 | 2 | -36 | +23 | -1 | 43 |
| | 3 | -33 | +17 | +11 | 39 |
| LAB 5 | 9 | -30 | +10 | -6 | 32 |
| | 10 | -24 | +7 | -3 | 25 |
| LAB 6 | 6 | -24 | +36 | 0 | 43 |
| | 7 | -24 | +22 | 0 | 33 |

Tabla III.2. Intensidades en microteslas (μT) de los vectores de los campos magnéticos constantes ambientales en las incubadoras. Las dos incubadoras en cada uno de los seis laboratorios son identificadas por números (1 - 12). La intensidad total se calcula como la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de los vectores individuales.

| Laboratorio | Incubadora | Intensidad | | | |
|-------------|------------|------------|------------|-------|-------|
| | Nº | Vertical | Horizontal | Axial | Total |
| LAB 1 | 1 | 1,0 | 0,43 | 0,013 | 1,1 |
| | 12 | 1,1 | 0,46 | 0,089 | 1,2 |
| LAB 2 | 4 | 1,1 | 0,56 | 0,10 | 1,2 |
| | 5 | 0,96 | 0,47 | 0,14 | 1,1 |
| LAB 3 | 8 | 0,56 | 0,28 | 0,047 | 0,63 |
| | 11 | 0,56 | 0,27 | 0,064 | 0,62 |
| LAB 4 | 2 | 1,0 | 0,43 | 0,15 | 1,1 |
| | 3 | 1,0 | 0,56 | 0,13 | 1,2 |
| LAB 5 | 9 | 0,64 | 0,18 | 0,08 | 0,67 |
| | 10 | 0,48 | 0,23 | 0,052 | 0,53 |
| LAB 6 | 6 | 1,1 | 0,47 | 0,13 | 1,2 |
| | 7 | 1,0 | 0,58 | 0,23 | 1,2 |

TABLA III.3: Intensidades en microteslas (μT) de los vectores del campo magnético ambiental, variable en el tiempo (50 Hz o 60 Hz) en cada una de las incubadoras durante el período de calentamiento.

La intensidad total se calcula como la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de los vectores individuales.

RESULTADOS GLOBALES

| <u>LAB</u> | <u>CONTROLES (561)</u> | | | <u>EXPUESTOS (576)</u> | | | <u>No Normales</u> | |
|--------------|------------------------|-------------|------------|------------------------|-------------|------------|--------------------|----------------|
| | <u>%no N</u> | <u>%A</u> | <u>%ND</u> | <u>%no N</u> | <u>%A</u> | <u>%ND</u> | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
| 1 | 29,8 | 25,5 | 4,3 | 35,4 | 28,1 | 7,3 | 1,2 | NS |
| 2 | 22,6 | 20,2 | 2,4 | 23,9 | 23,9 | 0 | 1,1 | NS |
| 3 | 26,6 | 14,9 | 11,7 | 31,0 | 19,0 | 12,0 | 1,2 | NS |
| 4 | 8,4 | 8,4 | 0 | 24,5 | 20,4 | 4,1 | 2,9 | 0,003** |
| 5 | 5,2 | 8,1 | 7,1 | 15,6 | 12,5 | 3,1 | 1,0 | NS |
| 6 | 11,6 | 9,5 | 2,1 | 22,3 | 20,2 | 2,1 | 1,9 | NS |
| Total | 18,9 | 14,3 | 4,6 | 25,5 | 20,7 | 4,9 | 1,3 | 0,007** |

Tabla III.4. Porcentaje de no normales (no N), anormales (A) y no desarrollados (ND) en las muestras expuestas al campo electromagnético y en la muestra control, en cada laboratorio (LAB) y en el total de los 6 laboratorios. E/C es el efecto relativo (% no N en expuestos / % no N en controles).

ESTADIO DE HAMBURGER Y HAMILTON EN EMBRIONES NORMALES.

| | <u>CONTROLES</u> | <u>EXPUESTOS</u> | <u>TOTAL</u> |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|
| LAB 2 | 13,2 ± 0,12 (70) | 13,3 ± 0,13 (65) | 13,3 ± 0,09 (135) |
| LAB 6 | 13,1 ± 0,10 (84) | 12,9 ± 0,11 (73) | 13,1 ± 0,08 (157) |
| LAB 1 | 12,9 ± 0,16 (66) | 12,9 ± 0,13 (62) | 12,9 ± 0,10 (128) |
| LAB 5 | 12,9 ± 0,08 (84) | 12,9 ± 0,08 (81) | 12,9 ± 0,05 (165) |
| LAB 4 | 12,5 ± 0,09 (87) | 12,4 ± 0,09 (74) | 12,5 ± 0,06 (161) |
| LAB 3 | 12,4 ± 0,09 (69) | 12,3 ± 0,11 (69) | 12,4 ± 0,07 (138) |
| TOTAL | 12,9 ± 0,05 (455) | 12,8 ± 0,05 (429) | - - |

Tabla III.5. Estadios de desarrollo de embriones normales en controles y expuestos en cada uno de los seis laboratorios (LAB) y el total.

Los valores son medias ± SE y (N) es el número de embriones.

| LAB | Intensidad (en μT) del CM DC en la incubadora que albergaba los embriones expuestos | | Intensidad (en μT) del CM DC en la incubadora que albergaba los embriones controles | | E-C |
|-----|---|------------|---|------------|------|
| | | % no N (E) | | % no N (C) | |
| 1 | 34,0 | 38,9 | 36,0 | 33,3 | 5,6 |
| 1 | 36,0 | 33,3 | 34,0 | 27,6 | 5,7 |
| 2 | 33,0 | 28,9 | 31,0 | 22,5 | 6,4 |
| 2 | 31,0 | 19,1 | 33,0 | 22,7 | -3,6 |
| 3 | 12,0 | 18,0 | 32,0 | 17,8 | 0,2 |
| 3 | 32,0 | 44,0 | 12,0 | 34,7 | 9,3 |
| 4 | 43,0 | 25,4 | 39,0 | 6,0 | 19,4 |
| 4 | 39,0 | 23,1 | 43,0 | 14,3 | 8,8 |
| 5 | 32,0 | 15,8 | 25,0 | 15,0 | 0,8 |
| 5 | 25,0 | 15,4 | 32,0 | 15,4 | 0 |
| 6 | 43,0 | 21,3 | 33,0 | 13,0 | 8,3 |
| 6 | 33,0 | 23,4 | 43,0 | 10,2 | 13,2 |

Tabla III.6. Resultados agrupando los experimentos en los que la misma incubadora albergaba los embriones expuestos. Aparecen 12 grupos de resultados que corresponden a cada una de las 12 incubadoras. E-C es el efecto relativo, expresado como porcentaje (%) de embriones no normales (no N) en la muestra expuesta (E) menos el porcentaje de embriones no N en la muestra control (C).

RESULTADOS DEL LABORATORIO 3

| | <u>CONTROLES (94)</u> | | <u>EXPUESTOS (100)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-------------|-----------------------|----------|------------------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| <u>no N</u> | 25 | 26,6 | 31 | 31,0 | 1,2 | 0,529 |
| <u>A</u> | 10 | 10,6 | 3 | 3,0 | 0,3 | 0,044* |
| <u>M</u> | 4 | 4,3 | 16 | 16,0 | 3,7 | 0,009** |
| <u>ND</u> | 11 | 11,7 | 12 | 12,0 | 1,0 | 1,000 |

Tabla III.7. Efectos del CEM, en el laboratorio 3, sobre la proporción de embriones no normales (no N), anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND). Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO NO NORMALES

| | <u>CONTROLES (94)</u> | | <u>EXPUESTOS (100)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 8 | 8,5 | 17 | 17,0 | 2 | 0,089 |
| SNT | 14 | 14,9 | 13 | 13,0 | 0,9 | 0,836 |
| STOS | 5 | 5,3 | 8 | 8,0 | 1,5 | 0,570 |
| CORZ | 1 | 1,1 | 2 | 2,0 | 1,8 | 1,000 |
| VASC | 1 | 1,1 | 3 | 3,0 | 2,7 | 0,622 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 1 | (1,1) | 0 | - | <1 | 0,485 |
| TOTAL | 30 | | 43 | | | 0,138 |

Tabla III.8. Efectos del CEM, en el laboratorio 3, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones no normales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. DES (4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. El número de embriones no normales puede ser menor que el total de anomalías, ya que cada embrión no normal puede tener más de una anomalía. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO ANORMALES

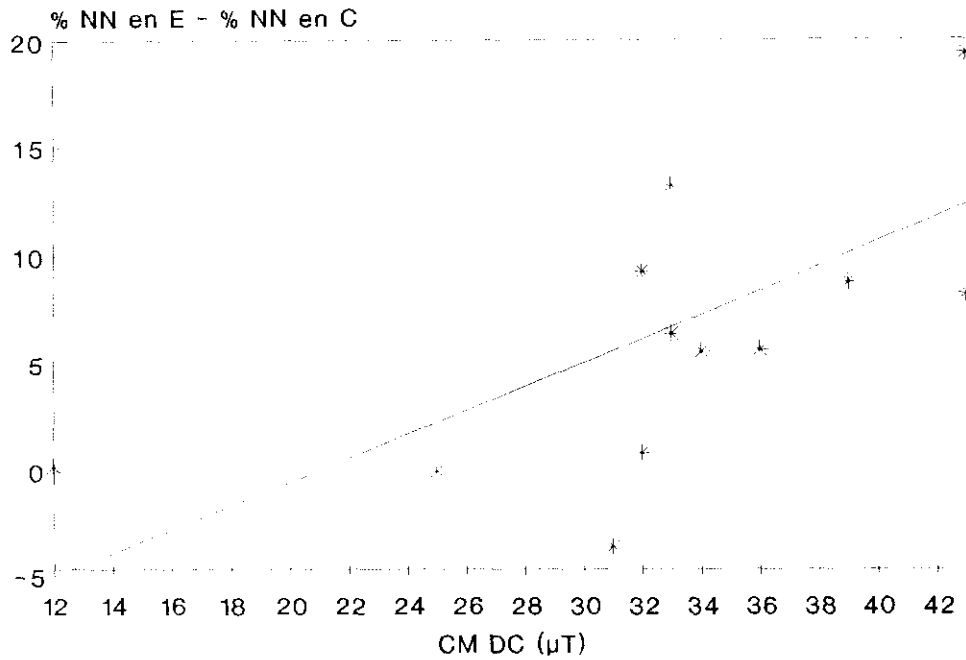
| | <u>CONTROLES (94)</u> | | <u>EXPUESTOS (100)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 4 | 4,3 | 3 | 3,0 | 0,7 | 0,714 |
| SNT | 12 | 12,8 | 7 | 7,0 | 0,5 | 0,228 |
| STOS | 3 | 3,2 | 5 | 5,0 | 1,6 | 0,722 |
| CORZ | 1 | 1,1 | 2 | 2,0 | 1,8 | 1,000 |
| VASC | 1 | 1,1 | 2 | 2,0 | 1,8 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 1 | 1,1 | 0 | - | <1 | 0,485 |
| TOTAL | 22 | | 19 | | | 0,485 |

Tabla III.9. Efectos del CEM, en el laboratorio 3, sobre los cinco sistemas estudiados y grado de desarrollo no adecuado, en la población de embriones Anormales. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. DES (4⁺-9⁻): Embriones desarrollados, con un estadio comprendido entre el 4⁺ y el 9⁻, incluidos. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles).

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO MALFORMADOS

| | <u>CONTROLES (94)</u> | | <u>EXPUESTOS (100)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------|-----------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | | |
| SNC | 4 | 4,3 | 14 | 14,0 | 3,3 | 0,025* |
| SNT | 2 | 2,1 | 6 | 6,0 | 2,9 | 0,281 |
| STOS | 2 | 2,1 | 3 | 3,0 | 0,4 | 1,000 |
| CORZ | 0 | - | 0 | - | | 1,000 |
| VASC | 0 | - | 0 | - | | 1,000 |
| TOTAL | 8 | | 23 | | | 0,006** |
| V. OPT. | 0 | - | 4 | | | 0,122 |

Tabla III.10. Efectos del CEM, en el laboratorio 3, sobre los cinco sistemas estudiados en la población de embriones Malformados. SNC: Sistema Nervioso Central; SNT: Sistema Nervioso Truncal; STOS: Somitos; CORZ: Corazón; VASC: Vascularización. TOTAL: Se refiere al total de anomalías. Los porcentajes (%) están calculados sobre el total de embriones de cada muestra. E/C es el efecto relativo (% expuestos / % controles). V. OPT: Anomalías en el desarrollo de las vesículas ópticas, incluidas dentro de las anomalías para el SNC. Nótese que en el grupo control no se encontró este tipo de anomalía.



$r = 0,628$; $p = 0,027^*$

Figura III. 1. Efecto relativo, expresado como porcentaje de embriones no normales expuestos (E) - porcentaje de embriones no normales controles (C), del CEM unipolar de 1 μ T, 100 Hz, en cada una de las 12 incubadoras, en función de la intensidad del CM DC local. $r = 0,628$; $p = 0,027^*$; $n = 12$.

C A P I T U L O I V

Experimentos con un CEM Pulsado Bipolar de 1 μ T y 30 Hz
(Condiciones Cercanas a las de Resonancia de Ciclotrón para
Iones Calcio y/o Sodio).

CAPITULO IV

EXPOSICION A UN CEM PULSADO DE 1 μ T Y 30 HZ.
(Condiciones cercanas a las de Resonancia de Ciclotrón
para iones Calcio y/o Sodio).

| | |
|--|-----|
| 1- Introducción. | 201 |
| 2- Material y métodos. | 202 |
| 2.1.- Condiciones de exposición. | 202 |
| 2.2.- Condiciones de resonancia iónica | 202 |
| 2.3.- Medidas de CM. DC. | 203 |
| 3- Resultados. | 206 |
| 3.1.- Estudio del total de la población. | 206 |
| 3.2.- Análisis de la fracción de embriones clasificados como anormales. | 206 |
| 3.3.- Análisis de la fracción de embriones clasificados como malformados. | 207 |
| 3.4.- Relación entre porcentaje de embriones no desarrollados y valores de intensidad del campo magnético. | 207 |
| 4.- Discusión. | 209 |
| 5.- Tablas y Figuras. | 210 |

1.- INTRODUCCION.

La teoría de resonancia de ciclotrón para iones^(*), según sus autores, exige una relación "frecuencia del CM AC" - "densidad de flujo del CM DC" para un ion dado. El CEM aplicado debe ser de onda sinusoidal. Con los experimentos descritos en este capítulo hemos querido: 1º) Comparar los efectos de dos frecuencias diferentes (30 Hz y 100 Hz) manteniendo iguales el resto de parámetros físicos y biológicos, y 2º) Comprobar si las predicciones de la teoría de resonancia iónica se cumplen con un CEM pulsado. Para ello, hemos expuesto embriones de pollo, durante sus 48 primeras horas de desarrollo a un CEM pulsado bipolar de 30 Hz de frecuencia, y 1 μ T de intensidad. El CGM local tenía una amplitud de 44,2 μ T. De esta forma, la exposición se realizó bajo condiciones cercanas a resonancia de ciclotrón para iones calcio y sodio, manteniendo constantes al mismo tiempo parámetros físicos utilizados en experimentos anteriores (intensidad del CM AC y CGM local).

La elección de las condiciones de resonancia para iones sodio y calcio se justifica por la importancia de estos iones en el desarrollo embrionario. Se sabe que la regulación del transporte de iones sodio y calcio es determinante en la inducción neural y la diferenciación (Spitzer, 1979; Stern y Mackenzie, 1983; Barth y Barth, 1969).

(*): El modelo de resonancia de ciclotrón para iones se explicará con más detalle en el Capítulo V de esta memoria.

2.- MATERIAL Y METODOS

Se realizaron diez experimentos sobre un total de 350 embriones de pollo de raza White leghorn, variedad Hisex.

La metodología adoptada para la selección y manejo del material biológico es idéntica a la descrita en el Capítulo II.

2.1.- Condiciones de Exposición.

Las condiciones de exposición eran las mismas que las descritas en el Capítulo II excepto por lo siguiente:

- De las 30 posiciones disponibles del soporte para las muestras en el interior de las bobinas de Helmholtz (Fig IV. 1) sólo se ocuparon las 18 siguientes, tanto en controles como en tratados: A1, A3, A5, A6, A8, A10, B1, B3, B5, B6, B8, B10, C1, C3, C5, C6, C8 y C10.

- En este caso, la frecuencia del pulso era 30 Hz en vez de 100 Hz, utilizada en los estudios del Capítulo II. La elección de la frecuencia de 30 Hz vino dada por las condiciones de resonancia de ciclotrón para los iones Na⁺ y Ca⁺⁺.

2.2.- Condiciones de Resonancia Iónica.

Las frecuencias del CEM AC para las condiciones de resonancia de ciclotrón de los iones Na⁺ y Ca⁺⁺ se calcularon según la siguiente expresión (Liboff, 1985):

$$f = 1/2 \pi (q/m) B_0. \quad (1)$$

donde f es la frecuencia del CEM AC, q, la carga iónica; m es

la masa iónica y B_0 , el valor del CM DC.

Antes del comienzo de la serie de experimentos, se hicieron medidas de las componentes horizontal (H) y vertical (Z) del campo DC en el laboratorio, usando un gausímetro (RFL Industries, Inc., Boonton NJ, USA, con una precisión de $0,1 \mu\text{T}$).

De los valores de H y Z, se calculó la resultante F, según la expresión:

$$F = (H^2 + Z^2)^{1/2} \quad (2)$$

El valor medio de F durante una serie de medidas realizadas en diferentes días, resultó ser de $44 \mu\text{T}$.

Según la fórmula (1), siendo la constante $1/2 \pi (q/m)$ de 0,67 para Na^+ ; 0,76 para Ca^{++} y siendo $B_0 = 44 \mu\text{T}$,

$$f (\text{Na}^+) = 0,67 \times 44 = 29,5 \text{ Hz}$$

$$f (\text{Ca}^{++}) = 0,76 \times 44 = 33,4 \text{ Hz}$$

Elegimos, para nuestros experimentos, una frecuencia de 30 Hz, cercana a las frecuencias de resonancia para Na^+ y Ca^{++} , manteniendo constantes los otros parámetros de campo, utilizados en el estudio del Capítulo II, es decir, pulsos bipolares, de $500 \mu\text{s}$ de duración y un tiempo de subida de $2 \mu\text{s}$ con una intensidad de CM AC de $1 \mu\text{T}$.

2.3.- Medidas de CM DC.

Se calcularon los valores medios de los componentes H y Z del campo geomagnético, durante las 48 horas de cada experimento, mediante magnetogramas, suministrados por el

Instituto Geográfico Nacional, Sección de Geomagnetismo. Los magnetogramas representan las variaciones en función del tiempo de los componentes del CGM, el ángulo de declinación y la temperatura, medidas en un observatorio, localizado a 50 Km de nuestro laboratorio.

A partir de cada magnetograma, se calculó el valor medio de las componentes H y Z durante las 48 horas de cada experimento, usando la expresión:

$$H = H_0 + (S_H \cdot r_H) - Q_H (T - T_S) \quad (3)$$

donde H_0 es el valor base; S_H , el valor de escala; r_H , la distancia de la base a la curva, en un punto dado; Q_H , el coeficiente de temperatura y T_S , la temperatura estándar del magnetograma.

Los valores de H se registraron en función del tiempo (Leal y col., 1988) y se calcularon los valores medios de las gráficas, mediante la siguiente expresión:

$$H = (1/2 T) \sum_{i=1}^N (t_{i+1} - t_i) (H_{i+1} + H_i) \quad (4)$$

donde T, es el tiempo total; N, el número de puntos; t_i , el tiempo correspondiente al punto i, y H_i , el valor de H en ese punto.

Se usó un procedimiento similar para calcular los valores medios de la componente Z del CGM. De los valores de H y Z, se calculó la resultante F según la fórmula (2).

El valor medio de F, durante los diez experimentos, resultó ser 43,8 μT .

Comparando los valores de H y Z medidos en el laboratorio y los obtenidos, en el mismo día de los magnetogramas, la resultante F era de 0,4 μ T más alta en el laboratorio.

Por lo tanto, a los 43,8 μ T hay que sumarles 0,4 μ T, lo que supone un valor medio aproximado para las diez experimentos de 44,2 μ T.

Según la ecuación (1),

$$f (\text{Na}^+) = 0,67 \times 44,2 = 29,6 \text{ Hz}$$

$$f (\text{Ca}^{++}) = 0,76 \times 44,2 = 33,6 \text{ Hz}$$

Estas frecuencias se diferencian muy poco de las calculadas antes del inicio de los experimentos (29,5 Hz y 33,4 Hz, respectivamente) y por lo tanto, de la frecuencia de 30 Hz utilizada en la práctica.

3.- RESULTADOS.

3.1.- Estudio del Total de la Población.

Se realizaron diez experimentos, con un total de 350 embriones; 175 fueron expuestos al campo y 175 eran controles.

En el grupo de embriones expuestos, el total de embriones no normales fue de 53, lo que representa un 30,3% de la población, frente a 46 embriones no normales en el grupo de controles (26,3%; T/C=1,2; p=0,406) (Tabla IV.1).

El estadio medio alcanzado por la población de embriones normales en el grupo de controles fue de $12,4 \pm 1,0$ frente a $12,4 \pm 1,1$ en el grupo de los expuestos.

Ni la proporción de embriones anormales ni la de malformados mostró diferencias significativas entre ambos grupos: El porcentaje de embriones anormales fue de 6,3 en el grupo de controles y de 4,0 en los expuestos al CEM (p=0,469), y el porcentaje de embriones malformados fue de 13,1 en el grupo de controles y de 10,3 en el de tratados (p=0,406).

Sin embargo, se observó un aumento altamente significativo (p=0,007) del número de embriones no desarrollados en el grupo de expuestos (16%) respecto al grupo de controles (6,9%; T/C=2,3).

El total de anomalías (leves + severas) fue de 57 en el grupo control y de 50 en el expuesto al CEM (p= 0,417) (Tabla IV.2).

La distribución de anomalías de los embriones desarrollados, según órgano y tamaño o grado de desarrollo, no mostró diferencias significativas entre controles y expuestos.

3.2.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Anormales.

Como se puede observar en la Tabla IV.3, no hubo

diferencias significativas entre el grupo de embriones controles y el grupo de tratados en el porcentaje de anomalías leves de ningún sistema organogenético .

3.3.- Análisis de la Fracción de Embriones Clasificados como Malformados.

No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de malformaciones para cada uno de los sistemas, sin embargo, hubo un tipo de malformación, que consistía en alteraciones en el desarrollo de una de las vesículas ópticas, generalmente la izquierda. El porcentaje de embriones expuestos al CEM con este tipo de malformación era de un 4,6% (8 embriones) ($p= 0,007$). En el grupo de los embriones controles no se observó ningún caso (Tabla IV. 4).

En 4 de los 8 casos, una de las vesículas ópticas tenía un grado de desarrollo inferior al estadio correspondiente; en los otros 4 casos, la anomalía consistía en una desorganización tisular (Figs. IV. 1 y IV. 2).

3.4.- Relación entre Porcentaje de Embriones No Desarrollados y Valores de intensidad del campo magnético.

Se realizaron medidas de CM, según se describe en el apartado de Material y Métodos del Capítulo II. Así, resultaron seis grupos, cada uno de los cuales estaba compuesto por posiciones simétricas respecto a la intensidad de CM AC.

Se calculó la proporción de embriones no desarrollados para cada uno de los seis grupos, tanto de la población expuesta como de la control (Tabla IV.5). No se observó una relación lineal significativa entre porcentaje de embriones no desarrollados e intensidad del CM (Fig IV.2). Esto pudo deberse al reducido tamaño de la muestra (6 puntos) y el

escaso número de embriones no desarrollados totales (28). Sin embargo, se observó una tendencia positiva ($p= 0,123$), en el mismo sentido que la obtenida en el Capítulo II.

Tampoco se obtuvo ninguna relación lineal entre porcentaje de embriones no desarrollados en la población control e intensidad del CM ($p= 0,275$) (Fig. IV.2).

4.- DISCUSION.

Estos resultados revelan que la frecuencia del CM AC es un parámetro fundamental en el tipo de respuesta del sistema. En este caso, la respuesta consistió en una parada del desarrollo en embriones, que no habían alcanzado el estadio de línea primitiva, y en la aparición de malformaciones en una de las dos vesículas ópticas. Es de señalar que en la muestra control no se observó ningún caso con este tipo de anomalía.

Estos resultados parecen, en principio compatibles con una alteración en el flujo de iones sodio y/o calcio, debida a la exposición conjunta a un CM AC y un CM DC, en la forma en que predicen los modelos de resonancia iónica. En efecto, se sabe que estos iones juegan un papel importante en la inducción neural y la diferenciación (Spitzer, 1979; Stern y Mackenzie, 1983; Barth y Barth, 1969). Esto podría justificar el incremento de embriones no desarrollados. Además, los iones calcio parecen estar implicados en procesos de adhesión celular (Shirayoshi et al., 1983) y en la formación de la placoda óptica (Brady et al., 1982), lo que explicaría la aparición de malformaciones en las vesículas ópticas.

Veíamos en el Capítulo II que un CM semejante al utilizado en estos experimentos, excepto en la frecuencia, que era de 100 Hz, provocaba un incremento en la proporción de embriones malformados sin aumentar el porcentaje de embriones no normales. Asimismo, un CM de 100 Hz y 1 μ T, esta vez unipolar (Capítulo III) aumentaba el porcentaje de embriones malformados sin aumentar el de no normales. En los presentes experimentos con un CM pulsado bipolar de 30 Hz y 1 μ T se ha producido además un incremento en la proporción de embriones no desarrollados, sin aumentar la de no normales. Por lo tanto, parece que estos CMs han actuado sobre embriones que en ausencia de CEMs hubieran presentado algún tipo de anomalía, habiendo provocado la exposición un agravamiento de éstas.

T A B L A S Y F I G U R A S

RESULTADOS GLOBALES DE LA EXPOSICION EMBRIONARIA A UN CEM PULSADO DE 1 μ T DE INTENSIDAD Y 30 HZ DE FRECUENCIA.

| | <u>CONTROLES (175)</u> | | <u>EXPUESTOS (175)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| no N | 46 | 26,3 | 53 | 30,3 | 1,2 | 0,406 |
| A | 11 | 6,3 | 7 | 4,0 | 0,6 | 0,347 |
| M | 23 | 13,1 | 18 | 10,3 | 0,8 | 0,406 |
| ND | 12 | 6,8 | 28 | 16,0 | 2,4 | 0,007** |

Tabla IV. 1. Efecto sobre el porcentaje (%) de embriones no Normales (no N), Anormales (A), Malformados (M) y No Desarrollados (ND) en el grupo control y en el expuesto. E/C: Porcentaje de embriones no N, A, M o ND expuestos dividido por el porcentaje de embriones no N, A, M o ND controles. nº: Número de embriones. La clasificación no N incluye los embriones A, M y ND. Se observó un aumento significativo del porcentaje de embriones ND ($p=0,007$) sin aumentar el de embriones no N ($p=0,406$).

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO NO NORMALES (ANORMALES+MALFORMADOS).

| | <u>CONTROLES (175)</u> | | <u>EXPUESTOS (175)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| SNC | 27 | 15,4 | 19 | 10,9 | 0,7 | 0,206 |
| SNT | 17 | 9,7 | 16 | 9,1 | 0,9 | 0,855 |
| STOS | 6 | 3,4 | 6 | 3,4 | 1,0 | 1,000 |
| CORZ | 2 | 1,1 | 2 | 1,1 | 1,0 | 1,000 |
| VASC | 2 | 1,1 | 5 | 2,9 | 2,6 | 0,285 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 3 | 1,7 | 2 | 1,1 | 0,6 | 1,000 |
| TOTAL | 57 | | 50 | | | 0,417 |

Tabla IV. 2. Efecto sobre los cinco sistemas organogenéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES(4⁺-9⁻)).

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO ANORMALES

| | <u>CONTROLES (175)</u> | | <u>EXPUESTOS (175)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| SNC | 4 | 2,3 | 5 | 2,9 | 1,3 | 0,751 |
| SNT | 11 | 6,3 | 9 | 5,1 | 0,8 | 0,645 |
| STOS | 2 | 1,1 | 3 | 1,7 | 1,5 | 1,000 |
| CORZ | 0 | - | 1 | 0,6 | >1 | 1,000 |
| VASC | 0 | - | 1 | 0,6 | >1 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 3 | 1,7 | 2 | 1,1 | 0,6 | 1,000 |
| TOTAL | 20 | | 21 | | | 0,868 |

Tabla IV.3. Efecto sobre los cinco sistemas organogénéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ DES(4⁺-9⁻). No se halló aumento significativo de anomalías para ninguno de los sistemas estudiados.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS EN LA POBLACION DE EMBRIONES CLASIFICADOS COMO MALFORMADOS

| | <u>CONTROLES (175)</u> | | <u>EXPUESTOS (175)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| SNC | 23 | 13,1 | 14 | 8,0 | 0,6 | 0,118 |
| SNT | 6 | 3,4 | 7 | 4,0 | 1,2 | 0,787 |
| STOS | 4 | 2,3 | 3 | 1,7 | 0,7 | 0,724 |
| CORZ | 2 | 1,1 | 1 | 0,6 | 0,5 | 1,000 |
| VASC | 2 | 1,1 | 4 | 2,3 | 2,1 | 0,685 |
| TOTAL | 37 | | 29 | | | 0,274 |
| V. OPT. | 0 | - | 8 | 4,6 | > 4 | 0,007** |

Tabla IV.4. Efecto sobre los cinco sistemas organogénéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC). No se halló aumento significativo de malformaciones para ninguno de los sistemas estudiados. V. OPT. se refiere a un tipo de anomalía que afecta a una de las dos vesículas ópticas, y que se ha incluido dentro de las anomalías para el SNC. Se encontró un aumento significativo de anomalías para V. OPT (p= 0,007).

| <u>POSICIONES</u> | <u>NO DESARROLLADOS</u> | | | <u>NO DESARROLLADOS</u> | | |
|--|-------------------------|-----------|----------|-------------------------|-----------|----------|
| | <u>CONTROLES</u> | | | <u>EXPUESTOS</u> | | |
| | <u>T</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>T</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> |
| A ₁ , A ₅ , A ₆ , A ₁₀ | 40 | 3 | 7,5 | 39 | 6 | 15,4 |
| B ₁ , B ₅ , B ₆ , B ₁₀ | 39 | 5 | 12,8 | 38 | 5 | 13,2 |
| C ₁ , C ₅ , C ₆ , C ₁₀ | 38 | 3 | 7,9 | 40 | 4 | 10,0 |
| A ₃ , A ₈ | 19 | 0 | - | 18 | 3 | 16,7 |
| B ₃ , B ₈ | 19 | 0 | - | 20 | 4 | 20,0 |
| C ₃ , C ₈ | 20 | 1 | 5,0 | 20 | 6 | 30,0 |

Tabla IV.5. Número (nº) y porcentaje (%) de embriones no desarrollados en controles y expuestos sobre el total (T) de embriones descritos en cada uno de los seis grupos de posiciones con igual intensidad de CM AC.

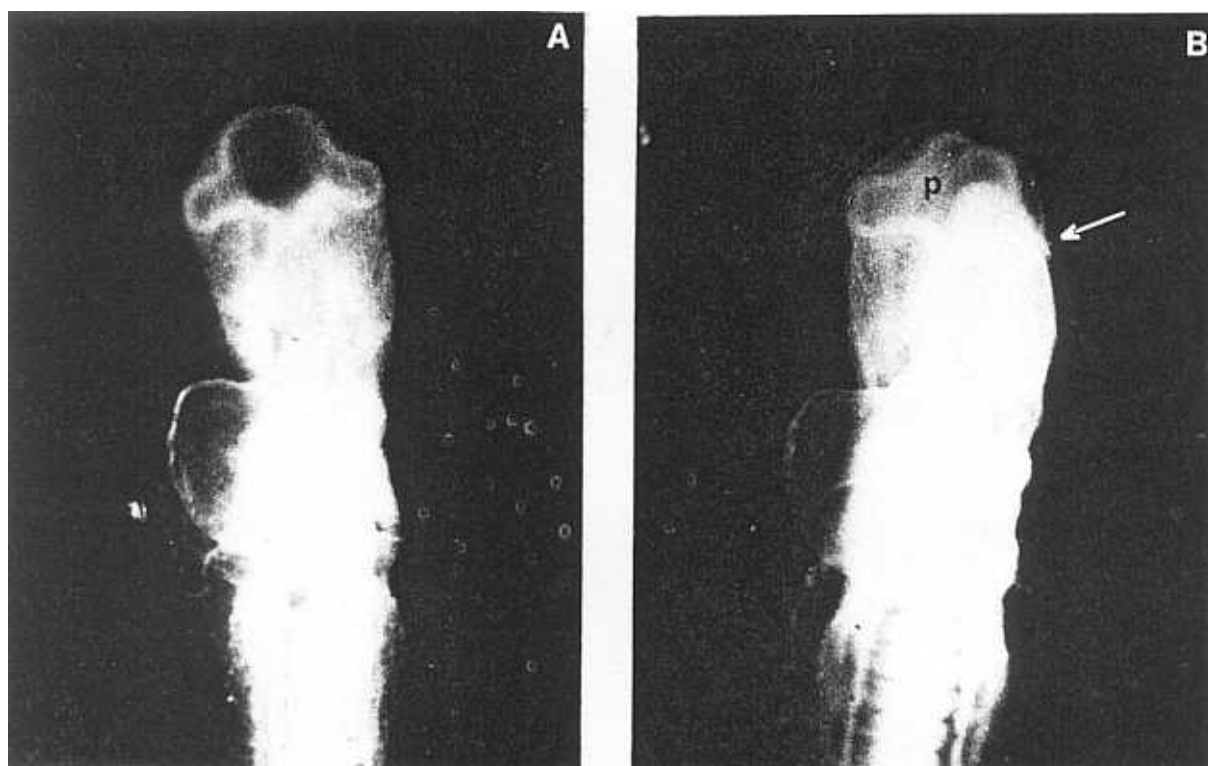
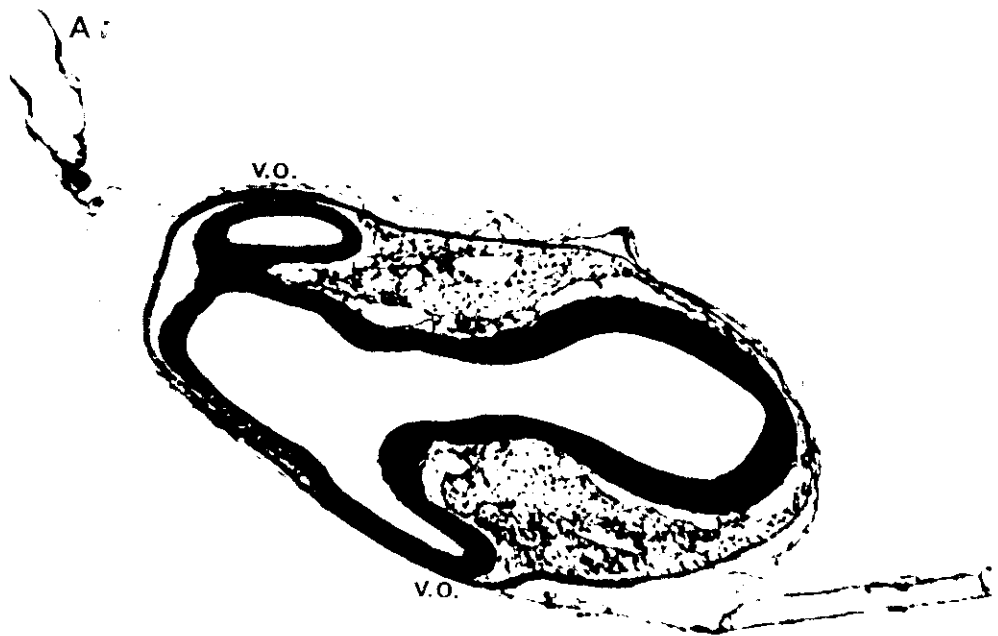


Fig. IV. 1. Región anterior ventral de embriones en estadio 12 (X 27). A: Embrión normal. B: Embrión malformado. Presenta una vesícula óptica malformada (flecha) y el prosencéfalo (p) de tamaño muy reducido.



B



Fig. IV.2. Sección transversal a nivel del diencéfalo de embriones en estadio 12⁺ (X 200). A: Embrión normal. B: Embrión malformado. Presenta la vesícula óptica (v.o.) izquierda invaginada (flecha). Tamaño reducido, en general.

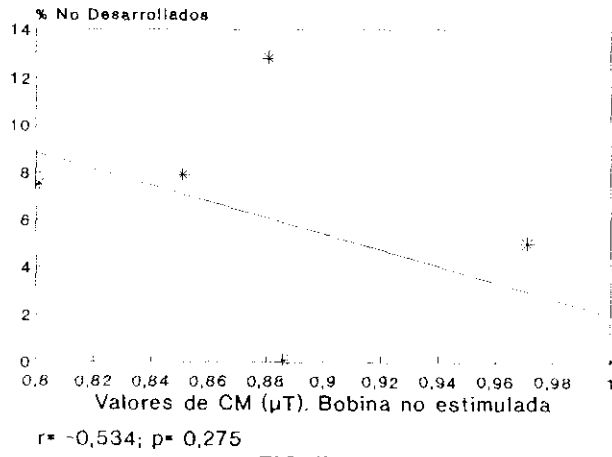


FIG. IV. 3 A

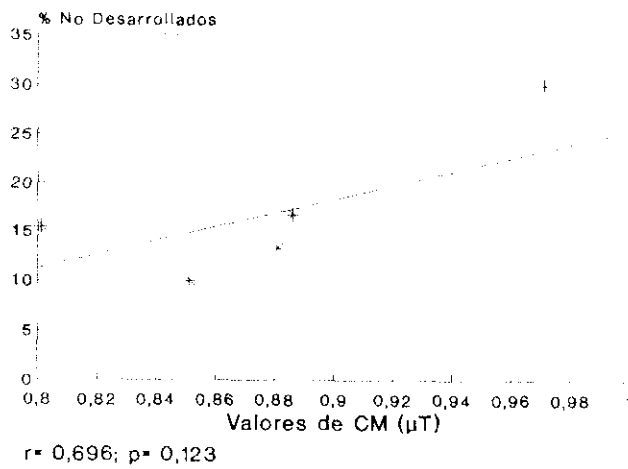


FIG. IV. 3 B

Fig. IV.3 A: Proporción de embriones controles no desarrollados en cada uno de los seis grupos de posiciones que reciben la misma intensidad de CM AC cuando la bobina está estimulada. $r = -0,534; p = 0,257; n = 6$.
 B: Proporción de embriones expuestos no desarrollados en función de la intensidad del CM AC. $r = 0,696; p = 0,123; n = 6$.

C A P I T U L O V

Exposición a CMs bajo Condiciones de Resonancia
para Iones Calcio o Sodio

CAPITULO V

Exposición a CMs bajo condiciones de resonancia para iones Calcio o Sodio

| | |
|--|-----|
| 1 - Introducción. | 218 |
| 2 - Material y Métodos. | 227 |
| 2.1.- Condiciones comunes de exposición. | 228 |
| 2.1.1.- Condiciones de incubación. | 228 |
| 2.1.2.- Cálculo de las condiciones de Resonancia. | 229 |
| 2.1.3.- Descripción del equipo empleado. | 230 |
| 2.1.4.- Descripción de los embriones. | 232 |
| 3- Resultados. | 233 |
| 3.1.- Condiciones de resonancia para Calcio. E1. | 233 |
| 3.2.- Condiciones alejadas de resonancia. E2. | 234 |
| 3.3.- Condiciones de resonancia para Calcio. E3. | 234 |
| 3.4.- Condiciones alejadas de resonancia. E4. | 235 |
| 3.5.- Condiciones alejadas de resonancia. E5. | 236 |
| 3.6.- Condiciones de resonancia para Sodio. E6. | 237 |
| 3.7.- Condiciones de resonancia para Calcio. E7. | 238 |
| 3.8.- Condiciones alejadas de resonancia. E8. | 239 |
| 3.9.- Condiciones de resonancia para Sodio. E9. | 239 |
| 3.10.- Condiciones de resonancia para Calcio. E10. | 241 |
| 3.11.- Tabla resumen de resultados. | 243 |
| 4.- Discusión. | 244 |
| 5.- Tablas y Figuras. | 249 |

1.- INTRODUCCION.

El mecanismo o mecanismos por los cuales, los CEMs ELF interaccionan con los sistemas biológicos, es todavía objeto de estudio y controversia después de más de 40 años de investigación sobre bioelectromagnetismo.

Está generalmente admitido que los efectos biológicos provocados por los CEMs ELF no obedecen, en general, a una relación lineal dosis-efecto, sino que parecen implicados mecanismos más complejos, que sólo responden a determinadas combinaciones de parámetros físicos (intensidad del CM DC, intensidad y frecuencia del campo magnetico AC), lo que da lugar a los denominados efectos "ventana".

El concepto "efecto ventana" se puede definir como una respuesta biológica que ocurre sólo bajo combinaciones específicas de los parámetros CM AC, de CM DC y/o frecuencia; si estos parámetros no son los adecuados, la respuesta es menor, nula o inversa.

En la literatura se describen multitud de estudios experimentales en que las respuestas biológicas obedecen a efectos ventana:

-Bawin y Adey, en 1976, observaron modificaciones del flujo de calcio, en tejidos cerebrales de pollo y gato, expuestos a campos eléctricos sinusoidales de 5, 10, 56 o 100 V/m y frecuencias de 6, 16, 32 o 75 Hz. El efecto, consistente en una reducción del flujo de iones calcio después de la exposición de las muestras, se observaba sólo a frecuencias de 6 y 16 Hz, e intensidades de 10 y 56 V/m.

-Delgado et al. en 1982 exponen embriones de pollo a CEMs pulsados de 10, 100 o 1000 Hz, con intensidades de CM AC de 0,12, 1,2 o 12 μ T. Observan un mayor efecto teratógeno con 1,2 μ T y 100 Hz que con las otras combinaciones de estos parámetros.

-Ubeda et al., en 1983, exponiendo embriones de pollo a intensidades de 0,4, 1,0, 10,4, 13,9 o 104 μT , a una frecuencia de 100 Hz, encontraron un efecto teratógeno a intensidades de 1,0 y 13,9 μT , pero no a otras intensidades.

-Juutilainen y col., en 1986, describieron efectos teratógenos sobre el desarrollo embrionario del pollo con CEMs de 1 Hz y 16,7 Hz a intensidades de 0,1 A/m y 1 A/m pero no a intensidades de 10 A/m o 100 A/m. Esto soporta la hipótesis de ventanas de intensidad.

-Fitzsimons et al., en 1989, utilizando un CE de 10^{-7} V/cm y frecuencias de 8, 12, 16, 20 o 24 Hz, aplicado a tejido óseo de pollo, in vitro, observaron un aumento de la proliferación celular y de la actividad mitogénica, con un pico a 16 Hz, lo que sugiere un efecto de ventana para frecuencia.

-Wei et al., en 1990, expusieron células humanas "HL-60" a CEMs de frecuencias, 15, 45, 60, 90 o 150 Hz y densidades de flujo magnético de 0 a 2,3 mT. Después de cada exposición, los autores midieron los niveles de transcripciones para c-myc e histona H2B. Ambos parámetros se comportaban de idéntica manera, observándose, en ambos casos, un pico de respuesta a una frecuencia de 45 Hz.

En 1985, Blackman y col. introdujeron la variable "campo geomagnético local" (CGML), es decir el CM DC existente en el lugar de experimentación, y que podía intervenir en los efectos de los CEMs. Para comprobarlo, expusieron tejido cerebral de pollo a CEMs, de frecuencias 1, 15, 30 o 45 Hz y 40 V/m, con un CGML de 38 μT . Observaron un aumento en el flujo de iones calcio a frecuencias de 15 y 45 Hz. Si el CGML era reducido a 25,3 μT o aumentado a 76 μT , la respuesta se obtenía a una frecuencia de 30 Hz.

El efecto parecía describir una relación en la cual, la frecuencia del CM AC que puede inducir un cambio en el flujo de iones calcio, es proporcional al producto de la densidad

del CGML por un índice, $2n+1$, donde $n = 0,1$.

-Leal y col., en 1986 muestran que el efecto teratógeno de CEMs pulsados de 0,4 y 1,0 μT de intensidad y 100 Hz de frecuencia, depende de los valores de la componente horizontal del campo magnético terrestre.

Estos trabajos mencionados han dado lugar al desarrollo de modelos teóricos basados en la dependencia de la respuesta biológica a combinaciones precisas de un CM variable con el tiempo y un CM constante, que puede ser el CGM local o un CM aplicado artificialmente.

Los modelos se basan en un efecto de resonancia, sobre una partícula cargada concreta, utilizando el término "resonancia" como la sincronización del movimiento de la partícula con una frecuencia definida por la combinación de CMs AC y DC.

Según Chiabrera et al., (1985), la interacción CEM-célula se efectúa a nivel de la superficie de la membrana celular, afectando al proceso de unión de un ligando a su receptor.

Un primer mensajero externo (ion, lectina u hormona) actúa a nivel de un receptor sobre la membrana, induciendo un cambio en la concentración de un segundo mensajero interno.

La fuerza de Lorentz, es decir, la fuerza que experimenta una partícula cargada en un CEM viene dada por la ecuación:

$$F = m \, du/dt = qE + q (u \times B) \quad (1)$$

donde F es el vector fuerza, en Newtons, m es la masa de la partícula en Kg, q es la carga de la partícula en Culombios, E es la intensidad del CE en V/m, B la densidad de flujo magnético en Teslas, y u , la velocidad de la partícula en m/s.

Pues bien, según Chiabrera et al., la fuerza de Lorentz afectaría los valores de la tasa de asociación y disociación

que modelan el proceso de interacción entre el ligando y su sitio de unión. Tal efecto podría inducir un cambio en la concentración del segundo mensajero. Estos autores sugieren que sólo determinados valores de frecuencia del campo AC, combinados con los apropiados valores de intensidad de un campo DC, podrían producir algún tipo de efecto biológico.

Otros autores, como Adey (1975) y Parkinson et al. (1989 b) consideran que el efecto se debería, más bien, a la alteración de moléculas cargadas en la superficie celular. Suponen un fenómeno de cooperatividad entre partículas. Tal cooperatividad implica que la acción del CEM se favorece si existe una segunda partícula, de tal forma que la conducta colectiva del conjunto de las partículas interactivas exhibiría una mayor sensibilidad a bajas intensidades del CEM.

Liboff, en 1985, postuló el modelo de resonancia de ciclotrón para partículas libres. A diferencia de los autores mencionados anteriormente, Liboff sugiere como blancos de acción de los CEMs los canales de transporte iónico.

La teoría predice que iones moviéndose a través de canales helicoidales de membrana en presencia de un campo magnético DC exhiben una frecuencia de resonancia, a la cual la energía puede ser transferida desde un CEM AC al sistema molecular.

Su modelo se basa en los siguientes postulados teóricos:

Cuando una partícula cargada penetra en un CM DC (B), experimenta una fuerza perpendicular a su velocidad (v) y al campo B, según la expresión:

$$F = qv \times B \quad (2)$$

Si v y B son paralelos, F sería nula. Para otras

orientaciones de v , la trayectoria de la partícula sería curvilínea.

Equilibrando F con la Fuerza centrípeta (F_c) que experimenta la partícula en su movimiento, tendríamos,

$$mv^2/r = qvB \quad (3)$$

Si la partícula ejecuta f revoluciones por unidad de tiempo, entonces:

$$v = 2\pi r f \quad (4) \quad \text{entonces,}$$

$$m2\pi f = qB \quad (5) \quad \text{y}$$

$$\boxed{f = 1/2\pi (q/m) B_0} \quad (6)$$

Cuando la frecuencia del CM AC es f , se cumplen las condiciones de resonancia para un determinado ion con una masa, m , y una carga iónica, q . Las frecuencias armónicas de f también serían válidas.

Los cálculos sólo consideran iones no hidratados, tal como existen en las membranas plasmáticas, nucleares y mitocondriales. Otra limitación de este modelo se refiere a la dispersión iónica. Los iones deben mantener trayectorias constantes a lo largo de su recorrido, tal como sucede en canales iónicos.

Smith et al. (1987), mediante experimentos con diatomeas postulan que los campos magnéticos DC y AC tienen que ser paralelos, para que haya un efecto de resonancia.

Durney et al., en 1988, introdujeron el factor "viscosidad del medio", según el cual puede no darse respuesta de resonancia si este factor es lo suficientemente grande.

Según D'Inzeo et al. (1993), la frecuencia a la que

entraría en resonancia una determinada especie iónica dependería de las configuraciones espaciales de los campos eléctrico, magnético AC y magnético DC, cumpliéndose las previsiones de la teoría sólo para configuraciones en que el campo eléctrico inducido y el campo DC sean paralelos entre sí y perpendiculares al CM AC.

EL modelo ha sido criticado por autores como Halle (1988) quien considera que, debido a la fricción dinámica del movimiento de un ion a través de un canal, el efecto magnético es insignificante y que, por lo tanto, la teoría de resonancia de ciclotrón es insostenible.

Lednev, en 1991, sugirió una nueva interpretación de la teoría de resonancia de ciclotrón, a la que denominó de "resonancia paramétrica iónica" (RPI), considerando que ésta puede afectar a iones unidos a proteínas transportadoras, que se comportarían como osciladores cargados, caracterizados por frecuencias vibracionales. La teoría se basa en la probabilidad de transicciones entre niveles de energía en el complejo ion-proteína.

En el último año han surgido modificaciones de la teoría RPI (Blanchard y Blackman, 1994). Los autores sugieren que durante una exposición EM en condiciones de resonancia iónica, la interacción de un ion con su medio biomolecular puede variar de una manera predecible a lo largo de un rango de intensidades del CM AC. Este cambio en la interacción se puede traducir en un cambio en la actividad biológica. La respuesta biológica dependerá de las intensidades del CM DC, del CM AC, de la frecuencia del CM AC y de la relación "q/m" del ion implicado en cada caso.

Los experimentos realizados hasta el momento, basándose

en el modelo de resonancia del ciclotrón, han producido resultados interesantes pero, a veces, contradictorios.

Se ha observado un efecto de resonancia de ciclotrón para iones litio (Liboff et al., 1989; Thomas et al., 1986), consistente en una alteración de la conducta, en ratas expuestas a CEMs sinusoidales de 60 Hz de frecuencia, 50 μ T de intensidad de CM AC y un campo magnético constante de 26,1 μ T. La exposición al CM DC sólo o al CM AC sólo no producía ningún tipo de efecto.

Los mismos autores (Smith et al., 1987) demostraron un efecto de resonancia para iones calcio, utilizando Diatomeas, cuyo movimiento depende de la cantidad de calcio disponible en el medio. Encontraron un efecto significativo sobre la movilidad a una frecuencia de 16 Hz, una intensidad de CM DC de 20,9 μ T y una intensidad del CM AC de 20,9 μ T, que corresponde a un efecto de resonancia para iones calcio según la ecuación (6).

No encontraron ningún tipo de efecto cuando la exposición se produjo sólo al CM DC, o sólo al CM AC, observando además que los campos magnéticos AC y DC tienen que ser paralelos para inducir la respuesta celular.

Entre experimentos realizados in vitro podemos citar los siguientes:

- El mismo grupo citado anteriormente observó un aumento de la concentración intracelular de Ca^{45} en linfocitos humanos expuestos a condiciones de resonancia de ciclotrón (Liboff et al., 1987).

- Prasad et al. (1991) y Coulton et al. (1993) intentaron replicar los resultados del equipo de Liboff (1987) sin obtener ninguna respuesta biológica.

- S.M.Ross, en 1990, empleando CEMs sinusoidales, a diferentes frecuencias e intensidades, paralelos a un CM DC, manteniendo siempre las condiciones de resonancia para iones

calcio, según la ecuación (6), observó una reducción de la proliferación celular, en fibroblastos de ligamento de conejo, in vitro.

Variando la intensidad del CM AC (0,1, 0,2, 0,26, 0,4, 0,5, 0,55, 0,6, 0,7 o 1 mT) y manteniendo constante la intensidad del CM DC (0,13 mT) y la frecuencia del CM AC (100 Hz), encontró dos tipos de respuesta, con un umbral entre 0,5 mT y 0,6 mT, por encima del cual, había un aumento de la proliferación celular, mientras que por debajo, una inhibición.

Si lo que variaba era la densidad del CM DC (0,065, 0,131, 0,196 o 0,261 mT) con un CM AC de 0,5 o 1 mT, y manteniendo una frecuencia de 100 Hz, sólo a 0,13 mT de intensidad de CM DC se observaba una respuesta, que en el caso de un CM AC de 0,5 mT, se traducía en una inhibición de la proliferación celular y en el caso de un CM AC de 1 mT, en un aumento de la proliferación.

- Rochev et al. (1990), en estudios in vitro, observaron una aceleración del crecimiento de fibroblastos sin alteración del crecimiento de células linfoblastoides bajo condiciones de resonancia para iones calcio. Condiciones de resonancia para iones potasio provocaron una reducción en la tasa de proliferación de células linfoblastoides.

- Parkinson et al. (1989 a) no observaron cambios en la concentración de calcio en el citoplasma celular, utilizando las líneas celulares de osteosarcoma de rata, "BALB/c3T3", "L929", "V-79" y "ROS", bajo exposición a CEMs en condiciones de resonancia para calcio, siendo las intensidades de los CMs AC y DC, ambas de 50 μ T y la frecuencia de 38,15 Hz, según la ecuación (6).

- Parkinson y Sulik (1992) no hallaron ningún efecto sobre movilidad de diatomeas bajo resonancia de ciclotrón para calcio en experimentos que intentaban replicar los del equipo de Liboff (Smith et al., 1987).

- En 1991, Reese et al. encontraron un efecto, aunque mucho menor que el de Smith et al. (1987) sobre movilidad de diatomeas bajo condiciones de RC para calcio.

En este capítulo se ha querido comprobar la respuesta embrionaria a condiciones de resonancia iónica. Para ello, se han expuesto embriones de pollo durante sus 48 primeras horas de desarrollo a diferentes CEMs sinusoidales en combinación con CMs DC, bajo condiciones de resonancia para los iones calcio y sodio, y a otras combinaciones fuera de resonancia que nos servían como condiciones control negativas. La elección de las condiciones de resonancia para iones calcio y sodio se justifica por el papel fundamental de estos iones en el desarrollo embrionario, ya que se sabe que la regulación del transporte de iones sodio y calcio es determinante en la inducción neural y la diferenciación (Spitzer, 1979; Stern y Mackenzie, 1983; Barth y Barth, 1969).

2.- MATERIAL Y METODOS.

Se realizaron 10 tipos de experimentos (a los que denominaremos, E1, E2,...E10) utilizándose 2040 huevos de los que, después de retirar los no fecundados o los de cáscara dañada, 1955 sirvieron para el estudio. Las condiciones particulares para cada tipo de experimento se relacionan en la Tabla V.1. Las condiciones comunes a todos los experimentos serán descritas a continuación.

| | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 | E9 | E10 |
|---|------------------|-----------|------------------|-------------|-------------|-----------------|------------------|-------------|-----------------|------------------|
| Raza (1) | WL | WL | WR | WR | WR | WR | WR | WR | WR | WR |
| Orientación de los huevos (2) | N | N | N | N y O | N y O | N y O | N y O | N y O | N y O | N y O |
| Embriones por experimento | 20 | 20 | 20 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Embriones expuestos por experimento | 10 | 10 | 10 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 |
| Embriones control por experimento | 10 | 10 | 10 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 | 10 o 20 |
| Nº experimentos | 24 | 9 | 10 | 5 | 6 | 12 | 11 | 7 | 13 | 13 |
| Frecuencia CM AC (Hz) | 19 | 19 | 19 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 14 | 16 |
| Intensidad CM AC (μ T) rms o pico (3) | 25 rms | 18 rms | 25 rms | 20,9 rms | 20,9 rms | 20,9 rms | 20,9 rms | 20,9 rms | 20,9 pico | 20,9 pico |
| Intensidad CM DC (μ T) | 25 | 25 | 25 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 |
| Ion en resonancia | Ca ⁺⁺ | - | Ca ⁺⁺ | - | - | Na ⁺ | Ca ⁺⁺ | - | Na ⁺ | Ca ⁺⁺ |

Tabla V. 1. Condiciones para los 10 tipos de experimentos.

(1). WL= White leghorn; WR= White rocks.

(2). N= Norte; O= Oeste.

(3). Se refiere a intensidad (I) del CM AC. I pico= I rms x 2^{1/2}

2.1.- Condiciones Comunes de Exposición.

2.1.1.- Condiciones de Incubación.

Los huevos se exponían y/o incubaban, durante sus 48 primeras horas de desarrollo post-puesta, en posición horizontal, con su extremo agudo dirigido hacia el Norte (N) o el Oeste (O) geomagnético, a una temperatura de $37,7 \pm 0,2$ °C, y una humedad relativa de 60 ± 5 %. Cada incubadora albergaba 10 huevos, colocados en un soporte de metacrilato en el interior de cada juego de bobinas (en configuración Helmholtz), utilizándose dos o tres incubadoras en cada experimento. Cuando se utilizaban 2 incubadoras, una de ellas albergaba 10 huevos expuestos, y la otra, 10 huevos controles, por cada experimento, en idénticas condiciones de incubación. Cada una de las incubadoras era utilizada, alternativamente, para albergar los embriones controles o los expuestos.

Cuando se emplearon tres incubadoras por experimento, dos de ellas servían para albergar 10 embriones controles cada una, y la tercera, 10 embriones expuestos. En el siguiente experimento se utilizaban dos incubadoras para expuestos y una para controles, y así sucesivamente.

En los experimentos E9 y E10, los embriones controles fueron los mismos para ambos tratamientos, utilizándose tres incubadoras, una de las cuales albergaba los embriones expuestos al tratamiento E9, otra los embriones expuestos al tratamiento E10 y la tercera, los embriones controles. Cada una de las tres incubadoras se usaba, alternativamente, para albergar cada uno de los tres grupos.

Las incubadoras se colocaron a dos metros de distancia mínima entre ellas. Las tres incubadoras eran de la marca Memmert, idénticas entre sí. En la Fig. V.1, se puede observar una fotografía de una de las tres incubadoras utilizadas en los experimentos de este capítulo.

2.1.2.- Cálculo de las Condiciones de Resonancia (CR).

Las condiciones de resonancia se hallaron según la fórmula (6):

$$f = 1/2\pi (q/m) B_0$$

Asignando un valor de 25 μT al CM DC (B_0) - valor de la componente horizontal del CGM en nuestro laboratorio (Leal et al. 1988-89) - y siendo $1/2\pi (q/m) = 0,76$ para el ion calcio, la frecuencia de resonancia para este ion sería de 19 Hz. Al CM AC (B) se le asignó un valor, también de 25 μT rms, es decir del mismo orden que el B_0 , según especificación de la teoría (Liboff, 1985). Estos valores de campos se adoptaron para los experimentos E1 y E3 (ver Tabla V.1).

Para ensayar la importancia del valor de B y sirviendo de control para E1, se realizó una serie de experimentos, E2, para los que las condiciones eran idénticas a E1 excepto que B en este caso era 18 μT rms, (ver Tabla V.1).

En la serie de experimentos E7, se le asignó un valor de 20,9 μT a B_0 (valor empleado frecuentemente en la literatura) (refs) y se calculó la frecuencia de resonancia para el ion calcio, siendo en este caso de 16 Hz. El CM AC (B) aplicado fue de 20,9 μT rms (ver Tabla V.1).

Los experimentos tipo E6, fueron diseñados para probar la teoría de resonancia para el ion sodio. Empleando los mismos valores de B_0 y B que en los experimentos E7, es decir, de 20,9 μT , la frecuencia de resonancia resulta ser de 14 Hz, según la fórmula (6), siendo $1/2\pi (q/m) = 0,67$ para el ion sodio.

Los experimentos E4, E5 y E8 sirvieron como controles para los E6 y E7, modificando las frecuencias del CM AC. Así, la frecuencia utilizada en los experimentos E4 fue de 10 Hz, en los E5, de 12 Hz, y en los E8, de 18 Hz, manteniendo

idénticas a E6 y E7 las demás condiciones (ver Tabla V.1).

Los experimentos E9 y E10 se realizaron con las mismas condiciones que los E6 y E7, excepto que la intensidad del CM AC era 20,9 μT rms en los E6 y E7 y 20,9 μT pico en los E9 y E10, siendo la relación entre ambas formas:

$$I_{\text{pico}} = I_{\text{rms}} \times 2^{1/2}.$$

Es decir, en los experimentos E9 y E10, la intensidad fue de 14,8 μT rms. La elección de una intensidad de 20,9 μT pico, en comparación con 20,9 μT rms, utilizada en los experimentos E4 a E8, se debió a la falta de un criterio unánime respecto a la elección de valores en pico o rms, según vemos en la literatura: Algunos investigadores han usado un valor rms y otros un valor en pico del CM AC. Por ejemplo, Persson et al. (1992), Saalman et al. (1992), Rochev et al. (1990) y Smith et al. (1987) han usado valores en pico. Yost y Liburdy (1992), Lerchl et al. (1991), Liboff et al. (1987), Liboff (1992), y Sandblom et al. (1989) usaron valores rms. Otros no han especificado el valor usado: Reese et al. (1991) y Markov et al. (1993), y, al menos un trabajo (Ross, 1990) fue realizado utilizando valores pico a pico. Según Blackman et al. (1994), ésa podría ser una de las causas de la falta de replicación entre laboratorios.

2.1.3.- Descripción del Equipo Empleado.

Consistía de tres pares de bobinas de Helmholtz: Un par de bobinas, conectadas en serie, con su eje magnético coincidiendo con el eje Z (Fig. V.1) controlaba el componente vertical (B_z) del CM DC. Este par de bobinas tenían un diámetro de 36 cm y consistían en 50 espiras de hilo de cobre aislado, de 0,30 mm de diámetro. Los otros dos pares de bobinas, con su eje magnético paralelo al componente H del

campo geomagnético (orientación Sur-Norte), y conectadas en serie, controlaban, una, el componente horizontal (Bh) del CM DC y la otra, el CM AC. Cada bobina tenía un diámetro de 34 cm y constaba de 200 espiras de hilo de cobre aislado de 0,30 mm de diámetro.

Para que la resultante del CM DC (Bo) fuera la deseada, Bz era anulado y Bh era ajustado al valor deseado, según la ecuación de la resultante:

$$F = (H^2 + Z^2)^{1/2} \quad (7)$$

La Fig. V.1 muestra el estante, que soportaba los 10 huevos en el interior del juego de bobinas, con su eje perpendicular al eje del CM DC.

La desviación máxima del componente vertical entre los diferentes sitios era del 1,1 %. Para el componente radial, la dispersión era del 2 %.

La desviación máxima del componente horizontal aplicado, entre los diferentes sitios del estante, era de 1,2 %. Para el componente radial, la dispersión era de 1,5 %.

El valor calibrado del campo magnético producido por las bobinas en el centro de su eje era $1,07 \times 10^3 \mu\text{T/A} \pm 2 \%$ para el CM DC horizontal y $1,05 \times 10^3 \mu\text{T/A} \pm 2 \%$ para el CM AC. El calibrado se realizó con una bobina detectora "LDJ SC 100, serie 119,2 cm²", un integrador "Walker Magnometrics, MI-3A", un multímetro digital "Keithley 197" y un osciloscopio digital "Nicolet 3091".

El CM DC era generado por un estimulador "Hewlett Packard 6205 C", y el CM AC sinusoidal, por un estimulador "Newtronics, 200 SPC".

Las amplitudes de los campos, calibradas inmediatamente antes y después de cada experimento, se medían con un multímetro "Beckman Industrial HD 110", y la monitorización de las ondas se hacía con un osciloscopio "Tektronix 561 A".

2.1.4.- Descripción de los Embriones.

La descripción de los embriones se realizó como indicamos en el Capítulo I.

3. RESULTADOS

3.1.- CONDICIONES DE RESONANCIA PARA CALCIO: CM AC= 25 μ T rms; CM DC= 25 μ T; F= 19 Hz; Raza: White Leghorn; Extremo agudo del huevo dirigido hacia el Norte geomagnético. E1.

Se realizaron 24 experimentos, con un total de 237 embriones expuestos y 233 embriones controles.

En la muestra expuesta, 54 embriones presentaban algún tipo de anomalía (22,8 %), y 35 en la control (15,0 % ; $p=0,032^*$; E/S= 1,5) (Tabla V.3).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambas poblaciones fue similar: $11,7 \pm 0,9$ (N= 183) entre los embriones expuestos y $11,8 \pm 1,0$ (N= 198) entre los controles. La población de embriones con anomalías alcanzó una media de desarrollo de $10,7 \pm 1,8$ (N= 47) entre los expuestos, y de $10,5 \pm 1,8$ (N= 28) entre los controles.

Realizando un análisis del grado de anomalías, según se explicó en el Capítulo I, se obtuvieron los siguientes resultados: El porcentaje de embriones anormales, con una o varias anomalías leves, alcanzó en la muestra expuesta el 15,6 % (37 embriones) y en la control, el 9,0 % (21 embriones; $p=0,030^*$; E/C= 1,7). En cuanto a los embriones malformados, con una o varias anomalías importantes, el porcentaje sobre la muestra total en el grupo expuesto fue de 5,1 % (12 embriones) y de un 3,0 % (7 embriones) en el grupo control, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa. El porcentaje de embriones no desarrollados fue similar en ambos grupos: 2,1 % en expuestos (5 embriones) y 3,0 % en controles (7 embriones) (Tabla V.4).

Se observó un aumento de anomalías para todos los sistemas, excepto para corazón y vascularización, siendo la

diferencia significativa en el caso de anomalías de somitos (11,4 % vs. 3,4 %; $p= 0,001^{**}$) (Tabla V.5 y Fig. V.2).

3.2.- CONDICIONES ALEJADAS DE RESONANCIA: CM AC= 18 μ T rms; CM DC= 25 μ T; F= 19 Hz; Raza: White Leghorn; Extremo agudo del huevo dirigido hacia el Norte geomagnético. E2.

Se realizaron 9 experimentos, con un total de 89 embriones expuestos y 88 embriones controles.

En la muestra expuesta, 13 embriones presentaban algún tipo de anomalía (14,6 %). En la muestra control se encontraron 11 embriones no normales (12,5%; $p= 0,827$; $E/C= 1,16$) (Tabla V.6).

El grado de desarrollo fue similar para ambos grupos normales: $12,0 \pm 0,8$ para 76 embriones expuestos y $11,8 \pm 0,9$ para 77 embriones controles. También lo fue para los embriones no normales: $11,0 \pm 2,1$ para 12 expuestos y $11,0 \pm 2,1$ para 8 embriones controles.

Los análisis del grado y de los tipos de anomalías no mostraron diferencias entre ambos grupos (Tablas V.7 y V.8).

3.3.- CONDICIONES DE RESONANCIA PARA CALCIO: CM AC=25 μ T rms; CM DC= 25 μ T; F= 19 Hz; Raza: White Rocks; Extremo agudo del huevo dirigido hacia el Norte geomagnético. E3.

Se realizaron 10 experimentos, con un total de 97 embriones expuestos y 98 embriones controles.

Tanto en la muestra expuesta como en la controles, el número de embriones con algún tipo de anomalía fue de 16 (16,5 % y 16,3 %, respectivamente) (Tabla V.9).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambas muestras fue similar: $12,3 \pm 0,9$ (N= 81)

entre los embriones expuestos y $12,0 \pm 1,0$ (N= 82) entre los controles. La población de embriones con anomalías alcanzó una media de desarrollo de $11,8 \pm 1,6$ (N= 15) entre los expuestos, y de $11,7 \pm 1,1$ (N= 9) entre los controles.

Los análisis del grado y de los tipos de anomalías no mostraron diferencias entre ambos grupos (Tablas V.10 y V.11).

3.4.-CONDICIONES ALEJADAS DE RESONANCIA: CM AC= 20,9 μ T rms; CM DC= 20,9 μ T; F= 10 Hz; Raza: White Rocks; Extremo agudo del huevo hacia el Norte o el Oeste geomagnético. E4.

Se realizaron 5 experimentos con un total de 49 embriones expuestos y 37 embriones controles.

El porcentaje de embriones con algún tipo de anomalía fue de 8,2 % (4 embriones) en la muestra expuesta y de 21,6 % (8 embriones) en la control, no siendo esta diferencia significativa, aunque no podemos pasar por alto la pequeña proporción de embriones no normales en el grupo expuesto (ver Tabla V.12).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambas poblaciones fue similar: $11,9 \pm 1,1$ (N= 45) entre los embriones expuestos y $12,0 \pm 1,2$ (N= 29) entre los controles. Los embriones no normales expuestos alcanzaron una media de desarrollo de $9,6 \pm 3,7$ (N= 4) y los controles, $11,7 \pm 1,1$ (N= 5). La alta desviación y el pequeño tamaño de la muestra no permiten sacar conclusiones respecto a esta diferencia.

El estudio de embriones anormales, malformados o no desarrollados no mostró diferencias entre expuestos y controles. El análisis del tipo de anomalías tampoco mostró diferencias significativas entre expuestos y controles, aunque

se observa una notable disminución, no significativa ($p=0,160$), de las anomalías para el sistema nervioso cefálico (SNC) en el grupo expuesto (Tablas V.13 y V.14).

El estudio de la población según la orientación del huevo nos muestra una disminución de anomalías en ambos grupos expuestos, siendo significativa la reducción de embriones con anomalías leves en la población incubada con el extremo agudo del huevo hacia el oeste ($E/C \leq 0,2$; $p=0,027^*$), sin diferencias en la proporción de embriones con anomalías severas o no desarrollados ($p=1,000$, en ambos) (Tablas V.15 a V.18).

3.5.- CONDICIONES ALEJADAS DE RESONANCIA: CM AC= 20,9 μ T rms; CM DC= 20,9 μ T; F= 12 Hz; Raza: White Rocks; Extremo agudo del huevo hacia el Norte o el Oeste geomagnético. E5.

Se realizaron 6 experimentos, con un total de 58 embriones expuestos y 45 embriones controles.

En la muestra expuesta 16 embriones presentaban algún tipo de anomalía (27,6 %) frente a 11 controles (24,4 %; NS) (Tabla V.19).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambas muestras fue similar: $12,1 \pm 1,0$ (N= 42) entre los expuestos y $12,0 \pm 1,3$ (N= 34) entre los controles. La población de embriones con anomalías alcanzó una media de desarrollo de $11,2 \pm 1,3$ (N= 12) entre los expuestos y de $11,4 \pm 1,2$ (N= 8) entre los controles.

El estudio de embriones anormales, malformados, o no desarrollados no mostró diferencias entre expuestos y controles (Tabla V.20). Los análisis del grado y de los tipos de anomalías no mostraron diferencias significativas entre

ambos grupos, aunque se observó un aumento de anomalías para el SNT, somitos, corazón y vascularización en el grupo de los embriones expuestos (Tabla V.21).

No se hallaron diferencias entre el grupo de embriones expuesto y el control, cuando los huevos fueron expuestos y/o incubados hacia el norte (Tablas V.22 y V.23), ni cuando lo fueron hacia el oeste (Tablas V.24 y V.25).

3.6.- CONDICIONES DE RESONANCIA PARA SODIO: CM AC= 20,9 μ T rms; CM DC= 20,9 μ T; F= 14 Hz; Raza: White Rocks; Extremo agudo del huevo hacia el Norte o el Oeste geomagnéticos. E6.

Se realizaron 12 experimentos con un total de 106 embriones expuestos y 115 controles.

El porcentaje de embriones con algún tipo de anomalía fue de 25,5 % (27 embriones) en la muestra expuesta y 9,6 % (11 embriones) en la control, ($p= 0,002^{**}$; E/C= 2,7) (Tabla V.26).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambas poblaciones fue similar: $12,6 \pm 0,8$ (79 expuestos) y $12,5 \pm 1,0$ (104 embriones controles) pero no lo fue el grado de desarrollo de los embriones no normales: $12,4 \pm 0,7$ (17 embriones expuestos) y $11,6 \pm 1,5$ (8 embriones controles) aunque la desviación media en el caso de los controles es lo suficientemente alta (1,5) como para no permitirnos concluir que el grado de desarrollo de los embriones no normales fue diferente entre los dos grupos.

El estudio de embriones anormales, malformados y no desarrollados no mostró diferencias estadísticamente significativas, aunque en el caso de embriones malformados, la diferencia está al borde de la significatividad ($p= 0,051$) (Tabla V.27). El análisis del tipo de anomalías mostró un aumento de todos los tipos, excepto para el grado de desarrollo del embrión, siendo la diferencia estadísticamente

significativa para las anomalías del sistema nervioso truncal ($p= 0,017^*$) y para las del corazón ($p= 0,024^*$) (Tabla V.28).

El estudio de la población según la orientación del huevo mostró un efecto relativo de la exposición similar para ambas orientaciones ($E/C= 2,7$ en ambos casos) aunque en el caso de la orientación de los huevos hacia el oeste la diferencia entre el grupo expuesto y el control fue significativa ($p= 0,012^*$ vs. $p= 0,086$) (Tablas V.29 a V.32).

3.7.- CONDICIONES DE RESONANCIA PARA CALCIO: CM AC= 20,9 μ T rms; CM DC= 20,9 μ T; F= 16 Hz; Raza: White Rocks; Extremoagudo del huevo hacia el Norte o el Oeste geomagnéticos. E7.

Se realizaron 11 experimentos, con un total de 97 embriones expuestos y 108 embriones controles.

No se encontraron diferencias en el porcentaje de anomalías entre ambos grupos (12,4 % vs. 12,0%) (Tabla V.33).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambas muestras fue similar: $12,8 \pm 0,9$ ($N= 85$) entre los embriones expuestos y $12,6 \pm 1,0$ ($N= 95$) entre los controles. El grupo de embriones con anomalías alcanzó una media de desarrollo de $12,1 \pm 1,1$ ($N= 11$) entre los expuestos, y de $11,8 \pm 1,6$ ($N= 7$) entre los controles.

No se encontraron diferencias significativas para los porcentajes de anormales, malformados o no desarrollados entre ambos grupos. Tampoco se encontraron diferencias significativas para ninguna de las anomalías estudiadas, aunque las diferencias para el Sistema nervioso truncal (SNT) estuvieron cercanas a la significatividad ($p= 0,150$; $E/C= 2,5$). (Tablas V.34 y V.35).

El estudio de la población según la orientación del huevo hacia el Norte o el Oeste no reveló diferencias entre ambos grupos (Tablas V.36 a V.39).

3.8.- CONDICIONES ALEJADAS DE RESONANCIA: CM AC= 20,9 μ T rms; CM DC= 20,9 μ T; F= 18 Hz; Raza: White Rocks; Extremo agudo del huevo dirigido hacia el Norte o el Oeste geomagnéticos. E8.

Se realizaron 7 experimentos, con un total de 67 embriones expuestos y 65 embriones controles.

En la muestra expuesta, 6 embriones presentaban algún tipo de anomalía (9,0 %). En la muestra control se encontraron 8 embriones no normales (12,3 %) (Tabla V.40).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambos grupos fue similar: $12,6 \pm 1,0$ (61 embriones expuestos) y $12,6 \pm 0,8$ (56 embriones controles). Los embriones no normales de ambos grupos también alcanzaron el mismo grado de desarrollo: $12,1 \pm 1,1$ (11 embriones expuestos) y $11,8 \pm 1,6$ (7 embriones controles).

Los porcentajes de embriones anormales, malformados y no desarrollados no mostraron diferencias entre ambos grupos (Tabla V.41). Tampoco se observaron diferencias entre los dos grupos para el tipo de anomalías (Tabla V.42), ni según la orientación del huevo (Tablas V.43 a V.46).

3.9.- CONDICIONES DE RESONANCIA PARA SODIO: CM AC= 20,9 μ T pico; CM DC= 20,9 μ T; F= 14 Hz; Raza: White Rocks; Extremo agudo del huevo dirigido hacia el Norte o el Oeste geomagnéticos. E9.

Se realizaron 13 experimentos, con un total de 121 embriones expuestos y 122 embriones controles.

Se halló un aumento significativo en la proporción de embriones con anomalías en la muestra expuesta: En ésta, 26 embriones presentaban algún tipo de anomalía (21,5 %). En la control se encontraron 14 embriones no normales (11,5 %) ($p=0,035^*$; E/C= 1,9) (Tabla V.47).

El estadio medio de los embriones normales de ambos

grupos fue similar: $12,8 \pm 1,1$ (95 embriones expuestos) y $12,9 \pm 1,2$ (108 embriones controles). Los embriones no normales expuestos alcanzaron mayor grado de desarrollo ($12,0 \pm 2,1$; N=16) que los controles no normales ($11,5 \pm 2,3$; N=6), aunque el pequeño número de embriones y la alta desviación no permiten sacar conclusiones en este aspecto.

El porcentaje de embriones anormales fue, en el grupo expuesto, de 9,1 % (11 embriones) y en los controles, de 4,9 % (6 embriones; E/C= 1,9; NS). En cuanto a los embriones malformados, el porcentaje fue netamente superior en la población expuesta: 5,8 % vs. 0 (p= 0,007**; E/C \geq 7,3). El porcentaje de embriones no desarrollados fue similar en ambos grupos: 6,6 % en expuestos (8 embriones) y 6,6 % en controles (8 embriones) (Tabla V.48).

Se observó un aumento de todas las anomalías consideradas (leves + severas) en el grupo expuesto, siendo esta diferencia significativa para el sistema nervioso central: 6,6 % vs. 0,0 (p= 0,003**; E/C \geq 8,3) y para el SNT: 10,7 % vs. 3,3 % (p= 0,025*; E/C= 3,2). El incremento de anomalías para somitos fue importante en el grupo expuesto, aunque no de forma significativa (p= 0,066; E/C= 6,3) (Tabla V.49).

El estudio de la población según la orientación del huevo hacia el oeste mostró un aumento significativo en el grupo expuesto respecto a los controles en la proporción de embriones malformados (E/C \geq 5,5; p= 0,022*). No se encontraron diferencias entre los embriones controles y expuestos cuyos huevos habían estado orientados al norte durante la exposición y/o incubación (Tablas V.50 a V.53).

3.10.- CONDICIONES DE RESONANCIA PARA CALCIO: CM AC= 20,9 μ T pico; CM DC= 20,9 μ T; F= 16 Hz; Raza: White Rocks; Extremo agudo del huevo dirigido hacia el Norte o el Oeste geomagnéticos. E10.

Se realizaron 13 experimentos, con un total de 123 embriones expuestos y 122 embriones controles.

En la muestra expuesta 26 embriones presentaban algún tipo de anomalía (21,0 %). En la control se encontraron 14 embriones no normales (11,5 %) ($p= 0,041^*$; E/C= 1,8) (Tabla V.54).

El grado de desarrollo al que llegaron los embriones normales de ambos grupos fue similar: $12,8 \pm 1,0$ (97 embriones expuestos) y $12,9 \pm 1,2$ (108 embriones controles). Los embriones no normales expuestos alcanzaron mayor grado de desarrollo ($12,3 \pm 1,2$; N= 19) que los controles no normales ($11,5 \pm 2,3$; N= 6), aunque el pequeño número de embriones y la alta desviación no permiten sacar conclusiones en este aspecto.

El porcentaje de embriones anormales fue, en el grupo expuesto, de 11,4 % (14 embriones) y en la control, de 4,9 % (6 embriones; E/C= 2,3; NS). En cuanto a los embriones malformados, el porcentaje fue de 4,1 % (5 embriones) en la muestra expuesta, y ninguno en la control (E/C \geq 5,1; $p= 0,060$; NS). El porcentaje de embriones no desarrollados fue similar en ambos grupos: 5,7 % en expuestos (7 embriones) y 6,6 % en controles (8 embriones) (Tabla V.55).

Se observó un aumento de todas las anomalías estudiadas (leves + severas) en el grupo expuesto, siendo esta diferencia significativa para el sistema nervioso central: 4,9 % vs. 0,0 ($p= 0,029^*$; E/C \geq 6,1) y para el sistema nervioso truncal:

11,4 % vs. 3,3 % ($p= 0,025^*$; $E/C= 3,5$). (Tabla V.56).

El estudio de la población según la orientación del huevo hacia el Norte o el Oeste no mostró diferencias entre ambos grupos (Tablas V.57 a V.60).

3.11.- TABLA RESUMEN DE RESULTADOS

| | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 | E9 | E10 |
|------------------------------------|--------|-----|--------|------|------|-------|--------|------|-------|--------|
| Raza (1) | WL | WL | WR | WR | WR | WR | WR | WR | WR | WR |
| Orientación del huevo (2) | N | N | N | N+O | N+O | N+O | N+O | N+O | N+O | N+O |
| Frecuencia CM AC (Hz) | 19 | 19 | 19 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 14 | 16 |
| Intensidad CM AC (μT) | 25 | 18 | 25 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 |
| rms-pico (3) | rms | rms | rms | rms | rms | rms | rms | rms | pico | pico |
| Intensidad CM DC (μT) | 25 | 25 | 25 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 | 20,9 |
| Ion en resonancia | Calcio | - | Calcio | - | - | Sodio | Calcio | - | Sodio | Calcio |
| Resultados (4) | | | | | | | | | | |
| no N | * | - | - | - | - | ** | - | - | * | * |
| A | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| globales M | - | - | - | - | - | - | - | - | ** | - |
| ND | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| SNC | - | - | - | - | - | - | - | - | ** | * |
| SNT | - | - | - | - | - | * | - | - | * | * |
| órganos Stos | ** | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Corz. | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - |
| SNT+Stos | ** | - | - | - | * | * | * | - | * | * |

Tabla V.2: Características de las diferentes exposiciones y resultados globales y por órganos.

(1). WL: White Leghorn; WR: White Rocks.

(2). N: Norte; O: Oeste.

(3). Se refiere a intensidad del CM AC. I_{pico}: I_{rms} x 2^{1/2}

(4). no N: Embriones no normales (Anormales + Malformados + No desarrollados).

A: Embriones Anormales; M: Embriones Malformados; ND: Embriones No Desarrollados.

SNC: Sistema Nervioso Cefálico; SNT: Sistema Nervioso Troncal; Stos: Somitos; Corz: Corazón

*: p ≤ 0,005; **: p ≤ 0,001.

4.- DISCUSION.

Los resultados, muestran lo siguiente:

1- Existe especificidad de efectos para diferentes razas: Veíamos que con los mismos parámetros de campos, ajustados a condiciones de resonancia (CR) para el ion calcio (experimentos E1 y E3; Tablas V.2, V.3 y V.9), pero con diferentes razas de embriones, los resultados no fueron los mismos: en E1, la raza White leghorn ha resultado sensible a la exposición, aumentando la proporción de embriones con anomalías, mientras que los embriones de la raza White rocks no han mostrado alteraciones en su desarrollo.

Este resultado tiene una implicación importante, en cuanto a la comprensión de los mecanismos subyacentes a la acción de los campos, ya que un modelo físico que predice la respuesta de un sistema biológico puede no funcionar para otro. Algunos autores, intentando replicar trabajos publicados en los que los CEMs generaban una respuesta biológica, no han hallado ningún efecto, debiéndose probablemente al diferente material biológico empleado. Así, Berman et al. (1990) obtuvieron un resultado conjunto de 6 laboratorios independientes, en el que el desarrollo del embrión de pollo de la raza White leghorn se veía afectado; Koch y Koch (1991) no hallaron ninguna respuesta biológica exponiendo embriones de pollo de otra variedad a los mismos parámetros de CEM.

Parkinson et al. (1992) y Prasad et al. (1994) intentaron replicar los experimentos de Smith et al. (1987) sobre el aumento de movilidad de Diatomeas expuestas a una combinación de CM AC y CM DC bajo condiciones de resonancia de ciclotrón para el ion calcio, no observándose dicho aumento en los experimentos de Parkinson et al. y Prasad et al. Las razas de diatomeas empleadas por estos autores eran distintas de la utilizada en el trabajo original de Smith et al.

2.- Existe un gradiente de efectos dependiendo de la frecuencia empleada, manteniendo iguales las otras variables: En los experimentos E4 a E8, realizados con un CM AC de 20,9 μ T, CM DC de 20,9 μ T y embriones White rocks, la frecuencia empleada no fue la misma, siendo de 10 Hz en E4, 12 Hz en E5, 14 Hz en E6 (RC para sodio), 16 Hz en E7 (RC para calcio) y 18 Hz en E8. Solamente en E6 se observa un aumento significativo de la proporción de embriones con anomalías entre los expuestos. Sin embargo, realizando un análisis más profundo, observamos que las anomalías para el sistema nervioso truncal (Fig. V.3 A) han aumentado en los experimentos E5 (12 Hz), E6 (14 Hz) (significativamente), y E7 (16 Hz) (Tablas V.21, V.28 y V.35), así como las anomalías para somitos, en estos tres tipos de experimentos (Fig. V.3 B). Dada la interrelación organogenética entre estos dos sistemas (Kenny-Mobbs y Thorogood, 1987) se ha hecho un análisis conjunto de ambos (Fig. V.3 C), observándose que la respuesta biológica no se limita a los experimentos con frecuencia de 14 Hz, sino que también se observa a 12 y 16 Hz.

Como se ha comentado en capítulos anteriores (capítulos II y III) los efectos de los CEMs no pueden ser descritos a "grosso modo", cuando se trata de sistemas in vivo, dada la enorme complejidad de éstos. El estudio basado solamente en la proporción de embriones con anomalías, sin analizar el grado de severidad y número de éstas por embrión, órganos afectados, y grado de desarrollo, debe ser considerado incompleto, y puede generar resultados aparentemente contradictorios.

Se observa un pico de efectividad máxima a 14 Hz (RC para sodio), y no a 16 Hz (RC para calcio), en contra de lo que se podría esperar si el ion calcio hubiese sido el blanco de acción, ya que el ion calcio juega un papel fundamental en los procesos de desarrollo. Los resultados obtenidos en cuanto a los órganos más afectados (somitos y SNT) sugieren que se ha producido algún tipo de desregulación en procesos en los que

este ion está implicado, ya que interviene de forma importante en la organogénesis del SNT y de los somitos (Duband et al., 1988). Por lo tanto, no podemos concluir que sean los iones sodio y calcio, o únicamente éstos, los responsables de las anomalías morfogénicas observadas en nuestros embriones. Además, estos dos iones juegan un papel fundamental en la inducción neural y la diferenciación (Spitzer, 1979; Stern y Mackenzie, 1983; Barth y Barth, 1969), por lo tanto, esperaríamos, si ambos iones estuvieran implicados, un aumento de casos de embriones no desarrollados, como ocurrió en los experimentos con un CEM pulsado de 30 Hz y 1 μ T (véase Capítulo IV de esta memoria)

3.- La efectividad del tratamiento depende de un estrecho margen de intensidad del CM AC: En E1 queríamos probar las condiciones de resonancia para el ion calcio (CM DC= 25 μ T; f= 19 Hz; CM AC= 25 μ T) según la fórmula (6). Se obtuvo un aumento significativo en la proporción de embriones con anomalías. En E2 las condiciones fueron las mismas, excepto que el CM AC era de 18 μ T, sin observarse ningún efecto. Por lo tanto, siendo las demás condiciones iguales, una diferencia de 7 μ T es suficiente para provocar o no una respuesta biológica.

En los experimentos E9 y E10 (CM DC = 20,9 μ T, CM AC= 20,9 μ T pico, f= 14 Hz y 16 Hz, respectivamente) las condiciones son las mismas que en los E6 Y E7, excepto que la intensidad del CM AC en los E9 y E10 viene dada en valores de pico. Es decir en estos dos casos la intensidad en valores rms, sería: $20,9 / 2^{1/2} = 14,8 \mu\text{T rms}$, según la fórmula:

$$I_{\text{rms}} = I_{\text{pico}} / 2^{1/2}$$

Se observa una respuesta similar en los experimentos E9 y E10 que en los experimentos E6, donde la exposición resultó más efectiva para valores rms. Al no haber probado más intensidades pico, a otras frecuencias cercanas a 14 Hz y 16 Hz, no podemos concluir que el efecto se limite a esos dos

valores de frecuencia.

En los primeros experimentos de Liboff dirigidos a probar la teoría de RC (Liboff, 85), en la respuesta del sistema no se observó dependencia de la intensidad del CM AC, y sí de la frecuencia del CM AC, de la intensidad del CM DC y de la relación iónica q/m. El papel del CM AC sería transferir energía al sistema. Sin embargo, en los experimentos de Thomas et al. (1986), el efecto en los cambios de la conducta en ratas expuestas a RC para el ion litio dependía de la intensidad del CM AC, manteniendo constantes las otras variables, observándose un umbral a 27 μT rms a partir del cual se apreciaba un efecto. En 1987, Liboff y col. hallaron que la incorporación de Ca^{45} en linfocitos es fuertemente dependiente de la intensidad del CM AC, (como hemos comentado en el Capítulo II) con un pico a 20,9 μT manteniendo constantes las otras variables de RC para Ca^{45} .

La intensidad efectiva podría no ser dependiente exclusivamente de parámetros físicos, y ser también función de variables biológicas, de forma que la intensidad requerida para que una interacción, mediante exposición a CEMs ELF, desencadene una respuesta detectable fisiológicamente puede variar de acuerdo con factores intrínsecos, tales como constantes enzimáticas o transferencia de cargas fuera de equilibrio, o bien que diferentes tipos de resonancia pueden requerir diferentes intensidades de CM AC.

Según la teoría de la resonancia paramétrica de Lednev (1991), ampliada por Blanchard y Blackman (1994), la magnitud de la reacción para un sistema biológico debe depender, a un determinado CM DC y una determinada frecuencia, del valor de la máxima amplitud del CM AC.

Por lo tanto, reconociendo el valor de las hipótesis de Liboff, en cuanto a la necesidad de combinaciones específicas de CM DC y frecuencia de CM AC para producir una respuesta biológica, sin embargo, esta respuesta no obedece

estrictamente a la fórmula (6), al menos en nuestro sistema biológico. Según nuestros experimentos, la frecuencia empleada es un parámetro decisivo, lo que apoya una hipótesis de resonancia iónica, pero la respuesta observada no obedece, o al menos, no del todo, a una alteración del metabolismo del calcio, ya que en estos estadios embrionarios tan tempranos, la respuesta sería mucho más drástica, probablemente una parada del desarrollo en los primeros estadios.

T A B L A S Y F I G U R A S

CONDICION EXPERIMENTAL E1

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>% no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|---------------|------------|------------|----------|
| 25 | 25 | 19 | WL | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 35/233 | 54/237 | 15,0 | 22,8 | 1,5 | 0,032* |

Tabla V.3. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E1. Valores de los CMs AC y DC en μ T, frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Leghorn (WL) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 21 | 9,0 | 37 | 15,6 | 1,7 | 0,030* |
| M | 7 | 3,0 | 12 | 5,1 | 1,7 | 0,350 |
| ND | 7 | 3,0 | 5 | 2,1 | 0,7 | 0,573 |

Tabla V.4. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E1.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (233)</u> | | <u>Exp (237)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-------------------|---------------|------------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 16 | 6,9 | 24 | 10,1 | 1,5 | 0,205 |
| SNT | 17 | 7,3 | 27 | 11,4 | 1,6 | 0,127 |
| STOS | 8 | 3,4 | 27 | 11,4 | 3,4 | 0,001** |
| CORZ | 1 | 0,4 | 3 | 1,3 | 1,1 | 0,623 |
| VASC | 3 | 1,3 | - | - | \leq 0,3 | 0,121 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 3 | 1,3 | 7 | 3,0 | 2,3 | 0,339 |

Tabla V.5. Efecto sobre los cinco sistemas organogénicos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES(4⁺-9⁻)), en la condición experimental E1.

CONDICION EXPERIMENTAL E2

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 18 | 25 | 19 | WL | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 11/88 | 13/89 | 12,5 | 14,6 | 1,2 | 0,827 |

Tabla V.6. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E2. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Leghorn (WL) o White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) u oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 5 | 5,7 | 8 | 9,0 | 1,6 | 0,566 |
| M | 3 | 3,4 | 4 | 4,5 | 1,3 | 1,000 |
| ND | 3 | 3,4 | 1 | 1,1 | 0,3 | 0,368 |

Tabla V.7. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E2.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (88)</u> | | <u>Exp (89)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------|---------------|-----------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 3 | 3,4 | 6 | 6,7 | 2,0 | 0,496 |
| SNT | 5 | 5,7 | 7 | 7,9 | 1,4 | 0,766 |
| STOS | 3 | 3,4 | 4 | 4,5 | 1,3 | 1,000 |
| CORZ | 1 | 1,4 | 1 | 1,1 | 1,0 | 1,000 |
| VASC | 2 | 2,3 | 2 | 2,2 | 1,0 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 1 | 1,4 | 1 | 1,1 | 1,0 | 1,000 |

Tabla V.8. Efecto sobre los cinco sistemas organogenéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES (4⁺-9⁻), en la condición experimental E2.

CONDICION EXPERIMENTAL E3

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 25 | 25 | 19 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 16/98 | 16/97 | 16,3 | 16,5 | 1,0 | 1,000 |

Tabla V.9. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E3. Valores de los CMs AC y DC en μ T, frecuencia (F) en herzios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>no</u> | <u>%</u> | <u>no</u> | <u>%</u> | | |
| A | 8 | 8,2 | 11 | 11,3 | 1,4 | 0,480 |
| M | 2 | 2,0 | 4 | 4,1 | 2,0 | 0,445 |
| ND | 6 | 6,1 | 1 | 1,0 | 0,2 | 0,118 |

Tabla V.10. Efectos sobre el número (no) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E3.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (98)</u> | | <u>Exp (97)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|------------------|---------------|-----------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 7 | 7,1 | 12 | 12,4 | 1,7 | 0,238 |
| SNT | 6 | 6,1 | 6 | 6,2 | 1,0 | 1,000 |
| STOS | 5 | 5,1 | 8 | 8,2 | 1,6 | 0,406 |
| CORZ | 5 | 5,1 | 4 | 4,1 | 0,8 | 1,000 |
| VASC | 5 | 5,1 | 4 | 4,1 | 0,8 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 1 | 1,0 | 2 | 2,1 | 2,1 | 0,621 |

Tabla V.11. Efecto sobre los cinco sistemas organogenéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES(4⁺-9⁻)), en la condición experimental E3.

| |
|---------------------------|
| CONDICION EXPERIMENTAL E4 |
|---------------------------|

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 10 | WR | N+O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 8/37 | 4/49 | 21,6 | 8,2 | 0,4 | 0,115 |

Tabla V. 12. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E4. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) y Deste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 4 | 10,8 | 2 | 4,1 | 0,4 | 0,395 |
| M | 3 | 8,1 | 2 | 4,1 | 0,5 | 0,648 |
| ND | 1 | 2,7 | - | - | $\leq 1,0$ | 0,430 |

Tabla V. 13. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E4.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (37)</u> | | <u>Exp (49)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------------------------------|------------------|---------------|-----------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 4 | 10,8 | 1 | 2,0 | 0,2 | 0,160 |
| SNT | 4 | 10,8 | 2 | 4,1 | 0,4 | 0,395 |
| STOS | 2 | 5,4 | - | - | $\leq 0,4$ | 0,182 |
| CORZ | 1 | 2,7 | - | - | $\leq 0,7$ | 0,430 |
| VASC | 1 | 2,7 | - | - | $\leq 0,7$ | 0,430 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻)- | - | - | 2 | 4,1 | $\geq 1,5$ | 0,504 |

Tabla V. 14. Efecto sobre los cinco sistemas organogenéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES(4⁺-9⁻)), en la condición experimental E4.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL NORTE (E4).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 10 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | 0,6 | 0,680 |
| | | | | | 4/19 | 3/25 | 21,0 | 12,0 | | |

Tabla V. 15. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E4. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | - | - | 2 | 8,0 | $\geq 1,5$ | 0,498 |
| M | 3 | 15,8 | 1 | 4,0 | 0,3 | 0,300 |
| ND | 1 | 5,3 | - | - | $\leq 0,8$ | 0,432 |

Tabla V. 16. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E4.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL OESTE (E4)

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 10 | WR | O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | 0,2 | 0,146 |
| | | | | | 4/18 | 1/24 | 22,2 | 4,2 | | |

Tabla V. 17. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E4. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 4 | 22,2 | - | - | $\leq 0,2$ | 0,027* |
| M | - | - | 1 | 4,2 | $\geq 0,8$ | 1,000 |
| ND | - | - | - | - | | 1,000 |

Tabla V. 18. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E4.

CONDICION EXPERIMENTAL E5

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 12 | WR | N+O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 11/45 | 16/58 | 24,4 | 27,6 | 1,1 | 0,823 |

Tabla V.19. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E5. Valores de los CMS AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) y Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 5 | 11,1 | 96 | 15,5 | 1,4 | 0,575 |
| M | 3 | 6,7 | 4 | 6,9 | 1,0 | 1,000 |
| ND | 3 | 6,7 | 3 | 5,2 | 0,8 | 1,000 |

Tabla V.20. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E5.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (45)</u> | | <u>Exp (58)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------------------------------|------------------|---------------|-----------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 4 | 8,9 | 5 | 8,6 | 1,0 | 1,000 |
| SNT | 4 | 8,9 | 10 | 17,2 | 1,9 | 0,259 |
| STOS | 1 | 2,2 | 7 | 12,1 | 5,5 | 0,134 |
| CORZ | - | - | 4 | 6,9 | $\geq 3,1$ | 0,130 |
| VASC | 1 | 2,2 | 2 | 3,4 | 1,6 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻)- | - | - | 1 | 1,7 | $\geq 0,8$ | 1,000 |

Tabla V.21. Efecto sobre los cinco sistemas organogénéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES(4⁺-9⁻), en la condición experimental E5.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL NORTE (E5).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 12 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 6/22 | 10/30 | 27,2 | 33,3 | 1,2 | 0,765 |

Tabla V.22. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E5. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 1 | 4,5 | 6 | 20,0 | 4,4 | 0,216 |
| M | 3 | 13,6 | 3 | 10,0 | 0,7 | 1,000 |
| ND | 2 | 9,1 | 1 | 3,3 | 0,4 | 0,567 |

Tabla V.23. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E5.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL OESTE (E5).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 12 | WR | O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 5/23 | 6/28 | 21,7 | 21,4 | 0,99 | 1,000 |

Tabla V.24. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E5. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 4 | 17,4 | 3 | 10,7 | 0,6 | 0,687 |
| M | - | - | 2 | 7,1 | $\geq 1,7$ | 0,495 |
| ND | 1 | 4,3 | 1 | 3,6 | 0,8 | 1,000 |

Tabla V.25. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E5.

CONDICION EXPERIMENTAL E6

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 14 | WR | N+O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | 2,7 | 0,002** |
| | | | | | 11/115 | 27/106 | 9,6 | 25,5 | | |

Tabla V.26. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E6. Valores de los CMS AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) y Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 6 | 5,2 | 11 | 10,4 | 2,0 | 0,150 |
| M | 2 | 1,7 | 8 | 7,5 | 4,4 | 0,051 |
| ND | 3 | 2,6 | 8 | 7,5 | 2,9 | 0,124 |

Tabla V.27. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E6.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (115)</u> | | <u>Exp (106)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------------------------------|-------------------|---------------|------------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 5 | 4,4 | 9 | 8,5 | 1,9 | 0,272 |
| SNT | 5 | 4,4 | 15 | 14,2 | 3,2 | 0,017* |
| STOS | 5 | 4,4 | 7 | 6,6 | 1,5 | 0,558 |
| CORZ | - | - | 5 | 4,7 | $\geq 5,2$ | 0,024* |
| VASC | - | - | 3 | 2,8 | $\geq 3,1$ | 0,109 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻)- | - | - | - | - | - | 1,000 |

Tabla V.28. Efecto sobre los cinco sistemas organogénicos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES(4⁺-9⁻), en la condición experimental E6.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL NORTE. (E6)

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 14 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 4/57 | 10/53 | 7,0 | 18,9 | 2,7 | 0,086 |

Tabla V.29. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E6. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 2 | 3,5 | 4 | 7,5 | 2,1 | 0,426 |
| M | 1 | 1,8 | 3 | 5,7 | 3,2 | 0,350 |
| ND | 1 | 1,8 | 3 | 5,7 | 3,2 | 0,350 |

Tabla V.30. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E6.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL OESTE (E6).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 14 | WR | O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 7/58 | 17/53 | 12,1 | 32,1 | 2,7 | 0,012* |

Tabla V.31. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E6. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Oeste (O); E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 4 | 6,9 | 7 | 13,2 | 1,9 | 0,346 |
| M | 1 | 1,7 | 5 | 9,4 | 5,4 | 0,102 |
| ND | 2 | 3,4 | 5 | 9,4 | 2,7 | 0,255 |

Tabla V.32. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E6.

CONDICION EXPERIMENTAL E7

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 16 | WR | N+O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 13/108 | 12/97 | 12,0 | 12,4 | 1,0 | 1,000 |

Tabla V.33. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E7. Valores de los CMs AC y DC en μ T, frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) y Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 5 | 4,6 | 9 | 9,3 | 2,0 | 0,268 |
| M | 3 | 2,8 | 2 | 2,1 | 0,8 | 1,000 |
| ND | 5 | 4,6 | 1 | 1,0 | 0,2 | 0,216 |

Tabla V.34. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E7.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (108)</u> | | <u>Exp (97)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-------------------|---------------|-----------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 5 | 4,6 | 2 | 2,1 | 0,5 | 0,450 |
| SNT | 4 | 3,7 | 9 | 9,3 | 2,5 | 0,150 |
| STOS | 2 | 1,9 | 5 | 5,6 | 2,9 | 0,259 |
| CORZ | 1 | 0,9 | 2 | 2,1 | 2,3 | 0,604 |
| VASC | 1 | 0,9 | - | - | \leq 1,1 | 1,000 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 1 | 0,9 | - | - | \leq 1,0 | 1,000 |

Tabla V.35. Efecto sobre los cinco sistemas organogenéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES (4⁺-9⁻), en la condición experimental E7.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL NORTE (E7).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 16 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 6/52 | 7/49 | 11,5 | 14,3 | 1,2 | 0,771 |

Tabla V.36. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E7. Valores de los CMS AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 2 | 3,8 | 5 | 10,2 | 2,7 | 0,260 |
| M | 1 | 1,9 | 1 | 2,0 | 1,1 | 1,000 |
| ND | 3 | 5,8 | 1 | 2,0 | 0,3 | 0,618 |

Tabla V.37. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E7.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL OESTE (E7).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 16 | WR | O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 7/56 | 5/48 | 12,5 | 10,4 | 0,8 | 0,770 |

Tabla V.38. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E7. Valores de los CMS AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 3 | 5,4 | 4 | 8,3 | 1,5 | 0,701 |
| M | 2 | 3,6 | 1 | 2,1 | 0,6 | 1,000 |
| ND | 2 | 3,6 | - | - | ≤ 0,6 | 0,498 |

Tabla V.39. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E7.

CONDICION EXPERIMENTAL E8

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 18 | WR | N+O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 8/65 | 6/67 | 12,3 | 2,3 | 0,7 | 0,582 |

Tabla V.40. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E8. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) y Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 3 | 4,6 | 3 | 4,5 | 1,0 | 1,000 |
| M | 3 | 4,6 | 1 | 1,5 | 0,3 | 0,362 |
| ND | 2 | 3,1 | 2 | 3,0 | 1,0 | 1,000 |

Tabla V.41. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E8.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (65)</u> | | <u>Exp (67)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------------------------------|------------------|---------------|-----------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | 4 | 6,2 | 1 | 1,5 | 0,2 | 0,205 |
| SNT | 3 | 4,6 | 3 | 4,5 | 1,0 | 1,000 |
| STOS | 3 | 4,6 | 2 | 3,0 | 0,7 | 0,678 |
| CORZ | 2 | 3,1 | 2 | 3,0 | 1,0 | 1,000 |
| VASC | 2 | 3,1 | - | - | $\leq 0,5$ | 0,241 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻)- | - | - | - | - | - | 1,000 |

Tabla V.42. Efecto sobre los cinco sistemas organogénéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES (4⁺-9⁻)), en la condición experimental E8.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL NORTE (E8).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 18 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | 0,8 | 1,000 |
| | | | | | 4/35 | 3/33 | 11,4 | 9,1 | | |

Tabla V.43. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E8. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 2 | 5,7 | 2 | 6,1 | 1,1 | 1,000 |
| M | - | - | 1 | 3,0 | $\geq 1,1$ | 1,000 |
| ND | 2 | 5,7 | - | - | $\leq 0,5$ | 0,493 |

Tabla V.44. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E8.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE (E8).

| <u>AC rms</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|---------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 18 | WR | O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | 0,7 | 0,697 |
| | | | | | 4/30 | 3/34 | 13,3 | 8,8 | | |

Tabla V.45. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E8. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 1 | 3,3 | 1 | 2,9 | 0,9 | 1,000 |
| M | 3 | 10,0 | - | - | $\leq 0,3$ | 0,097 |
| ND | - | - | 2 | 5,9 | $\geq 1,8$ | 0,494 |

Tabla V.46. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E8.

CONDICION EXPERIMENTAL E9

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC pico</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 14 | WR | N+O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 14/122 | 26/121 | 11,5 | 21,5 | 1,9 | 0,035* |

Tabla V.47. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E9. Valores de los CMs AC y DC en μ T, frecuencia (F) en herzios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) y Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 6 | 4,9 | 11 | 9,1 | 1,9 | 0,220 |
| M | - | - | 7 | 5,8 | $\geq 7,1$ | 0,007** |
| ND | 8 | 6,6 | 8 | 6,6 | 1,0 | 1,000 |

Tabla V.48. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E9.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (122)</u> | | <u>Exp (121)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-------------------|---------------|------------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | - | - | 8 | 6,6 | $\geq 8,3$ | 0,003** |
| SNT | 4 | 3,3 | 13 | 10,7 | 3,2 | 0,025* |
| STOS | 1 | 0,8 | 6 | 5,0 | 6,3 | 0,066 |
| CORZ | - | - | 3 | 2,5 | $\geq 3,1$ | 0,122 |
| VASC | - | - | 1 | 0,8 | $\geq 1,0$ | 0,498 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 1 | 0,8 | 1 | 0,8 | 1,0 | 1,000 |

Tabla V.49. Efecto sobre los cinco sistemas organogénéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES (4⁺-9⁻), en la condición experimental E9.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL NORTE (E9).

| <u>AC pico</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 14 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 5/57 | 10/62 | 8,8 | 16,1 | 1,8 | 0,276 |

Tabla V.50. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E9. Valores de los CMs AC y DC en μI , frecuencia (F) en herzios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 2 | 3,5 | 6 | 9,7 | 2,8 | 0,276 |
| M | - | - | 2 | 3,2 | $\geq 1,8$ | 0,497 |
| ND | 3 | 5,3 | 2 | 3,2 | 0,6 | 0,670 |

Tabla V.51. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E9.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL OESTE (E9).

| <u>AC pico</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 14 | WR | O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 9/65 | 16/59 | 13,8 | 27,1 | 2,0 | 0,076 |

Tabla V.52. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E9. Valores de los CMs AC y DC en μI , frecuencia (F) en herzios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 4 | 6,2 | 5 | 8,5 | 1,4 | 0,735 |
| M | - | - | 5 | 8,5 | $\geq 5,5$ | 0,022* |
| ND | 5 | 7,7 | 6 | 10,2 | 1,3 | 0,755 |

Tabla V.53. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E9.

CONDICION EXPERIMENTAL E10

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES

| <u>AC pico</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | 20,9 | 16 | WR | N+O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | 14/122 | 26/123 | 11,5 | 21,0 | 1,8 | 0,041* |

Tabla V.54. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E10. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en herzios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N) y Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 6 | 4,9 | 14 | 11,4 | 2,3 | 0,100 |
| M | - | - | 5 | 4,1 | $\geq 5,0$ | 0,060 |
| ND | 8 | 6,6 | 7 | 5,6 | 0,9 | 0,777 |

Tabla V.55. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E10.

ANALISIS DE ANOMALIAS POR ORGANOS

| | <u>Cont (122)</u> | | <u>Exp (123)</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|--------------------------------------|-------------------|---------------|------------------|--------------|------------|----------|
| | <u>no N</u> | <u>% no N</u> | <u>no N</u> | <u>%no N</u> | | |
| SNC | - | - | 6 | 4,9 | $\geq 6,1$ | 0,029* |
| SNT | 4 | 3,3 | 14 | 11,4 | 3,5 | 0,025* |
| STOS | 1 | 0,8 | 6 | 4,9 | 6,1 | 0,120 |
| CORZ | - | - | 4 | 3,3 | $\geq 4,1$ | 0,122 |
| VASC | - | - | 4 | 3,3 | $\geq 4,1$ | 0,122 |
| DES(4 ⁺ -9 ⁻) | 1 | 0,8 | 1 | 0,8 | 1,0 | 1,000 |

Tabla V.56. Efecto sobre los cinco sistemas organogénéticos estudiados: sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso truncal (SNT), somitos (STOS), corazón (CORZ), vascularización (VASC) y embriones entre estadio 4⁺ y 9⁻ (DES(4⁺-9⁻), en la condición experimental E10.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DEL HUEVO AL NORTE (E10).

| <u>AC</u> | <u>pico</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-----------|-------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | | 20,9 | 16 | WR | N | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | | 5/57 | 12/62 | 8,8 | 19,4 | 2,2 | 0,120 |

Tabla V.57. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E10. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Norte (N). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 2 | 3,5 | 6 | 9,7 | 2,8 | 0,276 |
| M | - | - | 3 | 4,8 | $\geq 2,7$ | 0,245 |
| ND | 3 | 5,3 | 3 | 4,8 | 0,9 | 1,000 |

Tabla V.58. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E10.

CONDICIONES DE EXPOSICION Y RESULTADOS GLOBALES. ORIENTACION DE LOS HUEVOS AL OESTE (E10).

| <u>AC</u> | <u>pico</u> | <u>DC</u> | <u>F</u> | <u>RAZA</u> | <u>OR</u> | <u>no N/Total</u> | | <u>%no N</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|-----------|-------------|-----------|----------|-------------|-----------|-------------------|------------|--------------|------------|------------|----------|
| 20,9 | | 20,9 | 16 | WR | O | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | <u>Cont</u> | <u>Exp</u> | | |
| | | | | | | 9/65 | 14/61 | 13,8 | 23,0 | 1,7 | 0,249 |

Tabla V.59. Efecto sobre el porcentaje de embriones no normales (no N) en la muestra control (cont) y en la muestra expuesta (exp) de la condición experimental E10. Valores de los CMs AC y DC en μT , frecuencia (F) en hercios, raza de los embriones: White Rocks (WR) y orientación del huevo mientras duró la exposición y/o incubación: Oeste (O). E/C es el efecto relativo: % de embriones no normales en la muestra tratada / % de embriones en la muestra control.

ANALISIS DE LOS EMBRIONES NO NORMALES

| | <u>Cont</u> | | <u>Exp</u> | | <u>E/C</u> | <u>P</u> |
|----|-------------|----------|------------|----------|------------|----------|
| | <u>nº</u> | <u>%</u> | <u>nº</u> | <u>%</u> | | |
| A | 4 | 6,2 | 8 | 13,1 | 2,1 | 0,231 |
| M | - | - | 2 | 3,3 | $\geq 2,1$ | 0,232 |
| ND | 5 | 7,7 | 4 | 6,6 | 0,9 | 1,000 |

Tabla V.60. Efectos sobre el número (nº) y porcentaje (%) de embriones anormales (A), malformados (M) y no desarrollados (ND) de la condición experimental E10.

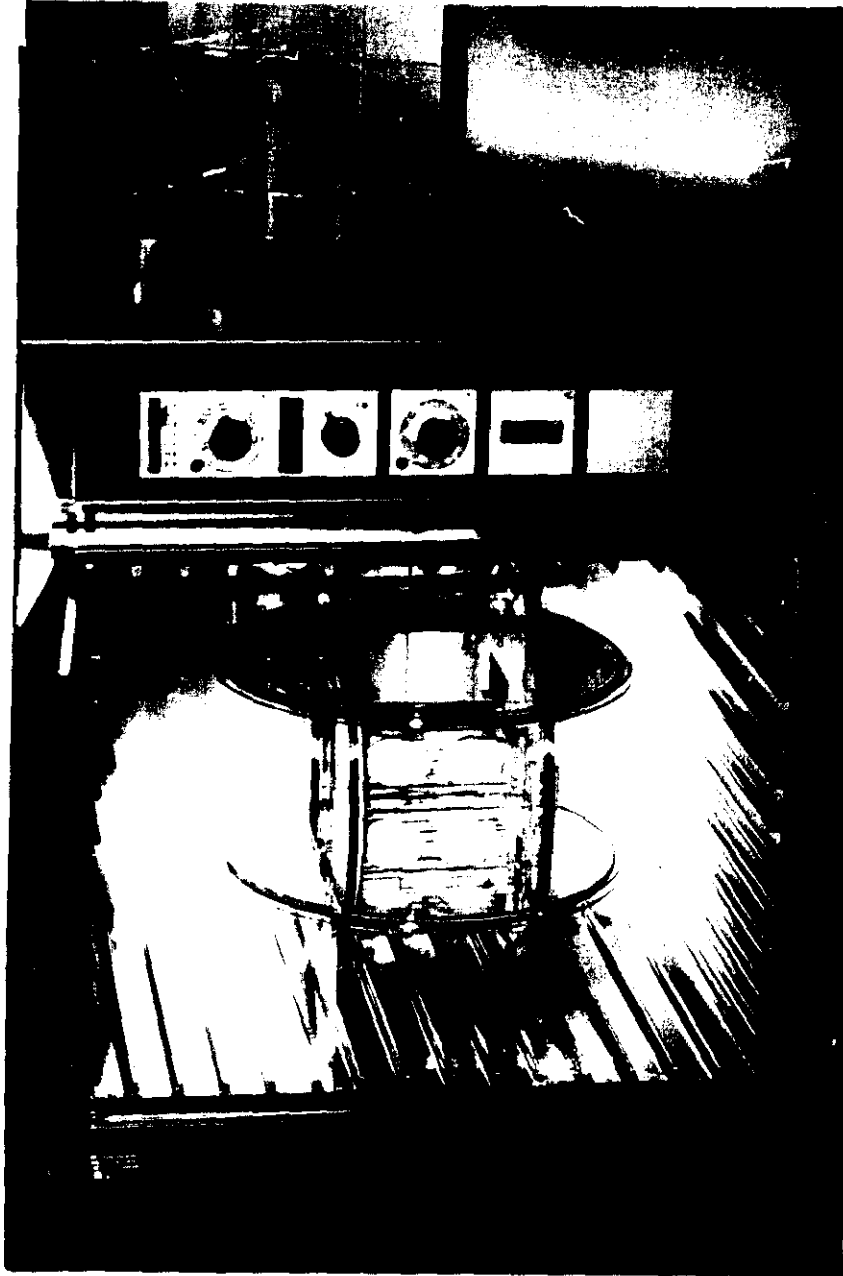
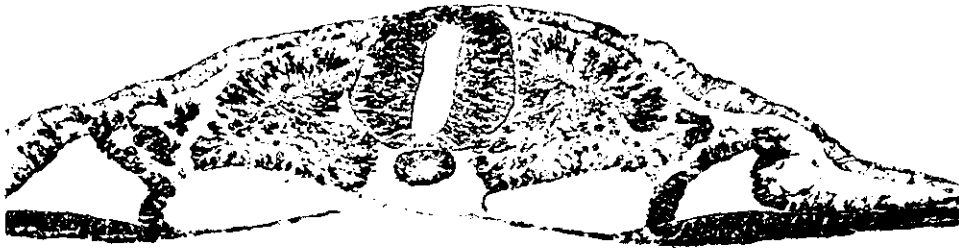


Fig. V. 1. Una de las tres incubadoras idénticas, utilizadas en los experimentos de resonancia de ciclotrón, albergando una bobina de Helmholtz y los 10 huevos en su soporte.

A



B

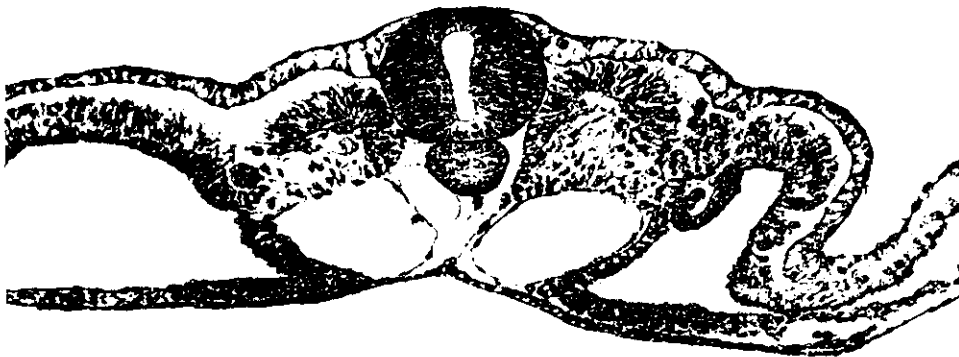
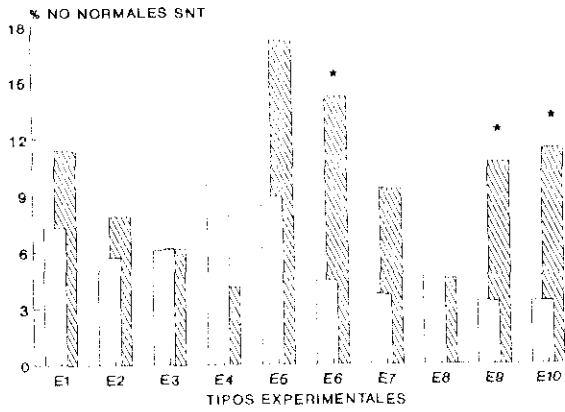
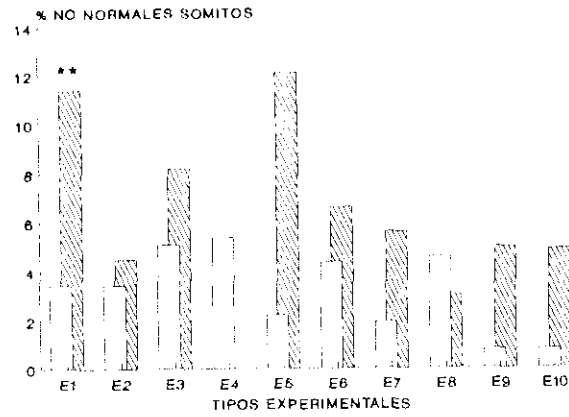


Fig. V.2 . A: Sección transversal a nivel del quinto par de somitos de un embrión normal en estadio 13. B: Sección transversal a nivel del tercer par de somitos de un embrión anormal en estadio 13 sometido a la condición experimental E1. Presenta paredes neurales engrosadas, retraso en la organización de somitos con grandes espacios intercelulares. (X 200)

A)



B)



C)

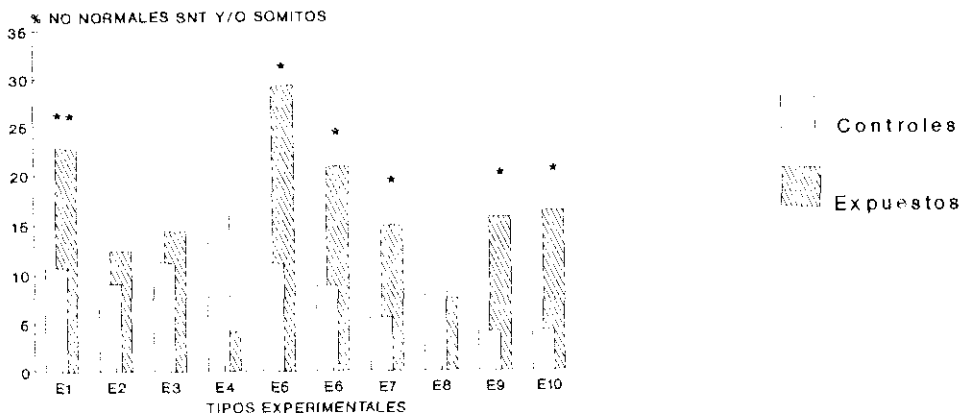


Fig. V.3. Proporción de embriones con anomalías del sistema nervioso truncal (A), somitos (B), y sistema nervioso truncal y/o somitos (C), para cada tipo experimental (E1-E10). (*): $p \leq 0,05$; (**): $p \leq 0,01$.

C A P I T U L O V I

Efectos de los CEMs sobre la Orientación Embrionaria e
Influencia de ésta en la Respuesta de los Organismos ante la
Exposición Electromagnética.

CAPITULO VI

Efectos de los CEMs sobre la orientación embrionaria e influencia de ésta en la respuesta de los organismos ante la exposición electromagnética.

| | |
|---|-----|
| 1.- Introducción. | 272 |
| 2.- Material y Métodos. | 273 |
| 3.- Resultados y Discusión. | 275 |
| 3.1.- Orientación cefalo-caudal de los embriones controles White leghorn, variedad Hisex, según la orientación del huevo. | 275 |
| 3.1.1.- Distribución de embriones normales y no normales. | 276 |
| 3.2.- Orientación cefalo-caudal de los embriones controles White rocks, según la orientación del huevo. | 277 |
| 3.2.1.- Distribución de embriones normales y no normales. | 278 |
| 3.3.- Orientación cefalo-caudal de los embriones Hisex expuestos a los CEMs, según la orientación del huevo. | 278 |
| 3.4.- Orientación cefalo-caudal de los embriones White rocks expuestos a los CEMs, según la orientación del huevo. | 282 |
| 3.5.- Posibles mecanismos por los que un CEM dado puede modificar la orientación embrionaria. | 284 |
| 4.- Conclusiones. | 286 |
| 5.- Cuadros Resumen. | 288 |
| 6.- Tablas y Figuras. | 291 |

1.- INTRODUCCION.

La posición en que se desarrollan los embriones de aves sobre el vitelo obedece a la regla de Von Baer (1928): "Al observar un huevo con su extremo romo situado a nuestra derecha, el eje cefalocaudal del embrión es perpendicular al eje extremo romo - extremo agudo, y su porción cefálica se encuentra dirigida hacia el observador".

La orientación del embrión parece estar determinada por la posición del huevo durante su desplazamiento a través del oviducto materno (Hamilton, 1952; Houillon, 1972), de forma que en una población embrionaria dada, la distribución de sus individuos entre las diferentes orientaciones depende de factores tales como, el tamaño y las dimensiones relativas del huevo (Rogulska y Komar, 1969) y de la variedad o raza de que se trate (Bartelmez, 1918; Olsen y Byerly, 1935).

La determinación del eje embrionario tiene lugar, en el pollo, entre las 8 y las 6 horas antes de la puesta; a partir de ese momento, la orientación del eje cefalocaudal se considera definitiva (Houillon, 1972).

Sin embargo, Rogulska (1968), en embriones de pato, Saali y Juutilainen (1988), y Ubeda et al. (1987 y 1989) en embriones de pollo han mostrado que la orientación del eje blastodermico puede ser alterada una vez que la puesta ha tenido lugar.

Este estudio ha pretendido responder a dos cuestiones acerca de la relación entre orientación de los embriones y su respuesta a CMs DC y/o AC.

- 1ª ¿Son capaces los campos de modificar la orientación original del embrión?

- 2ª ¿Son los embriones dirigidos hacia determinadas orientaciones particularmente sensibles a eventuales efectos teratógenos de los campos?.

2.- MATERIAL Y METODOS.

El estudio sobre la orientación embrionaria se realizó sobre dos variedades de huevos: White leghorn, de cáscara blanca, variedad ligera, es decir, destinada a la producción de huevos para consumo, y White rocks, de cáscara marrón, variedad pesada, destinada a la producción de carne.

Describiremos la orientación de los embriones en 14 tipos de experimentos, 6 sobre la variedad White leghorn y 8 sobre embriones de la variedad White rocks.

La metodología de exposición y/o incubación se describió en capítulos anteriores, ya que los ejemplares fueron los empleados para el estudio sobre teratogeneidad de los campos, con la excepción del campo de $1 \mu T$, 100 Hz, condición experimental tipo A (véase Capítulo II), que no se ha incluido en este estudio.

Sólo se tuvieron en cuenta los ejemplares cuyo blastodermo se localizaba en la porción central superior de la yema, es decir se descartaron los llamados "acéntricos". Tampoco se tuvieron en cuenta en este estudio aquellos individuos que fueron accidentalmente desplazados durante la manipulación del huevo, ni aquellos que no habían alcanzado el estadio 5 de Hamburger y Hamilton: los clasificados como "no desarrollados".

Hay que hacer notar que muchos embriones clasificados como no normales morfológicamente no han podido ser incluidos en este estudio, ya que su tipo de anomalía impedía establecer con exactitud la orientación de su eje cefalo-caudal, en unos casos por flexión excesiva del eje y en otros, porque su tipo de malformación no permitía la identificación del eje cefalo-caudal.

La metodología que se siguió para la clasificación de la orientación de estos embriones fue la siguiente:

Al final de las 48 horas de incubación, los huevos fueron

retirados de las estufas. Se recortó una porción de la cáscara, en la parte superior central del huevo, al nivel al que normalmente se encuentra el embrión, y sin conocer su estadio, morfología, o si eran tratados o controles, se registró su orientación.

A los embriones orientados estrictamente hacia los puntos geomagnéticos, Norte, Sur, Este u Oeste se les llamó N, S, E y O, respectivamente. El resto de las orientaciones fueron definidas como NE, NO, SE y SO, según el caso.

A las 8 posiciones en relación a los ejes del huevo se les llamó: POS 1... POS 8 (véase Fig VI.1).

Por ejemplo, en los huevos cuyo extremo agudo estaba dirigido al este, los embriones orientados al norte estarían en posición 1 (Fig. VI.1).

Estimamos que nuestras determinaciones de la orientación de los embriones pueden estar sujetas a error, debido a inexactitudes de apreciación por parte del observador, ya que la orientación embrionaria era determinada "de visu".

El método estadístico utilizado fue el test de comparación de porcentajes (Snedecor et al., 1967)

3.- RESULTADOS Y DISCUSION.

Los datos de cada uno de los grupos de experimentos pueden verse en las Tablas VI.1 a VI.23

3.1.- Orientación cefalo-caudal de los embriones controles White leghorn, variedad Hisex, según la orientación del huevo.

Se cumple la regla de Von Baer para ambos grupos: huevos con su extremo agudo dirigido al norte o al oeste. El 94,4 % de los embriones desarrollados en huevos con su extremo agudo hacia el oeste y el 93,5 % de los embriones desarrollados en huevos con su extremo agudo hacia el norte se encontraban dirigidos hacia el observador, cuando posicionábamos el huevo con su extremo romo a nuestra derecha. Es decir, se encontraban en las posiciones 1, 2 u 8.

Se observa en ambos grupos una mayor proporción de embriones en la posición 2, SO o NO, (52,2 % y 50,7 %, respectivamente) en comparación con el resto de orientaciones

En las posiciones 1 y 8, sin embargo, hay diferencias entre uno y otro grupo. En el caso de los embriones desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al norte, encontramos igual proporción de embriones en las posiciones 1 (O) y 8 (SO) (21,9 % y 20,9 %, respectivamente). Sin embargo, en los embriones desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al oeste hay una clara tendencia a presentarse en la posición 8 (SE) (27,9 %), respecto a la posición 1 (S) (14,3 %). Las diferentes proporciones de embriones, tanto en la posición 1 como en la 8, entre el grupo de embriones desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al norte y los desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al oeste son estadísticamente significativas ($p=0,009$ y $p=0,034$, respectivamente) (Tabla VI.1).

Las causas más probables de este diferente comportamiento pueden ser dos:

1 - La diferencia es debida al lapso de tiempo transcurrido entre la realización de ambos grupos de experimentos: hemos observado que la orientación puede variar ligeramente de unos experimentos a otros. (véase grupos de controles en Tablas VI.3 a VI.23). Por esta razón, siempre compararemos grupos de embriones expuestos con controles incubados al mismo tiempo.

2 - Los embriones tienden a orientarse con respecto al CGM:

a) Perpendiculares al eje Norte-Sur: los embriones desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al norte, tienden a orientarse hacia el oeste (POS. 1) a costa del suroeste (POS. 8). Esta hipótesis estaría de acuerdo con los resultados de Saali y col. (1988) que observaron que sus embriones tendían a orientarse "casi" perpendiculares a un CM DC impuesto.

b) Los embriones tienden a alejarse de la orientación paralela al CGM: los embriones desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al oeste se "alejan" de la posición 1 (sur) y se orientan preferentemente al SE (POS-8).

Sin embargo, esta hipótesis no explica por qué las orientaciones que son preferentes para Hisex no lo son para White rocks. En estas condiciones, no podemos determinar si las diferencias observadas son debidas o no a mecanismos de interacción entre el CGM y el embrión.

3.1.1.- Distribución de embriones controles normales y no normales.

Las diferencias en la orientación entre embriones controles normales y no normales no son, en ningún caso,

estadísticamente significativas, sin embargo, se observa en ambos grupos una mayor proporción de embriones no normales en la posición 2 (SO y NO, $p = 0,223$ y $p = 0,364$, respectivamente).

Estaríamos ante un fenómeno fisiológico intrínseco del desarrollo del embrión, en virtud del cual, una determinada posición del embrión respecto a los ejes del huevo produciría una mayor incidencia de anomalías. Discutiremos este punto más adelante.

3.2.- Orientación Cefalo-Caudal de los embriones controles de la variedad White rocks según la orientación del huevo.

La distribución de las orientaciones, sobre el total de embriones, en White rocks difiere de la de los embriones Hisex: No hay una orientación marcadamente preferencial entre las tres mayoritarias (POS-1, POS-2 y POS-8).

El 27,5 % de los embriones desarrollados en huevos con su extremo agudo dirigido al oeste y el 28,1 % de los embriones desarrollados en huevos con su extremo agudo dirigido al norte se encontraron orientados en posiciones distintas a las que predice la regla de Von Baer. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por otros autores: Según Rogulska y Komar (1969) los huevos elongados tienen más probabilidad que los redondos de contener embriones orientados perpendicularmente a su eje mayor. Ubeda (1989) encontró mayor proporción de embriones orientados perpendiculares o casi perpendiculares al eje mayor del huevo entre los embriones de la variedad White leghorn que entre los de la variedad Brown leghorn (más redondeados).

Al igual que los embriones Hisex, los White rocks se encuentran preferentemente en la posición 8 cuando ésta corresponde al SE más que cuando corresponde al SO (28,8 % vs. 20,9 %; $p = 0,071$). Sin embargo, no es en la posición 1, como sucedía con los embriones Hisex, sino en la 2, donde volvemos a encontrar diferencias. El 30,2 % de los embriones

desarrollados en huevos orientados al norte se encontraban en la posición 2 (NO), respecto a un 22,5 % de los embriones desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al oeste (SO) ($p=0,090$).

Si observamos un esquema de las orientaciones mayoritarias de los embriones White rocks (NO y SE) vemos que ocupan la misma posición relativa respecto al eje geomagnético. Por lo tanto, el campo geomagnético podría estar interviniendo de alguna manera, en la orientación de los embriones.

3.2.1.- Distribución de embriones normales y no normales.

No observamos una preferencia clara en cuanto a la distribución de normales y no normales. Por lo tanto, al menos, en esta variedad de embriones, al contrario que lo que parecía suceder con los Hisex, no parecen existir mecanismos intrínsecos por las que la probabilidad de encontrar un embrión normal en una posición, sea mayor que la de encontrar un embrión no normal.

Hemos señalado anteriormente la diferente morfología de estos huevos respecto de los Hisex, así como las diferencias entre las distribuciones de los embriones: Los embriones White rocks se distribuyen de forma más homogénea que los Hisex entre las diferentes orientaciones y así parece suceder también respecto a la distribución de normales y no normales.

3.3.- Orientación cefalo-caudal de los embriones Hisex expuestos a los CEMs, según la orientación del huevo.

Para obviar artefactos, debidos a las variaciones que pueda haber entre distintas muestras en cuanto a la orientación, se comparará siempre cada grupo de embriones sometido a un tratamiento con su grupo control.

Se pueden observar características comunes y diferencias entre los cuatro grupos de embriones sometidos a los cuatro diferentes tratamientos con CEMs.

En primer lugar, no hay diferencias en las orientaciones de los embriones tratados y sus respectivos controles, excepto en dos casos: 1º) Embriones expuestos a la menor intensidad del CEM producido por una bobina estimulada para generar un CEM pulsado bipolar de 1 μ T, 100 Hz, condición experimental C (Tabla VI.4) y 2º) Embriones expuestos al campo sinusoidal de 18 μ T, 19 Hz, en combinación con un campo constante de 25 μ T (Tabla VI.8). En estos casos, en los que no observamos efectos teratógenos, la distribución de la población expuesta es diferente que la de su grupo control: en cuanto a los embriones expuestos al campo pulsado se observa, en la posición 2 (SO) una disminución de la población ($p=0,037$) que va acompañada de un aumento significativo de embriones en el conjunto de las posiciones 3+4+5+6+7 ($p=0,041$) y un ligero aumento, no significativo estadísticamente, en las posiciones 1 (S) y 8 (SE), respecto a su grupo control.

En la distribución de embriones expuestos a la combinación de campos AC de 18 μ T y DC de 25 μ T, se observa un aumento de embriones en el conjunto de las posiciones 3+4+5 respecto a su grupo control ($p=0,034$) y una disminución, no significativa estadísticamente, en la posición 1 (O) ($p=0,153$).

No conocemos el significado biológico de estos resultados, que coinciden con los descritos por Ubeda (1989): En sus estudios sobre embriones Hisex, la distribución de embriones expuestos difería de la de los controles cuando el CEM al que se hallaban sometidos no producía efectos teratógenos. La distribución de las orientaciones no variaba cuando el CEM empleado producía efectos teratógenos sobre los embriones.

Por otra parte, observamos diferencias en cuanto a la distribución de embriones no normales respecto a los normales en los grupos de embriones expuestos a campos con efecto teratógeno: En los campos de 30 Hz (Tabla VI.5) y 100 Hz bipolar (condición experimental B) (Tabla VI.3), comparando la distribución de la población normal con la no normal, hay mayor proporción de embriones no normales en la posición 2 (SO), sobre el total de no normales, que de normales sobre el total de normales en esa misma posición, aunque la diferencia no es significativa ($p=0,132$ y $p=0,170$, respectivamente). Entre los embriones expuestos al campo de 100 Hz, unipolar (Tabla VI.6) se observa mayor porcentaje de embriones no normales sobre el total de no normales que de normales sobre el total de normales en la posición 3 (oeste) ($p= 0,016$). En estos tres casos, la orientación con menor proporción de embriones no normales respecto al número de embriones normales es la 8 (SE).

En los experimentos con campos sinusoidales en combinación con campo magnético DC y extremo agudo del huevo dirigido hacia el norte, observamos la misma tendencia. En la exposición al CM AC de 25 μT (Tabla VI.7), así como en la de 18 μT (Tabla VI.8), la orientación en que la proporción de embriones no normales sobre el total de no normales supera a la de normales sobre el total de normales, es la 2 (NO) ($p=0,298$ y $p= 0,004$, respectivamente) y la orientación con menor proporción de no normales sobre el total de no normales es la 8 (SO) ($p= 0,019$ y $p= 0,030$, respectivamente).

Dado que parece existir la misma tendencia hacia el aumento de embriones no normales en la posición 2, hemos combinado todos los datos de embriones Hisex expuestos y comparado la distribución de la población no normal con la de la población normal. Se observa que la proporción de embriones

no normales en la posición 2, sobre el total de no normales, excede significativamente a la proporción de embriones normales en esa misma posición, sobre el total de normales (65/107 vs. 268/577; $p= 0,007$). En la población, suma de todos los embriones controles, se observa la misma tendencia, pero no tan acentuada, (56/98 vs. 305/606; $p= 0,232$).

Pudiera ser que los campos electromagnéticos actuaran sobre embriones situados en posiciones con mayor probabilidad de resultar con anomalías, visto que, también en los controles, la posición 2 era la que presentaba mayor proporción de embriones no normales sobre el total de no normales, respecto a los normales en esa posición, sobre el total de normales.

En cuanto a la posición 8, el comportamiento de los embriones controles desarrollados en huevos con el extremo agudo al oeste difería de el de los desarrollados en huevos con el extremo agudo al norte. Por el contrario, el comportamiento de los embriones expuestos era similar en los dos grupos. Es decir, en la posición 8 encontramos menor proporción de embriones no normales respecto al total de no normales que de normales en esa posición respecto al total de normales, en todos los grupos de embriones expuestos, excepto en el de los embriones expuestos al campo no teratógeno de $1 \mu\text{T}$, 100 Hz, para sus valores mínimos (condición experimental C).

Sumando todos los embriones expuestos a cualquiera de los campos, la proporción de embriones normales en la posición 8 sobre el total de normales excede significativamente a la proporción de embriones no normales en esa posición sobre el total de no normales (27,4 % vs. 13,1 %; $p= 0,002$). En controles no existe tal diferencia (25,4 % vs. 21,4 %; $p= 0,451$).

Hay que considerar que la posición de los embriones

respecto a las líneas de campo electromagnético, es la misma para cualquier grupo de embriones expuestos. En efecto, o bien el campo AC tiene dirección este-oeste y el extremo agudo del huevo está dirigido hacia el oeste o, en la situación alternativa, el campo AC tiene dirección sur-norte y el extremo agudo del huevo está dirigido hacia el norte. Por lo tanto, la posición relativa del embrión respecto al campo AC es la misma. Esto mismo no es aplicable respecto al campo magnético DC, ya que en ambos casos el campo DC tiene dirección sur-norte. Por lo tanto, si estos grupos se comportan de forma similar y su posición es la misma respecto al campo AC pero no lo es respecto al DC, podría ser la posición relativa de los embriones respecto a las líneas de campo AC la que determinaría, entre otras variables, la magnitud del efecto teratógeno para la población.

3.4.- Orientación cefalo-caudal de los embriones White rocks expuestos a los CEMs, según la orientación del huevo.

Observamos menor variabilidad entre los grupos de embriones expuestos en huevos con el extremo agudo dirigido hacia el oeste, que entre los desarrollados en huevos con el extremo agudo dirigido al norte.

En cada una de las muestras de embriones desarrollados en huevos con el extremo agudo al oeste, observamos que el grupo expuesto contiene una mayor proporción de embriones en la posición 2 (SO) que su correspondiente grupo control (Tablas VI.11, VI.13, VI.15, VI.17, VI.19, VI.21 y VI.23). Este aumento en la posición 2 se hace a costa de una disminución en la posición 1 (S) en los cinco grupos de experimentos con una intensidad de 20,9 μT rms, y de una disminución estadísticamente significativa en la posición 8 (SE) en los dos grupos de experimentos con una intensidad de 20,9 μT pico.

Cuando se analizan muestras expuestas a distintos campos,

estas diferencias sólo son estadísticamente significativas en el caso de los embriones expuestos al campo teratógeno de 20,9 μT rms y 14 Hz de frecuencia y a los campos de 14 Hz y 16 Hz con una amplitud de 20,9 μT pico. Hay que tener en cuenta que tales datos corresponden a experimentos con un mayor tamaño muestral, lo que permite alcanzar antes los niveles de significatividad estadística.

Habíamos observado que los embriones expuestos no normales de la variedad Hisex se encontraban, mayoritariamente, en la posición 2. En los experimentos con embriones White rocks es difícil hacer un estudio de la distribución de embriones normales y no normales, por el bajo número de ejemplares cuya orientación pudo ser establecida.

Sin embargo, es en la posición 2 (SO) donde encontramos mayor proporción de embriones expuestos; Proporción que está relacionada con el efecto teratógeno del campo según nos muestra la Figura VI.2. En ella observamos una relación lineal entre el efecto teratógeno relativo del campo (porcentaje de embriones no normales en el grupo expuesto / porcentaje de embriones no normales en el grupo control), y la proporción de embriones en la posición 2 (porcentaje de embriones expuestos en la posición 2 / porcentaje de embriones controles en la posición 2).

En otras palabras, cuanto mayor es el porcentaje de embriones que se encuentran orientados hacia el SO (POS. 2), mayor es la probabilidad de que el campo produzca anomalías.

Los embriones no normales expuestos no siempre se encuentran mayoritariamente en la posición 2. Según nuestros datos, este supuesto desplazamiento de los embriones expuestos hacia la posición 2 no implica necesariamente un aumento de embriones no normales en esa posición, pero sí, un efecto teratógeno del campo. Se podría hablar de un doble efecto del campo: incremento de anomalías y cambios en la orientación.

Los embriones expuestos, desarrollados en huevos orientados al norte (Tablas VI.9, VI.10, VI.12, VI.14, VI.16, VI.18, VI.20 y VI.22) se comportan de una manera menos homogénea. Hay diferencias de comportamiento entre los grupos.

Solamente en el caso del campo de 20,9 μT rms y 12 Hz hay un cambio significativo en la orientación de embriones expuestos: en la posición 2 (NO) se encontró un 48,1 % de los embriones expuestos frente a un 10,5 % de los controles ($p=0,010$) (Tabla VI.12).

3.5.- Posibles mecanismos por los que un CEM dado puede modificar la orientación embrionaria.

Diferentes tipos celulares son capaces de mostrar fenómenos de galvanotropismo, in vitro, en respuesta a campos eléctricos constantes (Nuccitelli, 1988) o alternos (Iglesias, 1985). Por otra parte, se han detectado densidades de corriente de 100 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ fluyendo de la línea primitiva del embrión de pollo (Jaffe y Stern, 1979). Estas corrientes podrían guiar el desarrollo y dirección de algunos tipos celulares embrionarios in vivo (Nuccitelli, 1983), quizás a través de cambios en el citoesqueleto (Kaz Soong, 1990).

Se ha hipotetizado que estos campos eléctricos podrían constituir un método de comunicación intercelular a larga distancia (Robinson, 1985).

Por lo tanto, cualquier perturbación en estas corrientes intracelulares podría dar lugar a modificaciones en la orientación de los embriones, así como a alteraciones morfológicas. No conocemos la causa por la que en embriones Hisex se producen modificaciones en la orientación cuando no han existido alteraciones morfológicas, y viceversa. ¿Podría, una modificación en la orientación embrionaria impedir la respuesta del sistema a los efectos teratógenos de los CEMs?,

o bien, ¿son mecanismos diferentes mediados por parámetros de CEM diferentes, los que condicionan el tipo de respuesta?.

Los resultados con embriones White rocks no nos permiten sacar conclusiones sobre este particular, dado que la respuesta respecto a la modificación en la orientación es bastante heterogénea y el comportamiento de esta variedad de embriones difiere del observado en la variedad Hisex.

A pesar de las dificultades en la interpretación de los datos obtenidos en este estudio, consideramos que la identificación de las variables que intervienen en un cambio de la orientación embrionaria por exposición a CEMs puede aportar perspectivas de interés tanto en el ámbito de los mecanismos de actuación de los CEMs como en los de el desarrollo embrionario.

4. CONCLUSIONES.

En condiciones control,

1.- Embriones de diferentes variedades presentan diferencias en la forma en que se distribuyen en las distintas orientaciones.

2.- El CGM parece influir en la orientación de los embriones controles Hisex. Estos adoptan preferentemente una orientación quasi-perpendicular al CGM.

3.- En los embriones Hisex controles se observa una tendencia, no significativa, de los no normales a encontrarse orientados en la POS. 2, tanto cuando ésta corresponde al SO como cuando corresponde al NO.

En condiciones de exposición a CEMs,

1.- Se encuentran diferencias en las distribuciones de tratados y controles para cada uno de los grupos de embriones Hisex expuestos a los CEMs que no se revelaron teratógenos. Por el contrario, en los grupos de embriones expuestos a CEMs con efectividad teratógena, no se observan diferencias en la distribución de las poblaciones respecto a sus grupos controles.

2.- Se observa un aumento significativo del total de embriones no normales Hisex expuestos en la posición 2 (tanto cuando corresponde a SO, como a NO) sobre el total de no normales, y una disminución significativa en la posición 8 (tanto cuando corresponde a SE como a SO).

Hipotéticamente los orientados hacia la POS. 2 serían los organismos más débiles, ya que en los controles existe la misma tendencia, aunque de manera no significativa. Por lo tanto, los CEMs actuarían, preferentemente, sobre los embriones más débiles. Como hipótesis alternativa, la posición relativa de los embriones respecto a las líneas de campo AC podría ser la que determinara la magnitud del efecto teratógeno para la población.

3.- En el conjunto de todos los datos, existe una relación lineal directa entre la proporción de embriones White rocks expuestos (normales + no normales) orientados hacia la POS 2 (cuando ésta corresponde al SO), respecto a los grupos controles, y efecto teratógeno de los campos.

C U A D R O S R E S U M E N

ORIENTACION EMBRIONARIA EN AUSENCIA DE CAMPOS: RESUMEN

EMBRIONES HISEX

Distribución no homogénea entre las diferentes orientaciones: La orientación preferente es la 2, independientemente de la orientación de los huevos durante la incubación.

Podría existir una ligera tendencia a la orientación quasi-perpendicular al CGM (o bien al alejamiento de la orientación paralela respecto al CGM).

EMBRIONES WHITE ROCKS

Distribución homogénea entre las tres preferentes: 1, 2 y 8, independientemente de la orientación de los huevos durante la incubación.

DISTRIBUCION DE EMBRIONES NORMALES Y NO NORMALES

No existe una posición donde la relación "porcentaje de no normales respecto al total de no normales/porcentaje de normales respecto al total de normales" sea diferente a la unidad, de forma significativa, aunque existe una tendencia a un aumento de esta relación en la posición 2.

No existe una posición donde la relación "porcentaje de no normales respecto al total de no normales/porcentaje de normales respecto al total de normales" sea diferente a la unidad, de forma significativa.

INTERACCION CEMs-ORIENTACION EMBRIONARIA: RESUMEN

EMBRIONES HISEX

EMBRIONES WHITE ROCKS

CAMBIOS EN LA ORIENTACION

En los embriones expuestos a cualquier CEM con efecto teratógeno no se observan diferencias en la distribución de embriones entre las diferentes orientaciones.

En los embriones expuestos a CEMs sin efectividad teratógena se observan diferencias en la distribución de embriones entre las diferentes orientaciones.

No se observó relación entre efectividad teratógena y cambios en la orientación.

DISTRIBUCION DE EMBRIONES NORMALES Y NO NORMALES

Se observa un aumento del conjunto de embriones no normales expuestos en la posición 2, y una disminución de éstos en la posición 8, independientemente de la orientación de los huevos durante la exposición.

Existe una relación lineal directa entre la proporción de anomalías inducidas y la proporción de embriones orientados hacia la posición 2 (cuando ésta corresponde al SO).

T A B L A S Y F I G U R A S

VARIEDAD HISEX

SUMA DE TODOS LOS CONTROLES

A) ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

| <u>POS.</u> | <u>N (348)</u> | | | <u>No N (64)</u> | | <u>N+No N (412)</u> | | |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(p)</u> |
| 1 (S) | (49) | 14,1 | 0,846 | (10) | 15,6 | (59) | 14,3 | 0,009** |
| 2 (SO) | (177) | 50,9 | 0,223 | (38) | 59,4 | (215) | 52,2 | 0,695 |
| 8 (SE) | (102) | 29,3 | 0,172 | (13) | 20,3 | (115) | 27,9 | 0,034* |
| Otras | (20) | 5,7 | 0,785 | (3) | 4,7 | (23) | 5,6 | 0,610 |

B) ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

| <u>POS.</u> | <u>N (258)</u> | | | <u>No N (34)</u> | | <u>N+No N (292)</u> | |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (61) | 23,6 | 0,075 | (3) | 8,8 | (64) | 21,9 |
| 2 (NO) | (128) | 49,6 | 0,364 | (20) | 58,8 | (148) | 50,7 |
| 8 (SO) | (52) | 20,2 | 0,500 | (9) | 26,5 | (61) | 20,9 |
| Otras | (17) | 6,6 | 1,000 | (2) | 5,9 | (19) | 6,5 |

Tabla VI. 1. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE-ROCKS

SUMA DE TODOS LOS CONTROLES

A) ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

| <u>POS.</u> | <u>N (144)</u> | | | <u>No N (16)</u> | | <u>N+No N (160)</u> | | |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(p)</u> |
| 1 (S) | (31) | 21,5 | 1,000 | (3) | 18,8 | (34) | 21,3 | 0,924 |
| 2 (SO) | (33) | 22,9 | 0,769 | (3) | 18,8 | (36) | 22,5 | 0,090 |
| 8 (SE) | (41) | 28,5 | 1,000 | (5) | 31,3 | (46) | 28,8 | 0,071 |
| Otras | (39) | 27,1 | 0,770 | (5) | 31,3 | (44) | 27,5 | 0,899 |

B) ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

| <u>POS.</u> | <u>N (220)</u> | | | <u>No N (15)</u> | | <u>N+No N (235)</u> | |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (45) | 20,5 | 0,743 | (4) | 26,7 | (49) | 20,9 |
| 2 (NO) | (66) | 30,0 | 1,000 | (5) | 33,3 | (71) | 30,2 |
| 8 (SO) | (46) | 20,9 | 1,000 | (3) | 20,0 | (49) | 20,9 |
| Otras | (63) | 28,6 | 0,567 | (3) | 20,0 | (66) | 28,1 |

Tabla VI.2. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD HISEX

EXPOSICION A UN CEM PULSADO BIPOLAR DE 1 μ T rms, 100 Hz. VALORES DE INTENSIDAD DE CM AC MAXIMOS (HUEVOS SITUADOS EN LAS POSICIONES CENTRALES DE LA BOBINA).

Dirección del CM AC: Este-Oeste

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no normales: 10/95 vs. 24/94; $p = 0,008$.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (82)</u> | | | <u>No N (8)</u> | | <u>N+No N (90)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (10) | 12,2 | 1,000 | (1) | 12,5 | (11) | 12,2 |
| 2 (SO) | (37) | 45,1 | 1,000 | (4) | 50,0 | (41) | 45,6 |
| 8 (SE) | (28) | 34,1 | 1,000 | (3) | 37,5 | (31) | 34,4 |
| Otras | (7) | 8,5 | 0,625 | - | | (7) | 7,8 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (63)</u> | | | <u>No N (17)</u> | | <u>N+No N (80)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (12) | 19,0 | 0,722 | (2) | 11,8 | (14) | 17,5 | 0,389 |
| 2 (SO) | (27) | 42,9 | 0,170 | (11) | 64,7 | (38) | 47,5 | 0,878 |
| 8 (SE) | (20) | 31,7 | 0,569 | (4) | 23,5 | (24) | 30,0 | 0,623 |
| Otras | (4) | 6,3 | 0,573 | - | | (4) | 5,0 | 0,543 |

Tabla VI.3. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD HISEX

EXPOSICION A UN CEM PULSADO BIPOLAR DE 1 μ T rms, 100 Hz. VALORES DE INTENSIDAD DE CM AC MINIMOS (HUEVOS SITUADOS EN LAS ESQUINAS DE LA BOBINA).

Dirección del CM AC: Este-Oeste.
Efecto teratógeno: No se observó.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (77)</u> | | | <u>No N (21)</u> | | <u>N+No N (98)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (16) | 20,8 | 1,000 | (4) | 19,0 | (20) | 20,4 |
| 2 (SO) | (43) | 55,8 | 1,000 | (12) | 57,1 | (55) | 56,1 |
| 8 (SE) | (14) | 18,2 | 1,000 | (4) | 19,0 | (18) | 18,4 |
| Otras | (4) | 5,2 | 1,000 | (1) | 4,8 | (5) | 5,1 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (73)</u> | | | <u>No N (10)</u> | | <u>N+No N (83)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (20) | 27,4 | 1,000 | (3) | 30,0 | (23) | 27,7 | 0,294 |
| 2 (SO) | (30) | 41,1 | 0,733 | (3) | 30,0 | (33) | 39,8 | 0,037* |
| 8 (SE) | (14) | 19,2 | 0,679 | (3) | 30,0 | (17) | 20,5 | 0,850 |
| Otras | (9) | 12,3 | 1,000 | (1) | 10,0 | (10) | 12,0 | 0,109 |

Tabla VI.4. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD HISEX

EXPOSICION A UN CEM PULSADO BIPOLAR DE 1 μ T rms, 30 Hz.

Dirección del CM AC: Este-Oeste

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no desarrollados:
12/175 vs. 28/175; $p = 0,007$

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (115)</u> | | | <u>No N (23)</u> | | <u>N+No N (138)</u> | |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (16) | 13,9 | 1,000 | (3) | 13,0 | (19) | 13,8 |
| 2 (SO) | (61) | 53,0 | 0,822 | (13) | 56,5 | (74) | 53,6 |
| 8 (SE) | (33) | 28,7 | 0,614 | (5) | 21,7 | (38) | 27,5 |
| Otras | (5) | 4,3 | 0,601 | (2) | 8,7 | (7) | 5,1 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (111)</u> | | | <u>No N (18)</u> | | <u>N+No N (129)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (18) | 16,2 | 0,737 | (2) | 11,1 | (20) | 15,5 | 0,688 |
| 2 (SO) | (58) | 52,3 | 0,132 | (13) | 72,2 | (71) | 55,0 | 0,817 |
| 8 (SE) | (32) | 28,8 | 0,395 | (3) | 16,7 | (35) | 27,1 | 0,941 |
| Otras | (3) | 2,7 | 1,000 | - | - | (3) | 2,3 | 0,337 |

Tabla VI.5. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD HISEX

EXPOSICION A UN CEM PULSADO UNIPOLAR DE 1 μ T rms, 100 Hz.

Dirección del CM AC: Este-Oeste

Efecto teratógeno: Incremento de embriones malformados: 4/94 vs. 16/100; $p = 0,009$.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (74)</u> | | | <u>No N (12)</u> | | <u>N+No N (86)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (7) | 9,5 | 0,607 | (2) | 16,7 | (9) | 10,5 |
| 2 (SO) | (36) | 48,6 | 0,123 | (9) | 75,0 | (45) | 52,3 |
| 8 (SE) | (27) | 36,5 | 0,093 | (1) | 8,3 | (28) | 32,6 |
| Otras | (4) | 5,4 | 0,634 | - | | (4) | 4,7 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (72)</u> | | | <u>No N (11)</u> | | <u>N+No N (83)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (8) | 11,1 | 0,615 | (2) | 18,2 | (10) | 12,0 | 0,811 |
| 2 (SO) | (37) | 51,4 | 1,000 | (6) | 54,5 | (43) | 51,8 | 1,000 |
| 8 (SE) | (22) | 30,6 | 0,171 | (1) | 9,1 | (23) | 27,7 | 0,508 |
| Otras | (5) | 6,9 | 0,231 | (2) | 18,2 | (7) | 8,4 | 0,365 |

Tabla VI.6. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD HISEX

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CEM SINUSOIDAL DE 25 μ T rms, 19 Hz Y UN CM DC DE 25 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion calcio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no Normales. 35/233 vs. 54/237, $p=0,032$.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N</u> (184) | | | <u>No N</u> (27) | | <u>N+No N</u> (211) | |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (45) | 24,5 | 0,049* | (2) | 7,4 | (47) | 22,3 |
| 2 (NO) | (87) | 47,3 | 0,151 | (17) | 63,0 | (104) | 49,3 |
| 8 (SO) | (36) | 19,6 | 0,615 | (4) | 14,8 | (40) | 19,0 |
| Otras | (16) | 8,7 | 0,481 | (4) | 14,8 | (20) | 9,5 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N</u> (185) | | | <u>No N</u> (40) | | <u>N+No N</u> (225) | | <u>(p)</u> |
|-------------|----------------|----------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (44) | 23,8 | 1,000 | (10) | 25,0 | (54) | 24,0 | 0,670 |
| 2 (NO) | (84) | 45,4 | 0,298 | (22) | 55,0 | (106) | 47,1 | 0,649 |
| 8 (SO) | (47) | 25,4 | 0,019* | (3) | 7,5 | (50) | 22,2 | 0,400 |
| Otras | (10) | 5,4 | 0,152 | (5) | 12,5 | (15) | 6,7 | 0,280 |

Tabla VI.7. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD HISEX

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC DE 18 μ T rms, 19 Hz Y UN CM DC DE 25 μ T.

Dirección del CM AC: Sur-Norte
 Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte
 Efecto teratógeno: No se observó

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (74)</u> | | | <u>No N (7)</u> | | <u>N+No N (81)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (16) | 21,6 | 1,000 | (2) | 28,6 | (18) | 22,2 |
| 2 (NO) | (41) | 55,4 | 0,052 | (1) | 14,3 | (42) | 51,9 |
| 8 (SO) | (16) | 21,6 | 0,059 | (4) | 57,1 | (20) | 24,7 |
| 3+4+5 | (1) | 1,4 | 1,000 | - | - | (1) | 1,2 |
| Otras | - | - | - | - | - | - | - |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (73)</u> | | | <u>No N (11)</u> | | <u>N+No N (84)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (11) | 15,1 | 0,345 | - | - | (11) | 13,1 | 0,153 |
| 2 (NO) | (32) | 43,8 | 0,004** | (10) | 90,9 | (42) | 50,0 | 0,877 |
| 8 (SO) | (23) | 31,5 | 0,030* | - | - | (23) | 27,4 | 0,726 |
| 3+4+5 | (7) | 9,6 | 1,000 | (1) | 9,1 | (8) | 9,5 | 0,034* |
| Otras | - | - | - | - | - | - | - | - |

Tabla VI.8. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CEM SINUSOIDAL DE 25 μ T rms, 19 Hz Y UN CM DC DE 25 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion calcio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte
 Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte
 Efecto teratógeno: No se observó.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (79)</u> | | | <u>No N (6)</u> | | <u>N+No N (85)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (19) | 24,1 | 1,000 | (1) | 16,7 | (20) | 23,5 |
| 2 (NO) | (19) | 24,1 | 0,332 | (3) | 50,0 | (22) | 25,9 |
| 8 (SO) | (15) | 19,0 | 1,000 | (1) | 16,7 | (16) | 18,8 |
| Otras | (26) | 32,9 | 0,660 | (1) | 16,7 | (27) | 31,8 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (74)</u> | | | <u>No N (16)</u> | | <u>N+No N (90)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (12) | 16,2 | 1,000 | (3) | 18,8 | (15) | 16,7 | 0,345 |
| 2 (NO) | (25) | 33,8 | 0,259 | (8) | 50,0 | (33) | 36,7 | 0,144 |
| 8 (SO) | (18) | 24,3 | 0,035* | - | - | (18) | 20,0 | 0,851 |
| Otras | (19) | 25,7 | 0,756 | (5) | 31,3 | (24) | 26,7 | 0,508 |

Tabla VI.9. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CEM SINUDOIDAL DE 20,9 μ T rms, 10 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T.

Dirección del CM AC: Sur-Norte
 Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte
 Efecto teratógeno: No se observó

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (15)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (17)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (3) | 20,0 | 1,000 | - | | (3) | 17,7 |
| 2 (NO) | (3) | 20,0 | 1,000 | - | | (3) | 17,7 |
| 8 (SO) | (4) | 26,7 | 1,000 | (1) | 50,0 | (5) | 29,4 |
| Otras | (5) | 33,3 | 1,000 | (1) | 50,0 | (6) | 35,3 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (24)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (26)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (6) | 25,0 | 1,000 | - | | (6) | 23,1 | 0,722 |
| 2 (NO) | (11) | 45,8 | 0,492 | - | | (11) | 42,3 | 0,111 |
| 8 (SO) | (4) | 16,7 | 0,354 | (1) | 50,0 | (5) | 19,2 | 0,481 |
| Otras | (3) | 12,5 | 0,289 | (1) | 50,0 | (4) | 15,4 | 0,158 |

Tabla VI. 10. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T, 10 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T.

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: No se observó. No se encontraron diferencias entre los embriones de huevos orientados al oeste y los orientados al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (17)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (19)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (5) | 29,4 | 0,591 | - | | (5) | 26,7 |
| 2 (SO) | (3) | 17,6 | 0,386 | (1) | 50,0 | (4) | 21,1 |
| 8 (SE) | (5) | 29,4 | 0,591 | - | | (5) | 26,3 |
| Otras | (4) | 23,5 | 1,000 | (1) | 50,0 | (5) | 26,3 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (26)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (28)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (5) | 19,2 | 0,389 | (1) | 50,0 | (6) | 21,4 | 0,737 |
| 2 (SO) | (8) | 30,8 | 0,577 | - | | (8) | 28,6 | 0,737 |
| 8 (SE) | (6) | 23,1 | 1,000 | - | | (6) | 21,4 | 0,737 |
| Otras | (7) | 26,9 | 1,000 | (1) | 50,0 | (8) | 28,6 | 1,000 |

Tabla VI.11. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC DE 20,9 μ T rms, 12 Hz Y UN CM DC DE 20, 9 μ T.

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: Incremento de anomalías del SNT y/o somitos. No hubo incremento del total de embriones No Normales, Anormales Malformados o No desarrollados. No se observaron diferencias entre los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste y los desarrollados en huevos orientados al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (15)</u> | | | <u>No N (4)</u> | | <u>N+No N (19)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (3) | 20,0 | 0,071 | (3) | 75,0 | (6) | 31,6 |
| 2 (NO) | (2) | 13,3 | 1,000 | - | | (2) | 10,5 |
| 8 (SO) | (4) | 26,7 | 0,530 | - | | (4) | 21,1 |
| Otras | (6) | 40,0 | 1,000 | (1) | 25,0 | (7) | 36,8 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (20)</u> | | | <u>No N (7)</u> | | <u>N+No N (27)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (2) | 10,0 | 1,000 | (1) | 14,3 | (3) | 11,1 | 0,133 |
| 2 (NO) | (9) | 45,0 | 0,678 | (4) | 57,1 | (13) | 48,1 | 0,010** |
| 8 (SO) | (1) | 5,0 | 1,000 | (1) | 14,3 | (2) | 7,4 | 0,213 |
| Otras | (8) | 40,0 | 0,363 | (1) | 14,3 | (9) | 33,3 | 1,000 |

Tabla VI.12. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T rms, 12 Hz
Y UN CM DC DE 20,9 μ T.

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: Incremento de anomalías del SNT y/o somitos.
No hubo incremento del total de embriones No Normales, Anormales
Malformados o No desarrollados. No se observaron diferencias
entre los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste y
los desarrollados en huevos orientados al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (16)</u> | | | <u>No N (4)</u> | | <u>N+No N (20)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (4) | 25,0 | 0,538 | - | | (4) | 20,0 |
| 2 (SO) | (3) | 18,8 | 1,000 | (1) | 25,0 | (4) | 20,0 |
| 8 (SE) | (3) | 18,8 | 0,530 | (2) | 50,0 | (5) | 25,0 |
| Otras | (6) | 37,5 | 1,000 | (1) | 25,0 | (7) | 35,0 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (20)</u> | | | <u>No N (4)</u> | | <u>N+No N (24)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (4) | 20,0 | 0,571 | - | | (4) | 16,7 | 1,000 |
| 2 (SO) | (7) | 35,0 | 1,000 | (1) | 25,0 | (8) | 33,3 | 0,498 |
| 8 (SE) | (3) | 15,0 | 1,000 | (1) | 25,0 | (4) | 16,7 | 0,710 |
| Otras | (6) | 30,0 | 0,578 | (2) | 50,0 | (8) | 33,3 | 1,000 |

Tabla VI. 13. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T rms, 14 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion sodio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no normales: 11/115 vs. 27/106; $p = 0,002$. El incremento fue semejante para los embriones de huevos orientados hacia el norte o hacia el oeste.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (48)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (50)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (7) | 14,6 | 1,000 | - | | (7) | 14,0 |
| 2 (NO) | (17) | 35,4 | 0,140 | (2) | 100,0 | (19) | 38,0 |
| 8 (SO) | (13) | 27,1 | 0,607 | - | | (13) | 26,0 |
| Otras | (11) | 22,9 | 1,000 | - | | (11) | 22,0 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (40)</u> | | | <u>No N (5)</u> | | <u>N+No N (45)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (10) | 25,0 | 0,598 | (2) | 40,0 | (12) | 26,7 | 0,134 |
| 2 (NO) | (8) | 20,0 | 1,000 | (1) | 20,0 | (9) | 20,0 | 0,072 |
| 8 (SO) | (12) | 30,0 | 1,000 | (1) | 20,0 | (13) | 28,9 | 0,820 |
| Otras | (10) | 25,0 | 1,000 | (1) | 20,0 | (11) | 24,4 | 0,812 |

Tabla VI.14. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T rms, 14 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion sodio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no normales: 11/115 vs. 27/106; $p = 0,002$. El incremento fue semejante para los embriones de huevos orientados hacia el norte o hacia el oeste.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (48)</u> | | | <u>No N (5)</u> | | <u>N+No N (53)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (12) | 25,0 | 1,000 | (1) | 20,0 | (13) | 24,5 |
| 2 (SO) | (14) | 29,2 | 0,309 | - | | (14) | 26,4 |
| 8 (SE) | (9) | 18,8 | 0,571 | (2) | 40,0 | (11) | 20,8 |
| Otras | (13) | 27,1 | 0,614 | (2) | 40,0 | (15) | 28,3 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (36)</u> | | | <u>No N (12)</u> | | <u>N+No N (48)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|------------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (6) | 16,7 | 1,000 | (2) | 16,7 | (8) | 16,7 | 0,462 |
| 2 (SO) | (18) | 50,0 | 0,344 | (8) | 66,7 | (26) | 54,2 | 0,008** |
| 8 (SE) | (9) | 25,0 | 0,088 | - | | (9) | 18,8 | 0,809 |
| Otras | (3) | 8,4 | 0,587 | (2) | 16,7 | (5) | 10,4 | 0,027* |

Tabla VI. 15. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T rms, 16 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion calcio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: Incremento de anomalías del SNT y/o somitos. No hubo incremento del total de embriones No Normales, Anormales Malformados o No desarrollados. No se observaron diferencias entre los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste y los desarrollados en huevos orientados al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (41)</u> | | | <u>No N (3)</u> | | <u>N+No N (44)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (6) | 14,6 | 1,000 | - | | (6) | 13,6 |
| 2 (NO) | (17) | 41,5 | 0,570 | (2) | 66,6 | (19) | 43,2 |
| 8 (SO) | (12) | 29,3 | 0,551 | - | | (12) | 27,3 |
| Otras | (6) | 14,6 | 0,413 | (1) | 33,3 | (7) | 15,9 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (41)</u> | | | <u>No N (3)</u> | | <u>N+No N (44)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (11) | 26,8 | 0,561 | - | | (11) | 25,0 | 0,280 |
| 2 (NO) | (12) | 29,3 | 0,551 | - | | (12) | 27,3 | 0,180 |
| 8 (SO) | (10) | 24,4 | 0,176 | (2) | 66,7 | (12) | 27,3 | 1,000 |
| Otras | (8) | 19,5 | 1,000 | (1) | 33,3 | (9) | 20,5 | 0,209 |

Tabla VI. 16. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T rms, 16 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para iones calcio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte

Efecto teratógeno: Incremento de anomalías del SNT y/o somitos. No hubo incremento del total de embriones No Normales, Anormales Malformados o No desarrollados. No se observaron diferencias entre los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste y los desarrollados en huevos orientados al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (46)</u> | | | <u>No N (5)</u> | | <u>N+No N (51)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (11) | 23,9 | 1,000 | (1) | 20,0 | (12) | 23,5 |
| 2 (SO) | (14) | 30,4 | 1,000 | (2) | 40,0 | (16) | 31,4 |
| 8 (SE) | (9) | 19,6 | 1,000 | (1) | 20,0 | (10) | 19,6 |
| Otras | (12) | 26,1 | 1,000 | (1) | 20,0 | (13) | 25,5 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (43)</u> | | | <u>No N (5)</u> | | <u>N+No N (48)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (9) | 20,9 | 0,568 | - | - | (9) | 18,8 | 0,628 |
| 2 (SO) | (17) | 39,5 | 1,000 | (2) | 40,0 | (19) | 39,6 | 0,409 |
| 8 (SE) | (6) | 14,0 | 0,039* | (3) | 60,0 | (9) | 18,8 | 1,000 |
| Otras | (11) | 25,6 | 0,326 | - | - | (11) | 22,9 | 0,818 |

Tabla VI.17. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T rms, 18 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T.

Dirección del CM AC: Sur-Norte.

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte.

Efecto teratógeno: No se observó. No se observaron diferencias entre los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste y los desarrollados en huevos orientados al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (29)</u> | | | <u>No N (1)</u> | | <u>N+No N (30)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (1) | 3,4 | 1,000 | - | | (1) | 3,3 |
| 2 (NO) | (16) | 55,2 | 0,467 | - | | (16) | 53,3 |
| 8 (SO) | (5) | 17,2 | 1,000 | - | | (5) | 16,7 |
| Otras | (7) | 24,1 | 0,267 | (1) | 100,0 | (8) | 26,7 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (28)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (30)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (5) | 17,9 | 1,000 | - | | (5) | 16,7 | 0,195 |
| 2 (NO) | (9) | 32,1 | 0,566 | - | | (9) | 30,0 | 0,075 |
| 8 (SO) | (5) | 17,9 | 0,366 | (1) | 50,0 | (6) | 20,0 | 1,000 |
| Otras | (9) | 32,1 | 1,000 | (1) | 50,0 | (10) | 33,3 | 0,779 |

Tabla VI.18. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T rms, 18 Hz
Y UN CM DC DE 20,9 μ T.

Dirección del CM AC: Sur-Norte.

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte.

Efecto teratógeno: No se observó. No se observaron diferencias entre los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste y los desarrollados en huevos orientados al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (22)</u> | | | <u>No N (4)</u> | | <u>N+No N (26)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (7) | 31,8 | 0,306 | - | | (7) | 26,9 |
| 2 (SO) | (8) | 36,4 | 1,000 | (2) | 50,0 | (10) | 38,5 |
| 8 (SE) | (4) | 18,2 | 1,000 | (1) | 25,0 | (5) | 19,2 |
| Otras | (3) | 13,6 | 1,000 | (1) | 25,0 | (4) | 15,4 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (29)</u> | | | <u>No N (1)</u> | | <u>N+No N (30)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (5) | 17,2 | 1,000 | - | | (5) | 16,7 | 0,515 |
| 2 (SO) | (14) | 48,3 | 1,000 | (1) | 100,0 | (15) | 50,0 | 0,430 |
| 8 (SE) | (5) | 17,2 | 1,000 | - | | (5) | 16,7 | 1,000 |
| Otras | (5) | 17,2 | 1,000 | - | | (5) | 16,7 | 1,000 |

Tabla VI. 19. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T pico, 14 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion sodio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte.

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte.

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no normales: 14/122 vs. 26/121; $p = 0,035$. El incremento de embriones no normales fue ligeramente superior en los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste, $E/C = 2,0$; $p = 0,076$, y $E/C = 1,8$; $p = 0,276$ al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (41)</u> | | <u>p</u> | <u>No N (0)</u> | | <u>N+No N (41)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (10) | 24,4 | | - | | (10) | 24,4 |
| 2 (NO) | (11) | 26,8 | | - | | (11) | 26,8 |
| 8 (SO) | (7) | 17,1 | | - | | (7) | 17,1 |
| Otras | (13) | 31,7 | | - | | (13) | 31,7 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (47)</u> | | <u>p</u> | <u>No N (4)</u> | | <u>N+No N (51)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (13) | 27,7 | 1,000 | (1) | 25,0 | (14) | 27,5 | 0,814 |
| 2 (NO) | (9) | 19,1 | 1,000 | (1) | 25,0 | (10) | 19,6 | 0,460 |
| 8 (SO) | (15) | 31,9 | 0,307 | - | | (15) | 29,4 | 0,221 |
| Otras | (10) | 21,3 | 0,232 | (2) | 50,0 | (12) | 23,5 | 0,481 |

Tabla VI.20. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T pico, 14 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion sodio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte.

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte.

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no normales: 14/122 vs. 26/121; $p= 0,035$. Este incremento fue ligeramente superior en los embriones desarrollados en huevos orientados al oeste, E/C= 2,0; $p= 0,076$, y E/C= 1,8; $p= 0,276$ al norte.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (44)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (46)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (6) | 13,6 | 0,284 | (1) | 50,0 | (7) | 15,2 |
| 2 (SO) | (7) | 15,9 | 1,000 | - | | (7) | 15,2 |
| 8 (SE) | (19) | 43,2 | 1,000 | (1) | 50,0 | (20) | 43,5 |
| Otras | (12) | 27,3 | 0,606 | - | | (12) | 26,1 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (40)</u> | | | <u>No N (9)</u> | | <u>N+No N (49)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (5) | 12,5 | 1,000 | (1) | 11,1 | (6) | 12,2 | 0,769 |
| 2 (SO) | (14) | 35,5 | 1,000 | (3) | 33,3 | (17) | 34,7 | 0,035* |
| 8 (SE) | (7) | 17,5 | 0,364 | (3) | 33,3 | (10) | 20,4 | 0,026* |
| Otras | (14) | 35,5 | 0,698 | (2) | 22,2 | (16) | 32,7 | 0,508 |

Tabla VI.22. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T, 16 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion calcio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte.

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte.

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no normales: 14/122 vs. 26/123; $p= 0,041$. Este incremento fue ligeramente superior en los embriones desarrollados en huevos orientados al norte, $E/C= 2,2$; $p= 0,120$, y $E/C= 1,7$; $p= 0,249$ al oeste.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL NORTE

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (41)</u> | | <u>p</u> | <u>No N (0)</u> | | <u>N+No N (41)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (O) | (10) | 24,4 | | - | | (10) | 24,4 |
| 2 (NO) | (11) | 26,8 | | - | | (11) | 26,8 |
| 8 (SO) | (7) | 17,1 | | - | | (7) | 17,1 |
| Otras | (13) | 31,7 | | - | | (13) | 31,7 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (44)</u> | | <u>p</u> | <u>No N (6)</u> | | <u>N+No N (50)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (O) | (6) | 13,6 | 0,590 | - | | (6) | 12,0 | 0,168 |
| 2 (NO) | (15) | 34,1 | 0,160 | - | | (15) | 30,0 | 0,818 |
| 8 (SO) | (5) | 11,4 | 0,007** | (4) | 66,7 | (9) | 18,0 | 1,000 |
| Otras | (18) | 40,9 | 1,000 | (2) | 33,3 | (20) | 40,0 | 0,512 |

Tabla VI.22. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

VARIEDAD WHITE ROCKS

EXPOSICION SIMULTANEA A UN CM AC SINUSOIDAL DE 20,9 μ T pico, 16 Hz Y UN CM DC DE 20,9 μ T. (Condiciones de resonancia para el ion calcio).

Dirección del CM AC: Sur-Norte.

Dirección del CM DC impuesto: Sur-Norte.

Efecto teratógeno: Incremento de embriones no normales: 14/122 vs. 26/123; $p=0,041$. Este incremento fue ligeramente superior en los embriones desarrollados en huevos orientados al norte, $E/C=2,2$; $p=0,120$, y $E/C=1,7$; $p=0,249$, al oeste.

ORIENTACION DE LOS HUEVOS HACIA EL OESTE.

A) CONTROLES

| <u>POS.</u> | <u>N (44)</u> | | | <u>No N (2)</u> | | <u>N+No N (46)</u> | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> |
| 1 (S) | (6) | 13,6 | 0,284 | (1) | 50,0 | (7) | 15,2 |
| 2 (SO) | (7) | 15,9 | 1,000 | - | | (7) | 15,2 |
| 8 (SE) | (19) | 43,2 | 1,000 | (1) | 50,0 | (20) | 43,5 |
| Otras | (12) | 27,3 | 0,606 | - | | (12) | 26,1 |

B) EXPUESTOS

| <u>POS.</u> | <u>N (40)</u> | | | <u>No N (8)</u> | | <u>N+No N (48)</u> | | <u>(p)</u> |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------------|----------|--------------------|----------|------------|
| | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>p</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | <u>(n)</u> | <u>%</u> | |
| 1 (S) | (10) | 25,0 | 1,000 | (2) | 25,0 | (12) | 25,0 | 0,307 |
| 2 (SO) | (10) | 25,0 | 0,664 | (3) | 37,5 | (13) | 27,1 | 0,210 |
| 8 (SE) | (8) | 20,0 | 1,000 | (2) | 25,0 | (10) | 20,8 | 0,027* |
| Otras | (12) | 30,0 | 0,418 | (1) | 12,5 | (13) | 27,1 | 1,000 |

Tabla VI.23. Porcentaje de embriones en cada orientación sobre el total de normales (N), no normales (No N), y total de embriones (N+No N). p: Embriones Normales respecto a los No Normales; (p): Embriones (N+No N) en una determinada orientación en A) respecto a B). (n): Número de embriones; POS: Orientación del embrión respecto a los ejes del huevo; (S, SO, SE, etc): Orientación del embrión respecto a los puntos geomagnéticos.

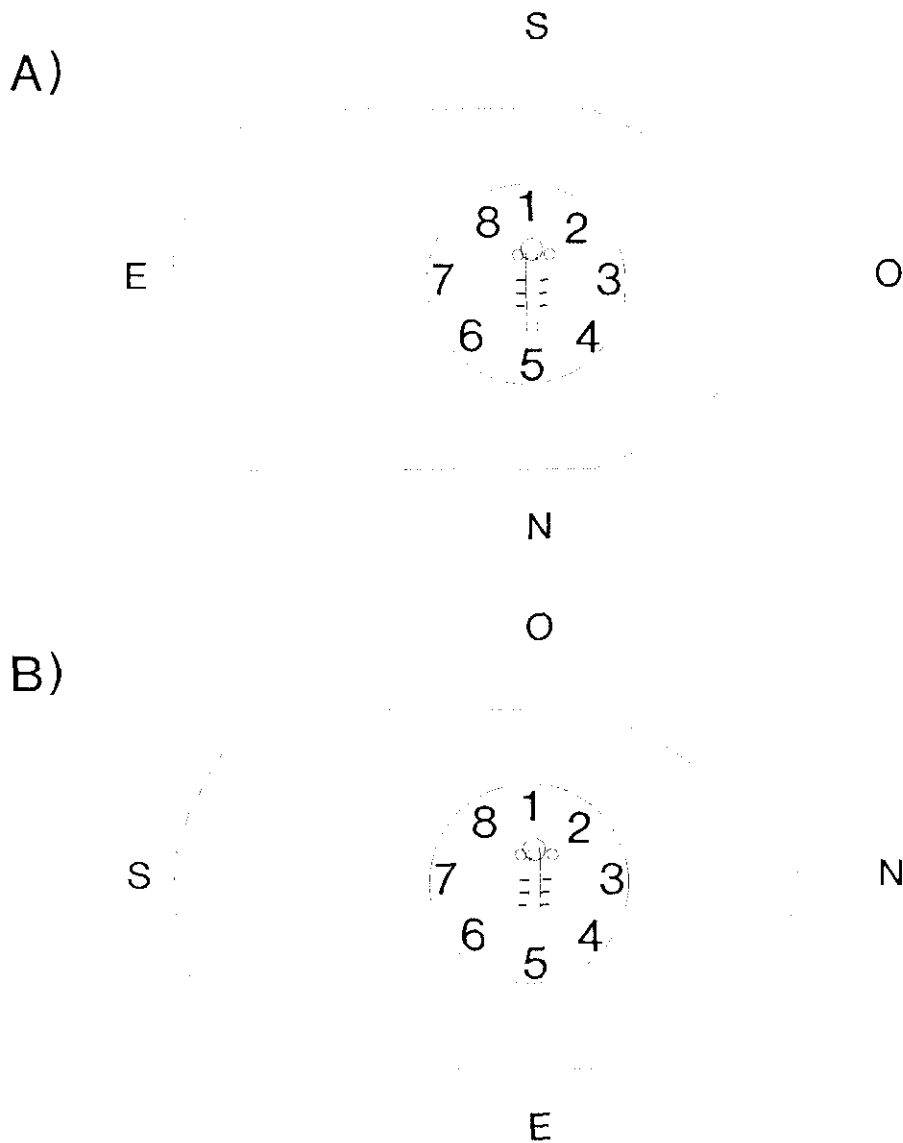


Fig. VI.1. Esquema de las posibles orientaciones de un embrión respecto a los ejes del huevo (posiciones 1-8) y respecto a los puntos geomagnéticos (N, NE, NO, S, SE, SO, E, O).
 A): Orientación de los huevos hacia el oeste (O). Un embrión hallado en posición 1 respecto a los ejes del huevo, se considera orientado hacia el sur (S) respecto a los puntos geomagnéticos.
 B): Orientación de los huevos hacia el norte (N). Un embrión hallado en posición 1 respecto a los ejes del huevo, se considera orientado hacia el oeste (O) respecto a los puntos geomagnéticos.

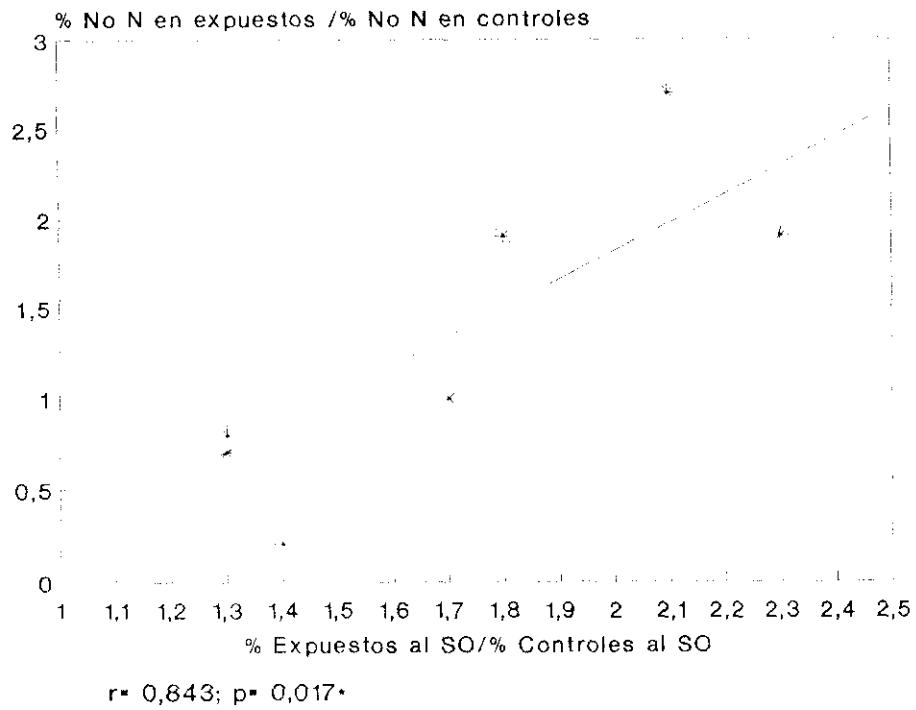


Fig. VI.2. Embriones White rocks. Huevos orientados al Oeste. Proporción de embriones expuestos, orientados al suroeste (SO) respecto a sus controles, en función del efecto teratógeno de los campos aplicados. $r = 0,843$; $p = 0,017$ (Pearson); $n = 7$.

D I S C U S I O N G E N E R A L

DISCUSION GENERAL

| | |
|--|-----|
| 1.- Factores que intervienen en la respuesta embrionaria a los CEMs. | 319 |
| 1.1.- Respuesta de los embriones ante diferentes parámetros de exposición. | 319 |
| 1.2.- Respuesta de los embriones ante idénticos parámetros de exposición. | 323 |
| 2.- Posibles mecanismos implicados en la respuesta embrionaria a CEMs ELF. | 327 |
| 3.- Interés e implicaciones de los estudios sobre la respuesta embrionaria a campos ELF. | 328 |
| 4.- Evolución prevista de los trabajos en un futuro inmediato. | 331 |

DISCUSION GENERAL

En síntesis, los resultados contenidos en esta memoria indican que el desarrollo del embrión de pollo es afectado por exposición a CMs AC ELF (10 Hz - 100 Hz) y de muy baja densidad de flujo (1,0 μ T rms - 20,9 μ T rms). El efecto depende tanto de características específicas del embrión, tales como su posición en el huevo, el estado de la muestra o la raza a la que pertenece, como de variables físicas, que incluyen la frecuencia e intensidad del CM AC y la intensidad del CM DC.

1.- FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA RESPUESTA EMBRIONARIA A LOS CEMs.

La respuesta de los embriones depende de los parámetros de los CMs aplicados, así como de características biológicas de los organismos.

La exposición no afecta de igual manera el desarrollo de todos los embriones de una misma muestra sometidos a condiciones de exposición determinadas. Ante unos parámetros de exposición determinados puede producirse o no una respuesta detectable de los organismos. Cuando se produce una respuesta, ésta puede presentar diferencias cualitativas o cuantitativas.

1.1 Respuesta de los embriones ante diferentes parámetros de exposición.

La respuesta embrionaria depende no sólo de los parámetros de los CMs AC aplicados, intensidad y frecuencia, sino también de la intensidad del CM DC, ya sea ambiental o producido experimentalmente.

a) Intensidad del Campo Magnético AC.

Pequeñas diferencias de intensidad del orden de 0,1 μT , con un CM AC pulsado bipolar, de 100 Hz, pueden ser decisivas en la respuesta de los organismos, como hemos visto en el capítulo II, observándose, además, una respuesta dosis-dependiente.

Aunque los mecanismos físicos implicados en la respuesta descrita están por determinar, hay que señalar que los resultados concuerdan con estudios epidemiológicos sobre exposición laboral o residencial a CEMs en el rango ELF. En dichos estudios, las intensidades, medidas o calculadas, a las que se ven expuestas las poblaciones consideradas, son del orden de las aplicadas en el presente estudio. Es más, las diferencias de intensidades de CM AC entre las poblaciones controles y las poblaciones con riesgo de padecer cáncer oscilan, según los estudios, entre valores menores o iguales a 0,079 μT y valores iguales o mayores a 0,1 μT (Tomenius, 1986); entre 0,09 μT y 0,2 μT (Feytching y Ahlbom, 1993); entre 0,15 μT y 0,28 μT (Floderus et al., 1992) y entre 0,4 μT y 0,9 μT (Lindbholm et al. 1992). En estos trabajos también se describe una relación dosis-respuesta en la que el riesgo se incrementa con la densidad de flujo del CM.

Por lo tanto, al menos en el orden de magnitud de CM AC de 1 μT , décimas de microtesla de diferencia de intensidad pueden ser decisivas en un incremento o no de un riesgo de cáncer en poblaciones humanas o de un aumento de malformaciones en embriones de pollo.

En el presente trabajo, hemos observado la misma tendencia en otros tipos de experimentos:

- En el capítulo sobre resonancia de ciclotrón (capítulo V) la exposición a un CM AC sinusoidal de 25 μT , 19 Hz en presencia de un CM DC de 25 μT , parámetros ajustados a

resonancia de ciclotrón para iones calcio, provocó un aumento del porcentaje de embriones con anomalías. En las mismas condiciones, pero con un CM AC de 18 μT la exposición no modificó el desarrollo de los embriones. Es decir, en este caso, una diferencia de 7 μT fue decisiva para provocar o no una respuesta biológica.

- En los experimentos con campos DC de 20,9 μT y AC de 20,9 μT pico (14,8 μT rms) y frecuencias de 14 Hz y 16 Hz, comparados con los experimentos con campos DC de 20,9 μT y AC de 20,9 μT rms con frecuencias de 14 Hz y 16 Hz, se observó una respuesta similar para los experimentos con una intensidad de 20,9 μT pico, pero de menor magnitud que la obtenida con 20,9 μT rms/14 Hz, siendo la respuesta muy débil en los experimentos con 20,9 μT rms/16 Hz. Por lo tanto, esas diferencias en las respuestas de los embriones entre experimentos con los mismos parámetros de frecuencia y CM DC se consideran debidas a la diferencia en intensidad del CM AC.

b) Frecuencia del Campo Magnético AC.

Los resultados presentados en esta memoria indican que la frecuencia es un parámetro crucial en la respuesta biológica a los CEMs. En los experimentos realizados con un CEM pulsado bipolar, con una intensidad ≤ 1 μT y 100 Hz de frecuencia (capítulo II), el efecto consistió en un aumento de la proporción de embriones malformados. En experimentos realizados, con un CEM pulsado, bipolar de 1 μT de intensidad y 30 Hz de frecuencia (capítulo IV), el efecto fué un aumento de la proporción de embriones no desarrollados. Por lo tanto, aunque en ambos casos se produjo una respuesta significativa, ésta fue cualitativamente diferente.

- En los experimentos E4 a E8 sobre resonancia de ciclotrón (capítulo V), realizados con un CM AC de 20,9 μT rms y CM DC de 20,9 μT , se utilizaron las siguientes frecuencias:

10 Hz en E4, 12 Hz en E5, 14 Hz en E6, 16 Hz en E7 y 18 Hz en E8. Solamente en E6 (resonancia de ciclotrón para sodio) se observó un aumento significativo de embriones expuestos no normales. Sin embargo, realizando un análisis más profundo observamos que el conjunto de las anomalías para sistema nervioso truncal y de somitos aumentaron en los embriones expuestos a los experimentos E5, E6 y E7 (resonancia de ciclotrón para calcio). Es decir, se observó un pico de efectividad teratógena máxima a 14 Hz y una menor incidencia a 12 Hz y 16 Hz, no observándose ninguna respuesta a 10 y 18 Hz. Por lo tanto, para una misma intensidad de CM AC, parece existir un pico de efectividad a 14 Hz, perdiéndose ésta a 4 Hz por encima y por debajo de dicha frecuencia de máxima efectividad.

- En otros experimentos, también sobre resonancia de ciclotrón (capítulo V), se utilizaron los mismos valores de intensidad de CM AC (20,9 μ T pico) y CM DC (20,9 μ T), a frecuencias de 14 y 16 Hz. Los resultados para ambos tratamientos fueron bastante similares, aumentando la proporción de embriones no normales en los dos casos. Con 14 Hz, aumentaron de forma muy significativa los embriones malformados, y de forma no significativa con 16 Hz. Por lo tanto, aunque muy similares, los resultados no fueron equivalentes, siendo la respuesta cuantitativamente diferente, dependiendo de una diferencia de 2 Hz de frecuencia.

c) Campo Magnético DC.

Uno de los problemas "históricos" en la investigación electromagnética es la dificultad de reproductibilidad experimental entre diferentes laboratorios. En el proyecto "Henhouse" (Capítulo III) en el que participaron 6 laboratorios en diferentes países de Europa y Estados Unidos, realizados con un CM pulsado unipolar de 1 μ T de intensidad y

100 Hz de frecuencia, la respuesta de los embriones al tratamiento variaba de unos laboratorios a otros. En los diferentes laboratorios, los experimentos se realizaron, aparentemente, en igualdad de condiciones. Sin embargo, las intensidades de CM AC y DC ambientales, medidas en el interior de las 12 incubadoras cuando la bobinas no eran estimuladas, no eran las mismas. El análisis de los datos incluido en esta memoria sugiere una relación entre la intensidad de CM DC en el interior de las incubadoras y la efectividad de la exposición. Esta relación no permite, sin embargo, descartar la influencia añadida de otros factores, como las diferencias biológicas en las muestras empleadas.

Estos resultados indican la necesidad de controlar o especificar, tanto en los estudios experimentales como en los epidemiológicos, la intensidad del campo magnético DC. Este requisito debe aplicarse no sólo en los experimentos diseñados según las condiciones de resonancia de ciclotrón, cuya teoría exige un CM DC determinado, sino en cualquier exposición electromagnética, aún no cumpliendo los requisitos expresados en la fórmula sobre resonancia de ciclotrón para iones: $f = \frac{v}{r} = \frac{1}{2\pi} \frac{q}{m} B_0$. Así, sería concebible que para una intensidad de CM AC dada, se encontrase una relación entre algún tipo de enfermedad y valores ambientales de CM AC, en un lugar determinado y no hallar ninguna relación en poblaciones ubicadas en otras latitudes.

1.2.- Diferentes respuestas de los embriones ante idénticos parámetros de exposición.

Hemos mostrado a lo largo de esta memoria que la efectividad teratógena de los CEMs, expresada como el cociente entre los porcentajes de embriones con anomalías en la población expuesta y la población control ("%E/%C"), es relativamente baja si se compara con la de otros agentes

teratógenos, químicos o radiaciones ionizantes.

En los casos de mayor incidencia, por ejemplo, en el caso de un CM sinusoidal de 20,9 μT rms y 14 Hz y CM DC de 20,9 μT (Capítulo V), el efecto relativo para embriones no normales fue de 2,7.

Estos resultados concuerdan con los de estudios epidemiológicos en los que el riesgo relativo para grupos de población expuestos a CMs ambientales varía entre 1,5 y 3,0 (Floderus, 1994). Es decir, sólo una fracción de las poblaciones parece ser sensible a la exposición electromagnética. Las causas de dicha sensibilidad son todavía desconocidas. En los experimentos incluidos en esta memoria, las variables biológicas de las que parece depender la respuesta de los organismos ante la exposición son las siguientes:

a) Raza de la muestra.

Bajo idénticas condiciones de exposición electromagnética, la respuesta depende de la raza de los embriones. Así en los experimentos realizados con embriones Hisex y White rocks, con parámetros de CMs idénticos, de 25 μT rms / 19Hz AC y 25 μT DC, ajustados para producir resonancia de ciclotrón para iones calcio, los resultados obtenidos fueron diferentes. En los Hisex se observó un incremento significativo de embriones no normales en la población expuesta (22,8 % contra 15,0 % en controles; $p= 0,032$), lo que no se produjo en White rocks (16,5 % contra 16,3 %).

b) Sensibilidad específica de los organismos de una misma muestra:

- Estado de la muestra: Al menos en lo que respecta a exposiciones a CEMs pulsados, hemos observado que éstos actúan

sobre embriones pertenecientes a muestras con un porcentaje relativamente elevado de individuos no normales en controles. En ellas el campo aumentó la gravedad de las anomalías, sin aumentar la proporción de embriones no normales.

En tres series de experimentos se produjo un incremento del porcentaje de embriones malformados o no desarrollados sin aumentar la proporción de embriones no normales:

- CM AC pulsado bipolar de 1 μ T y 100 Hz (Experimentos tipo A; Capítulo II).

- CM AC pulsado unipolar de 1 μ T y 100 Hz (Experimentos del laboratorio 3; Capítulo III).

- CM AC pulsado bipolar de 1 μ T y 30 Hz (Capítulo IV).

En los tres casos, el porcentaje de embriones no normales en controles fue alto (26,6 %, 26,6 % y 26,3 %, respectivamente) en comparación a muestras controles de otros experimentos. Los resultados sugieren que aquí el CEM ha actuado sobre embriones ya debilitados, aumentando la severidad de las anomalías que hubieran podido presentarse si el tratamiento electromagnético no hubiera sido aplicado. Es decir, la exposición electromagnética habría actuado sobre una fracción de las muestras constituida por embriones débiles, haciendo expresarse anomalías latentes en algunos embriones en los que, sin la exposición, tales anomalías habrían podido ser revertidas por mecanismos de corrección o reparación.

- Posición del embrión en el huevo: La orientación del eje embrionario se considera determinada, en las aves, antes de la puesta (Houillon, 1972). Sin embargo, los resultados presentados en esta memoria y los de otros autores (Veneziano, 1965; Ubeda, 1987; Saali, 1988) demuestran que CMs aplicados durante fases tempranas del desarrollo, son capaces de modificar la orientación embrionaria. En muestras de la variedad Hisex, hemos observado que bajo condiciones experimentales que provocaron anomalías morfológicas en los

embriones, la orientación de las poblaciones totales (normales + no normales) no difería de la de sus controles. Sin embargo, en condiciones experimentales que no provocaron anomalías morfológicas, la orientación de los embriones expuestos difería de la de sus controles.

En muestras de la variedad Hisex expuestas a CEMs hemos observado que la distribución de embriones no normales era diferente de la de normales. El porcentaje de no normales en comparación con normales fue significativamente elevado en la posición 2, respecto de los ejes del huevo. En embriones controles se observa la misma tendencia: los embriones no normales tienden a situarse en la posición 2, aunque en este caso la diferencia no es significativa. Por lo tanto, en esta variedad de embriones, parece que los CEMs actúan sobre ejemplares ya predispuestos de alguna forma natural, en virtud de su posición respecto a los ejes del huevo.

En su conjunto, los resultados que venimos describiendo revelan que el estudio de la respuesta biológica, in vivo, a exposiciones electromagnéticas requiere un análisis cuidadoso de las características de la muestra.

El análisis exhaustivo de un sistema in vivo es prácticamente imposible en un trabajo como éste, dado el tamaño y número de las muestras, y que pretendemos conocer las variables que intervienen en los efectos de los CEMs. Es necesario empezar por lo general y, una vez establecidas las variables físicas efectivas, profundizar en los mecanismos biológicos. Consecuentemente, de las diferentes estrategias que pueden emplearse, en el presente trabajo se ha optado por realizar un análisis eminentemente morfológico de las muestras, basado en su grado de desarrollo y en las características que lo definen según criterios establecidos. Sin embargo, aún en este ámbito más inmediato, el análisis puede ser mejorado, profundizando en el grado de severidad de

las anomalías, así como en los órganos afectados. De hecho un efecto determinado puede pasar desapercibido, como hemos observado en los experimentos del laboratorio 3, realizados con un campo unipolar de 1 μ T de intensidad y 100 Hz de frecuencia (proyecto "Henhouse", capítulo III). En ellos, el porcentaje de embriones expuestos, con cualquier tipo de anomalía, no era estadísticamente diferente al de controles, sin embargo, sí lo era el porcentaje de embriones con anomalías severas, de lo que se concluye que la exposición había aumentado la gravedad de éstas, pero no había provocado nuevos casos. Lo mismo es aplicable a un CEM pulsado bipolar de 30 Hz (capítulo IV), que incrementaba el porcentaje de embriones no desarrollados, sin aumentar la población de normales. En los experimentos sobre resonancia de ciclotrón (capítulo V), con un CM AC de 20,9 μ T de intensidad y frecuencias de 10, 12, 14, 16 y 18 Hz, y un CM DC de 20,9 μ T, sólo los experimentos realizados con 14 Hz parecían tener incidencia sobre el desarrollo embrionario, según un primer análisis. Sin embargo, el estudio sobre los órganos afectados, mostró que las exposiciones a frecuencias de 12 Hz y 16 Hz habían producido un aumento de embriones anormales para el sistema nervioso truncal y/o somitos.

2.-POSIBLES MECANISMOS IMPLICADOS EN LA RESPUESTA EMBRIONARIA A CEMs ELF.

En el estadio de línea primitiva del embrión de pollo (Fig. I. 1), se ha mostrado la existencia de corrientes eléctricas. En esta fase de desarrollo, el embrión consta de dos capas epiteliales separadas por un espacio intraembrionario. En la capa superior, o epiblasto, se ha formado un canal, la línea primitiva, a través del cuál se desplazan las células para formar el endodermo y el mesodermo. Jaffe y Stern (1979) describieron corrientes eléctricas que

parten de la línea primitiva y regresan a través del epiblasto. Medidas realizadas 0,2 mm por encima del epiblasto han mostrado densidades de corriente del orden de 10 a 20 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Se ha estimado que las corrientes que salen de la línea primitiva son del orden de 100 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. El epicentro de tales corrientes parece ser el nodo de Hensen. Según los autores, estas corrientes podrían controlar u organizar el desarrollo embrionario, generando el voltaje suficiente para redistribuir los componentes de las membranas y afectar su conducta.

Quizá la exposición electromagnética haya interferido con esas corrientes intrínsecas, modificando la conducta celular y provocando los cambios morfológicos o de orientación observados en nuestros embriones.

Sin embargo, no parece probable que exista un mecanismo único de actuación de los CEMs. Predicciones de los modelos teóricos desarrollados hasta el momento sólo han obtenido corroboración experimental parcial. El mecanismo de resonancia iónica, propuesto por vez primera por Liboff (1985), pone de manifiesto de una forma sencilla la relación entre las variables "frecuencia del CM AC" e "intensidad del CM DC", a través de la constante "carga iónica/masa iónica". Este modelo sólo tiene en cuenta iones deshidratados, a su paso por los canales iónicos. Como hemos comentado en otros capítulos, este mecanismo ha sido probado por diferentes investigadores, obteniéndose resultados contradictorios.

Los resultados aquí expuestos, basados en el mecanismo de Resonancia de Ciclotrón (véase capítulo V), ponen en duda la completa eficacia de este modelo para la predicción de respuestas, al menos en un sistema biológico in vivo. Sin embargo, apoyan algunos de los fundamentos teóricos en los que se basa el modelo:

La intensidad del CM DC puede ser una variable decisiva en los mecanismos de actuación (véase "Proyecto Henhouse",

Capítulo III). Lo mismo sucede con la frecuencia del CM AC. En efecto, sólo determinados valores de frecuencias, con anchos de banda del orden de 4 Hz, son capaces de inducir respuesta biológica en los embriones (véase Capítulo V, sobre el Mecanismo de Resonancia de Ciclotrón).

Una interpretación del mecanismo de resonancia de ciclotrón, propuesto por Lednev (1991) y modificado posteriormente por Blanchard y Blakman (1994) sugiere que durante la exposición a condiciones de resonancia, la interacción de un ion con su medio biomolecular puede cambiar, de una forma predecible, según un rango de valores de intensidad del CM AC. Es decir, introduce la variable "Intensidad del CM AC", que no se contemplaba en el modelo de Liboff, y además considera iones unidos a cualquier estructura que requiera un cofactor iónico para funcionar.

En efecto, la intensidad del CM AC puede influir en la respuesta embrionaria. Los resultados de la exposición a un CEM pulsado bipolar menor o igual a 1 μ T y 100 Hz de frecuencia (véase Capítulo II), así como los obtenidos en condiciones de resonancia de ciclotrón (véase Capítulo V) ponen de manifiesto la importancia de esta variable.

Por lo tanto, aunque los resultados experimentales apoyan la teoría propuesta por Liboff en los puntos principales, creemos que en sistemas in vivo, con un elevado grado de complejidad, la respuesta puede venir dada por una combinación de efectos provocados por la acción de los campos mediante diferentes mecanismos.

3.-INTERES E IMPLICACIONES DE LOS ESTUDIOS SOBRE LA RESPUESTA EMBRIONARIA A CAMPOS ELF

Los estudios in vivo, como los descritos aquí, representan un puente necesario entre la experimentación in vitro, cuyos resultados son difíciles de extrapolar al ámbito

de la salud, y los estudios epidemiológicos, cuyas conclusiones han de ser, por fuerza, limitadas debido a la lógica falta de control de las variables que pueden estar interviniendo en los resultados.

Los estudios in vivo ofrecen un control mayor de algunas de dichas variables y, concretamente nuestro sistema, debido a su semejanza con el embrión humano en las fases estudiadas, nos parece una buena herramienta como modelo de experimentación.

Así, en esta memoria se pone de manifiesto la importancia del estado fisiológico de la muestra, lo cual ha de tenerse en cuenta a la hora de analizar un estudio epidemiológico, ya que los datos sugieren que no todos los individuos reaccionarán necesariamente de igual manera ante la exposición electromagnética. Asimismo, según nuestros datos, tampoco esperaríamos una elevada proporción de individuos afectados como consecuencia de la exposición.

Por otro lado, la intensidad del CGM, como hemos visto, tendría que ser un factor adicional a tener en cuenta en la metodología de los estudios epidemiológicos, aunque no ha sido así hasta la fecha. De esta forma, es concebible que intensidades equivalentes de CM AC, pudieran ser perjudiciales en una latitud determinada sin serlo en otras.

Las presentes observaciones pueden tener también implicaciones en el ámbito de la experimentación biológica. En efecto, si CEMs de intensidades tan bajas como las descritas aquí, pueden afectar el desarrollo embrionario, las condiciones de experimentación en otras áreas de la biología deberían considerar no sólo las variables ya conocidas (temperatura, humedad, edad y condiciones fisiológicas equivalentes de los grupos, en la experimentación in vivo, e iguales medios de cultivo en la experimentación in vitro) sino también la posibilidad de que alguno de los grupos haya permanecido, durante el transcurso del experimento, más cerca

que otros de una fuente de contaminación electromagnética. Los CEMs podrían considerarse un factor de confusión, no tenido en cuenta hasta el momento, capaz de alterar los resultados de un experimento.

4.-EVOLUCION PREVISTA DE LOS TRABAJOS EN UN FUTURO INMEDIATO.

Los trabajos presentados en esta memoria, junto con los realizados por otros autores, muestran que organismos superiores son sensibles a un entorno electromagnético impuesto, y que esta sensibilidad se traduce en alteraciones que incluyen anomalías del desarrollo embrionario.

La trascendencia de estos resultados para la salud pública es obvia y en este sentido se está desarrollando la mayor parte de la investigación electromagnética, intentando responder a cuestiones que afectan a la salud: magnitud del riesgo, factores que incrementan ese riesgo, mecanismos biológicos por los que la exposición electromagnética puede ser un agente carcinógeno, etc.

En otro ámbito, el uso de CMs no ionizantes (DC, ELF, LF y MW) con fines terapéuticos se extiende rápidamente. La investigación sobre los efectos de estos campos, in vivo e in vitro, pretende aportar información relevante para la optimización de las condiciones de aplicación de dichas técnicas.

Existe otro aspecto, menos estudiado, pero no por eso menos importante: El papel desempeñado por los campos magnéticos naturales, extrínsecos e intrínsecos, en la naturaleza. Se sabe, como ya indicamos en la Introducción de esta memoria, que existen campos magnéticos intrínsecos implicados en funciones biológicas. Por otra parte, los organismos han estado inmersos en campos magnéticos naturales a lo largo de la evolución de la vida en la tierra, y sería sumamente extraño que los organismos no interaccionasen con

dichos campos. Por ejemplo la glándula pineal se ha identificado como un órgano magneto-sensible que puede responder a pequeñas fluctuaciones del campo geomagnético (Semm et al., 1980).

En el estudio de las interacciones "CMs naturales-ser vivo" existen dos vertientes:

19.- Sensibilidad al CGM. Los estudios sobre la manera en la que el CGM puede afectar a los organismos se vieron sensiblemente reducidos desde finales de los años setenta, quizás por la prioridad dada a otras disciplinas de la investigación biológica. Sin embargo, profundizar en este aspecto podría abrir nuevas vías en el conocimiento de las causas de ciertas enfermedades y trastornos.

Personalmente, considero que un esfuerzo de investigación en dicho sentido podría reportar información relevante en el área de la biología y la biomedicina. Parte de mi futuro trabajo irá encaminado en este sentido.

20.- Papel de los campos magnéticos y eléctricos intrínsecos, en el desarrollo embrionario. Se conoce la existencia de corrientes eléctricas en las primeras fases de desarrollo de los organismos. Por otro lado, entre células y matriz extracelular (MEC) existen interacciones recíprocas, esenciales para la morfogénesis. Recientemente, ha sido demostrada la relación entre MEC y núcleo celular: Cuando los componentes de la MEC se unen a receptores de integrina (receptores de membrana con componentes intra y extracelulares, unidos al citoesqueleto por moléculas de vinculina) pueden activar la transcripción, ejerciendo una fuerza mecánica sobre el citoesqueleto y el núcleo (Lin, 1993).

Los componentes de la matriz extracelular, así como los del citoesqueleto, tienen propiedades piezoeléctricas, es decir, son capaces de transformar energía mecánica en

eléctrica y viceversa.

En el caso de un organismo en desarrollo, las corrientes eléctricas podrían determinar el crecimiento, la diferenciación y, quizás la orientación de la línea primitiva mediante cambios en la orientación de los elementos de la MEC (fibronectina, laminina, colágeno, etc) que se sabe, son capaces de orientarse en relación a las líneas de un CM impuesto, in vitro.

Una futura línea de trabajo de este laboratorio estará encaminada al estudio de los componentes de la MEC, en relación con el desarrollo embrionario in vivo y la exposición a campos electromagnéticos.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Un elevado número de estudios experimentales ha demostrado que el embrión de pollo es afectado en su desarrollo por exposición a CMs ELF y de muy baja intensidad. Sin embargo, la diversidad de parámetros físicos empleados en estos estudios y la complejidad de la respuesta en un sistema embrionario han dificultado el conocimiento de los mecanismos biofísicos implicados en los efectos observados.

El objetivo del presente estudio ha sido definir con precisión los parámetros físicos y biológicos que intervienen en la respuesta embrionaria a CEMs débiles. Los resultados obtenidos sugieren que:

1.- Para un CM AC pulsado bipolar de 100 Hz, pequeñas diferencias de intensidad (del orden de 0,1 μ T) pueden ser decisivas en la respuesta de los organismos. En este caso la respuesta es dependiente de la intensidad del CM.

2.- Bajo idénticas condiciones de experimentación, la respuesta de los embriones a un CM AC depende del valor del CM DC ambiental.

3.- En condiciones de Resonancia de Ciclotrón para iones, se observa un pico máximo de respuesta a una determinada frecuencia. A 2 Hz, por encima o por debajo de dicha frecuencia, la respuesta es notablemente más débil. Cuando la desviación es de 4 Hz, no se registra respuesta alguna.

4.- Bajo idénticas condiciones de exposición electromagnética, la respuesta depende de la raza de los embriones.

5.- Cuando la exposición provoca un efecto teratógeno,

éste depende de las características de la muestra:

- En muestras con una baja proporción de organismos anormales entre los controles, la exposición provoca un aumento del número de embriones anormales.

- En muestras con una elevada proporción de embriones controles anormales, la exposición induce un agravamiento de las anomalías, sin aumentar la proporción de individuos anormales.

6.- En embriones de la variedad Hisex, la exposición a CEMs no teratógenos provoca modificaciones en la orientación embrionaria. Por el contrario, en los grupos de embriones expuestos a CEMs con efectividad teratógena, no se observan diferencias entre la orientación de las poblaciones tratadas y las de sus respectivos controles.

7.- Determinadas orientaciones embrionarias parecen ser especialmente sensibles a la exposición electromagnética.

Estos resultados, en su conjunto, muestran que la respuesta de un organismo en desarrollo a CMs AC-DC es fuertemente dependiente de condiciones muy precisas de frecuencia e intensidad de CM. Esto sugiere la existencia de fenómenos de resonancia implicados en los efectos embriológicos de estos campos. Los datos muestran, además, la existencia de factores intrínsecos al sistema biológico que modulan la respuesta de éste al tratamiento electromagnético.

Por su posible interés desde un punto de vista de salud ambiental, consideramos que el estudio de los posibles efectos teratógenos de CEMs débiles debe basarse esencialmente en sistemas in vivo. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el empleo de sistemas in vitro, mucho más simples y controlables, puede aportar información esencial sobre los mecanismos básicos de la respuesta biológica a estos campos.

B I B L I O G R A F I A

- AD HOC WORKING GROUP (1990). Extremely low-frequency electric and magnetic fields and risk of human cancer. *Bioelectromagnetics* 11: 91.
- ADAIR, E.R., ADAMS, B.W. y AKEL, G.M. (1984). Minimal changes in hypothalamic temperature accompany microwave-induced alteration of thermoregulatory behavior. *Bioelectromagnetics* 5: 13.
- ADEY, W.R. (1975). Evidence for cooperative mechanisms in the susceptibility of cerebral tissue to environmental and intrinsic electric fields. En: *Functional linkage in biomolecular systems*. Eds.: F.O. Schmitt, D.M. Schneider y D.M. Crothers. New York, Raven Press: 325.
- ADEY, W.R. (1980). Frequency and power windowing in tissue interactions with weak electromagnetic fields. *Proc. IEEE* 68: 119.
- ADEY, W.R. (1981). Tissue interactions with non-ionizing electromagnetic fields. *Physiol. Rev.* 61: 435.
- ADEY, W.R. (1990). Electromagnetic fields, cell membrane amplification and cancer promotion. En: *Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields: the Question of Cancer*. Eds: Wilson, Stevens y Anderson. Battelle Press: 211.
- ADLER, K. y PELKE, C. (1985). Human homing orientation: Critique and alternative hypotheses. En: *Biomagnetism*. Eds: D.S. Jones, B.J. MacFadden y J.L. Kirschvink. New York. Plenum.
- AGOURIDIS, D.C. y EASTERLY, C.E. (1989). EMP Simulators and public safety: an analysis. *Bioelectromagnetics* 10: 355.
- AKAMINE, T., MURAMATSU, H., HAMADA, H. y SAKOU, T. (1985). Effects of pulsed electromagnetic field on growth and differentiation of embryonal carcinoma cells. *J. Cell. Physiol.* 124: 247.
- ALBERT, E., COHEN, G., AVELLINO, G., KORNHOUSER, G. Y YOSHIOKA, A. (1984). Electron microscopical observations on rat cerebellum and hippocampus after exposure to 60-Hz fields. Technical report, Abstract, Sixth Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, Atlanta, GA.
- ALDRICH, T.E. y EASTERLY, C.E. (1987). Electromagnetics fields and public health. *Environ. Health Persps.* 75: 159.
- ALEKSANDROV, V.A. y KUTIKOVA, L.A. (1984). Fluctuations in natural electromagnetic fields and rhythm of diurnal vertical migrations of zooplankton. *Biophysics*, 29: 1116

- ALERSTAM, T. (1987). Bird migration across a strong magnetic anomaly. *J. exp. Biol.*, 130: 63
- ALLIS, J.W. y SINHA-ROBINSON, B.L. (1987). Temperature-specific inhibition of human red cell Na^+/K^+ ATPase by 2,450-MHz microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 8: 203.
- ANDREUCETTI, D., BINI, M., IGNESTI, A., OLMI, R., RUBINO, N. y VANNI, R. (1988). Analysis of electric and magnetic fields leaking from induction heaters. *Bioelectromagnetics* 9: 373.
- ANDRIENKO, L.G., DUMANSKEY, Y.D., ROUDITCHENKO, V.F. y MELIECHKO, G.I. (1977). The influence of an electric field of industrial frequency on spermatogenesis. *Vranch. Delo.* 18: 116.
- ARBER, S.L. (1976). Effect of microwaves on resting potential of giant neurons of mollusk "helix pomatia". *Electronnaya Obrabotka Materialov* 6: 78.
- ARBER, S.L. (1986). Microwave enhancement of membrane conductance. En: *Biological Effects of Electropollution. Brain Tumors and Experimental Models*. Eds: S.K. Dutta y R.M. Millis. Information Ventures, Inc., Philadelphia, Pa: 107.
- ARNOLD, W., STEELE, R. y MUELLER, H. (1958). On the magnetic asymmetry of muscle fibers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 44: 1.
- ASANOVA, T.P. Y RAKOV, A.I. (1966). The state of health of persons working in electric fields of outdoor 400 and 500 kV switch-yards. *Gig. Tr. Prof. Zabol.* 10: 50.
- ASTM, American Society for Testing and Materials (1985). *Standard Practice for Maintaining Constant Relative Humidity by Means of Aqueous Solutions*. ASTM, PA, Ann. Book of ASTM Standards.
- BAKER, R.R. (1980). Goal orientation by blinfolded humans after long-distance displacement: Possible involvement of a magnetic sense. *Science* 210: 555.
- BALCER-KUBICZEK, E.K. y HARRISON, G.H. (1985). Evidence for microwave carcinogenesis in vitro. *Carcinogenesis* 6: 859.
- BALKWILL, D.L., MARATEA, D. y BLAKEMORE, R.P. (1980). Ultrastructure of a magnetotactic spirillum. *J. Bacteriol.* 141: 1399.

- BANKOSKE, J.W., McKEE, G.W. y GRAVES, H.B. (1976). Ecological influence of electric fields. Interim. Report 2, EPRI Research Project 129, EPRI Report No EX-178. Palo Alto, Calif., Electric Power Research Institute.
- BARTELMEZ, G.W. (1918). The relation of the embryo to the principal axis of symmetry in the bird's egg. Biol. Bull. 35: 319.
- BARTH, L.G. y BARTH, L.J. (1969). The sodium dependence on embryonic induction. Develop. Biol. 20: 236.
- BASK, D. (1993). Melatonin in oncology. En: Melatonin. Eds: H.S. Yu y R.J. Reiter. CRC Press, Boca Raton, FL: 447.
- BASSETT, C.A.L. y BECKER, R.O. (1962). Generation of electric potentials by bone in response to mechanical stress. Science 137: 1063.
- BASSETT, C.A.L. (1978). Pulsing electromagnetic fields: a new approach to surgical problems. En: Metabolic surgery. Eds.: H. Buchwald y R.L. Varco, New York, Grune and Stratton: 255.
- BAUER, G.B., PERRY, A., FULLER, M., DUNN, J.R., ZOEGER, J. y HERMAN, L.M. (1983). Biomagnetic studies of cetaceans. En: Abstracts 5 th Biennial Conference on the Biology of Marine Animals, Soc. Marine Mammals, Boston, MA.
- BAWIN, S.M., KACZMAREK, L.K. y ADEY, W.R. (1975). Effects of modulated VHF fields on the central nervous system. Ann. N.Y. Acad. Sci. 247: 74.
- BAWIN, S.M. y ADEY, W.R. (1976). Sensitivity of calcium binding in cerebral tissue to weak environmental electric fields oscillating at low frequency. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73 (6): 1999.
- BAWIN, S.M., ADEY, W.R. y SABBOT, I.M. (1978 a). Ionic factors in release of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ from chicken cerebral tissue by electromagnetic fields. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 6314.
- BAWIN, S.M., SHEPPARD, A.R. y ADEY, W.R. (1978 b). Possible mechanisms of weak electromagnetic field coupling in brain tissue. Bioelectrochem. Bioenerg. 5: 67.
- BECKER, R.O. (1961). The bioelectric factors in amphibian limb regeneration. J. Bone Joint Surg. 43-A: 643.
- BEHARI, J., MATHUR, R., SHARMA, K.N. y DATTA, J.M. (1986).

- Biological effects on rats of chronic exposure to 50-Hz fields of moderate intensity. *J. Bioelec.* 5(2): 335.
- BEISCHER, D.E., GRISSETT, J.D. y MITCHELL, R.R. (1973). Exposure of man to magnetic fields alternating at extremely low frequency, USN Report No. NAMRL-1180. Pensacola, Flo., Naval Aerospace Medical Research Laboratory.
- BENIASHVILI, D.S., BILANISHVILI, V.G., y MENABDE, M.S. (1991) Low-frequency electromagnetic radiation enhances the induction of rat mammary tumors by nitrosomethylurea. *Cancer Lett.* 61: 75.
- BENNETT, M.V.L., y CLUSIN, W.T. (1978). Physiology of the ampulla of Lorenzini, the electroreceptor of elasmobranchs. En: *Sensory Biology of Sharks, Skates, and Rays*. Eds: E.S. Hodgson y R.W. Mathewson. Washington DC: Government Printing Office: 483.
- BENVENUTI, S. y IOALE, P. (1988). Initial orientation of homing pigeons: different sensitivity to altered magnetic fields in birds of different countries. *Experientia*, 44: 358
- BERMAN, E., CARTER, H.B. y KINN, J.B. (1978). Observations of mouse fetuses after irradiation with 2.45 GHz microwaves. *Health Phys.* 35: 791.
- BERMAN, E. y CARTER, H.B. (1984). Decreased body weight in fetal rats after irradiation with 2450-MHz (CW) microwaves. *Health Phys.* 46: 537.
- BERMAN, E., CHACON, L., HOUSE, D., KOCH, B.A., KOCH, W.E., LEAL, J., LOVTRUP, S., MANTIPLY, E., MARTIN, A.H., MARTUCCI, G.I., MILD, K.H., MONAHAN, J.C., SANDSTROM, M., SHAMSAIFAR, K., TELL, R., TRILLO, M.A., UBEDA, A. y WAGNER, P. (1990). Development of chicken embryos in a pulsed magnetic field. *Bioelectromagnetics* 11: 169.
- BINDOKAS, V y GREENBERG, B. (1984). Biological effects of a 765 KV, 60-Hz transmission line on honey bees (*Apis mellifera* L.): hemolymph as a possible stress indicator.
- BLACKMAN, C.F., ELDER, J.A., WEIL, C.M., BENANE, S.G. y EICHINGER, D.C. (1979). Induction of calcium-ion efflux from brain tissue by radiofrequency radiation: Effects of modulation frequency and field strenght. *Radio Sci.* 14: 93.
- BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., ELDER, J.A., HOUSE, D.E., LAMPE, J.A. y FAULK, J.M. (1980). Induction of calcium-ion

- efflux from brain tissue by radiofrequency radiation: Effects of sample number and modulation frequency on the power-density window. *Bioelectromagnetics* 1: 35.
- BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., KINNEY, L.S., JOINES, W.T. y HOUSE, D.E. (1982). Effects of ELF fields on calcium-ion efflux from brain tissue in vitro. *Radiat. Res.*, 92: 510.
- BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., HOUSE, D.E. y JOINES, W.T. (1985 a). Effects of ELF (1-120 Hz) and modulated (50 Hz) RF fields on the efflux of calcium ions from brain tissue in vitro. *Bioelectromagnetics*, 6 (1): 1.
- BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., RABINOWITZ, J.R. HOUSE, D.E. y JOINES, W.T. (1985 b). A role for the magnetic field in the radiation-induced efflux of calcium ions from brain tissue in vitro. *Bioelectromagnetics* 6 (4): 327.
- BLACKMAN, C.F., HOUSE, D.E., BENANE, S.G., JOINES, W.T. y SPIEGEL, R.J. (1988). Effect of ambient levels of power-line-frequency electric field on a developing vertebrate. *Bioelectromagnetics* 9: 129.
- BLACKMAN, C.F. BENANE, S.G., HOUSE, D.E. y ELLIOTT, D.J. (1990). Importance of alignment between local DC magnetic field and an oscillation magnetic field in responses of brain tissue "in vitro" and "in vivo". *Bioelectromagnetics* 11: 159.
- BLACKMAN, C.F., BLANCHARD, J.P., BENANE, S.G. y HOUSE, D.E. (1994). Empirical test of an ion parametric resonance model for magnetic field interactions with PC-12 cells. *Bioelectromagnetics* 15: 239.
- BLAKEMORE, R. (1975). Magnetotactic bacteria. *Science* 190: 377.
- BLAKEMORE, R.P., FRANKEL, R.B. y KALMIJN, A.J. (1980). South-seeking magnetotactic bacteria in the Southern Hemisphere. *Nature* 286: 384.
- BLAKEMORE, R.P. y FRANKEL, R.B. (1981). Magnetic navigation in bacteria. *Sci. Am.* 245: 58.
- BLANCHARD, J.P. y BLACKMAN, C.F. (1994). Clarification and application of an ion parametric resonance model for magnetic field interactions with biological systems. *Bioelectromagnetics* 15: 217.
- BLANCHI, C., CEDRINI, L., CERIA, F., MEDA, E. Y RE, G. (1973). Exposure of mammals to strong 50-Hz electric fields: effects on heart's and brain's electrical activity. *Arch.*

- Fisiol. 70: 33. Bioelectromagnetics 5 (3): 305.
- BLASK, D. (1993). Melatonin in oncology. En: Melatonin. Eds: H.S. Yu y R.J. Reiter. CRC Press, Boca Raton, FL: 447.
- BLASIAK, J., ZMYSCONY, M., JOZWIAK, Z., ROSIN, J. y SZMIGIELSKI, S. (1990). Enhancement or reduction of calcium-ion efflux from brain tissues in vitro following exposure to ELF fields depending on intensity of local geomagnetic field. J. Bioelec., 9 (1): 55.
- BORGENS, R.B., BLIGHT, A.R., MURPHY, D.J. y STEWART, L. (1986). Transected dorsal column axons within the Guinea pig spinal cord regenerate in the presence of an applied electric field. J. Comp. Neurol. 250: 168.
- BRADY, R.C. y HILFER, S.R. (1982). Optic cup formation: A calcium-regulated process. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 5587.
- BRAYMAN, A.A., MEGUMI, T. y MILLER, M.W. (1990). Proportionality of ELF electric field-induced growth inhibition to induced membrane potential in "Zea mays" and "Vicia faba" roots. Radiat. Environ. Biophys. 29: 129.
- BRIGHTON, C.T. y McCLUSKEY, W.P. (1988). Response of cultured bone cells to a capacitively coupled electric field: inhibition of cAMP response to parathyroid hormone. J. Orthop. Res. 6: 567.
- BRIX, K. y BUTLER, R. (1986). Spontaneous abortions among VDT operators. American Public Association annual meeting. Las Vegas, Nevada.
- BROADBENT, D.E., BROADBENT, M.H.P., MALE, J.C. y JONES, M.L. (1985). Health of workers exposed to electric fields. British Journal of Industrial Medicine 42: 75.
- BROWN, F.A. (1972). The "clocks" timing biological rhythms. Am. Scientist 60: 756.
- BRUCE-WOLFE, V. y ADAIR, E.R. (1985). Operant control of convective cooling and microwave irradiation by the squirrel monkey. Bioelectromagnetics 6: 365.
- BRULFERT, A., MILLER, M.W., ROBERTSON, D., DOOLEY, D.A. y ECONOMOU, P. (1985). A cytohistological analysis of roots whose growth is affected by a 60-Hz electric field. Bioelectromagnetics 6: 283.
- BUDINGER, T.F. (1981). Nuclear magnetic resonance (NMR) in

- vivo studies: Known thresholds for health effects. *J. Comp. Assist. Tomogr.* 5: 800.
- BUNIN, G.R., WARD, E., KRAMER, S. RHEE, C.A. y MEADOWS, A.T. (1990). Neuroblastoma and parental occupation. *Am J. Epidemiol.* 131: 776.
- BUNN, G.R., WARD, E., KRAMER, S., RHEE, C.A. y MEADOWS, A.T. (1990). Neuroblastoma and parental occupation. *Am. J. Epidemiol.* 131: 776.
- BURACK, G.D., SETO, Y.J., HSIEH, S.T. y DUNLAP, J.L. (1984). The effects of prenatal exposure to a 60-Hz high-intensity electric field on postnatal development and sexual differentiation. *J. Bioelec.* 3(3): 451.
- BURDA, H., MARHOLD, S., WESTENBERG, T., WILTSCHKO, R. y WILTSCHKO, W. (1990). Magnetic compass orientation in the subterranean rodent "Cryptomys hottentotus" (Bathyergidae). *Experientia* 46: 528.
- BYMAN, D., BATTISTA, S.P., WASSERMAN, F.E. y KUNE, T.H. (1985). Effect of microwave irradiation (2.45 GHz, CW) on egg weight loss, egg hatchability, and hatchling growth of the coturnix quail. *Bioelectromagnetics* 6: 271.
- BYUS, C.V., LUNDAK, R.L., FLETCHER, R.M. y ADEY, W.R. (1984). Alterations in protein kinase activity following exposure of cultured human lymphocytes to modulated microwave fields. *Bioelectromagnetics* 5: 341.
- BYUS, C.V., PIEPER, S.E. y ADEY, W.R. (1987). The effects of low-energy 60-Hz environmental electromagnetic fields upon the growth-related enzyme ornithine decarboxylase. *Carcinogenesis* 8 (10): 1385.
- CADOSSI, R., EMILIA, G., CECCHERELLI, G. y TORELLI, G. (1988). Lymphocytes and pulsing magnetic fields. En: *Modern Bioelectricity*. Ed: A.A. Marino. Marcel Dekker, Inc.: 451.
- CAIN, C.D., ADEY, W.R. y LUBEN, R.A. (1987). Evidence that pulsed electromagnetic field inhibit coupling of adenylate cyclase by parathyroid hormone in bone cells. *J. Bone and Mineral Res.* 2: 437.
- CAIN, C.D., SALVADOR, E.Q. y ADEY, W.R. (1988). 60-Hz field prolongs ornithine decarboxylase activity response to 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA). 10th Ann. Meeting of the BEMS. Stamford.
- CAIN, C.D., THOMAS, D.L., MORENO, L. y ADEY, W.R. (1992).

- Magnetic fields and copromotion in carcinogenesis in vitro. En: Electricity and Magnetism in Biology and Medicine, Ed, M. Blank. San Francisco Press.
- CALLE, E. y SAVITZ, D.A. (1985). Leukaemia in occupational groups with presumed exposure to electrical and magnetic fields. N. Engl. J. Med. 313: 1476.
- CAMERON, I.L., HUNTER, K.E. y WINTERS, W.D. (1985). Retardation of embryogenesis by extremely low frequency 60 Hz electromagnetic fields. Physiol. Chem. and Physics and Med. NMR, 17: 135.
- CARMAN, G.J., WALKER, M.M. y LEE, A.K. (1987). Attempts to demonstrate magnetic discrimination by homing pigeons in flight. Animal Learning and Behavior, 15: 124
- CARSON, J.J.L., PRATO, F.S., DROST, D.J., DIESBOURG, L.D. y DIXON, S.J. (1990). Time-varying magnetic fields increase cytosolic free Ca^{++} in HL-60 cells. Am. Physiol. Society C687.
- CARTER, J.H. y GRAVES, H.B. (1975). Effects of high intensity AC electric fields on the electroencephalogram and electrocardiogram of domestic chicks: literature review and experimental results; University Park, Pennsylvania State University.
- CERRETELLI, P. y MALAGUTI, C. (1976). Research carried in Italy by ENEL on the effects of high voltage electric fields. Rev. Gen. Electr. (spec. iss.): 65.
- CLEARY, S.F., GARBER, F. y LIU, L.M. (1982). Effects of X-band microwave exposure on rabbit erythrocytes. Bioelectromagnetics 3: 453.
- CLEARY, S.F., LIU, L.-M., GRAHAM, R. y EAST, J. (1989). "In vitro" fertilization of mouse ova by spermatozoa exposed isothermally to radio-frequency radiation. Bioelectromagnetics 10: 361.
- COELHO, A.M., EASLEY, S.P. y ROGERS, W.R. (1991). Effects of exposure to 30 KV/m, 60-Hz electric fields on the social behavior of baboons. Bioelectromagnetics 12: 117.
- COHEN, D. (1968). Magnetoencephalography: Evidence of magnetic fields produced by alpha-rhythm currents. Science 161: 784.
- COHEN, M.M., KUNSKA, A., ASTEMBORSKI, J.A., McCULLOCH, D. y PASKEWITZ, D.A. (1986). Effect of low-level, 60-Hz electromagnetic fields on human lymphoid cells. I.

- Mitotic rate and chromosome breakage in human peripheral lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 7: 415.
- COLEMAN, M., BELL, J. y SKEET, R. (1983). Leukaemia incidence in electrical workers. *Lancet* 1: 982.
- COLEMAN, M.P., BELL, C.M.J., TAYLOR, H.L., THORNTON-JONES, H. y PRIMIC-ZAKELJ, M. (1985). Leukaemia and electromagnetic fields: a case-control study. En: *Electric and Magnetic Fields in Medicine and Biology*. IEE Conf Pbl no 257. London, pp 122.
- COLEMAN, M. y BERAL, V. (1988). A review of epidemiological studies of the health effects of living near or working with electricity generation and transmission equipment. *Int. J. Epidemiol.* 17, 1.
- COLLIS, C.S. y SEGAL, M.B. (1988). Effects of pulsed electromagnetic fields on Na⁺ fluxes across stripped rabbit colon epithelium. *J. Appl. Physiol.* 65 (1): 124.
- CONTI, P., GIGANTE, E., CIFONE, M.G., ALESSE, E., IANNI, G., REALE, M. y ANGELETTI, P.U. (1983). Reduced mitogenic stimulation of human lymphocytes by extremely low frequency electromagnetic fields. *FEBS Lett.*, 162 (1): 156.
- CONTI, P., GIGANTE, E., CIFONE, M.G., ALESSE, E., FIESCHI, C., BOLOGNA, M. y ANGELETTI, P.U. (1986). Mitogen dose-dependent effect of weak pulsed electromagnetic field on lymphocyte blastogenesis. *FEBS Lett.* 199: 130.
- COOPER, M.S. y KELLER, R.E. (1984). Perpendicular orientation and directional migration of amphibian neural crest cells in DC electrical fields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 160.
- COOPER, M.S. y SCHLIWA, M. (1986). Motility of cultured fish epidermal cells in the presence and absence of direct current electric fields. *J. Cell Biol.* 102: 1384.
- COSSARIZZA, A., MONTI, D., BERSANI, F., PAGANELLI, R., MONTAGNANI, G., CADOSSO, R., CANTINI, M. y FRANCESCHI, C. (1989 a). Extremely low frequency pulsed electromagnetic fields increase interleukin-2 (IL-2) utilization and IL-2 receptor expression in mitogen-stimulated human lymphocytes from old subjects. *FEBS Lett.* 248 (1,2): 141.
- COSSARIZZA, A., MONTI, D., BERSANI, F., CANTINI, M., CADOSSO, R., SACCHI, A. y FRANCESCHI, F. (1989 b). ELF pulsed electromagnetic fields increase cell proliferation in lymphocytes from young and aged subjects. *Biochim.*

Biophys. Res. Commun. 160: 692.

- COULTON, L.A. y BARKER, A.T. (1993). Magnetic fields and intracellular calcium: effects on lymphocytes exposed to conditions for "cyclotron resonance". *Phys. Med. Biol.*, 38: 347.
- CREMER-BARTELS, G., KRAUSE, K. y KUCHLE, H.J. (1983). Influence of low magnetic-field-strength variations on the retina and pineal gland of quails and humans. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 220: 248.
- CHACON, L., TRILLO, M.A., UBEDA, A. y LEAL, J. (1990). A 30-Hz pulsed magnetic field can stop early embryonic development. *J. Bioelec.* 9 (1): 61.
- CHAGNEUX, R., CHAGNEUX, H. y CHALAZONITIS, N. (1977). Decrease in magnetic anisotropy of external segments of the retinal rods after a total photolysis. *Biophys. J.* 18: 125.
- CHAMBRE, M. (1978). Diamagnetic anisotropy and orientation of α -helix in frog rhodopsin and meta II intermediate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75: 5471.
- CHIABRERA, A., VIVIANI, R., PARODI, G., VERNAZZA, G., HINSENKAMP, M. PILLA, A.A., RYABY, J., BELTRAME, F., GRATTAROLA, M. y NICOLINI, C. (1980). Automated absorption image cytometry of electromagnetically exposed frog erythrocytes. *Cytometry* 1 (1): 42.
- CHIABRERA, A., BIANCO, B., CARATOZZOLO, F., GIANNETTI, G., GRATTAROLA, M. y VIVIANI, R. (1985). Electric and magnetic field effects on ligand binding to the cell membrane. En: *Interactions between Electromagnetic Fields and Cells*. Eds: A. Chiabrera, C. Nicolini y H.P. Schwan. Plenum Press, New York and London: 253.
- CHIANG, H., YAO, G.D. y ZHOU, S.J. (1984). Effects of microwave exposure at various power densities on mitochondrial marker enzymes in mouse brains. *J. Bioelec.* 3: 361.
- D'AMBROSIO, G., MOSTACCIUOLO, E., SCAGLIONE, A. y SCARFI, M.R. (1985). Continuous exposure of cell cultures to weak ELF electric fields. *Bioelectrochem. Bioener.* 14: 99.
- D'AMBROSIO, G., MASSA, R., Di BERNARDINO, D., LIOI, M.B., SCAGLIONE, A. y SCARFI, M.R. (1988). Chromosomal aberrations in bovine lymphocytes exposed to 50 Hz electric currents. *J. Bioelectricity* 7: 239.

- D'INZEO, G., GALLI, A. y PALOMBO, A. (1993). Further investigations on non-thermal effects referring to the interaction between ELF fields and transmembrane ionic fluxes. *Bioelectrochem. and Bioenergetics* 30: 93.
- DAL MONTE, A., FONTANESI, G., CADOSSO, R., POLI, G. y GIANCETTI, F. (1988). Pulsed electromagnetic field therapy in the treatment of congenital and acquired pseudarthrosis. En: *Modern bioelectricity*. Ed: A.A. Marino, Marcel Dekker, Inc.: 711.
- DE LOECKER, W., DELPORT, P.W. y CHENG, N. (1989). Effects of pulsed electromagnetic fields on rat skin metabolism. *Biochim. et Biophys. Acta* 982: 9.
- DE LORGE, J. (1974). A psychobiological study of rhesus monkeys exposed to extremely low-frequency low-intensity magnetic fields. USN Report NAMRL-1203. NTIS N. AD A000078, Springfield, Va., NTIS.
- DELGADO, J.M.R., LEAL, J., MONTEAGUDO, J.L. y GARCIA-GRACIA, M. (1982). Embryological changes induced by weak, extremely low frequency electromagnetic fields. *J. Anat.* 134, 3: 533.
- DEMERS, P.A., THOMAS, D.B., ROSENBLATT, K.A., JIMENEZ, L.M., McTIERNAN, A., STALSBERG, H., STEMHAGEN, A., THOMPSON, W.D., CURNEN, M.G., SATARIANO, W., AUSTIN, D.F., ISACSON, P., GREENBERG, R.S., KEY, C., KOLONEL, L.N. y WEST, D.W. (1991). Occupational exposure to electromagnetic fields and breast cancer in men. *Am. J. Epidemiol.* 134: 340.
- DENO, D.W., ZAFFANELLA, L.E. (1982). Field effects of overhead transmission lines and stations. En: *Transmission line reference book: 345 KV and above*. Electric Power research institute, Palo Alto, Ca.
- DESMOND, M.E. (1982). Description of the occlusion of the spinal cord lumen in early human embryos. *Anat. Rec.* 204: 89.
- DESCHAUX, P., DOUSS, T., SANTINI, R., BINDER, P. y FONTANGES, R. (1984). Effect of microwave irradiation (2450 MHz) on murine cytotoxic lymphocyte and natural killer (NK) cells. *J. Microwave Power* 19: 107.
- DIHEL, L.E., SMITH-SONNEBORN, J. y MIDDAUGH, C.R. (1985). Effects of an extremely low frequency electromagnetic field on the cell division rate and plasma membrane of "Paramecium tetraurelia". *Bioelectromagnetics* 6 (1): 61.
- DLUGOSZ, L., VENA, J., BYERS, T., SEVER, L., BRACKEN, M. y

- MARSHALL, E. (1992). Congenital defects and electric bed heating in New York state: a register-based case-control study. *Am. J. Epidemiol* 135: 1000.
- DOLEZALEK, H. (1979). Atmospheric electricity. En: *Handbook of Chemistry and Physics*. Chemical Rubber Publishing Co., Cleveland.
- DOWMAN, R., WOLPAW, J.R., SEEGAL, R.F. y SATYA-MURTI, S. (1989). Chronic exposure of primates to 60-Hz electric and magnetic fields: III Neurophysiologic effects. *Bioelectromagnetics* 10: 303.
- DOWSE, H.B. (1982). The effects of phase shifts in a 10 Hz electric field cycle on locomotor activity rhythm of *Drosophila melanogaster*. *J. Interdiscip. Cycle Res.* 13: 257.
- DUBAND, J-L., VOLBERG, T., SABANAY, I. THIERY, JP. y GEIGER, B. (1988). Spatial and temporal distribution of the adherens-junction-associated adhesion molecule A-CAM during avian embryogenesis. *Development* 103: 325.
- DUDA, D., GRZESIK, J. y PAWLICKI, K. (1991). Changes in liver and kidney concentration of copper, manganese, cobalt and iron in rats exposed to static and low-frequency (50 Hz) magnetic fields. *J. Trace Elem. Electro. Health Dis.* 5 (3): 181.
- DUMANSKY, Y.D., POPOVICH, V.M. y PROKHAVATILO, Y.V. (1976). Hygiene assessment of an electromagnetic field generated by high-voltage power transmission lines. *Gig. Sanit.* 8: 19.
- DUMANSKY, Y.D., POPOVICH, V.M. y KOZYARIN, I.P. (1977). Effects of low frequency (50 Hz) electromagnetic field on functional state of the human body. *Gig. Sanit.* 12: 32.
- DURNEY, C.H., RUSHFORTH, C.K. y ANDERSON, A.A. (1988). Resonant AC-DC magnetic fields: Calculated response. *Bioelectromagnetics* 9: 315.
- DURNEY, C.H., KAMINSKI, M., ANDERSON, A.A., BRUCKNER-LEA, C., JANATA, J. y RAPPAPORT, C. (1992). Investigation of AC-DC magnetic field in planar phospholipid bilayers. *Bioelectromagnetics* 13: 19.
- DUTTA, S.K., SUBRAMONIAM, A. y GHOSH, B. (1986). Microwave radiation-induced calcium ion flux from human neuroblastoma cells: Dependence on depth of amplitude modulation and exposure time. En: *Biological Effects of Electropollution. Brain Tumors and Experimental Models*.

Eds: S.K. Dutta y R.M. Millis. Information Ventures, Inc.
Philadelphia, Pa.: 63.

- DUTTA, S.K., GHOSH, B. y BLACKMAN, C.F. (1989). Radiofrequency radiation-induced calcium ion efflux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture. *Bioelectromagnetics* 10: 197.
- DUTTON, M.S., GALVIN, M.J. y McREE, D.I. (1984). "In vitro" effects of microwave radiation on rat liver mitochondria. *Bioelectromagnetics* 5: 39.
- EASLEY, S.P., COELHO, A.M. J.R. Y ROGERS, W.R. (1991). Effects of exposure to a 60-KV/m, 60-Hz electric field on the social behaviour in baboons. *Bioelectromagnetics*, 12: 361.
- EMILIA, G., TORELLI, G., CECCHERELLI, G. y RUGGERI, M.P. (1985). Effects of low-frequency, low-energy PEMFs on the response to lectin stimulation of human normal and chronic leukaemia lymphocytes. *J. Bioelectricity* 4: 145.
- ERICSON, A. y KALLEN, B. (1986). An epidemiological study of work with video screens and pregnancy outcome: I. A registry study. *Am. J. Ind. Med.* 9: 447.
- ERICSON, A. y KALLEN, B. (1986). An epidemiological study of work with video screens and pregnancy outcome: II. A case-control study. *Am. J. Ind. Med.* 9: 457.
- ERICKSON, C.A. y NUCCITELLI, R. (1984). Embryonic fibroblast motility and orientation can be influenced by physiological electric fields. *J. Cell Biol.* 98: 296.
- FALUGI, C., GRATTAROLA, M. y PRESTIPINO, G. (1987). Effects of low-intensity on the early development of sea urchins. *Biophys. J.* 51: 999.
- FAM, W.Z. (1981). Biological effects of 60-Hz magnetic field on mice. *IEEE Trans. Magnet.* 17: 1510.
- FERRIER, J., ROSS, S.M., KANEHISA, J. y AUBIN, J.E. (1986). Osteoclasts and osteoblasts migrate in opposite directions in response to a constant electric field. *J. Cell Physiol.* 129: 283.
- FEYCHTING, M. y AHLBOM, A. (1993). Magnetic fields and cancer in children residing near swedish high-voltage power lines. *Am. J. Epidemiol.* 138: 467.
- FEYCHTING, M. y AHLBOM, A. (1994). Magnetic fields, leukemia, and central nervous system tumors in swedish adults

- residing near high-voltage power lines. *Epidemiology* 5: 501.
- FINEMAN, R.M., SCHOENWOLF, G.C., HUFF, M. y DAVIS, P.L. (1986). Animal model: Causes of windowing induced dysmorphogenesis (Neural tube defects and early amnion deficit spectrum) in chicken embryos. *Am. J. of Med. Genet.* 25: 489.
- FISCHER, G., UDERMANN, H. y KNAPP, E. (1978). Does a 50-cycle alternating field cause central nervous effects?. *Zentralbl. Bacteriol. Mikrobiol. Hyg. [B]* 166: 381.
- FISHER, P.D., POZNARSKY, M.J. y VOSS, W.A.G. (1982). Effect of microwave radiation (2450 MHz) on the active and passive components of ²⁴Na efflux from human erythrocytes. *Radiat. Res.* 92: 411.
- FITZSIMMONS, R.J., FARLEY, J.R., ADEY, W.R. y BAYLINK, D.J. (1986). Embryonic bone matrix formation is increased after exposure to a low-amplitude capacitively coupled electric field, "in vitro". *Biochim. Biophys. Acta* 882: 51
- FITZSIMMONS, R.J., FARLEY, J.R., ADEY, W.R. y BAYLINK, D.J. (1989). Frequency dependence of increased cell proliferation, in vitro, in exposures to a low-amplitude, low-frequency electric field: evidence for dependence on increased mitogen activity released into culture medium. *J. Cell. Physiol.* 139: 586.
- FLODERUS, B. PERSSON, T., STENLUD, C., LINDER, G., JOHANSSON, C., KIVIRANTA, J., PARSMAN, H., LINDBLOM, M., WENNBERG, A., OST, A. y KNAVE, B. (1992). Occupational exposure to electromagnetic fields in relation to leukemia and brain tumors. A case-control study. National Institute of Occupational Health. Sweden.
- FLODERUS, B. (1994). A review of occupational exposure to magnetic fields in relation to leukaemia and brain tumours. En: *Proceedings of the COST 244 Meetings on Mobile Communications and Extremely Low Frequency Fields and Instrumentation and Measurements in Bioelectromagnetic Research.* Ed: D. Simunic.
- FLORIG, H.K. y HOBURG, J.F. (1990). Power-frequency magnetic fields from electric blankets. *Health Phys.* 58:493.
- FRANKEL, R.B., BLAKEMORE, R.P. y WOLFE, R.S. (1979). Magnetite in freshwater magnetotactic bacteria. *Science* 203: 1355.
- FRANKEL, R.B., BLAKEMORE, R.P., ARAUJO, F.F.T., ESQUIVEL,

- D.M.S. y DANON, J. (1981). Magnetotactic bacteria at the geomagnetic equator. *Science* 212: 1269.
- FRANKEL, R.B. y BLAKEMORE, R.P. (1989). Magnetite and magnetotaxis in microorganisms. *Bioelectromagnetics* 10: 223.
- FREE, M.J., KAUNE, W.T., PHILLIPS, R.D. y CHENG, H.-C. (1981). Endocrinological effects of strong 60-Hz electric fields in rats. *Bioelectromagnetics* 2: 105.
- FREY, A.H. y WESLER, L.S. (1984). Morphine effects appear to be potentiated by microwave energy exposure. *J. Bioelec.* 3: : 373.
- FREY, A.H. y SPECTOR, J. (1986). Exposure to RF electromagnetic energy decreases aggressive behavior. *Aggressive Behav.* 12: : 285.
- FROLEN, H., SVEDENSTAL, B-M. Y PAULSSON, L-E. (1993). Effects of pulsed magnetic fields on the developing mouse embryo. *Bioelectromagnetics* 14: 197.
- FULTON, V.P., COBB, S., PREBLE, L., LEONE, L. y FORMAN, E. (1980). Electrical wiring configurations and childhood leukaemia in Rhode Island. *Am. J. Epidemiol.* 111: 292.
- GABE, M. (1968). *Techniques Histologiques*. Ed: Paris-Masson.
- GAMBERALE, F., OLSON, B.A., ENEOROTH, P., LINDH, T. y WENNERBERG, A. (1989). Acute effects of ELF electromagnetic fields: a field study of linesmen working with 400 kV power lines. *British Journal of Industrial Medicine* 46: 729.
- GANN, D.W. (1976). Biological effects of exposure to high voltage electric fields: final report. Electric Power Research Institute Report RP 98-02. Palo Alto, Calif., Electric Power Research Institute.
- GARLAND, F.C., SHAW, E., GORHAM, E.D., GARLAND, C.F., WHITE, M.R. y SINSHEIMER, P.J. (1990). Electric field exposure in United States navy personnel. *Am. J. Epidemiol* 132: 293.
- GAUGER, J.R. (1985). Household appliance magnetic field survey. *IEEE Trans. Pwr. Apparatus and Systems* 104: 2436.
- GAVALAS, R.J., WALTER, D.O., HAMER, J. y ADEY, W.R. (1970). Effect of low level, low frequency electric fields on EEG and behaviour in "Macaca nemestrina". *Brain Res.* 18: 491.

- GEACINTOV, N.E., VAN NOSTRAND, F., POPE, M. y TINKEL, J.B. (1971). Magnetic field effects on the chlorophyll fluorescence in *Chlorella*. *Biochim. Biophys. Acta* 226: 486.
- GIBSON, R.S. y MORONEY, W.F. (1974). The effects of extremely low frequency magnetic fields on human performance. ADA005898, NAMRL-1195, Pensacola, Fl.
- GILBERT, S.F. (1991). Gastrulation: Reorganizing the embryonic cells. En: *Developmental Biology*. Third Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- GOLDHABER, M.K., POLEN, M.R. y HIATT, R.A. (1988). The risk of miscarriage and birth defects among women who use visual display terminals during pregnancy. *Am. J. of Industrial Medicine* 13: 695.
- GOLDMAN, H., LIN, J.C., MURPHY, S. y LIN, M.F. (1984). Cerebrovascular permeability to 86RB in the rat after exposure to pulsed microwaves. *Bioelectromagnetics* 5: 323.
- GOLDSTEIN, L. y SISKO, Z. (1974). A quantitative electroencephalographic study of the acute effects of x-band microwaves in rabbits. En: *Biological Effects and Health Hazards of Microwave Radiation*. Polish Medical Publishers, Varsovia: 128.
- GOODMAN, E.M., GREENEBAUM, B. y MARRON, M.T. (1976). Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on *Physarum polycephalum*. *Radiat. Res.* 66: 531.
- GOODMAN, E.M., GREENEBAUM, B. y MARRON, M.T. (1979). Bioeffects of extremely low frequency electromagnetic fields: variation with intensity, waveform, and individual or combined electric and magnetic fields. *Radiat. Res.* 78: 485.
- GOODMAN, E.M., GREENEBAUM, B., MARRON, M.T. y CARRICK, K. (1984). Effects of intermittent electromagnetic fields on mitosis and respiration. *J. Bioelec.* 3 (1,2): 57.
- GOODMAN, E.M., SHARPE, P.T., GREENEBAUM, B. y MARRON, M.T. (1986). Pulsed magnetic fields alter the cell surface. *FEBS. Lett.* 199: 275.
- GOODMAN, R., BASSETT, C.A.L. y HENDERSON, A.S. (1983). Pulsing electromagnetic fields induce cellular transcription. *Science* 220: 1283.
- GOODMAN, R. y HENDERSON, A.S. (1986). Sine waves enhance

- cellular transcription. *Bioelectromagnetics* 7: 23.
- GOODMAN, R., ABBOTT, J. y HENDERSON, A.S. (1987). Transcriptional patterns in the chromosome of *Sciara coprophila* following exposure to magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 8: 1.
- GOODMAN, R. y HENDERSON, A.S. (1988). Exposure of salivary gland cells to low-frequency electromagnetic fields alters polypeptide synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 3928.
- GOODMAN, R., WEI, L.-X., XV, J.-C. y HENDERSON, A.S. (1989). Exposure of human cells to low-frequency electromagnetic fields results in quantitative changes in transcripts. *Biochim. Biophys. Acta* 1009: 216.
- GOODMAN, R., BUMANN, J., WEI, L.-X. y HENDERSON, A.S. (1991). Transcriptional changes in cells exposed to extremely low frequency electromagnetic fields. En: *Electromagnetics in Medicine and Biology*. Eds: C.T. Brighton y S.R. Pollack, San Francisco Press, Inc.: 127.
- GOULD, J.L., KIRSCHVINK, J.L. y DEFFEYES, K.S. (1978). Bees have magnetic remanence. *Science* 201: 1026.
- GOULD, J.L. y ABLE, K.P. (1981). Human homing: An elusive phenomenon. *Science* 212: 1061.
- GOULD, J.L. (1982). The map sense of pigeons. *Nature, Lond.* 296: 205.
- GRAHAM, C., COHEN, H.D., COOK, M.R., PHELPS, J., GERNOVICH, M. y FOTOPOULOS, S.S. (1987): A double-blind evaluation of 60 Hz field effects on human performance, physiology, and subjective state. En: "Interaction of Biological Systems with Static and ELF Electric and Magnetic Fields". *Proceedings of the 23rd Annual Hanford Life Sciences Symposium*. Eds.: L.E. Andersen, R.J. Weigel y B.J. Kelman. Springfield, Va., National Technical Information Service: 471.
- GRAHAM, C., COHEN, H.D., COOK, M.R., GERKOVICH, M.M. y RIFFLE, D.R. (1988). Effects of intermittent exposure to 60 Hz fields on human physiology. Technical Report, Contractors' Review Meeting, U.S. Dept. of Energy Office of Energy Storage and Distribution and the Electric Power Research Institute Health Studies Program, Phoenix, AZ.
- GRANDOLFO, M. y VECCHIA, P. (1985). Natural and man-made environmental exposures to static and ELF electromagnetic fields. En: *Biological Effects and Dosimetry of*

Nonionizing Radiation: Static and ELF Electromagnetic Fields. Eds: M. Grandolfo, S.M. Michaelson y A. Rindi, Plenum Press, New York: 49.

- GRAVES, H.B., CARTER, J.H., KELLMEL, D., COOPER, L., POZNANIYAK, D.T. y BANKOSKE, J.W. (1978). Perceptibility and electrophysiological response of small birds to intense 60-Hz electric fields. IEEE Trans. Power Appar. Syst. 97: 1070.
- GREENEBAUM, B., GOODMAN, E.M. y MARRON, M.T. (1982). Magnetic field effects on mitotic cycle length in Physarum. Eur. J. Cell Biol. 27: 156.
- GROZA, P., CARMACIA, R. y BUBUIANN, E. (1978). Blood and urinary catecholamine under the action of a high voltage electric field. Physiologie 15: 139.
- GUENEL, P., RASKMARK, P., ANDERSEN, J.B. y LYNGE, E. (1993). Incidence of cancer in persons with occupational exposure to electromagnetic fields in Denmark. Br. J. Ind. Med. 50: 758.
- GUILLEN GARCIA, P. y MADROÑERO DE LA CAL, A. (1985). Enhancement of bone healing by an exogenous magnetic field and the magnetic vaccine. J. Biomed. Eng., 7: 157
- GUY, A.W., WALLACE, J. y McDOUGALL, J.A. (1979). Circularly polarized 2450-MHz waveguide system for chronic exposure of small animals to microwaves. Radio Sci. 14: 63.
- HACKMAN, R.M. y GRAVES, H.B. (1981). Corticosterone levels in mice exposed to high intensity electric fields. Behav. Neural Biol. 32: 201.
- HALLE, B. (1988). On the cyclotron resonance mechanism for magnetic field effects on transmembrane ion conductivity. Bioelectromagnetics 9: 381.
- HAMBURGER, V. y HAMILTON, H.L. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo. J. Morphol. 88: 49.
- HAMBURGER, S., LOGUE, J.N. y SILVERMAN, P.M. (1983). Occupational exposure to nonionizing radiation and an association with heart disease: An exploratory study. J. Chronic Dis. 36: 791.
- HAMER, J.R. (1968). Effects of low-level low-frequency electric fields on human reaction time. Commun. Behav. Biol. 2 A: 217.

- HAMILTON, H.L. (1952). Outline of development orientation cronology. En: Lillie's Development of the Chick (3rd. edition). Ed.: B.H. Willier. Henry Holt and Co., New York: : 70.
- HAMNERIUS, Y., RASMUSON, A. y RASMUSON, B (1985). Biological effects of high frequency electromagnetic fields on Salmonella typhimurium and Drosophila melanogaster. Bioelectromagnetics 6: 405.
- HANSSON, H.-A. (1981). Purkinje nerve cells changes caused by electric fields: Ultrastructural studies on large term effects on rabbits. Med. Biol. 59: 103.
- HAUF, R. (1982). Electromagnetic ELF fields. En: Non-ionizing Radiation Protection. Ed.: M.J. Suess. WHO European Regional Office Publ. 10, Copenhagen.
- HILTON, D.I. y PHILLIPS, R.D. (1980). Cardiovascular response of rats exposed to 60-Hz electric fields. Bioelectromagnetics 1: 55.
- HINKLE, L., McCAIG, C.D. y ROBINSON, K.R. (1981). The direction of growth of diffrentiating neurones and myoblasts from frog embyros in an applied electric fields. J. Physiol. 314: 121.
- HIRAKI, Y., ENDO, N., TAKIGAWA, M., ASADA, A., TAKAMASHI, H. y SUZUKI, F. (1987). Enhanced responsiveness to parathyroid hormone and induction of functional differentiation of cultured rabbit costal chondrocytes by a pulsed electromagnetic field. Biochim. Biophys. Acta 931: 94.
- HJERESEN, D.L., KAUNE, W.T., DECKER, J.R. y PHILLIPS, R.D. (1980). Effects of 60-Hz electric fields on avoidance behaviour and activity of rats. Bioelectromagnetics 1: 299.
- HJERESEN, D.L., MILLER, M.C., KAUNE, W.T. y PHILLIPS, R.D. (1982). A behavioral response of swine to a 60-Hz electric field. Bioelectromagnetics 3: 443.
- HJERESEN, D.L., FRANCENDESE, A. y O'DONNELL, J.M. (1988). Microwave attenuation of ethanol-induced hypothermia: Ethanol tolerance, time course, exposure duration, and dose response studies. Bioelectromagnetics 9: 63.
- HOLLOWS, F.C. y DOUGLAS, J.B. (1984). Microwave cataract in radiolinemen and controls. Lancet 2: 406.
- HONG, F.T. (1977). Photoelectric and magneto-orientation effects in pigmented biological membranes. J. Cell.

Interface Sci. 58: 471.

HOUILLON, C. (1972). Desarrollo de las aves. En: Embriología. Ediciones Omega, S.A., Barcelona: 71.

HOWE, G.R. y LINDSAY, J.P. (1983). A follow-up study of a ten-percent sample of the Canadian Labour Force. I. Cancer mortality in males. 1965-73. J. Natl. Cancer Inst. 70: 37.

HUUSKONEN, H., JUUTILAINEN, J. Y KOMULAINEN, H. (1993). Effects of low-frequency magnetic fields on fetal development in rats. Bioelectromagnetics 14: 205.

INOUE, M., MILLER, M.W., COX, C. y CARSTENSEN, E.L. (1985a). Growth rate and mitotic index analysis of "Vicia faba L." roots exposed to 60-Hz electric fields. Bioelectromagnetics 6: 293.

INOUE, M., MILLER, M.W., CARSTENSEN, E.L. y BRAYMAN, A.A. (1985b). The relationship between sensitivity to 60-Hz electric fields and induced transmembrane potentials in plants root cells. Radiat. Environ. Biophys. 24: 303.

JAFFE, L.F. y POO, M.-M. (1979). Neurites grow faster towards the cathode than the anode in a steady field. J. Exp. Zool. 209: 115.

JAFFE, L.F. y STERN, C.D. (1979). Strong electrical currents leave the primitive streak of chick embryos. Science. 206: 569.

JAMAKOSMANOVIC, A., JEVRIC, A., NAKAS, M., DRECUN, M. y SHORE, M.L. (1983 a). Comparison of the effect of continuous and pulsed 2450-MHz microwave irradiation on the level of ATP, ADP and AMP in developing rat brain. Period. Biol. 85: 199.

JAMAKOSMANOVIC, A., JEVRIC, A., NAKAS, M., DRECUN, M. y SHORE, M.L. (1983 b). The effect of 2450-MHz microwave irradiation on the level of ATP, ADP, AMP y serotonin in rat brain following repeated whole-body exposure. Period. Biol. 85: 202.

JANKOVIC, B.D., MARIC, D., RANIN, J. Y VELJIC, J. (1991). Magnetic fields, brain and immunity: effect on humoral and cell-mediated immune responses. Intern. J. Neurosci. 59: 25.

JAUCHEM, J.R., FREI, M.R. y HEINMETS, F. (1984). Heart rate changes due to 5,6-GHz radiofrequency radiation: Relation to average power density. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 177:

- JEHENSON, P., DUBOC, D., LAVERGNE, T., GUIZE, L., GUERIN, F., DEGEORGES, M. y SYROTA, A. (1988). Change in human cardiac rhythm induced by a 2-T static magnetic field. *Radiology* 166: 227.
- JENSH, R.P., WEINBERG, I. y BRENT, R.L. (1983a). An evaluation of the teratogenic potential of protracted exposure of pregnant rats to 2450-MHz microwave radiation. I. Morphologic analysis at term. *J. Toxicol. Environ. Health* 11: 23.
- JENSH, R.P., VOGEL, W.H. y BRENT, R.L. (1983b). An evaluation of the teratogenic potential of protracted exposure of pregnant rats to 2450-MHz microwave radiation. II. Postnatal psychophysiologic analysis. *J. Toxicol. Environ. Health* 11: : 37.
- JENSH, R.P. (1984a). Studies of the teratogenic potential of exposure of rats to 6000-MHz radiation. I. Morphologic analysis at term. *Radiat. Res.* 97: 272.
- JENSH, R.P. (1984b). Studies of the teratogenic potential of exposure of rats to 6000-MHz microwave radiation. II. Postnatal psychophysiologic evaluations. *Radiat. Res.* 97: : 282.
- JEVRIC, A., JAMAKOSMANOVIC, A., NAKAS, M. y SHORE, M.L. (1983 a). The effect of a single whole-body exposure to microwave radiation 2450-MHz on serotonin, ADP and inorganic phosphate levels in the rat brain. *Period. Biol.* 85: 204.
- JEVRIC, A., JAMAKOSMANOVIC, A., NAKAS, M. y SHORE, M.L. (1983 b). The effects of repeated whole-body 2450-MHz microwave radiation on the levels of serotonin, ADP and inorganic phosphate in the rat brain. *Period. Biol.* 85: 206.
- JOKELA, K., AALTONEN, J. y LUKKARINEN, A. (1989). Measurements of electromagnetic emissions from video display terminals at the frequency range from 30 Hz to 1 MHz. *Health Phys.* 57: 79.
- JOLLEY, W.R., HINSHAW, D.B., KNIERIM, K. y HINSHAW, D.B. (1983). Magnetic field effects on calcium efflux and insulin secretion in isolated rabbit islets of Langerhans. *Bioelectromagnetics* 4: 103.
- JONES, D.B. (1984). The effect of pulsed magnetic fields on cyclic AMP metabolism in organ cultures of chick embryo tibia. *J. bioelec.* 3 (3): 427.

- JONES, D.B., PEDLEY, R.B. y RYABY, J.T. (1986). The biological mechanism of low energy electromagnetic field effects in murine melanoma. Part 1. The site of action on adenylate cyclase and activation of cAMP dependant differentiation. En: Radiation field effects. Eds: D. Ross, J. Bond y J. Merritt. Alan R. Liss Inc. New York, USA: 1
- JONES, D.S. y MacFADDEN, B.J.: (1982). Induced magnetization in the monarch butterfly, "Danaus plexippus" (Insecta Lepidoptera). J. Exp. Biol. 96: 1.
- JOSHI, M.V., KHAN, M.Z. y DAMLE, P.S. (1978). Effect of magnetic fields on chick morphogenesis. Differentiation 10: 39.
- JUNGERMAN, R.L. y ROSENBLUM, B. (1980). Magnetic induction for the sensing of magnetic fields by animals An analysis. J. Theor. Biol. 87: 25.
- JUUTILAINEN, J., HARRI, M., SAALI, K. Y LAHTINEN, T. (1986 a). Effects of 100-Hz magnetic fields with various waveforms on the development of chick embryos. Radiat. Environ. Biophys. 25: 65.
- JUUTILAINEN, J. y SAALI, K. (1986 b). Development of chick embryos in 1 Hz to 100 kHz magnetic fields. Radiat. Environ. Biophys. 25: 135.
- JUUTILAINEN, J., LAARA, E. y SAALI, K. (1987). Relationship between field strength and abnormal development in chick embryos. Int. J. Radiat. Biol. 52 (5): 787.
- JUUTILAINEN, J., LAARA, E. y PUKKALA, E. (1990). Incidence of leukemia and brain tumours in Finnish workers exposed to ELF magnetic fields. Int. Arch. Occup. environ. Health 62: 289.
- JUUTILAINEN, J., MATILAINEN, P., SAARIKOSKI, S., LAARA, E. y SUONIO, S. (1993). Early pregnancy loss and exposure to 50-Hz magnetic fields. Bioelectromagnetics 14: 229.
- KALMIJN, A.J. y BLAKEMORE, R.P. (1978). The magnetic behavior of mud bacteria. En: Animal Migration, Navigation, and Homing. Eds: K. Schmidt-Koenig y W.T. Keeton. New York: Springer Verlag: 344.
- KANSSON, H.A. (1981). Lamellar bodies in Purkinje nerve cells experimentally induced by electric field. Brain Res. 216: 187.
- KAUNE, W.T., PHILLIPS, R.D., HJERESSEN, D.L., RICHARDSON, R.L.

- y BEAMER, J.L. (1978). A method for the exposure of miniature swine to vertical 60-Hz electric fields. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 25: 276.
- KAUNE, W.T. y GILLIS, M.F. (1981). General properties of the interaction between animals and ELF electric fields. *Bioelectromagnetics* 2: 1.
- KAUNE, W.T. (1985). Coupling of living organisms to ELF electric and magnetic fields. En: *Biological and Human Health Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields*. American Institute of Biological Sciences, Arlington, VA: 25.
- KAVALIERS, M. y OSSENKOPP, K.-P. (1985a). Exposure to rotating magnetic fields alters morphine-induced behavioral responses in two strains of mice. *Neuropharmacology* 24 (4): 337.
- KAVALIERS, M. y OSSENKOPP, K.-P. (1985b). Magnetic fields as environmental specific cues for morphine-induced analgesia: interactions with, tolerance development. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 9: 713.
- KAVALIERS, M. y OSSENKOPP, K.-P. (1986a). Magnetic field inhibition of morphine-induced analgesia and behavioral activity in mice: evidence for involvement of calcium ions. *Brain Res.* 379:30.
- KAVALIERS, M. y OSSENKOPP, K.-P. (1986b). Magnetic fields differentially inhibit Mu, Delta, Kappa and Sigma opiate-induced analgesia in mice. *Peptides* 7: 449.
- KAVALIERS, M. y OSSENKOPP, K.-P. (1987a). Magnetic fields and stress: day-night differences. *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 11: 279.
- KAVALIERS, M. y OSSENKOPP, K.-P. (1987b). Calcium channel involvement in magnetic field inhibition of morphine-induced analgesia. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 336: 308.
- KAVALIERS, M. y OSSENKOPP, K.-P. (1991a). Opioid systems and magnetic field effects in the land snail, "*Cepaea nemoralis*". *Biol. Bull.* 180: 301.
- KAVALIERS, M., OSSENKOPP, K.-P. y TYSDALE, D.M. (1991b). Evidence for the involvement of protein kinase C in the modulation of morphine-induced "analgesia" and the inhibitory effects of exposure to 60-Hz magnetic fields in the snail, "*Cepaea nemoralis*". *Brain Res.* 554: 65.

- KAZ SOONG, H., PARKINSON, W.C., SULIK, G.L. y BAFNA, S. (1990). Effects of electric fields on cytoskeleton of corneal fibroblasts. *Curr. Eye Res.* 9 (9): 893.
- KEETON, W.T., LARKIN, T.S. y WINDSOR, D.M. (1974). Normal fluctuations in the Earth's magnetic field influence pigeon orientation. *J. Comp. Physiol.*, 95: 95
- KENNY-MOBBS, T y THOROGOOD, P. (1987). Autonomy of differentiation in avial brachial somites and the influence of adjacent tissues. *Development* 100: 449.
- KIM, Y.A., FOMENKO, B.S., AGAFONOVA, T.A. y AKOEV, I.G. (1985). Effects of microwave radiation (340 and 900 MHz) on different structural levels of erythrocyte membranes. *Bioelectromagnetics* 6: 305.
- KIRSCHVINK, J.L., KOBAYASHI-KIRSCHVINK, A. y WOODFORD, B. J. (1992). Magnetite biomineralization in the human brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 7683.
- KOCH, W.E. y KOCH, B.A. (1991). Exposure of chicken embryos to selected magnetic fields. *J. Bioelec.* 10: 65.
- KOENIG, H.L. (1974). ELF and VLF signal properties: Physical characteristics. En: *ELF and VLF Electromagnetic Field Effects*. Ed: M. Persinger. Plenum Press, New York.
- KOZYARIN, I.P. (1981). Effects of low frequency (50 Hz) electric fields on animals of different ages. *Gig. Sanit.* 8: 18.
- KRAUSE, D., SKOWRONSKI, W.J., MULLINS, J.M., NARDONE, R.M. y GREENE, J.J. (1991). Selective enhancement of gene expression by 60 Hz electromagnetic radiation. En: *Electromagnetics in medicine and biology*. Ed: C.T. Brighton y S.R. Pollack, San Francisco Press, Inc: 133.
- KUES, H.A., HIRST, L.W., LUTTY, G.A., D'ANNA, S.A. y DUNKELBERGER, G.R. (1985). Effects of 2.45-GHz microwaves on primate corneal endothelium. *Bioelectromagnetics* 6: 177.
- KUHLMANN, R.S. y KOLESARI, G.L. (1984). The spontaneous occurrence of aortic arch and cardiac malformations in the White Leghorn chick embryo (*Gallus domesticus*). *Teratology* 30: 55.
- KURPPA, K., HOLMBERG, P.C., RANTALA, K., NURMINEN, T., y SAXEN, L. (1985). Birth defects and exposure to video display terminals during pregnancy. *Scand. J. Work Environ. Health* 11: 353.

- LAI, H., HORITA, A., CHOU, C.K. y GUY, A.W. (1984). EtOH-induced hypothermia and EtOH consumption in the rat are affected by low-level microwave irradiation. *Bioelectromagnetics* 5: 213.
- LAI, H., CARINO, A., HORITA, A. y GUY, A.W. (1992). Single vs. repeated microwave exposure: Effects on benzodiazepine receptors in the brain of the rat. *Bioelectromagnetics* 13: 57.
- LANDAUER, W. (1967). The Hatchability of Chick Eggs as influenced by Environment and Heredity. Revised Edition Monograph 1, University of Connecticut, Agricultural Experiment station. Storrs.
- LANGE, D.G. y SEDMAK, J. (1991). Japanese encephalitis virus (JEV): Potentiation of lethality in mice by microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 12: 335.
- LEAL, J., TRILLO, M.A., UBEDA, A., ABRAIRA, V., SHAMSAIFAR, K. y CHACON, L. (1986). Magnetic environment and embryonic development: a role of the Earth's field. *IRCS Med. Sci*: 14: 1145.
- LEAL, J., SHAMSAIFAR, K., TRILLO, M.A., UBEDA, A., ABRAIRA, V. y CHACON, L. (1988). Embryonic development and weak changes of the geomagnetic field. *J. Bioelec.* 7(2): 141.
- LEDNEV, V.V. (1991). Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems. *Bioelectromagnetics* 12: 71.
- LEMIRE, R.J., LOESER, J.D., LEECH, R.W. y ALVORD, E.C. (1975). Normal and abnormal development of the human nervous system. Hagerstown, M.D.. Eds: Harper and Row.
- LERCHL, A., REITER, R.J., HOWES, K.A., NONAKA, K.O. y STOKKAN, K-A. (1991). Evidence that extremely low frequency Ca^{2+} -cyclotron resonance depresses pineal melatonin synthesis in vitro. *Neurosci. Lett.* 124: 213.
- LEUCHT, TH. (1987). Effects of weak magnetic fields on background adaptation in *Xenopus laevis*. *Naturwissenschaften*, 74, S: 192
- LEUNG, F.C. ROMMEREIM, D.N., STEVENS, R.G., WILSON, B.W., BUSCHBOM, R.L. y ANDERSON, L.E. (1988). Effects of electric fields on rat mammary tumor development induced by 7, 12-dimethylbenz(a) anthracene. En 10th Annual Meeting abstracts, Bioelectromagnetics Society, Stanford, Conn., Baithersburg, Md.: 2.

- LIBOFF, A.R., WILLIAMS JR., T., STRONG, D.M. y WISTAR, JR., R. (1984). Time-varying magnetic fields: Effect on DNA synthesis. *Science* 223: 818.
- LIBOFF, A.R. (1985). Cyclotron resonance in membrane transport. En: *Interactions between electromagnetic fields and cells*. Eds: A. Chiabrera, C. Nicolini y H.P. Schwan. NATO ASI Series A. Vol. 97. Plenum Press. New York: 281.
- LIBOFF, A.R., ROZEK, R.J., McLEOD, B.R. Y SMITH, S.D. (1987). Ca^{2+} -45 cyclotron resonance in human lymphocytes. *J. Bioelec.* 6: 13.
- LIBOFF, A.R., THOMAS, J.R. y SCHROT, J. (1989). Intensity threshold for 60-Hz magnetically induced behavioral changes in rats. *Bioelectromagnetics* 10: 111.
- LIBURDY, R.P. y PENN, A. (1984 a). Microwave bioeffects in the erythrocyte are temperature and pO₂ dependent: Cation permeability and protein shedding occur at the membrane phase transition. *Bioelectromagnetics* 5: 283.
- LIBURDY, R.P. y WYANT, A. (1984 b). Radiofrequency radiation and the immune system. Part 3. "In vitro" effects on human immunoglobulin and on murine T and B lymphocytes. *Int. J. Radiat. Biol.* 46: 67.
- LIN, R.S., DISCHINGER, P.C., CONDE, J. y FARRELL, K.P. (1985). Occupational exposure to electromagnetic fields and the occurrence of brain tumors: An analysis of possible association. *J. Occup. Med.* 27: 413.
- LIN, J.C., SU, J.-L. y WANG, Y. (1988). Microwave-induced thermoelastic pressure wave propagation in the cat brain. *Bioelectromagnetics* 9: 141.
- LIN, C.Q. y BISSELL, M.J. (1993). Multi-faceted regulation of cell differentiation by extracellular matrix. *FASEB J.* 7: 737.
- LIN-LIU, S., ADEY, W.R. y POO, M.-M. (1984). Migration of cell surface Concanavalin A receptors in pulsed electric fields. *Biophys. J.* 45: 1211.
- LINDBOHM, M.L., HIETANEN, M., KYRONEN, P., SALLMEN, M., VON NANDELSTADH, P., TASKINEN, H., PEKKARINEN, M., YIKOSKI, M. y HEMMINKI, K. (1992). Magnetic fields of video display terminals and spontaneous abortion. *Am. J. Epidemiol.* 136: 1041.

- LOHMANN, K.J. y WILLOWS, A.O.D. (1987). Lunar-modulated geomagnetic orientation by a marine mollusk. *Science*, 235: 331.
- LONDON, S.J., THOMAS, D.C., BOWMAN, J.D., SOBEL, E., CHENG, T.C. y PETERS, J.M. (1991). Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *Am. J. Epidemiol.* 134: 923.
- LOOMIS, D.P., SAVITZ, D.A. y ANANTH, C.V. (1994). Breast cancer mortality among female electrical workers in the United States. *J. Natl. Cancer Inst.* 86: 921.
- LORDS, J.L., DURNEY, C.H., BORG, A.M. y TINNEY, C.E. (1973). Rate effects in isolated hearts induced by microwave radiation. *IEEE Trans MTT* 21: 834.
- LOVELY, R.H., MIZUMORI, S.J.Y., JOHNSON, R.B. y GUY, A.W. (1983). Subtle consequences of exposure to weak microwave fields: Are there non-thermal effects?. En: *Microwaves and Thermoregulation*. Ed.: E.R. Adair, New York, Academic Press.
- LOVELY, R.H. (1988). Recent studies in the behavioral toxicology of ELF electric and magnetic fields. En: "Electromagnetic fields and neurobehavior function". Eds.: M.E. O'Connor y R.H. Lovely. New York, A.R. Liss, Inc.
- LOVELY, R.H., BUSCHBOM, R.L., SLAVICH, A.L., ANDERSON, L.E., HANSEN, N.H. y WILSON, B.W. (1994). Adult leukemia risk and personal appliance use: A preliminary study. *Am. J. Epidemiol.* 140: 510.
- LOVSUND, P., OBERG, P.A. y NILSSON, S.E.G. (1982). ELF magnetic fields in electrosteel and welding industries. *Radio Sci.* 17: 35S.
- LOWENSTAM, H.A. (1962). Magnetite in denticle capping in recent chitons (Polyplacophora). *Geol. Soc. Am. Bull.* 73: 435.
- LUBEN, R.A., CAIN, C.D., CHEN, M.C.-Y., ROSEN, D.M. y ADEY, W.R. (1982). Effects of electromagnetic stimuli on bone cells "in vitro": Inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy low-frequency fields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79: 4180.
- LUNA, L.G. (Editor) (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, New York: Blakiston Division, McGraw-Hill.

- LUTHER, P.W., PENG, H.B. y LIN, J.J. (1983). Changes in cell shape and actin distribution induced by constant electric fields. *Nature* 303: 61.
- LYLE, D.B., SCHECHTER, P. ADEY, W.R. y LUNDAK, R.L. (1983). Suppression of T-Lymphocyte cytotoxicity following exposure to sinusoidally amplitude-modulated fields. *Bioelectromagnetics* 4: 281.
- LYLE, D.B., AYOTTE, R.D., SHEPPARD, A.R. y ADEY, W.R. (1986). Proliferation of myeloid leukemia cell lines, and allogenic toxicity in the presence of 60 Hz fields. Contractor's Review meeting, U.S. Dept. of Energy office of energy storage and distribution and the electric power research institute health studies program, Denver, CO.
- LYMANGROVER, J.R., KEKU, E. y SETO, Y. J. (1983). 60 Hz Electric field alters the steroidogenic response of rat adrenal tissue, "in vitro". *Life Sciences* 32: 691.
- LYMANGROVER, J.R., KEKU, E., HSIEM, S.T., DUNLAP, W.P. y SETO, Y.J. (1987). Direct power-frequency electric field effects on mammalian endocrine tissue. *Environ. Res.* 43: 157.
- MACK, W., PRESTON-MARTIN, S. y PETERS, J.M. (1991). Astrocytoma risk related to job exposure to electric and magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 12: 57.
- MADDEN, R.C. y PHILLIPS, J.B. (1987). An attempt to demonstrate magnetic compass orientation in two species of mammals. *Animal Learning and Behavior*, 15: 130.
- MAFFEO, S., MILLER, M.W. y CARSTENSEN, E.L. (1984). Lack of effect of weak low frequency electromagnetics fields on chick embryogenesis. *J. Anat.* 139: 613.
- MAFFEO, S., BRAYMAN, A.A., MILLER, M.W., CARSTENSEN, E.L., CIARAVINO, V. y COX, C. (1988). Weak low frequency electromagnetic fields and chick embryogenesis: Failure to reproduce positive findings. *J. Anat.* 157: 101.
- MALININ, G.I., GREGORY, W.D. y MORELLI, L. (1976). Evidence of morphological and physiological transformation of mammalian cells by strong magnetic fields. *Science*, 194: 844.
- MALTER, M., SCHRIEVER, G., KÜHNLEIN, R. y SÜSS, R. (1987). Tumoricidal cells increased by pulsating magnetic field. *Anticancer Res.* 7: 391.

- MANCUSO, T.F. (1982). Epidemiological study of tumors of the central nervous system in Ohio. *Ann. New York Acad. Sci.* 381: 17.
- MANN, S., FRANKEL, R.B. y BLAKEMORE, R.P. (1984 a). Structure, morphology and crystal growth of bacterial magnetite. *Nature* 310: 405.
- MANN, S., MOENCH, T.T. y WILLIAMS, R.J.P. (1984 b). A high resolution electron microscopic investigation of bacterial magnetite: Implications for crystal growth. *Proc. Royal Soc. (London)* 221: 385.
- MARCUS, M. (1990). Epidemiologic studies of VDT and pregnancy outcome. *Reproductive Toxicology* 4: 51.
- MARKOV, M.S., WANG, S. y PILLA, A.A. (1993). Effects of weak low frequency sinusoidal and dc magnetic fields on myosin phosphorylation in a cell-free preparation. *Bioelectrochem Bioenerg.* 30: 119.
- MARET, G. y DRANSFELD, K. (1977). Macromolecules and membranes in high magnetic fields. *Physica*, 86-88b: 1077.
- MARINO, A.A., BERGER, T.J., AUSTIN, B.P., BECKER, R.O. y HART, F.X. (1977). In vivo bioelectrochemical changes associated with exposure to extremely low frequency electric fields. *Physiol. Chem. Phys.* 9: 433.
- MARINO, A.A., CULLEN, J.M., REICHMANIS, M. y BECKER, R.O. (1979). Fracture healing in rats exposed to extremely low-frequency electric fields. *Clin. Orthop.* 145: 239.
- MARRON, M.T., GOODMAN, E.M., SHARPE, P.T. y GREENEBAUM, B. (1988). Low frequency electric and magnetic fields have different effects on the cell surface. *FEBS Lett.* 230 (1,2): 13.
- MARTIN, A.H. (1988). Magnetic fields and time dependent effects on development. *Bioelectromagnetics* 9: 393.
- MARTIN, A.H. (1992). Development of chicken embryos following exposure to 60-Hz magnetic fields with differing waveforms. *Bioelectromagnetics* 13: 223.
- MARTIN, H., KORALL, H. y FÖRSTER, B. (1989). Magnetic field effects on activity and ageing in honeybees. *J. Comp. Physiol. A*, 164: 423
- MATANOSKI, G.M., ELLIOTT, E.A., BREYSSE, P.N. y LYNBERG, M.C. (1993). Leukemia in telephone linemen. *Am. J. Epidemiol.* 137: 609.

- MATHER, J.G. y BAKER, R.R. (1981). Magnetic sense of direction in woodmice for route-based navigation. *Nature* 291: 151.
- McCAIG, C.D. (1986). Electric fields, contact guidance and the direction of nerve growth. *J. Embryol. exp. Morph.* 94: 245.
- McCLANAHAN, B.J. y PHILLIPS, R.D. (1983). The influence of electric field exposure on bone growth and fracture repair in rats. *Bioelectromagnetics* 4: 11.
- McDONALD, A.D., CHERRY, N., DELORME, C., y McDONALD, J.C. (1986). Visual display units and pregnancy: evidence from the Montreal survey. *J. Occup. Med.* 28: 1226.
- McDOWALL, M.E. (1983). Leukemia mortality in electrical workers in England and Wales. *Lancet* 1: 246.
- McDOWALL, M.E. (1986). Mortality of persons resident in the vicinity of electricity transmission facilities. *Br. J. Cancer.* 53: 271.
- McLEOD, K.J., DONAHUE, M.J., LEVIN, P.E. y RUBIN, C.T. (1991). Low-frequency sinusoidal electric fields alter calcium fluctuations in osteoblast-like cells. En: *Electromagnetics in Medicine and Biology*. Eds: C.T. Brighton y S.R. Pollack, San Francisco Press, Inc.: 111.
- MIKHAIL, E.L. y FAM, W.Z. (1992). Incidence of lymphoma in CFW mice chronically exposed to low-frequency electromagnetic fields. En: *Electricity and Magnetism in Biology and Medicine*. Ed: M. Blank. San Francisco Press.
- MIKLAVCIC, D., SERSA, G., NOVAKOVIC, S. y REBERSEK, S. (1990). Tumour bioelectric potential and its possible exploitation for tumour growth retardation. *J. Bioelec.* 9: 133.
- MILD, K.H., LÖVDAHL, L., LÖVSTRAND, K.-G. y LOVTRUP, S. (1982). Effect of high-voltage pulses on the viability of human leucocytes "in vitro". *Bioelectromagnetics* 3: 213.
- MILHAM, S. (1979). Mortality in aluminium reduction plant workers. *J. Occup. Med.* 21: 474.
- MILHAM, S. (1982). Mortality from leukaemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *N. Engl. J. Med.* 307: 249.
- MILHAM, S. (1983). Occupational Mortality in Washington State, 1950-1979. En: DHHS (NIOSH) Publication No 83-116. Cincinnati, Ohio.

- MILHAM, S. (1985 a). Silent keys: leukaemia mortality in amateur radio operators. *Lancet* 1: 811.
- MILHAM, S. (1985 b). Mortality in workers exposed to electromagnetic fields. *Environ. Health Persp.* 62: 297.
- MILLER, D.L. (1991). Electric fields induced in chicken eggs 60-Hz magnetic fields and the dosimetric importance of biological membranes. *Bioelectromagnetics*, 12: 349.
- MONAHAN, J.C. (1986). The effect of 2450 MHz radiation on the cholinergic system in the mouse. En: *Biological Effects of Electropollution: Brain Tumors and Experimental Models*. Eds: S.K. Dutta y R.M. Millis. Information Ventures, Inc. Philadelphia, Pa.: 91.
- MOONEY, N.A., SMITH, R.E. y WATSON, B.M. (1986). Effect of ELF pulsed magnetic fields on the mitogenic response of peripheral blood mononuclear cells. *Bioelectromagnetics* 7: 387.
- MOORE, B.R., STANHOPE, K.J. y WILCOX, D. (1987). Pigeons fail to detect low-frequency magnetic fields. *Animal Learning and Behavior*, 15: 115
- MOORE, B.R. (1988). Magnetic fields and orientation in homing pigeons: Experiments of the late W.T. Keeton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 4907
- MORRIS, J.E. y PHILLIPS, R.D. (1982). Effects of 60-Hz electric fields on specific humoral and cellular components of the immune system. *Bioelectromagnetics* 3: 341.
- MORRIS, J.E., y PHILLIPS, R.D. (1983). (Erratum). Effects of 60-Hz electric fields on specific tumoral and cellular components of the immune system. *Bioelectromagnetics* 4: 294.
- MORRIS, J.E. y RAGAN, H.A. (1979). Immunological studies with 60-Hz electric fields. En: *Biological Effects of Extremely--Low-Frequency Electromagnetic Fields*. Proceedings of the 18th Annual Hanford Life Sciences Symposium. CONF 781016, National Technical Information Service. Eds: R.D. Phillips et al. Springfield, Va.
- MOSE, J.R. (1978). Problems of housing quality. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol.* [B] 166: 292.
- MOSS, W.S. (1964). A preliminary report on the effects of electric fields on mice. *Aerospace Med.* 35: 374.

- MURAYAMA, M. (1965). Orientation of sickled erythrocytes in a magnetic field. *Nature* 206: 420.
- MYERS, A., CARTWRIGHT, R.A. y BONNELL, J.A. (1985). Overhead power lines and childhood cancer. *International Conference on Electric and Magnetic Fields in Medicine and Biology*. London.
- NAWROT, P.S., McREE, D.I. y GALVIN, M.J. (1985). Teratogenic, biochemical and histological studies with mice prenatally exposed to 2.45-GHz microwave radiation. *Radiat. Res.* 102: : 35.
- NEUBAUER, C., PHELAN, A.M., KUES, H. y LANGE, D.G. (1990). Microwave irradiation of rats at 2.45 GHz activates pinocytotic-like uptake of tracer by capillary endothelial cells of cerebral cortex. *Bioelectromagnetics* 11: 261.
- NORDSTROM, S., BIRKE, E. y GUSTAVSSON, L. (1983). Reproductive hazards among workers at high voltage substations. *Bioelectromagnetics* 4: 91.
- NORTON, L.A., ROVETTI, L.A. (1988). Calcium incorporation in cultured chondroblasts perturbed by an electromagnetic field. *J. Orthop. Res.*
- NRPB, NATIONAL RADIOLOGICAL PROTECTION BOARD. (1992). *Electromagnetic Fields and the Risk of Cancer* 3 (1), UK.
- NUCCITELLI, R. y ERICKSON, C.A. (1983). Embryonic cell motility can be guided by physiological electric fields. *Exp. Cell Res.* 147: 195.
- NUCCITELLI, R. (1988). Physiological electric fields can influence cell motility, growth and polarity. En: *Advances in Cell Biology*. Ed: K. Miller. JAI Press, Greenwich, Ct.: : 213.
- O'CONNOR, M.E. (1985). Effects of radiofrequency radiation during development: The prenatal period as a model system. En: *Behavioral Effects of Microwave Radiation Absorption*. Eds: J. Monahan y J. D'Andrea. HHS Publication. Nº. FDA 85-8238, Washington, D.C., U.S. Government Printing Office: : 102.
- OLCERST, R.B., BELMAN, S., EISENBUD, M., MUMFORD, W.W. y RABINOWITZ, J.R. (1980). The increased passive efflux of sodium and rubidium from rabbit erythrocytes by microwave radiation. *Radiat. Res.* 82: 244.

- OLCESE, J., REUSS, S. y VOLLRATH, L. (1985). Evidence for the involvement of the visual system in mediating magnetic field effects on pineal melatonin synthesis in the rat. *Brain Res.* 333: 382.
- OLCESE, J., REUSS, S., STEHLE, J., STEINLECHNER, S. y VOLLRATH, L. (1987). The mammalian pineal and retinae as geomagnetic field detectors. *EPSG Newslett. Suppl.* 7: 10.
- OLCESE, J., REUSS, S., STEHLE, J., STEINLECHNER, S. y VOLLRATH, L. (1988). Responses of the mammalian retina to experimental alteration of the ambient magnetic field. *Brain Res.* 448: 325
- OLIN, R., VAGERO, D. y AHLBOM, A. (1985). Mortality experience of electrical engineers. *Brit. J. Ind. Med.* 42: 211.
- OLSEN, M.W. y BYERLY, T.C. (1935). The orientation of the embryo in the egg of the domestic fowl. *Poultry Sci.* 14: 46.
- OLSEN, J.H., NIELSEN, A. y SCHULGEN, G. (1993). Residence near high voltage facilities and risk of cancer in children. *Br. Med. J.* 307: 891.
- OMOTE, Y., HOSOKAWA, M., KOMATSUMOTO, M., NAMIENO, T., NAKAJIMA, S., KUBO, Y. y KOBAYASHI, M. (1990). Treatment of experimental tumors with a combination of a pulsing magnetic field and an antitumor drug. *Syn. J. Cancer Res.* 81: 956.
- ORIDA, N. y FELDMAN, J.D. (1982). Directional protrusive pseudopodial activity and motility in macrophages induced by extracellular electric fields. *Cell Motility* 2: 243.
- OROZA, M.A., CALCICEDO, L., SANCHEZ-FRANCO, F. y RIVAS, L. (1987). Hormonal, hematological and serum chemistry effects of weak pulsed electromagnetic fields on rats. *J. Bioelec.* 6 (2): 139.
- OSCAR, K.J., GRUENAU, S.P., FOLKER, M.T. y RAPOPORT, S.I. (1982). Local cerebral blood flow after microwave exposure. *Brain Res.* 204: 220.
- OSSENKOPP, K-P. y KAVALIERS, M. (1988). Clinical and applied aspects of magnetic field exposure: a possible role for the endogenous opioid systems. *J. Bioelec.* 7(2): 189.
- OTAKA, Y., KITAMURA, S., FURUTA, M. y SHINOHARA, A. (1992). Sex-linked recessive lethal test of *Drosophila melanogaster* after exposure to 50-Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 13: 67.

- OTTANI, V., MONTI, M.G., MOROCUTTI, M., FERRI, M., STROCCHI, R., RUGGERI, A. y BARBIROLI, B. (1984a). Influence of pulsed electromagnetic fields on regenerating rat liver after partial hepatectomy. *J. Anat.* 139 (2): 253.
- OTTANI, V., MONTI, M.G., PICCININI, G., PERNECCO, L., ZANIOL, P., RUGGERI, A. y BARBIROLI, B. (1984b). Pulsed electromagnetic fields increase the rate of rat liver regeneration after partial hepatectomy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 176: 371.
- OTTENBREIT, M.J., LIN, J.C., INOUE, S. y PETERSON, W.D. (1981). In vitro microwave effects on human neutrophil precursor cells (CFU-C). *Bioelectromagnetics* 2: 203.
- OZAWA, H., ABE, E., SHIBASAKI, Y. FUKUHARA, T. y SUDA, T. (1989). Electric fields stimulate DNA synthesis of mouse osteoblast-line cells (MC3T3-E1) by a mechanism involving calcium ions. *J. Cell. Physiol.* 138: 477.
- PACKARD, D.S. y JACOBSON, A.G. (1976). The influence of axial structures on chick somite formation. *Develop. Biol.* 53: 36.
- PAPI, F. y IOALE, P. (1988). Pigeon navigation: new experiments on interaction between olfactory and magnetic cues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 91A: 87
- PARKER, J.E. y WINTERS, W.D. (1988). Expression of gene specific RNA in cultural cells exposed to cyclic 60 Hz magnetic fields. En: "10 th Annual Meeting abstracts", Stanford, Conn. Gaithersburg, Md., Bioelectromagnetics Society: 27.
- PARKINSON, W.C. y HANKS, C.T. (1989 a). Search for cyclotron resonance in cells in vitro. *Bioelectromagnetics* 10: 129.
- PARKINSON, W.C. y HANKS, C.T. (1989 b). Experiments on the interaction of electromagnetic fields with mammalian systems. *Biol. Bull.* 176(S): 170.
- PARKINSON, W.C. y SULIK, G.L. (1992). Diatom response to extremely low-frequency magnetic fields. *Radiation Res.* 130: : 319.
- PARREÑO, A., SARAZA, M.L., MERCADER, J. y DELGADO, J.M.R. (1984). Reduction of plasma gamma-globulin in rats exposed to weak electromagnetic fields. *IRCS Med. Sci.* 12: 1092.
- PATEL, N. y POO, M-M (1982). Orientation of neurite growth by

- extracellular electric fields. *J. Neurosci.* 2 (4): 483.
- PERRY, F.S., REICHMANS, M., MARINO, A.A. y BECKER, R.O. (1981). Environmental power-frequency magnetic fields and suicide. *Health Phys.* 41: 267.
- PERRY, A., BAUER, G.B. y DIZON, A.E. (1981). Magnetite in the green turtle. *EOS Trans. Amer. Geophys. Union* 62: 850.
- PERSINGER, M.A. y NOLAN, M. (1985). Partial amnesia for a narrative following application of theta frequency electromagnetic fields. *J. Bioelec.* 4: 481.
- PERSSON, L.I., HANSSON, H.-A., ROZELL, B., y SVENNUNG, N.-G. (1984). Effects of microwaves on the central nervous system. *Acta Neurologica Scand.* 69: 142.
- PERSSON, B.R.R., LINDVALL, M., MALMGREN, L. y SALFORD, L.G. (1992). Interaction of low-level combined static and extremely low-frequency magnetic fields with calcium ion transport in normal and transformed human lymphocytes and rat thymic cells. En: *Interaction Mechanisms of Low-Level Electromagnetic Fields and Living Systems*. Eds: B. Norden y B. Ramel. Oxford: Oxford University Press: 199.
- PETERS, W.J., JACKSON, R.W. y IWANO, K. (1979). Effects of controlled electromagnetic radiation on the growth of cells in tissue culture. *J. Surg. Res.* 27: 8.
- PETERS, W.G. y DE GEUS, D. (1981). Cell proliferation of the neuroepithelium in embryonic stages of induced spina bifida. *Acta Morphol. Neerl-Scand.* 19: 197.
- PETERS, J.M., PRESTON-MARTIN, S. y YU, M.C. (1981). Brain tumors in children and occupational exposure of parents. *Science* 213: 235.
- PHILLIPS, J.B. (1986). Two magnetoreception pathways in a migratory salamander. *Science*, 233: 765
- PHILLIPS, J.L., RUTLEDGE, L. y WINTERS, W.D. (1986). Transferrin binding to two human colon carcinoma cell lines: Characterization and effect of 60-Hz Electromagnetic fields. *Cancer Res.* 46: 239.
- PHILLIPS, J.L. y McCHESNEY, L. (1991). Effect of 72 Hz pulsed magnetic field exposure on macromolecular synthesis in CCRF-CEM cells. *Cancer Biochem. Biophys.* 12: 1.
- PHILLIPS, R.D., CHANDON, J.H., FREE, M.J. et al. (1978). Biological effects of 60-Hz electric fields on small laboratory animals. Annual Report, DOE Report No.

HCP/T1830-3. Washington, D.C., Department of Energy.

- POLITIS, M.J. y ZANAKIS, M.F. (1988). Short term efficacy of applied electric fields in the repair of the damaged rodent spinal cord: Behavioral and morphological results. *Neurosurgery* 23: 582.
- POLK, C. (1974). Sources, propagation, amplitude and temporal variation of extremely low frequency (0-100 Hz) electromagnetic fields. En: *Biologic and Clinical Effects of Low-frequency Magnetic and Electric Fields*. Eds: J.G. Llauro, A. Sances, J.H. Battocletti. Thomas Publisher, Springfield.
- POOLE, C., KAVET, R., FUNCH, D.P., DONELAN, K., CHARRY, J.M. y DREYER, N.A. (1993). Depressive symptoms and headaches in relation to proximity of residence to an alternating-current transmission line right-of-way. *Am. J. Epidemiol.* 137: 318.
- PORTET, R.T. y CABANES, J. (1988). Development of young rats and rabbits exposed to a strong electric field. *Bioelectromagnetics* 9: 95.
- PRASAD, A.V., MILLER, M.W., CARSTENSEN, E.L., COX, C., AZADNIV, M. y BRAYMAN, A.A. (1991). Failure to reproduce increased calcium uptake in human lymphocytes at purported cyclotron resonance exposure conditions. *Radiat. Environ. Biophysics* 30: 305.
- PRASAD, A.V., MILLER, M.W., COX, C., CARSTENSEN, E.L., HOOPS, H. y BRAYMAN, A.A. (1994). A test of the influence of cyclotron resonance exposures on diatom motility. *Health Phys.* 66: 305.
- PRESTON-MARTIN, S. HENDERSON, B.E. y PETERS, J. (1982). Descriptive epidemiology of central nervous system neoplasms in Los Angeles County. *Ann. New York Acad. Sci.* 381: 202.
- PROCHWATILO, J.W. (1976). Effects of electromagnetic fields of industrial frequency (50 Hz) on the endocrine system. *Vrach. Delo.* 11: 135.
- QUINLAN, W.J., PETRONIDAS, D., LEBDA, N., PETTIT, S. y MICHAELSON, S.M. (1985). Neuroendocrine parameters in the rat exposed to 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 6: 381.
- RAGAN, H.A., BUSCHBOM, R.L., PIPES, M.J., PHILLIPS, R.D. y KAUNE, W.T. (1983). Hematologic and serum density studies in rats exposed to 60-Hz electric fields.

Bioelectromagnetics 4: 79.

- RAMA-RAO, G.V., CAIN, C.A. y TOMPKINS, W.A. (1985). Effects of microwave exposure on the hamster immune system. IV. Spleen cell IgM hemolytic plaque formation. Bioelectromagnetics 6: : 41.
- RAMIREZ, E., MONTEAGUDO, J.L., GARCIA-GRACIA, M. y DELGADO, J.M.R. (1983). Oviposition and development of *Drosophila* modified by magnetic fields. Bioelectromagnetics 4: 315.
- REESE, J.A., JOSTES, R.F. y FRAZIER, M.E. (1988). Exposure of mammalian cells to 60 Hz magnetic or electric fields: annalysis for DNA single-strand breaks. Bioelectromagnetics 9: 237.
- REESE, J.A., FRAZIER, M.E., MORRIS, J.E., BUSCHBOM, R.L. y MILLER, D.L. (1991). Evaluation of changes in diatom mobility after exposure to 16-Hz electromagnetic fields. Bioelectromagnetics 12: 21.
- REICHMANS, M., PERRI, F.S., MARINO, A.A. y BECKER, R.O. (1979). Relation between suicide and the electro-magnetic field of overhead power lines. *Physiol. Chem. Phys.* 11: 395.
- REITER, R.J., ANDERSON, L.E., BUSCHBOM, R.L. Y WILSON, B.W. (1988). Reduction of the nocturnal rise in pineal melatonin levels in rats exposed to 60-Hz electric fields in utero and for 23 days after birth. *Life Sci.* 42: 2203.
- REUSS, S., y OLCESE, J. (1986). Magnetic field effects on the rat pineal gland: role of retinal activation by light. *Neurosci. Lett.* 64: 97.
- RICKLI, M. y LEUTHOLD, R.H. (1988). Homing in harvester termites: evidence of magnetic orientation. *Ethology*, 77: 209
- ROBINSON, K.R. (1985). The responses of cells to electrical fields: A review. *J. Cell Biol.* 101: 2023.
- ROCHEV, Y.A., NARIMANOV, A.A., SOSUNOV, E.A., KOZLOV, A.N. y LEDNEV, V.V. (1990). Effects of weak magnetic field on the rate of cell proliferation in culture. *Stud. Biophys.* 2: 93.
- RODDA, G.H. (1984). The orientation and navigation of juvenile alligators: evidence of magnetic sensitivity. *J. Comp. Physiol. A.*, 154: 649
- RODEMANN, H.P., BAYREUTHER, K., PFLEIDERER, G. (1989). The

- differentiation of normal and transformed human fibroblasts "in vitro" is influenced by electromagnetic fields. *Exp. Cell Res.* 182: 610.
- ROGULSKA, T. (1968). The effect of transection of the duck blastoderm on the orientation of the embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 20: 237.
- ROGULSKA, T. y KOMAR, A. (1969). The relationship between the orientation of the early chick embryo and the shape of the egg shell. *Experientia* 25: 990.
- ROMMEREIM, D.N., KAUNE, W.T., BUSCHBOM, R.L., PHILLIPS, R.D. y SIKOV, M.R. (1987). Reproduction and development in rats chronically exposed to 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 8: 243.
- ROMMEREIM, D.N., ROMMEREIM, R.L., SIKOV, M.R., BUSCHBOM, R.L. y ANDERSON, L.E. (1990). Reproduction, growth, and development of rats during chronic exposure to multiple field strengths of 60-Hz electric fields. *Fund. and applied toxicol.* 14: 608.
- ROSENBERG, R.S., DUFFY, P.M., SACHER, G.A. y EHRET, C.F. (1983). Relationship between field strength and arousal response in mice exposed to 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 4: 181.
- ROSS, S.M., FERRIER, J.M. y AUBIN, J.E. (1989). Studies on the alignment of fibroblasts in uniform applied electrical fields. *Bioelectromagnetics* 10: 371.
- ROSS, S.M. (1990). Combined DC and ELF magnetic fields can alter cell proliferation. *Bioelectromagnetics* 11: 27
- ROWLEY, B., McKENNA, J.M., CHASE, G.R. y WOLCOTT, L.E. (1974). The influence of electric current on an infecting microorganism in wounds. En: *Electrically Mediated Growth in Living Systems*, Vol 238. Eds: Liboff y Rinaldi, New York Academy of Sciences.
- RUDOLPH, K., KRAUCHI, K., WIRZ-JUSTICE, A. y FEER, H. (1984). Weak 50-Hz electromagnetic fields activate rat open field behaviour. *Physiol. Behav.* 35: 505.
- RUDOLPH, K., WIRZ-JUSTICE, A., KRAUCHI, K. y FEER, H. (1988). Static magnetic fields decrease nocturnal pineal cAMP in the rat. *Brain Res.* 446: 159.
- RUSOVAN, A. y KANJE, M. (1991). Stimulation of regeneration of the rat sciatic nerve by 50 Hz sinusoidal magnetic fields. *Exp. Neurol.* 112: 312.

- SAALI, K. y JUUTILAINEN, J. (1988). Orientation of chick embryos in static magnetic fields. *Ann. Zool. Fennici* 25: 187.
- SAALMAN, E., GALT, S., HAMNERIUS, Y. y NORDEN, B. (1992). Diatom motility: replication study in search of cyclotron resonance effects. En: *Interaction Mechanisms of Low-Level Electromagnetic Fields and Living Systems*. Eds: B. Norden y B. Ramel. Oxford: Oxford University Press: 280.
- SAFFER, J.D. y PROFENNO, L.A. (1992). Microwave-specific heating affects gene expression. *Bioelectromagnetics* 13: 75.
- SAGAN, P.M., STELL, M.E., BRYAN, G.K. y ADEY, W.R. (1987). Detection of 60-Hertz vertical electric fields by rats. *Bioelectromagnetics* 8: 303.
- SAGRIPANTI, J.-L., SWICORD, M.L. y DAVIS, C.C. (1987). Microwave effects on plasmid DNA. *Radiat. Res.* 110: 219.
- SAITO, K., SUZUKI, K. y MOTOYOSHI, S. (1991). Lethal and teratogenic effects of long-term low-intensity radio frequency radiation at 428 MHz on developing chick embryo. *Teratology* 43: 609.
- SALZINGER, K., FREIMARK, S., McCULLOUGH, M., PHILLIPS, D. y BIRENBAUM, B. (1990). Altered operant behavior of adult rats after perinatal exposure to a 60-Hz electromagnetic field. *Bioelectromagnetics* 11: 105.
- SAN GABRIEL, A. (1980). Síndromes del desarrollo embrionario. En: *Patología de la Incubación*. Editorial Aedos, Barcelona, España: 56.
- SANDBLOM, J., GALT, S., ROOS, D. y HAMNERIUS, Y. (1989). Possible resonance effects of ELF magnetic fields on ion channels. Workshop on Interaction mechanisms of low-level electromagnetic fields, Royal Swedish Academy of Sciences, Stockholm, Suecia.
- SANDER, R., BRINKMANN, J. y KUHNE, B. (1982). Laboratory studies on animals and human beings exposed to 50-Hz electric and magnetic fields. En: *International conference on large high voltage electrical systems (abstracts) No. 36-01*. Paris, CIGRE.
- SANDERS, A.P., JOINES, W.T. y ALLIS, J.W. (1984). The differential effects of 200, 591, and 2450 MHz radiation on rat brain energy metabolism. *Bioelectromagnetics* 5: 419.

- SANDSTROM, M., MILD, K.H. y LOVTRUP, S. (1986). Effects of weak pulsed magnetic fields on chick embryogenesis. En: Work with Display Units. Ed: B. Knave y P.-G. Wideback. Elsevier Science Publishers. North Holland: 135.
- SAUNDERS, R.D., KOWALCZUK, C.I. y SIENKIEWICK, Z.J. (1991). Biological effects of exposure to non-ionising electromagnetics fields and radiation. III. Radiofrequency and microwave radiation. NRPB-R240, Chilton.
- SAVITZ, D.A., WACHTEL, H., BARNES, F.A., JOHN, E.M. y TVRDIK, J.G. (1988). Case-Control study of childhood cancer and exposure to 60-Hz magnetic fields.. Am. J. Epidemiol. 128: 21.
- SAVITZ, D.A., PEARCE, N.E. y POOLE, C. (1989). Methodological issues in the epidemiology of electromagnetic fields and cancer. Epidemiol. Rev. 11: 59.
- SAVITZ, D.A., JOHN, E.M. y KLECKNER, R.C. (1990). Magnetic field exposure from electric appliances and childhood cancer. Am. J. Epidemiol 131: 763.
- SAZONOVA, T.E. (1967). Physiological and hygienic assessment of labour conditions at 400-500 kV outdoor switch-yards. Publication of the Institute of Labor Protection of All-Union Central Council of Trade Unions. Moscow Profizdat.
- SCHNORR, T.M., GRAJEWSKI, B.A., HORNING, R.W., THUN, M.J., EGELAND, G.M., MURRAY, W.E., CONOVER, D.L. y HALPERIN, W.E. (1991). Video display terminals and the risk of spontaneous abortions. N. Engl. J. Med. 324: 727.
- SCHWARTZ, J.-L., HOUSE, D.E. y MEALING, G.A.R. (1990). Exposure of frog hearts to CW or amplitude-modulated VHF fields: Selective efflux of calcium ions at 16 Hz. Bioelectromagnetics 11: 349.
- SEAMAN, R.L. y WACHTEL, H. (1978). Slow and rapid responses to CW and pulsed microwave radiation by individual Aphysia pacemakers. J. Microwave Power 13: 77.
- SEEGEL, R.F., WOLPAW, J.R. y DOWNAN, R. (1989). Chronic exposure of primates to 60-Hz electric and magnetic fields: II. Neurochemical effects. Bioelectromagnetics 10: 289.
- SEMM, P., SCHNEIDER, T. y VOLLRATH, L. (1980). Effects of an earth-strength magnetic field on electrical activity of pineal cells. Nature, 288: 607

- SEMM, P. (1983). Neurobiological investigations on the magnetic sensitivity of the pineal gland in rodents and pigeons. *Comp. Biochem. Physiol.* 76A: 683.
- SEMM, P. (1988). The magnetic detection system of the pigeon: Involvement of pineal and retinal photoreceptors and the vestibular system. En: *Electromagnetic Fields and Neurobehavioral Function*. Eds: M.E. O'Connor y R.H. Lovely. Alan R. Liss, Inc. New York: 47.
- SETO, Y.J., HSIEH, S.T., MAJEAU-CHARGOIS, D., DUNLAP, W.P. y LYMANGROVER, J.R. (1983). Food consumption, water intake and growth data on rats chronically exposed to a high-intensity 60-Hz field. *J. Bioelec.* 2 (2,3): 197.
- SETO, Y.J., MAJEAU-CHARGOIS, D., LYMANGROVER, J.R., DUNLAP, W.P., FOX, F.T. y HSIEH, S.T. (1986). Chronic 60-Hz electric field exposure-induced subtle bioeffects on hematology. *Environ. Res.* 39: 143.
- SEVERSON, R.K., STEVENS, R.G., KAUNE, W.T., THOMAS, D.B., HEUSER, L., DAVIS, S. y SEVER, L.E. (1988). Acute nonlymphocytic leukemia and residential exposure to power frequency magnetic fields. *Am. J. Epidemiol* 128: 10.
- SHEPPARD, A.R. y EISENBUD, M. (1977). *Biological Effects of Electric and Magnetic Fields of Extremely Low Frequency*. New York University Press, New York.
- SHIMA, T. y TOMURA, Y. (1988). Mutation in wings of *Drosophila* exposed to electromagnetic field. First annual meeting of the Society of Environmental Sciences, Japan, 3B08.
- SHIRAYOSHI, Y., OKADA, T.S. y TAKEICHI, M. (1983). The calcium-dependent cell-cell adhesion system regulates inner cell mass formation and cell surface polarization in early mouse development. *Cell.* 35: 631.
- SIKOV, M.R., ROMMEREIM, D.N., BEAMER, L.J., BUSCHBOM, R.L., KAUNE, W.T. Y PHILLIPS, R.D. (1987). Developmental studies of Hanford miniature swine exposed to 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics*, 8: 229.
- SILNEY, J. (1981). Influence of low-frequency magnetic field on the organism. *Proc. EMC, Zurich*: 175. *Procced. 4th Symposium on Electromagnetic compatibility*.
- SILNEY, J. (1985). The influence thresholds of the time-varying magnetic field in the human organism. En: *Proceedings of the Symposium on biological effects of static and ELF magnetic fields*. Ed.: J. Bernhardt. Neuerherg, BGA-Schriftenreihe, Munchen, MMV Medizin

Verlag.

- SILVA, M., HUMMON, N. RUTTER, D. y HOOPER, C. (1988). Power frequency magnetic fields in the home. *IEEE Trans. Pwr. Del.* 4: 465.
- SISKEN, B.F., FOWLER, I., MAYAUD, RYABY, J.P. y PILLA, A.A. (1986). Pulsed electromagnetic fields and normal chick development. *J. Bioelectricity* 5: 25.
- SISKEN, B.F., KANJE, M., LUNDBORG, G. y KURTZ, W. (1990). Pulsed electromagnetic fields stimulate nerve regeneration "in vitro" and "in vivo". *Restor. Neurol. Neurosci.* 1: 303.
- SISKEN, B.F., KANJE, M., LUNDBORG, G., HERBST, E. y KURTZ, W. (1989). Stimulation of rat sciatic nerve regeneration with pulsed electromagnetic fields. *Brain Res.* 485: 309.
- SMITH, O.M., GOODMAN, E.M., GREENEBAUM, B. y TIPNIS, P. (1991). An increase in the negative surface charge of U937 cells exposed to a pulsed magnetic field. *Bioelectromagnetics* 12: 197.
- SMITH, S.D. y PILLA, A.A. (1981). Modulation of newt limb regeneration by electromagnetically induced low level pulsating current. En: *Mechanisms of Growth Control*. Ed: R.O. Becker. Charles C. Thomas Springfield, IL: 137.
- SMITH, S.D., McLEOD, B.R., LIBOFF, A.R. y COOKSEY, K. (1987). Calcium cyclotron resonance and diatom motility. *Bioelectromagnetics* 8: 215.
- SMITH, S.D., McLEOD, B.R. y LIBOFF, A.R. (1991). Effects of resonant magnetic fields on chick femoral development "in vitro". *J. Bioelec.*, 10 (1 y 2): 81.
- SNEDECOR, G.W. y COCHRAN, W.G. (1967). En: *Statistical Methods*. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- SOONG, H.K., PARKINSON, W.C., SULIK, G.L. y BAFNA, S. (1990). Effects of electric fields on cytoskeleton of corneal stromal fibroblasts. *Curr. Eye Res.* 9 (9): 893.
- SOUTHERN, W.E. (1972). Influence of disturbances in the Earth's magnetic field on ring-billed gull orientation. *Condor* 74: 102.
- SOUTHERN, W.E. (1988). The earth's magnetic field as a navigational cue. En: *Modern Bioelectricity*. Ed: A.A. Marino. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel: 35.

- SPENCER, R.C., HAFIZ, S. y COOK, C. (1985). Effect of microwave energy on the metabolism of "Enterobacteriaceae". *J. Med. Microbiol.* 19: 269.
- SPITZ, M.R. y JOHNSON, C.C. (1985). Neuroblastoma and paternal occupation: a case-control analysis. *Am. J. Epidemiol.* 121: 924.
- SPITZER, N.C. (1979). Ion channels in development. *Ann. Rev. Neurosci.* 2: 363.
- SPORMANN, A.M. (1987). Unusual swimming behavior of a magnetotactic bacterium. *FEMS Microbiol. Ecol.* 45:31
- STERN, C.D. y MACKENZIE, D.O. (1983). Sodium transport and the control of epiblast polarity in the early chick embryo. *J. Embryol. Exp. Morph.* 77: 73.
- STERN, F.B., WAXWEILER, R.A., BEAUMONT, J.J., LEE, S.T., RINSKY, R.A., ZUMWALDE, R.D., HALPERIN, W.E., BIERBAUM, P.J., LANDRIGAN, P.J. y MURRAY, W.E. (1986). A case control study of leukaemia at a naval nuclear shipyard. *Am. J. Epidemiol.* 123: 980.
- STERN, R.M. (1987). Cancer incidence among welders: possible effects of exposure to extremely low frequency electromagnetic radiation (ELF) and to welding fumes. *Environmental Health Perspectives* 76: 221.
- STERN, S., LATIES, V.G., STANCAMPIANO, C.V., COX, C. y DE LORGE, J.O. (1983). Behavioral detection of 60-Hz electric fields by rats. *Bioelectromagnetics* 4: 215.
- STEVENSON, A.P. y TOBEY, R.A. (1985). Potassium ion influx measurements on cultured chinese hamster cells exposed to 60-Hertz electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 6: 189.
- STEWART-DE HAAN, P.J., CREIGHTON, M.O., LARSEN, L.E., JACOB, J.H., SANWAL, M., BASKERVILLE, J.C. y TREVITHICK, J.R. (1985). "In vitro" studies of microwave-induced cataract: Reciprocity between exposure duration and dose rate for pulsed microwaves. *Exp. Eye Res.* 40: 1.
- STOLLERY, B.T. (1986). Effects of 50 Hz electric currents on mood and verbal reasoning skills. *Brit. J. Ind. Med.* 43: 339.
- STUCHLY, M.A. (1986). Human exposure to static and time-varying magnetic fields. *Health Phys.* 51: 215.

- STUCHLY, M.A., RUDDICK, J., VILLENEUVE, D., ROBINSON, K., REED, B., LECUYER, D.W., TAN, K. y WONG, J. (1988). Teratological assessment of exposure to time-varying magnetic field. *Teratology* 38: 461.
- STUMP, R.F. y ROBINSON, K.R. (1983). *Xenopus* neural crest cell migration in an applied electrical field. *J. Cell Biol.* 97: 1226.
- SULZMAN, F.M. y MURRISH, D.E. (1987). Effects of electromagnetic fields on primate circadian rhythms. Report to the New York State Power Lines Project Albany, N.Y., Wadsworth Center for Laboratories and Research.
- SWERDLOW, A.J. (1983). Epidemiology of eye cancer in adults in England and Wales, 1962-1977. *Am. J. Epidemiol.* 118: 294.
- SZMIGIELSKI, S., JELJASZEWIC, J. y WIRANOWSKI, M. (1975). Acute staphylococcal infections in rabbits irradiated with 3-GHz microwaves. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 247: 305.
- TAKAHASHI, K., KANEKO, I., DATE, M. y FUKADA, E. (1986). Effect of pulsing electromagnetic fields on DNA synthesis in mammalian cells in culture. *Experientia* 42: 185.
- TELL, R.A. (1983). Instrumentation for measurement of electromagnetic fields: Equipment, calibrations and selected applications, Part II Extremely low frequency (ELF) fields. En: *Biological Effects and Dosimetry of Nonionizing Radiation: Radiofrequency and Microwave Energies*. Eds: M. Grandolfo, S.M. Michaelson y A. Rindi. Plenum Press, New York, London.
- TENFORDE, T.S., GAFFEY, C.T., MOYER, B.R. y BUDINGER, T.F. (1983). Cardiovascular alterations in Macaca monkeys exposed to stationary magnetic fields: Experimental observations and theoretical analysis. *Bioelectromagnetics* 4: 1.
- TENFORDE, T.S. (1986). Interactions of ELF magnetic fields with living matter. En: *CRC Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields*. Eds: C. Polk y E. Postow. Boca Raton, FL: CRC Press: 197.
- THOMAS, J.R., SCHROT, J. y LIBOFF, A.R. (1986). Low-intensity magnetic fields alter operant behaviour in rats. *Bioelectromagnetics* 7: 349.
- THOMAS, T.L., STOLLEY, P.D. y STEMHAGEN, A. (1987). Brain tumor mortality risk among men with electrical and electronics jobs: A case-control study. *JNCI* 79: 233.

- THOMSON, R.A.E., MICHAELSON, S.M. Y NGUYEN, Q.A. (1988). Influence of 60-Hertz magnetic fields on leukemia. *Bioelectromagnetics* 9: 149.
- THUROCZY, G., BODO, M., BAKOS, J. y SZABO, L.D. (1990). Effects of microwave irradiation on the EEG and the CBF. XXIII General Assembly of URSI, Prague.
- TOFANI, S., AGNESOD, G., OSSOLA, P., FERRINI, S. y BUSSI, R. (1986). Effects of continuous low-level exposure to radiofrequency radiation on intrauterine development in rats. *Health Phys.* 51: 489.
- TOFANI, S. y D'AMORE, G. (1991). Extremely-low-frequency and very-low-frequency magnetic fields emitted by video display units. *Bioelectromagnetics* 12: 35.
- TOMENIUS, L. (1986). 50-Hz Electromagnetic environment and the incidence of childhood tumors in Stockholm county. *Bioelectromagnetics* 7: 191.
- TORNQVIST, S., NORELL, S., AHLBOM, A. y KNAVE, B. (1986). Cancer in the electric power industry. *Brit. J. Ind. Med.* 43: 212.
- TOWE, K.M. y MOENCH, T.T. (1981). Electron-optical characterization of bacterial magnetite. *Earth Planet Sci. Lett.* 52: 213.
- TRIBUKAIT, B., CEKAN, Y PAULSSON, L-E. (1987). Effects of pulsed magnetic fields on embryonic development in mice. En: *Work with display units 86*. Eds: B. Knave y P.-G. Wideback. Elsevier Science Publishers B.V. (North-Holland): 129.
- TRILLO, M.A. (1989). Efectos de campos electromagnéticos débiles sobre el desarrollo del sistema nervioso central en el embrión de pollo. Memoria de Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas.
- TRILLO, M.A., UBEDA, A., CHACON, L. y LEAL, J. (1991). Weak pulsed magnetic fields and hyaluronidase enzymes provoke similar effects on early chicken embryos. En: *Electromagnetics in Medicine and Biology*. Eds: C.T. Brighton y S.R. Pollack, San Francisco Press, Inc.: 195.
- UBEDA, A., LEAL, J., TRILLO, M.A., JIMENEZ, M.A. y DELGADO, J.M.R. (1983). Pulse shape of magnetic fields influences chick embryogenesis. *J. Anat.* 137: 513.
- UBEDA, A., TRILLO, M.A. y LEAL, J. (1987). Magnetic field

- effects on embryonic development: influence of the organisms orientation. *Med. Sci. Res.*, 15: 531
- UBEDA, A. (1989). *Respuesta Embrionaria a Campos Magnéticos Pulsados Débiles de 100 Hz. Memoria de Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas.*
- UEDA, K., KUSONOKI, M., KATO, K., KAKIZAWA, R., NAKAMURA, T., YASKAWA, K., KOYAMA, M. y MAEDA, Y. (1982). Magnetic remanences in migratory birds. *J. Yamashina Inst. Ornith.* 14: 166.
- VAGERO, D. y OLIN, R. (1983). Incidence of cancer in the electronics industry: using the new Swedish Cancer Environment Registry as a screening instrument. *Brit. J. Ind. Med.* 40: 188.
- VAGERO, D., AHLBOM, A., OLIN, R. y SAHLSTEN, S. (1985). Cancer morbidity among workers in the telecommunications industry. *Brit. J. Ind. Med.* 42: 191.
- VASQUEZ, B.J., ANDERSON, L.E., LOWERLY, C.I. y ADEY, W.R. (1988). Diurnal patterns in brain biogenic amines of rats exposed to 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 9: 229.
- VENEZIANO, P.P. (1965). The effect of low intensity magnetostatic fields on the growth and orientation of the early embryo of gallus domesticus. *Zoology* 25: 319.
- VERREAULT, R., WEISS, N.S., HOLLENBACH, K.A., STRADER, C.H. y DALING, J.R. (1990). Use of electric blankets and risk of testicular cancer. *Am. J. Epidemiol.* 131: 759.
- VEYRET, B., BOUTHET, C., DESCHAUX, P., DE SEZE, R., GEFFARD, M., JOUSSOT-DUBIEN, J., LE DIRAISON, M., MOREAU, J.-M. y CARISTAN, A. (1991). Antibody responses of mice exposed to low-power microwaves under combined, pulsed-and-amplitude modulation. *Bioelectromagnetics* 12: 47.
- VON BAER, K.E. (1928). *Über die entwicklungsgeschichte der thiere beobachtung un reflexion, entwicklungsgeschichte der hühncheus im ei*, Bonznträger Verlag, Königsberg.
- WACHTEL, H., SEAMAN, R. y JOINES, W. (1975). Effects of low-intensity microwaves on isolated neurons. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 247: 46.
- WALCOTT, C., GOULD, J.L. y KIRSCHVINK, J.L. (1979). Pigeons have magnets. *Science* 206: 1027.

- WALKER, M.M., KIRSCHVINK, J.L., CHANG, S.B.R. y DIZON, A.E. (1984). A candidate magnetic sense organ in the yellowfin tuna, "Thunnus albacares". Science 224: 751.
- WALKER, M.M. y BITTERMAN, M.E. (1986). Attempts to train goldfish to respond to magnetic field stimuli. Naturwissenschaften, 73: 12
- WALKER, M.M. y BITTERMAN, M.E. (1989). Attached magnets impair magnetic field discrimination by honeybees. J. exp. Biol., 141: 447
- WALKER, M.M., QUINN, T.P., KIRSCHVINK, J.L. y GROOT, C. (1988). Production of single-domain magnetite throughout life by sockeye salmon, "Oncorhynchus nerka". J. exp. Biol., 140: 51
- WALLECZEK, J. y LIBURDY, R.P. (1990). Non thermal 60 Hz sinusoidal magnetic field exposure enhances 45 Ca^{++} uptake in rat tymocytes: dependence on mitogen activation. FEBS Lett. 271: 157.
- WALLECZEK, J. (1992). Electromagnetic field effect on cells of the immune system: the role of calcium signalling. FASEB J. 6: 3177.
- WALLRAFF, H.G. (1986). Magnetic fields affect pigeon navigation only while the birds can smell atmospheric odors. Naturwissenschaften, 73, S: 215
- WALTER, E. y CARSTENSEN, E.L. (1987). Test for the effects of 60 Hz magnetic fields on fecundity and development in Drosophila. Bioelectromagnetics 8: 351.
- WANGLER, R.B., BRADLEY, P.M., CLIFT, W.D., DAVIDSON, D., HIGGINS, L., SANDSTROM, K. y STEPHENS, R. (1985). Leukemia risk in amateur radio operators. Lancet 1: 156.
- WEI, L.-X., GOODMAN, R. y HENDERSON, A.S. (1990). Changes in levels of C-myc and histone H2B following exposure of cells to low-frequency sinusoidal electromagnetic fields: evidence for a window effect. Bioelectromagnetics 11: 269.
- WEIGEL, R.J., JAFFE, R.A., LUNDSTROM, D.L., FORSYTHE, W.C. y ANDERSON, L.E. (1987 a). Stimulation of cutaneous mechanoreceptors by 60-Hz electric fields. Bioelectromagnetics 8: 337.
- WEIGEL, R.J. y LUNDSTROM, D.L. (1987 b). Effect of relative humidity on the movement of rat vibrissae in a 60-Hz electric field. Bioelectromagnetics 8: 107.

- WELKER, H.A., SEMM, P., WILLIG, R.P., COMMENTZ, J.C., WILTSCHKO, W. y VOLLRATH, L. (1983). Effects of an artificial magnetic field on serotonin N-acetyltransferase and melatonin content of the rat pineal gland. *Exp. Brain Res.* 50: 426.
- WERTHEIMER, N. y LEEPER, E. (1979). Electrical wiring configuration and childhood cancer. *Am. J. Epidemiol.* 109: 273.
- WERTHEIMER, N. y LEEPER, E. (1980). Electrical wiring configurations and childhood leukaemia in Rhode Island. *Am. J. Epidemiol.* 292: 461.
- WERTHEIMER, N. y LEEPER, E. (1982). Adult cancer related to electrical wires near the home. *Int. Epidemiol.* 11: 345.
- WERTHEIMER, N. y LEEPER, ED. (1987). Magnetic field exposure related to cancer subtypes. *Ann. New York Acad. of Sci.* 502: 43.
- WERTHEIMER, N. y LEEPER, ED. (1986). Possible effects of electric blankets and heated waterbeds on fetal development. *Bioelectromangetics* 7: 13.
- WERTHEIMER, N. y LEEPER, ED. (1989). Fetal loss associated with two seasonal sources of electromagnetic field exposure. *Am. J. Epidemiol.* 129: 220.
- WHITNEY, H.S. y KHARADLY, M.M.Z. (1984). Some results on low-level microwave treatment of the mountain pine beetle and the darkling beetle. *IEEE Trans. Microwave Theory Tech.* 32: : 798.
- WIKLUND, K., EINHORN, J. y EKLUND, G. (1981). An application of the Swedish Cancer-Environment registry. Leukaemia among telephone operators at he Telecommunications Administration in Sweden. *Int. J. Epidemiol.* 10: 373.
- WILKINS, J.R. y HUNDLEY, V.D. (1990). Paternal occupational exposure to electromagnetic fields and neuroblastoma in offspring. *Am. J. Epidemiol.* 131: 995.
- WILLIAMS, W.M., LU, S.T., DEL CERRO, M. y MICHAELSON, S.M. (1984a). Effect of 2450-MHz microwave energy on the blood-brain barrier to hydrophilic molecules. Brain temperature and blood-brain barrier permeability to hydrophilic tracers. *Brain Res.* 319: 191.
- WILLIAMS, W.M., LU, S.-T., DEL CERRO, M., HOSS, W. y MICHAELSON, S.M. (1984b). Effects of 2450-MHz microwave

- energy on the blood-brain barrier: An overview and critique of past and present research. IEEE Trans. Microwave Theory Tech. 32: 808.
- WILLIAMSON, S.J. y KAUFMAN, J. (1981). Bioelectromagnetism. J. of Magnetism and Mag. materials 22: 129.
- WILSON, B.W., ANDERSON, L.E., HILTON, D.I., PHILLIPS, R.D. (1981). Chronic exposure to 60 Hz electric field: Effects on pineal function in the rat. Bioelectromagnetics 2: 371.
- WILSON, B.W., ANDERSON, L.E., HILTON, D.I., PHILLIPS, R.D. (1983). Chronic exposure to 60 Hz electric field: Effects on pineal function in the rat. Bioelectromagnetics 4: 293.
- WILSON, B.W., CHESS, E.K. y ANDERSON, L.E. (1986). 60 Hz Electric-field effects on pineal melatonin rhythms: Time course for onset and recovery. Bioelectromagnetics 7: 239.
- WILSON, B.W., WRIGHT, C.W., MORRIS, J.A., SOMMERS-FLANAGAN, R., BUSCHBOM, R.L., McCULLOCH, M. y ANDERSON, L.E. (1988). Effects of electric blanket use on human pineal gland function: A preliminary report, DOE/EPRI Contractor's Review, Phoenix, Arizona.
- WILSON, B.W. y ANDERSON, L.E. (1990). ELF Electromagnetic -field effects on the pineal gland. En: Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields: The question of cancer. Eds: B.W. Wilson, R.G. Stevens y L.E. Anderson. Battelle Press, Columbus, Richland: 159.
- WINTERS, W.D. (1986). Biological functions of immunologically reactive human and canine cells influenced by "in vitro" exposure to 60-Hz electric and magnetic fields. Technical report, Prepared for the New York State power lines project, Wadsworth Labs, E-297, Empire State Plaza, Albany, New York.
- WILTSCHKO, W., WILTSCHKO, R., KEETON, W.T. y MADDEN, R. (1983). Growing up in an altered magnetic field affects the initial orientation of young homing pigeons. Behav. Ecol. Sociobiol. 12: 135.
- WOLPAW, J.R., SEEGAL, R.F., DOWMAN, R.I. y SATYA-MURTI, S. (1987). Chronic effects of 60 Hz electric and magnetic fields on primate central nervous system function. Final Report to the New York State Power Lines Project, Albany, N.Y. Wadsworth Center for Laboratories and Research.

- WRIGHT, W.E., PETERS, J.M. y MACK, T.M. (1982). Leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *Lancet* 2: 1160.
- YAMAURA, I. y CHICHIBU, S. (1967). Super-high frequency electric field and crustacean ganglionic discharges. *Tohoku J. Exp. Med.* 93: 249.
- YANG, W.P., ONUMA, E.K. y HUI, S.W. (1984). Response of C3H/10T1/2 fibroblasts to an external steady electric field stimulation: Reorientation, shape change, Con A receptor and intramembranous reorganization. *Exp. Cell Res.* 155: 92.
- YEN-PATTON, G.P.A., PATTON, W.F., BEER, D.M. y JACOBSON, B.S. (1988). Endothelial cell response to pulsed electromagnetic fields: Stimulation of growth rate and angiogenesis "in vitro". *J. Cell Physiol.* 134: 37.
- YOST, M.G., LIBURDY, R.P. (1992). Time-varying and static magnetic fields act in combination to alter calcium signal transduction in the lymphocyte. *FEBS Lett.* 296: 117.
- ZIMMERMAN, S., ZIMMERMAN, A.M., WINTERS, W.D. y CAMERON, I.L. (1990). Influence of 60-Hz magnetic fields on sea urchin development. *Bioelectromagnetics* 11: 37.
- ZOEGER, J., DUNN, J.R. y FULLER, M. (1981). Magnetic material in the head of the common Pacific dolphin. *Science* 213: 892.
- ZUCCKINI, P., CADOSSO, R., EMILIA, G. TORELLI, G., SANTANTONIO, M. y MANDOLINI, G. (1991). Effect of PEMF on mice injected with cyclophosphamide. En: *Electromagnetics in Medicine and Biology*. Eds: C.T. Brighton y S.R. Pollack, San Francisco Press, Inc.: 207.