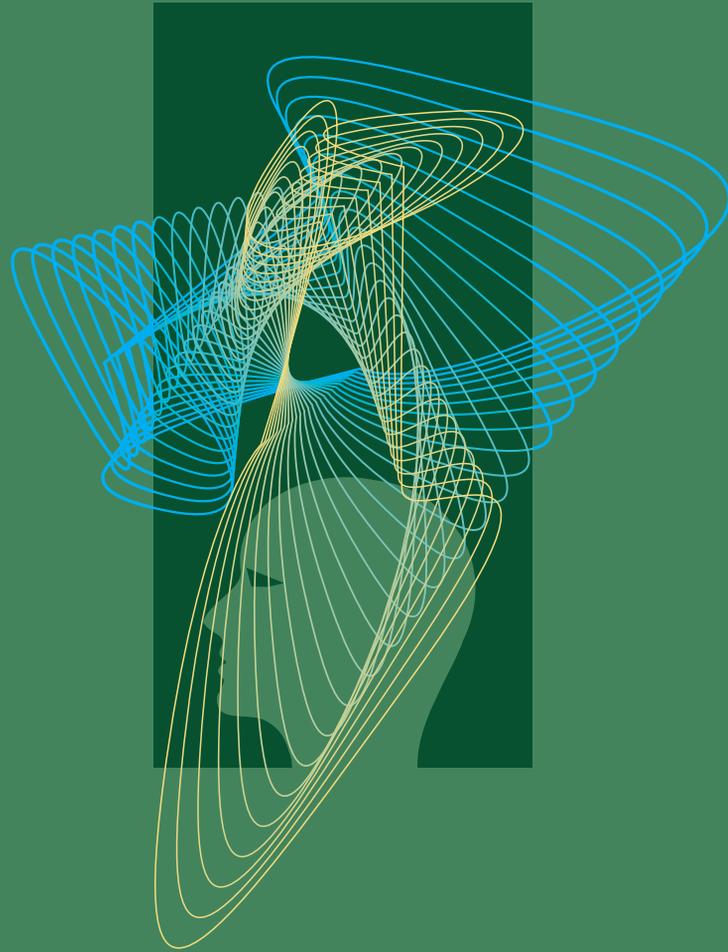


**CINCO AÑOS DE INVESTIGACIÓN
SOBRE LOS EFECTOS BIOLÓGICOS
DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS
DE FRECUENCIA INDUSTRIAL
EN LOS SERES VIVOS**



**RESULTADOS DE LA COLABORACIÓN CIENTÍFICA ENTRE LA UNIVERSIDAD DE VALLADOLID,
EL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS,
UNESA Y RED ELÉCTRICA DE ESPAÑA
DURANTE LOS AÑOS 1995-2000**

JUAN REPRESA DE LA GUERRA • CARLOS LLANOS LECUMBERRI

Fecha de Edición: Marzo 2001

Depósito Legal: M-14.211-2001

Diseño y Maquetación: Juan Dávila · Joaquín López

Fotomecánica e Impresión: Epes Industrias Gráficas, S.L.

Impreso en papel ecológico libre de cloro. Contiene un 50% de fibras recicladas.

ÍNDICE

página

Presentación y objetivos de esta publicación	1
Instituciones y personas que han hecho posible este proyecto	2
Situación de la investigación sobre los efectos biológicos de los campos electromagnéticos en los seres vivos al inicio del proyecto	5
Hipótesis y objetivos del proyecto	8
Resultados experimentales obtenidos y su interpretación	9
¿Cómo nos afectan estos resultados?	21
Difusión de los resultados del proyecto	22
¿Es necesario seguir investigando?	23
¿Qué investigaciones están en curso actualmente?	24
Bibliografía básica recomendada	25
Summary	26



PRESENTACIÓN Y OBJETIVOS DE ESTA PUBLICACIÓN

Día tras día los medios de comunicación nos desbordan con avances científicos cada vez más sorprendentes, desde la clonación de un ser vivo, el efecto de un fármaco de diseño o el descubrimiento del mapa genético humano hasta el último avance de la informática y las telecomunicaciones. Simultáneamente, también son frecuentes las noticias sobre sus posibles consecuencias perjudiciales para la salud o el medio ambiente, o sus repercusiones éticas. El resultado suele ser que a menudo los ciudadanos nos hallamos inmersos en un alud de novedades que no llegamos a entender e inermes ante el dilema de discernir entre las posibilidades que la tecnología pone a nuestro alcance y sus potenciales riesgos.

Se plantea entonces para los científicos la tarea de establecer un puente entre la investigación y la sociedad, impulsando la divulgación científica como una forma de avanzar en la difusión de los más recientes conocimientos, de promover la utilización correcta de los nuevos recursos tecnológicos y también como una manera de combatir la desinformación y, a veces, hasta el alarmismo, acerca de los beneficios y los riesgos de vivir en una sociedad cada vez más desamollada y tecnificada. Este propósito divulgativo es el objetivo de la presente publicación.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que éste no es un folleto de divulgación general sobre campos electromagnéticos, sino un resumen de los resultados obtenidos tras cinco años (1995-2000) de colaboración científica entre la Universidad de Valladolid, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Unesa y Red Eléctrica de España en un área puntera de la investigación biológica: **los efectos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial en los seres vivos.**

En esta publicación se recogen escrupulosamente todos los resultados obtenidos en el proyecto, pues estamos convencidos de que únicamente proporcionando toda la información, de forma veraz y honesta, se podrá llegar a un verdadero entendimiento de los efectos de los campos electromagnéticos y una correcta evaluación de su incidencia. En todo momento hemos procurado dar a conocer los objetivos, resultados y conclusiones del proyecto de forma clara y razonada, de tal manera que sea comprensible para cualquier lector; y al mismo tiempo de forma científicamente rigurosa, para que le resulte útil al investigador.

El principal objetivo de este proyecto es determinar los efectos de los campos electromagnéticos en los seres vivos.



INSTITUCIONES Y PERSONAS QUE HAN HECHO POSIBLE ESTE PROYECTO

Red Eléctrica de España

Red Eléctrica de España, S.A. (REE) es la empresa líder de transporte de electricidad en España y responsable de la gestión técnica del sistema eléctrico peninsular. Es propietaria de la mayor parte de las instalaciones eléctricas en alta tensión, con más de 18.600 km de líneas eléctricas de muy alta tensión (220 y 400 kV) y 646 posiciones de subestaciones distribuidas por todo el país. Como operador del sistema, Red Eléctrica de España garantiza el equilibrio entre la producción y el consumo de energía, asegurando la calidad del suministro eléctrico en cada lugar y en todo momento y aportando al sistema de mercado la seguridad y la liquidez que necesita.

Desde su creación en 1985 Red Eléctrica de España tiene un especial interés por conocer y prevenir los efectos ambientales de sus instalaciones, y muy particularmente la posible incidencia en la salud, tanto de sus propios trabajadores como del público; por esta razón su Departamento de Medio Ambiente ha trabajado activamente en la investigación sobre campos electromagnéticos, colaborando con reputadas universidades y centros de investigación. Una actividad primordial es informar de forma honesta y transparente lo que se sabe sobre este tema, lo que se ha traducido en la participación en numerosos congresos y mesas redondas, así como la elaboración y publicación de diversas publicaciones, entre las que destaca el folleto divulgativo «Energía eléctrica. Campos electromagnéticos y medio ambiente» (1996).

De acuerdo esta política de información, Red Eléctrica de España organiza periódicamente las *Jornadas sobre Líneas Eléctricas y Medio Ambiente*, en las que ponentes procedentes de las empresas eléctricas, la administración o la universidad comparten ideas y experiencias sobre temas de actualidad relativos al medio ambiente dentro del sector eléctrico: sistemas de gestión, evaluación de impacto, comunicación, avifauna, vegetación, paisaje y, por supuesto, campos electromagnéticos; entre otros. Hasta el momento se han celebrado tres Jornadas, en los años 1994, 1996 y 1999, de las que se han publicado sendos libros con las actas.

UNESA (Asociación Española de la Industria Eléctrica)

El Sector Eléctrico español ha sido consciente desde el primer momento de la necesidad de evaluar los posibles efectos nocivos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial. No en vano históricamente una de las primeras referencias a este tema fue una comunicación presentada en 1972 en un congreso de la Asociación Internacional de la Seguridad Social celebrado en Colonia (Alemania) por el Dr. D. Fernández Fole, médico del trabajo de la hoy desaparecida empresa eléctrica *Salto del Sil*, en la que describía una serie de síntomas subjetivos (como dolor de cabeza o cansancio) en algunos trabajadores.

Si bien cada empresa mantiene su programa independiente de investigación y actuación, a mediados de los años 80 Amys (Dpto. de Medicina y Seguridad en el Trabajo de Unesa) comenzó a coordinar a través del programa PIE de I+D proyectos de investigación, principalmente biológica, en centros especializados. Entre sus funciones está la representación del Sector Eléctrico en organismos internacionales y servir de apoyo a las empresas del sector en sus relaciones con el público y la administración.



Libro de las III Jornadas sobre Líneas Eléctricas y Medio Ambiente.

En 1995 se constituyó en Unesa un Grupo de Trabajo *ad hoc* sobre Campos Electromagnéticos en el que participan técnicos de la mayoría de las empresas eléctricas españolas, incluyendo Red Eléctrica de España. Su cometido es el seguimiento de todas las novedades sobre este tema a nivel nacional e internacional, mantener una base de datos de publicaciones técnicas, desarrollar protocolos unificados de medida de campos en instalaciones eléctricas (líneas, subestaciones, centros de transformación...), asesorar a las empresas, etc. Una tarea fundamental es informar sobre los avances científicos en torno a este tema, para lo cual se han elaborado y publicado:

- El folleto divulgativo «*Los campos electromagnéticos en nuestro entorno*» (1997).
- El folleto técnico «*Campos eléctricos y magnéticos de 50/60 Hz. Análisis del estado actual de conocimientos*» (1998). Pendiente de ser actualizado en el año 2001.

Instituto de Biología y Genética Molecular

El Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM) integra a varios grupos de investigación pertenecientes a la Universidad de Valladolid y al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), del que es un centro asociado. En el IBGM se desarrolla una investigación de alta calidad en diversos campos de la biología, fisiología celular, embriología y genética, lo que se ha traducido en la realización de numerosos proyectos científicos, financiados por agencias nacionales e internacionales tanto públicas como privadas, y en más de 200 publicaciones en revistas de difusión internacional en los últimos cinco años.

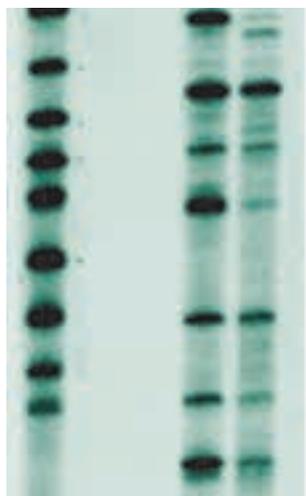
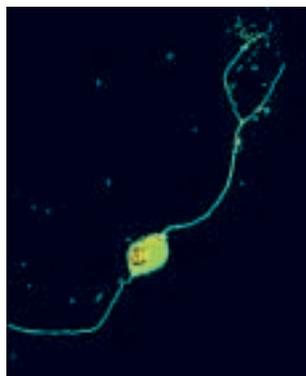
El bagaje técnico del IBGM comprende toda la gama de tecnologías biológicas modernas que van desde el uso de las técnicas de recombinación del ADN y estudios de expresión de genes y productos génicos, hasta la microfluorescencia y análisis de imagen computarizado en células únicas, pasando por las técnicas de registro de canales iónicos, técnica «patch-clamp», micro-purificación de proteínas, HPLC, citometría de flujo, cultivo de células y tejidos, microscopía óptica y electrónica, etc.

La calidad y excelencia del IBGM como centro de investigación, sus recursos humanos y materiales, así como la trayectoria profesional y científica tanto del director como de los restantes participantes en el proyecto propiciaron la realización de un exhaustivo y riguroso trabajo de investigación sobre los efectos biológicos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial.

Investigadores

A lo largo de estos cinco años han participado en el proyecto un amplio grupo de investigadores, dirigidos y coordinados por el **Dr. D. Juan Represa de la Guerra**, Director de Investigación del IBGM y Catedrático de Anatomía y Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid.

Nacido en 1954, Juan Represa de la Guerra, es licenciado en Medicina y Cirugía (1978), con sobresaliente y Premio extraordinario, y doctor en Medicina y Cirugía por la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid (1980) con sobresaliente *Cum Laude*; recibiendo el premio de investigación del Consejo Social de la Universidad de Valladolid en 1994. Realizó su



El IBGM emplea una amplia gama de técnicas de biología celular y genética molecular.

formación postdoctoral durante 1985 en el Instituto de Investigaciones del Cáncer de Londres (Imperial Cancer Research Foundation), así como cursos de formación y especialización en las Universidades de Nueva York (Health Science Center at Brooklyn) en mayo de 1988, de Washington (George Washington University Medical Center) en julio de 1988 y Oxford (Imperial Cancer Research Foundation Laboratories) en febrero de 1989. Su carrera profesional se ha desarrollado como profesor de las Universidades de Valladolid, Oviedo, Oxford y Nueva York, siendo Profesor Honorario del Albert Einstein College of Medicine de Nueva York desde 1999.

Desde 1980 ha sido el investigador principal en 14 proyectos financiados por instituciones públicas y privadas, tanto nacionales como internacionales, y es autor de 178 publicaciones científicas, capítulos en libros y ponencias a congresos; así como director de 8 tesis doctorales. En estas publicaciones se realizan aportaciones en el terreno del desarrollo embrionario y fetal, los oncogenes celulares y los mecanismos que regulan el comportamiento de las células, así como los factores de crecimiento neurotróficos y la formación y regeneración del sistema nervioso. Actualmente pertenece a numerosas instituciones científicas nacionales e internacionales, entre las que destacan la Asociación Española de Investigación sobre el Cáncer, New York Academy of Sciences y US Society for Neurosciences. Recientemente ha sido nombrado representante del Ministerio de Sanidad y Consumo en la Comisión Europea para la Protección contra la Radiación no Ionizante, D.G. de Sanidad y Protección de los Consumidores, Dirección de Salud Pública.

Como científicos responsables de las diferentes áreas del proyecto han intervenido los siguientes investigadores médicos y biólogos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid:

- Catedráticos: Dr. D. José Carreres Quevedo
Dr. D. Javier García-Sancho (de 1995 a 1997)
Dr. D. Juan Repesa de la Guerra
Dr. D. Santiago Rodríguez García
- Profesores titulares: Dr. D. Juan José Mateos Otero (1998)
Dra. D^a. Cristina Miner Pino (de 1995 a 1997)
- Profesores asociados: Dra. D^a. Natividad García Atares
Dra. D^a. Isabel San José Crespo
- Becarios titulados superiores: Dra. D^a. Pilar Alarcón González (de 1995 a 1998)
D. Roberto Cabo Pérez
Dra. D^a. Sonia de la Fuente Casuso
D. Rafael Ramos Sánchez

Han intervenido también como asesores científicos del proyecto por parte de las empresas:

- Red Eléctrica de España: D. Carlos Llanos Lecumberri (físico)
D^a. Pilar Urdiola Alonso (médico)
- Unesa: D. Juan Bernal Solano (médico)

La colaboración científica entre Universidad, CSIC y empresa ha hecho posible este proyecto.



SITUACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN SOBRE LOS EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS EN LOS SERES VIVOS AL INICIO DEL PROYECTO



En 1979 un estudio epidemiológico llevado a cabo por Wertheimer y Leeper en Estados Unidos sugería que los niños que padecían ciertos tipos de cáncer tenían más probabilidad de residir cerca de instalaciones eléctricas. A partir de esa fecha los posibles efectos nocivos de los campos electromagnéticos rebasaron el ámbito estrictamente médico para convertirse en una cuestión de interés social y frecuente motivo de noticias en los medios de comunicación. La trascendencia del problema se acentúa por el hecho de que no sólo las instalaciones eléctricas industriales generan campos electromagnéticos, sino también todos los electrodomésticos de uso personal, algunos equipos médicos, los dispositivos antirrobo, radares y más recientemente la telefonía móvil, de manera que actualmente en los países industrializados toda la población está expuesta a ellos en mayor o menor grado.

Los efectos potencialmente peligrosos para la salud de cualquier agente físico o químico deben de ser investigados desde dos diferentes puntos de vista: epidemiológico y experimental. Por un lado es necesario efectuar estudios epidemiológicos sobre poblaciones suficientemente amplias y expuestas claramente al agente y, por otra parte, la obtención de conclusiones fiables y seguras requiere que el efecto observado en la epidemiología sea analizado en el laboratorio mediante estudios experimentales rigurosos.

Al inicio de nuestras investigaciones la posible relación entre la exposición a campos electromagnéticos y el incremento del riesgo de aparición de enfermedades como cáncer, malformaciones congénitas, trastornos del sistema nervioso e inmunológico, etc. venía siendo sugerida por algunos estudios epidemiológicos. Pero examinados en conjunto estos estudios no aportaban pruebas concluyentes y sí resultados contradictorios. Las posibles razones podrían estar bien en la falta de precisión para caracterizar la exposición a los campos o bien en la variabilidad estadística inherente a este tipo de estudios, lo que dificulta su interpretación, e incluso por la presencia de errores sistemáticos en su diseño o en su análisis.

A diferencia de los estudios epidemiológicos, dirigidos a estimar el riesgo para la salud derivado de una exposición laboral o doméstica, el objetivo de los estudios experimentales de laboratorio es provocar intencionadamente unos efectos, exponiendo de forma controlada células, tejidos o animales al agente; tratando también de analizar los posibles mecanismos por los cuales produce tales efectos. Una gran ventaja de la aproximación experimental es que permite conocer y mantener bajo control todas las variables que pueden influir de alguna manera, minimizando así los factores de confusión intrínsecos a los estudios epidemiológicos.

Para descubrir en el laboratorio los efectos biológicos de un agente se utilizan dos tipos de estudios: estudios *in vitro*, realizados sobre tejidos o células aislados en tubos de ensayo; y estudios *in vivo*, realizados sobre animales vivos expuestos a dicho agente.

Los datos experimentales sobre los efectos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial no eran muy abundantes en el momento de empezar nuestras investigaciones (año 1995) y englobaban un número diverso de ámbitos de análisis, entre los que destacan los rela-

cionados con el cáncer (potencial carcinogénico, genotoxicidad, etc.), el sistema inmunológico, el sistema endocrino, las alteraciones del comportamiento y del sistema nervioso central, el estrés y el sistema cardiovascular; también se habían realizado algunos estudios sobre los efectos en la reproducción y el desarrollo embrionario. A continuación los exponemos brevemente.

Estudios *in vitro*

Por analogía con la radiación ionizante —rayos X— se había intentado comprobar si los campos electromagnéticos de frecuencia industrial pueden alterar la estructura del material hereditario, el ADN. Esto es de especial importancia, ya que si se hubiera descubierto que pueden dar lugar a tales modificaciones habría sido razonable suponer que pueden producir malformaciones y transformaciones cancerígenas. Sin embargo, todos los estudios realizados han demostrado —y en esto la comunidad científica internacional está totalmente de acuerdo— que los campos electromagnéticos de frecuencia industrial no son capaces de alterar la estructura del material hereditario.

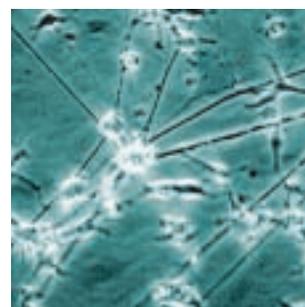
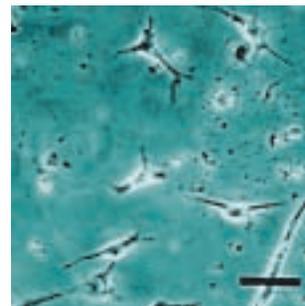
Estudios *in vivo*

Los estudios *in vivo* abarcaban desde análisis del comportamiento de los seres expuestos hasta posibles efectos cancerígenos, pasando por efectos sobre la fertilidad, reproducción, desarrollo embrionario, producción de hormonas, etc. El número de estudios realizados en animales de experimentación sobre su capacidad para actuar como carcinógenos es reducido, a pesar de que esta aproximación es la más cercana a la epidemiológica. Se habían publicado un mayor número de estudios dirigidos a evaluar la capacidad para actuar como promotores tumorales en modelos animales de inducción de cáncer de piel, mama, hígado y algunos linfomas. Alguno de estos estudios había sugerido una relación positiva entre campos de 50-100 μT e incidencia de cáncer de mama en animales tratados previamente con un agente químico capaz de iniciar el proceso carcinogénico. Así mismo, algunos estudios realizados en huevos de ave mostraban alteraciones en fertilidad, tamaño de las crías, supervivencia, proporción de sexos e incidencia de malformaciones a intensidades de campo de tan sólo 10 μT ; aunque otros estudios no hallaban tales efectos en embriones de mamíferos incluso con campos magnéticos de hasta 500 μT ni con campos eléctricos de hasta 250 kV/m.

Como se puede observar, los resultados de todas estas investigaciones no siempre eran consistentes, puesto que en unos experimentos se observan alteraciones, en otros no; y algunos incluso presentaban resultados contradictorios.

Colaboración con Unesa (1988-92)

Durante los años 1988-92 se desarrolló en la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid un proyecto coordinado por Unesa cuyo objetivo principal era comprobar la llamada «teoría de la resonancia de ciclotrón», que postulaba que bajo unas estrictas condiciones de campo magnético estático, y a unas frecuencias específicas, el campo magnético induciría un



Ejemplos de cultivos celulares empleados en los estudios *in vitro*.

cambio en la velocidad de entrada/salida de iones a través de la membrana celular. La conclusión del proyecto fue que ni a las frecuencias de resonancia ciclotrón teóricas propuestas para cada ion ni a 50 Hz, y en un amplio rango de intensidades de campo magnético, se observaba ningún tipo de efecto sobre el flujo iónico.

Un segundo objetivo era comprobar si el campo magnético tenía alguna influencia en el desarrollo de la vesícula ótica (lo que en adultos será el oído interno) del embrión de pollo. Se eligió esta línea de investigación porque esta parte del embrión es muy sensible al flujo iónico, lo que serviría para confirmar los resultados de la primera parte del proyecto y entender su significado y alcance biológico; y también por la existencia de abundante literatura científica en la que se informaba de malformaciones en el desarrollo de embriones de pollo por exposición a campos electromagnéticos de frecuencia industrial.

A pesar de que no se encontró ninguna alteración en el flujo iónico, se observaron algunas alteraciones en el desarrollo del oído interno del embrión de pollo a intensidades superiores a 50 μT , e incluso algunos efectos a 1 μT . Quedaron pues varias incógnitas por resolver, como la naturaleza de esas alteraciones, si eran exclusivas de los embriones de pollo o se reproducen en mamíferos, la relación dosis-respuesta, la reversibilidad, qué mecanismos celulares y moleculares están implicados en esa respuesta, etc. La finalización del programa PIE de I+D del sector eléctrico retrasó la continuación de esta línea de investigación hasta 1995, año en el que se puso en marcha un nuevo proyecto coordinado por Red Eléctrica de España y cuyos resultados se exponen en esta publicación.

Cuestiones pendientes

En resumen, en el momento de iniciar este proyecto de investigación no había sido establecida experimentalmente una clara relación causa-efecto entre exposición a campos electromagnéticos de frecuencia industrial y las enfermedades sugeridas por los estudios epidemiológicos. Esto se debía en gran medida a que permanecían por contestar tres cuestiones fundamentales en toda investigación experimental de laboratorio sobre los potenciales riesgos para la salud de cualquier agente, darles respuesta centraría muchos de los experimentos que nos propusimos realizar:

- Caracterizar perfectamente los posibles efectos biológicos asociados a la exposición a campos electromagnéticos de frecuencia industrial, puesto que a pesar de que se habían observado diversas respuestas en animales de experimentación, no estaba bien establecida su naturaleza ni tampoco estaba clara su significación para la salud humana.
- Determinar los parámetros físicos, tales como frecuencia, intensidad y duración de la exposición a campos electromagnéticos, capaces de provocar tales efectos biológicos; así como definir los valores de estos parámetros para los que la exposición puede resultar nociva para la salud.
- Establecer los mecanismos celulares y moleculares que permitan explicar razonablemente los efectos atribuidos a los campos electromagnéticos.

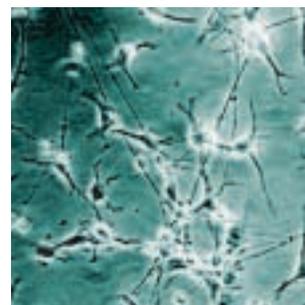
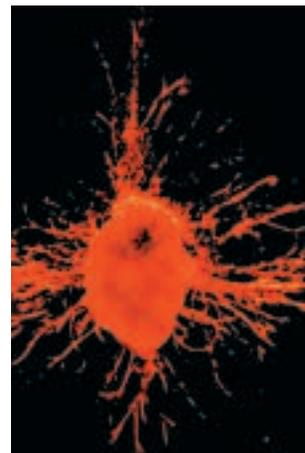
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL PROYECTO

El cáncer, las enfermedades degenerativas y las malformaciones congénitas, entre otros procesos patológicos, tienen en común ciertas alteraciones en la bioquímica celular que conducen a su vez a modificaciones en procesos celulares básicos o incluso la muerte celular programada —apoptosis—. Hoy en día se sabe que esta etapa inicial de daño celular y molecular es un paso imprescindible para que la patología siga adelante, y también que puede preceder en años a la manifestación de la enfermedad propiamente dicha. De esta forma es posible afirmar rotundamente que un agente físico o químico no puede producir una cierta enfermedad si no es capaz de dañar al menos uno de los procesos celulares básicos de todo organismo vivo, alterando sus mecanismos bioquímicos de control.

Así pues, para que los campos electromagnéticos de frecuencia industrial puedan ser considerados como agentes peligrosos para la salud es necesario demostrar que son capaces de producir alguna alteración funcional o estructural a nivel celular y molecular, resultando imprescindible determinar cuáles son los efectos biológicos que provocan en células y tejidos vivos y definir los parámetros de la exposición a los que se originan las distintas respuestas celulares. Sin esclarecer estas cuestiones es imposible valorar si una exposición concreta a campos representa o no un riesgo para la salud y, en caso afirmativo, cómo prevenirlo.

De acuerdo a estas premisas los objetivos específicos del proyecto eran:

- 1º Caracterizar los efectos biológicos que provocan los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre el desarrollo embrionario, tratando de inducir experimentalmente alteraciones mediante la exposición de embriones de ave (de pollo) y de mamífero (de rata y ratón) a campos electromagnéticos de frecuencia industrial en el rango de intensidades al que puede estar expuesta la población, tanto en el trabajo como en la vivienda.
- 2º Determinar experimentalmente la relación entre la dosis de exposición a un campo electromagnético de frecuencia industrial —intensidad y duración— y el tipo de respuesta biológica obtenida, así como si el efecto es reversible o no tras cesar la exposición.
- 3º Estudiar los mecanismos celulares y moleculares básicos del desarrollo embrionario, como la proliferación, supervivencia, diferenciación y emigración celular, que pueden resultar alterados por la exposición al campo electromagnético.
- 4º Analizar la posible extrapolación a organismos completos (ratones adultos) de los datos obtenidos *in vitro* para tener una idea más aproximada de los efectos celulares y moleculares reales en una población expuesta a este tipo de campos y poder evaluar adecuadamente el posible riesgo para la salud pública.



El objetivo era analizar todos los niveles, desde los efectos *in vivo* hasta el comportamiento celular y la expresión génica.

RESULTADOS EXPERIMENTALES OBTENIDOS Y SU INTERPRETACIÓN

PRIMERA PARTE: Experimentos con embriones de ave y de mamífero

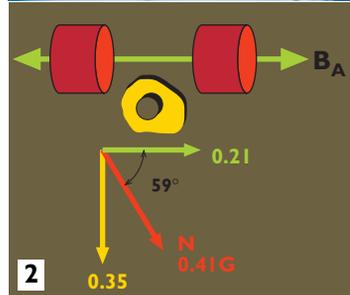
Propósito y razonamiento de este tipo de experimentos

Una célula es más vulnerable a cualquier agente externo cuando está más activa, es decir cuando se está duplicando o cuando está leyendo su material genético. Las células embrionarias se caracterizan por ser las células normales que más activamente se duplican o leen su material genético, bien para dividirse bien para formar proteínas específicas para diferenciarse a tejidos cada vez más adultos. Por tanto, los experimentos *in vitro* con células o tejidos embrionarios expuestos a un agente son el camino más rápido y sencillo para que éste revele sus posibles efectos biológicos.

Una vez detectados estos efectos ha de comprobarse si se reproducen en tejidos y animales adultos, que son menos vulnerables a la acción de agentes externos, para saber hasta qué punto son extrapolables las conclusiones obtenidas *in vitro* a los animales completos. El paso final sería comparar si la información recopilada en el laboratorio es coherente con la que suministran los estudios epidemiológicos, para tratar de evaluar la incidencia del agente en la población humana.

Exposición a Campos Electromagnéticos (50 Hz)

Figura 1. Equipo para administrar campos magnéticos sinusoidales de frecuencia industrial, consistente en unas bobinas de Helmholtz de 36 cm de diámetro colocadas paralelamente, con una distancia de 17 cm entre ellas. Una fuente de alimentación construida al efecto (Magnestim Simulator, Mod. SM 3000) suministra una corriente sinusoidal de frecuencia e intensidad controlables. El campo magnético generado por las bobinas, así como el campo magnético natural en el laboratorio se calibró in situ. Para realizar los experimentos *in vitro* las bobinas se introdujeron en una estufa de cultivos (fotografía superior) y se dispusieron de modo que el campo electromagnético medido tuviera una orientación horizontal en la dirección norte-sur.



Breve descripción de los procedimientos experimentales

En estos experimentos utilizamos embriones completos de ave (pollo) y mamífero (rata) desarrollados *in vitro* y expuestos de manera continua a campos electromagnéticos de frecuencia industrial de 1 a 500 μ T de intensidad durante periodos de 24 a 72 horas. El tipo de análisis utilizado para detectar los posibles efectos en los embriones consistió en un estudio de anatomía patológica similar al que se utiliza en las biopsias clínicas, completado con análisis de imagen asistido por ordenador y estudios histoquímicos buscando proteínas y antígenos específicos de tejidos y órganos para determinar las potenciales dianas de los campos electromagnéticos. (Figura 1)

Resultados obtenidos y su interpretación

Con esta metodología realizamos 30 experimentos sobre un total de 650 embriones de pollo desarrollados *in vitro*, y tras compararlos con los embriones de control, desarrollados en ausencia de campo electromagnético, observamos:

- Una disminución de la supervivencia de los embriones de pollo a partir de 50 μT y dependiente de la intensidad del campo, siendo evidente por encima de 100 μT . Debemos precisar que ésta es una intensidad de campo poco frecuente en la vida real y que el efecto aparece *in vitro*, es decir en embriones que están fuera de su ambiente natural —el huevo—; o lo que es lo mismo, en condiciones experimentales extremas desde el punto de vista de su supervivencia.
- Los esbozos de órganos afectados son la cresta neural, los ganglios craneales y, en algunos casos, los precursores del ojo y del oído, todos ellos derivados ectodérmicos; por el contrario, no sufren ningún cambio o alteración los derivados mesodérmicos y endodérmicos, como por ejemplo el esbozo cardiaco. Estos efectos dependen de la intensidad de campo, detectándose de forma evidente entre 100 y 500 μT ; por debajo de 100 μT no resulta afectado ningún esbozo embrionario, a excepción de las células de la cresta neural y los ganglios craneales ótico y trigeminal, en los que se aprecian cambios discretos con exposiciones durante 24 horas a campos entre 10 y 100 μT . **(Figura 2)**

Experimentos con Embriones de Pollos

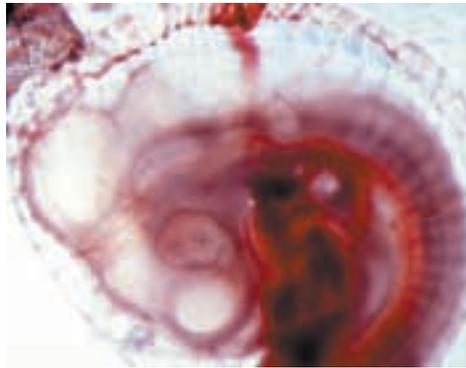


Figura 2. En la figura puede observarse el aspecto típico de un embrión de pollo desarrollado *in vitro*, una de las preparaciones experimentales de nuestro estudio.

- Todos los efectos observados son reversibles cuando se deja el embrión en cultivo en ausencia de campo electromagnético por un periodo igual o mayor al de la duración de la exposición previa. La relación entre reversibilidad y tiempo de exposición depende directamente del momento de la exposición y del calendario de desarrollo del embrión.
- Los estadios más susceptibles al campo electromagnético son muy tempranos (estadios 10 a 19 de la escala de Hamilton y Hamburger —HH—), caracterizados por la migración y proliferación de la cresta neural y la organización del sistema nervioso cefálico. La susceptibilidad es significativamente menor en estadios más desarrollados (22-23 HH).

Así pues, los embriones de ave expuestos *in vitro* a campos electromagnéticos de frecuencia industrial (50 Hz) e intensidades entre 10 y 500 μT durante 24, 48 y 72 horas presentan algunas alteraciones morfológicas discretas, pero específicas de determinados tejidos embrionarios, siendo las células de la cresta neural las más significativamente afectadas; sin embargo, la mayor parte de los órganos y sistemas no sufren ningún cambio. Por debajo de 10 μT no se detecta ningún tipo de alteración. Además, todos los efectos mencionados resultaron ser reversibles en las condiciones experimentales utilizadas. **(Figura 3 y 4)**

Experimentos con Embriones de Pollos

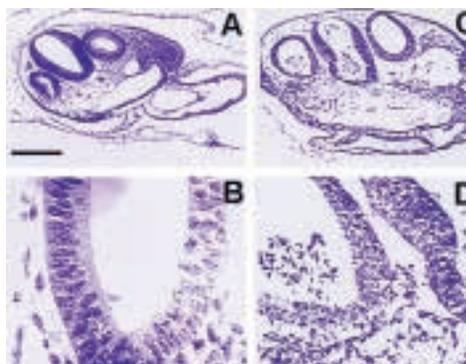
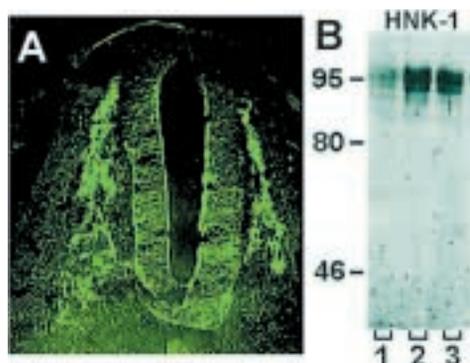


Figura 3. Ejemplos de los efectos producidos por la exposición a campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre el embrión de pollo desarrollado *in vitro*. En las microfotografías A) y B) aparecen las estructuras cefálicas normales de un embrión de pollo de 56 horas de incubación desarrollado *in vitro* durante 48 horas adicionales en ausencia de campos. En C) y D) aparecen estructuras cefálicas alteradas en un embrión de pollo cultivado durante 48 horas en presencia de campos de 500 μT .

Experimentos con Embriones de Pollos

Figura 4. Estudio de las posibles diadas embrionarias de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial: Análisis de la cresta neural. **A)** Sección histológica de un embrión de pollo de 3 días de incubación, en la que se pueden apreciar las células de la cresta neural (flechas) emigrando lateralmente al tubo neural (*); inmunotinción mediante el anticuerpo específico de cresta neural NHK-1 marcado con fluoresceína isotiocianato (FITC). **B)** Caracterización del anticuerpo específico de cresta neural NHK-1 mediante la técnica de «Western blot».



Para valorar la posible relevancia de estas alteraciones en el desarrollo fetal humano y, por tanto, los posibles riesgos para la salud, era necesario estudiar la respuesta en embriones de mamífero, una aproximación experimental mucho más cercana al desarrollo humano. Así pues, realizamos 10 experimentos en los que se expusieron 286 embriones de mamífero (rata) desarrollados ex utero —cultivados fuera de la matriz— a campos electromagnéticos de frecuencia industrial entre 1 y 500 μT durante 24, 48 y 72 horas, hallando que:

- Los embriones de rata no sufren cambios estructurales que afecten a su desarrollo ni malformaciones congénitas y, por lo tanto, tampoco una disminución de la supervivencia. Las discretas alteraciones embrionarias detectadas provocaron únicamente moderados retardos en el crecimiento y maduración de los embriones de rata. (Figura 5)

Experimentos con Embriones de Rata

Figura 5. Aspecto característico de un embrión de rata desarrollado in vitro. La técnica corresponde al cultivo embrionario ex útero una de las preparaciones experimentales de nuestros estudios en mamíferos.

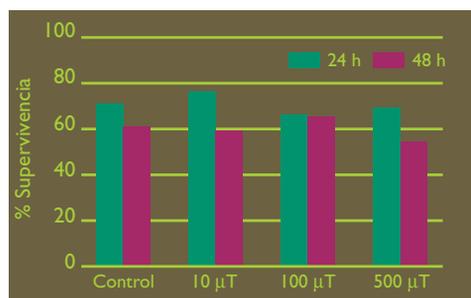


- El tubo neural, las células de la cresta neural o sus derivados en el sistema nervioso no presentan alteraciones a intensidades inferiores a 500 μT , resultando únicamente levemente afectados a intensidades de campo superiores. (Figura 6a y 6b)

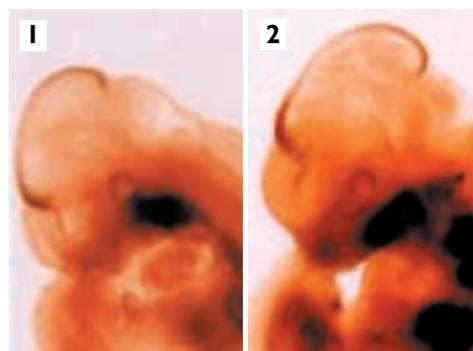
Por lo tanto, en los embriones de mamífero no se producen las alteraciones observadas en embriones de ave por la exposición a campos electromagnéticos. Aunque las respuestas biológicas en ambas especies son cualitativamente muy similares, ya que el mismo tipo de células —las de la cresta neural— respondía a la

Figura 6a y 6b. Evolución in vitro de embriones de mamífero expuestos a campos electromagnéticos de frecuencia industrial. El gráfico representa los resultados de los estudios de supervivencia de embriones de rata cultivados durante 24 horas (barra rojas) ó 48 horas (barras verdes), en ausencia de campos electromagnéticos y expuestos a campos de intensidad variable entre 10-500 μT . Los datos corresponden a 60 embriones para cada tiempo de cultivo empleado y se representan. En la parte inferior se muestra el aspecto de los embriones de rata cultivados ex útero en presencia y ausencia de campos electromagnéticos (figuras 1 y 2 respectivamente).

Viabilidad de los Cultivos embriones de rata «extra utero»



Experimentos con Embriones de Rata



exposición a campos tanto en los embriones de ave como de mamífero, en mamíferos se dan de forma muy atenuada. (Figura 7a y 7b)

Este distinto comportamiento sugiere que las condiciones experimentales *in vitro* hacen al embrión de ave más vulnerable a los campos electromagnéticos de frecuencia industrial que las condiciones de exposición *ex utero* de los mamíferos, mucho más próximas a la gestación natural. La razón quizás sea que el anclaje del embrión de ave al sustrato de crecimiento —la placa de cultivo— requiere de moléculas cargadas (glicoproteínas) que pueden resultar afectadas por el campo externo; en tal caso este mecanismo no podría afectar a un embrión cuando está en su entorno natural, en el huevo.

Estudios Anatomopatológicos en Embriones de Mamífero (Rata)

Tejido	10	50	100	500	1.000 μ T
Neural	-	-	-	+	++
Sensorial	-	-	-	+	++
Epitelial	-	-	-	+	++
Vascular	-	-	-	-	-
Mesodermo	-	-	-	-	-

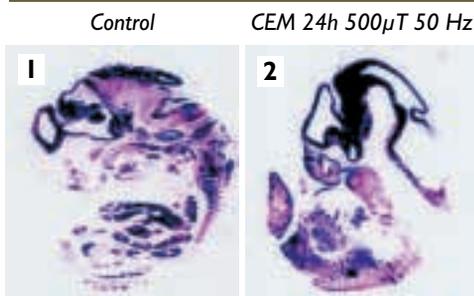


Figura 7a y 7b. Evolución *in vitro* de embriones de mamífero expuestos a campos electromagnéticos de frecuencia industrial. La tabla muestra en resumen las alteraciones histológicas observadas en embriones de rata desarrollados *in vitro*, libres y expuestos a campos. La valoración de estas alteraciones se realizó en relación con la intensidad de campo a la que los embriones fueron sometidos de forma continua durante 48 horas. Los criterios de valoración distinguen cuatro diferentes grados de alteración estructural de los tejidos embrionarios: (-) sin efecto, (+) efecto leve, (++) efecto moderado, (+++) efecto severo. En la figura b se muestran dos ejemplos del análisis histológico realizado.

En resumen, de estos resultados se deduce que la exposición a campos electromagnéticos de frecuencia industrial de las intensidades que generan las instalaciones de alta tensión y equipos eléctricos no produce malformaciones congénitas en mamíferos.

SEGUNDA PARTE: Experimentos con cultivos de células y tejidos

Propósito y razonamiento de este tipo de experimentos

En este grupo de experimentos estudiamos los mecanismos celulares mediante los cuales los campos electromagnéticos podrían interactuar con los seres vivos, en particular analizamos su efecto sobre el comportamiento celular. El comportamiento de una célula de cualquier tejido de un organismo es la suma de una serie de procesos básicos, como la división celular —también llamada proliferación—, la diferenciación celular, la adhesión de las células a un sustrato y el envejecimiento y muerte celular.

El más importante de todos es la proliferación. Las células se dividen cuándo y dónde conviene, de acuerdo a las necesidades generales del organismo, e importantes procesos patológicos están ligados a trastornos en la proliferación celular, por exceso o por defecto; el cáncer, por ejemplo, se inicia a partir de una célula que crece continuamente y sin control. Otra posibilidad es que la alteración en la proliferación celular cause a su vez cambios en la diferenciación de las células —su capacidad de madurar y especializarse para realizar una función determinada—; de este modo, la inhibición de la diferenciación conduce a un aumento excesivo de células que aún no son capaces de realizar sus funciones.

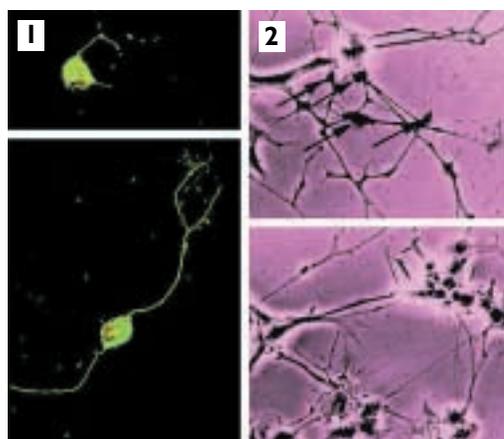
Breve descripción de los procedimientos experimentales

Durante la proliferación celular el material genético —el ADN— se ha de replicar antes de que la célula se divida en dos células hijas, por lo tanto la determinación de la síntesis de ADN es muy útil para valorar la proliferación celular. Si se añaden precursores —nucleótidos— del ADN marcados radiativamente, como Timidina tritiada (^3H -Timidina) o BdrU (5-bromo-2-deoxiuridina) al cultivo celular, las células que están a punto de dividirse lo incorporarán a su ADN, y esta incorporación puede cuantificarse.

El estudio de la proliferación celular se llevó a cabo a lo largo de 46 experimentos en los que se emplearon más de 650 cultivos de tejidos aislados (vesículas óticas) y células de la cresta

Experimentos de Cultivos Celulares

Figura 8. Efectos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre el crecimiento y diferenciación de células neurales de mamífero. En las microfotografías de la izquierda se pueden observar dos neuronas identificadas con un anticuerpo específico marcado con fluorescencia. A la derecha se muestran dos cultivos neuronales donde las células han sido marcadas con un trazador radioactivo. Con estos métodos se ha podido comprobar como la exposición a campos no afecta a la supervivencia y diferenciación de las neuronas maduras.



neural (precursores neuronales), neuronas embrionarias (cocleovestibulares) y neuronas postnatales, tanto de ave (pollo) como de mamífero (ratón). Los cultivos de células y tejidos fueron mantenidos *in vitro* en condiciones de reposo —basales— o por el contrario estimulados con una señal de proliferación específica —lo que se denomina un «factor de crecimiento»— y expuestos a campos electromagnéticos de frecuencia industrial entre 1 y 500 μT durante periodos de 24, 48, 72 horas y de hasta 10 días. (Figura 8)

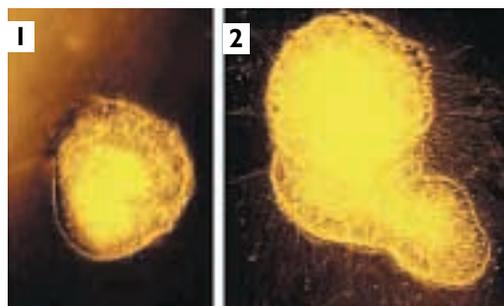
Resultados obtenidos y su interpretación

Los resultados de estos experimentos revelan que:

- La exposición por periodos de 72 ó mas horas produce una inhibición dependiente de la intensidad del campo de la proliferación inducida por un factor de crecimiento (NT3) en las células de la cresta neural en cultivo, evidente a partir de 50 μT (17% de inhibición respecto a los controles). Por el contrario, intensidades de campo menores, entre 1 y 10 μT , estimulan en las células de la cresta neural un aumento de la proliferación celular entre el 10% y el 24%. (Figura 9)
- La exposición durante 48-72 horas produce una pequeña inhibición (12%) de la proliferación celular estimulada por el factor NT3 en los neuroblastos, observable a intensidades de 10 μT , con poco o ningún efecto sobre la proliferación estimulada en estas células por otra señal de proliferación no específica, el suero fetal.

Figura 9. Efectos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre el crecimiento de estructuras nerviosas *in vitro*. La microfotografía de la derecha, muestra un cultivo de ganglio cocleovestibular al que se ha suplementado con NGF (Factor de Crecimiento Nervioso). En la imagen de la izquierda se muestra un ganglio similar cultivado sin ningún factor de crecimiento. Este tipo de efecto estimulador de crecimiento del NGF es el que parece antagonizarse parcialmente por la exposición continua a campos de 500 μT .

Experimentos de Cultivo de Tejidos



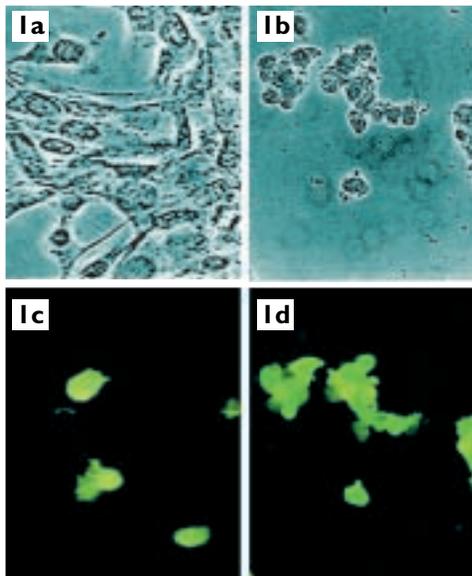
- La exposición durante 48-72 o más horas de neuronas embrionarias (de 8 días) disminuye la supervivencia inducida por los factores de los que dependen (NT3), de forma dependiente de la intensidad, con una muerte neuronal del 5% a 50 μT y del 54% a 500 μT . Sin embargo, exposiciones entre 1 y 10 μT mejoran la supervivencia neuronal estimulada por el factor NT3 entre un 3% y un 9%. No hay efectos significativos en las neuronas cultivadas en ausencia de factores de transcripción (NT3).
- La exposición continua de neuronas maduras postnatales no produce una disminución significativa de su supervivencia en cultivos con y sin el factor NT3.
- No hubo efectos sobre la supervivencia y el nivel de calcio citoplasmático en neuronas cerebelosas adultas. (Figura 10)

Experimentos de Cultivo de Tejidos



Figura 10. Efectos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre la diferenciación de estructuras nerviosas desarrolladas *in vitro*. La microfotografía muestra un cultivo de ganglio nervioso de tipo sensorial, al que se ha suplementado con NT-3 (Neurotrofina 3). En la imagen se observa como incluso en presencia de campos de 500 μT la diferenciación neural ha sucedido normalmente.

Es decir, los resultados de nuestros experimentos *in vitro* indican que la proliferación normal no suele alterarse por la exposición a campos electromagnéticos de frecuencia industrial en la mayoría de las células estudiadas. Solamente se detectan efectos en algunos tipos específicos de células embrionarias que tienen en común ser de tipo ectodérmico y estar realizando movimientos en la matriz extracelular del embrión, la cual contiene moléculas cargadas eléctricamente (por ejemplo, las células de la cresta neural).



Experimentos de Cultivo de Tejidos

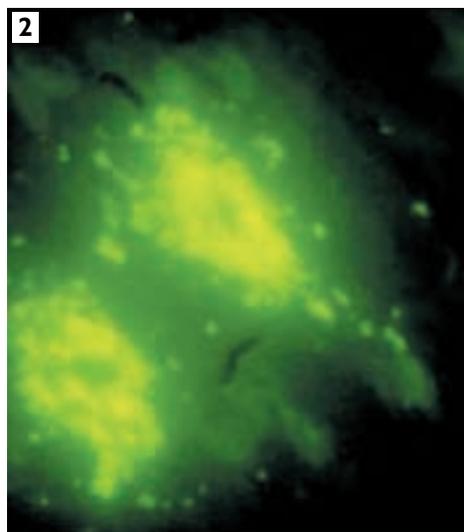


Figura 11. Efectos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre la proliferación de las células embrionarias de pollo. Microfotografías con contraste de fases de cultivos primarios de cresta neural, control (1a) y expuesto (1b). Microfotografías con fluorescencia (rodamina) de los mismos cultivos en los que aparecen marcadas las células de la cresta neural que han incorporado bromodeoxiuridina (BrdU) por estar sufriendo proliferación celular (2). Obsérvese como sólo una fracción de células de la cresta neural proliferan en los cultivos primarios de expuestos de forma continua a campos de 500 μT respecto a los controles (1c y 1d).

El efecto observado es una inhibición parcial, y dependiente de la intensidad de campo, de la proliferación en algunas poblaciones de células embrionarias cuando son inducidas a proliferar por factores de crecimiento potentes y específicos. Sin embargo, cuando las células en cultivo se mantienen en condiciones de reposo, es decir, no reciben ninguna señal externa de proliferación, el efecto del campo es poco significativo o nulo. Estos efectos han sido observados en cultivos de células de embriones de ave y también de mamífero, pero en los mamíferos resultaron ser más discretos y moderados.

Por otra parte, cuando se han repetido los experimentos de proliferación celular *in vivo*, utilizando embriones completos, los cambios en la proliferación celular provocados por el campo en los cultivos de células no se han observado en el embrión de mamífero (rata). Solamente han aparecido inhibiciones moderadas en los embriones de ave y siempre con mayores intensidades de campo y tiempos de exposición más prolongados que los empleados en cultivos celulares *in vitro*. (Figura 11)

Como conclusiones de todos estos experimentos, tanto *in vitro* como *in vivo*, podemos decir que:

- Los campos electromagnéticos de frecuencia industrial no pasan desapercibidos para determinados tipos de células embrionarias, muy activas en cuanto a proliferación, migración y diferenciación se refiere; y preferentemente cuando son puestas en cultivo (fuera del embrión) y estimuladas mediante señales de proliferación potentes. Es decir, en condiciones experimentales extremas.
- Los cambios de la proliferación celular inducidos *in vitro* no fueron detectados *in vivo* en embriones completos de mamífero, incluso expuestos durante tiempos e intensidades de campo que triplican los empleados en experimentos con cultivos celulares.

Esto indica, por una parte, que la exposición a campos electromagnéticos durante la gestación es muy improbable que produzca mayor mortalidad (abortos) o defectos congénitos que alteren la viabilidad del feto o su vida postnatal; y, por otra, que la exposición a campos de frecuencia industrial de las intensidades habituales en la vida cotidiana no interfieren por sí mismos en la proliferación celular.

TERCERA PARTE: Experimentos sobre los mecanismos moleculares. Expresión génica

Propósito y razonamiento de este tipo de experimentos

En este tipo de experimentos intentamos hallar los mecanismos moleculares mediante los cuales los campos electromagnéticos de frecuencia industrial, de la intensidad que pueden generar las instalaciones y equipos eléctricos de alta tensión pudieran interferir con los procesos celulares básicos como la proliferación, la diferenciación y la supervivencia. El objetivo era poder establecer una relación causa-efecto entre la exposición a estos campos y los efectos biológicos observados.

Tanto el funcionamiento como la morfología de la célula son el resultado de la expresión de un conjunto de genes, cuya alteración o mutación causa trastornos en el comportamiento celular. Entre este tipo de genes cabe destacar los proto-oncogenes y los genes supresores de tumores. En una visión simplificada, pero no muy alejada de la realidad, los proto-oncogenes son los genes que al expresarse producen —codifican— aquellas proteínas que favorecen (*aceleran*) el ciclo de división celular y, por tanto, la multiplicación celular; mientras que los genes supresores de tumores codifican proteínas que tienden a mantener bloqueado (*frenan*) dicho ciclo.

La velocidad de crecimiento de una célula en cada momento es el resultado de la acción simultánea de ambos tipos de genes. Resulta claro que tanto una expresión excesiva de los proto-oncogenes como una limitada o nula expresión de los genes supresores pueden originar un crecimiento celular descontrolado que conduzca al cáncer.

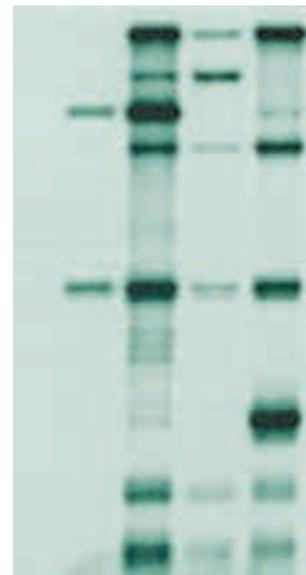
Como posibles dianas de los campos electromagnéticos estudiamos los siguientes genes, cuya alteración por otros agentes cancerígenos está demostrado que provoca alteraciones de la proliferación celular ligadas a la aparición del cáncer:

- Genes que codifican proteínas que son factores de crecimiento o sus receptores en la membrana celular: *PDGF*, *erb-B*, *erb-B2*, *RET* y *trkA,B,C*.
- Genes que codifican proteínas que son transmisoras citoplasmáticas de la señal de proliferación generada en el receptor: *Ki-ras* y *N-ras*.
- Genes que codifican proteínas que son factores de transcripción que activan a otros genes promotores de la proliferación y el crecimiento celulares: *c-fos*, *c-jun*, *c-myb* y *c-myc*.
- Genes que codifican proteínas reguladoras de la parada del ciclo celular y de la muerte celular: *bcl-2*.
- Genes supresores de tumores: *Rb* y *p53*.

Breve descripción de los procedimientos experimentales

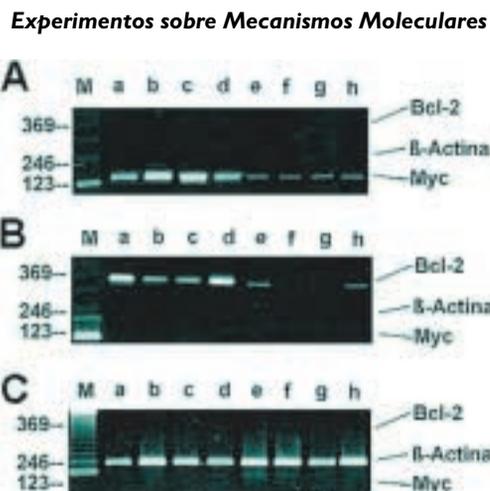
Los experimentos para estudiar la expresión génica en presencia y ausencia de campos electromagnéticos se realizaron tanto en embriones de ave y mamífero como en cultivos de células y tejidos embrionarios. Además de los procedimientos convencionales en la manipulación de células, tejidos y embriones empleamos las siguientes técnicas específicas de análisis de ADN, mRNA y proteínas para determinar la actividad —expresión— de estos genes:

- «PCR» (del inglés, Polymerase Chain Reaction), que permite hacer millones copias de un gen específico que esté expresándose a partir del ADN de una muestra.
- «Northern Blot Analysis», que permite analizar y cuantificar la actividad de los genes que interesan después de separarlos de forma selectiva.
- «Hibridación *in situ*», que se emplea para localizar genes y su expresión en muestras de tejidos.
- «Western Blot» e «Inmunocitoquímica», ambas técnicas identifican proteínas celulares pro-



Ejemplo de análisis de expresión génica mediante técnicas de ADN.

Figura 12. Interacción de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre los mecanismos moleculares que controlan la proliferación celular. Efectos de los campos sobre la expresión de distintos proto-oncogenes. En la figura se muestran tres estudios de expresión génica por la técnica de PCR, en este tipo de estudios se caracterizó de forma cuantitativa la expresión de los proto-oncogenes *c-myc* y *bcl-2* junto al gen de la β -actina como control de referencia. Las células en las que se mide la expresión de estos genes fueron cultivadas en ambiente libre de campos o bien expuestas a campos de frecuencia industrial (50 Hz) de intensidades variables entre 1 y 500 μ T. Los resultados se describen en el texto.



ducidas por los genes mediante su reconocimiento con anticuerpos específicos. La inmunocitoquímica se realiza en secciones tisulares mientras que la técnica Western Blot consiste en la detección de proteínas, previamente separadas por electroforesis y transferidas a un soporte sólido (nitrocelulosa, PVDF). (**Figura 12**)

Con estos procedimientos de análisis molecular realizamos a lo largo del proyecto de investigación un total de 85 experimentos en los que estudiamos la expresión de todos los genes mencionados, tanto basal (sin otros estímulos exter-

nos) como la inducida por señales mitogénicas.

Resultados obtenidos y su interpretación

Respecto a los mecanismos moleculares del funcionamiento celular en cultivos de células embrionarias, observamos que los campos electromagnéticos de frecuencia industrial de 1-500 μ T durante 24-72 horas:

- No modifican ni la expresión basal ni la inducida —ya sea de forma cualitativa o cuantitativa— de los proto-oncogenes que codifican factores de crecimiento o sus receptores en la membrana celular (*PDGF*, *erb-B*, *erb-B2*, *RET* y *trkA,B,C*).
- No modifican ni la expresión basal ni la inducida de los proto-oncogenes que codifican proteínas que son transmisoras citoplasmáticas de la señal de proliferación generada en el receptor (*Ki-ras* y *N-ras*).
- No modifican la expresión de factores de transcripción como *c-myc* y *c-jun*, no alterándose ni los niveles basales ni la expresión inducida por señales específicas añadidas al medio de cultivo. Tampoco alteran la expresión basal —sin estímulo— de *c-myc* y *c-fos*; sin embargo se observan cambios en la expresión de estos dos últimos genes cuando se estimula a las células expuestas a campos por encima de 100 μ T con una señal mitogénica específica de cada población celular:
 - Un aumento en la expresión de *c-myc* inducida por señales mitogénicas.
 - Una disminución, dependiente de la intensidad de campo, de la expresión inducida de *c-fos* a corto plazo (20 minutos). Si la exposición a campos se mantiene y la señal mitogénica continua presente, la expresión tardía de *c-fos* (a 12 o más horas) no sólo no se inhibe sino que aumenta moderadamente.
- Producen cambios en la expresión de *bcl-2*, familia de genes que codifica proteínas con funciones ligadas a la regulación del ciclo celular mediante el mecanismo de inhibición de la

muerte celular programada (apoptosis). En presencia de campo los neuroblastos embrionarios en cultivo disminuyen significativamente la expresión de *bcl-2*; esta inhibición se duplica si las células en cultivo son tratadas con un agente inductor de la muerte celular. (Figura 13)

Experimentos sobre Mecanismos Moleculares



Figura 13. Efectos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre la expresión de distintos proto-oncogenes. En la figura se muestra la localización de la expresión de los proto-oncogenes *c-fos* y *trkC* mediante la técnica de la hibridación *in situ*. Los ejemplos corresponden a dos secciones de embriones de pollo tratados *in vitro* con el mitógeno TPA (phorbol 12-mistirato 13-acetato) durante 12 horas en presencia de campos.

- Actualmente está en estudio el efecto de los campos sobre los genes supresores de tumores *Rb* y *P53*.

En resumen, los efectos moleculares indican que los campos electromagnéticos de frecuencia industrial no pueden calificarse de genotóxicos o lesivos para la célula, tejido u organismo. Tan sólo parecen aumentar la sensibilidad a ciertas señales externas que intervienen en el control bioquímico del ciclo celular, y únicamente a intensidades muy elevadas. Pero incluso en ese caso, los campos electromagnéticos serían un factor externo más en el entorno de la célula, como pueden ser la temperatura, el pH, la humedad, el ambiente químico, etc., susceptibles todos ellos de causar un cierto estrés celular y, consecuentemente, la respuesta bioquímica de la célula.

CUARTA PARTE: Experimentos *in vivo* en animales completos

Propósito y razonamiento de este tipo de experimentos

Realizamos una serie de experimentos sobre animales completos (ratones y ratas albinas adultas) con el objetivo de analizar la posible extrapolación de los datos obtenidos *in vitro* a sistemas experimentales *in vivo*, que son preparaciones más complejas y por lo tanto más próximas a la vida real. Para diseñarlos fue esencial la información obtenida anteriormente en los sistemas experimentales más simples, gracias a la cual pudimos determinar qué órganos, tejidos y procesos celulares debíamos analizar en los animales adultos.

Además, realizamos también un grupo de experimentos sobre el desarrollo embrionario de ratones mutantes nulos, a los que se les ha suprimido la expresión de determinados genes clave en el control de ciclo celular. Se analizaron ratones mutantes nulos para la familia de genes *trkA,B,C* y *bcl2*, con el objetivo de aproximarnos a lo que pudiera ser la acción de los campos electromagnéticos sobre una población con defectos genéticos, es decir, predispuesta de antemano a padecer determinados trastornos.

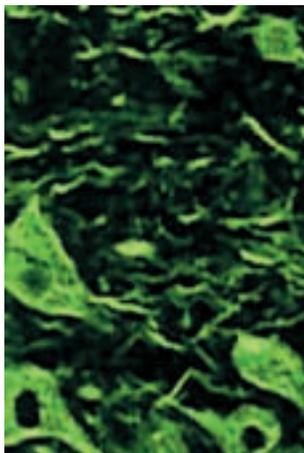
Breve descripción de los procedimientos experimentales



En el primer grupo de experimentos expusimos un total de 156 ratas albinas preñadas a campos electromagnéticos de frecuencia industrial de 1 a 500 μT de forma continua durante toda la gestación, para estudiar los efectos en la camada de ratones a las 1-3 horas de vida y compararlos con sus correspondientes controles, haciendo un total de 320 especímenes. El análisis utilizado para detectar los efectos de los campos en los animales recién nacidos consistió en un estudio de anatomía patológica, completado con otro de proliferación celular en tejidos concretos mediante la técnica de la BdrU (5-bromo-2-deoxiuridina). En algunos casos también se estudió la expresión de mRNA y proteínas que constituyen marcadores específicos del desarrollo y la diferenciación de determinados tipos celulares (por ejemplo, expresión de β -III tubulina en neuronas).

En el segundo grupo de experimentos expusimos de forma continua desde el primer día de gestación ratas preñadas procedentes de camadas tanto normales como mutantes a campos electromagnéticos. Al finalizar la gestación los animales fueron genotipados y se seleccionaron para el análisis aquellos animales mutantes nulos para *trkA,B,C* y *bcl2*, comparándose las características de 83 ratones mutante y control a las 1-3 horas de vida postnatal.

Los ratones mutantes se crean mediante la técnica de ingeniería genética denominada «gene targeting», que consiste básicamente en introducir una mutación en el gen de interés. Este gen mutado se introduce (por recombinación homóloga) en el genoma de una célula pluripotente, que tras un proceso de selección se inserta en un grupo celular (blástula) que vaya a dar lugar a un embrión. Si la célula conteniendo el gen mutado se desarrolla en la blástula como una célula germinal pueden generarse animales que tengan y transmitan esa mutación.



Los efectos *in vivo* se han estudiado tanto a nivel biopsico (fotografía superior) como a nivel celular (fotografía inferior), observando la expresión de proteínas específicas de transformación tumoral.

Resultados obtenidos y su interpretación

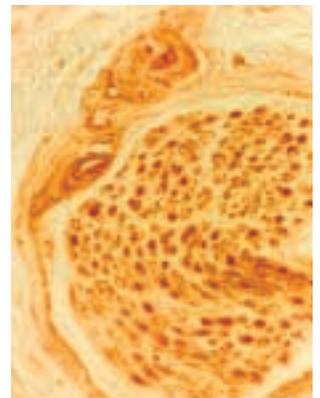
Los resultados obtenidos en ratas albinas preñadas pueden resumirse en:

- **Viabilidad fetal.** La supervivencia de los embriones no varía por exposición a campos entre 1 y 500 μT ; aunque en los especímenes expuestos continuamente a intensidades de campo iguales o mayores de 500 μT se registra una disminución estadísticamente significativa de la viabilidad fetal del 5-6%. Sin embargo, tanto los controles como los embriones desarrollados en presencia de campos muestran unas características morfológicas externas normales.
- **Análisis histopatológico.** La estructura histológica de los 20 especímenes analizados es similar en los animales expuestos a campos y en los controles; así por ejemplo, en el desarrollo neural aparecen normalmente desarrollados los ganglios sensitivos de los nervios craneales V, VII, VIII, IX y X, mientras que a nivel torácico y lumbar están presentes los ganglios raquídeos con independencia del nivel de campo. Cuando el embrión se expone durante 72 horas a un campo magnético mayor de 500 μT se detecta en un 13-14% de los especímenes moderadas disminuciones de tamaño y retrasos leves en el crecimiento de los esbozos neurales.

Los resultados de los experimentos en los que estudiamos el desarrollo embrionario de ratones mutantes expuestos de forma continua a campos electromagnéticos de 1 a 500 μT son:

- La exposición durante toda la gestación no modifica el desarrollo ni embrionario ni postnatal de los ratones mutantes nulos para *trkA,B,C* (-/-). Encontrando idénticos patrones de cambio en órganos tales como el cerebro tanto en mutantes como en controles con independencia de la intensidad de campo.
- La exposición durante toda la gestación no afecta al sistema nervioso de los mutantes más de lo que lo hace la propia mutación, que de por sí tiende a presentar serios defectos en este sistema. No se modifican las diferencias ya conocidas debidas a la mutación del gen *bcl-2*, ni tampoco se alteran las diferencias en el patrón de proliferación celular en los especímenes con la expresión del gen *bcl2* suprimida —*bcl2* (-/-)— respecto a sus controles —*bcl2* (+/+)—.

Los anteriores resultados indican que los campos electromagnéticos de frecuencia industrial no aumentan ni potencian los defectos y malformaciones debidas a una mutación de los genes estudiados.



Ejemplo de la ausencia de efectos sobre tejidos neuromusculares.

¿CÓMO NOS AFECTAN ESTOS RESULTADOS?

De acuerdo con los resultados obtenidos, resumidos en los apartados anteriores, los campos electromagnéticos de frecuencia industrial no pasan desapercibidos para determinados tipos de células embrionarias cuando son expuestas *in vitro*. Sin embargo, estos efectos se detectan únicamente a unos niveles de exposición elevados y bajo condiciones experimentales muy particulares y extremas que no se dan en la vida real.

Bajo dichas condiciones los campos electromagnéticos no parecen tener un efecto directo, sino que podrían interaccionar con los tejidos vivos de tal manera que ciertas células y tejidos sean más sensibles a otros agentes y señales del entorno celular. Este posible efecto sinérgico entre los campos y otros factores se observa *in vitro*, y únicamente se reproduce de manera parcial *in vivo* con exposiciones continuas a campos de intensidades cientos de veces superiores a las que puede estar expuesta cualquier persona tanto en el trabajo como en la vivienda.



Por lo tanto, con la información disponible actualmente y los datos aportados por esta investigación podemos afirmar que la relación entre campos electromagnéticos de frecuencia industrial y enfermedades como cáncer o malformaciones congénitas resulta altamente improbable a los niveles que se encuentran en la cercanía de las instalaciones eléctricas de alta tensión.

DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROYECTO

Antes de que los datos y conclusiones de una investigación sean publicados en las revistas técnicas especializadas han de pasar por una revisión crítica por parte de reputados expertos en la materia, eso asegura la calidad y originalidad del trabajo que se presenta, y es imprescindible para que la comunidad científica internacional pueda evaluarlos y aceptarlos como válidos. Otro refrendo importante lo constituyen las Tesis Doctorales, puesto que han de ser defendidas ante un Tribunal formado por cinco Doctores independientes. De este proyecto de investigación han surgido:

Artículos en revistas internacionales:

- «Effects of low frequency electromagnetic fields (emf) exposure on chick and mouse embryos». **Radiation Research** (pendiente de publicación).
- «Effects of low frequency electromagnetic fields (emf) exposure on cell proliferation of embryonal cells». **Radiation Research** (pendiente de publicación).
- «Expression of myc, fos, jun and myb in embryonal cells under exposure to low frequency electromagnetic fields (emf)». **Radiation Research** (pendiente de publicación).
- «Low frequency electromagnetic fields (emf) and changes on bcl-2 family of apoptosis regulatory genes». **Radiation Research** (en preparación).

Ponencias y comunicaciones en congresos:

- «Estudios experimentales sobre los efectos biológicos de los campos electromagnéticos». IV Congreso Nacional de Medio Ambiente. Madrid, 23-27 de noviembre de 1998.
- «Low Frequency Electromagnetic Fields Inhibit Neural Crest Cells Development In Chick Embryo». XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Anatómica Española. Valladolid, 27-30 septiembre de 1999.

Tesis doctorales:

- «Acción de los campos magnéticos en la inflamación», por Marta Fernández Muñoz. Aprobada el 9 de diciembre de 1998 con Sobresaliente Cum Laude.
- «Efecto de los campos electromagnéticos (CEM) sobre la proliferación y la diferenciación celular. Estudio experimental de la relación entre los CEM y las malformaciones congénitas», por Sonia de la Fuente Casuso. Aprobada el 31 de mayo de 1999 con Sobresaliente Cum Laude.
- «Acción de los campos magnéticos de baja frecuencia sobre embriones de mamífero», por Rafael Ramos Martínez. Pendiente de lectura.



Es importante dar a conocer los resultados del proyecto en publicaciones y foros científicos.

¿ES NECESARIO SEGUIR INVESTIGANDO?



Nuestra respuesta ha de ser que sí, es necesario seguir investigando.

En primer lugar porque, tal y como es práctica habitual en ciencia, sería necesario que otros laboratorios independientes realizaran experimentos similares a los descritos en esta publicación; esto permitiría contrastar y valorar los resultados y conclusiones que aquí se presentan.

Además, el primer paso en la evaluación del riesgo de cualquier agente que realizan los organismos internacionales encargados de velar por la salud pública consiste en averiguar si el agente presenta algún peligro o no. Para ello, entre otras cosas, hay que determinar de forma experimental sus efectos biológicos en función del nivel de exposición —es decir, cuantificando la relación dosis-respuesta— y los mecanismos de acción mediante los cuales interacciona con los seres vivos. Únicamente con esta información completa, y tras evaluar el nivel de exposición laboral y doméstica de la población, es posible caracterizar adecuadamente el riesgo (su magnitud, aceptabilidad y percepción pública), para así establecer la necesidad de adoptar medidas para reducir la exposición.

Los abundantes trabajos de investigación ya realizados —incluyendo los descritos en esta publicación— no aportan evidencias de riesgos para la salud pública derivados directamente de la exposición a campos electromagnéticos de frecuencia industrial a las intensidades a las que podemos estar expuestos normalmente en la vivienda o en el trabajo. Sin embargo, todavía no disponemos de toda la información sobre los efectos biológicos en los seres vivos, y para que la ausencia de evidencias se convierta en certeza y los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sean descartados definitivamente como agentes nocivos, todas las posibilidades deben ser exploradas y descartadas.

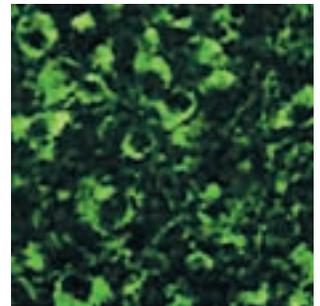
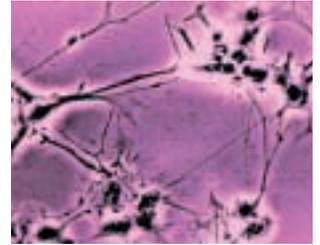
¿QUÉ INVESTIGACIONES ESTÁN EN CURSO ACTUALMENTE?

En la actualidad el IBGM, en colaboración con Red Eléctrica de España, está investigando la posible incidencia de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial sobre la apoptosis —también denominada «muerte celular programada»— y sus mecanismos moleculares de regulación en mamíferos. La apoptosis es necesaria para la conformación definitiva y el mantenimiento de múltiples sistemas y tejidos de un ser vivo, y la alteración de los mecanismos y genes de control de la apoptosis puede originar distintas enfermedades; por ejemplo, la aceleración de los procesos de muerte celular puede conducir al desarrollo de enfermedades degenerativas, por el contrario, los mecanismos que impiden la muerte celular pueden favorecer la producción de autoinmunidad o la formación/promoción de tumores.

Los trabajos concretos que se están realizando en el IBGM comprenden el estudio de:

- a) Las variaciones de los elementos de la regulación extra-celular de la apoptosis. Se trata de proteínas extracelulares cuya unión a receptores específicos conduce a la transducción de una señal en el interior de la célula y a la apoptosis.
- b) Los cambios de permeabilidad en la membrana celular asociados a regulaciones específicas de la apoptosis, mediante el análisis de la fosfatidil-serina y ceramidas.
- c) Los cambios enzimáticos intracitoplasmáticos asociados a las distintas vías de señalización intracelular que regulan el proceso de apoptosis. Analizaremos las Caspasas, familia de cisteín proteasas que juegan un papel principal en la regulación intracelular de la apoptosis.
- d) La expresión de genes específicos ligados al control de la muerte celular (*bcl*, *p53* y *Rb*).

Todo esfuerzo de investigación en esta área irá siempre en beneficio de lo que sin lugar a dudas es el objetivo primordial del Instituto de Biología y Genética Molecular y de Red Eléctrica de España: el conocimiento de los efectos biológicos de los campos electromagnéticos de frecuencia industrial en los seres vivos.



La muerte celular es uno de los mecanismos en estudio actualmente.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA RECOMENDADA

Existen miles de referencias científicas sobre los efectos de los campos eléctricos y magnéticos de frecuencia industrial, por lo que en una primera aproximación puede resultar mucho más conveniente acudir a revisiones científicas, libros, folletos de divulgación o páginas web, más que a los artículos originales. A continuación destacamos algunos documentos publicados en los últimos años que pueden proporcionar información amplia y actualizada:

Revisiones científicas:

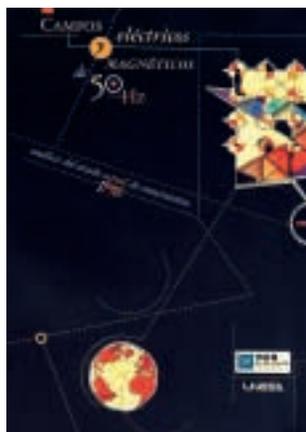
- *Possible health effects of exposure to residential electric and magnetic fields*. National Academy of Sciences. National Academy Press, Washington DC, ISBN 0-309-05447-8. Estados Unidos, 1996.
- *Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz)*. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). *Health Physics* 74: 494-522, 1998.
- *Power-frequency fields and cancer*. J. Moulder. *Critical Reviews in Biomedical Engineering* 26:1-116, 1998.
- *Health effects from exposure to power-line frequency electric and magnetic fields*. National Institutes of Environmental Health Sciences, NIH Publication No. 99-4493. Estados Unidos, 1999.

Folletos divulgativos:

- *Preguntas y respuestas sobre los campos eléctricos y magnéticos asociados con el uso de la energía eléctrica*. National Institute of Environmental Health Sciences y U.S. Department of Energy, Estados Unidos, 1995.
- *Energía eléctrica. Campos electromagnéticos y medio ambiente*. Red Eléctrica de España (1996).
- *Los campos electromagnéticos en nuestro entorno*. Unesa, 1997.
- *Campos eléctricos y magnéticos de 50 Hz. Análisis del estado actual de conocimientos (1998)*. Unesa y Red Eléctrica de España, 1998 (Pendiente de ser actualizado).

Páginas web

- Organización Mundial de la Salud [<http://www.who.int/peh-emf/>].
- International Comisión on Non Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) [<http://www.icnirp.de>].
- National Institute of Environmental Health Sciences, Estados Unidos [<http://www.niehs.nih.gov/emfrapid>].
- Medical College of Wisconsin, Estados Unidos [<http://www.mcw.edu/gcrc/cop>].



Folleto técnico elaborado por el grupo de trabajo de Unesa sobre campos electromagnéticos.

FIVE YEARS OF RESEARCH INTO THE BIOLOGICAL EFFECTS OF POWER FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELDS ON LIVING ORGANISMS

Results of the scientific collaboration between the University of Valladolid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Unesa and Red Eléctrica de España from 1995 to 2000.

PRESENTATION

Day after day the media inundates us with ever more surprising scientific advances, whether it be the cloning of a living organism, the effect of a designer drug, the discovery of the human genetic map or the very latest breakthroughs in computing science and telecommunications. No less frequent are news about their possible harmful effects on health or the environment or their ethical repercussions. The upshot of all this is that citizens are overwhelmed by an avalanche of innovations that we can't really grasp, and feel powerless to distinguish between the possibilities that technology offer us and the potential risks.

Scientists are therefore faced with the task of building bridges between research and society, promoting scientific literacy as a means of explaining the most recent breakthroughs and encouraging the correct use of the new technological resources. It is also the best safeguard against misleading information and even alarmist reports about the benefits and risks of living in an increasingly hi-tech society. It is this aim what lies behind this publication.

It should be borne in mind, however, that this is not a brochure giving general information on electromagnetic fields; rather it is a summary of specific results obtained from the five-year scientific collaboration (1995-2000) between the University of Valladolid, the Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Unesa and Red Eléctrica de España in a cutting-edge area of biological research: the effects of power frequency electromagnetic fields on living organisms.

This publication gives a scrupulous account of the project results, for we are convinced that only by giving all the information in an honest and truthful form can we arrive at a true understanding of the effects of electromagnetic fields and a correct evaluation of their impact. At all times we have striven to explain the objectives, results and conclusions of the project in a clear and reasoned way, to make them understandable to any reader, but also with the necessary scientific rigour to make them useful for the researcher.

RESEARCH HYPOTHESIS AND OBJECTIVES

Cancer, degenerative diseases and congenital malformations, among other pathological processes, have in common certain alterations in the cellular biochemistry; these alterations in turn lead to modifications in basic cellular processes or even programmed cell death: apoptosis. Nowadays we know that this first stage of cellular damage is a necessary condition for the disease to develop and may predate any actual symptoms of the disease by many years. We can hence forthrightly claim that no physical or chemical agent can produce a certain illness unless it is capable of damaging at least one of the basic cellular processes of all living organisms, thus altering their biochemical control mechanisms.

For an agent to be considered as hazardous to health, therefore, it is necessary to demonstrate that it is capable of producing a functional or structural alteration at a cellular and molecular level. It is also essential to discern exactly which biological effects it has on cells and living tissue and define the exposure parameters that might give rise to the different cellular responses to evaluate whether or not a specific exposure represents a health risk, and, if so, how to prevent it. Based on these premises the specific objectives of the project were:

- 1° To characterise the biological effects of power frequency electromagnetic fields on embryonic development. The aim would be to experimentally induce alterations on bird embryos (chicks) and mammalian embryos (rats and mice) exposed to fields in the intensity range to which populations are exposed, both at home and at work.
- 2° To determine the relationship between the exposure to a power frequency electromagnetic field —intensity and duration— and the type of biological response obtained, and also to discern whether or not the effect is reversible after the exposure ceases.
- 3° To study the basic cellular and molecular mechanisms of embryonic development that might be altered, such as cell proliferation, survival, differentiation and migration.
- 4° To analyse possible extrapolation of the *in vitro* data to whole organisms (adult mice) in order to better understand the actual cellular and molecular effects in populations exposed to this fields and hence come to a reasonable evaluation of the possible health risks.

SUMMARY AND INTERPRETATION OF THE EXPERIMENTAL RESULTS

PART ONE: Experiments on bird and mammalian embryos

The more active a cell is, the more vulnerable it is to any external agent. Embryonic cells are the normal cells that most actively duplicate. Experiments *in vitro* with embryonic cells or tissues exposed to a given agent are therefore the quickest and easiest way of determining an agent's possible biological effects. After exposing 650 chick embryos and 286 rat embryos at 1 to 500 μT power frequency electromagnetic fields for 24 to 72 hours. The results compared to the corresponding controls (unexposed) were:

- Chick embryos showed a slight reduction in their survival rate starting at 50 μT and increasing with the field thereafter, being especially obvious at intensities higher than 100 μT . The organs affected are the neural crest, the cranial ganglia and, in some cases, the precursors of the eye and ear, all these being ectodermal derivatives. These effects are reversible when the chick embryo is left in culture in the absence of the electromagnetic field for a period equal to or longer than the duration of the previous exposure. The reversibility/time-of-exposure ratio depends directly on the chronological timing of the exposure; the earliest growth stages of the embryo are far more sensitive than the more developed stages.
- Rat embryos showed no structural changes affecting their development, nor congenital malformations and no reduction in their survival rate; the discrete embryonic alterations

detected provoked only moderate delays in the growth and maturation of rat embryos. The neural tube, the cells of the neural crest or its derivatives in the nervous system show no alterations at intensities lower than 500 μT , being only slightly affected at higher field intensities.

Mammalian embryos do not show the alterations observed in bird embryos; although the biological responses are qualitatively very similar they are quantitatively very slight in mammals. This different behaviour suggests that the *in vitro* experimental conditions make the bird embryo more vulnerable to power frequency electromagnetic fields than the *ex utero* exposure conditions of mammals, much closer to the conditions of natural gestation.

PART TWO: Experiments on cell and tissue cultures

To determine the mechanism by which electromagnetic fields might interact with living organisms we studied their effects on cell behaviour, especially proliferation, as many pathological processes —e.g. cancer— involve alterations in proliferation. Over 650 cultures of isolated tissues (otic vesicles), cells of the neural crest (neuronal precursors), embryonic neurons (cochleovestibular) and postnatal neurons, both of bird (chicken) and mammal (mouse) were used; they were kept *in vitro*, either under rest conditions —basal— or stimulated with a specific proliferation signal (called a «growth factor») and exposed at 1 to 500 μT power frequency electromagnetic fields for periods of 24, 48, 72 hours and up to 10 days. The results were as follows:

- Power frequency electromagnetic fields affect the proliferation of certain types of embryonic cells, especially when cultivated *in vitro* (outside the embryo) and stimulated by powerful proliferation signals, in other words under extreme experimental conditions.
- The changes to cell proliferation induced *in vitro* were not detected *in vivo* in whole mammalian embryos exposed for periods and at intensities three times those used with cell cultures.

This results show, firstly, that exposure of mammalian to power frequency electromagnetic fields at intensities such as those generated by high voltage power lines and electrical equipment are very unlikely to increase the mortality rate (abortions) or produce congenital defects that might adversely affect the viability of the foetus or its postnatal life; and, secondly, that exposure to power frequency electromagnetic fields at these intensities do not interfere with cell proliferation.

PART THREE: Experiments on molecular mechanisms. Gene expression

To determine the molecular mechanisms underlying the relationship between electromagnetic fields and the above-mentioned biological effects, we analysed the expression —activity— of genes that accelerate or check the cell proliferation cycle whose alteration by other carcinogenic agents has been proven to be linked to cancer. In a total of 85 experiments on bird and mammal embryos and on cultures of embryonic cells and tissues we analysed the basal gene

expression (without other external stimuli) induced by mitogenic signals. The results show that 1 to 500 μ T power frequency electromagnetic fields during 24-72 hours:

- Do not modify the basal or induced expression of the proto-oncogenes that encode growth factors or their receptors in the cell membrane (*PDGF*, *erb-B*, *erb-B2*, *RET* and *trkA,B,C*) nor the genes encoding proteins that are cytoplasmic transmitters of the proliferation signal generated in the receptor (*Ki-ras* and *N-ras*).
- Do not modify the expression of transcription factors such as *c-myc* and *c-jun*; there is no alteration either in the basal levels or in the expression induced by specific signals; neither do they alter the basal expression of *c-myc* and *c-fos*. However when cells stimulated by a specific mitogenic signal are exposed to fields above 100 μ T, there is an increase in the expression of *c-myc* and a decrease of the short term induced expression of *c-fos* (20 minutes); if the exposure is maintained and the mitogenic signal remains present the expression of *c-fos* (after 12 hours or more) not only is not inhibited but even increases moderately.
- Do produce changes in the expression of *bcl-2*, a family of genes that encode proteins with functions linked to the regulation of the cell cycle by inhibition of programmed cell death (apoptosis). In the presence of the field, the embryonic neuroblasts in culture significantly reduce the expression of *bcl-2*; this inhibition is doubled if the cells in culture are treated with a cell-death inducing agent.

In sum, molecular effects show that power frequency electromagnetic fields cannot be classified as genotoxic or harmful to cells, tissues or organisms. There only seems to be an increase in the sensitivity to certain external signals intervening in the biological control of the cell cycle, and only at very high intensities, But even in this case electromagnetic fields would be one of many other external factor in the cell's environment, such as temperature, pH value, humidity, chemical environment, etc., all able to cause a certain cellular stress and hence the biochemical response of the cell.

PART FOUR: *In vivo* experiments on whole animals

We carried out a series of experiments on whole animals to analyse the possible extrapolation of the *in vitro* data to *in vivo* experimental systems, much closer to real life conditions. A total of 156 pregnant albino rats were exposed at 1 to 500 μ T power frequency electromagnetic fields continuously throughout gestation, and we studied the gross pathological effects, cell proliferation in specific tissues and, in some cases, expression of mRNA and proteins on the litter of rats after 1-3 hours of life. The results can be summed up as follows:

- *Foetal viability.* Embryo survival rates showed no change. Specimens exposed continuously to field intensities equal to or greater than 500 μ T showed a slight, statistically significant reduction in foetal viability of 5-6%. Nonetheless, the external morphological characteristics both of controls and of embryos developed in the presence of fields were perfectly normal.

- *Histopathological analysis.* The histological structure of the 20 specimens analysed is similar in the animals exposed to fields and in controls; for example, the neural development is normal in the sensitive ganglia of the cranial nerves V, VII, VIII, IX and X, while dorsal root ganglia are present at thoracic and lumbar level regardless of the field level. When the embryo is exposed for more than 72 hours to a field greater than 500 μT , 13-14% of the specimens show moderate reductions of size and slight delays in the growth of the neural anlagen.

To determine the action of electromagnetic fields on a population genetically prone to suffer certain diseases, we also analysed the embryonic development of mutant mice with the expression of key genes in the control of the cell cycle —*trkA,B,C* and *bcl2*— inactivated by the gene targeting technique. Both normal and mutant adult rats were continuously exposed from the first day of gestation at 1 to 500 μT fields, at the end of the gestation 83 mutant and control mice were compared after 1-3 hours of postnatal life. The results were that:

- Exposure during gestation does not modify the embryonic or postnatal development of mutant mice. Identical patterns of change are found in organs such as the brain.
- Exposure during gestation does not affect the nervous system of the mutants over and above the effects attributable to the mutation itself, which tends to produce serious defects. The known differences due to the mutation of gene *bcl-2* are not modified; neither is there any alteration in the differences in the cell proliferation pattern of normal and mutant specimens.

The above results show that power frequency electromagnetic fields do not increase or promote defects and malformations due to mutation of the genes studied.

HOW DO THESE RESULTS AFFECT US?

According to the results given in the above sections, power frequency electromagnetic fields do have an effect on certain types of embryonic cells when exposed *in vitro*. Nonetheless, these effects are detected only at high exposure levels and under very particular and extreme experimental conditions that are not attained in normal life. Under such conditions the electromagnetic fields do not seem to have a direct effect, but they can interact with living tissue in such a way as to make certain cells and tissues more sensitive to other agents and signals of the cell's environment. This possible synergistic effect between fields and other factors is observed *in vitro* and is reproduced only partially *in vivo* with continuous exposure to field intensities hundreds of times higher than those to which any person might be exposed at home or at work.

With the information currently at hand, therefore, and the data furnished by this research, we can say that any relation between power frequency electromagnetic fields and diseases such as cancer or congenital malformations is highly unlikely at the levels found in the environs of high-voltage power lines and associated structures.



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID



CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

UNESA



RED ELÉCTRICA
DE ESPAÑA