



VII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales por Internet

Del 1 al 31 de octubre de 2005

La radiofrecuencia de los teléfonos móviles acelera la carcinogénesis. Importancia del ión calcio en la señal conductora del proceso

EMILIO MAYAYO ARTAL *, LEOPOLDO J. ANGHILERI **, ROSA MAYAYO ALVIRA *

* UNIVERSIDAD ROVIRA Y VIRGILI ESPAÑA

** UNIVERSIDAD DE NANCY. FRANCIA. FRANCIA

Resumen

INTRODUCCIÓN. En el presente trabajo mostramos los cambios que se observan en un modelo experimental tras la irradiación con radiofrecuencia (Rf) emitida por teléfono móvil. Así mismo se compara la aceleración de la carcinogénesis inducida por esta radiación no ionizante y el complejo férrico-adenosin trifosfato.

MATERIAL Y MÉTODOS. Se usaron ratones hembra de 4-5 semanas de una raza modificada genéticamente que se caracteriza que en el tiempo desarrolla linfomas en tejidos linfoides y extralinfoides. Distribuidos en grupos, uno se irradió 1 hora semanal durante 4 meses, otro grupo se inyectó intraperitonealmente 5×10^{-6} mol de FeATP en 0.5 ml de suero salino. Ambos grupos tuvieron su grupo control uno simulando la irradiación y otro inyectando solamente suero salino. Se mantuvieron "ad libitum" y se siguieron hasta los 18 meses de vida. Se estudiaron histopatológicamente los principales órganos, el líquido ascítico y sangre, y las características clínicas.

RESULTADOS. Comparando con los animales usados como control, tanto en los ratones irradiados con radiofrecuencia como en los inyectados con FeATP se observa hiperplasia de órganos, presencia de linfocitos atípicos en sangre y líquido ascítico, así como el desarrollo de linfoma/leucemia. En los diferentes ganglios estudiados y en hígado, bazo, riñón, cerebro y glándulas salivares, hay una infiltración linfocítica atípica. Así mismo, la muerte está más acelerada en los irradiados con Rf.

CONCLUSIONES. La radiofrecuencia induce formación de tumores linfoides en los diferentes órganos estudiados. Se puede enfatizar en el rol del influjo de la señal del ión calcio en la activación de los oncogenes, así como en el fracaso de las inmunodefensas dependientes del tiempo. Ante estos hallazgos llamamos a la prudencia de uso/abuso de los teléfonos móviles, sobre todo, en niños y jóvenes sin un desarrollo corporal consolidado.

Introducción

Hace tres décadas, Tyler publicaba una monografía describiendo las propiedades biológicas de la radiación no-ionizante e incluía otros 50 trabajos experimentales más. Después de la publicación de esta revisión poco se ha hecho y los sujetos permanecemos poco concienciados ante la gran difusión del uso de los microondas y la radiofrecuencia (Rf). Actualmente, la literatura sobre los riesgos en los humanos bajo este tipo de irradiación, está muy limitada. Las publicaciones incluyen casos sobre aspectos como la aceleración de carcinogénesis química o espontánea (Szmigielski,1982), la correlación entre la incidencia de leucemia y la exposición ocupacional a campos eléctricos y magnéticos (milham,1982), los efectos sobre la proliferación linfocitaria (Czerski,1975), los efectos citogenéticos de daño cromosómico en los linfocitos (Tice,2002), los efectos citogenéticos sobre los fibroblastos humanos (Pacini,2002), la interrupción del equilibrio electroquímico de las células y su funcionamiento (Panagopoulos,2002), el estrés induciendo cáncer y alteraciones en la barrera hemato-encefálica (Leszczynski,2002), y el aumento, estadísticamente significativo, de riesgo de tumores cerebrales entre los usuarios de teléfonos móviles analógicos (Hardell,2003). A pesar de las evidencias experimentales, hay estimaciones controvertidas y subjetivas de los riesgos para la salud, basados en la confusión o el sesgo de uso de factores causales o no causales, deduciendo que la información aportada a la población ha sido poca e insatisfactoria. En respuesta, hemos decidido estudiar los efectos de la radiofrecuencia sobre la influencia del ión calcio celular para determinar los mecanismos que existen en la aceleración e inducción de carcinogénesis. La incuestionable clave jugada por la señal del calcio en la proliferación celular y transformación maligna (Macmanus,1982; Whitfield,1990; Anghileri,1995), valida nuestra elección. El espíritu de este estudio fue comparar la aceleración de la carcinogénesis en un modelo animal experimental propio para el desarrollo de linfoma, tratado con Rf o con complejo ATP-férrico (ATP-Fe). Se ha usado el ATP-Fe ya que es bien conocido su potencial de carcinogénesis debido a la inducción de aumento del influjo celular del ión calcio (Anghileri,1991,1997,2001,2002).

Material y Métodos

Se usaron grupos de 20 ratones hembras Ico:OF1 (IOPS Caw), de una edad entre 4-5 semanas, del laboratorio Charles River (IFFA CREDO, France), ratones que han sido modificados genéticamente y tienden a desarrollar linfoma a lo largo de su vida. Se les irradió durante una hora semanal durante cuatro meses o bien se les dió una inyección intraperitoneal de 5 μ mol de ATP-Fe disuelto en 0.5 ml de solución salina al 0.9 %, también una vez por semana y durante el mismo periodo. Ambos grupos tenían sus grupos control a los que se les irradió simultáneamente o se les inyectó solamente suero salino al 0.9%. El ATP-Fe fue preparado y ensayado analíticamente como ya describimos anteriormente (Anghileri, 1994).

La exposición a Rf se llevo a cabo en una cámara cilíndrica de polipropileno con la antena de un teléfono móvil situada en el centro. Este aparato trabaja a una frecuencia de 800 MHz. Los ratones se hallan libres en un corredor circular de 5 cm, separados de la antena por 2 cm. La temperatura de la cámara se mantenía a 23-25° por circulación de aire frío. Todos los animales se mantuvieron "ad libitum" hasta un máximo de 18 meses de vida.

Durante el experimento, los ratones que mostraban un marcado deterioro de su salud, sugiriendo una muerte inmediata, eran sacrificados para evitar la necrofagia. Los ratones muertos eran diseccionados para la observación patológica y los órganos a estudio eran fijados en formol al 10% y tras un corto periodo de fijación se procesaron automáticamente, se incluyeron en parafina y se realizaron secciones de 3 μ m que se colorearon con Hematoxilina-eosina. Se hizo hincapié en los principales fluidos y órganos implicados en el proceso de carcinogénesis como son, sangre, líquido ascítico y los principales órganos como, bazo, hígado, ganglios de diferentes localizaciones, pulmones, riñones, glándulas submaxilares, ovarios y sobre todo cerebro.

Conociendo que la vida máxima de esta especie es de 24 meses y para que no hubiera interferencias patológicas producidas por la edad, el seguimiento clínico llegó hasta los 18 meses. De acuerdo con el proveedor, esta especie de ratones (IFFA CREDO, France) tiene una mortalidad del 4% a los 13 meses (para un n = 300), y cerca del 50% a los 20 meses. La misma fuente aporta que solamente un 1% de los ratones presenta linfoma o leucemia a los 13 meses y un 6% a los 18 meses (para un n = 200).

Para estudiar la pronta inducción y aceleración a la carcinogénesis con estos dos métodos, hemos realizado un seguimiento comparativo en los grupos tratados y en los controles sobre todo en tres afectos principales: a) la proliferación linfocitaria y la infiltración de órganos produciendo hipertrofia, así como la linfocitosis y la ascitis linfoide; b) el desarrollo de tumores linfoides y no linfoides extranodales; c) la mortalidad.

Resultados

Los órganos hipertrofiados se expresan como el aumento de peso en porcentaje al índice de crecimiento en cada grupo tratado y en relación a su desarrollo, el cual es igual al peso del órgano / ratio de peso de cuerpo y en ambos grupos fueron mas grandes que el mayor valor del grupo control. El grupo de ratones tratados con Rf y los tratados con ATP-Fe muertos antes de los 12 meses muestran valores similares para bazo e hígado. Sin embargo, los valores para riñón y ganglios linfáticos abdominales fueron mayores en los ratones sometidos a tratamiento con Rf. En el grupo de ratones tratados con Rf que murieron entre los 12 y 18 meses, los valores para bazo, hígado y ganglios abdominales fueron menores que en el grupo control, pero los valores para los riñones fueron mayores. La afectación por infiltración linfoide en estas hipertrofias fue corroborada por el estudio histopatológico. Los resultados histopatológicos más significativos hallados en los animales del grupo irradiado con Rf, son el presentar una marcada infiltración por linfocitos atípicos, grandes, linfoblásticos en los principales órganos y tejido estudiados. A nivel de bazo hay sustitución de la arquitectura, sobre todo de pulpa roja por elementos linfoides blásticos que se disponen en sábana, sin focos de necrosis, que llegan a pasar la cápsula y salir a tejido graso adyacente (Fig 1); en hígado hay aumento de los espacios portas por elementos linfoides de similares características y que también se hallan distribuidos por entre los sinusoides, a los que dilatan (Fig 2); en riñón, también infiltrados linfoides que desplazan la arquitectura o engloban glomérulos y túbulos (Fig 3); similares patrones hay a nivel de ganglios, timo, ovarios, glándulas submaxilares, al igual que en tejidos blandos que rodean los órganos (Fig 4). A nivel de SNC, ni cerebro, ni cerebelo mostraron crecimientos gliales o celulares, si se observó infiltración meníngea en cerebro y cerebelo, sin pasar a tejido nervioso, de elementos linfoides atípicos, similares a los descritos en otros órganos (Fig 5). En el grupo de ratones que murieron antes de los 12 meses, el porcentaje de ascitis fue del 100% en los ratones tratados con ATP-Fe y del 75% en los ratones tratados con Rf. En ambos casos el rango de volúmenes fue aproximadamente el mismo (menos de 2 ml). En el grupo de ratones muertos entre 12 y 18 meses, el porcentaje fue del 40% para los tratados con ATP-Fe y del 13 % para los tratados con Rf. En este grupo, el volumen fue diez veces mayor que en el grupo de ratones muertos antes de los 12 meses. No existía ascitis en los grupos control. En los dos grupos tratados, el recuento de linfocitos en sangre fue de 15 veces mayor para los tratados con Rf y de 10 veces mayor en los tratados con ATP-Fe que en los animales control. Cabe destacar que cuando los recuentos eran muy altos, aparecían muchas formas inmaduras de linfocitos. Debido a la localización interna, el desarrollo de tumores extranodales, solo se pudo detectar después de la muerte y su presencia fue mas importante en los ratones muertos entre los 12 y 18 meses que entre los animales muertos antes de los 12 meses. Los tratados con ATP-Fe solamente desarrollaron tumores linfoides, mientras que los tratados con Rf inducen formación de tumores no linfoides como tumores mixtos (carcinosarcomas) o sarcomas (fibrosarcomas).

Discusión

La irradiación de Rf se llevó a cabo usando el método descrito en un trabajo previo, en el que se demuestra que la Rf modifica la señal de transmisión del calcio en el espacio intracelular (Anghileri,2005). El teléfono móvil (Alcatel OT501: 800 mHz), es un aparato utilizado para las telecomunicaciones, que opera según las condiciones establecidas por la comisión Europea de estandarización para el uso público de estas telecomunicaciones.

Los efectos de la irradiación Rf sobre los sistemas biológicos aparentemente depende de la frecuencia de ventana y de la influencia potencial de la segunda modulación de una continua emisión de campos electromagnéticos (onda continua). Hay sido publicado que la energía de Rf no modulada no induce cambios en los flujos de calcio celular y que los cambios observados a 11 y 16 Hz disminuyen en magnitud para una frecuencia de modulación ascendente y descendente, lo que indica que hay ciertos componentes lentos de Rf que son críticos para el movimiento del calcio celular transmembrana (Bawin,1975).

La importancia de la homeostasis del calcio celular en la carcinogénesis es innegable. La dependencia de transformación neoplásica con grandes cambios en la sensibilidad de conducción de la señal cálcica y el punto diana de la diferenciación celular está bien reflejado por la cobertura del control del ciclo AMP dependiente, durante la transformación neoplásica de los linfocitos. Esta es una consecuencia de la baja dependencia en la señal del calcio resultante de un gran influxo de calcio, que reduce su concentración celular por la obtención de la saturación de las estructuras del tampón cálcico (Whitfield,1990).

Nuestros resultados, entre los que se destaca una marcada hipertrofia de órganos y el desarrollo de proceso neoplásico linfoma/leucemia, con linfocitosis y ascitis linfoblástica, indican que los efectos de tratamiento Rf en la aceleración de la carcinogénesis pueden ser el resultado de la activación de un linfomagen o de otros tipos de oncogenes. La modificación de la señal calcio parece ser la responsable de este fenómeno. Esta modificación es el resultado de dos diferentes procesos: El primero es la exposición a la Rf que provoca variaciones en las concentraciones de calcio circundante por la modulación rítmica de la energía Rf, la que puede alterar el equilibrio entre iones, macromoléculas de polianiones y glucoproteínas de la superficie celular y conduce a la entrada de calcio extracelular (Bawin,75). Estos hechos han sido confirmados por un reciente trabajo publicado por nosotros mismos (Anghileri,2005). El segundo proceso es que la exposición al ATP-Fe actúa por vía del deterioro de la función de la bomba calcio - ATPasa (Anghileri,1995). Estos dos efectos causales pueden producir los mismos resultados: La modificación de los flujos del calcio que afectan la carcinogénesis. En el caso del ratón predispuesto a sufrir linfoma, esta conclusión está reforzada por el conocido efecto de la señal cálcica en la proliferación linfoide (Lichtman,1983).

Los resultados de este estudio muestran un patrón similar en la aceleración de la carcinogénesis. Las pequeñas diferencias entre algunos de los parámetros pueden atribuirse a el hecho que durante la irradiación Rf el cuerpo del ratón está en movimiento, mientras que en el tratamiento con ATP-Fe solamente hay que tener en cuenta la difusión y el metabolismo (Anghileri,1994).

Estamos realizando otros trabajos sobre los efectos de sinergismo del hierro y la sobre carga de calcio e irradiación simultanea de Rf que presentan resultados que refuerzan los presentados.

En conclusión, para evitar controversias en la evaluación de los resultados de los riesgos de la exposición a la Rf, hay que considerar:

a) La presencia de oncogenes de origen genético o dependientes de inductores físicos o químicos; b) la presencia de agentes endógenos o exógenos capaces de modificar los flujos de la señal celular del calcio; c) la disminución de las defensas inmunes debidas al envejecimiento. Ante los resultados observados, llamamos a la prudencia en el uso y sobretodo en el abuso de la radiofrecuencia de los teléfonos móviles, sobre todo en niños y en jóvenes que no tienen el total desarrollo de sus estructuras, puede que en un futuro próximo, haya un incremento de patología linfoide, sobre todo en personas predispuestas y esté en relación a los resultados de este estudio.

Agradecimientos

A todas las técnicas del laboratorio del servicio de patología del Hospital Universitario Juan XXIII, que han contribuido con su trabajo en poder realizar este estudio.

Bibliografía

- Anghileri LJ (1991). Effects of Fe³⁺-tumor cell interaction on Ca²⁺-uptake by Ehrlich ascites tumour cells. Cell Calcium 12:371-4.
- Anghileri LJ, Robert J (1994). In vivo distribution of ferric-ATP complex. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 19: 1-3.

- Anghileri LJ (1995). Iron, intracellular calcium, lipid peroxidation and carcinogenesis. *Anticancer Res.* 15:1395-1400.
- Anghileri LJ, Thouvenot P, Bertrand A (1997). Effects of iron complexes on brain calcium homeostasis. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 27:210-5.
- Anghileri LJ, Plenat F, Labouyrie E, Thouvenot P (2001). Iron - and aluminum-induced carcinogenesis. *Anticancer Res.* 20:3007-12.
- Anghileri LJ, Mayayo E, Domingo JL, Thouvenot P (2002). Toxic and carcinogenic effects of parenteral and percutaneous ATP and its iron complex. *Drug Chem. Toxicol.* 25:267 -79.
- Anghileri LJ, Mayayo E, Domingo JL, Thouvenot P (2005). Radiofrequency-induced carcinogenesis : cellular calcium homeostasis changes as a triggering factor. *Int. J. Radiat. Biol.* 81:205-9.
- Bawin SM, Kaczmarek LK, Adey WR (1975). Effects of modulated VHF fields on the central nervous system. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 247:74 -81.
- Czerski P (1975). Microwave effects on blood-forming system with particular reference to the lymphocyte. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 247:232-42.
- Hardell L, Mild KH, Carlberg M (2003). Further aspects on cellular and cordless telephones and brain tumours. *Int. J. Oncol.* 22:399-407.
- Leszczynski D, Joenvaara S, Reivinen J, Kuokka R (2002). Non-thermal activation of the hsp 27/p 38 MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects *Differentiation* 70:120 -9.
- Lichtman AH, Segel GB, Lichtman MA (1983). The role of calcium in lymphocyte proliferation (An interpretive review). *Blood* 61:413-22.
- Macmanus JP, Boynton AL, Whitfield JF (1982). The role of calcium in the control of cell reproduction. In: *The Role of Calcium in Biological Systems* (eds Anghileri LJ, Tuffet-Anghileri AM) ; CRC Press, Boca Raton, FL, Vol. I, pp. 147-64.
- Milham S Jr (1982). Mortality from leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *New Engl. J Med.* 307:249.
- Pacini S, Ruggiero M, Sardi I, Aterini S, Gulisano M (2002). Exposure to global system for mobile communication (GSM) cellular phone radiofrequency alters gene expression, proliferation, and morphology of human skin fibroblasts. *Oncol Res.* 13:19 -24.
- Panagopoulos D, Karabarounis A, Margaritis L (2002). Mechanism for action of electromagnetic field on cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 298:95-6.
- Szmigielski S, Szudzinski A, Pietraszek A, Bielec M, Janiak M, Wrembel JK (1982). Accelerated development of spontaneous and benzopyrene-induced skin cancer in mice exposed to 2450 MHz microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 3:179-91.
- Tice RR, Hook GG, Donner M, McRee DI, Guy AW (2002). Genotoxicity of radiofrequency signals. Investigation of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells. *Bioelectromagnetics* 23:113-26.
- Tyler PE (1975). Biological Effects of Nonionizing Radiation, papers from Conference at the N.Y Acad. Feb 12 -15, 1974. In: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 247:1-545.
- Whitfield JF (1990). Calcium, Cell Cycles and Cancer. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 211-3.