

Estudos experimentais em animais

Os experimentos realizados em animais representam uma solução clássica e lógica para investigar, de uma maneira controlada, a possibilidade da interação dos campos de RF com organismos biológicos completos. Essa abordagem foi extensamente utilizada antes de 1990, quando estavam sendo estabelecidos os limites mínimos de exposição à RF. Foram utilizadas altas densidades de potência, as quais eram diminuídas progressivamente até que cessassem as mudanças no comportamento dos animais em certas condições observacionais controladas, tais como o comportamento motor de ratos em campo aberto.

Não foi nossa intenção revisar estes trabalhos mais antigos no presente relatório, uma vez que procuramos focar trabalhos realizados sob condições de irradiação abaixo ou bem abaixo dos níveis considerados seguros para seres humanos, tais como os determinados pelo ICNIRP e pelo IEEE. O leitor pode encontrar esses trabalhos anteriores a 1990 em IEEE (2005, Anexo B).

Experimentos com animais na literatura publicada podem ser divididos grosseiramente em 3 grupos:

- indução ou promoção de câncer;
- efeitos comportamentais;
- outras alterações fisiológicas e patológicas.

Por volta do fim de 2008, de acordo com uma revisão extensa por Swicord e Balzano (2009), haviam 781 trabalhos registrados na base de dados do Projeto *WHO/EMF* relatando pesquisas sobre os efeitos dos campos eletromagnéticos na faixa de 0.1 a 100 GHz em animais. A maioria das investigações empregou roedores de laboratórios (ratos e camundongos) e investigou os efeitos da RF de 900 MHz a 2,5 GHz, que são as mais usadas atualmente em comunicação móvel do tipo celular e PCS, bem como redes sem fio de comunicação de dados.

Como mencionamos acima nesta revisão, os resultados obtidos para esses animais não são necessariamente válidos para seres humanos e outros animais, já que a característica de absorção do RF nestes organismos é diferente, bem como vários aspectos de sua biologia. É interessante notar que, apesar da importância de se conhecer a distribuição dos campos de RF nos corpos desses animais, somente um trabalho publicado até agora se preocupou com dosimetria em animais.

Devido a isso, os meios de comunicação de massa que relatam ao público em geral possíveis efeitos prejudiciais para os seres humanos, baseados em estudos com animais como esses, podem ser, e foram, prematuramente deturpados. Isso em parte ocorreu porque essas publicações costumam omitir as dificuldades metodológicas e as

advertências sobre a interpretação dos resultados e sua tradução para a saúde dos seres humanos, e porque relatam sobretudo determinados estudos individuais, selecionados por seu potencial sensacionalista, e não com base em um consenso científico.

Os estudos animais abrangem uma variedade muito grande de organismos e efeitos estruturais e funcionais, e são apresentados na tabela a seguir (adaptado de Swicord & Balzano (2009), com autorização):

Tipo e Número de Estudos RF publicados In Vivo Até 2009

Tipo de estudo <i>In Vivo</i>	Publicados	% Total
Comportamento animal, cérebro, bioquímica, neuropatologia, interação medicamentosa	140	17,9%
Teratogenicidade, reprodução, desenvolvimento	117	15,0%
Efeitos térmicos	85	10,9%
Função imune e hematológica	83	10,6%
Barreira hematoencefálica, e fluxo sanguíneo em outros tecidos	56	7,2%
Patologia ocular	37	4,7%
Patologia auditiva	36	4,6%
Genes e expressão gênica, atividades proteicas	29	3,7%
Micronúcleos e aberrações cromossômicas	28	3,6%
Radiação e atividade biológica geneticamente iniciadas em tumores	27	3,5%
Estresse oxidativo	24	3,1%
Pressão sanguínea, frequência cardíaca, circulação e frequência respiratória	23	2,9%
Quebra de DNA, danos e mutações	19	2,4%
EEG, potenciais evocados, perturbações no sono	19	2,4%
Bioanálise de longo prazo de roedores	19	2,4%
Mudanças hormonais	12	1,5%
Estudos de cálcio e outros íons	10	1,3%
Atividade biológica de linhagens celulares tumorais	5	0,6%
Outros estudos em animais	5	0,6%
Proliferação, taxa de crescimento de tecidos e análise do ciclo celular	5	0,6%
Estudos em animais com	1	0,1%

múltiplos parâmetros examinados		
Experimentos de dosimetria em animais	1	0,1%
	Total	781

A maioria dos estudos (cerca de 71%) cai nas seguintes categorias:

- efeitos térmicos
- comportamento animal
- bioquímica do cérebro
- neuropatologia
- teratogenicidade
- reprodução e desenvolvimento
- função imunológica
- sistema hematopoiético
- barreira hematoencefálica
- sistemas visuais e auditivos

Outros 14% foram se referem aos efeitos sobre o material genético e as funções celulares e bioquímicas em condições *in vivo*.

Devido ao grande número de estudos, nós focalizamos nossa revisão naqueles que pensamos ser as três mais importantes áreas: efeitos na barreira hematoencefálica, oncogênese (promoção e indução de câncer) e a sobrevivência de longo prazo sob exposição crônica.

Efeitos sobre a barreira hematoencefálica

A barreira hematoencefálica (BHE) tem uma função muito importante em mamíferos, ao promover uma barreira seletiva entre o suprimento externo de sangue ao cérebro e seu meio interno (fluido extracelular). Esse sistema único e complexo envolve membranas vasculares e células de sustentação do cérebro (glia), e provê uma espécie de filtro seletivo que evita que substâncias indesejadas que circulam no sangue (e que poderiam ter efeitos tóxicos nos neurônios, por exemplo) entrem no meio interno do cérebro. Deste modo, qualquer coisa que enfraqueça ou abra os controles da BHE pode ser potencialmente danosa à saúde do cérebro.

Os primeiros estudos sobre BHE e campos eletromagnéticos surgiram em 1977, e sugeriam que a irradiação de ratos com RF em níveis abaixo dos atuais padrões de segurança causariam um detrimento à permeabilidade seletiva da BHE. Estes estudos utilizaram uma metodologia padronizada para detectar variações de permeabilidade, usando pigmentos hidrossolúveis ou compostos de radionuclídeos que normalmente não atravessam a barreira.

Pesquisas publicadas mais recentemente pelo grupo de Salford na Suécia (1993) com uma série de mais de 1.600 ratos, mostraram que a BHE mudou sua permeabilidade à albumina, uma proteína comum existente no sangue, mas não ao fibrinogênio, imediatamente após serem irradiados por duas horas ao longo de 7 e de 14 dias com sinais de GSM de 900 MHz.

Esta pesquisa recebeu muita pressão para ser encoberta e provocou um grande alerta na imprensa e no público em geral. Mais tarde Salford tentou demonstrar indiretamente que a albumina que passou pela BHE e que se acumulou ao redor dos neurônios no fluido extracelular da coluna vertebral e do cérebro, levaria a lesões e à morte neuronal em várias áreas do cérebro (Salford 2003), e que essas lesões poderiam ser responsáveis por um déficit na memória observada em pequenos grupos de ratos irradiados (Nittby *et al*, 2008). Além disso, o mesmo grupo de pesquisa sugeriu haver uma relação dose-efeito entre o nível de exposição, medido por uma SAR de 0,1 a 1,2 W/m² e o aumento da permeabilidade à albumina, a qual poderia ser responsável pela morte neuronal (Eberhardt *et al* 2008).

De acordo com Swicord & Balzano, desde 1990 algo como 52 trabalhos investigaram experimentalmente os possíveis efeitos do RF sobre a ruptura da permeabilidade da BHE. Depois de agrupar os múltiplos resultados da mesmo laboratório em 29 estudos únicos, o resultado apontou que 11 estudos não conseguiram demonstrar tais efeitos, 10 reportaram algum tipo de efeito térmico e 8 reportaram outros efeitos, possivelmente efeitos não térmicos (27,5%). Os níveis de irradiação empregados variaram largamente entre os estudos e não foram documentados ao nível tecidual, tornando difícil a comparação entre os trabalhos. Além disso, a maioria dos trabalhos não foi controlada o suficiente para rejeitar outros possíveis fatores presentes durante o estudo, tais como manipulação do estresse ou traumas na cabeça, que são conhecidos por afetarem a BHE. A explicação mais plausível para os 8 estudos remanescentes é que eles também seriam devidos a efeitos térmicos. Por exemplo, foi demonstrado por Sutton & Carrol (1997) que a elevação gradual da temperatura do cérebro a 40°C ocorreu durante uma exposição típica de ratos ao RF, devido ao crânio com ossos finos e ao pequeno tamanho desses animais, causando um aumento na permeabilidade da BHE. Esse efeito era diminuído por uma perfusão do cérebro com sangue resfriado. Merrit *et al* (1978) compararam os efeitos na BHE causados pelo aumento da temperatura por um jorro de ar quente incidindo sobre o crânio de animais, com a exposição ao RF, e obtiveram efeitos similares. Mais recentemente, Fritz *et al* (1997) e Ohmoto *et al* (1996) demonstraram experimentalmente que o aumento de temperatura causado pelo aquecimento do tecido cerebral pela RF poderia ser em sua maior parte a explicação para a ruptura da BHE em ratos.

Com uma exceção, os efeitos sobre a BHE não foram pesquisados em animais maiores, como cachorros, gatos ou macacos, que têm configurações cranianas mais próximas das humanas. Como a temperatura do crânio de seres humanos não muda consideravelmente quando se utiliza um telefone celular por vários minutos, como foi confirmado por estudos que utilizaram imagens funcionais obtidas por tomografia PET, não é esperado que ocorra um efeito danoso de ruptura da BHE em seres humanos.

Indução e Promoção de Câncer

Os estudos experimentais *in vivo* de teratogenicidade (indução e promoção de tumores ou/e neoplasias sanguíneas, tais como leucemias) representam, obviamente, uma importante linha de questionamento, uma vez que essa possibilidade dos efeitos da exposição ao RF de longo prazo abaixo dos níveis de segurança é uma das mais temidas. Isso ocorreria possivelmente devido a quebras do DNA, formação de micronúcleos, etc., induzidos por essa radiação. Esses estudos *in vivo*, que em sua grande maioria são realizados com pequenos roedores de laboratório, empregam várias técnicas para determinar a atividade biológica de tumores, os efeitos sobre o material genético, etc.,

semelhantes às relatadas na seção anterior, sobre estudos *in vitro*. Podem ser utilizados tanto animais sem antecedentes de tumores (estudos esses denominados de **indução**), quanto animais com tumores previamente induzidos por agentes cancerígenos conhecidos (**promoção**). A ocorrência de precursores moleculares intracelulares de desenvolvimento de tumores é outra linha possível de pesquisa.

Inicialmente, deve se admitir que somente efeitos não-térmicos putativos da RF seriam associados à teratogênese experimental em animais, devido ao fato conhecido de que a hipertermia normalmente não aumenta o desenvolvimento de tumores (Dewhirst et al 2003). Um dos primeiros estudos experimentais em animais nessa linha foi amplamente divulgado (Chou *et al*, 1992) e relatou um pequeno aumento na incidência de tumores em geral em ratos irradiados por dois anos com RF. Os autores consideraram que esses resultados poderiam não ser biologicamente significantes, uma vez que a sobrevivência dos animais não foi afetada. Outro estudo de grande repercussão na época foi conduzido por Repacholi *et al* (1997) na Austrália, e encontrou uma incidência maior de folículos linfossômicos em camundongos transgênicos expostos ao RF por 18 meses.

A esta altura, uma revisão da literatura sobre a indução e a promoção de câncer realizada pelo mesmo autor principal (Repacholi, 1997), concluiu que a situação era muito contraditória e inconsistente, e que mais pesquisas eram necessárias. Surgiram, porém, vários questionamentos metodológicos em relação aos parâmetros de exposição utilizados nesses primeiros estudos, e diversos estudos de replicação, como Utteridge *et al*. (2002) e Oberto *et al* (2007) não conseguiram confirmar estes resultados.

Outra investigação foi realizada por Anghileri et al. (2005), que relataram que a exposição à RF em ratos aumentou a sua mortalidade, supostamente por produzir alterações de cálcio intracelular devidas a efeitos não-térmicos, como um possível fator desencadeante. Seus resultados, entretanto, não puderam ser confirmados ou replicados por outros pesquisadores, uma vez que não deram quaisquer informações sobre os níveis de exposição, e por terem utilizado um pequeno número de animais no grupo experimental.

Seguindo a sugestão de Repacholi, foram realizadas diversas outras investigações experimentais nos anos seguintes, de modo que, em outra revisão da literatura realizada por este autor em co-autoria com Elde, em 2003, concluiu que "*o peso da evidência de 18 estudos mostra que a exposição à energia de RF em baixo nível e em longo prazo não afeta a sobrevivência e a incidência de câncer em mamíferos de laboratório.*".

A despeito dessa inequívoca constatação, os primeiros resultados da indução de câncer em animais continuaram a provocar uma enxurrada de outros estudos nos anos seguintes. Segundo a revisão de Swicord & Balzano (2009), 40 desses estudos foram publicados desde 1990. O tempo de exposição variou de algumas semanas a mais de dois anos, e a maioria dos estudos investigou a exposição contínua (20 a 22 horas por dia, 7 dias por semana) para as frequências de RF mais usadas nas comunicações móveis, com várias frequências e modulações de amplitude. A densidade de potência e SAR empregados na maioria dos estudos foram semelhantes às geradas por aparelhos de telefone celular perto da cabeça (1 a 4W/m²).

Apesar de ter utilizado SARs e tempos de exposição muito acima dos que usuários normais de telefonia celular estão submetidos, em termos de duração acumulada ao longo de uma vida, e tendo em conta as distribuições de RF completamente diferentes no crânios de animais experimentais, em comparação com os humanos, 92,5% dos estudos

não mostraram nenhum efeito significativo sobre formação do tumor.

Sobrevivência de longa duração

Como nenhum impacto significativo em curto prazo de RF em animais pode ser confirmado, com exceção dos devidos ao intenso aquecimento do corpo e do cérebro RF, outros estudos investigaram os efeitos de exposição RF em níveis mais baixos. Em vez de procurar alterações específicas nos sistemas e órgãos, eles investigaram os efeitos prejudiciais em termos de longevidade reduzida, comparando-os aos animais não-expostos (grupo controle). Foi empregada Irradiação de RF crônica contínua de baixo nível, ou seja, simulando condições similares às dos organismos que vivem perto de estações rádio-base. A sobrevivência média dos grupos irradiados dos animais não foi afetada em 95,8% (23 em 24 estudos), portanto, os efeitos não térmicos não puderam ser demonstrados a este nível.

Pesquisa Latino- Americana

Como esperado, encontramos apenas alguns poucos estudos publicados com RF em animais, em revistas nacionais ou internacionais revisadas por pares, todos de pesquisadores do mesmo estado brasileiro (Rio Grande do Sul).

Ribeiro *et al* (2007) pesquisaram os efeitos da exposição subcrônica a uma RF de 8 GHz emitida por 1 hora diária durante 11 semanas por um telefone celular GSM convencional sobre a função testicular em ratos adultos. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada para a temperatura retal mensurada antes e após o período de exposição, o peso dos testículos e epidídimos, os níveis de peroxidação lipídica nesses órgãos, a testosterona sérica total e a contagem de espermatozoides nos epidídimo, a fase de retenção e maturação de espermátides, infiltração intersticial, vacuolização celular e células gigantes multinucleadas. Os autores concluíram que a exposição não prejudica a função testicular de ratos adultos.

Ferreira *et al* (2006a) investigaram a ocorrência de danos cromossômicos em leucócitos em filhotes de ratos expostos intra-útero a baixos níveis de RF, como os utilizados na comunicação celular por GSM, utilizando o teste de micronúcleos. A atividade de enzimas antioxidantes, níveis totais de radicais de sulfidril, proteínas do grupo carbonila e as espécies de ácido tiobarbitúrico foram avaliadas no sangue periférico e no fígado. Os autores observaram um aumento significativo da ocorrência de micronúcleos, mas nenhuma alteração no metabolismo oxidativo, concluindo, deste modo, que a RF teria potencial genotóxico em embriões de ratos expostos durante a embriogênese, mas com nenhum mecanismo explicável.

O mesmo grupo (Ferreira *et al*, 2006b) investigou o efeito da exposição aguda de RF sobre enzimas antioxidantes, lipídeos não-enzimáticos de defesa e o dano oxidativo de proteínas no córtex frontal e no hipocampo de ratos, através da realização de análises do malonildialdeído (MDA), carbonila lipídico e danos de proteínas oxidativas, respectivamente. Não ocorreram alterações em lipídeos e danos de proteínas, e também nos mecanismos de defesa não-enzimáticos no córtex frontal ou o hipocampo.

Conclusões

Os efeitos da RF parecem ser significativos apenas quando o aquecimento dos tecidos

internos é alcançado em temperaturas mais elevadas, ou seja, quando o SAR e as densidades de energia eletromagnética estão muito acima dos limiares de segurança. Abaixo destes níveis nenhum aquecimento significativo ocorre, especialmente na cabeça bem protegida do ser humano.

Era de se esperar que os efeitos observados e consistentes em animais pudessem ser explicados com base em supostos efeitos não-térmicos. Entretanto, a conclusão geral, após 20 anos de estudos de experimentação animal, é que nenhum efeito nesse sentido pode ser demonstrado até agora. Há uma ausência notável e consistente de efeitos da RF em animais intactos, pelo menos em níveis de RF abaixo dos padrões internacionais. Os poucos estudos que examinaram de forma mais bem controlada efeitos não-térmicos sobre a ruptura da permeabilidade da BHE, a indução e promoção do câncer e a sobrevida global à exposição crônica à RF concluíram por sua não existência ou que os mesmos poderiam ser explicados por efeitos térmicos não controlados.

Em suma, no que se diz respeito aos possíveis mecanismos de interação dos campos de RF, tanto *in vitro* e em estudos experimentais *in vivo*, os autores e instituições que revisaram criticamente a totalidade da literatura publicada e respeito (e.g., Swicord & Balzano, 2009 e ICNIRP, 2009), pode ser concluído que:

"A análise do banco de dados como um todo, considerando tanto a proposta de teorias físicas e os resultados de mais de 1700 publicações nos leva a concluir que não pode ser encontrado nenhum efeito não-térmico de nível baixo entre 150 MHz e 150 GHz , sendo extremamente improvável encontrar tais efeitos entre 10 MHz e 300 GHz".