

Estudios experimentales en animales

Los experimentos realizados en animales representan una solución clásica y lógica de investigar de manera controlada la posibilidad de interacción de los campos de RF con los organismos biológicos completos. Este abordaje ha sido ampliamente utilizado antes de 1990, cuando se han establecido límites mínimos de exposición a la RF. Se utilizaron inicialmente altas densidades de energía, que se redujeron gradualmente hasta la cesación de los cambios en el comportamiento de los animales en determinadas condiciones de observación controlada, como la conducta motora de ratas en campo abierto.

En principio, no fue nuestra intención revisar estos trabajos en el presente informe, una vez que pretendemos centrar en los trabajos publicados llevados a cabo en condiciones de irradiación por debajo o muy por debajo de los niveles considerados seguros para los seres humanos, como los determinadas por la ICNIRP y el IEEE. El lector puede encontrar estos trabajos anteriores a 1990 en el reporte del IEEE (2005, Apéndice B).

Los experimentos con animales en la literatura publicada pueden dividirse en tres grupos:

- la inducción o la promoción de cáncer;
- los efectos en el comportamiento;
- otros cambios fisiológicos y patológicos.

A finales de 2008, según un amplio estudio por Swicord y Balzano (2009), habían 781 trabajos registrados en la base de datos del Proyecto EMF y Salud de la OMS, de informes de investigación sobre los efectos de los campos electromagnéticos en el rango de 0,1 a 100 GHz sobre animales. La mayoría de las investigaciones utilizaban roedores de laboratorio (ratas y ratones) y han investigado los efectos de las radiofrecuencias de 900 MHz a 2,5 GHz, que son los más utilizados actualmente en las comunicaciones móviles, como la comunicación celular y el PCS, e inalámbricas de datos.

Como se mencionó anteriormente en esta revisión, los resultados obtenidos de estos animales no son necesariamente válidos para los seres humanos y otros animales, ya que la absorción característica de RF en estos organismos es diferente, así como diversos aspectos de su biología. Curiosamente, a pesar de la importancia de conocer la distribución de los campos de RF en los cuerpos de estos animales, sólo un estudio publicado hasta el momento se ha preocupado por la dosimetría en los animales.

Debido a esto, los medios de comunicación de masas que informan al público en general sobre los posibles efectos nocivos para los seres humanos según los estudios hechos en animales, como estos, pueden ser muy engañosos. Esto ocurrió en parte debido a el hecho que estas publicaciones a menudo omiten las dificultades metodológicas y

advertencias acerca de la interpretación de sus resultados y su traducción para la salud de los seres humanos, y debido a que algunos estudios han sido seleccionados por su potencial sensacionalista, y no porque estaban basados en un sólido consenso científico.

Los estudios en animales cubren una amplia gama de organismos y estructural y funcional, y se presentan en la tabla siguiente (adaptado de Swicord y Balzano (2009), con permiso):

Tipo y número de estudios *in vivo* publicados de RF hasta el año 2009

| Tipo de estudio <i>In Vivo</i> | Publicados | % Total |
|--|------------|---------|
| Comportamiento animal, cerebro, bioquímica, neuropatología, interacciones entre medicamentos | 140 | 17,9% |
| Teratogenicidad, reproducción, desarrollo | 117 | 15,0% |
| Efectos térmicos | 85 | 10,9% |
| Funciones inmune e hematológica | 83 | 10,6% |
| Barrera hemato-encefálica, y flujo sanguíneo en otros tejidos | 56 | 7,2% |
| Patología ocular | 37 | 4,7% |
| Patología auditiva | 36 | 4,6% |
| Genes y expresión génica, actividades proteicas | 29 | 3,7% |
| Micro-núcleos y aberraciones cromosómicas | 28 | 3,6% |
| Radiación y actividad biológica genéticamente iniciadas en tumores | 27 | 3,5% |
| Estrés oxidante | 24 | 3,1% |
| Presión sanguínea, frecuencia cardíaca, circulación y frecuencia respiratoria | 23 | 2,9% |
| Daños al ADN, mutaciones | 19 | 2,4% |
| EEG, potenciales evocados, perturbaciones en el sueño | 19 | 2,4% |
| Bioanálisis de largo plazo de roedores | 19 | 2,4% |
| Cambios hormonales | 12 | 1,5% |
| Estudios de calcio e otros iones | 10 | 1,3% |
| Actividad biológica de cepas celulares tumorales | 5 | 0,6% |
| Otros estudios en animales | 5 | 0,6% |
| Proliferación, tasas de crecimiento de tejidos y análisis del ciclo celular | 5 | 0,6% |

| | | |
|--|--------------|------------|
| Estudios en animales con múltiples parámetros examinados | 1 | 0,1% |
| Experimentos de dosimetría en animales | 1 | 0,1% |
| | Total | 781 |
| | | |

La mayoría de los estudios (en torno al 71%) están comprendidos en las siguientes categorías:

- efectos térmicos
- comportamiento animal
- bioquímica del cerebro
- neuropatología
- teratogenicidad
- reproducción y desarrollo
- función inmune
- sistema hematopoyético
- barrera hemato-encefálica
- sistemas visuales y auditivos

Otros 14% se refieren a los efectos sobre el material genético y las funciones celulares y bioquímicas en condiciones *in vivo*.

Debido al gran número de estudios, hemos centrado nuestro análisis en aquellas que consideramos son las tres áreas más importantes: efectos sobre la barrera hemato-encefálica, oncogénesis (promoción e inducción de cáncer) y la supervivencia a largo plazo bajo exposición crónica.

Efectos sobre la barrera hemato-encefálica

La barrera hemato-encefálica (BBB, o *Blood-Brain Barrier*, en inglés) tiene una función muy importante en los mamíferos, que es fomentar una barrera selectiva entre la oferta externa de sangre al cerebro y su medio interno (líquido extracelular). Este sistema consiste en membranas únicas y complejas y en células de apoyo nutricional y vascular del cerebro (células gliales), que proporcionan una especie de filtro selectivo que impide que las sustancias no deseadas que circulan en la sangre (y que podrían tener efectos tóxicos sobre las neuronas, por ejemplo) se presenten en el ambiente interno del cerebro. Por lo tanto, cualquier cosa que debilite o abra los controles de la BHE suele ser potencialmente dañina para la salud del cerebro.

Los primeros estudios de BBB y campos electromagnéticos surgieron en 1977, y sugerían que la irradiación de las ratas con RF a niveles inferiores a los estándares de seguridad actuales causaría un perjuicio a la permeabilidad selectiva de la BBB. Estos estudios utilizaron una metodología estandarizada para detectar cambios en la permeabilidad, con pigmentos solubles en agua o compuestos de radionúclidos que normalmente no atraviesan la barrera.

La investigación publicada por el grupo de Salford en Suecia (1993) con una serie de más de 1.600 ratas, mostró inicialmente que la BBB ha cambiado su permeabilidad a la albúmina, una proteína común en la sangre, pero no al fibrinógeno, inmediatamente después de ser irradiados por dos más de 7 horas por día, por 14 días, con señales de telefonía celular GSM a 900 Mhz de frecuencia.

Esta investigación ha sufrido intensa presión para ocultarse y provocó una alerta importante en la prensa y en el público en general. Más tarde Salford indirectamente intentó demostrar que la albúmina que pasaba por el BBB se acumula alrededor de las neuronas en el líquido extracelular de la columna vertebral y del cerebro, y por lo tanto suelen causar lesiones y muerte neuronal en varias zonas del cerebro (Salford 2003). Además, el autor propuso que estas lesiones podrían ser responsables de un déficit en la memoria observada en un pequeño grupo de ratas irradiadas (Nittby *et al*, 2008). Por otra parte, el mismo grupo de investigación sugirió que había una relación dosis-efecto entre el nivel de exposición, medido por un SAR entre 0,1 a 1,2 W/m, y el aumento de la permeabilidad a la albúmina, que podría ser responsable por la muerte neuronal (Eberhardt *et al* 2008).

Según Balzano & Swicord, desde 1990 algo así como 52 trabajos investigaron experimentalmente los posibles efectos de la RF en la ruptura de permeabilidad de la BBB. Después de agrupar los varios resultados de un mismo laboratorio, llevando a un total de 29 estudios, los resultados mostraron que 11 estudios no pudieron demostrar tales efectos, 10 reportaron algún tipo de efecto térmico y otros efectos, y lo restante posiblemente debidos a efectos no térmicos (27,5%). Los niveles de radiación empleados variaron ampliamente entre los estudios y no se documentaron en el nivel de los tejidos, lo que hace difícil comparar los trabajos entre si. Además, en la mayoría de estudios no se controló lo suficiente como para descartar otras posibles factores presentes durante el estudio, tales como manejar el estrés o trauma en la cabeza, que se sabe que afectan el BBB.

La explicación más plausible para los 8 restantes estudios es que también se deberían a los efectos térmicos. Por ejemplo, se demostró por Sutton y Carroll (1997) que la elevación gradual de la temperatura del cerebro a 40 ° C se ha producido durante una exposición típica de las ratas, debido a la alta permeabilidad a la RF externa, por los huesos delgados y el pequeño tamaño de la cabeza de estos animales, provocando un aumento de la permeabilidad a el BBB. Este efecto fue disminuido por una perfusión cerebral con sangre fría. Merritt *et al* (1978) compararon los efectos sobre la BBB causada por el aumento de temperatura mediante una corriente de aire caliente sobre todo el cráneo de los animales, simultánea a la exposición a la RF, y obtuvieron efectos similares. Más recientemente, Fritz *et al* (1997) y Ohmoto *et al* (1996) demostraron experimentalmente que el aumento de temperatura causado por el calentamiento del tejido cerebral por RF puede ser en su mayor parte la explicación de la ruptura de la BBB en ratas.

Con una sola excepción, los efectos sobre la BBB no han sido estudiados en animales más grandes tales como perros, gatos y monos, que tienen una configuración más similar al cráneo humano. Como la temperatura del cráneo de los seres humanos no cambia significativamente cuando se utiliza un teléfono celular durante varios minutos, según lo confirmado por los estudios que utilizan imágenes funcionales obtenidas por tomografía PET, no se espera que se produzca un efecto perjudicial de la interrupción de la BBB en

los seres humanos .

La inducción y la promoción de cáncer

Los estudios experimentales *in vivo* sobre teratogenicidad (inducción y promoción de los tumores y/o cánceres de la sangre, como la leucemia) representan, obviamente, una importante línea de cuestionamiento, ya que la posibilidad de los efectos de la exposición a la RF por debajo de los umbrales internacionales de seguridad, a largo plazo, es una de las más temidas.

Esto ocurriría posiblemente debido a roturas en el ADN, a la formación de micro-núcleos, etc., inducidas por esta radiación. Estos estudios *in vivo*, que son en su mayoría realizados con roedores de laboratorio pequeños, emplean varias técnicas para determinar la actividad biológica de los tumores, los efectos sobre el material genético, etc., similares a los reportados en la sección anterior sobre los estudios *in vitro*. Puede ser utilizado tanto en animales sin antecedentes de tumores (los llamados estudios de inducción), cuanto en animales con tumores anteriormente causados por agentes carcinógenos conocidos (los llamados estudios de promoción). La aparición de los predecesores de desarrollo molecular intracelular de los tumores es otra posible línea de investigación.

Inicialmente, hay que admitir que sólo los supuestos efectos no térmicos de las radiofrecuencias se asociarían con teratogénesis en animales de experimentación, debido al hecho conocido que la hipertermia normalmente no incrementa el desarrollo de tumores (Dewhirst *et al* 2003). Uno de los primeros estudios en animales experimentales en este sentido (Chou *et al*, 1992) reportó un pequeño aumento en la incidencia de tumores en ratones irradiados por dos años con RF. Los autores consideran que estos resultados no podrían ser biológicamente importantes, ya que la supervivencia de los animales no se vio afectada. Otro estudio de gran impacto en la ocasión ha sido realizado por el Dr. Repacholi *et al* (1997) en Australia, y que halló una mayor incidencia de folículos linfocíticos en ratones transgénicos expuestos a la RF por 18 meses.

En este punto, una revisión de la literatura sobre la promoción y la inducción de cáncer por el mismo autor senior (Repacholi, 1997), concluyó que la situación era muy contradictoria e incoherente, y que las investigaciones estimaban que no existían esos efectos, en realidad. Sin embargo, surgieron varias cuestiones metodológicas en relación con los parámetros de exposición utilizada en los estudios iniciales, y varios estudios de replicación, como Utteridge *et al.* (2002) y Oberto *et al* (2007) no pudieron confirmar estos resultados.

Otra investigación fue realizada por Anghileri *et al.* (2005), quien informó que la exposición a RF de las ratas incrementó su mortalidad, probablemente mediante la producción de cambios en el calcio intracelular, debido a los efectos no térmicos como un posible factor desencadenante. Sus resultados, sin embargo, no han podido ser confirmados o reproducidos por otros investigadores, ya que no se dispone de ninguna información sobre los niveles de exposición, y por haber utilizado un pequeño número de animales en el grupo experimental.

Tras la sugerencia de Repacholi, varias otras investigaciones experimentales han sido realizadas en los años siguientes, de modo que en otra revisión de la literatura realizada por el autor, en co-autoría con Elde, en 2003, concluyó que "*el peso de la evidencia de 18*

estudios muestra que la exposición a energía de RF en nivel bajo no afecta a la supervivencia a largo plazo y la incidencia de cáncer en mamíferos de laboratorio."

A pesar de esta declaración inequívoca, los primeros resultados de la inducción de cáncer en animales continuaron provocando una serie de otros estudios en los años siguientes. De acuerdo con la revisión de Swicord y Balzano (2009), 40 de estos estudios han sido publicados desde 1990. El tiempo de exposición variaban desde varias semanas a más de dos años, y la mayoría de estudios han investigado la exposición continua (20-22 horas al día, 7 días a la semana), bajo irradiación de RF utilizada en las comunicaciones móviles, con varias frecuencias y modulaciones de amplitud. La densidad de potencia y SAR utilizadas en la mayoría de los estudios fueron similares a los generados por los teléfonos móviles cerca de la cabeza ($4W/m^2$).

Aunque el SAR usado y tiempos de exposición muy por encima de los que los usuarios normales de telefonía celular experimentan en términos de duración acumulada durante toda la vida, y teniendo en cuenta las distribuciones de campos de RF en los cráneos completamente diferentes de animales de experimentación, en comparación con los seres humanos, el 92,5% de los estudios no mostraron un efecto significativo en la formación del tumor.

La supervivencia a largo plazo

Como hay una incidencia significativa y bien documentada de efectos en animales de la exposición de RF a corto plazo e en altos niveles de energía térmica, otros estudios han buscado investigar los efectos de exposición a la RF en niveles muy inferiores. En lugar de buscar cambios específicos en los sistemas y órganos, para investigar los efectos perjudiciales en términos de longevidad reducida, comparándolos con los animales no expuestos (grupo control). se utilizó la radiación crónica continua de bajo nivel, es decir, simulando condiciones similares a las de los organismos que viven cerca de estaciones radio-base. La mediana de supervivencia de los grupos de animales irradiados no se vio afectada en el 95,8% (23 de los 24 estudios), por lo tanto los efectos no térmicos no se pudo demostrar en este nivel.

Investigaciones en América Latina

Como era de esperar, encontramos sólo unos pocos estudios en animales publicados en revistas nacionales e internacionales revisada por expertos. Todos eran debidos a investigadores en el mismo estado de Brasil (Río Grande do Sul).

Ribeiro *et al* (2007) investigaron los efectos de la exposición subcrónica a una RF de 0,8 GHz emitidos durante una hora al día por 11 semanas para un teléfono móvil GSM convencional sobre la función testicular en ratas adultas. No hubo diferencia estadísticamente significativa para la temperatura rectal antes y después del período de exposición, el peso del testículo y del epidídimo, los niveles de peroxidación lipídica en estos órganos, la testosterona sérica y el contenido de espermatozoides totales en el epidídimo, la fase de retención y maduración de las espermátidas en la etapa de X-SIX, la infiltración intersticial, vacuolización celular y células gigantes multinucleadas. Los autores concluyeron que la exposición no afecta la función testicular en ratas adultas.

Ferreira *et al* (2006a) investigaron la ocurrencia de lesiones cromosómicas en los leucocitos en crías de rata expuestas in útero a bajos niveles de RF, como los usados en

la comunicación celular GSM utilizando la prueba de micro-núcleos. La actividad de enzimas antioxidantes, los niveles totales de los radicales sulfhidrilo, proteínas del grupo carbonilo y de las especies de ácido tiobarbitúrico se evaluaron en sangre periférica y el hígado. Los autores observaron un aumento significativo en la incidencia de micro-núcleos, pero ningún cambio en el metabolismo oxidante, llegando, por lo tanto, a la conclusión de que la RF tendría potencial genotóxico en embriones de ratones expuestos durante la embriogénesis, pero sin hallar un mecanismo explicable.

El mismo grupo (Ferreira et al, 2006b) investigó el efecto agudo de la exposición a RF sobre enzimas antioxidantes, sobre el daño de defensa no-enzimática de lípidos y sobre la oxidación de las proteínas en la corteza frontal y en el hipocampo de ratas, mediante la realización de análisis de malonaldehído (MDA), daño de lípidos y proteínas carbonilo oxidativo, respectivamente. No hubo cambios en los lípidos y en el daño de proteínas, así como los mecanismos de defensa no-enzimáticos a en la corteza frontal y el hipocampo.

Conclusiones

Los efectos de la RF parecen ser significativos sólo cuando el calentamiento de los tejidos internos se realiza a temperaturas más altas, es decir, cuando el SAR y las densidades de energía electromagnética están muy por encima del umbral de seguridad. Por debajo de estos niveles no se produce calentamiento significativo, especialmente en la cabeza bien protegida de los seres humanos.

Se esperaba que los efectos observados y coherente en los animales podían ser explicadas en base a los supuestos efectos no térmicos. Sin embargo, la conclusión general, después de 20 años de estudios en animales, es que este efecto no se pudo demostrar hasta ahora. Por lo tanto, no hay existencia de un efecto notable y persistente de la RF en animales intactos, por lo menos en los niveles de RF por debajo de los estándares internacionales. Los pocos estudios que examinaron los efectos no térmicos más bien controlados sobre la interrupción de la permeabilidad de la BBB, la inducción y promoción del cáncer y la supervivencia global a la exposición crónica a la RF suelen explicarse por sutiles efectos térmicos no controlados.

En resumen, lo que se refiere los posibles mecanismos de interacción de los campos de RF, en estudios experimentales tanto *in vitro* como *in vivo*, los autores e instituciones que han realizado un examen crítico de toda la literatura publicada (por ejemplo, Swicord y Balzano, 2009 y ICNIRP, 2009) se pueden concluir que:

"El análisis de la base de datos en su conjunto, teniendo en cuenta tanto las teorías propuestas física y los resultados de más de 1700 publicaciones nos lleva a la conclusión de que no se puede encontrar cualquier efecto no térmico de bajo nivel entre 150 MHz y 150 GHz, y que son extremadamente poco probable que estos efectos de entre 10 MHz y 300 GHz".