

La Concentración de los Receptores de Respuesta del Factor de Crecimiento y el Factor de Citoquina fue Inducida por un Campo Magnético de 50 Hz y Bloqueada por un Campo de Ruido Electromagnético

SUN Wenjun, FU Yiti, JIANS Huai y LU Deqiang.

Laboratorio Bioelectromagnético, Escuela de Medicina de la Universidad de Zhejiang, Hangzhou 310031, China.

Toda correspondencia deberá ser remitida a SUN Wenjun (e-mail: sunwj@zju.edu.cn)

Sinopsis Estudiar los posibles efectos de la exposición de un campo magnético (CM) de 50 Hz en concentraciones de receptores de superficie celular, explorar el mecanismo de transducción de señales de CEM y CM y confirmar si los campos magnéticos (CM) de ruido interfieren con estos efectos inducidos por 50 Hz. Las células pulmonares de hámster chino (PHC) fueron expuestas respectivamente a 50 Hz de CM, ruido CM con 0.4 mT y CM combinado que fue superpuesto a 50 Hz de CM con ruido CM para distintas duraciones de exposición (5, 15 y 30 min.). Las células tratadas con 100 ng/ml de factor de crecimiento epidérmico (FCE) ó 10 ng/ml de factor de necrosis tumoral (FNT) por 15 min. Dieron un control positivo. La concentración del receptor FCE y FNT fue analizado con un microscopio confocal. Los resultados mostraron que, al igual que el FCE y el FNT, 50 Hz de CM a 0.4 mT podían obviamente inducir la concentración de receptores de la superficie celular luego de la exposición por 5 min., mientras que el ruido de CM solo con la misma intensidad no indujo la concentración de receptores. Al superponerse al ruido de CM con la misma intensidad, se inhibió la concentración de receptores inducida por 50 Hz de CM. Parecía que la membrana de receptores sería el sitio objetivo en donde el CM interactúa con la célula y el ruido de CM podría interferir en estos efectos.

Palabras clave: Campos magnéticos de 50 Hz; receptor; concentración; campo magnético de ruido; interferencia

El hecho de que la electricidad haya sido ampliamente usada en nuestra sociedad ha hecho que los campos electromagnéticos extremadamente bajos en frecuencia (CEM-EBF) en el ambiente sean cada vez más altos. Existe una evidencia acumulable de que la exposición a CEM-EBF puede producir muchos efectos biológicos. Especialmente, algunos informes mostraron que CEM-EBF, como los de las líneas de distribución y transmisión de corriente eléctrica, han estado asociados con un aumento de riesgo de padecer leucemia, cáncer del sistema nervioso, linfomas y cáncer al seno^[1-6]. Sin embargo, el mecanismo de los efectos biológicos de CEM-EBF todavía no está claro. Nuestro estudio anterior mostraba que 50 Hz de campo magnético (CM) con 0.4 mT podría quedar fosforilado y activar la proteína quinasa, que normalmente se activa por estrés (PQAE) y la proteína P38, que normalmente se activa por mitógenos (PAM), proteína quinasa (P38 PQAM)^[7-8]. Kie et al.^[9] también mostraba que CEM-EBF indujo la actividad de la proteína activada por mitógenos (PAM), proteína quinasa (Erk1/2). Estas son evidencias de que la exposición a CEM-EBF puede activar ruta de transducción de señales. No obstante, se desconoce dónde y cómo la señal del CEM se transfiere como señal biológica en las células. Ya que

muchos campos electromagnéticos de baja energía tienen poca energía para atravesar directamente la membrana, es posible que modifiquen el proceso de transacción de señales existente en la membrana celular, produciendo así transducción y amplificación bioquímica de los efectos del campo mismo^[10]. En el estudio actual, exploramos si las células de exposición a 50 Hz de CM pueden inducir la concentración de receptores de superficie celular como sus ligandos, y también investigar si el ruido de CM puede interferir con la concentración de receptores causada por 50 Hz de CM, ya que se halló que el ruido de CM bloquea la activación de PQAE^[11].

1 Materiales y métodos

(i) Sistema de exposición. El único sistema de exposición de 50 Hz de CM consiste en tres grupos de bobinas de Helmholtz con un ancho de 36cm, alto de 8cm, dos reguladores de potencia y un set de incubadoras de CO₂ (Modelo 3164, Forma). Tres bobinas cuadradas, superior, media e inferior de 168, 60 y 168 girando separadamente estaban conectadas en serie. Un CM sinusoidal de 50 Hz muy uniforme fue generado en el centro de las bobinas (10x10x10 cm³ de espacio tridimensional), cuando las bobinas se llenan de energía. El sistema combinado de exposición de 50 Hz sinusoidal y ruido de CM tiene los mismos componentes que el sistema único de CM, pero las bobinas de Helmholtz son de alambre de cobre torcido que se conectan con diferentes señales de CM, una para el CM sinusoidal de 50 Hz y la otra para una señal de ruido. La señal de ruido fue suministrada por Litovitz Lab (EE.UU.) La señal de CM fue monitoreada con oscilógrafo. La densidad de flujo magnético en el área central del sistema de exposición fue medida con un medidor electrónico de campo de frecuencia. Se colocaron placas de cultivos celulares en el área central de las bobinas y el CM estaba perpendicular a las placas. El campo de fondo de CA era de 1~2 μT, y el campo magnético estático era de 18 μT con un componente horizontal de 14.1 μT y otro vertical de 12.0 μT.

(ii) Anticuerpos y Sustancias Químicas. FCE y FNT-α (Calbiochem), Anti-FCER y Anti-FNT-R1 (Santa Cruz), NP40 (Fluka), yoduro de propidio (SIGMA), medio RPMI 1640 (Gibco BRL), IgG-FITC de cabra anti-conejo (Sino-American Biotech, Co.).

(iii) Cultivo Celular, Grupo, Tratamiento. La línea de células pulmonares de hámster chino (PHC) fueron cultivadas en cubreobjetivos de vidrio en medio RPMI 1640 conteniendo 15%FCS 100U/ml de penicilina, 100 μg/ml de estreptomina, 100 μg/ml de kanamicina, a 37 ± 0.5°C con 95% de aire y 5% de CO₂. Tres días más tarde (72 h), se retiró el suero a todas las células y se cultivaron en un medio sin suero por 12 horas. Luego de trataron las células PHC. Las células en el experimento se dividieron en cinco grupos: a) control positivo (con ligandos), b) exposición falsa, c) exposición de 0.4mT a 50Hz de CM, d) exposición de 0.4mT a ruido de CM, y e) exposición de 0.4mT a 50Hz de CM combinada con exposición de 0.4mT a ruido de CM. El control positivo se trató con 100ng/ml de FCE ó 10ng/ml FNT por 15 min. Las células de exposición se cultivaron en el sistema de exposición en distintos momentos (5, 15 y 30 min) con las mismas condiciones, y el CM estuvo perpendicular a las placas. Luego de los distintos tratamientos, las células se lavaron con solución salina de fosfato, fijada con

paraformaldehído, tratada con NP-40, sellada con suero de cabra, incubada con anticuerpos de receptores, IgG-FITC de cabra anti-conejo y yoduro de propicio. Finalmente, se analizó la concentración de receptores de FCE o FNT con un microscopio confocal (Leica, TCS-SP). Los experimentos se repitieron más de tres veces.

2 Resultados

Los resultados mostraron que el FCE y el FNT podían concentrarse en receptores. Como el FCE y FNT, 50 Hz de CM a 0.4mT también obviamente indujo la concentración de receptores FCE y FNT luego de una exposición de 5 min. Sin embargo, el ruido de CM con la misma intensidad no indujo la concentración de receptores. Cuando hubo superposición de ruido de CM, se inhibió la concentración de receptores inducida por 50 Hz de CM (Fig. 1 2).

3 Discusión

El receptor en la superficie celular es uno de los lugares de acción más importantes para las señales extracelulares, como las hormonas, citoquinas, etc. y el enlace específico entre señales extracelulares y receptores es generalmente el inicio de la transducción de señales. Normalmente, los enlaces de algunos ligandos (como el FCE) a los receptores correspondientes pueden inducir la concentración de receptores, y luego activar la ruta de transducción de señales celulares. Así que la concentración de receptores es generalmente el proceso inicial de la transducción de señales celulares, y se convierte en el índice que muestra si los factores extracelulares interactúan con los receptores. Algunos estudios mostraron que el CEM-EBF podía activar las rutas de transducción de señales^[7-9]. Pero el sitio inicial para que interactúe el CEM-EBF con la célula tampoco está claro. Devary^[12] halló que la luz Ultravioleta (UV) puede activarse por medio de la ruta de PQAE mediante la membrana celular, y Rosette^[13] confirmó que el receptor de citoquina y factor de crecimiento es el sitio de donde la luz UV activa la cascada de PQAE. El CEM-EBF es similar a la luz UV en esencia. Supusimos que el receptor era uno de los objetivos para CEM-EBF. Los resultados del presente estudio mostraron que la exposición de 0.4mT a 50z de CM podía inducir la concentración de los receptores de FCE y FNT. Indica que 50 Hz de CM pueden interactuar con rutas de señales normalmente usadas por citoquinas y factores de crecimiento. La membrana celular puede ser el lugar inicial en donde el CEM actúa con la célula y transfiere su señal hacia una señal biológica. Pero no se claro exactamente cómo 50 Hz de CM llevan a la multimerización del receptor de la superficie celular. Se está estudiando la perturbación física de la membrana citoplasmática o un cambio confrontacional de receptores celulares inducido por CM. Litovitz^[14] primero halló que la superposición de un CM incoherente podía bloquear el incremento de la actividad de ODC por medio de un CM coherente en células L929 si el campo incoherente equivale o es mayor que el del campo coherente, y pensó que la superposición de un campo incoherente dependía de las amplitudes relativas de los componentes coherentes y del ruido. El experimento se repitió en embriones de pollo en desarrollo^[15]. El ruido del CM con la misma intensidad no indujo la concentración de receptores e inhibió los efectos sinusoidales de CM mientras se combinaba con el CM sinusoidal. En base al presente estudio, sacamos la conclusión de

que los receptores en la superficie celular son posibles lugares objetivos en donde actúa el CEM. También confirmamos que el ruido de CM podría interferir en los efectos del CEM-CM.

Referencias

1. Wertheimer, N., Leeper, E., Electrical wiring configurations and childhood cancer. *Am J Epidemiol*, 1979, 109: 273~284.
2. Miller, A.B., To, T., Agnew, D.A. et al., Leukemia following occupational exposure to 60 Hz electric and magnetic fields among Ontario electric utility workers. *Am J Epidemiol*, 1996, 144: 150~160.
3. Coogan, P.E., Clapp, R.W., Newcomb, P.A. et al., Occupational exposure to 60 hertz magnetic fields and risk of breast cancer in women. *Epidemiol*, 1996, 7: 459~464.
4. Kheifets, L.I., Afifi, A.A., Buffler, P.A. et al., Occupational electric magnetic field exposure and brain cancer: a meta-analysis. *J Occup Environ Med*, 1995, 37: 1327~1341.
5. Savitz, D.A., Wachtel, H., Barnes, F.A. et al., Case-control study of childhood cancer and exposure to 60 Hertz magnetic fields. *Am J Epidemiol*, 1988, 128: 21~38.
6. Demers, P.A., Thomas, D.B., Rosenblatt, K.A., Occupational exposure to electromagnetic fields and breast cancer in men. *Am J Epidemiol*, 1991, 134: 340~347.
7. Sun, W.J., Chiang, H., Fu, Y.T. et al., Exposure to 50Hz Electromagnetic Fields Induces the Phosphorylation and activity of Stress-activated Protein kinase in Cultured Cells. *Electro- and Magnetobiology*, 2001, 20: 415~423.
8. Sun, W.J., Yu, Y.N., Chiang, H. et al., Exposure to Power-Frequency Magnetic Fields Can Induce Activation of P38 Mitogen-Activated Protein Kinase. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and occupational Diseases*, 2002, 20(4): 252~255.
9. Nie, K., Martirosyan, V., Henderson, A., EMF induces low levels of MAP kinase. *Abstract Book of Twenty-third Annual Meeting*, St. Paul, Minnesota, June 10-14, 2001, 75.
10. Luben, R.A., Effects of low-energy electromagnetic fields (pulsed and DC) on membrane signal transduction processes in biological systems. *Health-Phys*, 1991, 61: 15~28.
11. Sun, W.J., Chiang, H., Fu, Y.D. et al., Effects of Noise Magnetic Fields on the Enhancement of SAPK Phosphorylation Induced by 50 Hz Magnetic Fields. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and occupational Diseases*, 2002, 20(4): 246~248.
12. Devary, Y., Rosette, C., DiDonato, J.A. et al., NF-kappa B activation by ultraviolet light not dependent on a nuclear signal. *Science*, 1993, 261: 1442~1445.
13. Rosette, C., Karin, M., Ultraviolet light and osmotic stress: activation of the JNK cascade through multiple growth factor and cytokine receptors. *Science*, 1996, 274: 1194~1197.
14. Litovitz, T.A., Krause, D., Montrose, C.J. et al., Temporally incoherent magnetic fields mitigate the response of biological systems to temporally coherent magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 1994, 15: 399~409.
15. Farrell, J.M., Barber, M., Krause, D., et al., The superposition of a temporally incoherent magnetic field inhibits 60 Hz-induced changes in the ODC activity of developing chick embryos. *Bioelectromagnetics*, 1998, 19: 53~56