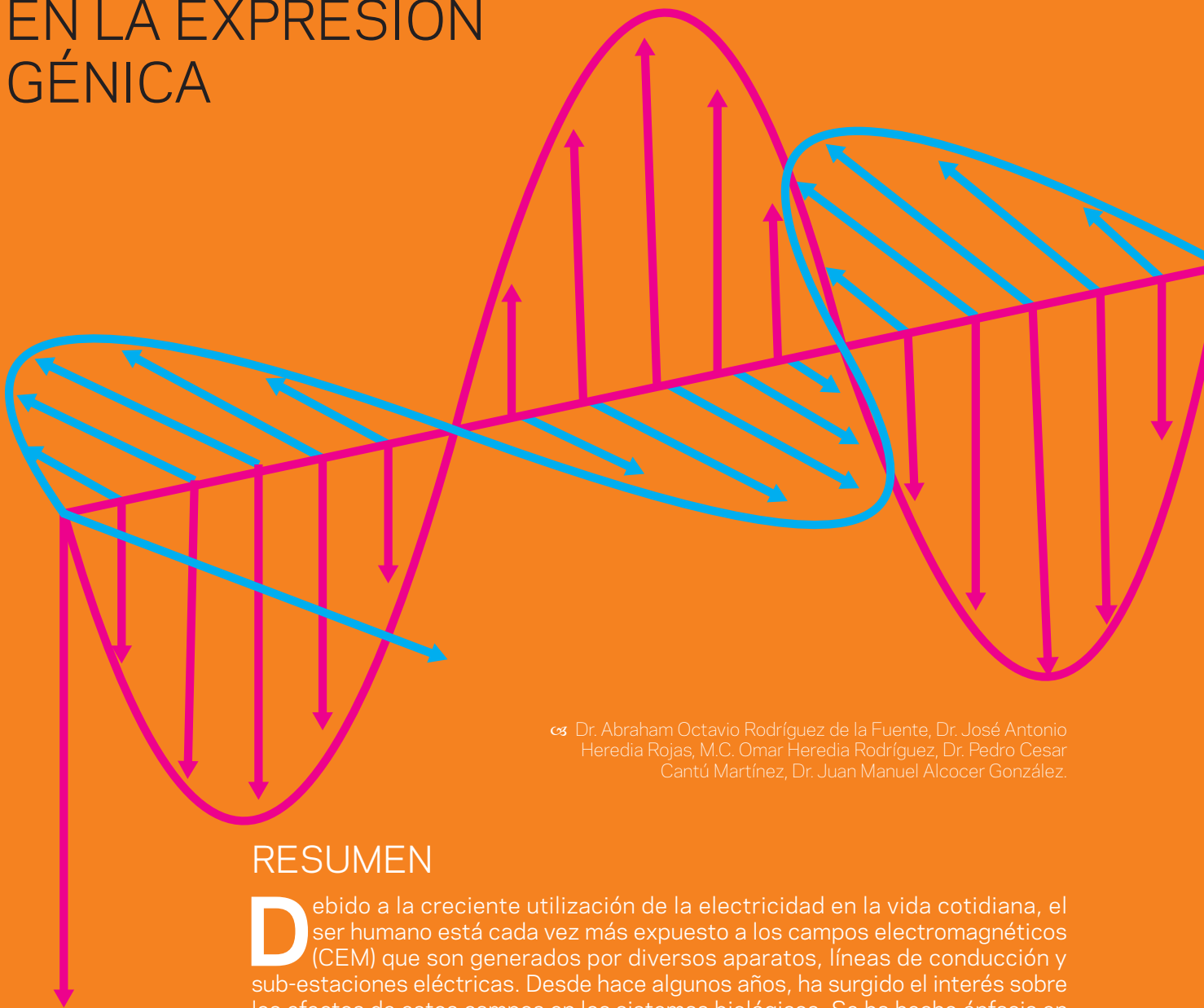


INFLUENCIA DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA



Dr. Abraham Octavio Rodríguez de la Fuente, Dr. José Antonio Heredia Rojas, M.C. Omar Heredia Rodríguez, Dr. Pedro Cesar Cantú Martínez, Dr. Juan Manuel Alcocer González.

RESUMEN

Debido a la creciente utilización de la electricidad en la vida cotidiana, el ser humano está cada vez más expuesto a los campos electromagnéticos (CEM) que son generados por diversos aparatos, líneas de conducción y sub-estaciones eléctricas. Desde hace algunos años, ha surgido el interés sobre los efectos de estos campos en los sistemas biológicos. Se ha hecho énfasis en que los CEM son potencialmente capaces de afectar a nivel de síntesis de ADN, ARN y proteínas, además de la proliferación celular, y más recientemente se ha visto, que se puede alterar la expresión génica. Sin embargo, se han encontrado resultados variables, por lo que, hasta el momento, no se puede dar una conclusión definitiva sobre los efectos de este factor físico a los niveles antes mencionados. En este artículo, se presenta información general acerca del efecto biológico de los CEM, en particular en la expresión génica, incorporando además los últimos hallazgos al respecto que hemos obtenido en nuestro laboratorio. No se pretende una revisión exhaustiva del tema, sino más bien mostrar evidencias que indican que la expresión de diversos genes puede ser modificada por la radiación electromagnética, especialmente por la de frecuencia extremadamente baja (CEM), y que es ahora muy común en ciudades industrializadas.

INTRODUCCIÓN

Acercas de los fenómenos magnéticos, se tiene conocimiento de éstos desde la antigüedad, al observar que trozos de material metálicos podían atraer otras partículas. El termino magnetismo se cree proviene desde hace 2000 años de la ciudad llamada Magnesia en la antigua Grecia. Actualmente, se le llama campo magnético a la región en el espacio que rodea a un imán y que está relacionado al movimiento de las cargas eléctricas que porta el material (Hewitt, 1998). Dado a que en la constitución de la materia intervienen partículas que portan cargas en movimiento, es de esperarse que este campo magnético esté en cualquier tipo de sustancia, aunque no sea detectable a simple vista. Los materiales se pueden clasificar en cuanto a sus propiedades magnéticas en: diamagnéticos, paramagnéticos y ferromagnéticos. Los materiales diamagnéticos tienen la característica de que al ser colocados cerca de un polo magnético intenso sufren una fuerza repulsiva, es decir, repelen los campos magnéticos por lo que no son materiales magnetizables, un buen ejemplo de una sustancia diamagnética es el agua, que es el constituyente primordial de la vida. En el caso de los materiales paramagnéticos, éstos tienen la propiedad de ser atraídos por imanes lo cual permite que sus momentos magnéticos se orienten de acuerdo al campo magnético externo. Por otra parte, los materiales ferromagnéticos se caracterizan por presentar un efecto paramagnético muy fuerte y es característico de algunos materiales como el fierro, níquel y cobalto, que son materiales altamente magnetizables (Figura 1).

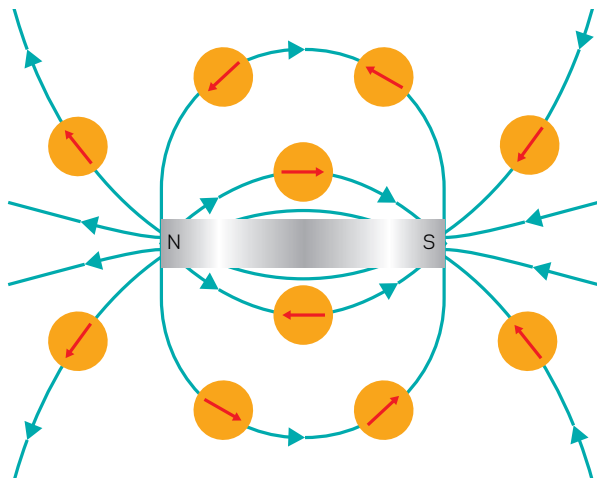


Figura 1. Un campo magnético se define como el espacio que rodea a un imán. Se generan líneas de fuerza magnética que salen por el polo Norte magnético (N) y se dirigen al polo Sur magnético (S) que son capaces de interactuar con el medio circundante. En los aparatos eléctricos, líneas de conducción y sub-estaciones eléctricas, se generan también campos magnéticos, que en ese caso se llaman electromagnéticos y son más bien campos dinámicos que varían en el tiempo. En los imanes, el campo es estático. El efecto biológico de cada uno es diferente.

Por otro lado, los campos magnéticos se clasifican en cuanto su distribución espacial en homogéneos y heterogéneos. Los campos magnéticos homogéneos presentan un campo uniforme en un área determinada; mientras que el campo magnético heterogéneo presenta variación en la intensidad con respecto a la fuente productora de magnetismo. Además, estos campos magnéticos se pueden clasificar en cuanto a su relación con el tiempo, en estáticos y oscilantes. Los campos estáticos, como es el caso de los imanes permanentes, mantienen la misma intensidad magnética durante todo el tiempo; mientras que los oscilantes varían en la intensidad con respecto al tiempo. La mayoría de los estudios concuerdan en la idea de que los campos magnéticos

oscilantes suelen mostrar mayores afectos biológicos que los estáticos. (Alonso y Rojo, 1987)

De acuerdo a la ley de Faraday, que nos dice que todo campo eléctrico que varía con el tiempo va siempre acompañado de un campo magnético variable, se establece entonces la relación entre campos eléctricos y magnéticos que pueden integrarse como una sola entidad física que se denomina *campo electromagnético* (CEM). Por su parte, el número de fluctuaciones por segundo que se dan entre los campos eléctrico y magnético se refiere a su frecuencia, y a la unidad de frecuencia se le conoce como Hertz (Hz) y equivale a un ciclo por segundo (Hewitt, 2007) (Figura 2).

La intensidad de un campo magnético, está relacionada con la fuerza y velocidad de las cargas; por esto, a más movimiento tengan las partículas cargadas, mayor será la intensidad de este campo. La densidad de flujo magnético en el sistema MKS es el Tesla (T), mientras que en el sistema CGS se mide en Gauss (G). Un T es igual a G.

Dado lo anterior, se deduce que son diversas las variables involucradas en la naturaleza de un CEM, mismos que son considerados físicamente como radiaciones electromagnéticas no ionizantes, de una frecuencia extremadamente baja y con poca energía, si se toma como ejemplo de comparación a la energía que contienen los enlaces moleculares, en particular los de la molécula de ADN. Sin embargo,

últimamente se ha propuesto que dada la motilidad de los electrones en el ADN y a la gran dinámica que esta molécula tiene, sobre todo en los procesos que involucran la expresión de los genes, es posible que si estos flujos electrónicos se alteran, pueden generarse cambios o modificaciones en la expresión génica. Esto último, puede dar origen a una serie de eventos celulares que a su vez desencadenarían cambios en la fisiología de los organismos, con diversas consecuencias, como se verá en el presente artículo .

EFFECTOS DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS SOBRE LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS

Se ha encontrado que los CEM tienen efectos sobre una diversidad de funciones biológicas entre éstas se encuentran; alteraciones en la producción de hormonas, modificación de la respuesta inmune, y cambios en el grado de crecimiento y diferenciación celular (Tenforde, 1991).

Los CEM a que comúnmente está expuesto el ser humano presentan una frecuencia de 50-60 Hz; y se ha informado que pueden tener efecto tanto en eucariotes como procariotes, y pueden modificar un sinnúmero de reacciones enzimáticas y procesos bioquímicos (Lin, 1994). Además, se ha mencionado que los campos magnéticos pueden influir en la salud, las investigaciones se han enfocado principalmente

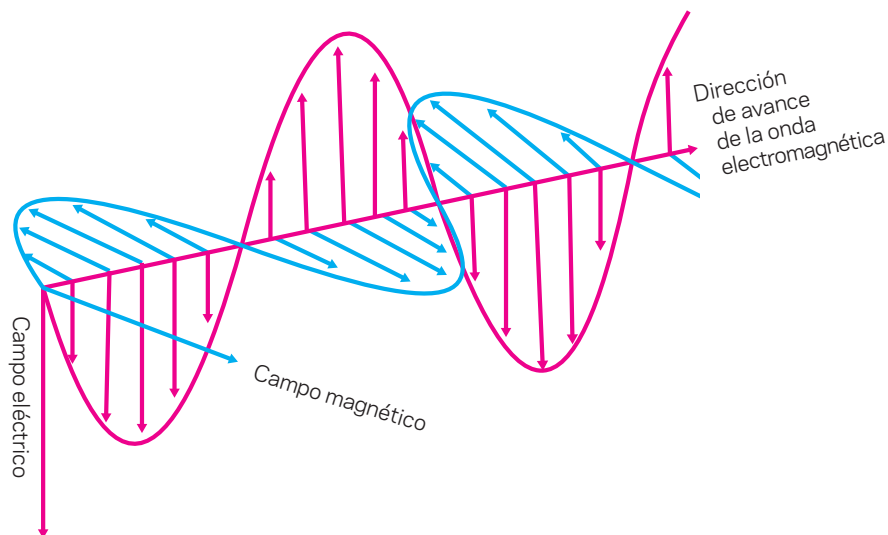
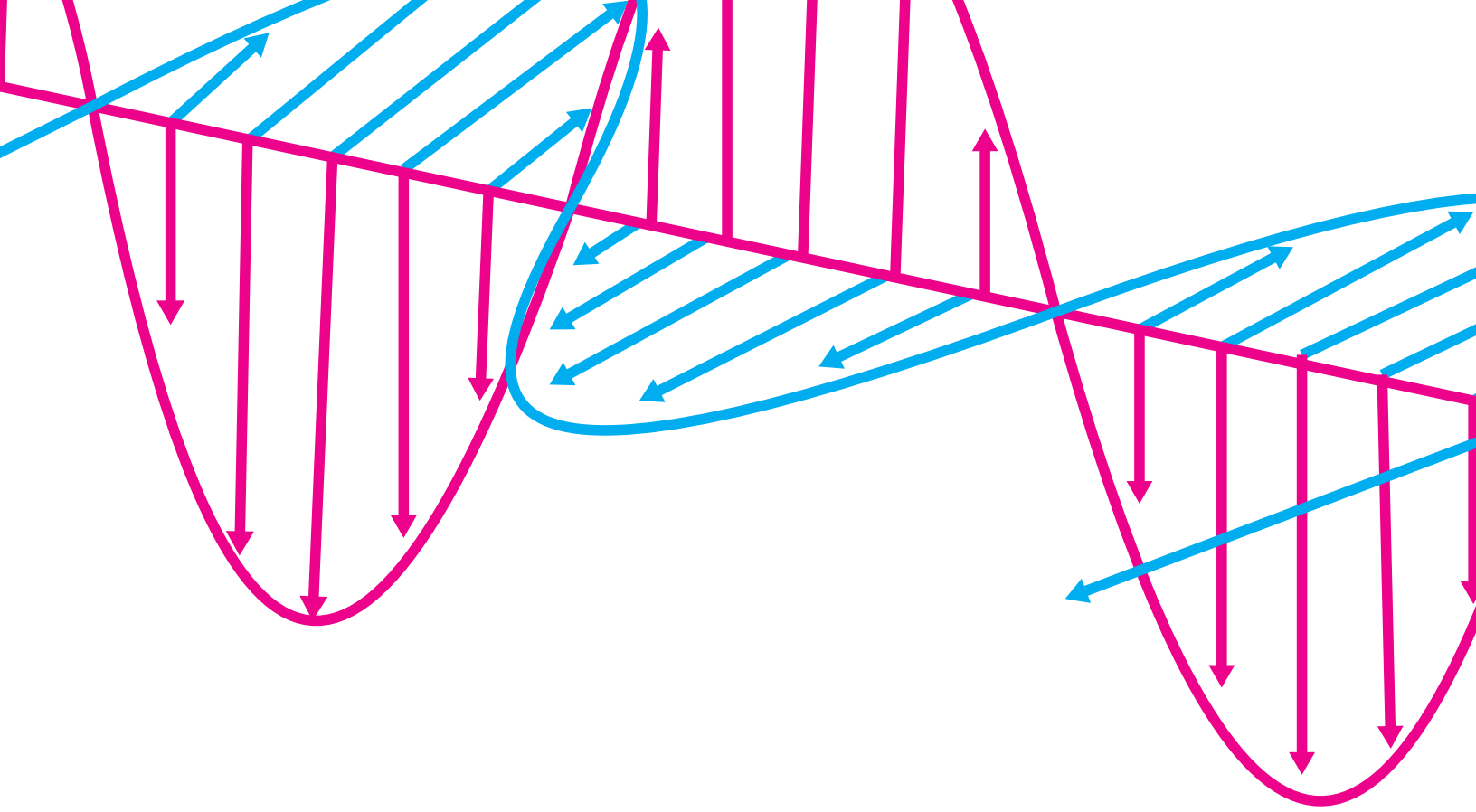


Figura 2. Onda electromagnética indicando sus componentes magnético y eléctrico. Los campos electromagnéticos son radiaciones no ionizantes de muy baja frecuencia. En nuestro medio, la electricidad que usamos es de 60 Hertz de frecuencia.




al posible daño al ADN, mutaciones que pudieran dar lugar a enfermedades tales como el cáncer. Tanto las mutaciones inherentes como las inducidas, que pueden afectar al material genético formado de aproximadamente genes codificantes (Moraes y Góes, 2016). Se considera que en el ser humano, por ejemplo, no es solo la cantidad de genes mencionada que aproximadamente contiene cada célula somática, sino que también es el arreglo delicado de los genes específicos que son expresados después de la fertilización del óvulo por el espermatozoide, en la división celular, en la muerte celular programada (apoptosis), y en la diferenciación celular que ocurre durante la embriogénesis, hasta la maduración. Todos los organismos están constituidos por varios niveles que van siendo incrementados en complejidad, así los seres vivos están formados por átomos, los cuales se organizan a la vez moléculas, éstas a su vez conforman los organelos celulares, los cuales forman parte de las células, que a su vez conforman los tejidos, que dan lugar a la formación de órganos y que pueden ser parte de los sistemas (Trosko, 2000). Así, los CEM pueden llegar a influir en cualquiera de estos niveles de los organismos provocando efectos detectables (Galar-Castelan, 1998).

Se han realizado a la fecha una gran cantidad de estudios, tanto de laboratorio como epidemiológicos, que tratan de asociar a los CEM con el cáncer, la diversidad de hallazgos no deja clara una conclusión acerca de si estos campos serían capaces de inducir neoplasias directamente. En un estudio realizado con cáncer de mama (uno de los más frecuente

en la especie humana), se trató de establecer si existía una relación entre los campos magnéticos y la expresión de genes humanos relacionados con cáncer de epitelio de mama (Loberg y cols., 1999), los genes estudiados fueron; C-erb, B-2, p53, p21, bax, bcl-x, mcl y fos. Para esto, se evaluaron los efectos de campos electromagnéticos de 60Hz de frecuencia a las intensidades de 0.1, 1.0 y 10 G en células HBL-100 por periodos de 20 min hasta por 24 h. Dichos tratamientos, se compararon con un grupo control que estuvo expuesto solamente a campos magnéticos ambientales ($<0.1 \mu\text{T}$). Los resultados obtenidos no indicaron una alteración de la expresión genética asociada a la exposición a campos magnéticos por lo que se concluyó que estas energías no tenían relación con inducción de cáncer de mama mediante el mecanismo de expresión de estos genes.

Por otra parte, se ha propuesto que los CEM pueden utilizarse como agentes bactericidas. En un trabajo realizado por Strazak y cols. (2002), se expuso a la bacteria *Escherichia coli* a CEM de baja frecuencia a intensidades entre 2.7 y 110 mT para determinar el efecto de este factor físico sobre el crecimiento. Se observó que los CEM afectaban negativamente la curva de crecimiento, además que el tamaño de las colonias bacterianas era menor conforme se incrementaba la intensidad magnética o el tiempo de exposición.

Por otro lado, los CEM de baja frecuencia son utilizados en la actualidad como herramienta para producir una variedad de efectos benéficos en



algunos sistemas biológicos. Por ejemplo, los CEM de tipo pulsante son usados frecuentemente para la reparación de fracturas óseas ya que se observó que el tejido óseo es sensible a campos magnéticos y eléctricos de baja frecuencia. Actualmente también se está utilizando a los CEM en personas con osteoporosis, con resultados muy alentadores (Pilla, 2002).

Otros investigadores, tuvieron como objetivo evaluar el efecto de los CEM en la protección de células del miocardio contra el daño isquémico, en pacientes que posteriormente iban a ser intervenidos quirúrgicamente (Han y cols., 1998). Ya que generalmente se utilizan temperaturas elevadas para estimular la expresión de la proteína hsp70 (proteína de choque térmico de 70 kilodaltons), debido a que esto permite proteger a los pacientes contra posible daño por isquemia. Los resultados obtenidos por el grupo de Han utilizando CEM fueron similares a los obtenidos con temperaturas altas, siendo los CEM más benignos, pues utilizan aproximadamente 14 veces menos energía que el choque térmico, y aun así generó una respuesta al estrés incrementando los niveles de hsp70.

Recientemente, se ha informado que los CEM son capaces de llevar a cabo regeneración de células neuronales (Kim y cols., 2002). Estos investigadores, intervinieron quirúrgicamente a ratas para provocar lesiones a nervios de la laringe para posteriormente exponer a CEM de una intensidad de 0.4 mT por 3 horas durante un periodo de 12 semanas. Ellos evaluaron la expresión de la enzima oxido sintetasa neural y la fosfolipasa C- γ 1 ya que han sido relacionadas con la regeneración nerviosa. Los resultados mostraron un incremento estadísticamente significativo en las dos enzimas estudiadas, comparado con el grupo control; además de que los animales presentaban regeneración de axones con lo que recobraban la función motora de los músculos de la laringe.

CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS Y EXPRESIÓN GÉNICA EN PROCARIOTES

En cuanto a el efecto de los CEM sobre la expresión génica en microorganismos, Cairo y cols. (1998) determinaron el efecto de los CEM de frecuencia

extremadamente baja sobre la expresión de ARN mensajero y del factor sigma 32 en *Escherichia coli*. Expusieron la bacteria a CEM de 1.1 mT de 60 Hz por un tiempo de 15 minutos, y encontraron que las intensidades utilizadas incrementaron los niveles intracelulares de ARN mensajero.

En otro trabajo realizado por Tsuchiya y cols., (1999) se determinó el efecto de los campos magnéticos sobre la actividad transcripcional de *E. coli*. Los investigadores expusieron la bacteria a un campo magnético que variaba entre 5.2 y 6.2 T el cual era producido por un sistema de magnetos superconductores y se encontró que el crecimiento incrementaba 3 veces en la fase estacionaria en comparación con el grupo control. Después, se expuso al campo magnético una cepa de *E. coli* defectuosa en el gen rpoS, el cual codifica para el factor σ , y se encontró que la sobrevivencia en la fase estacionaria estaba disminuida. Posteriormente, se utilizó una cepa de *E. coli* que contenía fusión rpoS-lacZ para después exponer al campo magnético y se observó un incremento en la actividad de la β -galactosidasa. Se concluyó que el campo magnético utilizado incrementó la actividad transcripcional en la fase estacionaria, así como un aumento de sobrevivencia celular.

En otro estudio (Libertin y cols., 1994), se evaluó el efecto de los rayos gama, luz ultravioleta, luz solar, microondas y CEM sobre la expresión génica mediada por un promotor de un virus de inmunodeficiencia. Se utilizaron células HeLa que fueron transfectadas con un vector que contenía el gen que expresa la enzima cloramfenicol acetil-transferasa el cual era regulado por un promotor HIV-LTR. Se encontró que la luz ultravioleta y la radiación de microondas afectaron la activación del promotor HIV-LTR. Sin embargo, la exposición a rayos gama, luz solar o CEM no afectó la expresión de HIV-LTR. Se concluyó así, que no todos los tipos de radiaciones son capaces de afectar la expresión de HIV-LTR.

CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS Y EXPRESIÓN GÉNICA EN EUCARIOTES

En lo que concierne a los efectos de los CEM sobre la expresión génica en organismo eucariotes, Saffer y Thurston (1995) expusieron células Daudi y HL60

humanas a CEM con un rango de $5.7 \mu\text{T}$ hasta 10 mT de 60 Hz de frecuencia por $20\text{-}60$ minutos, para evaluar la expresión del gen *myc*. Se encontró por medio de PCR que los CEM de frecuencia extremadamente baja no inducen cambios en la expresión de este gen en particular.

Otros resultados similares fueron obtenidos por Balcer-Kubiczek y cols. (1996) cuando evaluaron el efecto de los CEM sobre la expresión de gen de la enzima ornitín-descarboxilasa, exponiendo por 24 células de embrión de hámster sirio y fibroblastos de ratón C3H/10T1/2 a CEM de $200 \mu\text{T}$ de 60 Hz . No encontraron efectos de los CEM sobre la expresión de esta enzima en las células antes mencionadas.

Por otra parte, Jarhreis y cols. (1998) evaluaron el efecto de los CEM de 0.1 mT de 60 Hz sobre la expresión de los oncogenes *c-fos*, *c-jun* y *c-myc*. Ellos expusieron células CEM-CM3 a CEM generados por bobinas Helmholtz por periodos de tiempo de 15 , 30 , 60 y 120 minutos, para posteriormente extraer el núcleo y ARN citoplásmico. No encontraron diferencia en los niveles de transcripción de estos oncogenes entre el grupo expuesto al CEM y el grupo control (Figura 3).

Otro trabajo interesante que se realizó con objeto de probar el efecto de los CEM, y de éstos en combinación con diversos agentes químicos, sobre la expresión génica fue el llevado a cabo por Campbell-Beachler y cols. (1998) en células PC12 de ratón estimulado con el factor de crecimiento neural (NGF, por sus siglas en inglés) para después evaluar el efecto de los CEM de 60 Hz sobre la expresión de gene *c-fos*. Ellos expusieron estas células al NGF, a las concentraciones de 2 , 4 , 8 y 16 ng/ml , para luego exponerlas a CEM de 12.5 , 25.50 y $100 \mu\text{T}$ por 30 minutos. Posteriormente determinaron los niveles de transcripción de los genes *c-fos* mediante el análisis de Northern blot usando sondas marcadas con P^{32} . No se encontraron cambios en la expresión de este gen. Sin embargo, cuando expusieron las células PC12 a una combinación de agentes químicos (NGF, fosfocolina y acetato de tetradecanoforbol [TPA]) y posteriormente al CEM, encontraron que la expresión se incrementaba al doble de *c-fos* comparado con el grupo control. Por lo cual concluyen que la exposición de células previamente tratadas con los agentes NGF, fosfocolina y TPA juntos y expuestas posteriormente al CEM presentan un incremento en la expresión de *c-fos*.

Por su parte, Tuinstra y cols. (1998) examinaron el efecto de los CEM de 1.5 mT de 60 Hz y el ester de forbol sobre la proteína quinasa C. Se estudió el efecto de estos factores solos, y de manera combinada. En este trabajo realizaron 2 experimentos. En el primero expusieron cultivos celulares a CEM y forbol 12-miristato, 13 acetato (PMA) a una concentración de $2 \mu\text{M}$ y a la combinación de estos factores por 1 hora y no encontraron incrementos en la actividad de la proteína quinasa-C. En el segundo experimento, las células fueron previamente expuestas a una dosis menor a la óptima de PMA (50 nM) por 45 minutos, para posteriormente exponerse al CEM por 15 minutos. Los datos indicaron una disminución en la actividad de la quinasa-C a nivel citoplasmático y un aumento de actividad a nivel de membrana celular.

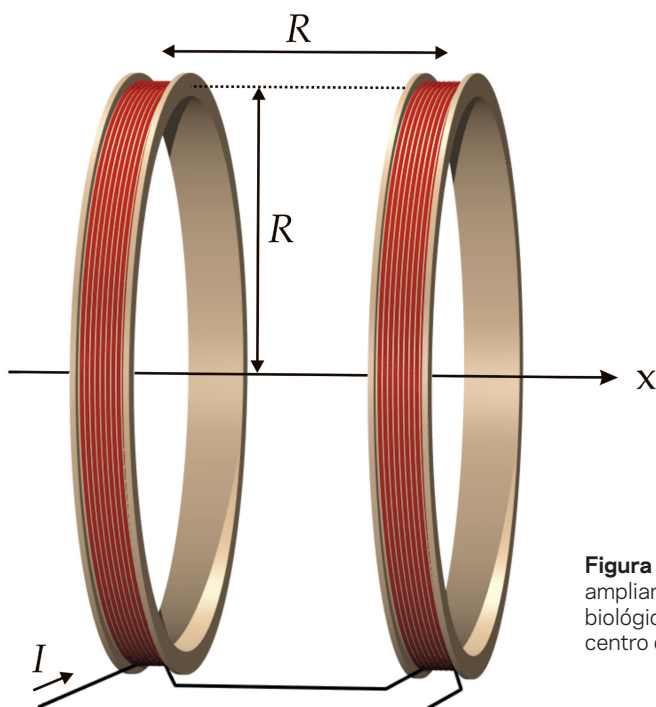


Figura 3. Sistema de bobinas Helmholtz. Este dispositivo es ampliamente utilizado en las investigaciones sobre el efecto biológico de campos electromagnéticos. (R = Distancia desde el centro de la bobina, I = Corriente eléctrica)

De este trabajo se concluyó que los CEM pueden actuar de manera sinérgica con otros factores, sobre la expresión génica.

En contraste, Miller y cols. (1999) no detectaron efectos de los CEM sobre la expresión génica al evaluar diferentes densidades de flujo magnético de 0.08, 0.1, 1.0 y 1.3 mT y de 60 Hz de frecuencia sobre la expresión de los genes NF-kappaB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B) y AP-1 (Proteína activadora 1) en una línea de células promonocíticas de leucemia humana.

En otro estudio, se determinó el efecto de los campos magnéticos sobre la expresión de proteínas de estrés (Pipkin y cols., 1999). Cultivos de células HL60 fueron expuestos por 2 horas a un campo magnético sinusoidal de 0.1 a 1 mT de 60 Hz de frecuencia para su posterior marcaje mediante isótopos radiactivos. Los marcadores radiactivos fueron incorporados en las proteínas celulares por síntesis o fosforilación. Las proteínas fueron obtenidas electrostáticamente y las proteínas de choque térmico fueron analizadas por síntesis y fosforilación en gel bidimensional de poliacrilamida. Los resultados obtenidos no indicaron diferencia estadística entre el grupo expuesto al campo magnético de 0.1 y el grupo control; sin embargo, si se encontró un incremento significativo en las proteínas de choque térmico en el grupo expuesto a campos magnéticos de 1.0 mT. Los autores concluyeron que el campo magnético de 1.0 mT interactúa a nivel celular para inducir proteínas de estrés.

En otro trabajo, se determinó el efecto de los campos magnéticos sobre la expresión del gen *myc* (codifica proteínas del núcleo de la célula que se unen al ADN y facilitan su transcripción) en las células Daudi (Morehouse y Owen, 2000). Dichas células fueron expuestas a campos magnéticos de 60 Hz de intensidades de 12.5, 50, 100 y 500 μ T por 20, 40 y 60 minutos, todos los tratamientos fueron emparejados con un grupo control no expuesto a dicho factor físico, La expresión de *myc* fue determinada mediante la técnica de hibridación de northern blot. Los resultados obtenidos indicaron que los campos magnéticos no alteraron de manera significativa la expresión del gen en células Daudi.

En otro estudio que involucró oncogenes (Romano-Spica y cols., 2000), se determinó el efecto de los

CEM de 50 Hz sobre la expresión del oncogene *ets1* que codifica a la proteína *c-ets-1* que actúa como factor de transcripción, se analizó dicha expresión en células hematopoyéticas y testiculares. Se encontró sobreexpresión del ARN de *ets1* a la intensidad de 45.7 μ T en células Jurkat linfoblastoide y en células TM3 Leydig. De este estudio se concluyó que los CEM son capaces de inducir la expresión génica en estos tipos celulares.

EFEECTO DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS EN LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DE ESTRÉS.

Las respuestas biológicas que diferentes organismos producen en situaciones de estrés han sido objeto de numerosas investigaciones. A nivel celular existen diferentes mecanismos para ello, aunque uno de los más interesantes es la respuesta de proteínas de estrés o heat shock proteins (HSP). En este sentido, una de las principales funciones de las HSP es luchar contra las alteraciones y los defectos en la síntesis de otras proteínas celulares, con el objeto de proteger a las células de los daños que puedan sufrir. Cualquier tipo de estrés, entendiéndose por tal la alteración de la homeostasis, es capaz de inducir su producción, pero en especial las temperaturas elevadas, la disminución del pH, ciertos procesos de isquemia, la disminución de los niveles de glucosa y el agotamiento del glucógeno, así como otros factores son causantes del aumento en los niveles de HSP (Carrasco-Páeza, 2009).

Con respecto al efecto de los CEM sobre la expresión de proteínas de estrés, Han y cols. (1998) expusieron células normales humanas de mama (HTB124) a campos magnéticos de 60 Hz y examinaron los niveles de hsp70 después de la exposición, en este trabajo utilizaron 3 tratamientos a) exposición continua a CEM por 3 horas, b) exposición solo por 20 minutos y c) exposiciones repetidas a CEM con duración de 20 minutos con diferente dirección del campo magnético. Los resultados obtenidos, indicaron que en el tratamiento de 3 horas continuas presentaba un incremento de hsp70 hasta de un 46% a los 20 minutos de exposición al ser comparados con el grupo control, sin embargo, conforme pasaba el tiempo disminuían los niveles. Cuando se exponían

solo por 20 minutos, los valores se mantenían altos por más de 3 horas. Cuando las células se expusieron repetidamente, se encontraron niveles elevados de hsp70 lo que indicaba un mecanismo de activación génica. Resultados similares fueron obtenidos por Lin y cols., ellos determinaron el efecto de los CEM sobre la expresión de los genes de proteínas de choque térmico en células humanas (Lin y cols., 1997). Expusieron células HL60 a CEM de 60 Hz bajo temperaturas de crecimiento normales. Se incrementó la transcripción del gen hsp70, además de un aumento en la síntesis de la proteína HSP70. Por esto, concluyeron que los CEM estimulan la producción de proteínas de estrés de manera similar a otros factores de estrés fisiológicos.

Por otra parte, también se ha evaluado el efecto de los CEM sobre el gen hsp16. Miyakawa y cols. (2001) expusieron el nemátodo *Caenorhabditis elegans* a CEM con una intensidad de 0.5 T de 60 Hz de frecuencia y determinaron el grado de expresión de hsp16 durante el periodo embrionario y posterior a éste. Los resultados indicaron que la expresión se presentaba más acentuada cuando la exposición era después de la etapa embrionaria. Esto permitió dar evidencia de que los CEM pueden afectar la etapa transcripcional de hsp16.

Asimismo, se determinó el efecto de los CEM de muy alta frecuencia sobre la expresión de hsp70 (Tian y cols., 2002) Se expusieron células MO54 a CEM de frecuencia de 2.45 Hz a una temperatura de 39°C y se determinó la cantidad de esta proteína de estrés a las 2, 4, 8 y 16 horas. Los resultados mostraron un ligero, pero significativo incremento, de expresión de hsp70 comparado con el grupo no expuesto al factor físico.

En otro trabajo realizado por Lin y cols. (1998), se investigó la posible participación de elementos genéticos adicionales sobre la expresión de hsp70' inducida por campos magnéticos Ellos evaluaron la exposición a los campos y al choque térmico sobre la unión ADN-proteína de los factores de transcripción HSF, AP-1, AP2 y SP1 en cuatro líneas celulares. Los sitios de transcripción para estos factores están localizados en el promotor HSP70. La actividad de AP-1 no se incrementó por el choque térmico, sin embargo si se incrementó con el campo magnético. Se encontró además que el choque térmico solo induce

la unión de HSF. Ellos concluyeron que los campos magnéticos inducen la transcripción de HSP70 y que hay un posible mecanismo de interacción de este factor físico directamente con el ADN, ya que los campos magnéticos penetran a la célula y pueden interactuar con los electrones presentes en las bases nitrogenadas del ADN.

En otro trabajo muy relacionado al anterior, de los mismos autores, se determinó cual era el sitio de respuesta del promotor HSP70 a campos magnéticos (Lin y cols., 1999). Se encontró que la expresión del gen HSP70 por campos magnéticos es afectada a nivel de la transcripción y es medida por la unión de la proteína c-myc a dos secuencias nCTCTn localizadas entre -230 y -160 de la cadena de ADN. Por otra parte, ellos informaron otro sitio de unión de c-myc (entre -158 y -162) el cual es un importante regulador de la expresión de HSP70 inducida por campo electromagnético. Además, ellos encontraron que el elemento de choque térmico está localizado entre -180 y -203.

ESTUDIOS HECHOS EN NUESTRO LABORATORIO ACERCA DEL EFECTO DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS SOBRE LA ACTIVIDAD DEL PROMOTOR DE HSP70

En años recientes, dada la relevancia que el efecto de los CEM puede tener al modificar la expresión génica en la fisiología celular, nos avocamos a probar la influencia de estas radiaciones electromagnéticas no ionizantes sobre la expresión génica en un promotor específico para una proteína de estrés, denominado hsp70, y que es comúnmente expresada mediante estímulo térmico (Choque térmico). Para tal fin, fue necesario construir un vector de transfección para células de mamífero, que fue un plásmido que denominamos "Plásmido-CEM" (Rodríguez de la Fuente y cols., 2017), un constructo génico que contenía el promotor de hsp70 y que a su vez contiene las secuencias previamente descritas que responden a la acción de los CEM (Lin y cols., 2001). Este vector también incluye el gen reportero de la luciferasa, que permite evaluar la expresión génica por emisión

de luz, mediante luminometría. En primera instancia, se probó el efecto de los CEM sobre la expresión de este gen en células HeLa, que es una línea tumoral de adenocarcinoma humano, y en células BMK16 que son de riñón de ratón. Se observó que el tratamiento magnético incrementó la expresión génica en ambos tipos celulares (Rodríguez de la Fuente y cols., 2009). Cabe mencionar, que los bioensayos fueron diseñados para comparar el efecto de los CEM contra el de un tratamiento con choque térmico, que previamente se sabe incrementa la expresión del gene probado. Sin embargo, los CEM aquí evaluados no producen incremento alguno en la temperatura. El hallazgo se vuelve más significativo, si se toma en cuenta que las dosis de campos magnético utilizados en nuestros experimentos fueron muy similares a las que podríamos estar expuestos ambientalmente en ciudades industrializadas.

Por otra parte, también probamos el mismo tratamiento magnético, pero ahora en células INER-37 (proporcionadas por el Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias, México y que son líneas tumorales de cáncer broncogénico) y en células RMA E7 que son de linfoma de ratón. En este caso, el resultado fue variable, ya que se encontró que los CEM incrementaron la expresión génica por activación del promotor de hsp70, pero no así en las células de la línea RMA E7. (Heredia-Rojas y cols., 2010). Estos hallazgos nos hacen proponer la hipótesis de que la activación de la expresión génica depende de otros factores no probados en nuestros bioensayos, y que el proceso es complejo.

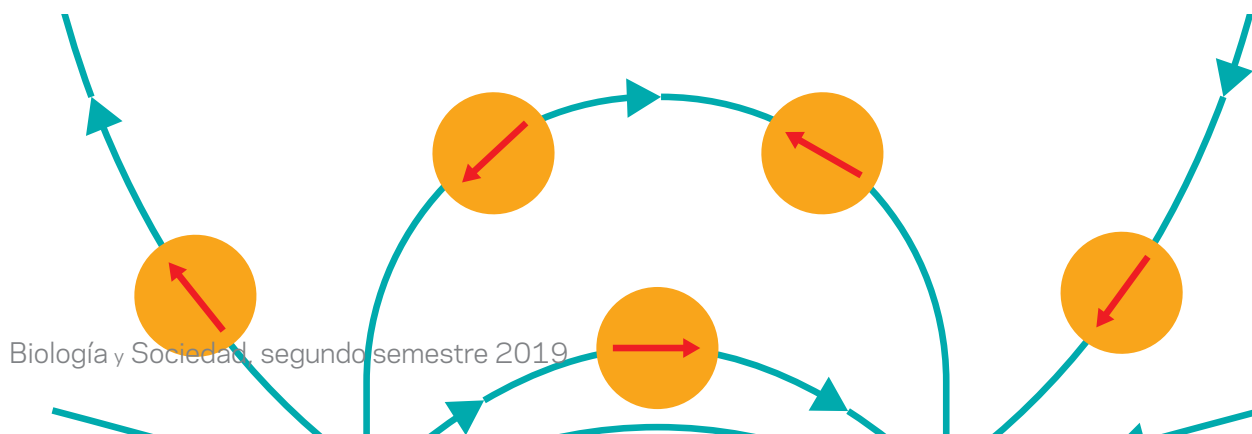
Posteriormente, trasladamos este modelo, pero ahora a condiciones *in vivo*. El vector de respuesta a CEM fue ahora electro-transfectado a músculo

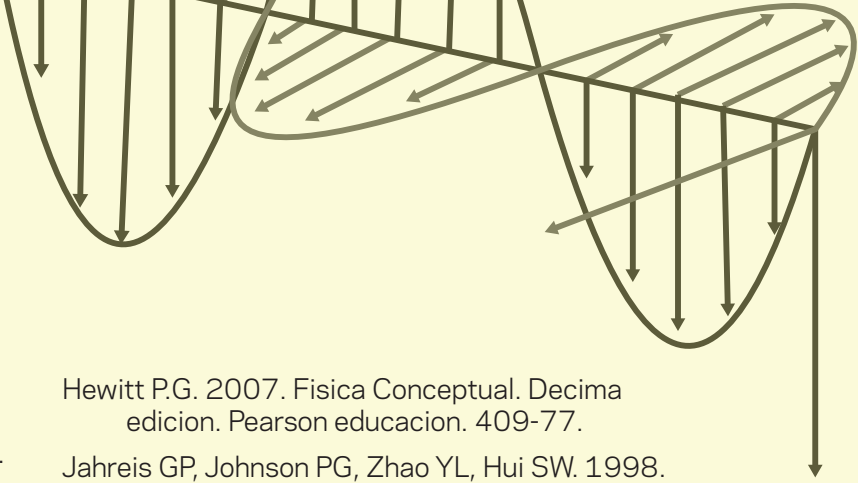
cuadriceps de ratones BALB/c que posteriormente fueron sometidos a la misma intensidad de tratamiento magnético que se usó en el caso de las células anteriormente mencionadas. Se observó un incremento significativo en la expresión del gen de la luciferasa en los animales expuestos a los CEM (Rodríguez de la Fuente y cols., 2010).

Todos estos datos sugieren que la exposición a CEM debe ser considerada al evaluar los riesgos potenciales que puedan tener estas radiaciones electromagnéticas no ionizantes. Aunque si bien, estas exposiciones tienen una muy poca cantidad de energía, comparadas con otras del espectro electromagnético, ha quedado evidenciado por nuestros resultados, y los de otros muchos investigadores, que sí son capaces de alterar algunos mecanismos de expresión génica.

CONCLUSIÓN

Se ha generado una gran cantidad de investigaciones sobre los efectos de los CEM en la expresión génica. Sin embargo, los resultados no han indicado una respuesta definitiva. Esto puede ser debido, entre otras cosas, a que en las investigaciones realizadas se han utilizado condiciones experimentales muy variadas, las que no llegan a ser reportadas o tomadas en cuenta por el investigador, dando lugar a resultados contrastantes. Por otra parte, los resultados obtenidos acerca del efecto de los CEM sobre la activación de la expresión de hsp70, pueden ser utilizados también como una alternativa para terapia génica; regulando la expresión de genes de importancia terapéutica tomando como base la presencia de los elementos de respuesta del promotor de HSP70 que son sensibles al magnetismo.





LITERATURA CITADA

- Alonso M., Rojo O. 1987. Física: campos y ondas. Addison-Wesley. Pag 288-93.
- Balcer-Kubiczek EK, Zhang XF, Harrison GH, McCready WA, Shi ZM, Han LH, Abraham JM, Ampey LL 3rd, Meltzer SJ, Jacobs MC, Davis CC. 1996. Rodent cell transformation and immediate early gene expression following 60-Hz magnetic field exposure. *Environ Health Perspect.* 104(11):1188-98
- Cairo P, Greenebaum B, Goodman .1998. Magnetic field exposure enhances mRNA expression of sigma 32 in E. coli. *J Cell Biochem.* 68(1):1-7.
- Campbell-Beachler M, Ishida-Jones T, Haggren W, Phillips JL. 1998. Effect of 60 Hz magnetic field exposure on c-fos expression in stimulated PC12 cells. *Mol Cell Biochem.* 189(1-2):107-11.
- Carrasco-Páeza L, Martínez-Díaz IC, De Hoyo Lorac M, Sañudo-Corrales B. 2009. Proteínas de estrés: respuestas y funciones de HSP70 en el músculo esquelético durante el ejercicio físico. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte.* 2(4):109-49.
- Galar-Castelan I. 1998. Electricidad y Magnetismo. Editorial Limusa . 1ª. Edición. Mex., pp. 223-37.
- Han J, Moussavi Z, Szturm T, Goodman V.1998. Application of nonlinear dynamics to human postural control system. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 7:6885-8.
- Han L, Lin H, Head M, Jin M, Blank M, Goodman R. 1998. Application of magnetic field-induced heat shock protein 70 for presurgical cytoprotection. *J Cell Biochem.* 71(4):577-83.
- Heredia-Rojas JA1, Rodríguez de la Fuente AO, Alcocer González JM, Rodríguez-Flores LE, Rodríguez-Padilla C, Santoyo-Stephano MA, Castañeda-Garza E, Taméz-Guerra RS. 2010. Effect of 60 Hz magnetic fields on the activation of hsp70 promoter in cultured INER-37 and RMA E7 cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 46(9):758-63
- Hewitt, P.G. 1998. Física Conceptual. Addison Wesley Logman de Mexico. Pag 559.
- Hewitt P.G. 2007. Física Conceptual. Decima edicion. Pearson educacion. 409-77.
- Jahreis GP, Johnson PG, Zhao YL, Hui SW. 1998. Absence of 60-Hz, 0.1-mT magnetic field-induced changes in oncogene transcription rates or levels in CEM-CM3 cells. *Biochim Biophys Acta.* 1443(3):334-42.
- Kim, S. S., Shin, H. J., Eom, D. W., Huh, J. R., Woo, Y., Kim, H., Ryu S.H., Suh PG, Kim JY, Koo, T. W. 2002. Enhanced expression of neuronal nitric oxide synthase and phospholipase C- γ 1 in regenerating murine neuronal cells by pulsed electromagnetic field. *Experimental & molecular medicine,* 34(1), 53.
- Libertin CR, Panozzo J, Groh KR, Chang-Liu CM, Schreck S, Woloschak GE. 1994. Effects of gamma rays, ultraviolet radiation, sunlight, microwaves and electromagnetic fields on gene expression mediated by human immunodeficiency virus promoter. *Radiat Res.* 140(1):91-6.
- Lin H, Han L, Blank M, Head M, Goodman R. 1998. Magnetic field activation of protein-DNA binding. *J Cell Biochem.* 70(3):297-303.
- Lin H, Blank M, Goodman R. 1999. A magnetic field-responsive domain in the human HSP70 promoter. *J Cell Biochem.* 75(1):170-6.
- Lin H, Blank M, Rossol-Haseroth K, Goodman R. 2001. Regulating genes with electromagnetic response elements. *J Cell Biochem.* 81(1):143-8.
- Lin H, Opler M, Head M, Blank M, Goodman R. 1997. Electromagnetic field exposure induces rapid, transitory heat shock factor activation in human cells. *J Cell Biochem.* 15;66(4):482-8.
- Lin J.C. 1994. Advances in electromagnetic fields in living systems. Plenum Press, New York. pp 16,17,130, 149.
- Loberg LI, Gauger JR, Buthod JL, Engdahl WR, McCormick DL. 1999. Gene expression in human breast epithelial cells exposed to 60 Hz magnetic fields. *Carcinogenesis.* 20(8):1633-6.



- Miller SC, Haberer J, Venkatachalam U, Furniss MJ. 1999. NF-kappaB or AP-1-dependent reporter gene expression is not altered in human U937 cells exposed to power-line frequency magnetic fields. *Radiat Res.* 151(3):310-8.
- Miyakawa T, Yamada S, Harada S, Ishimori T, Yamamoto H, Hosono R. 2001. Exposure of *Caenorhabditis elegans* to extremely low frequency high magnetic fields induces stress responses. *Bioelectromagnetics.* 22(5):333-9.
- Moraes F and Góes A. 2016. A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 44: 215-223. doi:10.1002/bmb.20952
- Morehouse CA, Owen RD. 2000. Exposure to low-frequency electromagnetic fields does not alter HSP70 expression or HSF-HSE binding in HL60 cells. *Radiat Res.* 153(5 Pt 2):658-62.
- Pilla AA. 2002. Low-intensity electromagnetic and mechanical modulation of bone growth and repair: are they equivalent? *J Orthop Sci.* 7(3):420-8.
- Pipkin JL, Hinson WG, Young JF, Rowland KL, Shaddock JG, Tolleson WH, Duffy PH, Casciano DA. 1999. Induction of stress proteins by electromagnetic fields in cultured HL-60 cells. *Bioelectromagnetics.* 20(6):347-57.
- Rodríguez-de la Fuente AO, Alcocer-González JM, Antonio Heredia-Rojas J, Balderas-Candanosa I, Rodríguez-Flores LE, Rodríguez-Padilla C, Taméz-Guerra RS. 2009. Effect of 60 Hz electromagnetic fields on the activity of hsp70 promoter: an in vitro study. *Cell Biol Int.* 33(3):419-23.
- Rodríguez-De la Fuente AO, Alcocer-González JM, Heredia-Rojas JA, Rodríguez-Padilla C, Rodríguez-Flores LE, Santoyo-Stephano MA, Castañeda-Garza E, Taméz-Guerra RS. 2010. Effect of 60 Hz electromagnetic fields on the activity of hsp70 promoter: an in vivo study. *Cell Biol Int Rep.* 26;19(1): e00014.
- Rodríguez-De la Fuente A.O., Heredia-Rojas J.A., Alcocer-González J.M., Rodríguez-Flores L.E., Rodríguez-Padilla C., Taméz-Guerra R.S. 2017. Promoter Activation with Electromagnetism. In: Gould D. (eds) *Mammalian Synthetic Promoters. Methods in Molecular Biology*, vol 1651. Humana Press, New York, NY
- Romano-Spica V, Mucci N, Ursini CL, Ianni A, Bhat NK. 2000. Ets1 oncogene induction by ELF-modulated 50 MHz radiofrequency electromagnetic field. *Bioelectromagnetics.* 21(1):8-18.
- Saffer JD, Thurston SJ. 1995. Short exposures to 60 Hz magnetic fields do not alter MYC expression in HL60 or Daudi cells. *Radiat Res.* 144(1):18-25.
- Strasák L, Vetterl V, Smarda J. 2002. Effects of low-frequency magnetic fields on bacteria *Escherichia coli*. *Bioelectrochemistry.* 55(1-2):161-4.
- Tenforde T.S. 1991. ELF (extremely-low-frequency) field interactions at the animal, tissue and cellular levels. *Electromagnetics in biology and medicine.* 39:225-245.
- Tian F, Nakahara T, Wake K, Taki M, Miyakoshi J. 2002. Exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields induces hsp70 at a high SAR of more than 20 W/kg but not at 5W/kg in human glioma MO54 cells. *Int J Radiat Biol.* 78(5):433-40.
- Trosko JE. 2000. Human health consequences of environmentally-modulated gene expression: potential roles of ELF-EMF induced epigenetic versus mutagenic mechanisms of disease. *Bioelectromagnetics.* 21(5):402-406.
- Tsuchiya K, Okuno K, Ano T, Tanaka K, Takahashi H, Shoda M. 1999. High magnetic field enhances stationary phase-specific transcription activity of *Escherichia coli*. *Bioelectrochem Bioenerg.* 48(2):383-7.
- Tuinstra R, Goodman E, Greenebaum B. 1998. Protein kinase C activity following exposure to magnetic field and phorbol ester. *Bioelectromagnetics.* 19(8):469-76.