

1.- INTRODUCCIÓN HISTÓRICA

1.1. ESTUDIO Y DESCRIPCIÓN DE LA GLÁNDULA PINEAL

La historia de las investigaciones en torno a la glándula pineal o “epiphysis cerebri” ha evolucionado, durante más de veinte siglos, de forma pareja a las principales ideas de la ciencia médica que, a menudo, se han visto sometidas a la influencia de concepciones filosóficas o religiosas.

Ya en las primeras civilizaciones orientales se consideraba la existencia de un “tercer ojo”, que posibilitaría un conocimiento superior. El egiptólogo alemán Karl Richard Lepsius, continuador de la labor del arqueólogo francés Champollion, destaca en su Libro Oculto de la Morada (1842) que el ojo místico evocado por los egipcios, también llamado “ojo de Horus” o “udjat”, concedía al iniciado clarividencia, la visión directa de lo invisible, el vasto dominio donde quedan impresos los sucesos del pasado y donde se elaboraba el porvenir universal. Los egipcios representaban a este “tercer ojo” como el extremo de un tentáculo saliendo de la cabeza, capaz de explorar las relaciones del hombre, símbolo del microcosmos, con el universo, símbolo del macrocosmos.

Entre los tibetanos el llamado “Hdab-ston” es el centro de convergencia de la energía inconsciente y el punto de proyección hacia la consciencia cósmica, equivalente en la filosofía hindú al sistema formado por los chacras del Kundalini-Yoga. El sexto chacra está situado simbólicamente entre las dos cejas, como muestra la amplia iconografía de Buda y Shiva, y es centro de concentración y meditación. Existe en la India, dentro de la disciplina del yoga, la escuela de Radosoami de Beas, que imparte el yoni-mudra para despertar, sin opresión ocular, el chacra pineal, técnica que se remonta a los orígenes de la cultura hindú.

En lo que refiere a la cultura occidental, Kappers (1979), considera que la historia de la investigación de la pineal puede dividirse en tres períodos: el primero comprende, desde tres siglos antes de nuestra Era hasta

mediados del siglo XIX, una época caracterizada por la fuerte influencia de los sistemas filosóficos y de la tradición, así como por la falta de experiencia personal y de métodos de investigación.

El segundo período abarcaría hasta la mitad del siglo XX, marcado por un gran interés por la glándula pineal, junto con el gran desarrollo de la Anatomía y el descubrimiento de los órganos endocrinos.

El tercer período que llega hasta nuestros días se destaca por los avances en el conocimiento de los aspectos bioquímicos y farmacológicos de la glándula pineal.

En los primeros postulados sobre la actividad cerebral, Anaximandro (560 a.C.) estableció el cerebro como receptáculo del alma. Aristóteles (384-322 a.C.) establece la existencia en los ventrículos laterales del cerebro de la “phantasia”, en el III ventrículo la “anamnesis” y en la parte caudal del IV ventrículo la “mneme”.

Es el famoso anatomista de la universidad de Alejandría, Herófilo (325-280 a.C.), el primer autor que menciona la pineal. Fue discípulo de Praxágoras, y continuó la obra de éste en los campos de la fisiología y la anatomía, sobretodo del sistema nervioso. Según dicho autor, fiel seguidor de la teoría humoral, la pineal permite regular la cantidad de “Pneuma” que pasa del III al IV ventrículo. Erasístratos (310-250 a.C.) defendía que en los ventrículos el pneuma zoticon (spiritus vitalis de los romanos), procedente del corazón, se trasformaba en pneuma psychion (spiritus animalis) que era el substrato del conocimiento.

Pasan cerca de cinco siglos hasta que Galeno de Pergamon (130-200 d.C.), figura suprema de la medicina antigua junto con Hipócrates, ofrece nuevos estudios de la pineal basados en la anatomía de los animales. Llama a la epífisis “konarion”, ya que en algunos mamíferos tiene forma de piña. Este término se latinizará a “conarium” y persistirá en nuestros

días en referencia a los nervios conarios (*nervi conari*). Galeno niega la función que Herófilo atribuye a la pineal, ya que la describe fuera del sistema ventricular cerebral y al observar la importante relación topográfica vascular sostiene que la epífisis se trata de una glándula linfática.

Durante la Edad Media, la Escolástica mantiene la teoría humoral aristotélica.

Desde el siglo XV en adelante, se habla de una "nueva era", ya que el Renacimiento supone una nueva perspectiva sobre muchos aspectos de la vida, renovación que afecta también a la Medicina, la Anatomía y la Fisiología.

Berengario da Carpi (1470-1530) es el primero en examinar la pineal del hombre cuidadosamente y compararla con la de otras especies.

Andreas Vesalius (1514-1564), discípulo de Sylvius, en su famoso De Humani Corporis Fabrica, Libri Septem, impreso en Basilea en 1543 e ilustrado por la escuela de Tiziano, muestra el órgano de una forma mucho más moderna. Describe la topografía y consistencia de la glándula pineal, pero no afirma sobre su posible función.

René Descartes (1596-1650) es conocido por considerar la epífisis como el asiento del alma ya que es la única parte del encéfalo impar. La localización del alma es motivo frecuente de discusión en esta época entre filósofos y científicos. En su libro De Homine considera que la epífisis, al estar situada en el centro geométrico del encéfalo, sería el instrumento destinado a coordinar las imágenes obtenidas por los órganos sensoriales pares y capaz de regular la distribución del *spiritus animalis* que, según Descartes, constituía el principio psíquico y somático activador. Este *spiritus animalis* llegaría a los músculos a través de los nervios, que considera huecos. Es el primero en apuntar el papel de

receptor e integrador de los estímulos de la pineal, se adelanta al concepto de transductor neuroendocrino. La teoría cartesiana se basa en el conocimiento profundo de la geometría y la mecánica y en concepciones psicoanatómicas de más de dos mil años.

Estas ideas son refutadas por Niel Steensen (1638-1686) en su Discours sur l'Anatomie du Cerveau, donde describe a la glándula pineal en una posición dorsal y fijada por las meninges.

El inicio de la segunda era en la investigación de la pineal se caracteriza por un renovado y sistemático interés en Anatomía comparada, Histología y Embriología. Después del descubrimiento de los órganos endocrinos por Claude Bernard (1813-1878) y Brown-Séguard (1817-1894) se consideró a la pineal como sería candidata a la producción hormonal. Heubner en 1898 describe a un chico con signos de pubertad precoz y que presenta un pinealoma. Bardasano (1978); Kappers (1979) y Martínez Soriano (1987).

A principios de siglo se realizan una serie de comunicaciones anatómicas por parte de Hill (1900), Cameron (1903) y Studnicka (1905), citadas por Spiroff (1958), González y García Hidalgo (1966), Campbell y Gibson (1970), Boya y Zamorano (1975), Didio y cols. (1978) y Kappers (1979), que proporcionan importante información sobre la Anatomía básica de la glándula pineal del embrión de pollo. Se destaca su similitud con el “tercer ojo” u órgano epifisario fotosensorial de los vertebrados inferiores. La epífisis de anfibios y reptiles es un órgano fotosensor y homólogo a la glándula pineal de los mamíferos. La regresión filogenética es evidente según estos autores, el órgano es un vestigio en los mamíferos.

Marburg en 1907 gesta el término de “pubertas praecox” o “genitosomia praecox” para el síndrome caracterizado por el desarrollo precoz de los caracteres sexuales primarios y secundarios, asociado a un tumor de la región pineal que aparece preferentemente en varones. Describe a la

pineal como una glándula endocrina que en los jóvenes puede ejercer influencia inhibitoria de la función hipotalámica y del desarrollo de los órganos reproductores. El hiperpinealismo causaría un excesivo enlentecimiento y desarrollo incompleto de las gónadas con adiposis general como consecuencia secundaria (Kappers, 1979).

En 1919 Tilney y Warren realizan un estudio comparativo de la Anatomía e Histología de los órganos pineales en vertebrados. Describen la pineal del embrión de pollo como un cono un poco aplanado o estructura cilíndrica folículo-glandular, aproximadamente de 2,5 x 1,5 mm, de diámetro. Está conectada por un tallo, muchas veces sólido, al techo del diencefalo entre la comisura habenular y la comisura posterior, opuesto al "recessus pinealis". Histológicamente la glándula está compuesta por células cilíndricas grandes en disposición radial y células pequeñas entre los cordones de células grandes (Spiroff, 1958 y Boya y Zamorano, 1975).

En 1942, Romieu y Jullien describen la estructura de la glándula pineal del *Gallus domesticus* durante el período de posteclosión, describen las vesículas y discuten su significado.(Quay 1966^b; González y García Hidalgo, 1966; Campbell y Gibson, 1970; Calvo y Boya, 1978 y Didio y cols., 1978).

En un importante y valioso trabajo, Bargmann (1943), describe la Anatomía e Histología de la pineal de todos los vertebrados, haciendo especial hincapié en la relación que existe entre su estructura microscópica en mamíferos y las condiciones internas y externas. Sin conocer factores externos que afecten a la estructura pineal, destaca la necesidad de investigar la influencia de la luz. Es también, el primero en realizar un extenso trabajo endocrinológico sobre la pineal de los vertebrados. En su opinión, el órgano podría regular la función hipotalámica, pero esta regulación no tiene que ser necesariamente hormonal, podría ser de naturaleza nerviosa, sugiere que el camino

neuronal podría existir entre la pineal y el hipotálamo. Bargmann en un estudio anatómico comparativo, justifica que filogenéticamente, el órgano cambia de ser fotoreceptor a secretor, las células fotosensoriales pierden sus organelas receptoras y se desarrollan hacia pinealocitos mamíferos. En los no mamíferos, las células fotosensoriales también podrían tener productos secretores en el interior del fluido cerebroespinal. En estadios filogenéticos posteriores, los productos secretores de un órgano más compacto y vascularizado alcanzarían el sistema sanguíneo. Aparentemente, Bargmann considera ambas funciones neural y hormonal en la glándula pineal de los mamíferos (Citado por Kappers, 1979).

En 1946, Ward realiza la tesis doctoral en la Universidad de California con el título de The development of the pineal body in the chick, donde describe la evaginación en el techo del diencéfalo a las 48 horas de incubación y su morfología durante el desarrollo. Encuentra una gran variabilidad individual en el desarrollo del cuerpo pineal del pollo.

Aún en nuestros días se utiliza como punto de referencia, el calendario cronológico de las distintas etapas evolutivas del embrión de pollo que realizan en 1951 Hamburger y Hamilton.

Vemos que en la primera mitad del siglo XX se conoce la evolución filogenética de la pineal y se supone la influencia antigonadotrópica así como la relación entre el hipotálamo y la pituitaria sin que lleguen a ser probadas.

En la segunda mitad del siglo XX empieza un nuevo período en la investigación de la pineal que llega al presente y establece las bases para su estudio en el futuro. El número de trabajos aumenta de forma exponencial favorecido por el mayor conocimiento y las relaciones multidisciplinarias entre los investigadores.

En 1958 Aaron B. Lerner y sus colaboradores de la *Yale University School of Medicine*, identifica la melatonina (5-metoxi-N-acetil-triptamina), en extractos de glándula pineal de bóvidos. La raíz etimológica proviene del griego *melas*: oscuro y *tonein*: supresión. Describe que su precursor es la serotonina, catalizada por la enzima hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT), que blanquea la piel de la rana (Wurtman y Axelrod, 1965).

Boris Spiroff, en el mismo 1958, describe el desarrollo embrionario y post-eclosión de la pineal del pollo. La sitúa entre los hemisferios cerebrales y el cerebelo, con un cuerpo cónico con vértice ventral. Aparece como una evaginación del techo del diencefalo a las 48 horas. A las 78 horas el ápex se dirige anteriormente. La formación de vesículas primarias en el extremo distal, se produce a las 90 horas, no se observa continuidad entre la luz de las vesículas y el receso pineal. Las vesículas están separadas por tejido conectivo laxo, como el número de dichas vesículas va aumentando, éstas contactan unas con otras y la glándula tiene una apariencia compacta al 16º día de incubación. Debido al aumento de los hemisferios cerebrales y del cerebelo, se produce un cambio en la dirección del eje longitudinal de la pineal, anteroposterior el día 13 y dorso-ventral el 18. También se observa un cambio en la forma que pasa de oval a piramidal. Spiroff describe que la conexión con el III ventrículo puede cerrarse a los 13 días, pero puede hacerlo a los 3 meses posteclosión.

Kappers en 1960 demuestra que aunque la pineal se origina en el cerebro, poco después del nacimiento pierde todas las conexiones nerviosas con él y que en la pineal de rata adulta penetran nervios simpáticos procedentes del ganglio cervical superior (Wurtman y Axelrod, 1965). Ésta conexión simpática también la describe Stamer en 1961 en la pineal de las aves (Calvo y Boya, 1979).

En 1963 se celebra en Amsterdam el primer simposio sobre la glándula pineal, donde se establece claramente que la pineal no es un solo órgano, sino al menos dos. Dentro de los vertebrados, la pineal podría ser una estructura fotorreceptora o una estructura secretora completamente diferente; desde las pineales fotorreceptoras a las secretoras habría habido una extraordinaria evolución, y aunque aún no se sabe si es que la célula fotorreceptora evolucionó específicamente hasta la secretora, o es que hay dos tipos de células a lo largo de la filogenia, lo que sí es seguro es que los órganos pineales no pueden ser clasificados automáticamente como glándulas. En segundo lugar, gracias a los estudios de Kappers, se llega a la conclusión de que, pese a que la pineal de los mamíferos se origina embriológicamente como parte del cerebro y está conectada a él mediante un tallo o pedúnculo, en los mamíferos adultos en realidad no forma parte del encéfalo, sino que recibe su única aferencia neuronal del sistema nervioso autónomo periférico.

Un momento muy importante en la historia de la investigación sobre la pineal, es el del descubrimiento de su relación con la periodicidad luz/oscuridad, el ritmo circadiano, la función pineal y la capacidad de reproducción, en estudios realizados por Wurtman y Axelrod, Quay , Reiter y otros, en la década de los sesenta. La prolongación de los períodos diarios con luz o con iluminación continua causan un aumento del peso de los ovarios de la rata, al igual que una disminución del contenido de serotonina y el peso de la pineal. Este efecto ocurre sólo si los nervios ópticos se encuentran intactos. La prolongación de la fase de oscuridad conlleva los efectos contrarios. De estos experimentos se puede concluir que, en general, largos períodos de oscuridad o ceguera estimulan la función de la glándula pineal, mientras se inhibe la función de los órganos sexuales. Por otro lado, en los largos períodos de iluminación ambiental la función pineal aparece inhibida y los órganos sexuales son estimulados.

También en ésta época se descubre la relación entre fotoperiodicidad y el contenido pineal de indolaminas de las enzimas implicados en la biosíntesis de melatonina. Quay y Renzoni en 1963, fueron los primeros en demostrar un ritmo circadiano de la serotonina de la pineal de rata, que es modificado por el ciclo estrogénico y por el fotoperíodo. Este ritmo persiste cuando las ratas están en oscuridad o ceguera permanente, pero la iluminación constante inhibe el ritmo circadiano de serotonina que también es suprimido por la ganglionectomía superior bilateral, la desaferenciación de los ganglios y la depleción de la serotonina y noradrenalina cerebrales. El ciclo de la melatonina se produce de forma inversa al de la serotonina.

En 1965, Quay, hace una detallada revisión de los conocimientos de la pineal en mamíferos y aves, incluyendo observaciones originales sobre su estructura. Algunas especies de aves presentan conjuntos de células ependimales o sus derivados, con un sistema de luces centrales. Describe el carácter secretor de algunas de sus células mesenquimales, las de situación más cercana a los vasos sanguíneos.

Siguiendo en el mismo año, Wurtman y Axelrod, publican una revisión sobre la estructura y función de la pineal. Postulan que la melatonina es una hormona de mamíferos, que se produce únicamente en la pineal, se secreta al torrente sanguíneo y tiene su efecto en órganos diana distantes como la vagina y los ovarios, sin poder identificar el lugar preciso de acción de ésta. Relacionan la fisiología de la pineal con la luminosidad.

Quay en 1966^a, establece que el metabolismo de las indolaminas de la pineal de aves y mamíferos, varía con los períodos de luz-oscuridad. La información luminosa es recibida por la retina y transmitida a la epífisis, la cual sintetiza una hormona, la melatonina, que aumenta durante la noche. La función de la epífisis en los mamíferos de reproducción estacional, consiste en sincronizar su actividad sexual con el fotoperíodo. El

fotoperíodo influye sobre el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal y controla la atrofia de las gónadas durante el invierno por un incremento de melatonina. En la estación reproductiva, la epíffisis sintetiza quizás también otros factores que con la melatonina, son inhibidores de las gónadas por bloqueo de las hormonas gonadotropas. Los fotorreceptores están en la retina. Su información se lleva desde los ojos a lo largo de una vía nerviosa que comprende las fibras retino-hipotalámicas, los núcleos supraquiasmáticos, las fibras hipotálamoespinales y de aquí, a través del sistema nervioso simpático y pasando por el ganglio simpático cervical, llega a la pineal. La interrupción de esa vía, corta la conexión entre el fotoperíodo y la función pineal.

Beattie y Glenny (1966), describen aspectos histoquímicos y de la vascularización de la glándula pineal en el primer año de vida en pollo. La vascularización corre a cargo de la arteria meníngea posterior. La red pineal está formada por finos vasos primarios que al penetrar en la glándula por sus porciones anterior y posterior, ascienden, formando la "rete pinealis" y otros vasos secundarios el "cor secretorium", que tienden a subdividir al parénquima en lóbulos.

González y García Hidalgo (1966), estudian la ultraestructura de la glándula pineal de pollos de dos meses de edad. Evidencian algunas similitudes con la pineal de los mamíferos. Describen tres tipos de células epifisarias: 1) Células de tipo A, de localización perivascular y distribución regular en toda la epíffisis, tienen un núcleo oscuro irregular con un nucleolo poco organizado y de límites difusos, citoplasma denso con rico retículo endoplásmico granular y agranular, de intensa actividad metabólica. 2) Células tipo B, con un núcleo irregular más claro que el de las A, nucleolo prominente y citoplasma con escaso retículo endoplásmico indicativo de una menor actividad metabólica. 3) Células tipo C, o células claras, menos frecuentes, con poca actividad metabólica, poseen un núcleo ovalado, uno o dos nucleolos y de citoplasma escaso. Además

apuntan la riqueza de inervación vegetativa adrenérgica, estructuras pseudolisosómicas polimórficas de carácter secretor, restos degenerados de segmentos externos de células fotorreceptoras y numerosas formaciones capilares.

Quay y Renzoni (1966), en un estudio con roedores, establecen el tamaño del núcleo y nucleolos del pinealocito. Describen un pico de actividad mitótica al mediodía y un punto de baja actividad en la noche. Los mismos autores en 1967 en un estudio de pineales de 54 especies de aves, describen su estructura y relaciones, en un plano sagital medio hay continuidad entre el parénquima pineal y las células endodimales del receso y el III ventrículo.

En 1968, Gaston y Menaker, descubren que la glándula pineal es necesaria para el normal funcionamiento del patrón circadiano de la actividad locomotora en el gorrión doméstico, sugieren que la pineal es un posible marcapasos circadiano, resultado verificado en otras especies de aves. (Binkley, 1982).

Bischoff en 1969 describe, mediante microscopía electrónica de transmisión, los tipos celulares de la glándula pineal de codorniz y de pollo "White Leghorn" adulto, que corresponden a células endodimales ciliadas, células secretoras y células fotorreceptoras.

Campbell y Gibson (1970), realizan un importante estudio histológico e histoquímico del desarrollo de la glándula pineal en el *Gallus domesticus*, desde el tercer día de incubación hasta la eclosión y a distintas edades posteclosión. Incluyen una detallada descripción celular de cada una de las etapas. Calculan el porcentaje de área glandular que ocupan las vesículas desde el séptimo día de incubación hasta 1 mes posteclosión. Del día 7 al 11 de incubación, decrece éste porcentaje, no por disminución del número y talla de las vesículas, sino por que el tejido conectivo estromal se desarrolla mucho, e incrementa el área total de la

glándula separando las vesículas. De los días 11 al 18 de incubación, hay un rápido incremento del área vesicular.

Ralph (1970), publica una revisión sobre las descripciones morfológicas y funcionales atribuidas hasta el momento a la pineal de las aves. Su morfología es variada en las distintas especies. Durante el desarrollo, la pineal de las aves maduras muestra curiosas aceleraciones de crecimiento y sufre considerables modificaciones citológicas. Algunos de estos cambios coinciden con el comienzo de la función sexual, pero otros no están relacionados con ella. Un trazo común es su forma folicular, su aspecto glandular en el joven y su transformación a más compacta y su aspecto de cuerpo inactivo en el adulto.

En 1971, se celebra el Simposio CIBA con una amplia representación de estudios de endocrinología pineal. Se demuestra que la melatonina produce un aumento de la serotonina cerebral en ciertas regiones y que la pinealectomía causa una disminución. Se comunica que la melatonina produce un aumento de sensibilidad del encéfalo frente a los barbitúricos, y la pinealectomía puede disminuir su letalidad. La pinealectomía puede causar la ovulación en animales con lesiones supraquiasmáticas. La melatonina puede bloquear la ovulación en animales normales.

Siguiendo en 1971, Wight estudia el desarrollo de la inervación simpática de la pineal de las aves domésticas; a los veinte días de incubación sólo se encuentran unos pocos nervios en la cápsula. Es después de la eclosión cuando las fibras colinérgicas y adrenérgicas, invaden progresivamente la glándula.

Lynch, 1971, observa en aves de corral y codorniz el mismo ritmo circadiano de serotonina y melatonina que encontraba Quay en ratas (1963, 1964). Este ritmo está muy relacionado con la actividad de NAT (serotonina N-acetil transferasa), enzima implicada en la síntesis de melatonina, se demuestra que sigue un ciclo desfasado 180° respecto al

de la serotonina. Éste ritmo se puede invertir alterando la luz ambiental, denervando el ganglio cervical superior así como con iluminación continua, pero no por oscuridad continua o ceguera (citado por Kappers, 1979).

La regulación enzimática pineal de la síntesis de melatonina se confirma en 1973 por Binkley y cols., en *Gallus domesticus*, White Leghorn, de ocho semanas. Observan niveles nocturnos de melatonina diez veces superiores a los diurnos y que la actividad de la N-acetil transferasa es 27 veces superior.

Ralph y cols. (1975), observan en *Gallus domesticus*, White Leghorn, el ritmo de síntesis de melatonina y comprueban, al igual que Klein, que provocando ceguera no se altera dicho ritmo.

Boya y Zamorano (1975), describen la ultraestructura de la glándula pineal del pollo *Gallus gallus* delimitando dos zonas distintas: la folicular, formada por células pineales A y B y la parafolicular, rodeando los folículos, formada por los dos tipos celulares y fibras nerviosas.

En 1976, Doskocil, calcula áreas en cortes seriados de glándula pineal de pollo y afirma que el crecimiento no es regular.

Pevet y Collin (1976), observan la pineal de mamíferos en estadios precoces y en adultos, describen que los pinealocitos provienen de células fotorreceptoras secretoras rudimentarias. Debido a este origen neuroectodérmico y secretor, el pinealocito no es una neurona y en este sentido, es distinto a la célula neurosecretora hipotalámica.

El mismo autor al año siguiente, realiza una revisión de las células presentes en la pineal de los mamíferos. Describe dos poblaciones diferentes de pinealocitos con un proceso secretor específico para cada una de ellas.

Omura en 1977, estudiando el desarrollo embrionario del pollo "Brown Leghorn", muestra que hay actividad secretora desde los estadios embriológicos hasta el adulto.

Los prolíficos científicos Calvo y Boya (1978), realizan un estudio del desarrollo embrionario de la glándula pineal del embrión de pollo. Según dichos autores, el momento de aparición del esbozo pineal, en el techo del tercer ventrículo es al tercer día. La mayor parte del parénquima pineal deriva de la pared frontal del esbozo. Las vesículas y folículos se forman por proyecciones mamiliformes sólidas, que a los 4 días presentarán una luz central. A los 5 días existen proyecciones mamiliformes con una disposición en rosetas, sin luz central. A los 6 días se inicia la formación de luz en las prolongaciones mamilares y se convierten en vesículas, en la porción frontal del esbozo. A estas vesículas se las denomina primarias según Spiroff (1958), también se describen las secundarias y terciarias. No se observa comunicación entre las cavidades vesiculares y el receso pineal. Hasta los 11-12 días, cuando se produce el mayor índice de crecimiento, observan una capa folicular, compuestas de células columnares con núcleo ovoideo, orientadas radialmente alrededor de la luz y una capa parafolicular, formada por pequeñas células de núcleo esférico, situadas entre la capa folicular y la membrana basal. La vascularización aparece a los 5 días de incubación. Entre los días 19 y 21 la glándula posee forma triangular con los vértices inferiores situados entre los hemisferios y el cerebelo. El vértice se sitúa dorsalmente en la región ocupada por los plexos coroideos.

Los mismos autores, el mismo año, en un nuevo artículo estudian la evolución de la pineal después del nacimiento. Describen la desaparición progresiva de la luz folicular. El parénquima se organiza en nidos celulares separados por gruesas zonas ricas en fibras colágenas. En el primer mes aparece el tejido linfoide. Si bien en las primeras fases

embrionarias la pineal del pollo se asemeja a la de las aves inferiores, la del pollo adulto, lo hace a la de los mamíferos.

Didio y cols. (1978), estudian la pineal de pollos "White Leghorn" de 5 días, describen pinealocitos y células neurogliales.

Binkley (1979), nos dice que la actividad de N-acetil transferasa es alta durante la noche (en distintas especies) y que ello puede dar información distinta a cada especie. Considera que la pineal junto al hipotálamo, la glándula pituitaria y la glándula adrenal son las reguladoras del reloj biológico de los vertebrados.

Brammer y Binkley comprueban en 1979 que la glándula pineal de *Gallus domesticus* posee un ritmo circadiano de síntesis de melatonina, debido a la actividad de la N-acetil transferasa.

Los trabajos realizados en 1979^{a,b,c} por Calvo y Boya, desarrollan un estudio de la pineal del pollo por microscopía electrónica. Denominan pinealoblastos a las células indiferenciadas del esbozo primitivo pineal. Confirman las capas folicular y parafolicular con los pinealocitos A y B. También identifican lisosomas en los pinealocitos B. Realizan una descripción de la evolución de la innervación, las primeras fibras nerviosas se observan a los 17 días de desarrollo. A los 19 ya se hallan en la capa parafolicular. En los estudios en glándulas de pollo adulto no observan ningún proceso degenerativo.

Vollrath (1979), describe a la pineal como un órgano complejo y plantea la subdivisión en región medular y cortical.

Se publica en 1979 el importante estudio histórico y de revisión de la pineal, llevado a cabo por el holandés J. Ariëns Kappers. Divide los campos de investigación en citología, innervación, bioquímica, histoquímica y endocrinología. Sugiere que el pinealocito de los mamíferos deriva

filogenéticamente de la célula fotorreceptora de los no mamíferos. La inervación varía a medida que se avanza en la escala filogenética. En especies inferiores es pinealofugal a expensas de células fotorreceptoras y en los mamíferos es de tipo pinealopetal (eferente), de naturaleza simpática y más compleja. Describe la producción bioquímica de melatonina y otras indolaminas en todas las especies. Recuerda la relación ya descrita entre la glándula pineal y el sistema reproductor.

Un nuevo estudio ultraestructural de Boya y Calvo en 1980, de la evolución post-eclosión de la glándula, les permite reafirmarse en sus descripciones anteriores.

Binkley (1981), revisa la bioquímica de la pineal con un estudio comparativo de los ritmos circadianos y la secreción de melatonina, serotonina y enzimas relacionadas con los ciclos de luz-oscuridad. También compara la función pineal en vertebrados menores, aves y mamíferos.

Diehl (1981), demuestra en rata Sprague-Dawley, que existen dos patrones distintos en el tamaño de los pinealocitos de la médula y la corteza pudiendo indicar distintas funciones.

Reiter (1981), revisando la estructura y función de la glándula pineal en los mamíferos, observa que se sitúa entre la percepción del fotoperíodo y el eje neuroendocrino, siendo esta información utilizada de forma distinta según la especie: control del ciclo reproductivo, de la temperatura corporal, del metabolismo lipídico o el ritmo de actividad.

En 1982, Binkley y Brammer describen que la pineal de aves es la reguladora de su ciclo fisiológico y de su comportamiento relacionado con el fotoperíodo.

Altar (1982), revisa bibliográficamente la progresiva inervación noradrenérgica de la pineal de mamíferos y su influencia en el desarrollo de la misma como transmisor neuroendocrino del ritmo circadiano.

Binkley (1983), describe la pineal de mamíferos como reloj biológico relacionado con la luz ambiental.

Sato y Wake (1983), describen la presencia de células ganglionares nerviosas en las vesículas y en el tallo de la pineal de aves gallináceas.

Reiter (1983), observa que en los mamíferos aparecen alteraciones de la secreción de hormonas tiroideas y suprarrenales después de la pinealectomía.

Diehl y cols. (1984), basándose en la presencia de los cambios volumétricos de la pineal de rata confirman la formación rítmica de melatonina.

En 1984, Olah y Glick describen linfocitos, células plasmáticas, basófilos y eosinófilos en la pineal de pollo de tres y cuatro semanas.

Oshima y Matsuo (1984), en una descripción morfológico-funcional de la pineal del pollo, observan cambios en la talla y forma de los núcleos según el ciclo luz-oscuridad. Existen pinealocitos semejantes a células sensoriales con forma de pera, cilios, muchas mitocondrias y lisosomas grandes. Otros, parecidos a células secretoras, presentan microvillis y vesículas granulares.

Reiter, en 1985 relaciona los efectos temporales de la luz, su dosis-respuesta y la acción del espectro con la glándula pineal. El patrón de producción nocturna de melatonina varía en las distintas especies. El más común es aquel en el que los niveles de indoles empiezan a elevarse después del inicio de la fase de oscuridad, alcanzando un pico cerca de la mitad de la fase oscura y empiezan a descender gradualmente hasta

acercarse a los niveles bajos de melatonina durante el día. Los ojos para poder ejercer su papel de magnetorreceptor, requieren la presencia de una tenue luz roja durante la noche, que por sí misma, no inhibe la producción de melatonina pineal. El mismo autor, en 1986, revisa la función pineal en humanos, respecto la fisiología de la reproducción. La principal hormona pineal, la melatonina, tiene un papel inhibitorio en la función sexual, puede influir en el desarrollo puberal y el ciclo menstrual. La melatonina circulante se eleva en condiciones de estrés excesivo o de ejercicio, alterando el ciclo menstrual.

McNulty y cols., en sendos trabajos en 1986 y 1987 apuntan que las barras sinápticas de la pineal de *Gallus domesticus* y ratas se relacionan con los cambios cíclicos del fotoperíodo.

En 1988, Oshima y Matsuo, estudian la morfología celular de la pineal de pollo por edades. La diferenciación de los pinealocitos se produce a los 10 días, conteniendo mitocondrias sin ribosomas hasta el día 20. A los 13-14 días aparecen botones sinápticos y se invaginan los núcleos. La diferenciación de las células de sostén ocurre a partir del día 12, presentando un núcleo más periférico que el de los pinealocitos. Consideran células parafoliculares a aquellas que no conectan con la luz. Describen también la presencia de células pigmentadas en la pared posterior de la glándula, donde también aparecen las células nerviosas a partir del día 17.

En 1990, aparecen diversos estudios que describen cambios en la morfología ultraestructural de la pineal relacionados con el ciclo día-noche. Möller y Möller, describen diferencias en el desarrollo de la glándula mediante microscopía electrónica de barrido y radioinmunoensayo. Laporte y cols., observan mayor número de vesículas claras pequeñas durante la noche en pineal de ratas y pollos,

relacionándolas con el control adrenérgico de la glándula. Robertson, detecta diferencias en el número de barras sinápticas.

En 1991 Dryer y Henderson reproducen la inhibición de la secreción de melatonina por la presencia de luz en cultivos celulares.

Durante 1991 el neuroendocrinólogo R. J. Reiter realiza una serie de trabajos (1991^{a,b,c,d}), todos ellos relacionados con el ritmo circadiano de secreción de melatonina tras los que llega a la conclusión de que “La noche pertenece a la melatonina”. De todos ellos se resume que: En todos los mamíferos el pico de secreción de melatonina se produce por la noche. La melatonina secretada se distribuye rápidamente por el sistema vascular, siendo los niveles en sangre iguales a los secretados. Aparecen receptores específicos de melatonina en las neuronas del sistema nervioso central y en la glándula hipofisaria. La melatonina constituye un “regulador de reguladores” al controlar la secreción de hormonas hipofisarias y gonadotropas. La influencia de la melatonina llega a la fisiología intestinal e inmunológica.

Aige y Murillo (1991), realizan sustituciones prosencefálicas, cultivos in vitro de diencefalos aislados y escisiones totales y parciales del techo del diencefalo de embriones de pollo, con lo que consiguen concluir que la glándula pineal de pollo se diferencia en cultivos de diencefalo aislados, la diferenciación y desarrollo de la pineal en el techo del III ventrículo es independiente de la vecindad de las vesículas cerebrales y tiene su origen en el diencefalo, al eliminar totalmente el diencefalo a los dos días de incubación se produce agenesia pineal. En 1992, someten la pineal de embriones de pollo a una luz blanca durante la incubación, al obtener gran número de efectos teratológicos y mortalidad, concluyen que dicha glándula es sensible a la luz.

En el año 1992^{a,b}, Reiter prosigue sus estudios sobre la fisiología de la melatonina, observa que su secreción disminuye con la edad y que si sus

niveles se mantienen se aumenta la supervivencia de los animales estudiados. La melatonina posee efectos beneficiosos directa e indirectamente en el retardo del envejecimiento.

Zeman y cols. (1992), detectan un ritmo circadiano de secreción de melatonina en embriones de pollo de 18 días.

En 1993^{a,b} Reiter nos habla de la idea de que los campos electromagnéticos pueden alterar el ciclo circadiano de secreción de melatonina en la pineal, al igual que hace la luz. Desarrollaremos este concepto en el próximo apartado.

Con la fisiología de la glándula pineal descrita, en 1994 Korf, realiza una serie de consideraciones filogenéticas y ontogénicas de la secreción de melatonina. En los vertebrados inferiores la síntesis es regulada por los fotorreceptores intrapineales, por otra parte en los mamíferos depende de los fotorreceptores de la retina y de sus complejas conexiones neuronales con la pineal. En las aves ésta organización se encuentra a un nivel intermedio entre vertebrados superiores e inferiores. Destaca también que la noradrenalina como neurotransmisor tiene efectos contrarios en aves y mamíferos.

Webb y Puig Domingo en 1995 realizan una amplia revisión sobre la relación de la melatonina con distintas enfermedades, refiriendo su papel como hormona oncostática y contraceptivo oral. Destacan los efectos de los campos magnéticos sobre su secreción.

Reiter realiza en 1995 una revisión de los trabajos publicados sobre la relación de la glándula pineal y la melatonina con el envejecimiento, destacando el papel protector de la melatonina como protector de las macromoléculas, especialmente el DNA, contra los radicales libres, observándose estas acciones en el sistema nervioso central, principalmente.

Ya en el año 1996, Sakai, Hira y Matsushima estudian la pineal de ratones a microscopía óptica y electrónica, determinando que para comprender la significación de cada porción de pineal es importante conocer las diferencias morfológicas de cada una. Las dividen en distal, intermedia y proximal. Demuestran que el tamaño y la distribución de la inervación simpática siguen diferencias regionales.

Redondo, Franco y Regodón (1996), estudian ultraestructuralmente la pineal de oveja distinguiendo tres tipos de células, y observan que en el embrión la pineal ya tiene cierta función secretora.

El mismo año, Moore estudia la regulación del ritmo circadiano de la pineal de mamíferos, concluyendo que se realiza por: 1. Proyecciones visuales a través del tracto retinohipotalámico al núcleo supraquiasmático (marcapasos circadiano). 2. SNC que genera ritmo circadiano en el núcleo paraventricular. 3. Proyecciones del núcleo paraventricular a la columna celular intermediolateral torácica. 4. Fibras simpáticas preganglionares del ganglio cervical superior y 5. Fibras simpáticas postganglionares del ganglio cervical superior.

Siguiendo en la misma línea de investigación, Grève y cols., controlando la concentración de HIOMT-mRNA concluye que la regulación de la producción de melatonina en la pineal de pollo se lleva a cabo por un sistema oscilador circadiano localizado en el hipotálamo basal, vía simpática por el efecto de la luz en la retina y por un sistema en la propia pineal, con fotorreceptores propios, demostrados en estudios in vitro.

Aleandri, Spina y Moroni (1996), consideran que la pineal tiene un control neuroendocrino de la fisiología reproductiva, demostrado en los ciclos fértiles de los animales, y aunque no se ha demostrado en los humanos, podría regular la ciclicidad menstrual.

En 1996 se realizaron diversos estudios sobre las acciones de la melatonina. García-Patterson, Puig-Domingo y Webb realizan el estudio en humanos que les permite aventurar los efectos de su administración exógena como contraceptivo, oncostático o como medicación psiquiátrica.

En 1997, Pierpaoli y Lesnikov, consideran la senectud caracterizada por la pérdida de las funciones pineales, al alterarse el control neuroendocrino del sistema inmune.

También Liebman y cols., realiza en 1997 una revisión crítica de la relación de la melatonina con sus acciones neuroendocrinas e inmunomoduladoras.

El investigador español Calvo y cols. (1997) describe un disminución significativa de células pineales de ratas durante la fase oscura y un volumen máximo de la pineal en la fase lumínica. Lo relaciona con una acción antimitótica de la melatonina.

En 1999^a, Jové y cols., describen que la densidad de vesículas en la pineal disminuye de los 10 a los 15 días de incubación, sin cambios en el número total de vesículas y lo relacionan con la actividad de la glándula pineal durante el desarrollo embrionario.

Al llegar a 2000, Zatz y cols., estudian la secreción y síntesis de melatonina en cultivos de pinealocitos de pollo y observan que la luz rápidamente regula su síntesis.

En el 2001 Herichova y cols., continúan el estudio de la arilalquilamina N-acetiltransferasa (penúltima enzima en la síntesis de melatonina) en el embrión de pollo; concluyen, que la expresión de dicha enzima se inicia tempranamente y de forma rítmica durante el desarrollo del embrión a la vez que adquiere un papel primordial en la propia secreción rítmica de melatonina.

Haldar y Araki, en 2002, sugieren que la glándula pineal de las aves contiene diferentes tipos de células con diferente inmunoreactividad en el estado ontogénico, de los días 9 al 14 del desarrollo embrionario.

Faluhelyi y cols., 2004, realizan en un estudio *in vitro* de la glándula pineal del embrión de pollo y confirman que la epífisis es el principal regulador del ritmo circadiano de las aves. La secreción rítmica de melatonina, se inicia a los 16-18 días de vida embrionaria.

1.2. RELACIÓN DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS CON LA GLÁNDULA PINEAL

Los imanes (magnetos) recibieron su nombre de la antigua ciudad griega de Magnesia, cerca de la cual se descubrieron las primeras “piedras-imán”. La piedra-imán (magnetita) es un óxido de hierro que tiene propiedades magnéticas naturales. Según la tradición, Tales de Mileto, hacia el 550 a.C., fue el primer filósofo que lo describió.

En la edad de oro helenística, contemporáneo de Pericles, Sócrates, Protágoras, Heródoto, Sófocles y Eurípides; Hipócrates (460-377.C.) definido como “padre de la medicina” utiliza la magnetita en la obstetricia, el dolor cólico abdominal y la flatulencia. Se encuentra descrito en el Corpus Hipocraticum, recopilación de sus escritos.

Cayo Plinio II (23-79 d.C.) en su obra Naturalis Historia y Dioscórides en su Hylíká, recomiendan el uso de la magnetita con finalidad terapéutica para todo tipo de malestar, como afecciones oculares, golpes, molestias urinarias, pérdidas vaginales, hemoptisis, úlceras digestivas, etc.

Medio siglo después de Cristo en la India, Susruta, autor del Susruta Samhita que es uno de los mejores libros sobre cirugía, propone la utilización del “magnet” para la extracción de cuerpos extraños metálicos. Su escuela perdurará más de 400 años.

Alrededor del año 550 d. C. Ezio de Amida, erudito bizantino, indica que la piedra magnética tiene una acción parecida a la de la “ematita” que atenúa los dolores de podagra, quidagra y que curaba los dolores espásticos.

Siguiendo los estudios del anterior, Ali-Abbas de Persia (932-994), define en su libro Liber Regius que la magnetita sirve como remedio en todo tipo de dolencia.

Psellos de Bizancio en 1105, distingue entre una piedra magnética que atrae al hierro y otra que lo repele.

Ali ibn Sina o Avicena (981-1038), médico que llegará a ser gran visir del califa, duda de la acción magnética, interpreta el magnetismo como una verdadera fuerza específica y la utiliza para las afecciones hepáticas.

No se sabe quién fue el primero en colocar una aguja magnetizada sobre un pivote y encerrarla en una caja, para obtener la brújula. Se supone que fueron los chinos, quienes lo transmitieron a los árabes, los cuales, a su vez, lo introdujeron en Europa. Esto es muy dudoso, y puede ser sólo una leyenda. Sea como fuere, en el siglo XII la brújula es introducida en Europa y descrita con detalle, en 1269, por un estudiante francés más conocido por su nombre latinizado de Petrus Peregrinus, el cual llama “polo Norte” al extremo de la aguja imantada que apuntaba al Norte, y “polo Sur” al extremo opuesto.

Difícilmente se puede encontrar en el comienzo de la nueva era otro médico que haya trabajado y se haya interesado más por las propiedades de la magnetita que Paracelso (1493-1541). Según él, la magnetita ejerce una fuerza atractiva sobre las enfermedades marciales del cuerpo. El magneto hace que entren las hernias, que se curen los huesos fracturados (tanto del joven como del viejo) y que ayudado de otros medicamentos, se curen también la ictericia y la hidropesía.

El estudio científico de los imanes se inicia con William Gilbert (1564-1603), médico de la Corte de Isabel I de Inglaterra. Es éste quien descubre que la Tierra es, en realidad un gigantesco imán. Gilbert monta una aguja magnetizada de modo que pueda pivotar libremente en dirección vertical (una brújula de inclinación), y su polo Norte señala hacia el suelo (inclinación magnética). Usando un imán esférico como un modelo de la Tierra, descubre que la aguja se comportaba del mismo modo cuando se coloca sobre el “hemisferio Norte” de su esfera. En 1600,

Gilbert publica estos descubrimientos en su clásica obra De Magnete. En los tres siglos que han transcurrido desde los trabajos de Gilbert, nadie ha conseguido explicar el magnetismo de la Tierra de forma satisfactoria para todos los especialistas.

En el siglo XVII se fundan la *Royal Society of London* en 1660 y la *Académie de Sciences de Paris* en 1666, academias pioneras en la divulgación científica.

En 1775, Bolten publica un trabajo sobre la aplicación de la magnetita en pacientes epilépticos.

En el siglo XIX, con el gran desarrollo general de las ciencias, se establecen los principios de la electricidad, el magnetismo y la relación entre ellos. En 1800 el italiano Alessandro Volta inventa la pila eléctrica. Cavendish y Coulomb formulan las leyes matemáticas de la fuerza electrostática.

En la década de 1820, Faraday comienza un experimento que había descrito por vez primera Petrus Peregrinus – y que aún hoy sigue atrayendo a los jóvenes estudiantes de Física-. Consiste en esparcir finas limaduras de hierro sobre una hoja de papel situada encima de un imán y golpear suavemente el papel. Las limaduras tienden a alinearse alrededor de unos arcos que van del polo norte al polo sur del imán. Según Faraday, estas líneas magnéticas de fuerza forman un campo magnético. Faraday, se siente atraído por el tema del magnetismo al conocer las observaciones hechas, en 1820, por el físico danés Hans Christian Oersted – según las cuales una corriente eléctrica que atravesase un cable desvía la aguja de una brújula situada en su proximidad -, llega a la conclusión de que la corriente debe de formar líneas magnéticas de fuerza en torno al cable.

Más seguro está de ello al comprobar que el físico francés André Marie Ampère ha proseguido los estudios sobre los cables conductores de electricidad inmediatamente después del descubrimiento de Oersted. Ampère demuestra que dos cables paralelos, por los que circula la corriente en la misma dirección, se atraen. En cambio, se repelen cuando las corrientes circulan en direcciones opuestas. Ello es muy similar a la forma en que se repelen dos polos norte magnéticos (o dos polos sur magnéticos), mientras que un polo norte magnético atrae un polo sur magnético. Más aún, Ampère demuestra que una bobina cilíndrica de cable atravesada por una corriente eléctrica, se comporta como una barra imantada. En 1881, y en honor a él, la unidad de intensidad de una corriente eléctrica se denominará ampère o amperio.

En 1831, Faraday enrolla una bobina de cable en torno a un segmento de anillo de hierro, y una segunda bobina, alrededor de otro segmento del anillo. A continuación conecta la primera a una batería, con la idea de crear una corriente inducida que produzca, a su vez, una corriente eléctrica en la segunda bobina. Para detectarla, conecta la segunda bobina a un galvanómetro, instrumento para medir corrientes eléctricas, que había diseñado, el físico alemán JSC Schweigger, en 1820. El experimento no se desarrolla como había imaginado, pero descubre que cuando una corriente empieza a atravesar la primera bobina, se inicia un campo magnético que, a medida que se extiende, cruza la segunda bobina, en la cual produce una corriente eléctrica momentánea. De éste modo, Faraday descubre el principio de la inducción eléctrica y crea el primer “transformador”.

Los descubrimientos de Faraday conducen directamente no sólo a la creación de la dínamo para generar electricidad, sino que dan la base a la teoría electromagnética de James Clerk Maxwell (1831-1879), la cual agrupa la luz y otras formas de radiación – tales como la radioeléctrica- en una sola familia de radiaciones electromagnéticas. Maxwell demuestra

también que un campo eléctrico genera un campo magnético (inverso a la teoría de Faraday). Sus hipótesis, resumidas en un simple conjunto de cuatro ecuaciones, se publican en su obra A treatise on electricity and magnetism.

Las teorías de Maxwell se ven probadas en 1888 cuando Rudolf Hertz (1857-1894) genera las ondas electromagnéticas. Una aceleración de una carga eléctrica emite un campo eléctrico variable que se asocia a un campo magnético también variable y ambos perpendiculares entre sí, en la misma dirección de propagación, formando una onda, conocida como onda electromagnética. Estas ondas son la base de la radiocomunicación.

Albert Einstein (1879-1955) publica en la revista *Annalen der Physik*, junto con otros artículos sobre el calor, la luz y la electricidad, el artículo Sobre la electrodinámica de los cuerpos en movimiento, considerado el primer trabajo que le llevará a la teoría de la relatividad.

En el siglo XX se genera un gran interés por el estudio de los efectos biológicos de estos avances tecnológicos, y se inicia la realización de un gran número de trabajos. Parkinson en 1985, postula que una de las principales dificultades que impiden el generalizar los resultados de los distintos estudios, es la gran variedad de factores físicos que intervienen y hay que tener en cuenta (forma de la onda electromagnética, intensidad y velocidad de variación del campo magnético, frecuencia y duración de los pulsos, su número en los grupos de ondas, etc.). De hecho, si no se conoce cual es la característica del estímulo que se influye directamente sobre el efecto biológico no podemos comparar los distintos resultados.

Relacionaremos los trabajos representativos del estudio del efecto biológico de los campos electromagnéticos y sus posibles aplicaciones en medicina.

En 1929 Child formula la teoría de los gradientes eléctricos axiales y un año más tarde, en 1930 Ssawastin la aplica en el estudio de vegetales y bacterias y más tarde en cultivos de tejidos humanos. Intenta correlacionar el carácter físico del campo magnético y su respuesta biológica. Lengyel (1934) somete un cultivo de fibroblastos a la influencia de un campo electromagnético continuo y observa un aumento del crecimiento y de la proliferación del mismo.

Delorenzi (1935) aplica un campo electromagnético continuo entre 200 y 1000 Gauss/cm² (20-100 mT), por medio de un imán artificial, a cultivos celulares de miocardio de embriones de pollo. Obtiene un incremento en la frecuencia de mitosis y alteraciones en la división celular (aparición de células polinucleadas y desestructuración de la migración cromosómica), siguiendo una dirección perpendicular a las líneas de fuerza del campo magnético.

En 1936 surgen los trabajos sobre teratogénesis experimental de Wolff que unificarán los criterios sobre el estadiaje y valoración del desarrollo, estableciendo la sistemática de las investigaciones posteriores a nivel embrionario.

Marsh y Beams (1946) profundizan en el estudio de Child sobre las propiedades eléctricas de los organismos. Considera que la polaridad eléctrica es la expresión del gradiente axial originado por las propias funciones fisiológicas. Esta polaridad es fundamental en la embriogénesis, dado que toda modificación de los parámetros eléctricos basales modifican el desarrollo y la regeneración del tejido nervioso del embrión de pollo.

Dos años más tarde, Rondoni analiza la influencia de las diferentes temperaturas de incubación (33°C-42°C), sobre el crecimiento embrionario del pollo. Muestra que los embriones incubados a baja temperatura (33°C) son de mayor longitud que aquellos incubados a

temperatura normal (37-38°C). Pero este crecimiento en longitud disminuye a partir de una temperatura elevada (42°C).

En 1949, Gallera estudia el efecto sobre la incubación del embrión de pollo, de las variaciones atmosféricas, siendo las fases más sensibles la gastrulación tardía y los estadios precoces de neurulación.

En 1952, Deuchar concluye que las elevadas temperaturas de incubación (45.5°C) y en las primeras fases del desarrollo (hasta las 72 horas) producen alteraciones de la morfogénesis. Siguiendo en esta línea encontramos los trabajos de Mookerjee (1953), Harrison y Klein (1954), Rott (1957) y Ancel (1958), que obtienen resultados similares a los de Deuchar, añadiendo que el descenso de la temperatura produce un aumento en el índice de mortalidad en la primera mitad del desarrollo, mientras que el aumento de temperatura la incrementan en la segunda mitad.

Volviendo al biomagnetismo, Sedar en 1956 estudia la relación entre las alteraciones en el desarrollo embrionario y las intensidades de campo aplicadas. Encuentra retraso general del desarrollo corporal y alteraciones en la embriogénesis en relación con la orientación del huevo respecto al eje electromagnético.

Kolin (1959) consigue la estimulación del tejido nervioso en extremidad de rana como resultado de la aplicación de un campo electromagnético pulsátil (226-874 mT a 1000 Hz). En la década de los 60 se especializa la investigación en los efectos biológicos de los campos magnéticos.

Becker (1961) estudia los factores bioeléctricos en la regeneración de las extremidades de los anfibios. Estos organismos presentan cargas positivas a nivel cefálico y negativas en las extremidades, esta diferencia de potencial puede estimular el crecimiento axial de una extremidad mediante las estructuras nerviosas.

En el mismo año, Eiselein Boutelly y Biggs, aplican un campo electromagnético de 1400 mT a ratones, sin encontrar alteraciones en el crecimiento global ni en los parámetros celulares sanguíneos.

Gerencser, Barnothy y Barnothy, (1962) aplican un campo electromagnético homogéneo y continuo de 3000 Oersteds a cultivos bacterianos y detectan una disminución significativa en su crecimiento. Gross aplica un campo magnético continuo de 40 mT a ratones inoculados con células de tumor ascítico de rata. Observa un incremento de la necrosis tumoral y de la mortalidad que atribuye a la lisis del sistema inmunitario.

También Barnothy en 1963, encuentra una aceleración del crecimiento y un aumento en el número de mitosis, en roedores a los que aplica un campo magnético continuo.

Hall, Bedford y Leask (1964), aplican un campo electromagnético de 500 a 7700 mT sobre cultivos celulares, sin encontrar diferencias significativas en cuanto al crecimiento ni a la multiplicación. Los mismos resultados son obtenidos por Halpren y Greene en cultivos de célula HeLa bajo un campo electromagnético continuo de 120 mT. Sin embargo, Mulay y Mulay observan efectos teratogénicos y retraso del desarrollo de la mosca *Drosophila melanogaster* al aplicarle un campo electromagnético estático de entre 100 y 4000 Oe.

Siguiendo en 1964, Eldarov y Kholodov describen un aumento de la actividad motora y de las alteraciones en la orientación espacial de aves sometidas a un campo electromagnético continuo de 0.6-1.7 Oe.

Beischer y Knepton (1964), son los primeros en describir los efectos electrocardiográficos de los campos electromagnéticos continuos, tales como la aparición de alteraciones en la repolarización, al exponer monos a un campo de 2 a 7 T.

Lauber y Schutze, estudian la incubación de huevos White Leghorn. Describen que la luz incandescente acorta el período de incubación, no así la luz fluorescente, si estos cambios se aplican en la primera semana de desarrollo. No analizan si los cambios pueden ser debidos al aumento de la temperatura o si la fuente de luz artificial puede crear un campo electromagnético.

En 1965, Veneziano encuentra un 15% de efectos patológicos en embriones de pollo sometidos a la acción de un campo electromagnético continuo y uniforme de 1.1- 31 Gs. Concretamente disminución del diámetro del blastodermo, hiperplasia y retraso general de crecimiento. El examen histológico revela una desorganización celular y una formación del tubo extraneural.

En 1966, Fardon, Eymard y Basulto descubren variaciones en la orientación de la estructura molecular y una inhibición de la respiración en células cancerosas embrionarias (ciclo de Krebs y cadena respiratoria mitocondrial), bajo los efectos de un campo electromagnético pulsátil, aunque estos cambios no se pueden reproducir en tejidos adultos.

Reno y Beischer obtienen cambios en las propiedades mecánicas y eléctricas en miocardios de aves y ratas bajo campos magnéticos continuos de 3400, 15600 y 10000 Gs.

En 1966 aparece uno de los primeros estudios sobre la posible interacción de los campos electromagnéticos con el sistema nervioso central, lo realizan Asanova y Rakov y aunque presenta defectos de metodología, describen la aparición de cefaleas, excitabilidad y fatiga en los trabajadores expuestos a alto voltaje (345 KV).

En el año 1967, Levengood describe retraso del desarrollo embrionario de la mosca "Drosophila melanogaster" con la influencia de un campo electromagnético continuo de 150Gs.

Durante 1969, Musy analiza la evolución de la mortalidad y aparición de malformaciones en embriones de pollo incubados artificialmente, observa hasta un 30% de mortalidad y un 4% de malformaciones, sin poder determinar los factores etiológicos específicos.

En 1973 Cope, confirma que el hombre y algunas otras especies de animales, presentan zonas corporales sensibles a los campos magnéticos débiles de entre 0.1 y 5 Gs, esto lo atribuye a la existencia de unos puntos de unión entre las membranas celulares que permitirían el paso de electrones según el campo magnético existente (uniones tipo Josephson).

Adey (1975) describe cambios fisiológicos y químicos en el sistema nervioso central relacionados con los campos electromagnéticos.

En el siguiente año, Bliss y Heppner alteran el ritmo circadiano de la glándula pineal mediante un cambio en el componente vertical del campo magnético terrestre.

En 1978, Bawin, Adey y Sabbot ya aplican un campo electromagnético pulsátil de alta frecuencia en el tejido cerebral de embrión de pollo y descubren un aumento del flujo de hidrogeniones.

En este año proliferan los estudios con campos electromagnéticos aplicados a seres vivos con resultados dispares. Johsi, Khan y Damle exponen embriones de pollo a un campo electromagnético pulsátil de 5000 Oe, describen retraso en el desarrollo y alteraciones en el tubo neural. Iwasaki y cols. no detectan alteraciones en el desarrollo de anfibios sometidos a 5000 Gs.

En 1979 se publican nuevos estudios en distintas especies animales y a muy diversas intensidades de campo. Destaca el estudio de Wertheiner y Leeper en el que publican la primera investigación acerca de la relación

entre cáncer infantil y la exposición a campos electromagnéticos debidos a las torres de alta tensión cercanas a sus hogares.

Adey, en 1980, considera que los distintos tipos de absorción de energía electromagnética por los distintos tejidos provocan cambios fisiológicos y químicos a determinadas frecuencias. Introduce el concepto de efecto ventana de la respuesta tisular al campo electromagnético.

Semm, Schneider y Vollrath, 1980, consideran a la glándula pineal como el punto del sistema nervioso central que puede ser más sensible a la variación de los campos electromagnéticos ya que dicha glándula es la responsable de la orientación de los animales migratorios, relacionada con el campo magnético terrestre. La pineal también está muy relacionada con el sistema nervioso simpático ya que éste es muy sensible a los estímulos magnéticos. Comprueban y describen una disminución en la actividad electrofisiológica de la pineal del cerdo de Guinea por estar expuestos a un campo magnético inducido.

En 1981, Adey publica una amplia revisión de la relación de los campos electromagnéticos y sus efectos en los tejidos, con una minuciosa exposición de los efectos en los distintos órganos y tejidos. Destaca el concepto de estructura dipolar del átomo y sus modificaciones debida a la acción de un campo electromagnético.

Bellossi recopila los estudios referentes a los campos electromagnéticos continuos describiendo alteraciones a nivel de gónadas, embrión, sistema inmunitario, corazón y sistema nervioso.

En el mismo 1981^{a,b}, los investigadores españoles Bardasano, Meyer y Picazo, describen ectopias nucleolares en el citoplasma y nucleolos de tipo anular en los pinealocitos de Columba Livia bajo la acción de campos electromagnéticos artificiales.

Otro investigador español, Delgado y cols., estudia en 1981 la teratogenia de los campos electromagnéticos pulsátiles de extrema baja frecuencia, destacando una mayor sensibilidad del sistema nervioso. Considera que estos cambios pueden ser debidos al mismo campo o al efecto térmico que estos provocan.

Wilson y cols. (1981^{a,b}), someten rata Sprague-Dawley a un campo eléctrico de 60Hz, observando una disminución estadísticamente significativa en la secreción nocturna de melatonina a cargo de la glándula pineal.

En 1982, Wertheimer y Leeper, estudian la influencia de los campos electromagnéticos en el desarrollo del cáncer. Realizan un estudio retrospectivo en personas fallecidas por cáncer y correlacionan la presencia de la enfermedad con el tiempo de exposición a campo electromagnético en sus domicilios. Observan un aumento significativo de cáncer en el sistema nervioso central, útero, mama y sistema linfático con efecto dosis-dependiente.

En otro estudio semejante, Wright Peters y Mack, no consiguen resultados estadísticamente significativos en la relación de la leucemia y el empleo relacionado con las líneas eléctricas.

En el mismo año, Toroptsev y Taranov, consideran que los cambios morfofuncionales debidos a un campo electromagnético se producen por un error en los mecanismos de adaptación.

En España, Delgado y cols., considera los campos pulsátiles más efectivos que los continuos, expone embriones de pollo a campos electromagnéticos pulsátiles de 120, 1200 y 12000 mT a 10, 100 y 1000 Hz, hallando alteraciones morfológicas en el sistema nervioso central principalmente y el miocardio.

En 1983 se publican numerosos estudios bioquímicos y electrofisiológicos que muestran la influencia de los campos magnéticos sobre la glándula pineal de aves y mamíferos. Welker y cols., describe la disminución de la concentración de N-acetiltransferasa junto con los niveles séricos de melatonina. Semm y Demaine, también observan que la inversión experimental del componente horizontal del campo magnético natural lleva a un significativo descenso de la melatonina y de la serotonina-N-acetiltransferasa. Reuss, Semm y Vollrath, también describen alteraciones en la pineal de la rata al variar el componente horizontal de campo magnético terrestre. Ubeda y cols., someten embriones de pollo a un campo pulsátil de 100 Hz, observando alteraciones teratogénicas a 1 uT: sistema nervioso central, circulatorio y digestivo; apunta el posible papel de los glucosaminoglucanos y un “efecto ventana de intensidad” no secundario a un incremento de la temperatura. Saha, Pal y Albright, afirman que los campos magnéticos afectan al desarrollo del embrión de pollo sin especificar las características de dichos campos. En estudios con “Drosophila”, Ramírez y cols., observa la mortalidad de los huevos y larvas expuestos a distintos campos magnéticos, siendo ésta superior en campos pulsátiles, seguida de los campos sinusoidales y de los estáticos.

Maffeo, Miller y Carstensen (1984), repiten el estudio de Delgado y cols. (1982) en embriones de pollo sin encontrar diferencias significativas.

Sikov y cols., tampoco observan alteraciones en el desarrollo perinatal de ratas Sprague-Dawley sometidas a campos eléctricos de 60 Hz y 65 kV/m.

En este año, Becker revisa y unifica conceptos sobre las fuerzas electromagnéticas y el control de los procesos normales de crecimiento.

Cremer-Bartels y cols. (1984), describe al geomagnetismo como un sincronizador externo de los ritmos pineales y que estos pueden alterarse por un campo electromagnético artificial.

Según Milin y cols., un campo magnético estático de 1 T tiene efectos depresivos en la citofisiología de la pineal de la rata.

Ya en 1985, Demaine y Semm observan una modificación en la actividad eléctrica celular de la glándula pineal del pichón, debido a una inversión gradual del campo magnético natural. Afirman que esta glándula posee sensibilidad magnética intrínseca que permite la orientación de las aves en el campo magnético terrestre. La información magnética en las palomas tendría, de esta forma, dos entradas, vía retina y vía pineal.

Blackman y cols. (1985), reintroduce el concepto de “efecto ventana”. Estudia embriones de pollo sometidos a un campo sinusoidal de frecuencia variable y observa alteraciones en el flujo de iones calcio en el tejido cerebral a frecuencias entre 45 y 105 Hz.

Olcese, Reuss y Vollrath, demuestran que la influencia del campo magnético afecta a la función de la pineal vía retina, al demostrar que la disminución de secreción de melatonina en ratas expuestas a campos magnéticos, no se produce si se les seccionan los nervios ópticos.

Rivas y cols., encuentra un decremento significativo del peso de ratones expuestos a campos electromagnéticos pulsátiles.

Durante el año 1985 se publican diversos estudios que relacionan la exposición de humanos a campos generados por las líneas y máquinas eléctricas con la aparición de cáncer (Gilman, Mima y Barregard).

En el año 1986 Olcese y Reuss, confirman sus anteriores estudios en diversas especies de ratones.

Demaine y Semm, apuntan que la glándula pineal participa en el ritmo endógeno del sistema nervioso central.

Bardasano y Bujan, y Bardasano y cols. (1986), en dos trabajos sucesivos evidencia la magnetosensibilidad de la pineal de pollo, al observar una serie de prolongaciones multipolares fusiformes en embriones expuestos a un campo magnético.

Siguiendo en el mismo año, Abdukkakhodzhayeva y Razykov analizan el efecto de un campo magnético continuo en neuronas, astrocitos y sinapsis de las áreas precentrales del córtex cerebral de rata. Observan que la aplicación del campo durante 15 días produce cambios adaptativos de las microestructuras y a los 30 días surgen cambios distróficos celulares.

Leal y cols., realizan un minucioso estudio intentando correlacionar el componente horizontal del campo magnético terrestre y los campos electromagnéticos pulsátiles. Sugieren que el campo magnético terrestre actúa por sí mismo en el desarrollo embriológico y, por tanto, puede resultar afectado por las oscilaciones del campo.

Bellosi no encuentra alteraciones en la liberación de iones calcio en cultivos "in vitro" de embriones de pollo sometidos a un campo electromagnético pulsátil de 200-900 mT.

Reuss y Olcese en 1986, utilizando como índices de magnetosensibilidad las actividades de N-acetiltransferasa e hidroxindol-O-metiltransferasa pineales, indican la necesidad de estimulación fotorreceptora a través de una tenue luz, para la percepción de los campos magnéticos débiles.

Wilson, Chess y Anderson, comprueban la disminución de los niveles de melatonina y la actividad de la N-acetiltransferasa en pineales de ratas expuestas a campos eléctricos uniformes de 60 Hz. La rápida recuperación, después del cese de la exposición eléctrica, sugiere que el complejo metabólico pineal no está comprometido permanentemente y que el efecto del ritmo circadiano puede mediarse neurológicamente.

Sisken y cols. (1986), encuentran un incremento de malformaciones en los embriones de pollo expuestos a un campo electromagnético durante 7 días, estos resultados no son estadísticamente significativos.

Durante el año 1986, el profesor finlandés Juutilainen y cols., realiza una serie de importantes trabajos para valorar las anomalías producidas en el desarrollo del embrión de pollo "White Leghorn" al ser sometidos a la influencia de campos electromagnéticos alternos de distintas frecuencias e intensidades. Describe que durante los dos primeros días del desarrollo, si los huevos son frescos y la temperatura inferior a 38°C, disminuye considerablemente el número de alteraciones. Las frecuencias estudiadas no modifican la temperatura del embrión. Las anomalías más representativas son una serie de torsiones anómalas, debido a la desorganización del crecimiento o de los factores que lo regulan como consecuencia del campo. Obtiene el mismo efecto aplicando un campo de 0.1-80 A/m durante las primeras 52 horas del desarrollo. En otro estudio realizado conjuntamente con Saali demuestra un incremento del índice de anormalidades en embriones de pollo expuestos a un campo pulsátil de onda sinusoidal, siendo entre las frecuencias 16.7 Hz y 100 kHz cuando aparece mayor porcentaje de anormalidades.

Ya en 1987 Juutilainen, en un nuevo estudio, sugiere que la exposición del embrión de pollo a campos magnéticos de 50 Hz causan anormalidades en el desarrollo y que el umbral de fuerza de campo a partir del cual se producen es de 0.98 y 1 A/m.

Sikov y cols. (1987), estudian el potencial de afectación teratológica de un campo eléctrico de 60Hz en la reproducción y desarrollo en cerdos Hanford y aprecian una asociación entre la exposición crónica y los defectos en el desarrollo del cerdo, aunque el cambio en la incidencia de malformaciones entre generaciones les impide concluir la relación causa – efecto.

Reuss realiza una revisión sobre la actividad eléctrica de la glándula pineal de mamíferos y en otro trabajo, el mismo 1987, observa que la pineal de las aves es sensible por sí sola a los campos magnéticos, en contraste con la de los mamíferos que precisan de la activación retiniana por la luz. Olcese y cols., determinan la necesidad de una tenue luz para que el campo magnético afecte la función pineal de ratas.

Savitz y Calle relacionan, en estudios epidemiológicos, la exposición profesional en trabajos relacionados con la electricidad y una mayor incidencia de leucemias.

En España, Ubeda, Trillo y Leal (1987), intentan determinar la relación entre la orientación del embrión de pollo y el campo magnético aplicado. Incuban huevos con el vértice más agudo orientado hacia el Oeste en un campo electromagnético horizontal con dirección Este-Oeste. Detectan la aparición de anomalías en los embriones de los huevos orientados en dirección Sur-Este y Sur-Oeste.

Gili (1988^{a, b}), analiza las bases físicas del fenómeno de resonancia magnética. Cree que la aplicación de un campo magnético estático no varía la estructura molecular atómica de los núcleos de hidrógeno, sino que modifica la orientación de su eje de giro. Concluye que al no variar la estructura molecular no se producen efectos biológicos importantes.

En 1988, Martin encuentra un incremento significativo de anomalías en el desarrollo del embrión de pollo expuesto a campos electromagnéticos pulsátiles de extrema baja frecuencia, durante las primeras 24 horas de incubación, pero no de las 24 a las 48 horas.

Olcese, Reuss y Semm, en nuevos estudios publicados en 1988, determinan que la retina de los mamíferos participa en la información magnética al sistema nervioso central. En la misma línea, Stehle y cols., observan un decremento nocturno de melatonina y N-acetiltransferasa en

ratones albinos que asocian a la magnetorrecepción gracias a la pigmentación de la retina.

Milin, Bajic y Brakus (1988), en ratas sometidas a un campo electromagnético estático, observan un mantenimiento de la actividad de los pinealocitos oscuros y una reducción de los claros.

En 1988, Blackman y cols., encuentran alteraciones en el intercambio iónico neuronal del calcio en los embriones de pollo expuestos a un campo de 50Hz, sin poder establecer significación fisiológica.

Durante el año 1989, Bardasano, Cos y Picazo, estudian la función magnetorreceptora de la glándula pineal, observando aumento de bandas sinápticas y cuerpos mieloides en los pinealocitos de rata expuestas a tormentas magnéticas naturales.

Wilson, Stevens y Anderson (1989), publican una revisión de la asociación de los campos electromagnéticos con la aparición de cáncer, depresiones y alteraciones de la reproducción. Sugieren que la glándula pineal desarrolla un rol central en la respuesta biológica a estos campos por la alteración de la secreción de melatonina.

Savitz, Pearce y Poole, realizan una exhaustiva revisión sobre la relación de los campos electromagnéticos y cáncer. Estudian los posibles efectos carcinogénicos de las radiaciones no ionizantes. Los conductores de alta energía eléctrica producen un campo eléctrico en su superficie, proporcional al voltaje. Llegan a la hipótesis que los trabajadores de las compañías eléctricas y de la población en general que vive en el radio de acción de los campos electromagnéticos que generan, presentan una mayor frecuencia de enfermedades cancerígenas. En el mismo sentido, Adey, lanza la idea que los campos electromagnéticos actúan como promotores carcinógenos a dos niveles: respuesta inmunitaria y mecanismos reguladores del crecimiento celular. Estos trabajos culminan

en una editorial de *Science* por Abelson en que hace referencia a los efectos de los campos eléctricos y magnéticos en general y pide prudencia a la hora de avanzar efectos aún no bien estudiados.

Es en el año 1990 cuando Bergman y diecisiete investigadores más, unen esfuerzos y hacen una revisión de los trabajos en los que se usan modelos embrionarios y fetales. Realizan seis experimentos independientes con un mismo diseño llevados a cabo en laboratorios de Canadá, España, Suecia y Estados Unidos, con el fin de clarificar resultados anteriores sobre el desarrollo del embrión de huevos fertilizados de *Gallus domesticus* sometido a campos magnéticos pulsátiles, a frecuencias e intensidades extremadamente bajas,. El equipo de cada laboratorio es idéntico: 2 incubadoras, cada una de ellas con una bobina Helmholtz para generar un campo magnético pulsátil y unipolar (500ms de duración de pulso, 100 pulsaciones/seg, 1 mT y 2 ms de tiempo de elevación y caída). El campo se aplica durante las primeras 48h de incubación. Después de 48 h se determina el desarrollo, morfología y estadio de maduración. Cuando los datos de los 6 laboratorios son examinados conjuntamente la diferencia en anomalías en expuestos (25%) y en controles (19%), aunque baja, es altamente significativa, así como la interacción entre incidencia de anomalías y localización del laboratorio. El factor o factores responsables de la variabilidad interlaboratorios es desconocido.

Wilson y cols., en 1990, defienden la hipótesis que la exposición periódica a campos eléctricos pulsátiles de corriente continua de extrema baja frecuencia o a campos magnéticos de suficiente intensidad y duración puede afectar la función de la glándula pineal en humanos.

Olcese realiza una revisión sobre los efectos de los campos magnéticos detectados en roedores, centrándose en la glándula pineal y la retina considerados como magnetorreceptores. Los niveles de melatonina pineal

y de la actividad dopaminérgica de las células de la retina, pueden utilizarse como parámetros de la influencia del campo magnético. Pineal y ojos, son componentes del sistema circadiano, los ojos, controlan los ciclos luz-oscuridad; y la glándula pineal, como expresión de ritmicidad del sistema nervioso central, ambos pueden ser influidos por el campo magnético. Afirma que existe una relación entre ritmo circadiano y campos magnéticos.

Iniciamos el año 1991 con los trabajos de Coulton y Barker y de Koch y Koch, que no obtienen alteraciones del desarrollo significativas en los embriones de pollo expuestos a campos electromagnéticos.

Durante el año 1991 aparecen diversos estudios epidemiológicos de los campos magnéticos: London y cols., encuentran una relación no estadísticamente significativa entre enfermos de leucemia y su exposición a conducciones eléctricas, Bearwood afirma que los efectos en los seres vivos pueden deberse a la orientación de los componentes de las estructuras macromoleculares, y Foster pone de manifiesto que la gran disparidad de parámetros utilizados y los resultados que se barajan entre los diferentes trabajos no nos permiten afirmar que los campos electromagnéticos pueden producir cáncer. Juutilainen no aprecia alteraciones en humanos expuestos a los campos electromagnéticos habituales en nuestro medio.

A la misma conclusión llegan Chernoff, Rogers y Kavet, en la revisión bibliográfica que realizan en 1992.

En el estudio con embriones de pollo, Domínguez-Carmona obtiene efectos teratogénicos, específicos para la intensidad de campo de $1 \mu\text{T}$, aportando la idea que los efectos puedan ser dosis-dependientes.

En 1992 el equipo de trabajo de la doctora Piera expone embriones de pollo raza "White Leghorn" a campos electromagnéticos continuos de 18.1

y 36,1 mT, los sacrifican a los 5, 10 y 15 días y determinan el estadio (Hamburger-Hamilton), el peso y la talla. A los 5 días de incubación, todos los embriones muestran un estadio similar. A los 10 y 15 días, los embriones expuestos a 18,1 mT presentan un estadio significativamente superior a los expuestos a campo electromagnético de 36,1 mT. Sin embargo con respecto al peso y la talla no encuentran diferencias entre los embriones expuestos y los controles con excepción de los embriones de 15 días expuestos a 36,1 mT, que presentan un mayor peso y talla que los controles.

El mismo año 1992 Stevens relaciona el cáncer de mama, la glándula pineal y el campo electromagnético. La exposición a los cambios de luz y a campos electromagnéticos, produce una disminución en la producción de melatonina pineal, que se ha demostrado como supresora de tumores mamarios. Propone que la corriente eléctrica, en parte, eleva el riesgo de cáncer de mama en las sociedades industrializadas.

Martínez Soriano y cols. (1992), al igual que en estudios anteriores, observa una disminución significativa del número de barras sinápticas junto con los niveles de melatonina en pinealocitos de rata expuestas a un campo magnético de 52 Gs y 50Hz.

Walleczek describe una depresión de la actividad inmune "in vivo" debido a campos electromagnéticos de muy baja frecuencia.

Durante 1992 Reiter revisa en diversos trabajos los efectos de los campos magnéticos. Sugieren que la corriente eléctrica producida por un campo magnético (corrientes de Foucault) disminuyen el metabolismo de las indolaminas y pueden ser un factor causal importante en los cambios metabólicos medidos. Describe que la producción y secreción de melatonina por la glándula pineal informa de los cambios temporales, diarios y anuales al resto del cuerpo. En los mamíferos el ritmo circadiano de la melatonina con niveles bajos durante el día y altos por la noche,

está sincronizado por el ciclo luz-oscuridad a través de la información recibida por los fotorreceptores de la retina. La magnitud del descenso de melatonina circulante por la exposición a la luz por la noche, se relaciona con la intensidad y la longitud de onda de la luz. Además de la luz visible, la luz ultravioleta y los campos eléctrico magnéticos de extrema baja frecuencia, pueden alterar el ritmo de melatonina. Esto influiría en el funcionamiento de diversos sistemas del organismo (reproductor, endocrino, inmune, sobre el crecimiento tumoral y sobre el estado de ánimo).

En el tema del efecto celular de las radiaciones electromagnéticas, destaca en 1993 el estudio de Adey, donde afirma que las membranas celulares son las responsables de los efectos biológicos de los campos electromagnéticos, dado que las radiaciones amplifican el movimiento iónico transmembrana del ión calcio, así como el transporte intracelular de hormonas y de neurotransmisores.

Moses y Martin estudian en 1993, embriones de pollo expuestos a campos magnéticos de 60 Hz y 4 μ T durante los 3 primeros días de incubación y detectan en los expuestos una reducción significativa del nivel de 5'nucleotidasa. En otro trabajo describen disminución de los valores de acetilcolinesterasa en el cerebelo de embrión de pollo, pero no en el córtex cerebral.

Yaga y cols. (1993), observa sensibilidad de la glándula pineal de rata a los campos magnéticos en todo el fotoperíodo.

Matsushima y cols. (1993), estudia la relación de los campos electromagnéticos alternos con el volumen pineal y el tamaño de los pinealocitos de la rata, de modo que estos últimos presentan un tamaño inferior en las ratas expuestas.

Zhang, Tabrah y Whittow, estudia embriones de pollo "White Leghorn" expuestos a campos electromagnéticos de 0,05, 0,1 y 0,2 ,y 60 Hz. Observan un aumento de tamaño y un mayor consumo de oxígeno en los embriones expuestos a 0,2 mT, destacando el desarrollo de los músculos pectorales y las deformidades del globo ocular. A 0,1 mT el desarrollo visceral es menor. Y a 0,05 mT (que es la intensidad del campo magnético terrestre), no se aprecian diferencias con respecto a los controles. Nos encontramos con otros autores que hablan de un "efecto ventana".

Cox y cols., realiza en 1993 un estudio similar al de Juutilainen en 1986 pero obtiene resultados contrarios, al no presentar diferencias significativas entre pollos expuestos y controles.

En el año 1993 también se publican estudios epidemiológicos sobre efectos de los campos electromagnéticos en humanos, como el de Liburdy y cols., que apunta a una estimulación de las células del cáncer de mama por campos de intensidades de 0,0002 y 0,0012 mT; Shaw y Croen destacan un aumento de abortos en mujeres que utilizan el video.

Reiter en 1993 y 1994^{a,b} publica cinco revisiones de trabajos en los que se estudian los cambios neuroendocrinos y neuroquímicos asociados a los campos electromagnéticos, resumen que en los vertebrados la exposición de luz por la noche presenta una caída de los niveles de melatonina, normalmente altos por la noche. La exposición a campos eléctricos o magnéticos sinusoidales o estáticos pulsátiles, también reduce la producción de melatonina pineal. La melatonina tiene diversas funciones en el organismo; así la reducción de la melatonina durante la noche, aumenta la vulnerabilidad de las células a los agentes carcinógenos. Cree plausible que la exposición a campos electromagnéticos artificiales, al reducir los niveles de melatonina, puede aumentar la incidencia de cáncer en los humanos.

Llegados al año 1994, Hendee y Boteler, recomiendan evitar una larga exposición a los campos electromagnéticos de baja frecuencia por su posible función como promotores del cáncer y los destaca como más activos que los campos eléctricos.

El mismo año, Loscher y cols., estudia la relación entre los campos electromagnéticos de extrema baja frecuencia y la producción nocturna de melatonina con la carcinogénesis mamaria en la rata. Siguiendo la misma línea de investigación, Kato y cols., demuestran que con un aumento de la intensidad del campo aplicado hay una reducción hormonal superior, siguiendo una relación inversamente proporcional. Yellon observa una reducción en la producción pineal de melatonina en hamsters expuestos a campos electromagnéticos de 0,1 mT, siendo esta reducción proporcional al tiempo de exposición.

Schneider, Thalau y Semm, en cambio, sólo describen disminución de los niveles de melatonina en aves a las que se expone a un campo magnético al que se le ha variado la intensidad y el componente horizontal del campo, no presentando alteraciones en aquellas aves expuestas a una sola variación del campo.

Bartsch y cols. (1994), también sugiere una posible relación entre la producción estacional de melatonina pineal de rata con el componente horizontal del campo magnético terrestre.

Durante este año 1994, se dedican diversos estudios de los efectos embriológicos de los campos electromagnéticos: Sienkiewicz y cols., no pueden demostrar efectos teratogénicos de campos de 20 mT en ratas embarazadas.

Úbeda y cols., expone embriones de pollo a campos electromagnéticos pulsátiles de 100 Hz y 1 μ T durante las primeras 48 horas de incubación, obteniendo un aumento significativo de malformaciones congénitas y

sobretudo una alta tasa de mortalidad precoz en los expuestos respecto a los controles. Yip y cols., también muestran diferencias significativas entre los embriones de pollo de 6 días expuestos a 1.5 T y los controles.

Lee y cols., en 1995, estudian ovejas púberes expuestas a campos eléctricos y a campos magnéticos sin apreciar modificaciones en los niveles de melatonina.

En el mismo 1995, Svedenstal y Johanson aplican un campo magnético de 20 kHz y 15 μ T en ratones embarazadas, observa disminución en el peso y la longitud de los embriones expuestos pero sin presentar diferencias estadísticamente significativas.

Chiang y cols., observa mayores efectos teratogénicos en ratones expuestos a un campo magnético combinado con un agente teratogénico como es la citosina arabinósido.

Selmaoui y Touitou (1995), estudian los niveles de N-acetiltransferasa, hidroxindol-O-metiltransferasa y melatonina en ratas expuestas a campo magnéticos sinusoidales. Concluyen que los campos magnéticos sinusoidales afectan la actividad NAT y melatonina que depende de la intensidad y la duración de la exposición.

Diversos estudios epidemiológicos intentan demostrar, durante 1995, la relación entre la exposición ambiental continuada a los campos electromagnéticos y la aparición de procesos malignos, como leucemia, linfoma, melanoma maligno, tumores del sistema nervioso central y / o cánceres hormonodependientes. Autores como Hardell y cols. afirman que la exposición continuada comporta un incremento de riesgo de sufrir enfermedades cancerosas. No obstante, la asociación causa-efecto aún no se puede demostrar científicamente, a pesar de que hay una base epidemiológica a su favor. Levallois afirma que la relación es dosis dependiente.

Sobel y cols., sin embargo, observan una mayor proporción de enfermos de Alzheimer entre trabajadores expuestos a campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja.

Llegados a 1996, Bergiannaki, Papanigopoulos y Stefanis, observan diferencias estacionales en la excreción de melatonina en humanos que se correlacionan con la variación del ritmo día-noche y las fluctuaciones del componente vertical del campo magnético en las distintas estaciones.

Selmaoui, Lambrozo y Touitou, en 1996, detectan una disminución en la producción nocturna de melatonina en roedores expuestos a campos magnéticos de 50 Hz, y 10 μ T, pero no observan alteraciones en los humanos expuestos a los mismos campos. Los mismos resultados en humanos obtuvo Graham y cols., con intensidades de 20 mT.

Mevissen y cols. (1996), exponen ratas a campos magnéticos de 50 Hz y 10 mT y 5 mT, obteniendo un aumento no significativo estadísticamente de los tumores mamarios en las expuestas con respecto a los controles.

Así mismo, Stevens y Davis, en 1996 publican una revisión de los estudios que relacionan los campos electromagnéticos con el cáncer de mama, a través de las variaciones en los niveles de melatonina, con evidencias indirectas pero sin relación directa.

En 1997, Vollrath y cols., publican que en hamsters expuestos a un campo de 900 MHz no se observa afectación en la secreción de melatonina.

Stark y cols., tampoco aprecian alteraciones significativas en la secreción salivar de melatonina en vacas expuestas a campos electromagnéticos de 3 a 30 MHz, producidos por un radiotransmisor.

Piera y cols. (1997), estudian el desarrollo del tejido óseo del embrión de pollo, sometido a la acción de campos electromagnéticos continuos de 18

y 36 mT. Observan un incremento en los procesos de diferenciación y maduración embrionaria, una mayor densidad celular a los 5 días y menor a los 10 días de incubación, sobre todo a nivel epifisario proximal y diafisario, con una mayor diferenciación ósea a partir de los 10 días de incubación. Estas diferencias son más evidentes a la intensidad de 18 mT.

En 1998, Touitou y cols., realizan un trabajo de los efectos de los campos de 10 μ T en la glándula pineal de ratas y humanos, si bien observan alteraciones en las ratas, considera que el campo no afecta en el ritmo circadiano de secreción de melatonina de los humanos.

Reiter (1998), realiza una revisión en la que considera asumido que la secreción de melatonina está suprimida en los mamíferos expuestos a campos electromagnéticos. Propone que la reducción de melatonina en suero (que en algunos casos no se acompaña de cambios en la producción pineal) puede ser el resultado de un aumento de gasto y utilización de la melatonina como neutralizador de los radicales libres.

Por otro lado, Rosen, Barber y Lyle (1998), cultivan pinealocitos de roedores y los exponen a un campo alterno de 0,05 mT y 60 Hz, a otro continuo de 0,06 μ T y en ambos describen una reducción significativa de la secreción de melatonina respecto a los controles, por lo que concluyen que los campos electromagnéticos afectan concretamente a los pinealocitos.

En España, Picazo y cols., observa disminución de la secreción de melatonina en 3 generaciones consecutivas de ratones expuestos a campos electromagnéticos de 15 μ T.

Zecca y cols., exponen ratas a campos de 5 μ T y 100 μ T, no observa alteraciones morfológicas generales, en hígado, corazón, ganglios

linfáticos, médula ósea ni testes. Pero sí en el grupo de $100\mu\text{T}$ en los niveles de norepinefrina de la pineal y en el córtex frontal.

Otros efectos descritos de los campos electromagnéticos son, como describe Mevisen y cols., alteraciones en la respuesta mitogénica de las células T.

Dicarlo, Farrell y Litovitz (1998), observan que los embriones de pollo expuestos a un campo electromagnético de 60 Hz presentan menor mortalidad inducida por anoxia.

También aparecen durante el año 1998 estudios en los que no se aprecian alteraciones debidas a los campos electromagnéticos, como son los de John, Li y Brown en ratas expuestas a 1 mT y de Löscher, Mevisen y Lerchl en ratas bajo 100 mT.

Coogan y Aschengran (1998), no aprecian relación con el cáncer de mama en mujeres expuestas a diversos campos habituales en su medio.

En 1999 Menéndez teoriza sobre el efecto biológico de los campos electromagnéticos que actuarían alterando los grupos cargados de los aminoácidos y por tanto la síntesis de proteínas.

Zhu y cols. (1999), no observa relación entre el uso de mantas eléctricas o camas de agua caliente con la aparición de cáncer de próstata.

También en 1999^b, Jové y cols., describen que las glándulas pineales de embriones de pollo de 5 días expuestos a un campo electromagnético continuo de 18 mT tienen un estadio de desarrollo más avanzado que los controles o los expuestos a 36 mT. En embriones de 15 días, las glándulas pineales de los expuestos son menores en sus valores morfométricos respecto a los controles y estos resultados son estadísticamente significativos. En otro trabajo publicado por el mismo equipo, Piera y cols. (2000), estudian los cambios en la morfología y

densidad de las vesículas pineales del embrión de pollo, sometido a las mismas intensidades de campo electromagnético; los resultados muestran un estímulo de la maduración y desarrollo de la glándula. Sugieren que los campos electromagnéticos continuos afectan al desarrollo de los embriones de una forma desigual según la intensidad de campo, la duración de la exposición y el órgano estudiado.

Graham y cols. (2000), realizan un estudio randomizado y a doble ciego en treinta hombres jóvenes expuestos durante 4 noches consecutivas a un campo magnético de 28,3 μT a los que se controlaban los niveles de melatonina. Sugieren un posible efecto acumulativo de los campos magnéticos sin ser estadísticamente significativo.

Bruls, Crasson y Legros (2000), hacen una revisión de la fisiología de la secreción de melatonina en mamíferos, entre otros factores destacan la asociación de los campos electromagnéticos y disminución de la secreción de melatonina.

En 2001 Crasson y cols., realizan un estudio similar en 21 hombres expuestos a 100 μT sin apreciar variaciones significativas en la secreción de melatonina.

En 2002, Toman, Jedlicka y Broucek, exponen huevos de pollo a un campo electromagnético de 0,07 mT manifestando un menor peso de los pollos nacidos en los grupos expuestos respecto a los controles con diferencias estadísticamente significativas.

En los últimos años, son muchos los trabajos que relacionan los campos electromagnéticos de distintos tipos e intensidades, con la disminución de la secreción de melatonina en distintas especies animales. Karasek y Lerchl (2002), y Warman y cols. (2003), atribuyen a esta disminución, un efecto oncogénico. En el año 2003, describen estos efectos en ratas diversos autores: Tripp Warman y Arendt; y Lewy, Massot y Touitou.

Cañedo, Cantú y Hernández (2003), exponen ratas gestantes a campos electromagnéticos de baja frecuencia, cuantifican los niveles de serotonina en el córtex cerebral y en la glándula pineal, siendo elevados en el córtex pero no encuentran cambios significativos en la pineal.

Karasek y Woldanska-Okonska (2004), relacionan los campos electromagnéticos con el sistema endocrino humano y apuntan la relación entre la disminución de melatonina y la aparición de ciertas neoplasias. Simkó y Mattsson (2004), profundizan en el tema y añaden que la relación que existe, sea debida al aumento de los radicales libres.

Del exhaustivo análisis bibliográfico realizado podemos apreciar que el espectro electromagnético es considerablemente grande y que existen múltiples factores (ambientales y secundarios a los campos electromagnéticos), que pueden influir en el desarrollo embriológico de las especies sometidas a su influjo.

El electromagnetismo, es un concepto que incluye: las radiaciones electromagnéticas, los campos electromagnéticos (alternos y continuos), las ondas electromagnéticas, campos eléctricos y campos magnéticos. La heterogeneidad de campos electromagnéticos, la gran variedad de aparatos capaces de generarlos y su propia capacidad para alterar algunas de las condiciones normales de incubación, ha dado lugar a una gran disparidad en los resultados obtenidos. Es importante, homogeneizar los estudios que se realicen para poder comparar los resultados obtenidos ya que en la mayoría de trabajos efectuados hasta el momento siempre existen parámetros diferentes y diferenciales (tipo de campo, intensidad del mismo, etc.). Por otro lado, un problema con el que nos encontramos frecuentemente en las revisiones bibliográficas, es el de no conocer de que modo se han solventado las modificaciones que generan los campos electromagnéticos sobre las condiciones normales de incubación

(temperatura, grado de humedad, vibraciones, etc.) y que por si solas, son capaces de provocar alteraciones en el desarrollo.

En la serie de estudios que hemos llevado a cabo, se ha utilizado un campo electromagnético continuo y homogéneo, que ha permitido mantener constantes y dentro de los estándares, todas las condiciones de incubación de los embriones, siendo la inducción electromagnética aplicada, el único factor que es variado (a voluntad), en las distintas etapas experimentales. El generador de campo electromagnético continuo diseñado se ha introducido en el interior de la incubadora correspondiente y en la que se realizan las modificaciones necesarias para que las condiciones estándar de incubación no resulten alteradas.

Los resultados obtenidos por nuestro grupo investigador demuestran que los campos electromagnéticos continuos son capaces de modificar los procesos de maduración y crecimiento de un organismo en desarrollo como es el embrión de pollo. Los cambios detectados no son uniformes y varían en función del órgano/sistema estudiado, la intensidad del campo aplicada y los días de incubación.

En los estudios sobre la glándula pineal los resultados nos orientan hacia un posible efecto acumulativo de la acción de los CEMc aplicados, que varía en función de la intensidad de campo aplicado. El hecho de que en estudios realizados previamente, sobre órganos/sistemas distintos a la glándula pineal, aportaran resultados similares nos hizo postular la posible existencia de un “efecto ventana” en la acción de los CEMc como ya habían apuntado otros autores (Mulay y Mulay, 1964; Adey, 1980; Ubeda y cols., 1983; Blackman y cols., 1985).

En los estudios previos solo se han utilizado dos intensidades de CEMc. Para poder esclarecer la existencia o no del denominado “efecto ventana” nos parece necesario ampliar el abanico de intensidades de CEMc a

aplicar, situándolo por encima y por debajo de las utilizadas hasta el momento.

Por lo que respecta a los días en los que se analizan los posibles efectos de los CEMc hemos observado que, de los tres periodos estudiados (5, 10 y 15 días) los efectos más evidentes aparecen en la etapa intermedia del desarrollo. Al plantearnos el estudio actual mantenemos los periodos intermedios y sustituimos la etapa de los 5 días (en la que los cambios detectados han sido mínimos), por la de 21 días (momento de eclosión) con la finalidad de conocer la evolución de los efectos detectados en las etapas anteriores.

Al igual que se ha realizado en otros trabajos, y de forma previa al estudio sobre la glándula pineal, se analizarán los efectos que los distintos campos aplicados sobre el desarrollo pondoestatural de los embriones.