

————— *Artículos Originales* —————

**Determinación de la permitividad y conductividad eléctricas a la frecuencia de microondas de varios tejidos de rata tratadas con cadmio\***

O. GARCÍA-ARRIBAS<sup>1</sup>, M. PÉREZ-CALVO<sup>1</sup>, S. MUÑOZ<sup>2</sup>, J.M. ESCRIBANO<sup>3</sup>, J.M. MIRANDA<sup>2</sup>, M. SANCHO<sup>2</sup>, J.L. SEBASTIÁN<sup>2</sup>, L.P. RODRIGUEZ<sup>4</sup>, J.A. GARRIDO<sup>1</sup>, B. RIBAS<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Toxicología, Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Sanidad y Consumo, 28220-Majadahonda, Madrid.*

<sup>2</sup> *Departamento de Física Aplicada III, Facultad de Físicas, Universidad Complutense, 28040-Madrid.*

<sup>3</sup> *Instituto de Cardiología, Comunidad de Madrid, 28040-Madrid.*

<sup>4</sup> *Departamento de Medicina Física y Rehabilitación, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.*

**RESUMEN**

Los campos electromagnéticos ambientales cada vez más presentes en el entorno, pueden afectar a los propios seres humanos y, según su intensidad (magnetoterapia), activar o modular procesos fisiológicos o inducir a posibles patologías. En este trabajo se pretende determinar las características fisicoquímicas (los parámetros permitividad ( $\epsilon$ ) y conductividad eléctrica ( $\sigma$ )) de varios tejidos de rata, mediante la aplicación de microondas de radiofrecuencia, ante variaciones en la concentración de cadmio (Cd) y comprobar si se pueden utilizar como indicadores

---

\* Este trabajo fue presentado en el Congreso Internacional de la URSI (International Union of Radio Science), Agosto 1999, Toronto, Canada, y fue galardonado con un "Young Scientist Award".

\*\* Autor a dirigir la correspondencia

del efecto específico de la presencia de cadmio, evaluar su efecto por la contaminación del entorno y cuantificar su acúmulo. Por consiguiente, se pretende aportar nuevos datos sobre los efectos de la toxicidad del cadmio en diversos órganos sistémicos y comprobar si existe sinergismo entre el efecto tóxico del cadmio (contaminante ambiental) y el de los campos electromagnéticos. Se utilizan dos grupos de ratas macho Wistar, uno control y otro tratado con Cd ( $\text{CdCl}_2$ ), con doce dosis (una por día) por vía intraperitoneal desde 0,1 a 1 mg Cd/Kg rata/día. Se extrae la sangre bajo anestesia con éter por punción cardíaca hasta su muerte, y se diseccionan los órganos. Se analizan diversos parámetros sanguíneos, y se congelan los órganos siguientes: hígado, riñones, pulmones, corteza cerebral, testículos, páncreas y músculo, en los que se determina la permitividad y conductividad. Se determinan los coeficientes de reflexión y transmisión de estas muestras a la frecuencia industrial de 2,45 GHz. Esta frecuencia está comprendida dentro del rango de las frecuencias de microondas. Los coeficientes de reflexión y transmisión se miden mediante un analizador de redes, se usa un estimulador HFSS de HP que determina la permitividad de un tejido que produjera los mismos valores de los coeficientes de reflexión y transmisión medidos experimentalmente. Los resultados muestran que en el caso del riñón e hígado los valores de  $\epsilon$  (permitividad) y  $\sigma$  (conductividad) son menores que en el control, lo que se puede explicar porque ambos órganos son los principales tejidos diana de la toxicidad del cadmio. Este elemento provoca disfunción en los túbulos proximales del riñón, y en el caso del hígado, el cadmio también se acumula en este órgano provocando daño hepático, un descenso de la integridad estructural de los hepatocitos y liberación de las transaminasas en el suero. Del análisis de sangre se observa que el cadmio provoca un estado anémico, de forma que se produce una disminución de los valores de hematocrito y hemoglobina con respecto a los controles.

**Palabras Clave:** Cadmio.—Toxicidad.—Permitividad.—Conductividad.—Microondas.—Radiofrecuencia.—Campos magnéticos.

### SUMMARY

#### Determination of permittivity and conductivity in several rat tissues treated with cadmium.

In this work we pretend to determine two physical parameters permittivity ( $\epsilon$ ) and conductivity ( $\sigma$ ) in several rat tissue, control and treated with cadmium (Cd), applying electromagnetic fields of radiofrequency and to check if these parameters can be used as indicators of cadmium toxicity and presence in the environment in certain organs. There are used two groups of male Wistar rats, a control group and the one treated with cadmium ( $\text{CdCl}_2$ ), with twelve single intraperitoneal increasing doses from 0,1 to 1 mg Cd/Kg rat/day. After blood extraction under ether anesthesia the animals died and several biochemical and haematological parameters are analyzed. The dissected organs are: brain cortex, testes, kidney, liver, pancreas, lungs and muscle, which are submitted to determine the  $\epsilon$  and  $\sigma$ , mea-

asuring the reflection and transmission, complex coefficients of these biological samples at the industrial frequency of 2.45 GHz. This frequency is included in the range of microwave frequencies. The reflection and transmission coefficients are measured with a network analyzer. We use a HP HFSS simulator that determines the permittivity of a tissue that would produce the same values for reflection and transmission coefficients obtained experimentally. Results show that in liver and kidney there is a decrease in the  $\epsilon$  and  $\sigma$  compared to the controls. The changes in the kidney can be explained because the renal cortex is the major target tissue for cadmium toxicity, provoking proximal tubular dysfunction. In liver, cadmium also accumulates inducing hepatic damage, with an increase of both transaminases in serum and the decrease of the structural integrity of hepatocytes. Blood analysis show that cadmium induces an anaemic state, with a decrease in hemoglobin and hematocrite values in comparison to the controls.

**Keywords:** Cadmium.—Toxicity.—Permittivity.—Conductivity.—Radiofrequency.—Microwave.—Electromagnetic fields.

## INTRODUCCIÓN

Un ser vivo está compuesto por una compleja estructura de tejidos biológicos con propiedades eléctricas diferentes (permitividad dieléctrica  $\epsilon$  y conductividad  $\sigma$ ). Tanto los tejidos como las células están expuestos a metales pesados y tóxicos químicos que los pueden afectar hasta el punto de que sus propiedades eléctricas pueden verse alteradas y los tejidos biológicos implicados no pueden realizar su función adecuadamente. También estas propiedades son en gran parte responsables de la interacción de los campos electromagnéticos con moléculas y estructuras biológicas supramoleculares. Así un valor elevado para la permitividad implica un considerable efecto protector para el campo eléctrico, aunque la conductividad origina la circulación de corrientes inducidas en tejidos. Además es posible que los efectos de metales pesados puedan combinarse con los de los campos electromagnéticos medioambientales, produciendo efectos adversos en la salud.

Se han realizado estudios en los que se ha comprobado que la exposición a campos magnéticos estáticos (SMF) y campos magnéticos de muy baja frecuencia (ELF-MF) influyen en la actividad bioeléctrica neuronal, en los que está implicado el calcio citosólico (1 a 3). También se han estudiado las propiedades dieléctricas de teji-

dos biológicos aplicando campos electromagnéticos (4,5). Es conocido, que las microondas de la gama de frecuencia mencionada penetran en los tejidos expuestos y producen calor, debido a la absorción de energía por las células. La profundidad de la penetración depende de la frecuencia del campo, y es mayor para las bajas frecuencias. El calor inducido es neutralizado por los procesos de regulación homeostática de los seres vivos.

Por todo ello, se trata en este trabajo de aportar algunos datos sobre las características fisicoquímicas de los tejidos, permitividad y conductividad, mediante la aplicación de microondas de radiofrecuencia, ante variaciones en la concentración de cadmio. En el organismo humano existen situaciones patológicas, en las que también varían las concentraciones de diversos metales, Fe, Cd, Hg, Pb, como es conocido en Toxicología y Medicina del Trabajo. Se trata de experimentos fundamentales, para conocer la variación de propiedades de los tejidos ante las ondas de radiofrecuencia, en presencia de agentes naturales, químicos ambientales, y siguiendo los consejos del Parlamento Europeo (6).

Este trabajo tiene dos objetivos. El primero es la determinación de la variación de las propiedades eléctricas de órganos tratados con cadmio. Para este propósito, se mide la permitividad dieléctrica compleja de muestras de tejido de rata, a la frecuencia industrial de 2,45 GHz. También se relacionan las variaciones observadas en la  $\epsilon$  y  $\sigma$  con los parámetros bioquímicos y enzimáticos encontrados en el análisis de sangre. El segundo objetivo de este trabajo es mostrar una técnica sencilla y útil para la evaluación de la toxicidad de distintas sustancias químicas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales de experimentación

Se emplean ratas macho de raza Wistar con pesos comprendidos entre 170 y 200 g mantenidas en jaulas metabólicas, y alimentadas con pienso estándar y agua "ad libitum". Se utilizan dos grupos de 5 ratas, uno de ellos control y otro tratado con cadmio. Los grupos de animales se mantienen en las mismas condiciones.

Un grupo de ratas se trata con Cd en la forma química de  $\text{CdCl}_2$  (Merck). Se prepara una disolución estéril de  $\text{CdCl}_2$  1 mg/ml, que se inyecta por vía intraperitoneal con una dosis creciente de 0,1 a 1 mg Cd/kg rata/día, durante 12 días.

### **Determinación de parámetros permitividad y conductividad**

#### *Disección de tejidos*

Los animales son sacrificados por extracción total de sangre mediante punción cardíaca, bajo los efectos de la anestesia con éter. Una vez sacrificados se diseccionan los tejidos y se extraen los órganos, concretamente pulmones, hígado, riñones, testículos, páncreas, corteza cerebral y tejido muscular de la zona femoral. De todos los órganos se hacen cortes de aproximadamente 2 mm de espesor y se guardan en placas petri a 0°C hasta la determinación de los parámetros físicos permitividad y conductividad.

#### *Calibración y puesta a punto del sistema experimental de medida*

El sistema experimental para radiación y caracterización de muestras que se ha montado consta de un analizador de redes (VNA) HP 8720 que permite medidas en el margen de frecuencia 50 MHz-21 GHz y dos transiciones guía/coax de muy baja razón de onda estacionaria. Para la calibración del sistema en guía de ondas a la frecuencia de trabajo de 2,45 GHz se construye una sección guía tipo WR 430 útil para trabajar en el rango de 1,7-2,6 GHz, de 34 cm de longitud total, pudiéndose variar su longitud mediante un cortocircuito variable con objeto de fijar los planos de referencia adecuados.

#### *Célula de medida*

Para la radiación y caracterización de muestras biológicas se diseña una célula de medida formada por: a) una sección de guía WR 430 de aluminio altamente pulido de 5,4 cm de longitud y b) un

portamuestras constituido por dos bloques de metacrilato pulido con una cavidad rectangular de dimensiones: largo 54 mm, ancho 11 mm y alto 2 mm. Dentro de esta cavidad rectangular es donde se va a introducir la muestra biológica. Para la calibración del sistema de medida la muestra cortada de tejido biológico se reemplaza por una pieza de metacrilato de las mismas dimensiones.

La caracterización experimental se realiza midiendo los coeficientes complejos de reflexión  $s_{11}$  y transmisión  $s_{21}$  de las muestras biológicas a la frecuencia industrial de 2,45 GHz. Para ello los cortes de la muestra biológica se colocan en la cavidad rectangular del portamuestras rellenando todo el espacio, sin que quede ningún hueco y todo ello en la sección de guía WR 340. Los coeficientes complejos de transmisión y reflexión de la muestra biológica en el rango de radiofrecuencias se miden usando un analizador de redes (VNA) de tipo HP 8720.

#### *Medida de la permitividad y conductividad*

La misma estructura (tejido dentro de la guía de ondas) fue analizada usando el simulador HP HFSS. El simulador hace posible determinar el valor de la permitividad dieléctrica y conductividad de un tejido que produciría los mismos valores para los coeficientes de reflexión y transmisión que habían sido determinados experimentalmente.

#### *Análisis de Sangre*

La sangre extraída de cada animal se recoge en dos tubos de plástico uno de ellos con EDTA (Vacutainer), para realizar recuentos celulares, al que se añade un volumen de 2 ml de sangre, y otro que contiene 2 ml de Gel PST<sup>TM</sup> y heparina-litio, al que se añaden 4 ml de sangre. Este tubo se centrifuga a 2500 rpm durante 7 min, y en el sobrenadante sérico, se analizan los parámetros bioquímicos y las enzimas. Las muestras de sangre obtenidas de los animales control y de los tratados con cadmio, se someten a los siguientes análisis:

- a) Hematológicos: glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.

b) Bioquímicos: glucosa, urea, proteínas totales, albúmina en sangre, bilirrubina total, magnesio, calcio sérico y fósforo.

c) Enzimáticos: transaminasas: GOT, GPT, Gamma-GT, LDH, CPK.

## RESULTADOS

La tabla 1 muestra los valores experimentales de la permitividad y conductividad (S/m) para los tejidos de rata control y los tratados con cadmio.

Los valores vienen expresados con su media y  $\pm$  DS.

TABLA 1  
*Valores experimentales de permitividad y conductividad.*

TEJIDO	CONTROL		CADMIO	
	$\epsilon$	$\sigma$	$\epsilon$	$\sigma$
RIÑÓN	49,84 $\pm$ 1,09	1,77 $\pm$ 0,21	44,17 $\pm$ 0,98*	1,08 $\pm$ 0,10*
HÍGADO	42,6 $\pm$ 0,96	1,52 $\pm$ 0,08	42,50 $\pm$ 0,8**	1,35 $\pm$ 0,18**
PULMÓN	47,36 $\pm$ 0,69	1,64 $\pm$ 0,09	40,75 $\pm$ 1,33**	1,19 $\pm$ 0,09*
MÚSCULO	49,5 $\pm$ 0,64	1,77 $\pm$ 0,05	45,67 $\pm$ 1,37*	1,10 $\pm$ 0,09*
PÁNCREAS	41,7 $\pm$ 0,78	1,58 $\pm$ 0,09	51,99 $\pm$ 1,04*	1,20 $\pm$ 0,13*
TESTÍCULOS	51,0 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,05	54,5 $\pm$ 0,5	1,35 $\pm$ 0,15*

\*Diferencias muy significativas con respecto al grupo control ( $p < 0,001$ )

\*\*Diferencias significativas con el control ( $p < 0,05$ )

### Parámetros sanguíneos

En la Tabla 2 se representan los parámetros sanguíneos de ratas tratadas con cadmio y control.

TABLA 2

*Parámetros hematológicos, bioquímicos y enzimáticos.  
(Los valores medios son expresados con la desviación estándar ( $\pm$ DS)).*

PARÁMETROS	CONTROL	CADMIO
<b>Hematología</b>		
Hemoglobina (g/dL)	12,75 $\pm$ 0,35	9,97 $\pm$ 1,50
Hematocrito (%)	37,30 $\pm$ 0,8	31,8 $\pm$ 6,10
Plaquetas ( $10^3$ /mm <sup>3</sup> )	896 $\pm$ 48,9	1214 $\pm$ 41
Eritrocitos ( $10^6$ /mm <sup>3</sup> )	7,05 $\pm$ 0,49	5,7 $\pm$ 1
<b>Bioquímica</b>		
Proteínas totales (g/100mL)	6,3 $\pm$ 0,2	5,96 $\pm$ 0,61
Albumina (mg/100mL )	3,7 $\pm$ 0,12	2,35 $\pm$ 0,2
Urea (mg/100mL)	33 $\pm$ 2	39 $\pm$ 15,26
Ac. Úrico (mg/100mL)	2,4 $\pm$ 0,1	1,35 $\pm$ 0,25
Bilirrubina total (mg/100mL)	0,25 $\pm$ 0,05	0,575 $\pm$ 0,54
Glucosa (g/100mL)	166 $\pm$ 13	109 $\pm$ 3,5
Hierro sérico ( $\mu$ g/100mL)	259 $\pm$ 37	100,5 $\pm$ 28,84
Calcio sérico (mg/100mL)	11,7 $\pm$ 0,9	10,17 $\pm$ 1,17
Fósforo (mg/100mL)	7,5 $\pm$ 1,3	7,55 $\pm$ 0,25
Magnesio (mg/100mL)	2,2 $\pm$ 0,33	2,65 $\pm$ 0,47
<b>Enzimas</b>		
GOT (U/L)	93,5 $\pm$ 12,5	275,2 $\pm$ 17,3
GPT (U/L)	81 $\pm$ 12,9	47,75 $\pm$ 17
Gamma-GT (U/L)	0	2 $\pm$ 1,22
LDH (U/L)	252,5 $\pm$ 30,5	1004 $\pm$ 55,7
CPK (U/L)	277,5 $\pm$ 59,5	651,5 $\pm$ 58,4

## DISCUSIÓN

En los experimentos que se presentan en este trabajo se han encontrado diferencias estadísticamente significativas tanto para la permitividad como para la conductividad, entre los hígados tratados con cadmio y los controles. Estos resultados se corresponden con los parámetros sanguíneos, en los que se observa un aumento de la GOT y LDH que indica daño hepático por los efectos del cadmio. En el hígado el cadmio provoca fibrosis intralobulares, cirrosis y descenso de la integridad estructural de los hepatocitos. Además este



metal induce la síntesis de metalotioneína en hígado considerada como de defensa, por la asociación de cadmio y prevención de sus efectos tóxicos (7).

En los pulmones, la permitividad en las muestras de rata tratadas con cadmio ha mostrado diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. En cuanto a la conductividad, medida en la frecuencia de microonadas, se observa una disminución respecto a los controles. Los cambios significativos en la permitividad y conductividad tisular, pueden ser indicativos de la toxicidad de los metales pesados en los pulmones. Estudios previos con ratas expuestas a cadmio han mostrado que la toxicidad principal se diagnosticó en el sistema respiratorio, caracterizado por inflamación, necrosis y fibrosis pulmonar (8,9). El resultado del análisis de sangre muestra que las ratas tratadas con cadmio tienen unos niveles de hematocrito y hemoglobina por debajo de los valores normales debido a que el tratamiento con cadmio induce a anemia y afecta significativamente a la médula ósea, metabolismo de los eritrocitos y ciertas proteínas plasmáticas.

En el riñón también se han observado diferencias significativas en la permitividad y conductividad entre el grupo control y el grupo tratado con cadmio. El hecho de que el riñón, aparte del hígado, sea un órgano diana para la toxicidad y acumulación de numerosos metales, podría explicar los cambios observados en la permitividad compleja. En concreto, la corteza renal es el principal tejido que sufre lesión, nefrotoxicidad y acumula cadmio (10).

Las medidas de la permitividad en el páncreas de ratas tratadas con cadmio, mostraron diferencias muy significativas al ser comparadas con los controles.

Se sabe que este metal a grandes dosis puede provocar una disfunción pancreática, que afecta principalmente a los islotes de Langerhans que, en condiciones normales, elaboran la síntesis de insulina e inducen a su secreción, necesarias para la regulación del metabolismo de los carbohidratos. Además el páncreas se vuelve más suave, esponjoso y de un color que varía entre el marrón y marrón-rojizo. El cadmio y los demás metales pesados producen un aumento de la secreción de insulina provocando unos niveles muy bajos de azúcar en sangre.

En el músculo, se observa que el cadmio tiene una fuerte influencia en ambas, permitividad y conductividad. El calcio es muy importante en los procesos implicados en la contracción muscular, y en muchas ocasiones el cadmio puede sustituir al calcio y puede bloquear la función específica de sus proteínas, lo que conlleva a un mal funcionamiento del sistema muscular con el consiguiente bloqueo metabólico con daño y posterior lesión muscular. Además se observa un nivel elevado en sangre de la enzima creatinfosfoquinasa, indicadora de daño muscular, una de las fuentes de energía muscular, responsable de la síntesis de APT a partir de ADP.

En los testículos se produce un aumento de la permitividad y conductividad; el cadmio afecta a estos órganos ya que provoca edema intersticial en las células, hemorragia, reducción en la producción de andrógenos por las células de Leydig, necrosis de las células de Sertoli, inhibición de la espermatogénesis y atrofia testicular.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Fondo de Investigaciones Sanitarias, la ayuda N° 98/0050-02; y a la Comunidad Autónoma de Madrid la ayuda N° 08.8/0002/97, que han permitido la realización de este trabajo.

### BIBLIOGRAFÍA

- (1) REPACHOLI, M.H. (1998): Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs. *Bioelectromag.* 19, 1-19.
- (2) AZANZA, M.J., DEL MORAL, A. (1994): Cell membrane biochemistry and neurobiological approach to biomagnetism. *Prog. Neurobiol.* 44, 517-601.
- (3) AZANZA, M.J., DEL MORAL, A. (1996): Isolated neuron amplitude spike decrease under static magnetic fields. *J. Magn. Magn. Mat.* 157-158, 593-594.
- (4) GABRIEL, C., GABRIEL, S., CORTHOUT, E. (1996): The dielectric properties of biological tissues: I. Literature Survey. *Phys. Med. Biol.* 41, 2231-2249.
- (5) GABRIEL, S., LAU, R. W., GABRIEL, C. (1996): The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues. *Phys. Med. Biol.* 41, 2271-2293.
- (6) Diario Oficial de las Comunidades Europeas, N° C 205/440, Documento N° A3-0238/94, del 5 Mayo de 1994.

- (7) SÁNCHEZ REUS, M.I., INIESTA, M.P. and RIBAS, B. (1991): Metallothionein 1 a molecular marker in cadmium nephrotoxicity. *Toxicol. Environ. Chem.* 30, 63-67.
- (8) LATIN, WO L.M., IKEDIABI, C.O., SINGH, N.P., SPONHOLTZ, G., FASANYA, C. and RILEY L. (1997): Comparative studies of in vivo genotoxic effects of cadmium chloride in rat brain, kidney and liver cells. *Cell. Mol. Biol. Noisy. Le. Grand.* 43, 203-21
- (9) CALABRESE, E.J., KENYON, E.M. (1991): Lewis Publishers. Chelsea, M.I.
- (10) WAALKES, M.P., COOGAN, T.P., BARTER, R.A. (1993): Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. *Crit. Rev. Toxicol.* 22, 175-201.