

# DISPOSITIVO EXPERIMENTAL PARA EXPOSICIONES DE GSM A 900 MHz Y SU APLICACIÓN AL ESTUDIO DE RATAS EPILÉPTICAS

E. López Martín, F.J. Jorge Barreiro  
Dpto. de Ciencias Morfológicas  
Univ. de Santiago de Compostela  
e-mail: [cmelena@usc.es](mailto:cmelena@usc.es)

A. Trastoy Ríos, F.J. Ares Pena, E. Moreno  
Dpto. de Física Aplicada  
Univ. de Santiago de Compostela  
e-mail: [faares@usc.es](mailto:faares@usc.es)

J.L. Sebastián Franco  
Dpto. de Física Aplicada III  
Univ. Complutense de Madrid  
e-mail: [jlsf@fis.ucm.es](mailto:jlsf@fis.ucm.es)

B. Ribas Ozonas  
Dpto. de Toxicología Ambiental  
Instituto de Salud Carlos III  
e-mail: [ribas.ozonas@isci.iii.es](mailto:ribas.ozonas@isci.iii.es)

**Abstract-** In this paper, an animal model of epilepsy, eight rats administered with a subconvulsive dose of picrotoxin, exposed to a GSM-modulated 900 MHz signal during a period of 2h are studied. For this purpose, an experimental set up suitable for controlled RF radiation in small mammals has been designed. The system consists of a metallic cage housing a metacrylate device for immobilisation of the animal and two antennas for transmission and reception respectively. Microwave circuitry is used to measure the power supplied to irradiate the animal and to control any possible spurious radiation inside the cage. The different experimental power values are used in the calculation, using a commercial FDTD application and a numerical rat phantom, of the 1-g averaged peak SAR (Specific Absorption Rate) and mean SAR values in the brain. Morphological results show that rats treated with picrotoxin and exposed to RF fields have higher levels of neuronal activity marker c-Fos than the untreated animals.

## I. INTRODUCCIÓN

Con el avance de las nuevas tecnologías se han incrementado notablemente las fuentes de contaminación electromagnética en la vida diaria del ser humano. La gran expansión de las comunicaciones inalámbricas ha supuesto una demanda continuada en la utilización del móvil así como un aumento notable en el número de usuarios. Todo ello ha abierto un debate sobre los posibles efectos que la emisión de las ondas electromagnéticas de la telefonía móvil podría causar en la salud humana.

Los sistemas experimentales radiantes en los que se expone a animales a radiofrecuencia (RF) de telefonía móvil son modelos bioelectromagnéticos de laboratorio que aportan importantes datos sobre los efectos de las radiaciones no ionizantes en los seres vivos. En estudios previos “in vivo” realizados con ratas u otros pequeños mamíferos, se ha utilizado un dispositivo experimental [1], que proporciona

una fácil manipulación de los animales y unos niveles de estrés razonablemente bajos además de aislamiento electromagnético para evitar problemas de interferencias. Además la dosimetría asociada a este dispositivo experimental fue estudiada usando cadáveres de ratas y modelos (*phantoms*) [2] y también modelos numéricos de ratas [3]. Sin embargo este sistema no permite la medida de la potencia absorbida por el animal, aunque se puede utilizar una simulación para predecir la potencia absorbida [3].

La proximidad del teléfono móvil a la cabeza y el incremento en el tiempo que éste se utiliza, son argumentos que han promovido numerosos estudios experimentales hacia el análisis de los efectos de las microondas en la actividad cerebral. En éste sentido se han observado alteraciones neurofisiológicas mediante determinaciones electroencefalográficas [4] y alteraciones en la neurotransmisión a la exposición controlada de animales y humanos [5]. La población epiléptica debido a la gran inestabilidad electroquímica de sus neuronas, es un grupo de especial interés [6] para el estudio de la interacción bioeléctrica en el tejido cerebral.

Con objeto de entender mejor la influencia de campos de RF en este tipo de inestabilidad, se ha diseñado y construido un sistema experimental que proporciona una exposición a la radiación RF confinada a las regiones de interés, evitando señales espurias, y que permite la medida de la potencia absorbida por el animal. Además del diseño y montaje experimental, se ha realizado una simulación numérica del sistema usando una aplicación comercial de FDTD que nos permite estimar los valores de SAR de los animales radiados usando los valores de potencia medidos.

Este sistema se ha utilizado para la exposición controlada de ratas con un modelo subclínico de epilepsia obtenido con dosis subconvulsivas de picrotoxina [7] con RF GSM de 900 MHz. Los estudios experimentales se complementan con el estudio morfológico de los cerebros de los animales con un marcador neuronal (c-Fos) [8] que informa del grado de activación neuronal.

## II. DISPOSITIVO EXPERIMENTAL

El montaje experimental que se ha desarrollado permite radiar animales de laboratorio con señales RF que presentan unos valores de frecuencia, intensidad y modulación preestablecidos.

El sistema (ver Fig. 1) consiste en un Dispositivo No Metálico (DNM en la figura) que se coloca dentro de una caja metálica diseñada con unas dimensiones lo suficientemente grandes como para evitar al animal estrés adicional no deseado; un generador de señales conectado a un amplificador proporciona la señal de RF a una antena transmisora (AT en Fig. 1). La antena receptora (AR en Fig. 1) se conecta a un analizador de espectro para monitorizar el campo, asegurar su estabilidad y la ausencia de campos espurios. Los acopladores direccionales insertados en los caminos de emisión y recepción, junto con unos sensores y medidores de potencia, permiten medir la potencia absorbida por el animal.

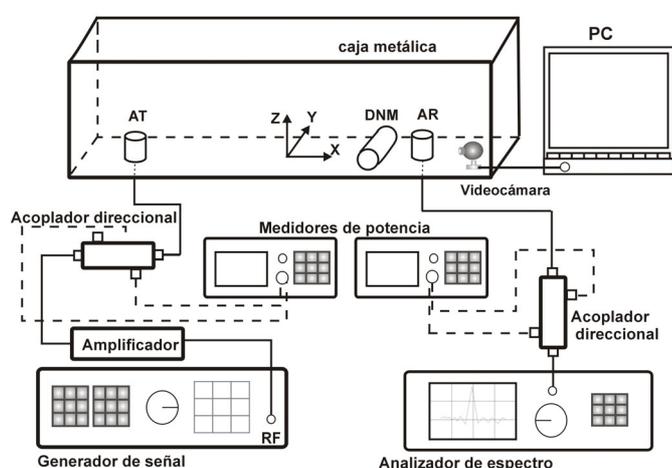


Fig. 1. Dispositivo experimental

Teniendo en cuenta la geometría del recinto y con objeto de determinar la posición óptima para irradiar el animal, se calculó la distribución de campo E en el interior de esta caja metálica, utilizando para ello un software comercial de FDTD [9]. En la simulación se modeló la antena transmisora como un monopolo  $\lambda/4$  y la región de radiación se limitó con un conductor perfecto (PEC). El dominio computacional fue de 0,5 millones de celdas 3-D y el estado estacionario se alcanzó después de 400 periodos sinusoidales, invirtiéndose aproximadamente 4h de tiempo computacional en un K7 Athlon XP a 1,533 GHz y 512 MB de memoria RAM. La Fig. 2 muestra la distribución de campo  $|E|$  dentro del recinto. Se observa que el campo resultante presenta máximos y mínimos locales. Esta información permite determinar con precisión la situación tanto de la antena receptora como del animal.

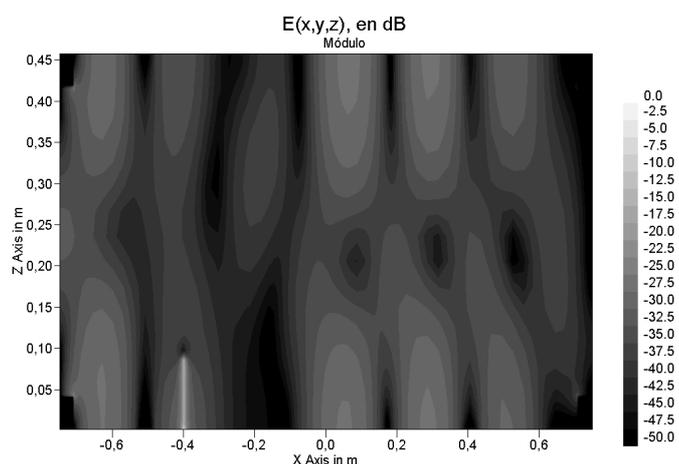


Fig. 2. Distribución de  $|E|$  en el interior de la caja metálica para la situación inicial (sólo AT en el interior de la caja). Corte y = 0.

Se construyó la caja (150×70×46 cm.) y se buscaron las posiciones de los máximos para colocar el animal y la antena receptora en el entorno de las posiciones obtenidas con la simulación. Con esta configuración se miden los valores de potencia entregada al sistema y recibida por la antena AR de modo que la potencia disipada en el sistema será la potencia entregada menos la potencia recibida por la antena receptora.

Posteriormente se introdujo el animal en el DNM y se volvió a medir las potencias entregada y recibida para obtener de nuevo la potencia disipada. La diferencia entre la potencia disipada con y sin animal será la potencia absorbida por el animal.

## III. METODOLOGÍA

### A. Animales

Se han utilizado 32 ratas hembra Sprague Dawley (de un peso aproximado de 200 a 250 gramos) en un modelo animal experimental con dosis subconvulsivas de picrotoxina 2 mg/Kg y se han estudiado, en la cavidad experimental, 4 grupos de ratas

Grupo 1: Animales expuestos a la radiación e inyección intraperitoneal (i.p.) con picrotoxina.

Grupo 2: Animales tratados con picrotoxina y no radiados.

Grupo 3: Animales expuestos y no tratados con picrotoxina.

Grupo 4: Animales no expuestos a la radiación y no tratados con picrotoxina

Los cuatro grupos de animales fueron inmovilizados durante dos horas en el dispositivo DNM (cepo de metacrilato) dentro del recinto de radiación. Todo el tiempo que permanecen los animales en la cavidad son grabados en video para observar su comportamiento.

### B. Características de la exposición

En este trabajo se han radiado los animales durante dos horas con el sistema alimentado por una señal GSM a 900 MHz de aproximadamente 1 W, midiendo en cada caso la potencia absorbida por el animal.

### C. Estudios Morfológicos

Una vez expuestos a la radiación los animales se sacrificaron mediante anestesia con pentotal y fueron

perfundidos por vía aorta ascendente con paraformaldehído a 4° C. Posteriormente se disecciona el cerebro y transfiere a tampon fosfato pH 7.4. Se realizaron secciones transversales en el cerebro de 50  $\mu\text{m}$  con un Vibrotomo. Las secciones del cerebro en flotación se procesaron para inmunohistoquímica, realizándose la preincubación (en KPBS con Triton X100 y NRS) durante 1 hora y la incubación con anti-Fos (antisuero policlonal de oveja biotinilado, en KPBS, Triton X100 y NRS) toda la noche. Posteriormente, se hicieron lavados, se incubaron con anticuerpo biotinilado de oveja en conejo (en KPBS con triton y NRS) y treinta minutos en Avidina-Biotina-Peroxidasa, revelándose posteriormente con DAB.

#### D. Cuantificación

Los cortes de cerebro se observaron con un microscopio claro, y se cuantificaron células Fos-positivas (donde cada grano es un núcleo de una neurona activada) de varias regiones de la corteza cerebral: frontal, parietal, piriforme y entorhinal. En cada área, las células Fos-positivas se cuantificaron a 20 aumentos usando un software de morfometría adaptado al microscopio (Kappa, Monrovia CA; USA). Los recuentos celulares se expresaron como media  $\pm$  error estándar de la media y las diferencias significativas entre los grupos se valoraron con el test no paramétrico de Holm-Sidak.

### IV. RESULTADOS

#### A. Resultados electromagnéticos

Antes de la radiación se mide la potencia suministrada al sistema y la potencia absorbida por el animal. En la tabla I se muestran estas potencias para cada animal.

Con los modelos del animal (numérico) y de la antena receptora situados en los lugares comentados anteriormente, se realizó la simulación. En la figura 3 se muestra la distribución de  $|E|$  resultante, donde las antenas han sido modeladas como monopolos  $\lambda/4$  y la rata es un modelo numérico de 200g basada en escaneados MRI con 1,15 mm de distancia entre cortes y 60 tejidos diferentes. En la simulación se obtuvo una pérdida en el animal de 1,28 mW y un valor de 0,011 W/Kg para el SAR pico promediado sobre 1g de cerebro y de 0,010 W/Kg de SAR promedio también en el cerebro. En la tabla I se muestran los valores de SAR pico promediado en 1 g de cerebro y de SAR promedio en el cerebro para la exposición de cada animal. Los valores de SAR obtenidos en la simulación están normalizados a los valores medidos de potencia absorbida.

	Potencia incidente [mW]	Potencia absorbida [mW]	Peso animal [g]	SAR en cerebro [W/Kg]	
				valor promedio	valor pico promediado en 1g
1	954,99	208,62	260	1,62	1,82
2	933,25	172,12	220	1,34	1,50
3	933,25	142,8	199,6	1,11	1,25
4	933,25	173,06	207,8	1,34	1,51
5	977,24	175,94	201,4	1,37	1,54
6	933,25	177,55	194,2	1,38	1,55
7	1000	187,97	196,6	1,46	1,64
8	988,55	188,88	200	1,47	1,65

Tabla I. Datos de la exposición y cálculos de SAR de cada animal.

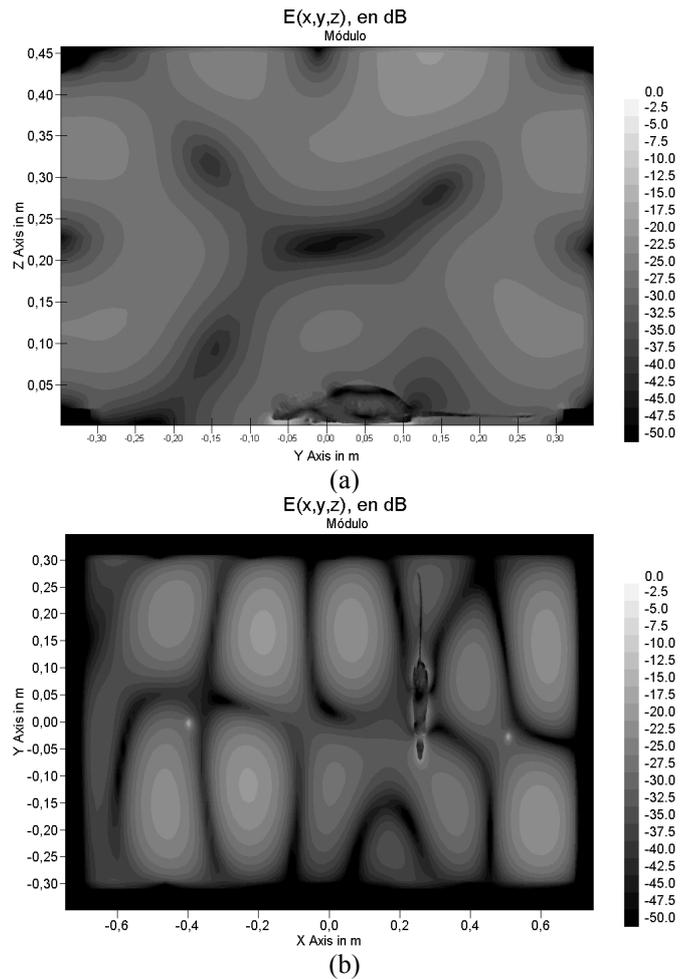


Fig. 3. Distribución de  $|E|$  en el interior de la caja metálica con el animal y la antena receptora dentro. (a) Corte  $x = 0,257$  m. (b) Corte  $z = 0,013$  m.

#### B. Resultados de Comportamiento y Morfológicos

En los animales inyectados i.p. con picrotoxina apareció a los 5 minutos de la inyección un periodo corto de actividad locomotora durante 3 o cuatro minutos para posteriormente mostrarse inmóviles pero alerta. Las ratas que no habían sido inyectadas i.p. con picrotoxina (grupos 3 y 4) mostraron nerviosismo inicial causado por el estrés a la inmovilización, pero no aparecieron otras alteraciones de comportamiento.

Se hicieron recuentos de células c-Fos-positivas en los cuatro grupos de animales y se encontró que el número de neuronas de c-Fos positivas de los animales con i.p. de picrotoxina y expuestos a la radiación (grupo 1) era aproximadamente el doble del número correspondiente a los no radiados e i.p. de picrotoxina (grupo 2):  $(133 \pm 7)$  y  $(64 \pm 7)$  en la corteza frontal,  $(133 \pm 10)$  y  $(77 \pm 5)$  en la parietal y  $(203 \pm 7)$  y  $(110 \pm 8)$  en la piriforme, disminuyendo las diferencias significativas en la corteza entorhinal  $(189 \pm 129)$  y  $(129 \pm 6)$  (Fig. 4) en todos los valores  $p \leq 0,001$ .

También se encontró que en los animales no i.p. con picrotoxina tanto radiados como no radiados (grupos 3 y 4) aparecían recuentos mucho más bajos, sin diferencias significativas entre ellos [10]. Sin embargo como se refleja en la figura 4 se encontraron diferencias importantes con los otros dos grupos (1 y 2), siendo en las cuatro áreas de

corteza medidas siempre de más del 150% superior respecto al grupo expuesto y con epilepsia subclínica.

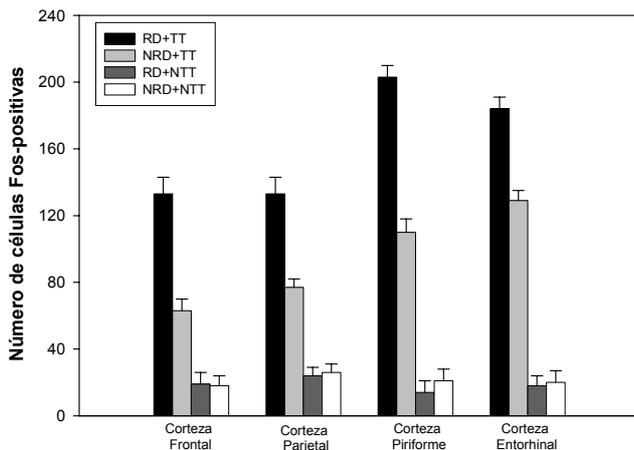


Fig. 4. Histograma correspondiente al recuento celular de los cuatro grupos de animales: Animales Radiados/No Radiados (RD/NRD) y Tratados/No Tratados con picrotoxina (TT/NTT) separado por áreas (Corteza Frontal, Parietal, Piriforme y Entorhinal). Dentro de cada área se observan importantes diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) para cada uno de los cuatro grupos estudiados.

## V. CONCLUSIONES

Se ha diseñado y construido un dispositivo experimental para proporcionar radiación controlada a un animal de pequeño tamaño. Este sistema permite medir la potencia absorbida por el animal que puede ser usada para, en combinación con una simulación numérica FDTD, calcular valores de *SAR*.

Utilizando este sistema se ha expuesto un modelo experimental subclínico de ratas potencialmente epilépticas a una señal GSM de 900 MHz. El estudio de los efectos de esta radiación en su sistema nervioso central muestra importantes cambios en los animales expuestos a señales de 900 MHz con modulación GSM.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por la Xunta de Galicia través del Plan Galego de Investigación, Desenvolvemento e Innovación Tecnolóxica (PGIDIT02BTF20601PR).

## REFERENCIAS

- [1] E.G. Moros, W.L. Straube, W.F. Pickard, "A compact shielded exposure system for the simultaneous long-term UHF irradiation of forty small mammals: I. Electromagnetic and environmental design", *Bioelectromagnetics*, vol. 19, pp. 459-468, 1998.
- [2] E.G. Moros, W.L. Straube, W.F. Pickard, "Compact shielded exposure system for the simultaneous long-term UHF irradiation of forty small mammals: II. Dosimetry", *Bioelectromagnetics*, vol. 20, pp. 81-93, 1999.
- [3] F. Schönborn, K. Popovic, N. Kuster, "Dosimetric analysis of the carousel setup for the exposure of rats at 1.62 GHz", *Bioelectromagnetics*, vol. 25, pp. 16-26, 2004.
- [4] C.M. Krause, C. Haarala, L. Sillanmaki, M. Koivisto, K. Alanko, A. Revonse, M. Laine, H. hamalainen, "Effects electromagnetic field emitted by cellular phones on EEG during an auditory memory task: a double blind replica study", *Bioelectromagnetics*, vol 25 (1), pp. 30-40, 2004.

- [5] Anne-Laure Mausset-Bonnefont, Helene Hirbec, Xavier Bonnefont, Alain Privat, Jaques Vignon and Rene de Seze "Acute exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modifications in the rat brain", *Neurobiology of disease*, vol. 17, pp. 445-454, 2004.
- [6] K.A. Hossmann and D. M. Hermann, "Effects of Electromagnetic Radiation of mobile phones on the central nervous system", *Bioelectromagnetics*, vol 24, pp. 49-62, 2003.
- [7] D.J. Nutt, P. J. Cowen, C. Batts, D. G. Grahame-Smith and A. R. Green, "Repeated administration of subconvulsant doses of GABA antagonist drugs. I. Effect on seizure threshold (kidding)", *Psychopharmacology*, vol 76, pp. 84-87, 1982.
- [8] J.O. Willoughby, L. Mackenzi, A. Medvedev, J. Hiscock, "Distribution of Fos-positive neurons in cortical and subcortical structures after picrotoxin induced convulsions varies with seizure type", *Brain Research*, vol. 683, pp. 73-85, 1995.
- [9] SPEAG-Schmid & Partner Engineering AG, "Reference manual for the SEMCAD simulation platform for electromagnetic compatibility, antenna design and dosimetry", Available from: <http://www.semcad.com>.
- [10] K. Fritze, C. Wiessner, N. Kuster, C. Sommer, P. Gass, D.M. Hermann, M. Kiessling and K.A. Hossmann, "Effects of GSM microwave exposure on the genomic response of the rat brain", *Neuroscience*, vol. 81, pp. 627-639, 1997.