

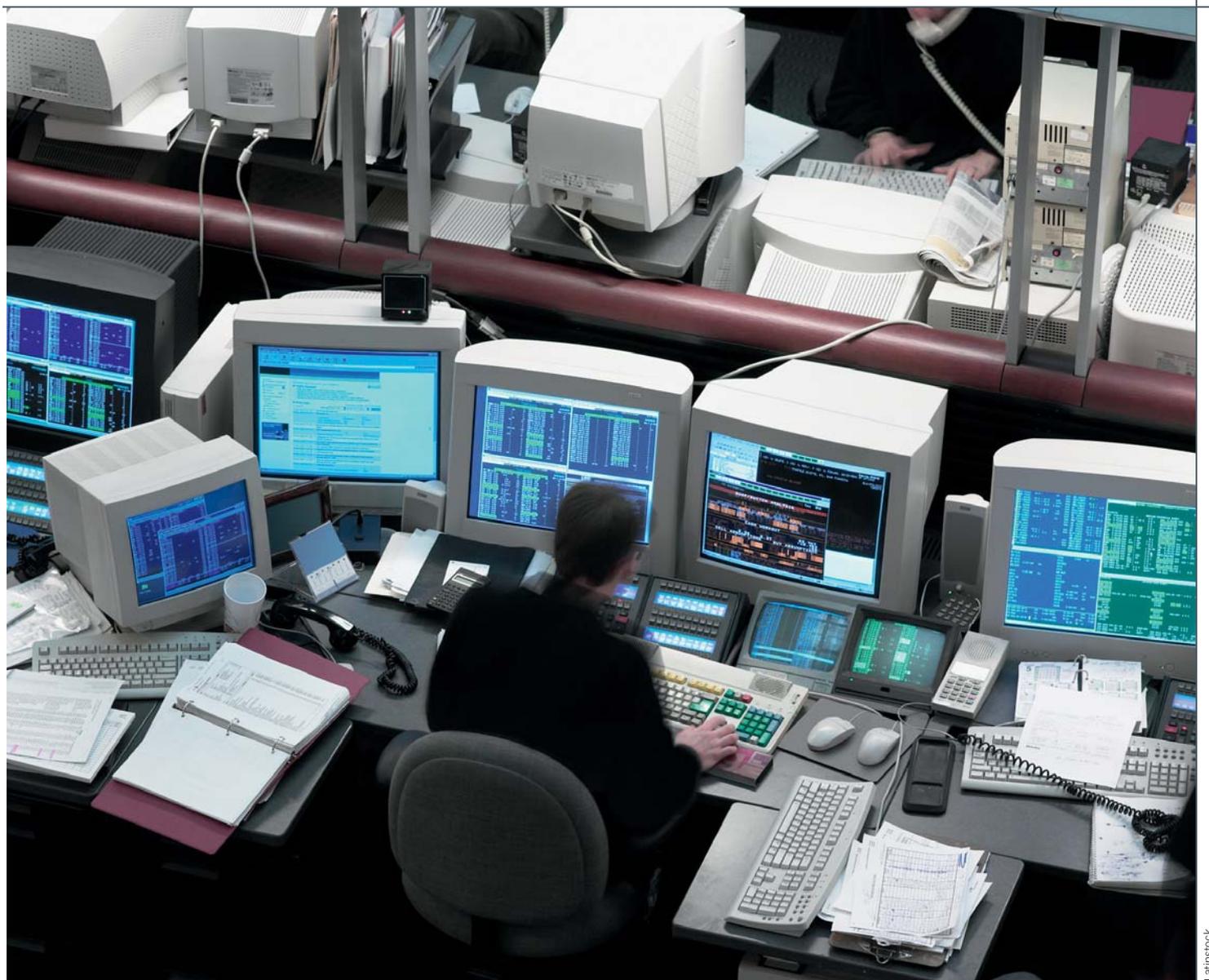
La exposición ocupacional a campos magnéticos emitidos por equipos informáticos como cofactor potencial de esta patología

Campos ambientales débiles y

LIPOATROFIA SEMICIRCULAR

Por **ALEJANDRO ÚBEDA MAESO**. Investigador, Jefe de Sección, Servicio BEM-Investigación, Hospital Ramón y Cajal, Madrid (axumaeso@gmail.com). **M.A. MARTÍNEZ PASCUAL**. Doctora en Ciencias, Servicio BEM-Investigación, Hospital Ramón y Cajal. **M.A. CID TORRES**. Doctora en Ciencias, Profesora del Dep. Ciencias Biomédicas, Universidad Europea de Madrid. **M.A. TRILLO RUIZ**. Investigadora, Servicio BEM-Investigación, Hospital Ramón y Cajal. **C.L. PAÍNO BELARRINAGA**. Investigador, Servicio de Neurobiología-Investigación, Hospital Ramón y Cajal.

La lipoatrofía semicircular (LS) es una patología que se manifiesta en forma de surcos de atrofia de tejido adiposo subcutáneo, localizados generalmente en la cara anterior de uno o ambos muslos. En los últimos años se ha registrado un incremento en la incidencia de LS en determinados entornos laborales. Aunque los factores específicos causales de esta patología todavía no han sido identificados, la exposición a campos electromagnéticos generados por aparataje informático y por otros equipos eléctricos situados en mesas de despachos y oficinas ha sido propuesta como un cofactor en la etiología de la LS. El presente estudio ensaya la hipótesis de que la exposición *in vitro* a campos magnéticos de 50 Hz débiles, por debajo de los niveles de referencia internacionales para la protección en ambientes laborales ($B = 500$ microteslas), podría afectar a la diferenciación adipocítica de células humanas. Los resultados obtenidos revelaron que las muestras expuestas presentaban descensos significativos en la síntesis de ácidos grasos, así como alteraciones en mecanismos celulares implicados en la diferenciación adipocítica. Estos datos apoyan la hipótesis de una potencial acción de los campos magnéticos débiles sobre la diferenciación adipocítica y representan el primer indicio experimental de que los campos magnéticos de baja frecuencia podrían intervenir como cofactor en la génesis o desarrollo de la LS de origen ocupacional.



Latinstock

Las lipodistrofias constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades que afectan al tejido adiposo y se caracterizan por la pérdida de grasa corporal, que puede ser generalizada o parcial. La lipoatrofia semicircular (LS) es una lipodistrofia de tipo parcial que se describe como una lesión idiopática caracterizada por una depresión semicircular, localizada preferentemente en la parte anterior o anterolateral de los muslos (figura 1) y debida a una atrofia del tejido adiposo subcutáneo, que no afecta a la piel o al tejido muscular^[1]. En la mayoría de los

casos la depresión es bilateral, simétrica y sin sintomatología asociada. No obstante, también se han descrito casos de lesiones unilaterales^[2-4], múltiples y/o en asociación con calambres, calor, dolor y/o sensación de pesadez^[5].

Si bien los primeros casos de lipoatrofia semicircular fueron descritos por Gschwandtner y col. en 1974^[6], en el último decenio su incidencia se ha incrementado significativamente entre el personal administrativo de compañías que operan en países diversos, como Japón, Bélgica, Holanda, Francia, Reino Unido, Alemania, Italia o España. La incidencia

LA LIPOATROFIA SEMICIRCULAR (LS) SE MANIFIESTA EN FORMA DE SURCOS DE ATROFIA DEL TEJIDO ADIPOSEO SUBCUTÁNEO, LOCALIZADOS GENERALMENTE EN LA CARA ANTERIOR DE UNO O AMBOS MUSLOS

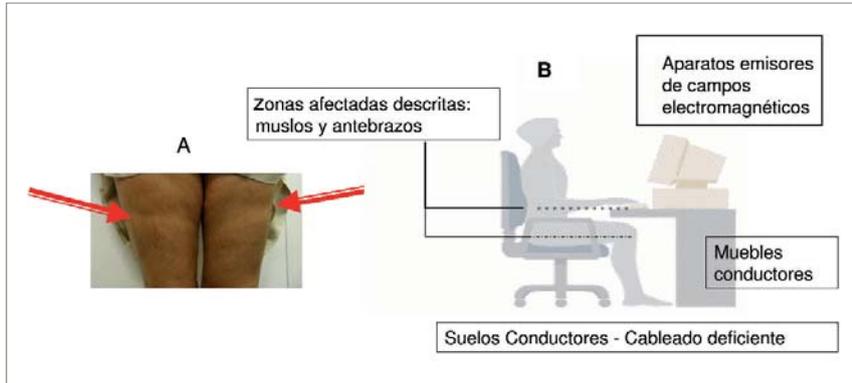


Figura 1. A) Paciente diagnosticada de lipoatrofia semicircular. Obsérvese el surco de depresión en la cara anterior de cada uno de los muslos, debido a pérdida localizada del pániculo adiposo subcutáneo. B) Ejemplo de entorno eléctrico/magnético de riesgo.

es particularmente elevada entre mujeres y en oficinas construidas o renovadas recientemente.

Aunque las causas de la lipoatrofia semicircular todavía no están bien determinadas, se ha propuesto la implicación de diversos factores. Los microtraumatismos originados por la fricción repetida contra los bordes de las mesas de trabajo^[5,7,8], por la presión ejercida por la superficie de asiento de las sillas de trabajo^[9] o por el uso de ropa ajustada^[10-12], constituyen el factor más evidente y más frecuentemente propuesto en las conclusiones de los estudios. Sin embargo, los mismos estudios coinciden en considerar la fricción como un factor necesario, pero no suficiente. Así, una hipótesis propuesta recurrentemente plantea que la exposición a campos magnéticos (CM) de baja frecuencia generados por los equipos informáticos y por otros aparatos eléctricos ubicuos en entornos de oficinas, podría actuar como cofactor involucrado en el desarrollo de la LS^[13]. El efecto tendría lugar a través de una perturbación, ejer-

cida por los campos magnéticos, de los procesos normales de diferenciación celular en el tejido adiposo, que intervienen en el fenómeno de reparación de los microtraumatismos producidos por fricción.

La adipogénesis es el proceso diferenciador que, a través de un patrón preciso de expresión genética que sigue una secuencia cronológica específica^[14], conduce desde un estadio celular precursor (pre-adipocito) hasta el adipocito maduro, en el que la mayor parte del volumen celular está ocupado por una gota lipídica. Por consiguiente, es concebible que algunas patologías lipodistróficas serían susceptibles de ser desencadenadas por alteraciones en los procesos de diferenciación adipogénica.

A nivel molecular, uno de los reguladores principales de la diferenciación adipocítica y del almacenamiento de ácidos grasos es el receptor de proliferación de los peroxisomas γ (PPAR γ), también conocido como receptor de glitazone, perteneciente a la subfamilia de receptores nucleares de hormonas. De hecho, varios tipos de lipodistrofias han sido relacionados con una merma o deficiencia en la actividad del

factor PPAR γ ^[15,16]. Bajo estas premisas, cabe proponer que una perturbación en la regulación de la expresión de PPAR γ , inducida por la exposición a CM, podría conducir a una alteración de la diferenciación adipocítica. Esta hipótesis se vería respaldada por datos recientes que indican que CM sinusoidales de 15 Hz, aplicados a intensidades elevadas (1 militesla), pueden inducir en células mesenquimales de médula ósea un efecto inhibitorio de la adipogénesis acompañado de una disminución en la expresión de PPAR γ ^[17].

Otra molécula implicada en la regulación de la adipogénesis es la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK1/2). Su efecto específico sobre la diferenciación sería dependiente de factores cronológicos, de forma que, bajo determinadas condiciones y en intervalos temporales específicos, la activación de ERK ejerce una acción promotora de la diferenciación adipocítica, mientras que en otros periodos ERK puede inhibir dicha diferenciación. Se ha propuesto que la ERK1/2 regula la PPAR γ , influyendo así en la diferenciación adipocítica^[18]. Por otro lado, estudios previos de nuestro grupo han mostrado que un CM de 50 Hz y 100 μ T afecta significativamente a la ERK1/2 en células NB69 de neuroblastoma humano^[19], lo que nos permite plantear la hipótesis de que los CM débiles podrían actuar sobre las ERK1/2 de los pre-adipocitos, afectando la expresión de PPAR γ y, con ello, alterando la adipogénesis.

El presente estudio pretende comprobar, mediante un modelo de adipogénesis *in vitro*, si un CM débil, de 100 microteslas (100 μ T) y frecuencia industrial (50 Hz), puede provocar una inhibición parcial de los procesos de dife-

LA EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A CAMPOS GENERADOS POR EQUIPOS ELÉCTRICOS DE SOBREMESA HA SIDO PROPUESTA COMO UN COFACTOR EN LA ETIOLOGÍA DE LA LS

renciación adipocítica. Para ello hemos analizado la formación de ácidos grasos en adipocitos generados en cultivo a partir de ADSC, así como la expresión de PPAR γ y ERK1/2 en condiciones control o bajo la exposición a CM. La constatación de que campos magnéticos de frecuencia industrial pueden afectar a la diferenciación adipocítica constituiría el primer indicio experimental de que la exposición continuada y focalizada a CM débiles, presentes en determinados ambientes ocupacionales, podría actuar como un cofactor en la etiología de la lipoatrofia semicircular.

Metodología

Modelo biológico y protocolo de cultivo

Como modelo biológico para el estudio de la potencial acción de CM se optó por cultivos de células madre mesenquimales procedentes de la fracción vascular-estromal de tejido adiposo, ADSC

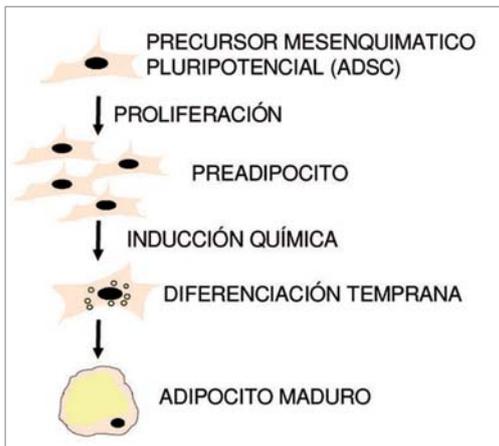


Figura 2. Sistema biológico. Se utilizaron células ADSC para analizar potenciales alteraciones en las fases de diferenciación adipocítica temprana, en presencia o ausencia de CM impuesto experimentalmente.

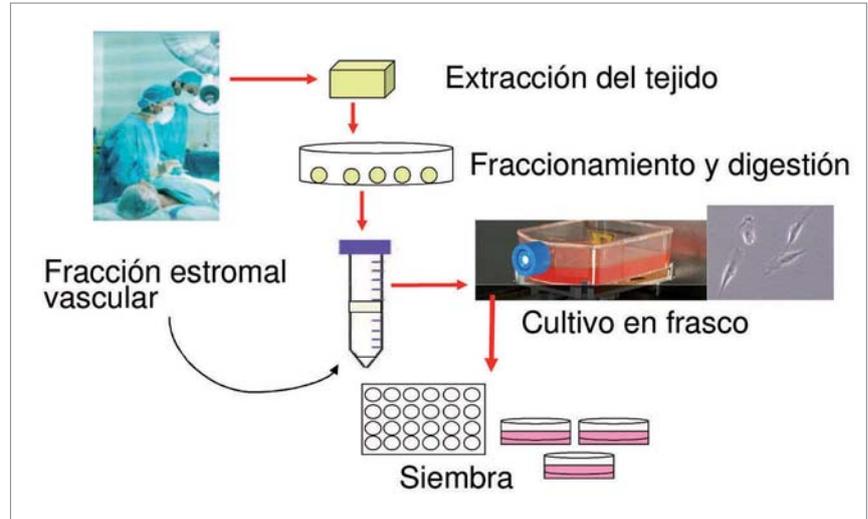


Figura 3. Protocolo de obtención y cultivo de células ADSC. Según el procedimiento analítico a aplicar, las células fueron sembradas en multipocillos o en placas Petri.

(fig. 2), obtenidas de panículo subcutáneo de donantes adultos sanos^[20] mediante el procedimiento que se resume en la figura 3. Tras un primer pasaje de expansión del cultivo, las ADSC se alícuotaron y preservaron en congelación para ser utilizadas en las diversas réplicas experimentales. (fig. 2)

Para los experimentos, las ADSC, que se mantuvieron en proliferación en frascos de cultivo hasta el cuarto pasaje (1 pasaje semanal), se sembraron en placas de cultivo y cuando las células se encontraban confluentes (a los 5 días de cultivo) se sometieron a un tratamiento de diferenciación adipocítica estándar. En ese punto, los cultivos fueron estimulados con CM (muestras expuestas) o mantenidos en condiciones de exposición simulada (muestras control, ver más adelante). Tras periodos de 18 o de 42 horas en condiciones de exposición o de control, las células fueron procesadas para la cuantificación del contenido intracelular de ácidos gra-

dos, así como para el estudio de la expresión de PPAR γ y de ERK1/2 por inmunofluorescencia-análisis de imagen y por *western blot*. (fig. 3)

Protocolo de exposición al campo magnético

Las células expuestas fueron sometidas a un campo magnético sinusoidal de 50 Hz, aplicado en ciclos de 3h On/3h Off, durante periodos de 18 horas o de 42 horas. El valor de flujo magnético elegido, $B = 100 \mu\text{T}$, equivale al 20% del nivel de referencia $B = 500 \mu\text{T}$, establecido por las regulaciones internacionales como inocuo en el caso de exposiciones ocupacionales^[21,22].

El sistema de exposición empleaba una pareja de incubadoras idénticas (Forma Scientific). En cada incubadora se insertó una pareja de bobinas en configuración Helmholtz, situada en el interior de una cámara de apantallamiento (co-netic metal; Amuneal Corp., Filadelfia, PA) contra contaminación por campos ambientales espurios de frecuencias bajas, como los generados por los sistemas de calentamiento y ventilación de las incubadoras. En réplicas experimentales consecutivas, cada una de las parejas de bobinas fue usada al-

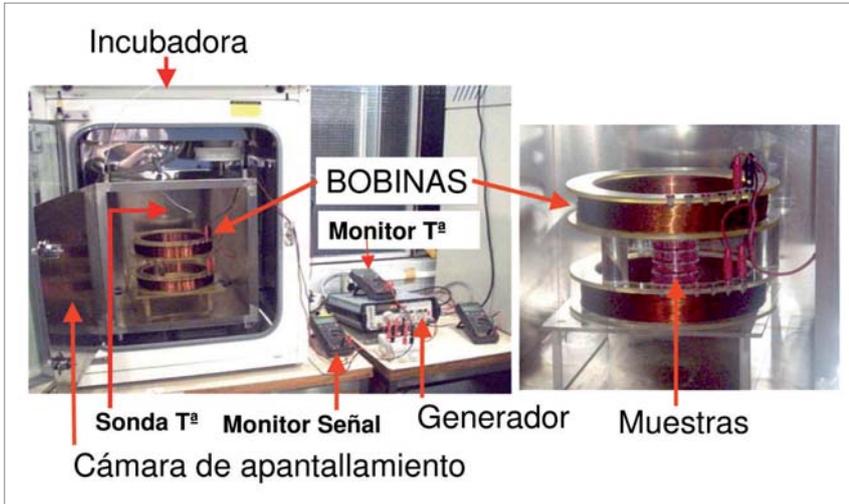


Figura 4. Sistema de exposición de cultivos de células ADSC a CM. La bobina para exposición se localiza en una cámara apantallada, dentro de un incubador de CO₂. A la derecha del generador se encuentra otro incubador, que contiene una cámara apantallada y una bobina, idénticas a las primeras, para el mantenimiento simultáneo de muestras control.

ternativamente para la exposición magnética o para exposición simulada (control). Cada pareja constaba de dos solenoides paralelos, orientados para producir un campo magnético uniforme, de polarización vertical. Los dos conjuntos de bobinas Helmholtz fueron alimentados alternativamente por un único generador de baja frecuencia (Newtronic Mod. 200MSTPC, Madrid). La señal del generador era monitorizada permanentemente con un multímetro (Hewlet Packard, 974A, Loveland, CO) conectado en serie a las bobinas. Tanto las placas de cultivo de 24 pocillos como las placas Petri se colocaron apiladas en el interior de las bobinas. La densidad de flujo magnético B en el área de exposición fue monitorizada con un magnetómetro (EFA-3, Wandel & Goltnerman GMW & Co.). (fig. 4)

**PRETENDEMOS
COMPROBAR
EXPERIMENTALMENTE
SI LA EXPOSICIÓN IN
VITRO A CAMPOS
DÉBILES DE 50 HZ
PODRÍA AFECTAR A LA
DIFERENCIACIÓN
ADIPOCÍTICA DE
CÉLULAS HUMANAS**

Procedimientos analíticos

El contenido en ácidos grasos teñidos con Oil Red O fue cuantificado mediante técnicas de análisis de imagen y de espectrofotometría. La expresión de PPAR γ y de la forma fosforilada (activada) de ERK1/2 se valoró mediante técnicas de inmunofluorescencia-análisis de imagen (*software* Image Analy-SIS, Soft Imaging System, GMBH, Münster, Alemania) y de transferencia e inmunodetección (*western blot*), utilizando para ello técnicas estándar que emplean anticuerpos específicos contra las citadas moléculas.

Resultados y discusión

Influencia del campo magnético sobre la lipogénesis. Análisis del contenido en ácidos grasos

La figura 5 ilustra el resultado de la comparación del contenido en ácidos grasos (AG) de las muestras expuestas durante 42 h al CM con el de sus controles correspondientes. Dependiendo de la técnica aplicada, la cantidad de Oil Red O

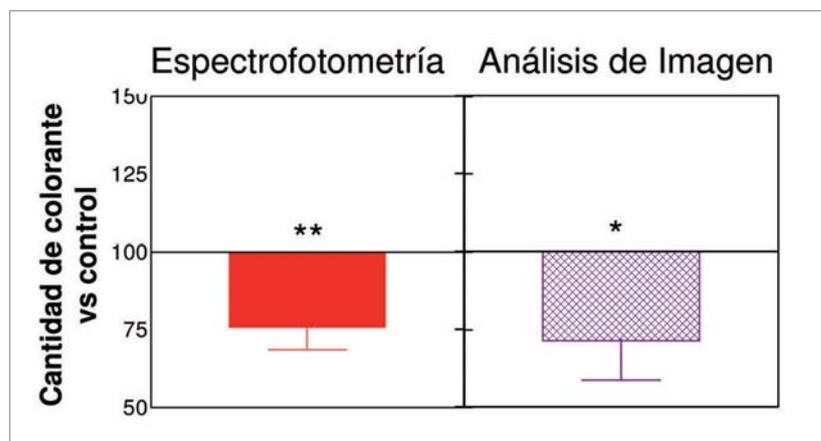


Figura 5. Efecto del CM sobre el contenido en ácidos grasos. Cantidad de Oil Red O incorporado por las células ADSC mediante análisis espectrofotométrico (izquierda) o inmunocitoquímico/análisis de imagen (derecha). Medias \pm SEM de 10 replicados experimentales. Valores normalizados sobre las respectivas muestras control. (*: 0,01<p<0,05; **: p<0,01; t de Student).

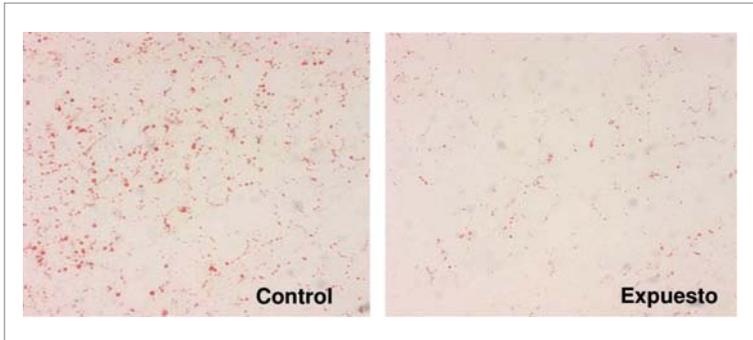


Figura 6. Fotomicrografías representativas de cultivos ADSC en fases tempranas de la lipogénesis. Los ácidos grasos se acumulan en el citoplasma, en forma de vesículas teñidas de rojo. En el cultivo expuesto a CM, tanto el porcentaje de células que incorporan Oil Red O como la cantidad y tamaño de las vesículas teñidas con el colorante, se vieron reducidos.

incorporado por las células expuestas al CM se vio reducida significativamente en un 24% (espectrofotometría) o en un 29% (microscopia y análisis de imagen). En consecuencia, ambas técnicas proporcionaron resultados coherentes, que se refuerzan mutuamente y confirman que la exposición a un CM de 50 Hz y 100 μ T induce en las ADSC una disminución estadísticamente significativa de la cantidad de ácidos grasos acumulados en forma de vesículas en el citoplasma.

Adicionalmente, el análisis de imagen fotomicrográfica (fig. 6) reveló que las muestras estimuladas con CM presentaban tanto un menor número de vesículas lipídicas por célula como una menor proporción de células con vesículas. Esto indicaría que el estímulo magnético podría afectar a la propia diferenciación celular ya desde el comienzo de la lipogénesis, o en fases muy tempranas de ésta. Los datos obtenidos son coherentes con nuestros resultados preliminares, que indicaban que el efecto del CM se ejercía preferentemente sobre las fases tempranas de la formación de tejido graso, mientras que procesos más

tardíos de la diferenciación adipocítica, como la lipólisis, no se verían afectados significativamente por la exposición al CM. (fig. 5) (fig. 6)

Influencia del CM sobre la expresión del factor de diferenciación adipocítica PPAR γ . Estudio por 'western blot'

La aplicación de la técnica de *western blot* permitió comprobar que la incuba-

ción en medio estimulador de la diferenciación adipogénica induce un incremento significativo en la expresión de PPAR γ por parte de las ADSC (fig. 7). Esta respuesta confirmó que la expresión de PPAR γ es un parámetro apropiado para el estudio de la respuesta a un potencial agente anti-adipogénico. La expresión PPAR γ en células en proceso de diferenciación adipogénica no resultó modificada significativamente por una exposición de 18 h al CM. Sin embargo, una exposición de 42 h redujo significativamente la expresión de PPAR γ con respecto a la obtenida en células no expuestas. (fig. 7)

En su conjunto, estos resultados revelan que una exposición de 42 horas al CM bloquea o inhibe la respuesta de incremento en la expresión de PPAR γ , necesaria para la progresión de la diferenciación adipocítica en las ADSC.

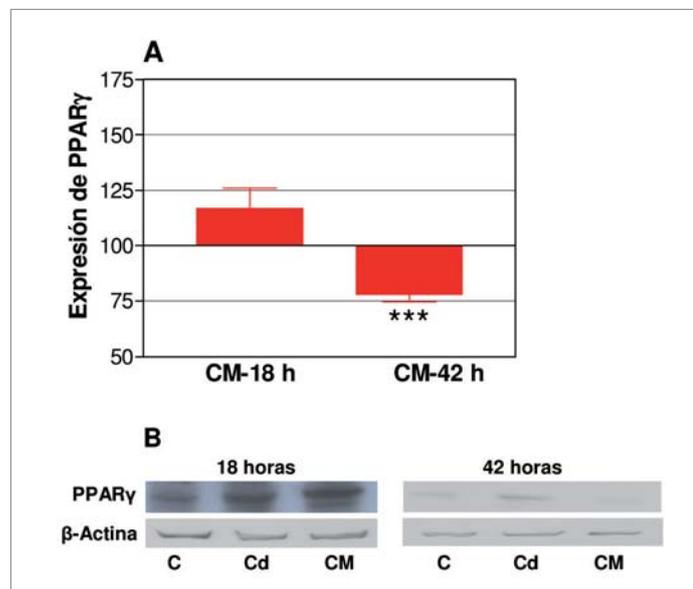


Figura 7. A) Expresión de PPAR γ en células ADSC estimuladas con CM en medio para diferenciación adipogénica. Valores de densidad óptica tras 18 o 42 h de exposición (CM) con respecto a los de las células no expuestas. B) Blots representativos de la expresión de PPAR γ en ADSC no diferenciadas (control, C) y en ADSC sometidas a diferenciación adipogénica que fueron expuestas a campo (CM) o no (Cd). β -actina fue utilizada como control de cantidad de proteína. n = 6 replicados; ***: p<0,001 (t de Student).

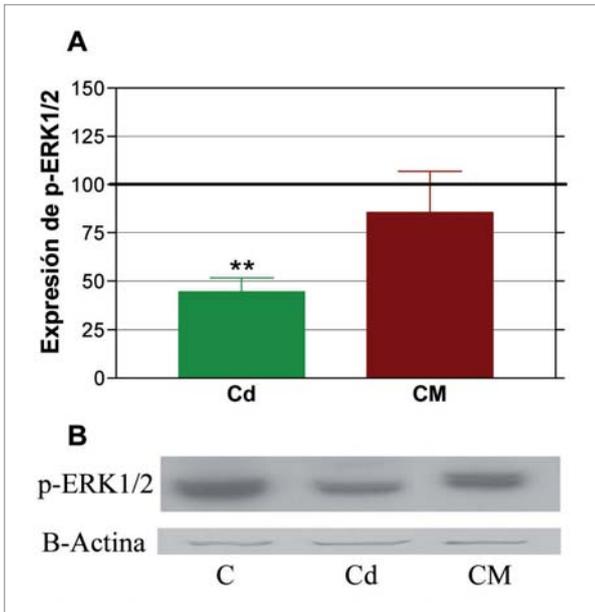


Figura 8. Expresión de p-ERK1/2.

A) Densidad óptica de los blots: El tratamiento químico inhibe la expresión de p-ERK1/2, y el CM (42 h) bloquea dicha respuesta de subexpresión. B) Blots representativos de la expresión de p-ERK1/2 en ADSC no diferenciadas (control, C) y en ADSC diferenciadas químicamente y simultáneamente estimuladas con campo magnético (CM) o no estimuladas (Cd). β-actina: control de cantidad de proteína. n = 6 replicados experimentales; **: p<0,01 Cd vs C; CM vs Cd: p<0,05 (t de Student).

Influencia del medio de diferenciación y efecto del CM sobre la activación de ERK1/2 (p-ERK1/2)

La activación de la MAP-kinasa ERK1/2 se valoró mediante cuantificación por western blot de los niveles de expresión de la forma activa, fosforilada, de ERK1/2 (p-ERK1/2). Para ello, al igual que en el experimento anterior, las muestras fueron sometidas a tratamiento químico

inductor de diferenciación adipocítica durante 42 horas en presencia o ausencia de CM. Según muestra la figura 8A, el tratamiento diferenciador (Cd) disminuyó significativamente (57,22%; p<0.01) la expresión de p-ERK1/2 con respecto a la expresión espontánea registrada en las ADSC mantenidas en condiciones basales (C). En cambio, la exposición al CM inhibió significativamente (p<0.05) la citada caída, inducida químicamente, en los niveles de expresión de p-ERK1/2. (fig. 8)

Por lo tanto, nuestros resultados son indicativos de que la exposición a un CM podría conducir a una inhibición o retraso en la diferenciación adipocítica, debido a un bloqueo de la subexpresión de p-ERK1/2. Este tipo de efecto es coherente con las observaciones descritas en los apartados anteriores, que revelan que la exposición a CM inhibe dos fenómenos que son inherentes al proceso de diferenciación adiposa: el incremento en el contenido de ácidos grasos y la expresión del factor de diferenciación PPARγ.

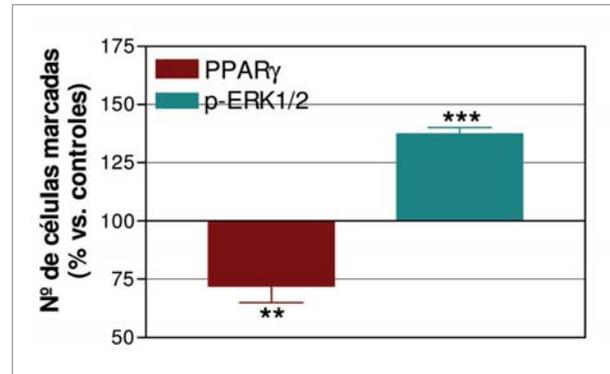


Figura 9. Influencia del CM sobre la expresión de PPARγ y p-ERK1/2. Contaje de células inmunomarcadas a las 42 h de exposición a CM. Datos normalizados con respecto a los cultivos de células diferenciadas no expuestas al CM. El CM alteró significativamente el número de células positivas, tanto para PPARγ como para p-ERK1/2, en concordancia con los estudios de western blot. **: p<0,01; ***: p<0,001 con respecto a las muestras no expuestas (t de Student).

Estudio inmunocitoquímico

A fin de contrastar los resultados obtenidos mediante western blot, se procedió a un análisis adicional de la expresión de PPARγ y p-ERK1/2 mediante técnicas inmunocitoquímicas. Los resultados obtenidos se resumen en la figura 9, y revelan que tras 42 h de exposición a CM se registró un descenso significativo en el porcentaje de células que expresaban PPARγ (27,9% por debajo de las muestras control, en medio diferenciados y no expuestas a CM, p<0.01) acompañado de un incremento significativo en la tasa de células que expresaban la forma activa p-ERK1/2 (37,3 % sobre controles no expuestos p<0,001). En consecuencia, los datos inmunocitoquímicos y los obtenidos por western blot forman un bloque coherente que muestra que la exposición a un CM de 50 Hz y 100 μT induce alteraciones en las vías de señalización intracelular en las que intervienen los factores PPARγ y p-ERK1/2, y revelan que tales alteraciones darían como resultado un retraso o inhibición en el proceso de la diferenciación adipocítica.

Conclusiones

El presente estudio es un ensayo experimental de la hipótesis, propuesta por diversos autores, de que la exposición ocupacional a CM débiles es un cofactor potencial en la etiología de la lipoatrofia semicircular. Para nuestro ensayo hemos utilizado cultivos de células madre derivadas de tejido adiposo (ADSC) de un donante adulto, sometidas a un tratamiento de diferenciación adiposa *in vitro* en presencia o ausencia de estimulación por campo magnético intermitente, homogéneo de 50 Hz y B=100 μ T.

Nuestros experimentos revelaron, en primer lugar, que el CM puede provocar un descenso significativo en la cantidad de ácidos grasos sintetizados por células expuestas en fases tempranas de su diferenciación. Este resultado constituye un primer indicio de que, en sus estadios iniciales, la diferenciación adipocítica puede verse ralentizada o bloqueada parcialmente por la exposición a campos magnéticos de 50 Hz débiles. El siguiente paso del estudio se centró en la identificación de los mecanismos celulares implicados en la respuesta celular descrita.

Diferentes agentes químicos, preferentemente factores de crecimiento, han sido descritos como inhibidores de la adipogénesis y, por lo general, tal acción

LA EXPOSICIÓN
PROVOCÓ
ALTERACIONES EN
FACTORES
REGULADORES DE LA
DIFERENCIACIÓN
ADIPOCÍTICA,
ACOMPAÑADAS DE UN
DESCENSO EN LA
SÍNTESIS DE ÁCIDOS
GRASOS

inhibidora se ha visto asociada a modulaciones o cambios en la expresión de PPAR γ . Por su parte, otros estudios han demostrado que la inhibición de la adipogénesis está también mediada por cambios en la expresión/activación de la proteína MAPK-ERK1/2^[23-25]. Sobre la base de esta evidencia, hemos optado por investigar la potencial implicación de la expresión del factor PPAR γ y de la activación de ERK1/2 en la acción del CM sobre la diferenciación adipocítica de las ADSC. Y en efecto, los cultivos expuestos a CM mostraron una disminución significativa con respecto a las muestras no estimuladas con CM, tanto en la cantidad de proteína PPAR γ como en el número de células que la expresaban. Asimismo, hemos podido constatar que una exposición de 42 h al campo magnético induce una inhibición significativa de la reducción, inherente al proceso de diferenciación adipocítica, tanto de la tasa de las células que expresan la forma fosforilada o activa de ERK1/2 (p-ERK1/2) como de la cantidad de proteína p-ERK1/2 presente en las células. Estas respuestas a nivel molecular representan un respaldo y una posible explicación al efecto inhibitorio ejercido por el CM en las fases tempranas de la adipogénesis, identificado en la primera parte del estudio.

Los estímulos mecánicos también han sido descritos como factores capaces de inhibir la diferenciación adipocítica a través de la modulación del factor PPAR γ ^[26]. Asimismo, se ha propuesto que la activación de la ERK1/2 estaría implicada en la inhibición del factor PPAR γ causada por estímulos mecánicos inhibidores de la diferenciación de adipocítica^[18]. En la actualidad existe un consenso general acerca de la implicación de estímulos de tipo mecánico como factor necesario, pero no suficiente, en el desarrollo de la lipoatrofia semicircular. Por lo tanto, aunque ese aspecto de la lesión

ESTOS DATOS
EXPERIMENTALES
RESPALDAN LA
HIPÓTESIS DE QUE LA
EXPOSICIÓN
OCUPACIONAL A
CAMPOS DÉBILES ES
UN FACTOR IMPLICADO
EN EL DESARROLLO DE
LA LIPOATROFIA
SEMICIRCULAR

no ha sido abordado en el presente estudio, nuestros resultados, interpretados dentro del conjunto de la evidencia, permiten proponer la existencia de una posible sinergia de factores, mecánicos y electromagnéticos, en el desarrollo de la LS en ambientes ocupacionales.

En consecuencia, nuestros resultados revelan que la exposición intermitente a dosis bajas (20% del Nivel de Referencia ocupacional) de CM de frecuencia industrial ejerce un efecto retardador o inhibitorio de la diferenciación adipocítica temprana en células ADSC humanas. El efecto se ejercería, al menos en parte, a través del mantenimiento de niveles elevados de p-ERK1/2, lo que impediría que se alcanzasen los niveles de PPAR γ necesarios para la progresión de la diferenciación adipocítica. Estos datos representan un respaldo experimental a la hipótesis de que la exposición ocupacional a CM débiles es un factor implicado en el desarrollo de la lipoatrofia semicircular.

Por otra parte, el presente estudio pone de relieve que las ADSC humanas son un modelo *in vitro* útil para la investigación de los bioefectos de los campos magnéticos. Aquí presentamos una evidencia experimental de que campos magnéticos débiles son capaces de afectar la fisiología celular hasta el punto de producir cambios metabólicos en interva-

LOS RESULTADOS JUSTIFICAN Y REFUERZAN LAS PROPUESTAS DE ADOPTAR ESTRATEGIAS DE CONTROL Y REDUCCIÓN DE LA EXPOSICIÓN A CAMPOS DE BAJA FRECUENCIA EN AMBIENTES OCUPACIONALES DE RIESGO

los temporales cortos. Este tipo de respuestas no es evidenciable a través de la aproximación epidemiológica clásica, cuya metodología está inevitablemente lastrada por la multitud de variables que influyen en la biología humana. Un abordaje experimental similar al empleado aquí puede utilizarse para definir los valores mínimos de exposición magnética capaces de inducir un determinado bioefecto o para estudiar los efectos de la exposición a emisiones electromagnéticas en distintos rangos de frecuencias de interés médico u ocupacional. A este respecto, debemos recordar que la identificación de un «efecto biológico» inducido por un determinado agente ambiental no es necesariamente un indicio de «nocividad». Sin embargo, es obvio que resulta conveniente conocer la influencia que dicho agente pueda ejercer sobre la fisiología celular, de manera que podamos valorar su potencial participación en fenómenos patológicos producidos por la sinergia de varios elementos con afectación subclínica. Así, la lipoatrofia semicircular podría deberse a la conjunción de un estrés mecánico no lesivo con una exposición a campo magnético de baja intensidad, y ambos componentes serían necesarios para la manifestación patológica, por lo que la eliminación de uno de los facto-



Latinstock

res sería suficiente para la erradicación del problema.

Con respecto a los resultados del presente estudio, es necesario subrayar que, si bien en algunos ambientes ocupacionales podrían darse ocasionalmente exposiciones a CM del nivel empleado en nuestros experimentos (100 μ T), los valores de pico de CM en los ambientes de oficina donde se han registrado preferentemente los casos de LS son, por lo regular, inferiores al citado nivel en uno o dos órdenes de magnitud. Así pues, dada su potencial relevancia en materia de salud ocupacional, el presente trabajo deberá ser ampliado mediante la investigación *in vitro* de los niveles mínimos de campo magnético capaces de producir efectos sobre la adipogénesis. También se considera conveniente ampliar el estudio utilizando células obtenidas de tejido adiposo de mujeres jóvenes,

más proclives a desarrollar LS, y/o de pacientes diagnosticados de la patología.

En cualquier caso, nuestros resultados representan un refuerzo adicional y una justificación coherente a las propuestas del establecimiento de estrategias de control y reducción de la exposición a CM de baja frecuencia en ambientes ocupacionales de riesgo^[27,28]. Tales estrategias, que incluyen la puesta a tierra y/o apantallamiento del cableado de equipos eléctricos localizados en las mesas de trabajo, se han revelado eficaces, tanto para prevenir la aparición de nuevos casos de LS como para acelerar la recuperación en sujetos afectados^[1, 29, 30]. ♦

AGRADECIMIENTOS

Estudio financiado por una Ayuda a la Investigación concedida por FUNDACIÓN MAPFRE. Los trabajos preliminares que han servido de base al estudio fueron realizados dentro del proyecto LipoSearch (Cod. 810201-904070003)

A MODO DE GLOSARIO

Adipocitos. Células esféricas o poliédricas que conforman el tejido adiposo. Están especializadas en la síntesis y almacenamiento de sustancias lipídicas en una gran vacuola del citoplasma.

Adipogénesis. Proceso de diferenciación de los adipocitos regulado por factores de crecimiento, hormonas y citoquinas. El proceso de adipogénesis implica la activación de una cascada altamente coordinada y regulada de factores de transcripción que, en conjunto, conducen al establecimiento del estado diferenciado.

ADSC (Adipose-Derived Stem Cells). Células madre multipotentes, derivadas de la fracción estromal del tejido adiposo. Pueden diferenciarse hacia linajes específicos como el adipogénico, condrogénico, osteogénico, miogénico o neurogénico.

ERK1/2 (Extracellular signal-regulated kinase 1 & 2). Son quinasas pertenecientes al grupo de las MAPK. Pueden, a través de la fosforilación de distintas proteínas, dar lugar a la activación de otras vías de señalización o a la activación de diversos factores de transcripción; produciendo así la activación o la represión transcripcional de determinados genes implicados en distintos procesos celulares que incluyen proliferación, migración, diferenciación y apoptosis.

ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection). Comisión creada por la International Radiation Protection Association (IRPA) para fomentar la protección ante radiaciones no ionizantes (RNI). Proporciona orientación y recomendaciones sobre protección contra los efectos inmediatos de la exposición a RNI intensas.

Lipólisis. Es el proceso metabólico mediante el cual los lípidos son transformados a ácidos grasos y glicerol, necesarios para cubrir las necesidades energéticas de los organismos.

MAPK (Mitogen-activated protein kinases). Son serina-treonina quinasas citosólicas, de expresión ubicua, que se caracterizan por transformar señales, generadas en la membrana celular, en respuestas específicas a través de una cascada lineal de fosforilación. En mamíferos han sido descritos seis grupos diferentes de familias de MAPK (ERK1/2, c-Jun N-terminal (JNK1/2/3) y p38 (p38 α / β / δ), ERK7/8, ERK3/4 y ERK5).

Microtesla (μ T). Unidad de medida de la densidad de flujo magnético, en el Sistema Internacional de Medidas.

PPAR γ . Receptor activador de la proliferación del peroxisoma (subtipo γ). Los receptores nucleares de este tipo actúan como factores de transcripción sobre numerosos genes. Existen 3 isoformas: PPAR α , PPAR β / δ y PPAR γ . Los PPAR γ forman parte del programa de diferenciación responsable de inducir la maduración de los pre-adipocitos en adipocitos.

Técnica inmunocitoquímica. Procedimiento inmunocitoquímico para la localización de moléculas en los tejidos mediante el empleo de anticuerpos.

Western blot o inmunoblot. Técnica analítica para la detección de proteínas específicas en una muestra determinada.

PARA SABER MÁS

- [1] Maes A., Curvers B., Verschaeve L. Lipoatrofia semicircularis: the electromagnetic hypothesis. *Electromagnet Biol Med*, 2003, (22) 183-193.
- [2] Mallet R.B., Champion R.H. Lipoatrofia semicircularis. *Br J Dermatol*, 1981, (105) 591-593.
- [3] Betti R., Urbani C.E., Inselvini E., Crosti C. Semicircular lipoatrofia. *Clin Exp Dermatol*, 1992, (17) 382-383.
- [4] Bordel Gómez M.T. Lipoatrofia semicircular unilateral. *Piel*, 2006, (21) 414-415.
- [5] De Groot A.C. Is lipoatrofia semicircularis induced by pressure? *Br J Dermatol*, 1994, (131) 887-890.
- [6] Gschwandtner W.R., Münzberger H. Lipoatrofia semicircularis. Linear and circular atrophy of the subcutaneous fat in the extremities. *Hautarzt*, 1974, (25) 222-227.
- [7] Gruber P.C., Fuller L.C. Lipoatrofia semicircularis induced by trauma. *Clin Exp Dermatol*, 2001, (26) 269-271.
- [8] Gómez-Espejo C., Bernal-Pérez A., Camacho-Martínez F. A new case of semicircular lipoatrofia associated with repeated external microtraumas and review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2005, (19) 459-461.
- [9] Hermans V., Hautekiet M., Haex B., Spaepen A.J., Van der Perre G. Lipoatrofia semicircularis and the relation with office work. *Appl Ergon*, 1999, (30) 319-324.
- [10] Mascaró J.M., Ferrando J. The perils of wearing jeans: lipoatrofia semicircularis. *Int. J Dermatol*, 1983, (22) 333.
- [11] Herane M.I., Urbina F., Sudy E. Lipoatrofia semicircularis: a compressive lipoatrofia consecutive to persistent mechanical pressure. *J Dermatol*, 2007, (34) 390-393.
- [12] Zafra-Cobo M.I., Yuste-Chaves M., Garabito-Solovera E., Santos-Briz Á., Morán-Estefanía M., de Unamuno-Pérez P. Lipoatrofia semicircular inducida por presión. *Actas Dermosifiliogr*, 2008, (99) 396-398.
- [13] Sanz P., Nogue S., Farrús X., Molina J.M. Lipoatrofia semicircular en oficinistas. *Med Clin (Barc)*, 2010, (134) 135-136.
- [14] Rosen E.D., Spiegelman B.M. Molecular regulation of adipogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2000, (16) 145-171.
- [15] Guallar J.P., Rojas-García R., García-Arumi E., Domingo J.C., Gallardo E., Andreu A.L., Domingo P., Illa I., Giralt M., Villarroya F. Impaired expression of mitochondrial and adipogenic genes in adipose tissue from a patient with acquired partial lipodystrophy (Barraquer-Simons syndrome): a case report. *J Med Case Reports*, 2008, (2) 284-289.
- [16] Chehab F.F. Obesity and lipodystrophy--where do the circles intersect? *Endocrinology*, 2008, (149) 925-934.
- [17] Yang Y., Tao C., Zhao D., Li F., Zhao W., Wu H. EMF acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Bioelectromagnetics*, 2010, (31) 277-285.
- [18] Tanabe Y., Koga M., Saito M., Matsunaga Y., Nakayama K. Inhibition of adipocyte differentiation by mechanical stretching through ERK-mediated downregulation of PPAR γ . *J Cell Sci*, 2004, (117) 3605-3614.
- [19] Martínez M.A., Cid M.A., Úbeda A., García V.J., Leal J., Trillo M.A. A role of ERK signaling in the proliferative effects of 50 Hz MF on human neuroblastoma cells. In Kostarakis P., editor. *Biological Effects of Electromagnetic Fields. Proceedings from the 4th International Workshop on Biological Effects of Electromagnetic Fields*. 2006, October 16-20. Crete, Greece (Vol II) 1051-1055.
- [20] Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.L., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*, 2002, (13) 4279-4295.
- [21] CNIRP. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic & electromagnetic fields. *Health Phys*, 1998, (74) 494-522.
- [22] Directiva 2004/40/CE del Parlamento Europeo y Consejo de 29 de abril de 2004. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004L0040:20081211:ES:PDF>
- [23] Hu, E., Kim J.B., Sarraf P. y Spiegelman B.M. Inhibition of adipogenesis through MAP kinase-mediated phosphorylation of PPAR γ . *Science*, 1996, (274) 2100-2103.
- [24] Bost F., Aouadi M., Caron L., Binétruy B. The role of MAPKs in adipocyte differentiation and obesity. *Biochimie*, 2005, (87) 51-56.
- [25] Kim K.A., Kim J.H., Wang Y., Sul H.S. Pref-1 (preadipocyte factor 1) activates the MEK/extracellular signal-regulated kinase pathway to inhibit adipocyte differentiation. *Mol Cell Biol*, 2007, (27) 2294-2308.
- [26] David V., Martin A., Lafage-Proust M.H., Malaval L., Peyroche S., Jones D.B., Vico L., Guignandon A. Mechanical loading down-regulates peroxisome proliferator-activated receptor gamma in bone marrow stromal cells and favors osteoblastogenesis at the expense of adipogenesis. *Endocrinology*, 2007, (148) 2553-2562.
- [27] Generalitat de Catalunya (2007). Lipoatrofia semicircular: protocolo de actuación. http://www.genocat.cat/treball/doc/doc_344_29608_2.pdf
- [28] Comunidad de Madrid http://www.madrid.org/cs/Satellite?c=CM_Publicaciones_FA&cid=1142453619567&idTema=1109266533527&language=es&pagina=ComunidadMadrid/Estructura&pid=1109265444831&segmento=1&sm=1
- [29] Curvers, B., Maes, A. (2003). Lipoatrofia Semicircularis: a new office disease? 900 cases reported in Belgium. <http://www.web-sindical.com/lipoatrofia/kbcbank.pdf>
- [30] Pérez A., Nebot M., Maciá M., Panadés R., on behalf of the Collaborative Group for the Evaluation of LS Outbreak Control Measures. An Outbreak of 400 Cases of Lipoatrofia Semicircularis in Barcelona: Effectiveness of Control Measures. *J Occup Environ Med*, 2010, (52) 751-757.