
¿Y DE INVESTIGACIÓN QUÉ?

TE: EFECTO DE LOS CAMPOS MAGNÉTICOS PULSANTES SOBRE LÍNEAS DE CÉLULAS TUMORALES MCF-7 Y K-562

TI: EFFECT THE PULSATING MAGNETICS FIELDS ON LINES MCF-7 TUMOR CELLS AND K-562

(Recibido: mar. 3, 2013. / Aceptado: may. 6, 2013.)

A. Lina Maritza Pinilla, Luis Miguel Pombo, Claudia Urueña, Óscar López, Antonio Mejía.

RESUMEN

Numerosas investigaciones sugieren que los campos magnéticos inducen apoptosis en diversas líneas tumorales, aparentemente sin afectar a células sanas. Sin embargo, las conclusiones son heterogéneas debido a las diferencias en las características de los campos magnéticos utilizados. Nuestro estudio se realizó con el objetivo de determinar el efecto de los campos magnéticos pulsantes sobre la morfología, el recuento celular y la viabilidad en líneas tumorales MCF-7 y K-562. Las células fueron expuestas a campos pulsantes positivos, de 6 mT y de 60 Hz, por periodos de una o de tres horas. El efecto se comparó con el producido por Doxorubicina 0,075 μ M o 10 μ M. En este artículo se exponen los principales resultados de dicho estudio.

Palabras clave: cáncer, medicina alternativa, terapéuticas alternativas, viabilidad celular, apoptosis, campos magnéticos pulsantes.

ABSTRACT

Numerous studies suggest that magnetic fields induce apoptosis in various tumor cell lines, apparently without affecting healthy cells. However, the conclusions are heterogeneous due to the differences in the characteristics of magnetic fields used. Our study was conducted to determine the effect of pulsed magnetic fields on the morphology, cell count and viability in tumor cell lines MCF-7 and K-562. Cells were exposed to positive pulsed field of 6 mT and 60 Hz, for periods of one or three hours. The effect was compared with that produced by doxorubicin 0.075 μ M to 10 μ M. This article presents the main results of the study are presented.

Key words: cancer, alternative medicine, alternative therapies, cellular viability, apoptosis, pulsating magnetic fields.

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la OMS, en el año 2008 se presentaron 12,7 millones de casos nuevos y 7,6 millones de muertes por cáncer en todo el mundo. La tasa global de incidencia de la enfermedad, excluyendo el cáncer de piel distinto de melanoma, fue de 108,8 x 100,000 habitantes y la tasa de mortalidad de 105,6 x 100,000, con amplias variaciones en las diferentes regiones del mundo. En Colombia, el número de casos nuevos en el año 2008 fue de 27.597, la tasa de incidencia, de 150,2 x 100.000 habitantes y la tasa de mortalidad, de 88,2 x 100.000 (1).

1 Grupo de investigación en Farmacología Vegetal y Terapéuticas Alternativas. Fundación Universitaria Juan N. Corpas.
2. Departamento de Inmunología. Universidad Javeriana. E-mail: lina.pinilla@juanncorpas.edu.co

A pesar del acelerado desarrollo de nuevos medicamentos antineoplásicos y de los avances tecnológicos en el tratamiento, se estima que en el año 2025 se presentarán 19,2 millones de casos nuevos y 11,7 millones de muertes por cáncer, en todo el mundo. (1)

En la primera línea de tratamiento de la enfermedad siguen teniendo la mayor importancia los medicamentos quimioterapéuticos, caracterizados porque su mecanismo de acción implica la destrucción de células con alta velocidad de replicación, por lo que es común que afecten células sanas y desencadenen efectos colaterales cuya severidad pone en riesgo la vida del paciente y determina, en muchos casos, la suspensión del tratamiento (2) (Tabla 1)

A diferencia de la quimioterapia, las terapias dirigidas utilizan medicamentos diseñados para actuar sobre moléculas de las vías que las células tumorales emplean para dividirse, diseminarse o crecer. La especificidad de su acción sobre vías y procesos propios de las células cancerosas hace que el daño colateral sobre estructuras sanas sea menor y menos frecuente que con la quimioterapia.

Algunas terapias dirigidas comprenden sustancias de bajo peso molecular que interactúan con proteínas intracelulares para modificar su función; otras incluyen anticuerpos monoclonales que interfieren la actividad de receptores localizados en el exterior de la célula y otras son vacunas que inducen la respuesta del sistema inmunitario frente a las células cancerosas. En la actualidad, las

Tabla 1. Antineoplásicos

| | Mecanismo de acción | Efectos secundarios | Medicamentos |
|-------------------------------|--|--|--|
| Alquilantes | Daño directo DNA (todas las fases del ciclo celular) | Lesión de médula ósea (Leucemia) | Ciclofosfamida, Carmustina, Busulfan, Dacarbazina, Tlotepa |
| Antimetabolitos | Interferencia con la transcripción DNA-RNA (Fase S) | Falla renal | 5-Fluoruracilo, 6-mercaptopurina, Metotrexate, Citarabina |
| Antibióticos | Interfieren replicación del DNA | Daño miocárdio | Doxorrubicina, Bleomicina, Actinomicina |
| Inhibidores de topoisomerasas | Inhiben topoisomerasas | Segundo cáncer (Leucemia mieloide aguda) | Topotecan, Etopósido |
| Inhibidores de mitosis | Bloquean enzimas necesarias para reproducción celular (fase M) | Lesión de nervios periféricos | Pacitaxel, Docetaxel, Vinblastina, Vincristina |

terapias dirigidas se emplean en compañía de los agentes quimioterapéuticos convencionales y sólo de manera ocasional, como tratamiento único. (3)

En la práctica médica, la decisión de utilizar un tratamiento antineoplásico depende, precisamente, del balance entre la efectividad del tratamiento y la morbilidad asociada al mismo. Resulta de la mayor importancia la búsqueda de terapéuticas que tengan especificidad por las células cancerosas y que impliquen mínimo compromiso de tejidos sanos. El empleo de anticuerpos antitumorales conjugados con radiosótopos y de medicamentos diseñados, representan los esfuerzos por encontrar dicha especificidad terapéutica. (3)

El efecto de los campos magnéticos pulsantes en

cáncer es motivo de amplio estudio, teniendo en cuenta los resultados de numerosas investigaciones que sugieren inducción de apoptosis en algunas líneas celulares, aparentemente sin afectar a células sanas (4)

Pocos estudios, sin embargo, indican que la exposición repetida a campos magnéticos de baja frecuencia puede provocar ruptura del DNA y apoptosis tanto en células tumorales como en células normales (5) lo cual resalta la necesidad de adelantar estudios que contribuyan a esclarecer los fenómenos ocasionados por los campos magnéticos y la posible selectividad de su acción.

Aunque se reconoce que varias estructuras y funciones celulares son modificadas por la ex-

posición a campos magnéticos, las conclusiones de los estudios no son homogéneas debido a la multiplicidad de variables como la intensidad, frecuencia, períodos de uso, tiempo total de exposición, características de los materiales y diseño del experimento.

Se dispone de estudios orientados a determinar el efecto sobre membranas celulares, expresión general y específica de genes, vías de transducción de señales, proliferación, diferenciación y regulación del ciclo celular, metabolismo y otras funciones, así como también posibles efectos sobre la integridad y la estructura del DNA. (6)

A pesar de que los cambios citados pudieran afectar a células normales también, son cada vez más numerosos los estudios que reportan especificidad en la inducción de apoptosis sobre células tumorales, con preservación de la estructura y la función de las células normales (7)

Se requieren investigaciones orientadas al esclarecimiento del efecto y del mecanismo de acción de los campos magnéticos pulsantes sobre células normales y tumorales, precisando probables diferencias en la respuesta biológica de acuerdo con la intensidad, la frecuencia, la polaridad y el tiempo de exposición. La apropiada modulación de estos parámetros podría modificar las funciones celulares y contribuir al tratamiento no farmacológico del cáncer.

El objetivo del presente estudio fue determinar el

efecto de los campos magnéticos pulsantes de 6 mT y de 60 Hz sobre la morfología y la viabilidad celular en líneas tumorales MCF-7 y K-562.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2 Células y cultivo

Las líneas MCF-7 (carcinoma de seno humano) y K-567 (eritroleucemia humana), fueron obtenidas en el Instituto de Investigaciones de la Universidad del Rosario (Bogotá, Colombia). El experimento fue realizado en el laboratorio de inmunología de la Universidad Javeriana (Bogotá, Colombia).

Las células permanecieron en incubación en medio RPMI-1640¹, suplementado con suero fetal bovino (SFB) 10%, penicilina 100 ug/mL, estreptomomicina 100 U/mL, glutamina 2mM, piruvato 10 mM y hepes 10 mM², a temperatura de 37°C, en ambiente con 5% de CO₂.

2.2 Campos magnéticos

Como dispositivo de campo magnético pulsante se utilizó el equipo MAGNETICOR®, fabricado por la empresa MEDICOR de Colombia. Este aparato cuenta con 4 unidades de aplicación de 169 cm² de superficie y 3 cm de altura, cada una; son controladas por un módulo que permite seleccionar polaridades positivas o negativas para cada uno de sus lados. El dispositivo genera campos magnéticos de 8 mT y de 60 Hz de frecuencia (figura 1).

Figura 1.
Generador de campo magnético pulsante MAGNETICOR®



Las unidades del equipo fueron dispuestas dentro de la incubadora, por debajo de las placas de Elisa de 96 pozos, que contenían las células. La intensidad del campo magnético se verificó por medio de un gaussometro, a una distancia de 2 cm de la unidad de generación, lugar en el que se registró una intensidad de 6 mT.

Se consideró, por lo tanto, que las células fueron expuestas a campo magnético pulsante, de 6 mT de intensidad y 60 Hz de frecuencia. En todos los casos se seleccionó polaridad positiva.

Durante el experimento no se presentaron variaciones significativas de temperatura en las zonas expuestas al campo magnético.

2.3 Diseño experimental

Cada línea celular se dividió en cinco grupos, los cuales fueron asignados aleatoriamente de la siguiente manera:

Grupo 1: Control

Grupo 2: Campo magnético positivo de 6 mT y 60 Hz, 1 hora de exposición

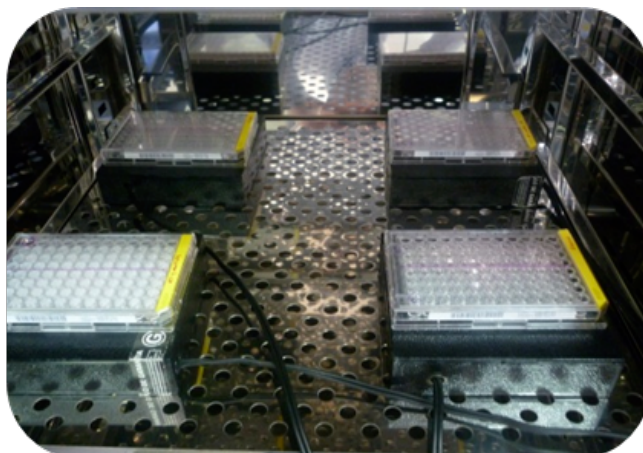
Grupo 3: Campo magnético positivo de 6 mT y 60 Hz, 3 horas de exposición

Grupo 4: Doxorrubicina 0,078 μ M

Grupo 5: Doxorrubicina 10 μ M

Durante el tiempo que duró el experimento, las células permanecieron en incubadora, bajo las condiciones descritas para el cultivo. (Figura 2)

Figura 2.
Cultivos celulares en incubadora, expuestos a campo magnético pulsante positivo, de 6 mT y 60 Hz.



Terminada la intervención, todos los grupos en estudio continuaron en incubación durante 48 horas más, al cabo de las cuales se determinaron Morfología celular, Recuentos de células vivas, Viabilidad y citotoxicidad (Figura 3).

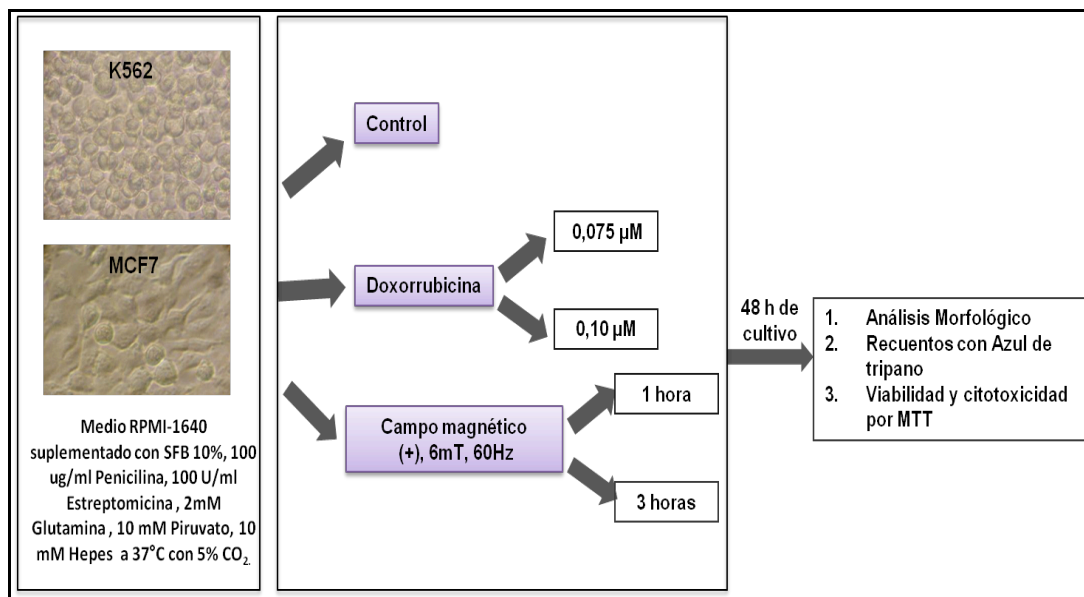
2.4 Determinación de la morfología celular

Para determinar la morfología, las células se examinaron por observación directa al microscopio de luz (Olimpus CH30) y se evaluaron los siguientes parámetros: presencia de vacuolas intracelulares, restos o detritos celulares, células muertas y adherencia celular.

¹Medio con nutrientes aminoácidos, glucosa, factores de crecimiento, Suero fetal bovino

²Buffer del medio

Figura 3.
Diseño experimental



Fundación Universitaria Juan N. Corpas
Grupo de Investigación. Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal

2.5 Recuento de células vivas

El recuento celular se realizó con azul de tripano. Las células vivas con la membrana intacta no se tiñen debido a que la membrana celular es selectiva respecto a este colorante. Así, las células viables, con membrana intacta, no incorporan el azul de tripano; por el contrario, el colorante sí atraviesa la membrana de las células muertas.

2.6 Viabilidad y citotoxicidad

Finalizada la incubación, 2 μl de MTT 12 mM [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromuro] (Molecular, Probes) en PBS 1X fueron adicionados a cada pozo e incubados por 4h a 37°C. Los cristales de formazan fueron disueltos con SDS-HCl 0.01M o Dimetilsulfóxido (DMSO) y la densidad óptica medida a 540 nm (miliabsorbancia, mAU) en un Multiskan MCC/340 (Labsystems).

2.7 Análisis estadístico

Los resultados son expresados como la media ±

SEM (Error estándar de la media). Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza a una vía (ANOVA) y las diferencias entre el grupo control y los grupos tratados se determinaron empleando la prueba de Bonferroni. Se consideraron diferencias significativas para $P < 0.05$. Se empleó el programa GraphPad Prism 5.0.

3. RESULTADOS

3.1 Morfología celular

3.1.1 Morfología celular en la línea MCF-7

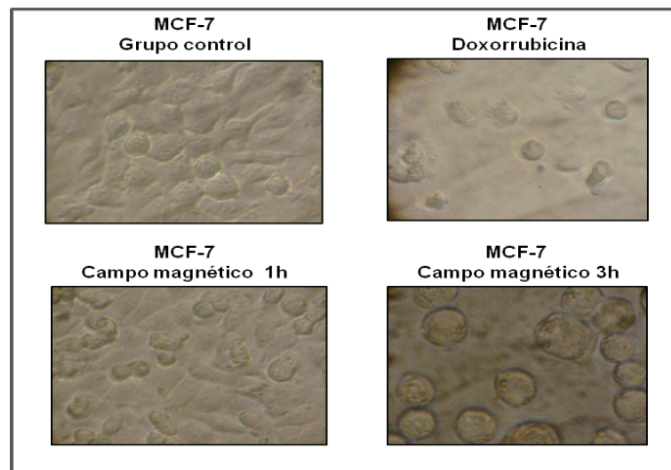
No se apreciaron cambios morfológicos en las células MCF-7 expuestas durante una hora a campo magnético, con respecto al grupo control.

En el grupo expuesto durante tres horas se observó incremento del volumen celular y aparición de vesículas intracitoplasmáticas. La adhesión celular se redujo y no se presentó formación de la monocapa adherente en la caja de cultivo, propiedad que es característica de las células de tumores sólidos. (Figura 4)

3.1.2 Morfología celular en la línea K-562

No se apreciaron cambios morfológicos en las células de la línea K-562 expuestas durante una hora al campo magnético.

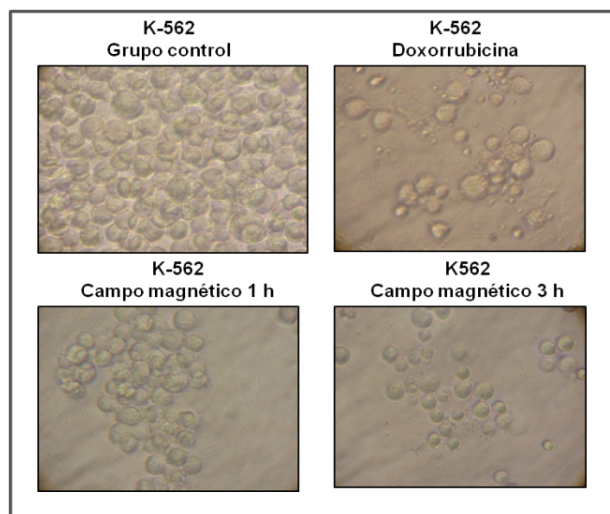
Figura 4.
Morfología celular en la línea MCF-7



Fundación Universitaria Juan N. Corpas
Grupo de Investigación. Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal

En el grupo expuesto durante tres horas no se observaron modificaciones de la morfología celular, pero al parecer se presentó una reducción del número de células, en comparación con el grupo control.

Figura 5.
Morfología celular en la línea K-562



3.2 Recuentos de células vivas

3.2.1 Recuentos de células vivas en la línea MCF-7

En el grupo control de la línea MCF-7, el recuento de células vivas después de 48 horas fue de 2×10^4 cel/mL, mientras que en el expuesto a campo magnético durante una hora el recuento fue de 3×10^4 cel/mL, siendo esta diferencia significativa ($p < 0,0001$).

En el grupo expuesto durante 3 horas el recuento fue inferior a 1×10^4 cel/mL siendo esta diferencia significativa con respecto al control ($p < 0,0001$). No se presentó diferencia en el recuento de células vivas entre el grupo expuesto durante tres horas y el grupo tratado con Doxorrubicina.

3.2.2 Recuentos de células vivas en la línea K-562

En el grupo control de la línea K-562, el recuento de células vivas después de 48 horas fue de 3×10^4 cel/mL. En el expuesto al campo magnético durante una hora el recuento fue inferior a 2×10^4 cel/mL y en el grupo expuesto durante 3 horas fue menor de 1×10^4 cel/mL, siendo ambas diferencias significativas con respecto al control ($p < 0,0001$). No se presentaron diferencias en los recuentos de células vivas entre el grupo expuesto durante tres horas y el grupo tratado con Doxorrubicina.

Figura 6.
Recuento de células vivas en la línea MCF-7

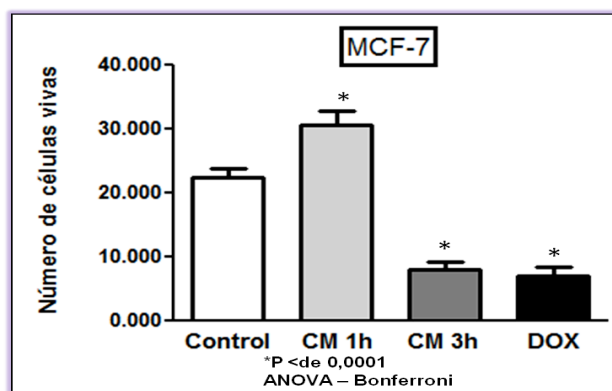
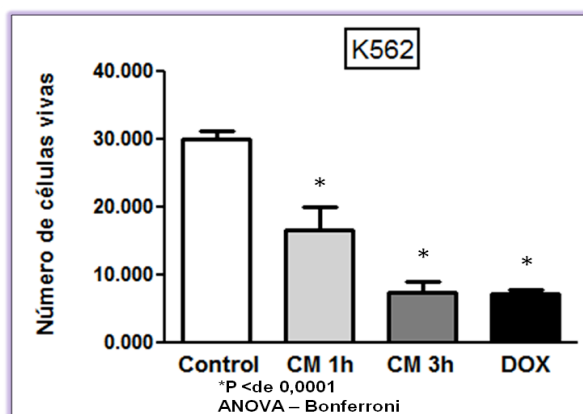


Figura 7.
Recuento de células vivas en la línea K-562

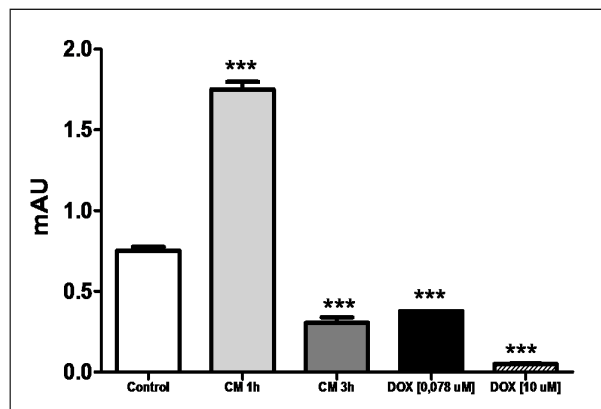


3.3 Viabilidad y citotoxicidad

3.3.1 Viabilidad y citotoxicidad en la línea MCF-7

La absorbancia tras la aplicación de MTT fue de 0,7525 mAU en el grupo control de la línea MCF-7, en el expuesto a campo magnético durante una hora aumentó a 1,751 mAU, diferencia que fue significativa ($p < 0,0001$). En el grupo expuesto durante 3 horas, la absorbancia fue de 0,3041 mAU, en las células tratadas con Doxorrubicina 0,075 μM fue de 0,305 mAU y en las tratadas con Doxorrubicina 10 μM fue menor de 0,112 mAU. No se presentó diferencia significativa en la viabilidad celular entre el grupo tratado con campo magnético 3 horas y los tratados con Doxorrubicina.

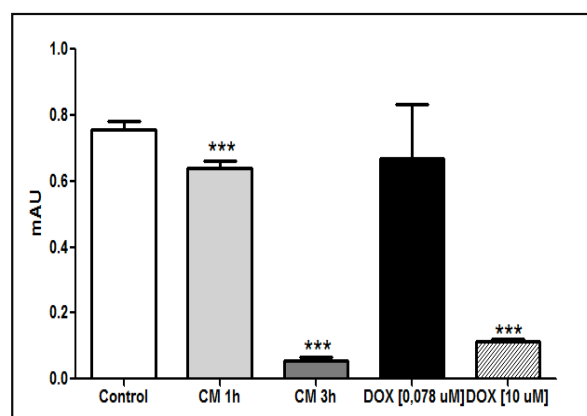
Figura 8.
Viabilidad y citotoxicidad en células MCF-7



3.3.2 Viabilidad y citotoxicidad en la línea K-562

La absorbancia tras la aplicación de MTT fue de 0,75 mAU en el grupo control de la línea K-562, en el expuesto a campo magnético durante una hora fue de 0,65 mAU y en el expuesto a tres horas se redujo a 0,08 mAU, siendo las diferencias significativas con respecto al control ($p < 0,0001$). En el grupo tratado con Doxorrubicina 0,75 μM , la viabilidad celular fue equivalente a la del expuesto una hora al campo magnético. La viabilidad en el grupo expuesto tres horas presentó comportamiento similar al del tratado con Doxorrubicina 10 μM . (Figura 9)

Figura 9.
Viabilidad y citotoxicidad en células K-562



4. DISCUSIÓN

En el presente estudio, las células MCF-7, que corresponden a un tumor sólido, modificaron su volumen citoplasmático y perdieron su adherencia después de tres horas de exposición al campo magnético pulsante de 6 mT y de 60 Hz. Cambios semejantes han sido reportados con el uso de diversos campos magnéticos, pulsantes o constantes, en cultivos celulares tanto en células adherentes como no adherentes (8, 9, 10, 11,12). En nuestro estudio, sin embargo, no se apreciaron cambios morfológicos en las células no adherentes K- 562 (eritroleucemia humana)

Los cambios que han sido descritos por la exposición a campos magnéticos moderados (6mT) consisten, para el caso de células que crecen en suspensión, en la pérdida de su forma redondeada y en la adquisición de una alargada e irregular, mientras que para las células adherentes se trata de modificaciones en su forma y orientación o en la pérdida de su adherencia, quedando, de esta manera, libremente suspendidas en el cultivo (13). Los resultados coinciden con los de estudios que reportan cambios en la morfología de células tumorales, reducción de la viabilidad celular e inducción de apoptosis con campos magnéticos pulsantes, de 6 a 60 mT y de 50 a 60 Hz de frecuencia (5, 11) y apoya las observaciones que sugieren que la inhibición del crecimiento celular y la inducción de apoptosis inducidas por los campos magnéticos pulsantes de 60 Hz, se presentan en función de la intensidad del campo y del tiempo de exposición (14).

Así, campos magnéticos de 1 mT y 60 Hz de frecuencia no mostraron efecto sobre el crecimiento ni sobre la viabilidad de líneas celulares de cáncer de mama después de exposición continua durante 72 horas (14) y exposiciones menores de 30 minutos a campos pulsantes de 6 mT y 60 Hz no produjeron modificación en la viabilidad de células normales ni de células tumorales (5).

Los métodos empleados en nuestro estudio no permiten determinar la causa de la reducción de la viabilidad observada en las dos líneas celulares después de tres horas de exposición al campo

magnético pulsante. Sin embargo, otras investigaciones que han obtenido resultados semejantes explican esta respuesta, exclusivamente, por un aumento de la apoptosis de las células tumorales (16), puesto que en ningún caso informado hasta ahora, se ha encontrado necrosis como el mecanismo involucrado en la reducción de la viabilidad celular (9, 17)

Varias hipótesis pretenden explicar el origen de la apoptosis inducida por los campos magnéticos pulsantes. Han sido implicados el arresto del ciclo celular, la activación de Caspasa 3, el aumento en las EROs (14) la activación de genes promotores de proteínas de choque térmico (18) y la activación de vías de señalización relacionadas con apoptosis. En relación con este último efecto, Jyeon y cols propusieron que exposiciones repetidas a “pequeñas dosis” de campo magnético podrían inducir estrés y originar la activación de p38 y de otras vías de señalización relacionadas con apoptosis. Esta respuesta se presentó con períodos de exposición de 30 minutos de duración, cada 24 a 72 horas y afectó tanto a células tumorales como a células normales (5). Crocetti y cols también informaron apoptosis creciente en función del tiempo, a partir de la primera hora, en células tumorales MCF-7 expuestas a campos magnéticos de 60 mT y de 20 Hz, pero no encontraron efectos sobre la viabilidad de fibroblastos normales (7).

Otras investigaciones sugieren que campos magnéticos pulsantes de 8 a 80 μ T y frecuencias de 50 a 60 Hz pueden inducir activación de genes promotores de factor de choque térmico o de proteínas de choque térmico en algunas líneas de células tumorales (INER – 37) (18)

Además de los mecanismos mencionados, otros autores plantean la hipótesis de lesión del DNA inducida por Especies Reactivas de Oxígeno (EROs), de acuerdo con pruebas in vitro sobre células DU 145, PC3 y LNCaP, expuestas a campos magnéticos de diferente intensidad, a frecuencias sinusoidales de 60 Hz. En estas condiciones, se produjo una significativa inhibición del crecimiento celular y aumento de la apoptosis, de manera proporcional al tiempo y a la intensidad, con incremento de arresto del ciclo celular, activación de Caspasa

3 e incremento de especies reactivas de oxígeno (EROs). La adición de inhibidores de Caspasa 3 y de antioxidantes como N-acetilcisteína atenuaron significativamente el efecto de inhibición del crecimiento y la apoptosis. Los resultados sugieren que los campos magnéticos de 60 Hz ejercen inhibición del crecimiento de células tumorales, a través de la inducción de EROs (14).

Estudios recientes sugieren que campos magnéticos de 60 Hz inducen genes de estrés y proteínas de respuesta al estrés, por medio de la interacción con electrones del DNA (19). Ha sido identificado un segmento de 900 pares de bases asociado a la respuesta a campos magnéticos. La supresión de este segmento impide la respuesta al campo magnético. En el nivel molecular, se ha determinado el efecto de los campos magnéticos en tres reacciones: la transferencia de electrones en la citocromo oxidasa, la hidrólisis del ATP por la Na⁺, K⁺-ATPasa y la reacción de Belousov-Zhabotinski (BZ) (20). Los investigadores sugieren que la interacción del campo magnético con los electrones en movimiento durante los procesos de óxido reducción es la responsable del aumento en la velocidad de estas reacciones. Dicho efecto electrónico también ocasionaría las modificaciones observadas en el DNA. Debe señalarse, sin embargo, que para cada una de las reacciones mencionadas, las frecuencias de campo magnético que desencadenaron el mayor efecto fueron distintas, así, sobre la ATPasa lo tuvo el campo de 60Hz, sobre la citocromo oxidasa el de 800 Hz (21) y sobre la reacción BZ el de 250 Hz (22, 23)

Las corrientes eléctricas inducidas por los campos magnéticos pulsantes, al actuar sobre el DNA, podrían provocar procesos de replicación y de transcripción. Sin embargo, en células tumorales cuyo genoma se ha modificado, los campos pulsantes podrían inducir modificaciones en bases y tripletas anormales que serían las responsables de la citoreducción que se observa en los eventos mediados por necrosis celular o por apoptosis. (4)

CONCLUSIONES

A pesar de la heterogeneidad que presentan los estudios en relación con el campo magnético, la frecuencia y el tiempo de aplicación en cultivos de células tumorales, la mayoría de los que reportan reducción de la viabilidad han utilizado campos magnéticos de 6 a 8 mT y de 60 Hz de frecuencia. Los tiempos de exposición son variables, pero hay coincidencia en que los cambios se presentaron en función del tiempo y que períodos menores de 1 hora no produjeron efectos significativos.

La proliferación seguida por disminución del recuento celular en células MCF-7, que se encontraron en nuestro estudio, no han sido reportadas en las investigaciones revisadas, pero los cambios en morfología y viabilidad después de tres horas de exposición son semejantes a los informados por otros autores.

La disminución en la viabilidad celular observada en células K-567 coincide con los hallazgos reportados en estudios similares.

Aunque la causa de la citotoxicidad observada no puede ser determinada con los métodos empleados en el presente estudio, otras investigaciones sugieren que se presenta apoptosis mediada por aumento de Ca⁺⁺ intracelular, activación de Caspasas, inducción de MAP quinasa p38 y lesión del DNA por EROs. Se ha sugerido que estos efectos se presentan en células con alteración genómica, sin afectar a células normales.

5. BIBLIOGRAFIA

1. International Agency for Research in Cancer, OMS, 2008, GLOBOCAN. Consultado en Marzo 27 de 2013
2. www.cancer.org. [Fecha de acceso Marzo 27 de 2013]
3. <http://www.cancer.gov/flash/targetedtherapies/flex/main.html#app=931b&121b-id=M01-S06-D0>
4. Elson E. The Little Explored Efficacy of Magnetic Fields in Cancer Treatment and Postulation of the Mechanism of Action. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 28: 275-282, 2009. Electromagn Biol Med Downloaded from

- informahealthcare.com by HINARI on 02/23/11
5. Jiyeon K, Chang Seung H, Hae June L, Kiwon S. Repetitive exposure to a 60-Hz time-varying magnetic field induces DNA double-strand breaks and apoptosis in human cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 400 (2010) 739–744. www.elsevier.com/locate/ybbr
 6. Simkó M, Mattsson MO. Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: possible immune cell activation. *J Cell Biochem.* 2004 Sep 1; 93 (1):83–92.
 7. Crocetti S, Piantelli F, Leonzio C. Selective destabilization of tumor cells with pulsed electric and magnetic sequences: a preliminary report. *Electromagn Biol Med.* 2011 Sep;30 (3):128–35.
 8. Hamada, S.H., Witkus, R., Griffith R, Cell surface changes during electromagnetic field exposure. *Experimental Cell Biology.* 1989 (57): 1–10.
 9. Paradisi S, Donelli G, Santini M, Straface E, Malorni W. A 50 Hz magnetic field induces structural and biophysical changes in membranes. *Bioelectromagnetics* 1993 (14), 247–255.
 10. Santoro N, Lisi A, Pozzi D, Pasquali E, Serafino A, Grimaldi S. Effect of extremely low frequency (ELF) magnetic field exposure on morphological and biophysical properties of human lymphoid cell line (Raji). *Biochemical Biophysical Acta* 1997 (1357), 281–290.
 11. Chionna A, Tenuzzo B, Panzarini E, Dwikat M, Abbro L, Dini L. Time-dependent modifications of Hep G2 cells during exposure to Static Magnetic Fields. 2005 May; 26 (4):275–86
 12. Tenuzzo B, Vergallo C, Dini L. Effect of 6mT static magnetic field on the bcl-2, bax, p53 and hsp70 expression in freshly isolated and in vitro aged human lymphocytes. *Tissue and Cell* 41 (2009) 169–179 www.elsevier.com/locate/tice
 13. Rosen, A. Membrane response to static magnetic fields: effect of exposure duration. *Biochemical Biophysical Acta* 1993; 1148, 317–320.
 14. Koh E, Ryu B, Jeong D, Bang I, Nam M, Chae K. A 60-Hz sinusoidal magnetic field induces apoptosis of prostate cancer cells through reactive oxygen species. *Int J Radiat Biol* 2008 Nov; 84 (11): 945–55.
 15. Loberg L, Engdahl W, Gauger J, McCormick D. Cell viability and growth in a battery of human breast cancer cell lines exposed to 60 Hz magnetic fields. *Radiat Res.* 2000 May; 153 (5 Pt 2): 725–8
 16. Teodori, L, Grabarek J, Smolewski P, Ghibelli L, Bergamaschi A, De Nicola, M, Darzynkiewicz Z. Exposure of cells to static magnetic fields accelerates loss of integrity of plasma membrane during apoptosis. *Cytometry* 2002b 49 113–118.
 17. Dini L, Abbro L. Bioeffects of moderate-intensity static magnetic fields on cell cultures. *Micron* 36 (2005) 195–217. www.elsevier.com/locate/micron.
 18. Heredia-Rojas J, Rodríguez de la Fuente A, Alcocer González J, Rodríguez-Flores L, Rodríguez-Padilla C, Santoyo-Stephano M, Castañeda-Garza E, Taméz-Guerra R. Effect of 60 Hz magnetic fields on the activation of hsp70 promoter in cultured INER-37 and RMA E7 cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2010 Oct;46(9): 758–63.
 19. Blank, M. 2007. Evidence for Stress Response (Stress Proteins). In *Bioinitiative Report A Scientific Perspective on Health Risk of Electromagnetic Fields*. [en línea] 31 Agosto 2007 [Fecha de acceso Noviembre 1 de 2011]; Section 7, pp. 1–40. URL disponible en <http://www.bioinitiative.org/report/index.htm>.
 20. Blank, M. 2005. A proposed explanation for effects of electric and magnetic fields on the Na,K-ATPase in terms of interactions with electrons. *Bioelectromagnetics* 26(8):591–597.
 21. Blank M, Soo L. Frequency Dependence of Cytochrome Oxidase Activity in Magnetic Fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 1998 46:139–143.
 22. Blank, M. Protein and DNA Reaction Stimulated by Electromagnetic Fields. *Bioelectromagnetic Biology and Medicine* 2008 27: 1–21.
 23. Blank, M, Goodman R. 2007. A Mechanism for Stimulation of Biosynthesis by Electromagnetic Fields: Charge Transfer in DNA and Base Pair Separation. *Journal of Cellular Physiology* [en línea] 2007 July 9 [Fecha de acceso Noviembre 1 de 2011] DOI: 10.1002/jcp.21198.