



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

ENE 2014

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN-FCNM

INFORME FINAL



“EFECTOS DE CAMPOS MAGNETICOS PULSANTE DE BAJAS FRECUENCIAS EN EL DESARROLLO DE CELULAS DROSOFILAS MELANOGASTER”

AUTOR:

Lic. Fis. CARLOS ALBERTO LEVANO HUAMACCTO

Resolución Rectoral N°800-2012-R

(Del 01 de Setiembre del 2012 al 31 de Agosto del 2013)

CALLAO – PERU

2013



INDICE

II.-RESUMEN.....	3
III.-INTRODUCCION.....	4
IV.-MARCO TEORICO.....	7
CÉLULA DROSOPHILA MELANOGASTER.....	10
1.1. Drosophila Melanogaster.....	10
1.2. Célula Drosophila Melanogaster.....	10
1.3. Dinámica de los iones a través de la membrana celular.....	11
CAMPO MAGNETICO PULSANTE.....	14
2.1.Intensidad de Campo Magnético en las Bobinas de Helmholtz.....	14
2.2.Generando un Campo Magnético pulsante.....	16
2.3.Calculando la intensidad de un campo magnético	18
V.-MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
5.1. Equipos y Materiales.....	21
5.2. Instalación de equipos.....	23
5.3. Preparación de muestras.....	24
5.4. Toma de datos.....	26



VI.-RESULTADOS.....	32
VII.-DISCUSION.....	49
VIII.-CONCLUSIONES.....	51
IX.-REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	52
X.-APENDICE.....	54
XI.-ANEXO.....	57



II.-RESUMEN

El presente trabajo es una investigación experimental básica, donde se busca comprobar si un campo magnético pulsante generada en una bobina de Helmholtz de forma senoidal rectificado con frecuencias 1 y 10Hz, afecta el desarrollo de la *Drosophila Melanogaster*, que son insectos llamados comúnmente mosca de la fruta.

Los insectos fueron expuestos desde la etapa de huevo(célula) hasta la etapa adulta, al campo magnético por un periodo de tres horas diarias durante su desarrollo que duró veinticinco días a temperatura de 19°C; para esta investigación se trabajó con dos grupos, uno a la que se exponía a campo magnético de 690gauss pulsante y, otro grupo control no expuesta al campo magnético; los resultados obtenidos son que la *Drosophila melanogaster* expuesta al campo magnético con frecuencia de 1y 10Hz presentan diferencias significativas a las *Drosophilas melanogaster* que no fueron expuestas al campo.

Las *D. melanogaster* fueron observados en microscopio electrónico para encontrar diferencias morfológicas en sus etapas de desarrollo larva, pupa y adulta; encontrándose diferencias más notables en la etapa de pupa y adulta.

Este trabajo es una primera etapa de investigación y pretende contribuir con estudios de campos magnéticos y su efecto en sistemas biológicos, y, que puede extenderse para estudiar otros efectos como es de resonancia, efectos genéticos analizando la segunda, tercera y cuarta generación de las *Drosophila Melanogaster*.



III.-INTRODUCCIÓN

Los sistemas biológicos son sistemas complejos y los procesos que suceden en ellos no violan las leyes y principios de la Física como el mecanismo que sucede en las membranas de las células particularmente interesante, porque la membrana celular es el medio a través del cual la célula interactúa con el medio que lo rodea, se alimenta, se desarrolla y tiene ver mucho en la reproducción celular. (Karsay 2006)

La membrana celular presenta una diferencia de potencial eléctrico debido a la diferencia de concentración entre intracelular y extracelular de la membrana, y la diferencia de polarización, ésta diferencia se conoce como potencial de membrana celular estudiado en la Biología, entre ambos lados de la membrana a través de la cual pueden pasar con mayor o menor facilidad los iones de el sodio, cloro y potasio. (Karzay 2006)

La célula tiene un complejo mecanismo de desarrollo, llamado mitosis que consiste en la división de la célula y el aumento de la población celular, constituyendo sistemas complejos como los tejidos, órganos; entonces el movimiento de iones en la membrana tiene mucho que ver en la mitosis, este proceso puede ser alterado por campos magnéticos externos a la célula, según la electrodinámica una carga en movimiento experimenta una fuerza magnética.(Goldsworthy et al.,1999)



En los últimos 20 años ha tomado mayor interés el estudio de los efectos biológicos en las células debido a la exposición de campos magnéticos variables y el problema del cáncer, es por ello que han realizado investigaciones con experimentos con campos magnéticos y ratas de laboratorio implantadas quirúrgicamente con células cancerígenas se han realizado, luego de ser expuestas a campos de frecuencias de alrededor de 10 á 50Hz se observó que vivieron más días de las que no fueron expuestas a campo magnético.(Lavan D y Cano P. 2006)

Se ha intensificado el uso además de los ratas de laboratorio a la *Drosophila Melanogaster* en los laboratorio de genética (W.E. Castle y Woodworth,1906) la elección se debe porque posee un reducido número de cromosomas, 4 pares y un breve ciclo de vida entre 15 á 25 días y aproximadamente el 61% de enfermedades humanas que se conocen tienen su contrapartida en el genoma de las *Drosophila*, es por ello que se hace interesante para experimentar con campos magnéticos.

Lo que hace el campo magnético variable a una frecuencia es aumentar o disminuir la difusión de iones en la membrana celular, aumentando o disminuyendo de esta manera la mitosis en sistemas biológicos.

El objetivo que busca el presente trabajo de investigación es observar si el campo magnético pulsante influye en el desarrollo de las *D. melanogaster*, es por ello que nos planteamos el siguiente problema de investigación: ¿Cuáles son los efectos



que los campos magnéticos pulsantes de bajas frecuencias generan sobre el desarrollo de las células *Drosophila Melanogaster*?

Esta investigación es muy importante porque contribuye en los estudios para comprender los efectos de los campos magnéticos sobre sistemas biológicos, como las células cancerígenas que en los últimos años se ha proliferado los casos en pacientes en nuestro medio en todos los estratos sociales y en todas las edades de los seres humanos.



IV.MARCO TEORICO

En las últimas décadas se están realizando estudios sobre el efecto de las ondas electromagnético en el cuerpo humano, es así como parte de esos estudios se trata los campos magnéticos, de esos estudios se conoce por ejemplo que no producen efectos de ionización sobre sistemas biológicos, que tienen efectos desinflamantes sobre el cuerpo humano(Karsay), a pesar que hay varios estudios no se tienen resultados concluyentes, por la compleja dinámicas que presentan como la membrana de las células, en ella se presenta dinámica de los iones (iones de sodio, cloro, calcio, potasio). La utilización de los campos magnéticos es considera una terapia alternativa en el tratamiento contra cierto tipos de cáncer que debe ser mejor estudiado, ello requiere comprender esos dinámicas que suceden en las células. [1],[2],[3],[4],[7]

El efecto que los campos electromagnéticos ejercen sobre el crecimiento celular se estudia desde el punto de vista biofísico, pero su aplicación a la biotecnología no se ha estudiado de forma profunda; solo en la última década algunos estudios se han dedicado a microorganismos de interés biotecnológico (Hirano et al., 1998; Jung y Sofer, 1997; Phillip et al., 1997; Goldsworthy et al.,1999)

Los campos electromagnéticos afectan la dirección de la migración(Blakemore y Frankel,1981;Farina et al.,1982,1983;Mottas y Lins,1986;Adamkicwicz et al.,1987) y alteran el crecimiento y la reproducción de los microorganismos(Jennison,1937;Kimball,1938;More,1979) causan cambios en la síntesis de ADN(Liboff et. Al 1984), en la orientación de biomoléculas y

biomembranas (Maret et al 1985; Collis y Segal, 1988), generando como resultado neto una modificación en la velocidad de reproducción celular (Gereneser et al., 1962; Pothakamury et al., 1993 a; Goldsworthy et al., 1999).

El efecto que generan los campos magnéticos sobre el crecimiento celular se puede clasificar (Pothakamury et al., 1993b) en inhibitorio, estimulador o no observable. Los efectos de estimulación o inhibición de los campos magnéticos se han atribuido a cambios en la orientación de las biomoléculas (proteínas), cambios en las biomembranas (lipídicas y plasmáticas), alteraciones del flujo de iones a través de la membrana plasmática y cambios en la estructura de las biomoléculas (Pothakamury et al., 1993).

Los campos electromagnéticos pueden usarse para inhibir el crecimiento de los microorganismos, conservación de alimentos (Gereneser et al., 1962; Van Nostran et al., 1967; Pothakamury et al., 1993 a,b; Mertens y Knorr, 1992; Dallas, 1997). En este trabajo buscamos que este efecto en el desarrollo de las *D. melanogaster*.

Según Baker y Judd (1996), el mejor efecto sobre las partículas coloidales se obtiene cuando el medio líquido se hace pasar varias veces a través del dispositivo generador de campo, pero estos dispositivos utilizan densidades de flujo magnético relativamente altas (0,01 á 0,5T).

Los mecanismos por los cuales los campos magnéticos afectan el desarrollo de los microorganismos no se conocen completamente, pero se interpreta que se desarrollan por efecto sobre la membrana plasmática, con posibles



repercusiones. Se han propuestos varias teorías para explicar el efecto de los campos débiles sobre los organismos.

Los insectos llamados *D. melanogaster* puede ser un medio para estudiar los efectos de campos magnéticos sobre los organismos vivos, y se puede usar para probar teorías porque desde el punto de vista genético el que más se acerca a los mamíferos y además tiene un ciclo corto de vida, por lo que se pueden ver los resultados en corto tiempo.



CÉLULA DROSOPHILA MELANOGASTER

1.1. Drosophila Melanogaster

Es un insecto que pertenece al orden díptero con cuatro pares de cromosomas, está dividido en tres segmentos su cuerpo:

La cabeza, región donde se encuentra las partes bucales el labrum y el clipeus que forman un aparato.

El tórax, región central del D. melanogaster, donde se derivan las patas delanteras.

El Abdomen, parte extremo donde digieren sus alimentos y en el caso de la hembra es más grande que del macho.

Tienen un ciclo de vida de cuatro fases con una duración es de 25 días en promedio de vida a temperatura de 20°. El huevo es depositado sobre la superficie de la fruta; larva es segmentada con forma de gusano, no tiene ojos ni apéndice. La pupa es la etapa previa a adulta y finalmente la etapa adulta cuando ya es mosca.

1.2. Célula Drosophila Melanogaster

Son células que constituyen a las Drosophila Melanogaster, cuando la hembra luego de aparearse deposita su huevo sobre la fruta en descomposición, el huevo es una célula finalmente a la que se le expondrá al campos magnético pulsante.



1.3. Dinámica de los iones a través de la membrana celular

Las células presentan corrientes iónicas en la membrana celular, estos son procesos de difusión debido al gradiente de concentración entre el medio intracelular y extracelular.

Las células tienen una membrana formada por dos capas lipídicas parcialmente envueltas por proteínas, cuya función general es la de separar la célula del medio exterior, favorecer el paso de elementos polares (hidrófobos o lipófilos) a través de ellas, transportan partículas cargadas (moléculas polares con carga, iones) por difusión. Las propiedades de transporte y permeabilidad a través de las membranas también generan una distribución asimétrica de iones a uno y otro lado de la membrana celular, generándose una diferencia de potencial, llamada *potencial de membrana*. [8]

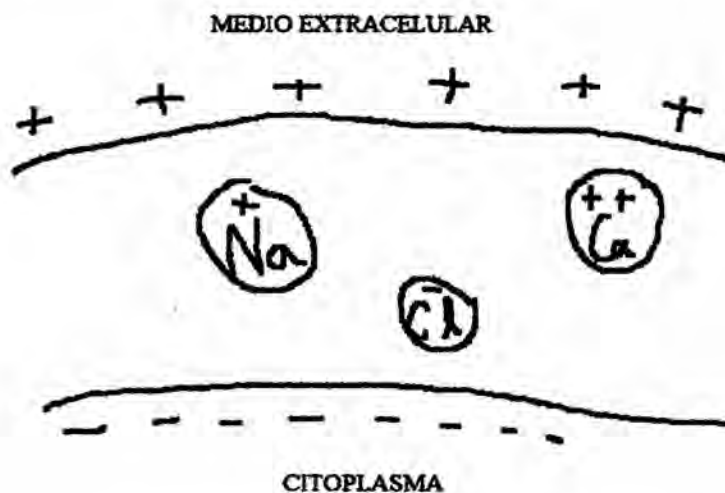


Figura1: Iones en la membrana celular

Los iones de Na, K, son partículas cargadas, que presentan movilidad en la membrana celular de difusión por diferencia de concentración entre en medio intracelular y extracelular y, de deriva causado por un campo eléctrico en la membrana celular por la distribución de los iones de la propia célula(Aurengo)

La complejidad en el estudio de los fenómenos eléctricos en la membrana proviene del hecho de que junto al reparto de las partículas cargadas(iones) bajo el efecto del gradiente de potencial eléctrico se tienen que analizar las modificaciones que sufre éste último como consecuencia del reparto de los iones a ambos lados de la membrana.[10]

Para el estudio de la membrana se toma el modelo donde considera a la membrana celular como si fuera un diodo de estado sólido (Zitter) como se muestra en la figura2.

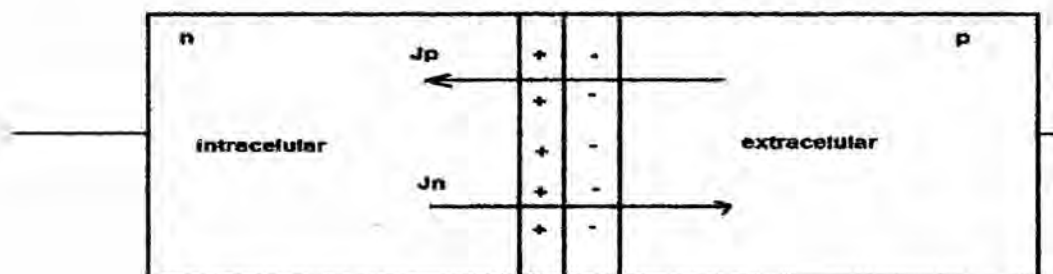


Figura2: Modelo de la membrana celular, un diodo de estado sólido

Donde, la J_n y J_p esta dados por las siguientes ecuaciones

$$\vec{J}_p = -qD(\vec{\nabla}C_p) + [q\mu_p C_p(\vec{E}) + \mu_p(\vec{J}_p \times \vec{B})] \dots\dots\dots (1)$$

$$\vec{J}_n = -qD(\vec{\nabla}C_n) + [q\mu_n C_n(\vec{E}) + \mu_n(\vec{J}_n \times \vec{B})] \dots\dots\dots (2)$$

Donde, J_n y J_p son las densidades de corriente para los iones negativos y positivos(llamados huecos) respectivamente; D la difusión; q la carga eléctrica; C_p y C_n concentraciones; E campo eléctrico; B campo magnético; u_p , u_n densidad de carga eléctrica, la parte que está en corchete es la corriente de deriva y la otra de difusión. La corriente iónicas está compuesto por los J_p y los J_n , como se puede observar hay contribución a del campo magnético externo.



CAMPO MAGNETICO PULSANTE

2.1. Intensidad de Campo Magnético en las Bobinas de Helmholtz

El campo magnético entre dos bobinas de Helmholtz por donde circula una corriente I , como se muestra en la figura 3 se puede determinar por la Ley de Biot-Savart.

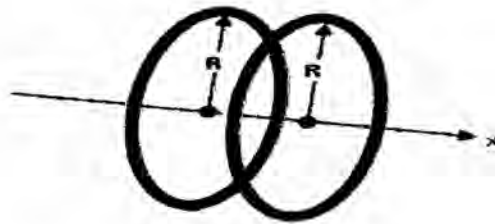


Figura3: Bobinas de Helmholtz, donde la variación de la intensidad del campo magnético va a depender de la forma de corriente eléctrica que pasa por la bobina, que viene del generador de señales.

La intensidad del campo magnético obtenida con la mencionada ley está dada por la siguiente expresión y, es más intensa en el centro de dos bobinas.

$$B = B_1 + B_2 = \frac{\mu_0 N I R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} - x \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} + \frac{\mu_0 N I R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} + x \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} \quad (3)$$



Donde, μ_0 la permeabilidad magnética; N el número de espiras; I la corriente que circula por las bobinas, R el radio de la bobina y d la distancia entre las bobinas.

En el centro de las bobinas, $x=0$, las intensidades de los campos magnéticos se suman y debería observarse más intensa según la ecuación 3, depende de la corriente eléctrica y geometría como son el radio, la distancia entre las bobinas que determinan la intensidad del campo magnético entre las bobinas en la línea horizontal como se observa en la figura 4.

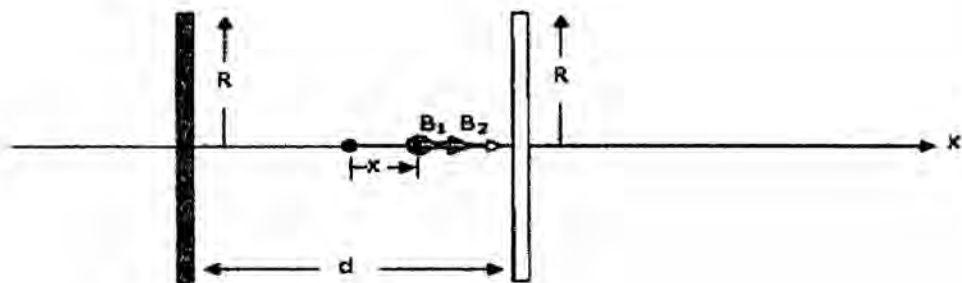


Figura4: Esquema de la bobinas y las intensidades de campo magnético.

La intensidad de campo en el centro de las bobinas viene dada por la siguiente expresión,

$$\vec{B} = \frac{\mu_0 N I R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} + \frac{\mu_0 N I R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} \quad (4)$$



2.2. Generando un Campo Magnético pulsante

Para obtener un campo magnético pulsante a una frecuencia sin que cambie el sentido del campo magnético entre las dos bobinas, se tiene que construir un circuito con diodos de estado sólido conectados en conexión puente de wheatstone, transformador, transistores como se observa en la figura 5. El campo en el eje no cambia de dirección y es pulsante de forma de una función senoidal rectificada.

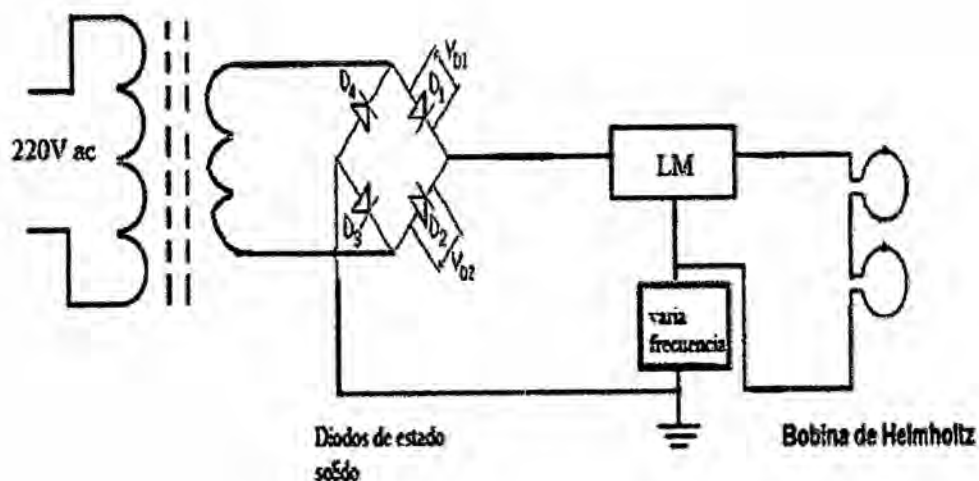


Figura5: Esquema del circuito con las bobinas conectadas en serie.

La corriente ahora es una función del tiempo, la de una función senoidal rectificada y es por ello que la expresión de la intensidad de campo magnético

cambia como se muestra a continuación en la ecuación 6.

$$B = \frac{\mu_o N [I(t)] R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} + \frac{\mu_o N [I(t)] R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} \quad (5)$$

la corriente va a tener la forma de una senoidal en valor absoluto, porque la fuente genera una señal senoidal, la expresión de la corriente viene entonces dada por la siguiente ecuación que presenta una función senoidal rectificada.

$$I(t) = |I_0 \text{ Sen}(wt)| \quad (6)$$

Entonces la intensidad de campo magnético en el centro de las bobinas es la siguiente expresión,

$$B = \left\{ \frac{\mu_o N R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} + \frac{\mu_o N R^2}{\left(\left[\frac{d}{2} \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} \right\} I(t) \quad (7)$$



2.3. Calculando la intensidad de un campo magnético pulsante

Se calcula la intensidad del campo magnético entre las bobinas considerando los siguientes datos:

$$N=240$$

$$R=0,1325\text{m}$$

$$d= 0,1470\text{m}$$

$$R=0,1325\text{m}$$

$$\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} \frac{\text{Tm}}{\text{A}}$$

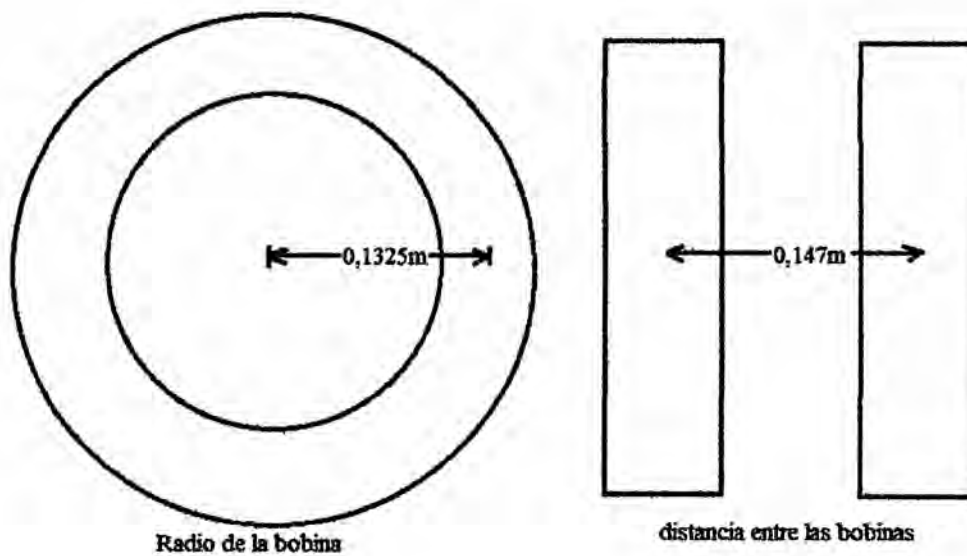


Figura6: Dimensiones de las bobinas, consideradas para calcular la intensidad de la inducción magnética.



Reemplazando en la siguiente ecuación, los valores mostrados como datos,

$$B = \left\{ \frac{2 \mu_o NR^2}{\left(\left[\frac{d}{2} \right]^2 + R^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} \right\} I(t)$$

Reemplazando los valores se obtiene la siguiente expresión, la inducción magnética entre las bobinas.

$$B = \left\{ \frac{2(4\pi \times 10^{-7} \frac{Tm}{A})(240)(0,1325 \text{ m})}{\left(\left[\frac{0,147 \text{ m}}{2} \right]^2 + (0,1325 \text{ m})^2 \right)^{\frac{3}{2}}} \hat{x} \right\} [(3 \text{ A}) \text{Sen}(2\pi ft)]$$

$$B = \{ 230,5385 [3 \text{ Sen}(2\pi ft)] \} \hat{x}, \text{ Gauss}$$

$$B = \{ 691,6155 [3 \text{ Sen}(6,28 ft)] \} \hat{x}, \text{ Gauss} \quad (9)$$



En la última ecuación se observa que la máxima de inducción magnética es de 691,6155 Gauss en el medio de las bobinas y la velocidad de manifestarse los pulsos va a depender de la frecuencia, f ; en este trabajo trabajamos entre 1Hz y 10 Hz respectivamente.



V.-MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Equipos y Materiales

- Microscopio electrónico (NIKON ECLIPSE MA100)
- Bobina de Helmholtz (N=240 R=0,1325m; I=6A máxima)
- Multitester digital (Marca fluquer)
- Cables conectores
- Generador de función (Rango: 0,001 – 150KHz)
- Cuatro diodos de avalancha (Número 1N4007)
- Un protoboard
- Sensor de campo magnético (10 á 2000 Gauss, resolución de ± 10 Gauss)
- La Interface Science Workshop 750, Marca Pasco.
- Una computadora personal HP (core I-3)
- Un termómetro convencional (marca Germany)
- Una regla milimetrada
- Drosophila Melanogaster silvestres (previamente selecciona)
- Seis envases de plástico.



-Tela y algodón, en cantidades adecuadas, para tapar los envases de plástico, que permita pasar el aire a las muestras.

-Cuatro focos (bombillas) de 50Watt cada uno.

-Dos docenas de porta objetos.

-Una lupa

-Una brújula



5.2. Instalación de equipos

Primero, se acondicionó dos bobinas de Helmholtz que soportan corrientes del orden de tres (03) amperios, con las siguientes características, $N=240$ espiras cada bobina con un diámetro de las bobinas 0,265m.

Segundo, se buscó la intensidad máxima de campo magnético en el centro de las bobinas, el sistema funcionaba sin problemas de recalentamiento para 629,51Gauss; mayores a este valor la bobina se calentaba y alteraba la temperatura del medio que rodea la muestra, es por ello que no fue conveniente llegar a 1000Gauss. Para que la intensidad de campo magnético fuese pulsante para que la dirección del campo magnético este siempre orientado en un solo sentido se construyó un circuito con diodos conectados en forma de puente de wheatstone, transistores como se muestra en la figura 5.

La intensidad de campo magnético se midió con un sensor de campo magnético colocado en el centro de las espiras, para caracterizar el campo magnético generado por la bobina se realizó varias pruebas y se ajustó el sistema a una intensidad de campo magnético axial de 629,51Gauss, luego se comparó con cálculos teóricos que se realizó.

El sistema no podía estar por más de 3 horas funcionando por ello solamente se expuso a esa misma cantidad de tiempo a las muestras durante todo el proceso.



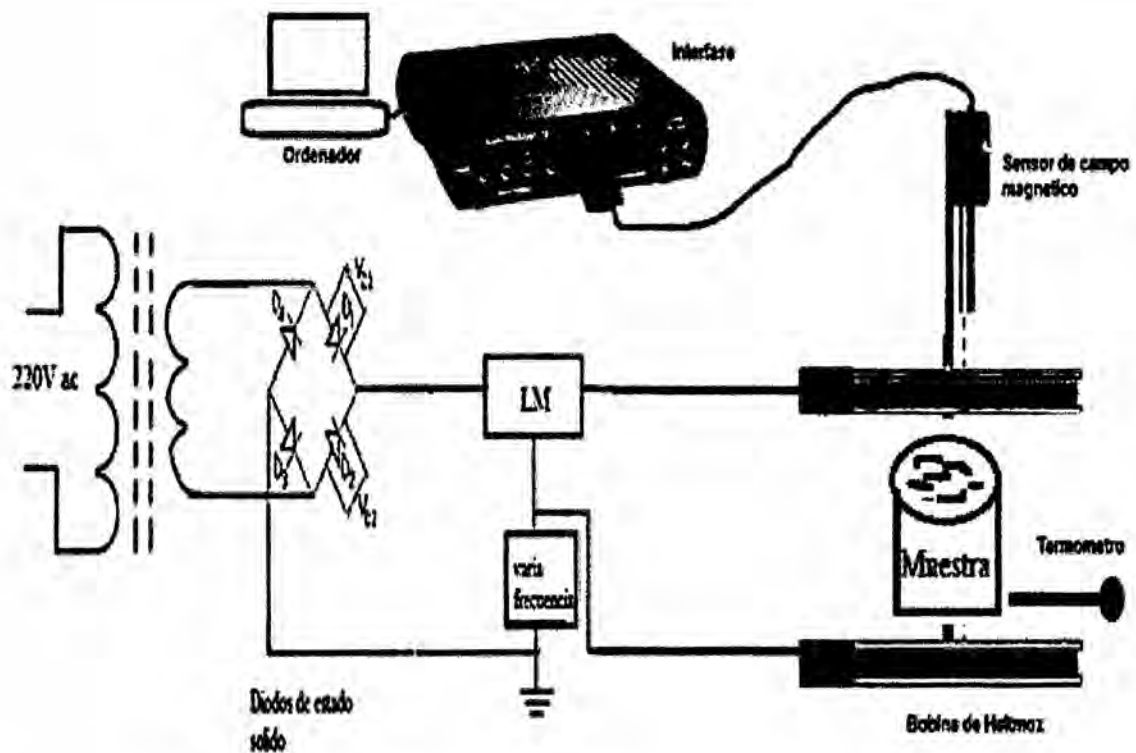


Figura6: Montaje del experimento, que consistía en la interface, el circuito eléctrico-electrónico, bobinas de Helmholtz y la muestra.

5.3. Preparación de muestras

En el estudio se utilizaron *D. melanogaster* de cepa silvestre capturados en la zona de Chosica donde abunda árboles frutales que dan fruto en diferentes estaciones del año. Este insecto una vez capturado se mantuvo en frascos con medio de cultivo preparado como sigue: en un recipiente se mezclaron 79gr de harina, 44gr de levadura en polvo, 46,6gr de azúcar, 10 gr de carragenina y 1250mL de agua, la mezcla se calentó hasta disolver los ingredientes, luego se añadió 1,5 mL de ácido propiónico, después se mezcla con frutas como la manzana, uvas, y piña; todo esto se vertió en frascos esterilizados en la estufa a 60°C, aproximadamente, por media hora (Ramos,1993). Luego que la mezcla se

enfrió y solidificó, se colocó en embaces tapados con tela de algodón que permitía el paso de aire hacia el medio interno, en donde se sembró con adultos de *D. melanogaster*, que se aparearon y ovipositaron que fue alrededor de 24 á 48 horas; los insectos que se desarrollaron desde la etapa de huevo fueron a los que se les aplicó el campo magnético pulsante. Se preparó dos veces la mezcla mencionada en todo el desarrollo del proyecto.



Figura7: foto de la papilla preparada donde se depositaran los huevos de las *D. melanogaster*.



Figura8: Embace tapado con tela de algodón que permitía el paso de aire hacia el medio interno, en donde se sembró con adultos de *D. melanogaster* que se aparearon y ovipositaron.

5.4. Toma de datos

-Primero, antes de empezar los experimentos se hizo varias pruebas para obtener la inducción magnética pulsante para una temperatura de 19°C (promedio), la intensidad del campo magnético que se obtuvo fue de 691,615 Gauss y, con el cual se trabajó en el proyecto en todas las pruebas; para la generación del campo magnético se diseñó un sistema electrónico como se muestra en la figura 5 ,el campo magnético en el centro de las bobinas tenía la forma senoidal rectificadas y de un valor de 690 Gauss.

El campo que se logró obtener aproximadamente en el centro es de 690 Gauss, las bobinas se recalentaban y alteraban la temperatura del medio que rodea las muestras, cuando se forzaba a llegar a los 1000Gauss variando el voltaje y la corriente que circula por las bobinas, por ello se consideró adecuado en valor de 690 Gauss mencionado líneas arriba de la intensidad de campo magnético.



Figura9: Se muestra las bobinas de Heltmoz y el embase donde se ubica la muestra.

Una vez conseguido un campo magnético con la temperatura constante en el medio se procedió a colocar la muestra, consistiendo de un conjunto de huevos de las *D. melanogaster* en un recipiente previamente seleccionado; la exposición de la muestra a los 690 Gauss con una frecuencia de 1 Hz, esta exposición tuvo un proceso que se realizó 25 días, y para evitar el recalentamiento del circuito se consideró mantener activado el equipo por seis (06) horas diarias. Paralelamente una muestra control en iguales condiciones se observaba su desarrollo.

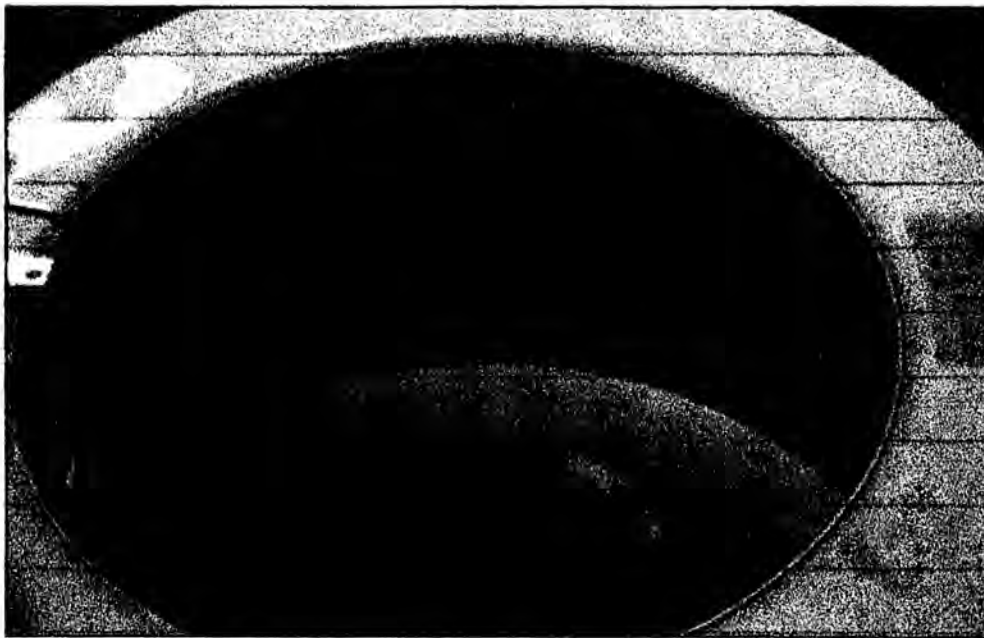


Figura10: El embase ubicado dentro de las bobinas de Helmtmoz con el campo magnético pulsante.

-Segundo, las *D. melanogaster* presentaban el mismo desarrollo es por ello que para visualizar en el microscopio se seleccionaba cualquiera de ellas para observarlo en el microscopio electrónico (NIKON ECLIPSE MA100); se cogían con

pinzas y se colocaba en el porta muestra, evitando dañarlas .De igual forma una D. melanogaster que no fue expuesto a campo magnético también se observa en el microscopio para ver las diferencias.

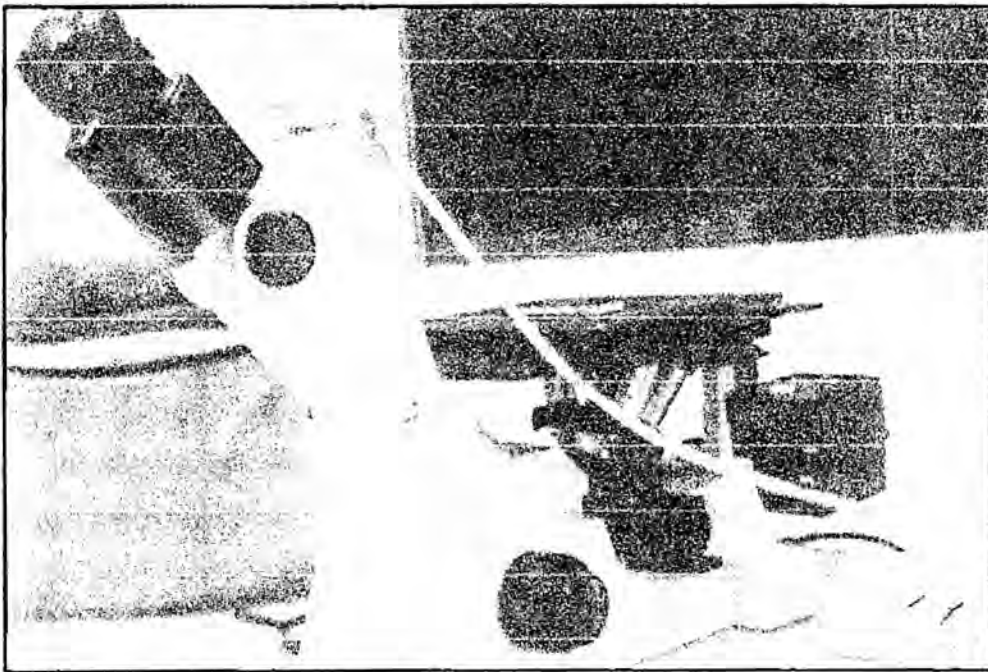


Figura11: Figura del microscopio electrónico NIKON ECLIPSE MA100 con el porta muestra colocado.

-Tercero, se procedió de igual forma, a preparar la muestra y juntar las hembras y los machos y luego de que dejaron sus huevos se procedió a retirarlos y, quedando la muestra lista se procedió a colocarla entre las bobinas de Helmholtz a una frecuencia de 10Hz, luego procediéndose como los pasos 1 y 2; asimismo, de igual forma paralelamente se observó la muestra patrón en iguales condiciones en el microscopio electrónico (NIKON ECLIPSE MA100).Este

segundo experimento también se realizó exponiendo las muestras por seis (06) horas diarias por 25 días; se cuidó que la temperatura permaneciera estable alrededor de 20 grados Celsius.

-Cada muestra conteniendo en promedio 10 unidades de huevos de *D. melanogaster*, en el envase, como comentamos anteriormente, se seleccionaba uno de ellos, ya que presentan las mismas características en sus etapa de desarrollo; cuando se colocaba en el porta muestra se tenía que configurar el microscopio ya sea para reducir o aumentan la imagen, como se puede observar en la figura se muestra el software del microscopio electrónico NIKON ECLIPSE MA100.



Figura12: el porta muestra al lado de una lupa cuando se manipula la muestra, previo a la colocación en el microscopio electrónico, NIKON ECLIPSE MA100.

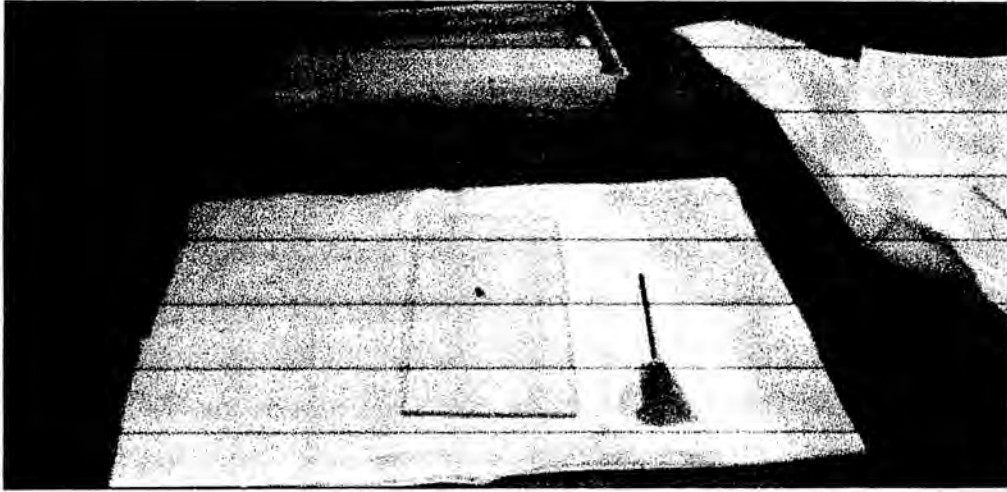


Figura13:colocando a la D. melanogaster sobre el porta objeto para luego colocarlo sobre el microscopio electrónico NIKON ECLIPSE MA100.

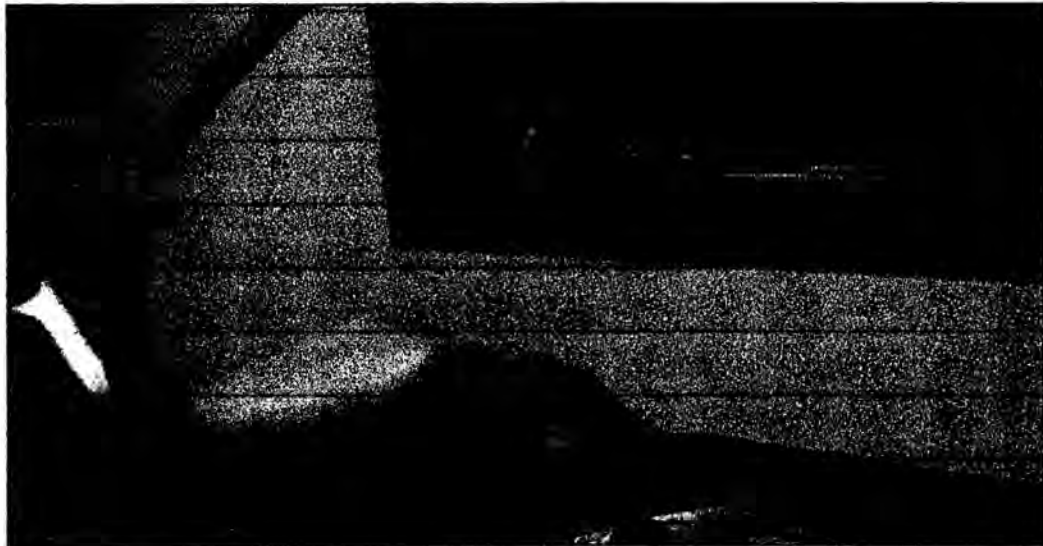


Figura14: Colocando la muestra en el microscopio electrónico NIKON ECLIPSE MA100.

30

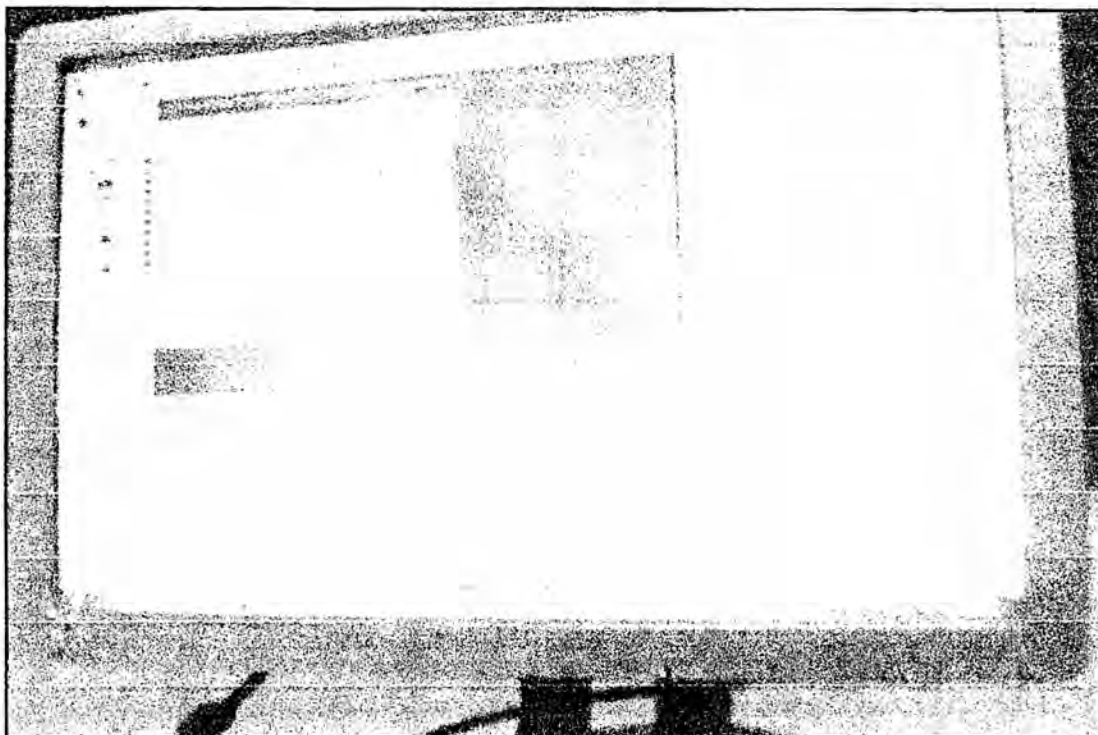


Figura15: Imagen del software con el cuál trabaja el microscopio electrónico, NIKON ECLIPSE MA100.



Figura16: En la figura del software con trabaja el microscopio electrónico NIKON ECLIPSE MA100, mostrando una D. melanogaster.

VI.-RESULTADOS

-A continuación se muestran los resultados que consisten en un conjunto de imágenes tomadas del envase donde se colocó el *D. melanogaster* no expuesto a campo magnético pulsante y a campo magnético de 690 gauss, pulsante a 1Hz y 10Hz. Se observa que hay más insectos desarrollados en el envase luego de 22 días.



Figura17: Figura del envase conteniendo las *D. melanogaster* no expuesto a campo magnético pulsante, tomada con cámara Samsung(10x).



Figura18: Figura del envase conteniendo las *D. melanogaster* expuesto a campo magnético de 690 gauss ,pulsante a la frecuencia de 1Hz, tomada con cámara Samsung(10x).

⑤

-A continuación se muestran los resultados que consisten en un conjunto de imágenes tomadas del envase donde se colocó las *D. melanogaster* no expuestas a campo magnético pulsante y a campo magnético de 690gauss, pulsante a 10Hz y 10Hz, se observa que la muestra que fue expuesta a el campo se desarrollaron menor número de insectos luego de 22 días.



Figura19: Figura del envase conteniendo las *D. melanogaster* no expuesto a campo magnético pulsante, tomada con cámara Samsung(10x).

⑤

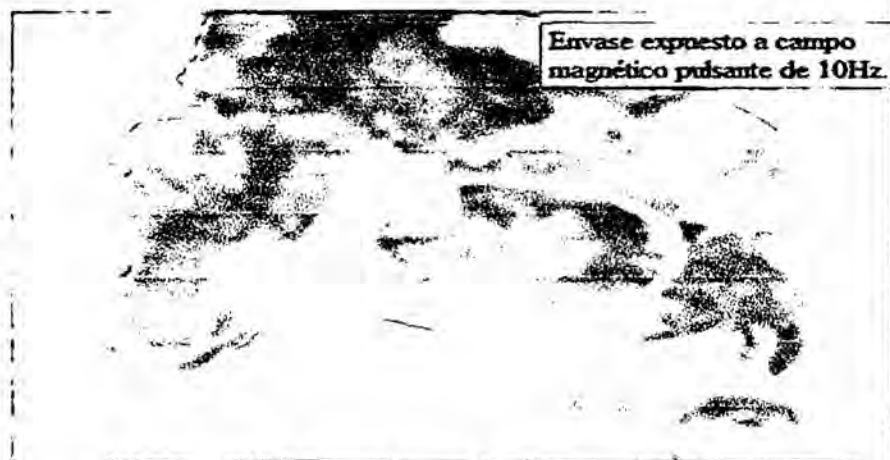


Figura20: Figura del envase conteniendo las *D. melanogaster* expuesto a campo magnético de 690 gauss ,pulsante a la frecuencia de 10Hz, tomada con cámara Samsung(10x).

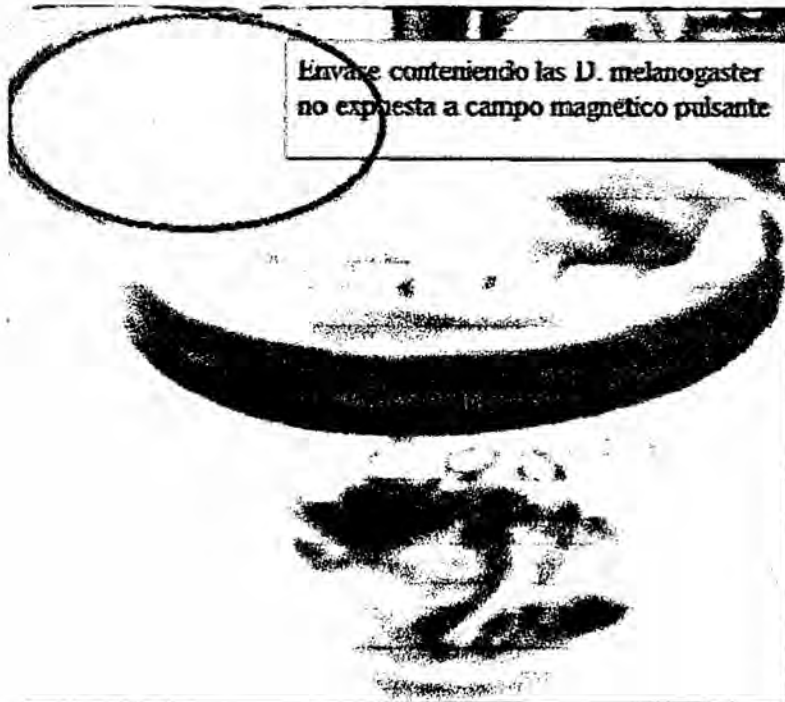


Figura21: Envase conteniendo a las D. melanogaster que no es expuesta campo magnético pulsante, ubicadas en la parte superior, tomada con cámara Samsung(10x).

33

-A continuación se muestra las imágenes tomadas con el microscopio electrónico en la etapa de desarrollo de larva de *D. melanogaster* al campo magnético pulsante de 690gauss y a la frecuencia de 1Hz, con un aumento x500 adecuado para observar las diferencias.



Figura22: Imagen de la *D. melanogaster* en etapa de larva no expuesto a campo magnético pulsante(control), imagen aumentado x500.



Figura23: Imagen de la *D. melanogaster* en etapa de larva expuesto a campo magnético de 690 gauss , pulsante de 1Hz, imagen aumentado x500.

-A continuación se muestra las imágenes tomadas con el microscopio electrónico en la etapa de desarrollo D. melanogaster de larva, expuesto al campo magnético pulsante de 690gauss a frecuencia de 10Hz, con un aumento x500 adecuado para observar las diferencias

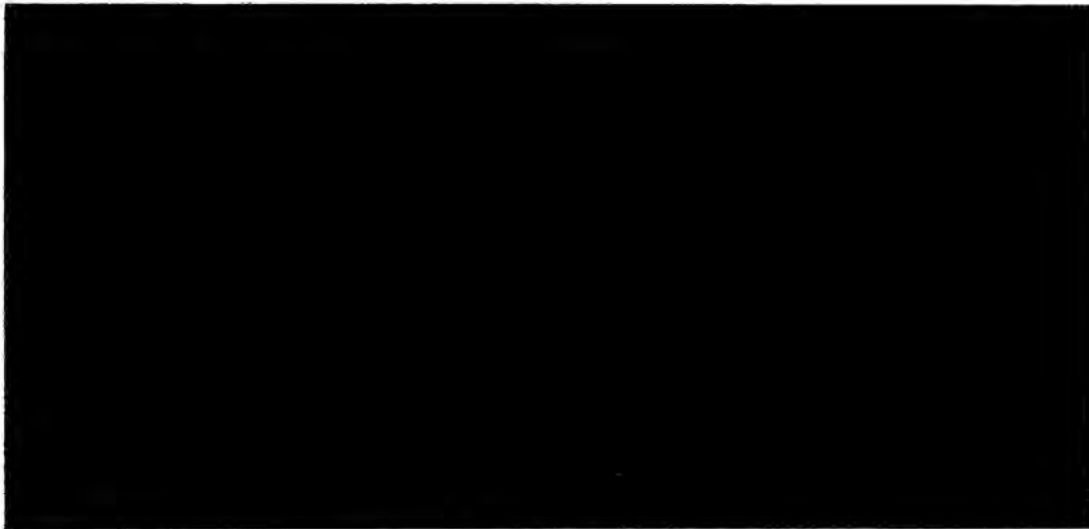


Figura24: Imagen de D. melanogaster en etapa de larva no expuesto a campo magnético pulsante (control), aumento x500.

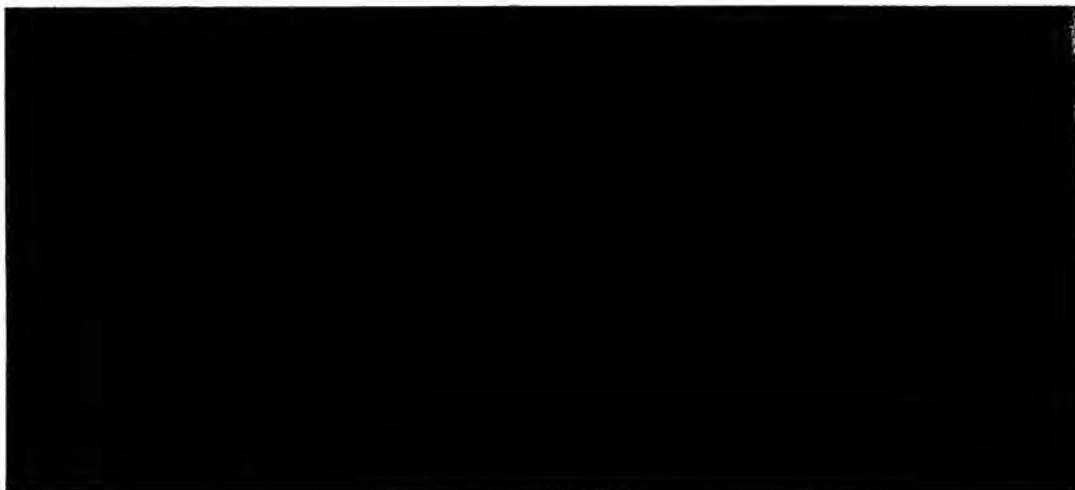


Figura25: Imagen de la D. melanogaster en etapa de larva expuesto a campo magnético de 690gauss, pulsante a una frecuencia de 10Hz, imagen aumentado x500.

-La siguiente etapa de desarrollo de la *D. melanogaster* es la pupa previo a ser consideradas adultas, mostramos las imágenes tomadas con el microscopio electrónico, NIKON ECLIPSE MA100, aumentado x1000, esta etapa debe observarse más el efecto de exponerlo al campo magnético de 690gauss, pulsante de frecuencias de 1Hz y 10Hz , respectivamente.

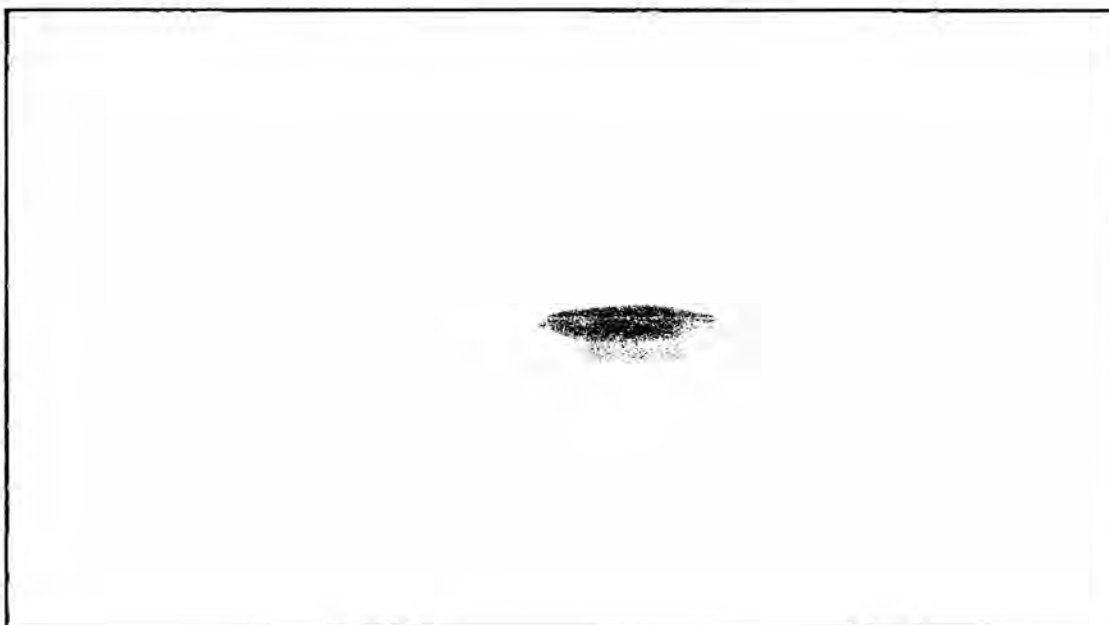


Figura26: *D. melanogaster* en etapa de pupa como se observa tiene un aspecto un poco oscuro, a simple vista las que fueron expuesto a campo pulsante y de las que no fueron expuestas no se nota diferencia, con el microscopio electrónico NIKON ECLIPSE MA100 se observan las diferencias. Esta la imagen fue tomada con cámara Samsung aumento x10.



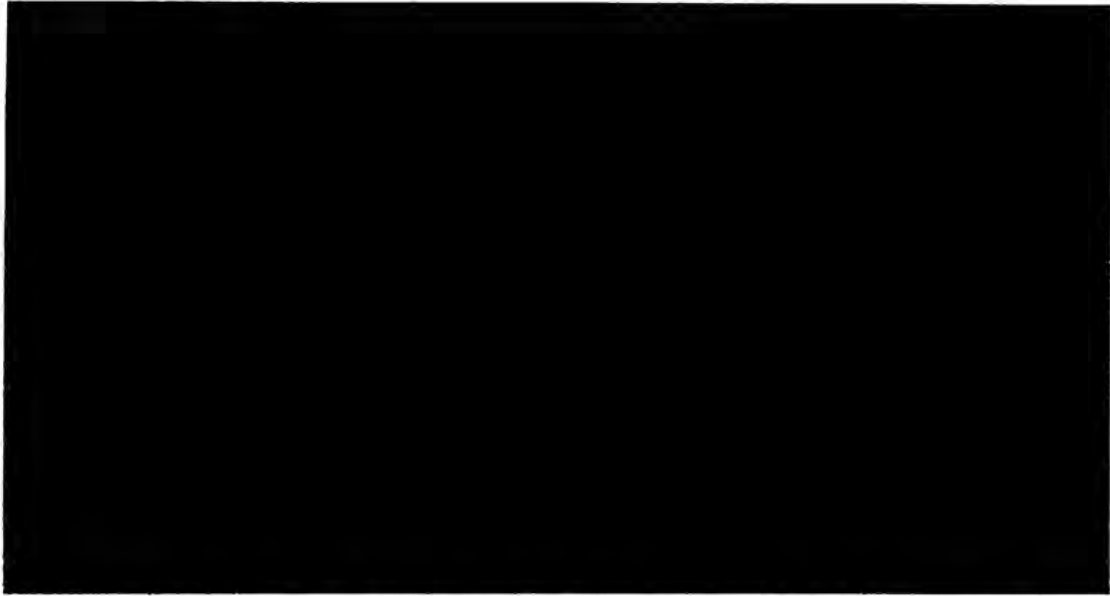


Figura27: D. melanogaster en etapa de pupa no expuesta a campo magnético pulsante (control), imagen aumentada x1000 .

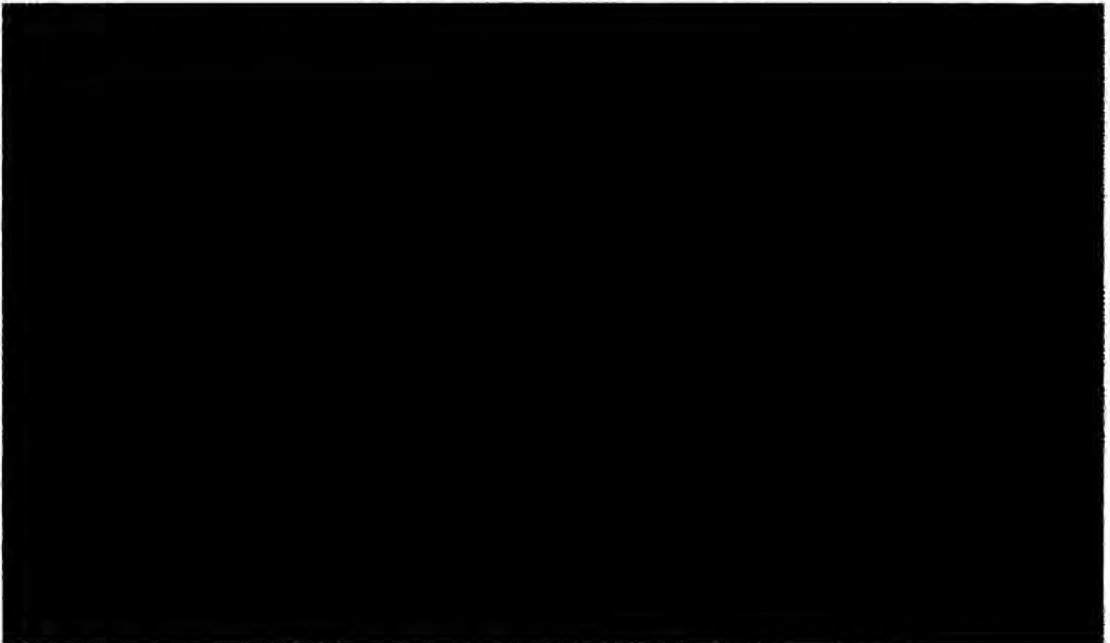


Figura28: D. melanogaster en etapa de pupa expuesta a campo magnético pulsante de 690gauss, pulsante de 1Hz, imagen aumentada x1000.



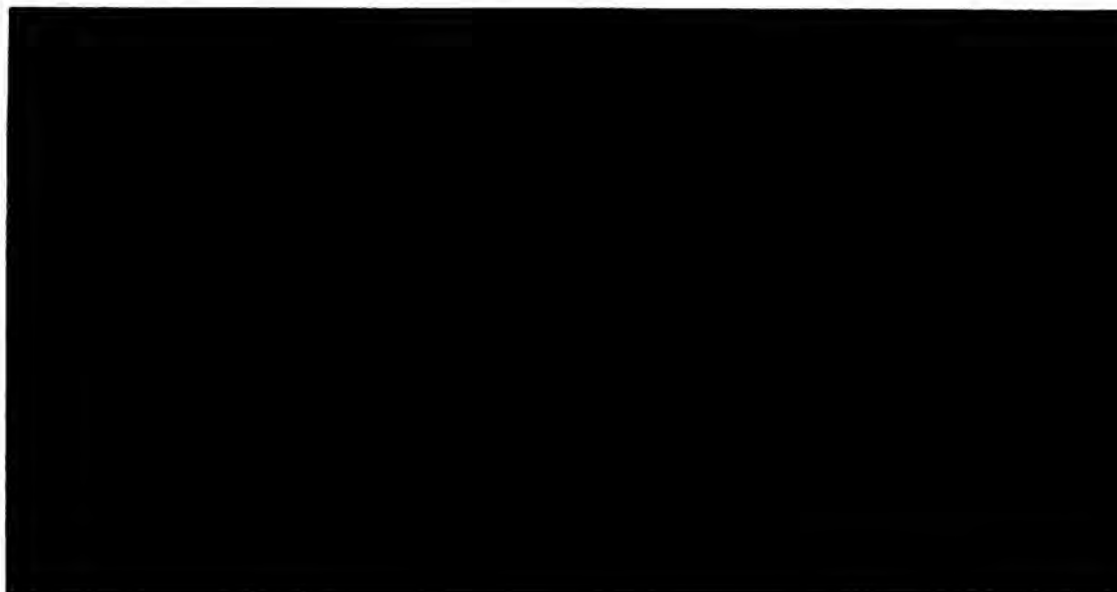


Figura29: D. melanogaster en etapa de pupa no expuesta a campo magnético imagen aumentada x1000.



Figura30: D.melanogaster en etapa de pupa expuesta a campo magnético de 690 gauss , pulsante a frecuencia de 10Hz, imagen aumentada x1000 .



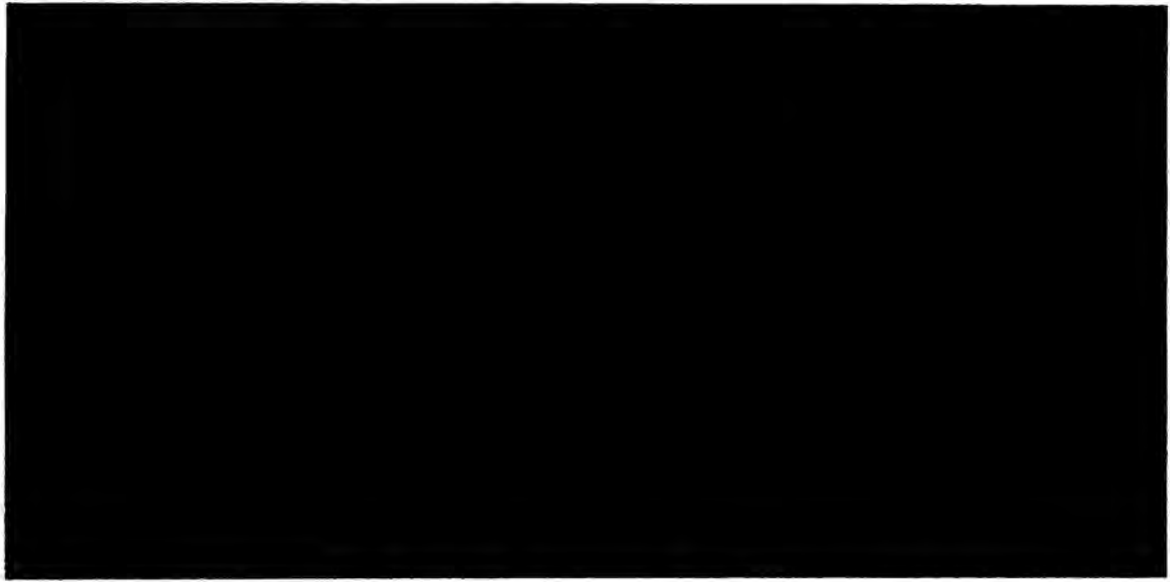


Figura31: D. melanogaster en etapa de pupa no expuesta a campo magnético de 690gauss, imagen aumentada x1000.En la imagen se observan más extremidades desarrollados

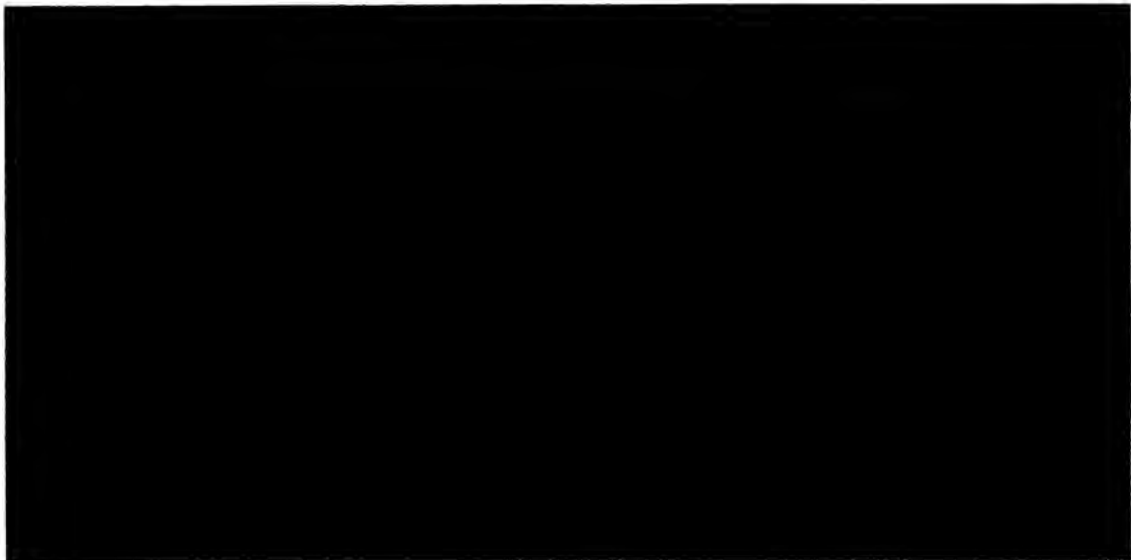


Figura32: D. melanogaster en etapa de pupa expuesta a campo magnético pulsante, frecuencia de 10Hz, imagen pulsante aumentada x1000 .En la imagen se observan menos terminales, que suponemos son los inicios de su patas.



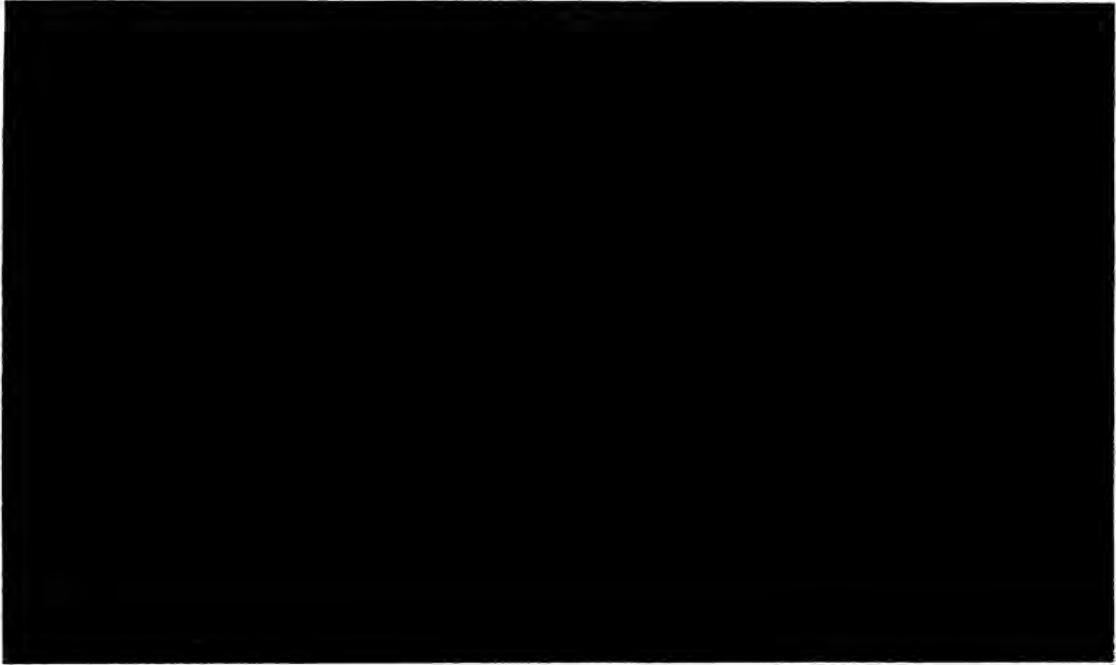


Figura33:Figura de la parte frontal del D. melanogaster en etapa pupa sometido a campo magnético de 690gauss pulsante de 10Hz, imagen aumentado x100.

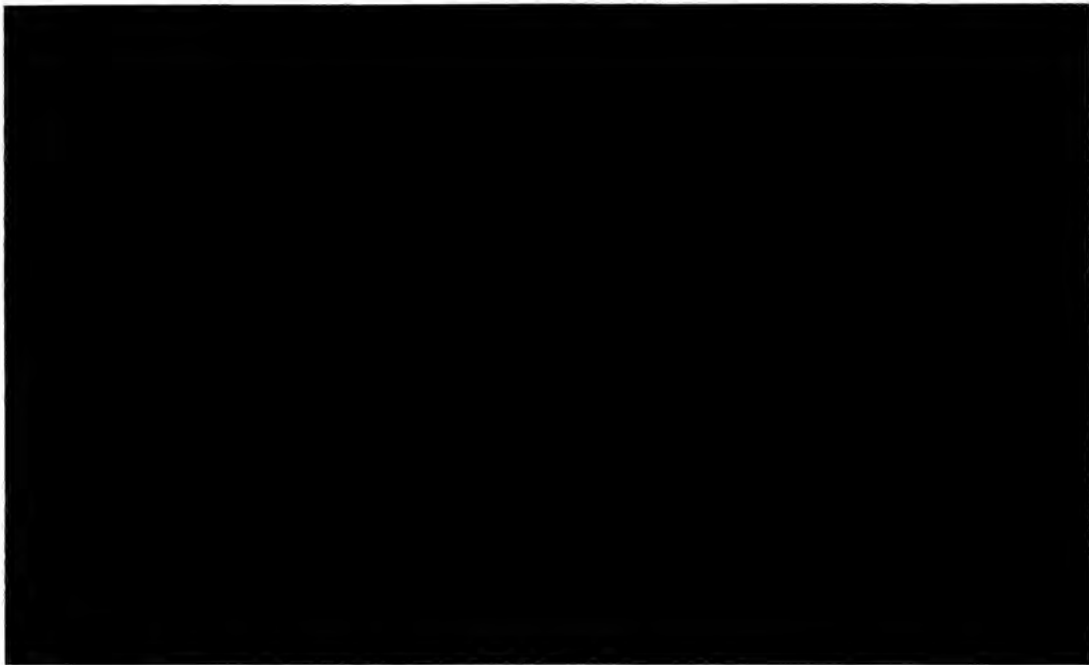


Figura34: Figura de la parte frontal del D. melanogaster en etapa de pupa expuesto campo magnético de 690gauss pulsante de 10Hz, imagen aumentado x100.



-A continuación se muestra las imágenes tomadas con el microscopio electrónico en la etapa de desarrollo *D. melanogaster* de adulta, expuesto al campo magnético pulsante de 690gauss a frecuencia de 1,10Hz respectivamente, con un aumento x100 adecuado para observar las diferencia.



Figura35: Figura de la parte frontal de *D. melanogaster* en la etapa de adulta, no expuesto al campo magnético pulsante, figura aumentado x100.



Figura36: Figura de la parte frontal del *D. melanogaster* en etapa adulta expuesto a campo magnético de 690gauss pulsante de 1Hz, imagen aumentado x100.





Figura37: Figura de la parte frontal del *D. melanogaster* en etapa adulta no expuesto a campo magnético de 690gauss pulsante de 1Hz, imagen aumentado x100.

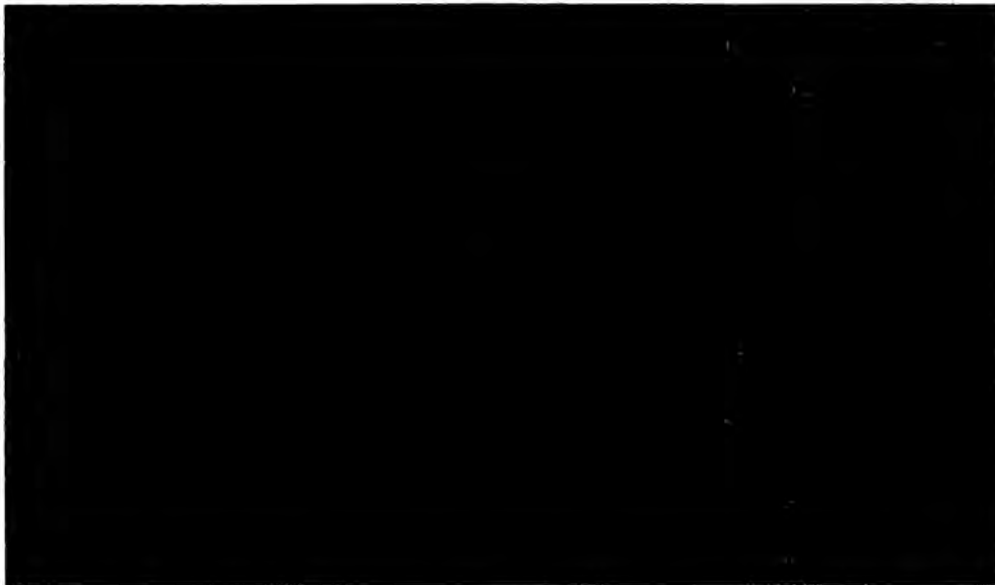


Figura38: Figura de la parte frontal del *D. melanogaster* en etapa adulta expuesto al campo magnético de 690gauss pulsante de 1Hz, imagen aumentado x100.





Figura39: Figura parte de la pata del *D. melanogaster* en etapa adulta no expuesto al campo magnético de 690gauss pulsante de 1Hz, imagen aumentado x100.



Figura40: Figura de la parte de la pata de la *D. melanogaster* en etapa adulta sometido a campo magnético de 690gauss pulsante de 1Hz, imagen aumentado x100.



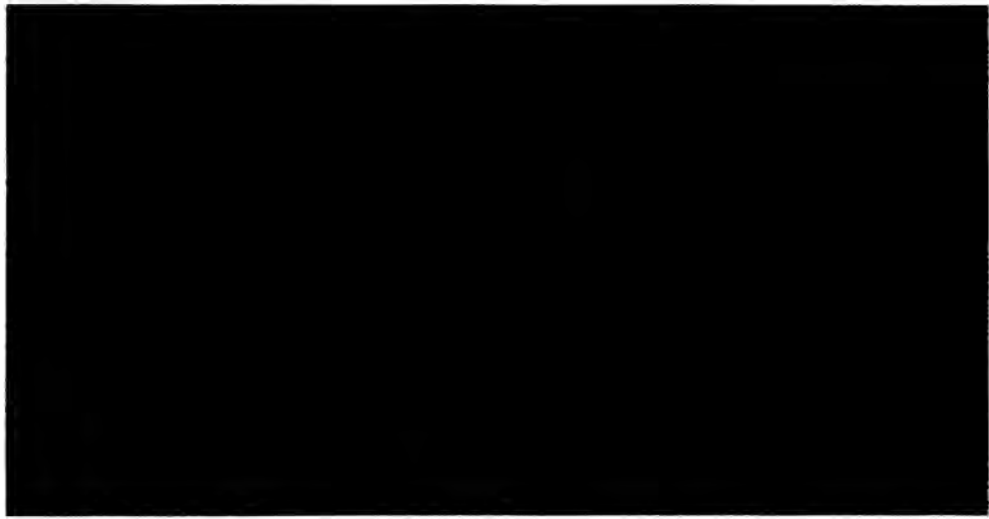


Figura41: Figura del ojo de la *D. melanogaster* en etapa adulta expuesta a campo magnético de 690gauss pulsante de 1Hz, imagen aumentado x100.



Figura42: Figura de la parte del ojo de la *D. melanogaster* en etapa adulta no expuesta al campo magnético, imagen aumentado x100.



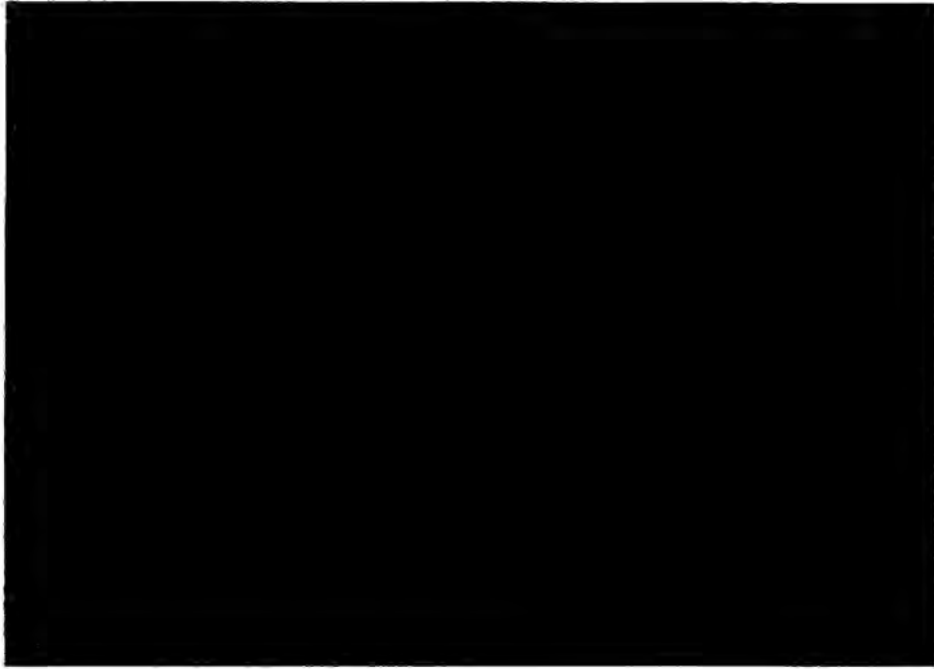


Figura43: Figura de la parte del ojo de *D. melanogaster* en etapa adulta no expuesta al campo magnético de 690gauss pulsante de 10Hz, imagen aumentado x100.



Figura44: Figura del ojo de la *D. melanogaster* en etapa adulta expuesto a campo magnético de 690gauss pulsante de 10Hz, imagen aumentado x100.





Figura45: Figura de la parte de la ala de *D. melanogaster* en etapa adulta expuesto a campo magnético de 690gauss pulsante de 10Hz, imagen aumentado x100.

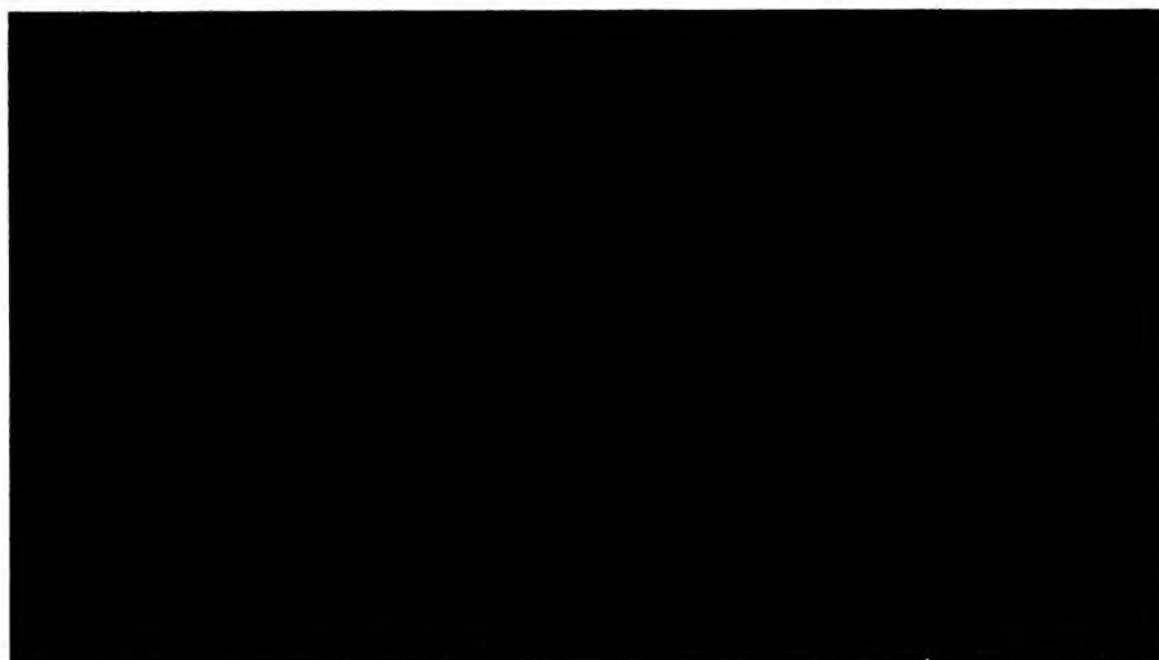


Figura46: Miembro inferior de una *D. melanogaster* no expuesto al campo magnético de 690gauss pulsante de 10Hz, imagen aumentado x500



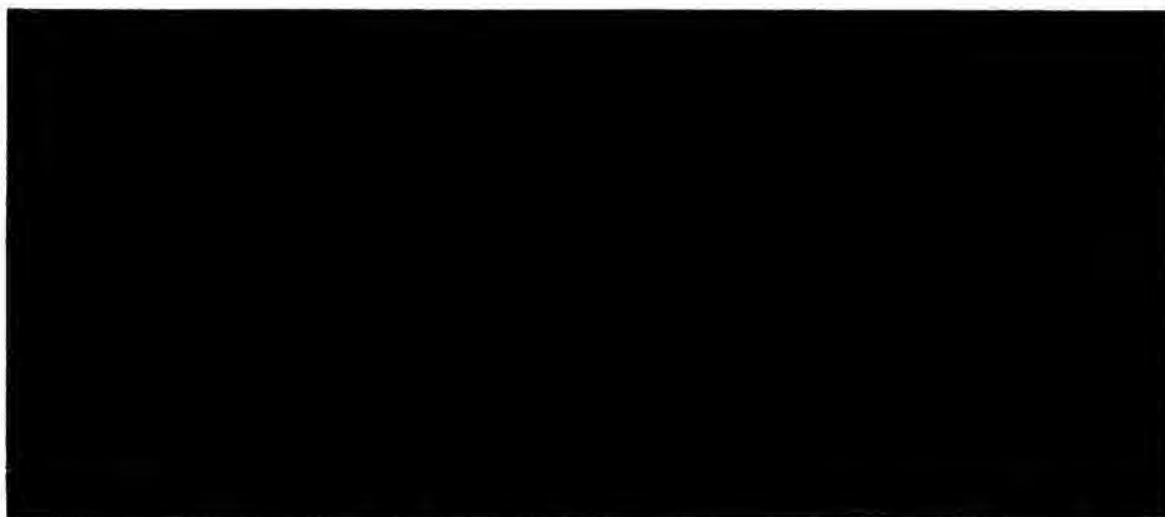


Figura47:Miembro inferior de una D. melanogaster con exposición a campos magnéticos pulsante, campo magnético de 690gauss pulsante de 10Hz,aumentado x500.



VII.-DISCUSIÓN

-De las figuras 22 y 23 se observa que la *D. melanogaster* en la etapa de larva, expuesto al campo magnético pulsante, experimentaron disminución del líquido aceitoso que los recubre; asimismo, el color blanquísimo se nota menos en la que fue expuesta al campo magnético.

-De las figuras 24 y 25 corresponden a *D. melanogaster* expuesta a 690gauss y 10Hz , se observa mayor disminución del líquido aceitoso que recubre en la etapa de pupa en comparación del que fue expuesto a 1Hz con 690gauss y me en el momento de la observación se movían menos que las que no fueron expuestas.

-Las figuras 27 y 28 muestran que la *D. melanogaster* en la etapa de pupa es de la parte frontal de la pupa, fue expuesto al campos magnético de 690 gauss y 1Hz, observamos que presenta retardo en su desarrollo, no tiene protuberancias que vendrían hacer sus patas posteriormente en la etapa adulta.

-En las figuras 29 y 30 se observa que la *D. melanogaster* en la etapa de pupa, que fue expuesta el campos magnético de 690 gauss y 10Hz presenta mayor retardo en comparación con la de 1Hz , entre las características es que muestra un color pálido.

-De la misma forma en las figuras 33 y 34 también sometidos al campos de 690 gauss y 10Hz hay diferencias notables entre la pupa expuesta y la que no fue expuesta, porque esta última presenta terminales bien definidas que posiblemente vendrán hacer sus patas delanteras.



-En las figuras 35 y 36 que corresponde al *D. melanogaster* que sobrevivieron a la exposición del campo magnético pulsante y llegaron a la etapa adulta, cuando se lo compara con las que no fueron expuestas encontramos diferencias significativas; las que fueron expuestas al campo magnético son menos robustas, tiene menos elementos de vellosidades en comparación de la que fue expuesta presentan deficiencias de protuberancias es por ello que se observan menos desarrolladas y en menor número.

-El campo magnético pulsante de bajas frecuencias si afectan a sistemas biológicos como han concluido en otros trabajos de investigación como el de Stuchy (1995) , Lavan y Cano.



VIII.CONCLUSIONES

-De los resultados podemos concluir que el campo magnético pulsante de bajas frecuencias como la de 1 y 10Hz producen efectos en el desarrollo de las *Drosophila melanogaster*.

-El efecto que producen es de inhibir su desarrollo de la célula *Drosophila melanogaster* ya que del conjunto de fue expuesta al campo magnético pulsante varios huevos, seis de las diez (60%) no lograron desarrollarse, quedándose en la etapa de huevo.

-La *Drosophila melanogaster* que lograron desarrollarse expuestas al campo magnético pulsante de bajas frecuencias, presentaron elementos como las patas no desarrolladas.

-Las *Drosophila melanogaster* expuestas al campo magnético pulsante de 10Hz que lograron llegar a la etapa de adulta a pesar de contar con sus alas no consiguieron volar a diferencia de las que no fueron expuestas, como se observa en la figura 21.

-El movimiento con dificultad posiblemente se debe a su visión subdesarrollada de sus elementos visuales(ojos) como se puede observar en las figuras 37 y 38 de las *Drosophila melanogaster* que fueron expuestas al campo magnético pulsante de frecuencia de 10Hz.



IX.-REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- 1.-STUCHLY,"Low Frequency Magnetic Fields:Dosimetry ,Cellular , and Animal Effects". In *The Biomedical Engineering Handbook*.Ed. by Bronzioo. CRC Press and IEEE,1995.
- 2.-CARDONA , C. y ARCOS ,Efectos biológicos de los campos magnéticos de muy baja frecuencia y muy baja densidad. Universidad de Antioquia, 1998.
- 3.-Moulder, J.," Biological Studies of Power frequency Fields and Carcinogenesis". IEEE Transactions on Engeniering in Medicina and Biology August, 1996.
- 3.-Foster ,K "Electromagnetic Field Effects and Mechanic,ms". IEEE Transactions on Engineering in Medicine and Biology August,1996.
- 4.-GUYTON ,A. "Control Genético de la Síntesis de las Proteínas y la Reproducción Celular". *Tratado de Fisiología Medica*. Edic. 8.
- 5.-Karsay E. "Tratamiento Experimental del Tumor y Dolor en los procesos Malignos y en Patologías Inflamatorias con la Radioterapia Iono Magnetica". Lima,2006.
- 6.-Tenforde,T.S. "Interacción of ELF Magnetic Fields With Living Systems".*Handbook of Biological Effects of Electromagnétic Fields*.(2nd. Edition),Edited by C. Polk and E. Postow CRC Press.Boca Raton, FI,1996.
- 7.-Barker,A."The Possible Biological Effects of Low-Frequency Electromagnétic Fields".IEE Electrical Insulation Magazine.Vol 11,N°1,January/February,1995.
- 8.Zhang X.,Liu X.,Pan L."Magnetic fields at extremely low frequency(50Hz;0,8mT)can induce the uptake of intracellular calcium levels in osteoblasts,2010.



9.-Mattsson M., Simko M., "Is there a relation between extremely low frequency magnetic field exposure, inflammation and neurodegenerative diseases? A review of in vivo and in vitro experimental evidence", 2012.

10.-Karsay R. Elek: New Treatment of Pain, Cancer; Arthritis and Rheumatic Diseases, Theory, Physiology, Clinic and Practice. ISBN:9972-9035-O-X.



X.-APENDICE

A.-Cuadro donde se muestra estudios realizados en sistemas, célula, expuesta a campo magnético.(Is There a relation between extremely low frequency magnetic field exposure, inflammation and neurodegenerative diseases?A review of in vivo and in vitro experimental evidence.[9])

Endpoint/result/release, gene or protein expression	Exposure	Cell type	Reference
Differentiation earlier in NGF-induced cells	48h,50Hz,2mT	ArT20D16V cells	Lisi et al.(2006b)
Differentiation: β -3tubulin \uparrow MAP2 \uparrow	Time,50mHz,1mT	Mouse cotical embryonal stem cells	Lisi et at.(2005)
Differentiation:MAP2 \uparrow Spike frequencies \uparrow GFAP \downarrow (glial marker)	Up to 21 days,50Hz,10mT	P19cell	Saito et al.(2009)
Neuronal differentiation \uparrow (neuro markers, Ca ²⁺ -channel)	Up to 12 days,50Hz,1mT	Primary cortical newborn mouse neurons	Piacentini et al.(2008)
No effects:APP695 mRNA	4h at days 2,10,16;50Hz,50,100,200 μ T	IMR-32 neuroblastoma cells	Rao et al. (2002)
No effects:Nach-R	16 or 48h,50Hz,1 or 2mT	SH-SY5Y neuroblasoma cells	Antonini et al.(2006)
No effects:GFAP Glial proliferation	10s,PEMF 10Hz,0.1-0,63T	Cultured astrocytes	Chan et al.(1999)
No effects:Glial proliferation Hsp70 Several proteins	1h or 11 days, 50Hz, 1mT	Cultured astrocytes	Bodega et al.(2005)
Amyloid β \uparrow	18h,50Hz,3.1mT	Human neuroglioma cell line	Det Gludice et al.(2007)
Viability \uparrow Apoptotic DNA-fragmentation \downarrow BDNF,TrkA \uparrow IL-1 β \uparrow No effects:redox status,MDA,GSH,SOD,CAT,GR, GST, γ GSC Effects at 1.0mT but not at 0.1mT	7days,50Hz,0.1 and 1.0mT	Rat cortical neurons	Di Loreto et al.(2009)
AChE activity inhibition(27%) 0.74mT and higher,at several frequencies(50-75Hz,200Hz,350AHZ, and 475Hz) effects after 1min exposure, reversible after exposure	Minutes,10-650Hz 0.2-2.0mT	Mouse cerebellar synaptosomes Cell-free system	Ravera et al.(2010)



B.-Estudios como modelo genético a la D. melanogaster(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC311089/?tool=pmcentrez>)

Estudios en la mosca de la fruta *D. melanogaster* han alterado nuestra estimación de la evolución de la relación entre los organismos vertebrados e invertebrados; vías moleculares clave se necesitan para el desarrollo de un animal complejo, tales como los patrones de los ejes principales del cuerpo, la organogénesis el cableado de un complejo sistema nervioso, y el control de la proliferación celular han sido altamente conservadas desde la divergencia evolutiva de las moscas y los seres humanos, cuando estas vías se rompen ya sea en los vertebrados o invertebrados, defectos similares se observan mayormente.

La utilidad de *D. melanogaster* como organismo modelo para el estudio de la enfermedad genética humana está ahora bien documentado, como defectos en el desarrollo tales como las malformaciones mesenquimales asociadas con el síndrome de Saethre-Chotzen (Howard et. al, 1997), la formación de inclusiones intracelulares en los trastornos del tracto de poliglutamina como la enfermedad de Huntington (Fortini y Bonini 2000); así como la pérdida de celular relacionado al control del crecimiento y la malignidad resultante de mutaciones de los genes supresores de tumores (Potter et al.2000), han sido analizados utilizando efectivamente *D. melanogaster* como el modelo de sistema genético.

Los numerosos procesos básicos que son compartidos entre *Drosophila* y humanos, junto con la reciente finalización de la secuencia genómica de



Drosophila, proporcionan los ingredientes necesarios para el lanzamiento de los análisis sistemáticos de los derechos humanos que causan enfermedades genes en Drosophila.

De 289 genes de *D. melanogaster* relacionados con genes de enfermedades humanas se ha presentado en el contexto del genoma de liberación secuencia de *D. melanogaster* (Rubin et al 2000) y posteriormente por Fortini y col (2000). Además, se han publicado estudios más específicos de genes de *D. melanogaster* iónicos (Littleton y Ganetzky 2000) y las secuencias de genes relacionados con el cáncer (Potter et al. 2000).

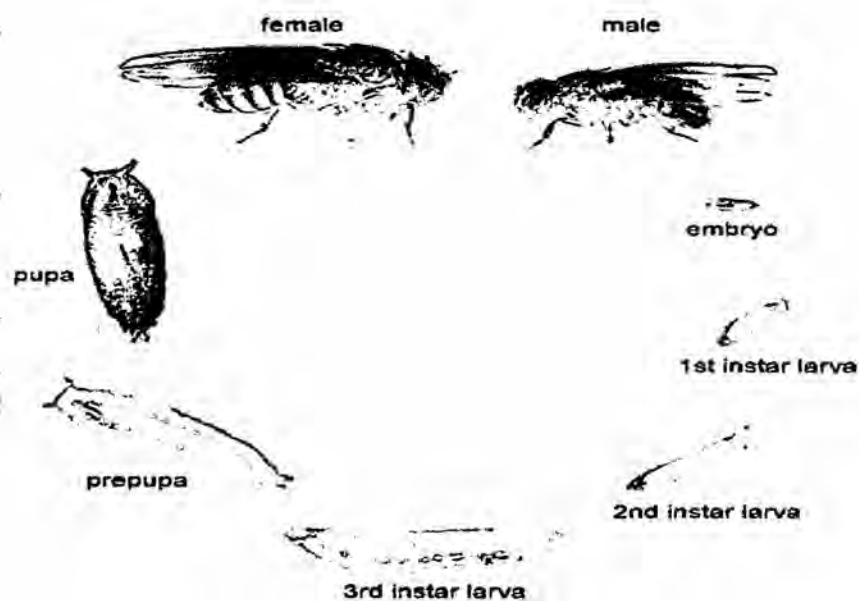


Figura48: Esquema de las etapas de desarrollo de la *D. melanogaster*



XI.ANEXO

Comparación del tamaño del genoma del ser humano y el tamaño del genoma de otros organismos
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC311089/?tool=pmcentrez>)

n	Organism	Estimated size(base pairs)	Chromosome number	Estimated gene number
1	Human(Homo sapiens)	3billion	46	~25 000
2	Mouse	2,9billion	40	~25 000
3	Fruit fly(D. melanogaster)	165 million	8	13 000
4	Plant(Arabidopsis thaliana)	157million	10	25 000
5	Rounbdddorm (Caenorhabditis elegans)	97 million	12	19 000
6	Yeast(Saccharomyces cerevisiae)	12 million	32	6 000
7	Bacteria(Escherichia coli)	4,6 million	1	3 200

