

EFEITO DA CORRENTE ELETROMAGNÉTICA DE ALTA FREQUÊNCIA (MODO PULSADO) NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO EM RATOS

Effects of electromagnetic wave of high frequency (pulsed mode) in the embryologic development of rats

Paulo Sérgio Bossini¹
Fábio Mendes Camilo²
Nivaldo Antonio Parizotto³
Ana Cláudia Muniz Renno⁴

Resumo

A diatermia por ondas curtas é comumente usada por fisioterapeutas, porém, efeitos colaterais deste tipo de tratamento podem sugerir diferentes alterações aos organismos submetidos às suas irradiações. O trabalho verificou a possibilidade da radiação eletromagnética (ondas curtas – modo pulsado com frequência de 30 Hz) em promover alterações no desenvolvimento embrionário em ratos, isolando a possibilidade da teratogenia causada pelo aquecimento (ondas curtas contínuo), uma vez que se utilizou dose de 4,8 W. Para tal utilizaram-se 10 ratas adultas (*Rattus norvegicus albinus*) da raça Wistar, das quais 5 formaram o grupo controle, que foi submetido à irradiação simulada, e 5 formaram o grupo experimental, o qual sofreu radiação por ondas curtas em uma única aplicação por um tempo de 10 minutos. Os fetos foram submetidos ao teste do reflexo de Galant para avaliar a existência de natimortos e na seqüência foram pesados individualmente. Posteriormente foram dissecados e foi realizada a pesagem úmida de seus respectivos órgãos. Em seguida, os órgãos foram desidratados e verificou-se o peso seco. Como resultado obtivemos 49 fetos no grupo controle e 50 no grupo irradiado, não havendo nenhum caso de natimorto em ambos os grupos. Após a análise dos resultados foi possível constatar que não houve alterações macroscópicas nos fetos irradiados pelas ondas curtas (modo pulsado) quando comparadas aos fetos do grupo controle, mas houve uma ligeira diminuição na massa corpórea dos descendentes do grupo experimental. Tais fatos nos permitem sugerir, *a priori*, que as ondas eletromagnéticas de alta frequência aplicadas em modo pulsado com frequências reduzidas, ou seja, quando não geradoras de calor, parece não serem responsáveis por alterações de origem teratogênica (sobre o desenvolvimento embrionário de ratos) quando analisadas sob o aspecto macroscópico, porém, podem intervir nas massas corporais dos descendentes.

Palavras-chave: Ondas curtas; Campo eletromagnético; Desenvolvimento embrionário; Teratogenia.

¹ Fisioterapeuta – Estagiário do Laboratório de Eletrotermofototerapia, Universidade Federal de São Carlos.

² Curso de Fisioterapia, Fundação Municipal de Educação e Cultura de Santa Fé do Sul (FUNEC).

³ Departamento de Fisioterapia, Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos.

⁴ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos.

Correspondência para: Nivaldo Antonio Parizotto, Laboratório de Eletrotermofototerapia, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, Via Washington Luís, km 235, CP 676, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brasil, fone: (16) 3351-8630.

E-mail: parizoto@power.ufscar.br

Título para as páginas do artigo: Ondas curtas em útero gravídico de ratas.

Abstract

Short wave diathermy is commonly used by physical therapists. However collateral effects of this treatment may suggest different alterations to organisms that were submitted to its irradiation. This work has verified the possibility of the electromagnetic radiation (short wave – 30 Hz, pulsed mode) in promoting alterations in rats' embryonic development, isolating the possibility of teratogenic caused by heating (short wave continuous), once the dosimetry used of 4,8 W. For that, it was used 10 adult female Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*). Five of them constituted the control group that was submitted to the simulated irradiation, and the 5 others constituted the experimental group that received short wave irradiation on only one application by 10 minutes. The fetuses were submitted to Gallant's reflection test to evaluating the existence of born-dead and on sequence the fetuses were weighted individually. Later they were dissected and it was performed the wet weighting of their respective organs. Then, the organs were dehydrated and the dry weigh was verified. As a result, we obtained 49 fetuses in control group and 50 fetuses in irradiation group, with no case of born-dead in both groups. After a result analysis, it was possible to notice that there were not macroscopic alterations on fetuses that were irradiated by short waves (pulsed mode). However, there was a little decrease on mass body of the experimental group's descendants. These facts allow us suggesting, first, that the pulsed electromagnetic waves of high frequency which they are applied with decreased frequencies, when they don't produce heat, are not responsible for alterations of teratogenic origin (on rats' embryologic development), when they are analyzed on the macroscopic aspect. However, this waves can influence in the descendants' body mass.

Keywords: Short wave; Electromagnetic field; Embryologic development; Teratogenic.

Introdução

A diatermia por ondas curtas é aplicada constantemente em suas diferentes modalidades, visando a diversos efeitos fisiológicos, como aumento do aporte sanguíneo, aumento da atividade

enzimática, mudanças no transporte através das membranas, entre outros (Low e Reed, 2001).

Entretanto, considerando que o aparelho de ondas curtas é um gerador de campo eletromagnético de alta frequência, é importante observar que não apenas os efeitos fisiológicos se fazem presentes nesta terapia; outros efeitos paralelos ou colaterais deste tipo de tratamento podem sugerir diferentes alterações aos organismos submetidos às suas irradiações, dentre elas, possíveis desordens no desenvolvimento embrionário.

Källén e Moritz (1982) mostraram riscos excessivos de morte perinatal e defeitos de nascença nos filhos de mulheres terapeutas que afirmaram usar diatermia de ondas curtas. Assim como no trabalho desenvolvido por Taskinen *et al.* (1990), o qual reportou um risco excessivo de abortos espontâneos próximos de dez semanas de gestação entre terapeutas finlandesas, que usaram diatermia de ultra-som e ondas curtas.

Ouellet-Hellstrom e Stewart (1993) afirmaram que mulheres que usaram diatermia de microondas durante a gestação sofriam um risco maior de aborto, risco que aumentou proporcionalmente ao tempo de exposição. Já as mulheres que relataram o uso de ondas curtas não tiveram riscos de abortos aumentados. Tais dados nos levam a observar a importância da frequência de radiação.

Entretanto, há relatos na literatura, inclusive sobre a relação entre exposições de campos eletromagnéticos de baixa frequência (50 a 60 Hz) e adversidades na reprodução humana, cujos resultados foram conflitantes (Chernoff *et al.*, 1992; Shaw e Croen, 1993; Brent *et al.*, 1993).

Outros investigadores ainda realizaram trabalhos buscando explicitar melhor o comportamento das ondas eletromagnéticas e seus efeitos adversos, porém fazendo uso de animais experimentais. Dentre eles, podem ser destacados alguns a seguir.

Dietzel *et al.* (1972) expuseram ratas prenhas a uma unidade diatérmica de ondas curtas de 27,12 MHz em 55, 70 e 100 W, que foi suficiente para aumentar a temperatura retal dos animais para 39°, 40° e 42°C, respectivamente. As ratas foram expostas por uma sessão entre o 1° e 16° dia de gestação. O pico de incidência de anormalidades nos fetos foi encontrado no 13° e 14° dia de gestação. Essas alterações fetais foram, nos estudos de Rugh *et al.* (1975), claramente associadas ao aumento geral da temperatura corpórea.

Boak *et al.* (1932), citado por Lehmann (1984), administraram radiação de ondas curtas (10 MHz) em coelhos desde o 29º dia de vida até os acasalamentos e gestações. O total de tempo de exposição variou entre 30 e 75 horas, durante as quais a temperatura retal dos animais subiu respectivamente para 41º e 42ºC. Não houve interferências com acasalamentos, fertilizações ou desenvolvimento dos animais intra-útero. Tamanhos menores dos nascidos não foram significativamente diferentes dos animais do grupo controle.

Rosário (2000) realizou trabalho que se destinava à aplicação de ondas curtas em incidência contínua com potência de 60 W (frequência de 27,12 MHz) em ratas prenhas, o qual pôde demonstrar após análises específicas, alterações de caráter teratogênico nos fetos irradiados durante seu desenvolvimento embrionário.

Contudo, os resultados permitiram uma lacuna quanto ao precursor do efeito teratogênico em questão, uma vez que ele poderia estar sendo gerado pelo campo eletromagnético, por intermédio do aquecimento produzido pela terapêutica de ondas curtas modo contínuo, ou ainda, pela somatória de ambos. Desse modo, sugere-se a irradiação das ondas eletromagnéticas em modo pulsado, uma vez que elas não provocam acúmulo de aquecimento considerável, caracterizando-se de forma atérmica. Desta forma, se faz importante averiguar se a influência do calor ou os efeitos eletromagnéticos poderiam ser os responsáveis pelos efeitos teratogênicos encontrados.

Com isso, o objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade da radiação eletromagnética (ondas curtas – modo pulsado) em promover alterações no desenvolvimento embrionário em ratos.

Materiais e Métodos

Animais

Para o trabalho experimental utilizaram-se 10 fêmeas e 4 machos adultos da espécie *Rattus norvegicus albinus* da raça Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Os animais permaneceram durante todo o experimento no Biotério do Departamento de Fisioterapia da UFSCar, sendo mantidos em gaiolas de polietileno, com livre acesso à água e à ração peletizada, com controle de luminosidade

(ciclo claro/escuro de 12 horas) e à temperatura ambiente.

Equipamento

Para as aplicações de ondas curtas foi utilizado um aparelho Thermopulse, automático, microcontrolado, da marca Ibramed, com frequência de 27,12 MHz, 400 W de potência de pico em incidência pulsada a 30 Hz de frequência, duração de pulso de 400 ms, potência média de 4,8 W, acoplado a eletrodos de uso clínico com 18 cm de comprimento e 13 cm de largura, portanto, com uma área de 234 cm². As irradiações foram feitas em uma sala provida de gaiola de Faraday.

Procedimentos

Inicialmente foi realizada a coleta do material vaginal com um conta-gotas introduzido no canal vaginal das ratas. Em seguida foi feita uma primeira análise microscópica do esfregaço vaginal para detectar em qual fase do ciclo “estral” os animais se encontravam. Os animais eram colocados para a cópula na fase de ovulação denominado estro. Foram feitas análises diárias do esfregaço vaginal para verificar a presença de espermatozóides, e a permanência da fêmea em estro confirmava sua prenhez. Esse momento era considerado o dia zero.

Na seqüência, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo controle (n=5), que foi submetido à irradiação simulada e grupo experimental (n=5), que foi irradiado por ondas curtas em modo pulsado. Para as aplicações os animais eram imobilizados em um contensor.

No final do primeiro terço de gestação (sétimo dia), as ratas do grupo experimental foram expostas ao campo eletromagnético por ondas curtas em uma única aplicação por um tempo de dez minutos, sendo que os eletrodos do aparelho estavam dispostos paralelamente e cada um distava aproximadamente 3 cm do animal.

No mesmo período de gestação, os animais do grupo controle foram submetidos a uma simulação do procedimento, porém sem sofrer irradiação nenhuma, podendo ser considerados, portanto, como grupo placebo.

No vigésimo dia de gestação, os animais foram anestesiados por inalação com éter etílico e foi realizada a cirurgia cesariana por meio de uma laparotomia mediana. Os fetos foram submetidos ao teste do reflexo de Galant para avaliar a existência de natimortos e depois foram conservados em formol a 10% para posterior pesagem individual. Na seqüência, foram dissecados e foi realizada a pesagem úmida de seus respectivos órgãos, como fígado, coração, rins e estômago. Em seguida, os órgãos foram desidratados em estufa a 37°C por um período de 24 horas e verificou-se o peso seco em uma balança analítica de alta precisão.

Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente por meio de técnicas descritivas, tais como tabelas e gráficos na forma de médias e desvios padrão. Para comparar e verificar a existência de diferença estatisticamente significativa entre as variáveis analisadas do grupo controle e do grupo experimental, foi utilizado o teste “t” de Student para amostras independentes. Para as conclusões das análises estatísticas foi utilizado o nível de significância de $p \leq 0,05$.

Resultados

Foi obtido um total de 99 fetos nascidos das 10 fêmeas utilizadas neste estudo, sendo que nasceram 49 fetos no grupo controle e 50 no grupo experimental (irradiado). Em ambos os grupos, todos os fetos responderam ao reflexo de Galant, constatando-se, então, a ausência de natimortos.

Na figura 1 podem ser observados um feto proveniente do grupo controle (C) e um do grupo experimental (E). Após a dissecação dos fetos de ambos os grupos, foi verificado que a progênie das ratas dos dois grupos não apresentavam evidências de malformações embrionárias que caracterizassem qualquer alteração de origem teratogênica.

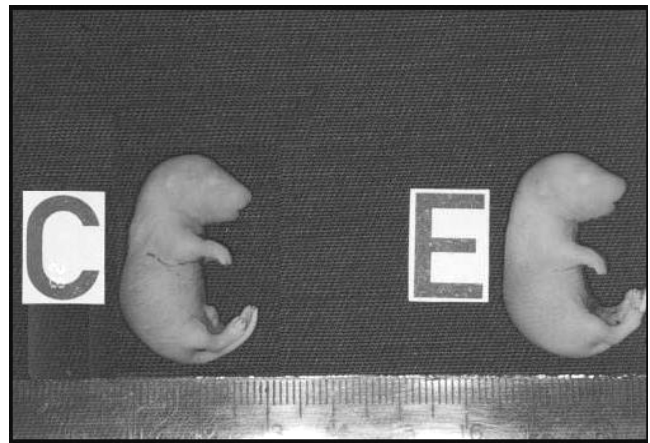


Figura 1: Feto do grupo controle (C) e feto do grupo experimental (E).

Na figura 2 estão representados as médias e os desvios-padrão da massa corporal dos fetos do grupo controle e do grupo experimental.

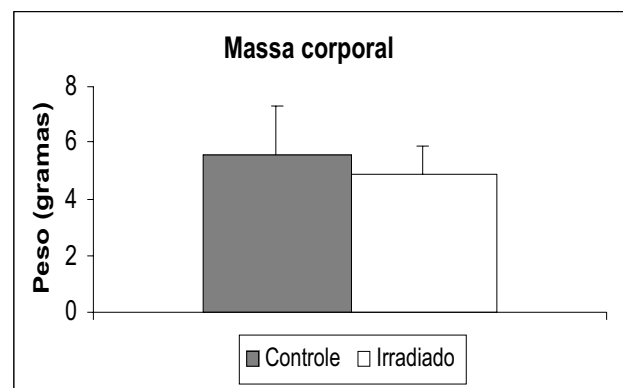


Figura 2: Massa corporal dos fetos derivados das ratas dos grupos controle e experimental.

Pode ser observado na figura 2 que houve uma diferença estatisticamente significativa entre a média da massa corporal dos fetos do grupo controle ($5,5420 \pm 1,7790$) e do grupo experimental ($4,8220 \pm 1,0506$), sendo que a média dos fetos do grupo experimental foi significativamente menor ($p=0,0157$) que no grupo controle.

Na tabela 1 estão apresentados as médias, os desvios-padrão e o resultado do teste “t” de Student do peso dos órgãos úmidos dos fetos do grupo controle e do grupo experimental.

	Controle	Experimental	p
Fígado úmido (g)	0,2703 (±) 0,0715	0,2584 (±) 0,0600	0,3725
Coração úmido (g)	0,0411 (±) 0,0171	0,0408 (±) 0,0396	0,3945
RUD (g)	0,0095 (±) 0,0051	0,0091 (±) 0,0038	0,6651
RUE (g)	0,0091 (±) 0,0046	0,0085 (±) 0,0320	0,4082
Estômago úmido (g)	0,0274 (±) 0,0094	0,0296 (±) 0,0125	0,3180

g: gramas; RUD: rim úmido direito; RUE: rim úmido esquerdo.

Tabela 1: Média e desvio padrão dos pesos (em gramas) dos órgãos úmidos analisados (grupo controle e experimental) e valor de p.

De acordo com os dados apresentados na tabela 1, pode ser observado que não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas dos pesos dos órgãos úmidos dos fetos do grupo controle e experimental.

Na tabela 2 estão apresentadas as médias, os desvios-padrão e o resultado do teste "t" referente ao peso dos órgãos secos dos fetos do grupo controle e do grupo experimental.

	Controle	Experimental	p
Fígado seco (g)	0,0452 (±) 0,0085	0,0391 (±) 0,0070	0,1744
Coração seco (g)	0,0064 (±) 0,0025	0,0061 (±) 0,0018	0,4793
RSD (g)	0,0150 (±) 0,0185	0,0218 (±) 0,0390	0,1683
RSE (g)	0,0180 (±) 0,0019	0,0140 (±) 0,00037	0,0932
Estômago seco (g)	0,0048 (±) 0,0032	0,0045 (±) 0,0023	0,4991

g: gramas; RUD: rim úmido direito; RUE: rim úmido esquerdo.

Tabela 2: Média e desvio padrão dos pesos (em gramas) dos órgãos secos analisados (grupo controle e experimental) e valor de p.

De acordo com os dados apresentados na tabela 2, pode ser observado que não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas dos pesos dos órgãos secos dos fetos do grupo controle e experimental.

Discussão

Os resultados encontrados neste trabalho mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores dos pesos do fígado, coração, rins e do estômago, úmidos e secos, dos fetos do grupo controle e experimen-

tal. Apesar disso, foi encontrado uma diferença significativa entre a massa corporal dos fetos de ambos os grupos, sendo que a média da massa corpórea do grupo controle foi maior que a média da massa corpórea do grupo experimental.

A diatermia por ondas curtas, tanto em modalidade contínua como pulsada, constitui uma contra-indicação absoluta durante o período gestacional (Low e Reed, 2001). No modo contínuo promove aquecimento e no regime pulsado é considerado atérmico, o que dificulta determinar de fato qual é o agente precursor dos possíveis efeitos colaterais citados nas contra-indicações. Portanto, esses efeitos colaterais podem estar rela-

cionados ao aquecimento gerado ou simplesmente pela interação da onda eletromagnética (atérmica), ou ainda, atribuída a ambas as situações.

Em um estudo realizado por Rosário (2000), com a irradiação por ondas curtas em incidência contínua (potência de 60W, em uma única aplicação por um tempo de 10 minutos) em ratas prenhas, pôde-se demonstrar após análises específicas, alterações de caráter teratogênico nos fetos irradiados durante seu desenvolvimento embrionário. Os fetos das ratas irradiadas nasceram com tamanhos e pesos inferiores e também apresentaram alterações importantes nas dimensões de alguns dos seus órgãos, quando comparado aos fetos do grupo controle, além de agenesias e modificações morfológicas evidentes.

De acordo com Buckiová e Jelinek, (1995), a hipertermia é um teratógeno que induz a efeitos deletérios em todas as espécies investigadas, inclusive em humanos. Como qualquer teratógeno clássico, estes efeitos vão depender da fase do desenvolvimento embrionário em que houve a exposição e qual a dose. Para Edwards *et al.* (1997), o calor atua diretamente nos embriões e elevações de 2°C ou mais, sustentadas em um momento precoce da organogênese em ratos, causou efeitos teratogênicos, principalmente por causa da morte celular por apoptose, especialmente no sistema nervoso central em desenvolvimento.

Brent *et al.* (1993) postulam que a onda eletromagnética modo pulsado pode ser considerada atérmica e esse tipo de campo eletromagnético não tem efeitos de teratogênese. Os resultados obtidos neste trabalho concordam com essas afirmações, a não ser pela massa corporal.

A diferença estatisticamente significativa encontrada entre as medidas dos pesos corporais de ambos os grupos evidencia o possível efeito das ondas curtas sobre o desenvolvimento embrionário. Este trabalho utilizou as ondas curtas em modo pulsado, atérmico, e de acordo com os resultados encontrados em relação à massa corpórea, pode ser sugerido haver danos de pequena monta ao feto exposto a ondas curtas, e tais danos provavelmente podem estar relacionados à ação das ondas eletromagnéticas, como sugerido por Becker e Marino (1982).

No entanto, não se descarta a hipótese de novos trabalhos serem desenvolvidos, com o intuito de aumentar o tempo de exposição das

aplicações, para verificar se o efeito somatório das ondas possibilitaria efeitos colaterais do tipo teratogênicos e ainda análises microscópicas tissulares, para evidenciar alterações em escala microscópica.

Considerações Finais

Sugere-se, portanto, que as ondas eletromagnéticas de alta frequência aplicadas em modo pulsado com frequências reduzidas, ou seja, quando não geradoras de calor, *a priori*, não podem ser consideradas responsáveis por alterações de origem teratogênica (sobre o desenvolvimento embrionário de ratos) quando analisadas sob o aspecto macroscópico, porém, podem intervir nas massas corporais dos descendentes.

Referências

- BECKER, R.O. e MARINO, A.A. **Electromagnetism and life**. Albany (USA), State University of New York Press, 1982. p. 211.
- BRENT, R. L. *et al.* Reproductive and teratologic effects of electromagnetic fields. **Reproductive Toxicology**, vol.7, p. 535-580, 1993.
- BUCKIOVÁ, D. e JELINEK, R. Heat shock proteins and teratogenesis. **Reproductive Toxicology**, vol. 9, n.º 6, p. 501-511, 1995.
- CHERNOFF, N. *et al.* A review of the literature on potential reproductive and the development toxicity of electric and magnetic fields. **Toxicology**, vol. 74, p. 91-126, 1992.
- DIETZEL, F. *et al.* Deformity and intrauterine death after short-wave therapy in early pregnancy in experimental animals. **Munch. Med. Wschr.** vol. 12, p. 114-128, 1972.
- EDWARDS, M. J. *et al.* Hypertermia, teratogenesis and the heat shock response in mammalian embryos in culture. **Int. J. Dev. Biol.**, vol. 41, pp. 345-358, 1997.
- KÄLLÉN, B.; MORITZ, U. Delivery outcome among physiotherapists in Sweden: is non-ionizing radiation a fetal hazard? **Archives of Environmental Health**, vol. 37, p. 81-83, 1982.

- LEHMANN, J. F. Bioeffects of high frequency currents and eletromagnetic radiation. In: LEHMANN, J. F.; DE LATEUR, B. **Therapeutic Heat and Cold**. Willians e Wilkins Co., 1984. 419p.
- LOW, J. e REED, A. **Eletroterapia explicada: princípios e prática**. 3.ed. Barueri: Manole, 2001. p.324.
- OUELLET-HELLSTROM, R. and STEWART, W.F. Miscarriages among female physical therapists who report using radio and microwave-frequency electromagnetic radiation. **American Journal of Epidemiology**, vol.138, n.10, p.775-786, 1993.
- ROSÁRIO, J. L. P. **Efeito da corrente eletromagnética de alta frequência no desenvolvimento embrionário de ratos**. São Carlos: UFSCar, 2000. Trabalho de Graduação em Fisioterapia.
- RUGH, R. *et al.* Responses of the mouse to microwave radiation during estrous cycle and pregnancy. **Radiation Res.**, vol. 62, p. 225-232, 1975.
- SHAW, G. M. e CROEN, L. A. Human adverse reproductive outcomes and electromagnetic field exposures: Review of epidemiologic studies. **Environ. Health Perspect.** vol.101, (suppl. 4), p. 107-109, 1993.
- TASKINEN, H. *et al* Effects of ultrasound, short-waves, and physical exertion on pregnancy outcome in physiotherapists. **J. Epidemiol. Community Health.** vol. 44, p. 196-201, 1990.

Recebido: 18/10/2004

Aceito: 15/12/2004