

Campo magnético de frecuencia extremadamente baja: Seguridad de su aplicación a nivel del sistema nervioso central

Magnetic field of extremely low frequency: Safety of its application at the level of the central nervous system

Miriam Marañón Cardonne,^I Axel Mancebo Rodríguez,^{II} Lena Pérez Font,^{III} Julio Cesar García Rodríguez,^{IV} Fidel Gilart González,^{III} Enrique J. Marañón Reyes^V

^I Universidad de Oriente. Facultad de Ingeniería en Telecomunicaciones, Informática y Biomédica. Santiago de Cuba, Cuba.

^{II} Centro de Toxicología Experimental, Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). La Habana, Cuba.

^{III} Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba.

^{IV} Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

^V Centro de estudios de Neurociencias y procesamiento de Imágenes y Señales, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

RESUMEN

Introducción: La enfermedad cerebrovascular constituye un importante problema de salud a nivel mundial. En la actualidad se desarrollan investigaciones científicas dedicadas al estudio de los efectos del campo magnético de frecuencia extremadamente baja para su tratamiento. No es suficientemente clara la información acerca de su inocuidad en las dosis estudiadas.

Objetivo: Estudiar la seguridad de la aplicación del campo magnético de frecuencia extremadamente baja a nivel del sistema nervioso central a través de un estudio toxicológico a dosis aguda, repetida y ensayo de micronúcleos en médula ósea.

Métodos: Se conformaron tres grupos experimentales con ratas *Sprague Dawley Cerp*: SPRD jóvenes y sanas para los experimentos de toxicidad y ratones CENP: NMRI para la evaluación mutagénica. Se utilizaron controles negativos no tratados. En el ensayo de micronúcleos se incorporó un grupo control positivo al que se administró Ciclofosfamida por vía intraperitoneal. Se aplicó un campo magnético no homogéneo con niveles de

inducción magnética de 6,5 y 15 mT, tomando como referencia el valor máximo sobre la superficie de la bobina. Para la aplicación del campo magnético la bobina estimuladora se colocó sobre la cabeza asegurando la exposición completa del encéfalo.

Resultados: En ninguno de los ensayos se detectaron signos de toxicidad. Se comprobó así mismo que no se indujeron efectos genotóxicos ni citotóxicos sobre las células somáticas.

Conclusiones: El tratamiento con campo magnético de frecuencia extremadamente baja a nivel del sistema nervioso central en las condiciones experimentales y dosis estudiadas es seguro.

Palabras clave: campo magnético de frecuencia extremadamente baja; seguridad; estudio toxicológico; sistema nervioso central, encéfalo.

ABSTRACT

Introduction: Stroke is a major health problem all over the world. Nowadays are developed scientific researches devoted to the study of extremely low frequency magnetic field effects over this illness. The information about it safety is unclear yet.

Objective: To study the safety of extremely low frequency magnetic field applied at central nervous system level was by means of a toxicological assay (Acute, repeated doses and micronucleus in bone marrow assay)

Methods: Three experimental groups were made with Sprague Dawley Cerp: SPRD young and healthy rats for toxicity experiments and CENP: NMRI mice for mutagen evaluation. Untreated negative controls were used. In the micronucleus assay, an additional positive control group was included. This group received Cyclophosphamide by intraperitoneal administration. Was applied a non-homogenous magnetic field of 6,5 and 15 mT, taken as reference the maximum value over the coil surface. The coil was positioned over the head, ensuring full exposure of brain to magnetic field.

Results: In none of trials were detected any sign of toxicity. It was also found no genotoxic or cytotoxic effects induced on somatic cells.

Conclusions: These results indicated the safety of treatment with extremely low frequency magnetic field at central nervous system level for experimental conditions and doses studied.

Key words: extremely low frequency magnetic field; safety; toxicologic study; central nervous system; brain.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad Cerebrovascular constituye la tercera causa de muerte a nivel mundial. Aproximadamente el 80 % de los casos son isquémicos. Es una enfermedad de instalación súbita y mal pronóstico si no se aplica una estrategia terapéutica oportuna. Por ello es considerada una urgencia médica e importante problema de salud.^{1,2}

La Neuroprotección es una estrategia dedicada a preservar el tejido neuronal del daño permanente provocado por la disminución del flujo sanguíneo cerebral.^{3,4} Muchas de las

drogas ensayadas, con buenos resultados en estudios preclínicos, fracasan en la clínica.⁴ Como parte de los esfuerzos que se dedican a la búsqueda de estrategias neuroprotectoras efectivas por métodos no farmacológicos se posicionan los estudios con campo magnético de frecuencia extremadamente baja.^{5,6} En la clínica, se reportan aplicaciones de este agente físico a nivel del sistema nervioso central con fines de rehabilitación neurológica.⁷⁻⁹

Varios autores refieren estudios relacionados con los posibles efectos adversos de la aplicación del campo magnético.¹⁰ Sin embargo, no se cuenta con suficiente información que demuestre la seguridad del campo magnético de frecuencia extremadamente baja (CMFEB) al ser aplicado a nivel del sistema nervioso central. El presente trabajo está dirigido a esclarecer estos aspectos a través de los resultados del estudio toxicológico realizado.

MÉTODOS

Para evaluar la seguridad de la aplicación del CMFEB a nivel del sistema nervioso central se realizaron tres ensayos en el Centro de Toxicología Experimental (CETEX) del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, (CENPALAB):

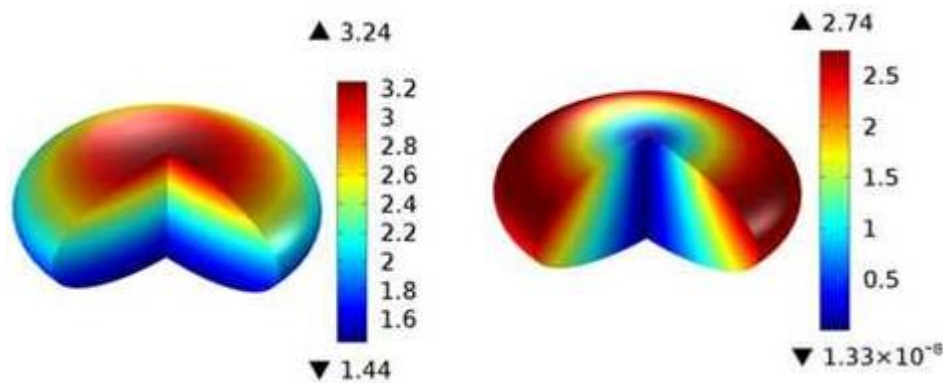
- Toxicidad Aguda del CMFEB en ratas CENP.SPRD.
- Toxicidad a dosis repetida (14 días) del CMFEB en ratas CENP:SPRD.
- Evaluación Mutagénica del CMFEB. Ensayo de Micronúcleos en médula ósea de ratón CENP: NMRI

Se utilizaron animales procedentes de CENPALAB, con su correspondiente certificado de salud y zootecnia. Se mantuvieron condiciones estables de temperatura ($23,1 \pm 0,37$ °C) y humedad ($68,9 \pm 0,57$ %) con ciclos de 12 h de luz - oscuridad. La comida y agua fue suministrada *ad libitum*. Antes de la realización de los ensayos se cumplió con el período de readaptación de los animales. Los protocolos y procedimientos experimentales se aprobaron por los órganos competentes del Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA) y el CENPALAB. Estos cumplen con las directivas cubanas para la investigación preclínica con equipos médicos y las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio y las específicas para este tipo de ensayos.¹¹⁻¹⁵

Para la generación de campo magnético se utilizó el Estimulador Magnético Local NaK, modelo 02 (Certificado de registro. No. I0350015041150), desarrollado por el CNEA y previamente certificado por laboratorios autorizados. Para la aplicación del campo magnético se utilizó la bobina tipo A del estimulador que tiene 40 mm de diámetro en su superficie de trabajo útil. Se aplicó un campo magnético no homogéneo de 60 Hz e intensidades seleccionadas para cada ensayo (6,5 y 15 mT), las cuales se controlaron a través del valor *r.m.s* máximo sobre la superficie de la bobina y se escogieron teniendo en cuenta estudios previos que reportan efecto neuroprotector en ese rango.^{16,17}

En los estudios de toxicidad aguda y a dosis repetida la bobina se posicionó sobre la zona del encéfalo, asegurando su exposición completa al campo. En el caso del Ensayo de micronúcleos las exposiciones se realizaron en la extremidad posterior izquierda de cada animal. El grupo Control se sometió a las mismas condiciones experimentales que los tratados, pero sin aplicación de campo magnético.

Se simuló por el Método de Elementos Finitos la distribución de densidad de flujo magnético y de la intensidad del campo eléctrico inducido en el volumen de interés (Fig. 1).



A - Densidad de flujo magnético (mT). **B** - Campo eléctrico inducido (mV/m).

Fig. 1. A. Densidad de flujo magnético y B. Distribución de la intensidad del campo eléctrico, inducido a la frecuencia de 60 Hz en el volumen de trabajo.

Para el análisis estadístico de los resultados se determinó la media, desviación estándar y error para cada grupo por sexo. Los resultados experimentales se compararon a través del test de Kruskal-Wallis seguido por la prueba de comparación múltiple de Dunns. Intervalo de confianza del 95 %.

Estudio de Toxicidad a dosis aguda

Se utilizaron 40 ratas Sprague Dawley Cenp: SPRD jóvenes y sanas de ambos sexos (N=5 por sexo) con peso promedio aproximado de 151 a 175 g, edad de 8-9 semanas. Las hembras nulíparas y no grávidas. Los animales se distribuyeron aleatoriamente para formar 3 grupos experimentales: Grupo 1: Control, Grupo 2: Frecuencia 60 Hz, intensidad 6,5 mT y Grupo 3: Frecuencia 60 Hz, intensidad 15 mT. El tiempo de exposición fue de 20 minutos, distribuido en dos sesiones de 10 minutos, una en la mañana y otra en la tarde.

Se realizaron observaciones clínicas diarias, teniendo en cuenta la aparición de posibles cambios en el sitio de aplicación, así como afectaciones al sistema nervioso, actividad somato motora y patrón de comportamiento. Se evaluó semanalmente el peso corporal, uno de los parámetros que ofrece mayor información acerca de la toxicidad de un agente terapéutico.¹³

Se realizó la necropsia macroscópica bajo anestesia a todos los animales al concluir el estudio, en ella se examinó la superficie externa del cuerpo, todos los orificios y las cavidades craneal, torácica y abdominal, así como sus contenidos.

Estudio de Toxicidad a dosis repetida

Se utilizaron ratas Sprague Dawley Cenp: SPRD (N= 40) jóvenes y sanas con un rango de peso aproximado de 130-150 g, con edades entre 6 y 7 semanas. Las hembras, nulíparas y no grávidas. Se conformaron tres grupos experimentales: Grupo Control, Grupo Dosis Baja (Frecuencia 60 Hz, intensidad 6,5 mT) y Grupo Dosis Alta (Frecuencia 60 Hz, intensidad 15 mT).

Se realizaron 12 aplicaciones por grupo en 14 días, teniendo en cuenta la duración y frecuencia del uso clínico previsto. El tiempo de exposición fue de 20 min, realizado en dos sesiones de 10 min, una en la mañana, y la segunda por la tarde.

Se realizaron dos observaciones clínicas diarias, se siguieron las mismas pautas que en el estudio a dosis aguda. El peso corporal se determinó antes de la primera exposición y luego, semanalmente.

Se ejecutaron exámenes hematológicos, de bioquímica sanguínea y se analizó el balance electrolítico¹⁸ a todos los animales antes de comenzar el estudio (muestreo inicial) y al finalizar el período de aplicación del tratamiento con CMFEB (muestreo final).

Al finalizar el estudio todos los animales se sacrificaron mediante narcosis con éter, dislocación cervical y exsanguinación. Se realizó la necropsia completa a todos los animales, examinándose el sitio de administración, la superficie externa del cuerpo, todos los orificios y las cavidades craneal, torácica y abdominal, así como sus contenidos. Los órganos se preservaron para realizar el examen histopatológico.

Se determinó el peso corporal posmortem y se pesaron rápidamente el hígado, riñones, adrenales, corazón, pulmones, timo, bazo, encéfalo y testículos u ovarios. Se determinó el peso relativo de los órganos. Se realizó el examen microscópico de los órganos y tejidos de todos los animales de los grupos Control y Dosis Alta.¹⁸

Evaluación Mutagénica del CMFEB. Ensayo de Micronúcleos en Médula Ósea de ratón CENP: NMRI

El estudio se realizó con el objetivo de determinar el posible efecto mutagénico del CMFEB, empleando el ensayo de micronúcleos en médula ósea de ratón CENP: NMRI.

Se utilizaron 48 ratones CENP:NMRI sanos, de ambos sexos (hembras nulíparas y no grávidas) con peso corporal entre 22 y 24 g, edad entre 5 y 6 semanas.

Los animales se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos experimentales: Control negativo (no recibió tratamiento); Control Positivo (Ciclofosfamida por vía intraperitoneal con dosis de 40 mg/Kg en 1 mL de inyección, según recomendaciones de la OECD para este tipo de ensayos.¹⁵ Tratado, dosis baja (6,5 mT/60 Hz) y Tratado dosis alta (15 mT/60 Hz).

El tiempo de exposición al CMFEB fue de 20 minutos, dividido en dos sesiones diarias al igual que en experimentos anteriores. Las exposiciones se realizaron en la extremidad posterior izquierda de cada animal.

El peso se tomó al comienzo del estudio y antes del sacrificio.

La eutanasia se realizó el día posterior a la última aplicación por dislocación cervical, previa narcosis con éter dietílico. Se extrajeron ambos fémures en los animales del grupo control positivo y el izquierdo de los restantes grupos. Se colectó la médula ósea mediante lavado fetal bovino. Se procedió luego a la preparación de dos láminas por animal. En cada una se analizaron 1000 eritrocitos policromáticos (EPC) (2000 por animal) para cuantificar el número de EPC portadores de Micronúcleos (EPC-MN) en el total de EPC observados,¹² expresando la frecuencia de EPC-MN como el número de células micronucleadas cada 1000 células analizadas.

Se cuantificó el porcentaje de eritrocitos policromáticos (% EPC) en la médula ósea para el análisis de la citotoxicidad, mediante el conteo de 500 eritrocitos totales (EPC + eritrocitos normocromáticos (ENC)) por animal. Todas las observaciones se realizaron en un microscopio Opton con objetivo 100X.

RESULTADOS

Toxicidad a dosis aguda

La supervivencia al concluir el ensayo fue del 100 %. Al analizar los signos clínicos se detectó que sólo un animal macho del grupo 3 (13,5 mT/60 Hz) presentó piloerección, vocalización y leve agresividad a la manipulación en los días 1 y 2 después de la aplicación, signos que desaparecieron posteriormente.

No se apreciaron diferencias significativas en el peso de los animales para ninguno de los sexos entre los grupos estudiados. Se observó un aumento significativo del mismo entre el día 0 y el día 14 para todos los animales, sin diferencias significativas entre grupos. En la [figura 2](#) se observa el comportamiento de esta variable durante el experimento.

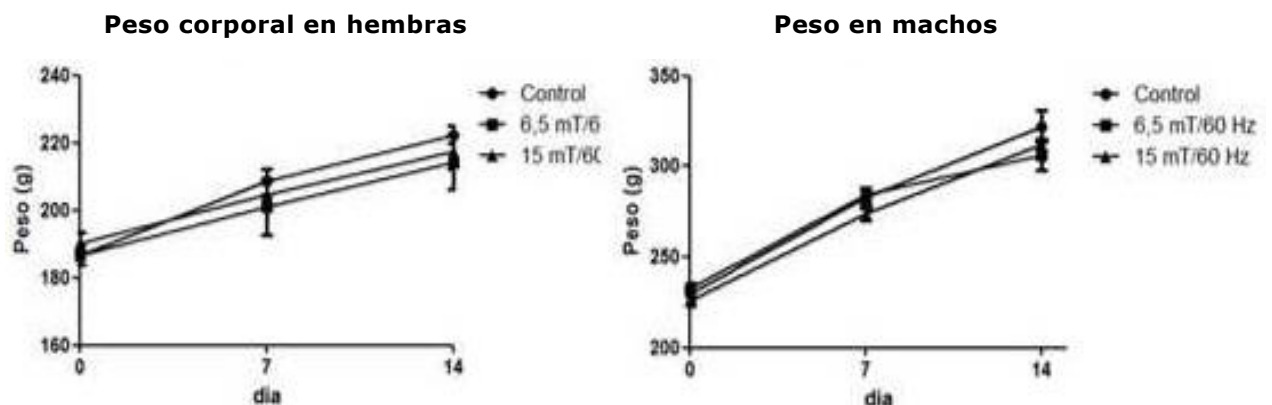


Fig. 2. Comportamiento del peso de los animales de ambos sexos durante el estudio.

En los análisis patológicos no se detectaron alteraciones macroscópicas de los órganos parenquimatosos observados, por lo que no fue necesario el examen microscópico.

Toxicidad a dosis repetida

Se obtuvo un 100 % de supervivencia en los animales sometidos al ensayo. No se presentaron signos clínicos de toxicidad en ninguno de los grupos estudiados.

Al igual que en el ensayo anterior el análisis estadístico del peso no arrojó diferencias significativas entre grupos para ambos sexos en ningún día del estudio. La comparación de la ganancia de peso no mostró diferencias entre grupos, obteniéndose un incremento significativo para todos ellos entre los días 0 y 14. Lo que se corresponde con lo reportado para la especie.

Como resultado del análisis hematológico se comprobó que el conteo de plaquetas para los machos de los grupos Dosis Baja y Alta, aumentó significativamente en el muestro final respecto al grupo Control, pero dentro de los límites fisiológicos establecidos para la especie.¹⁹

Las diferencias entre el muestreo inicial y final en todos los casos estuvieron dentro de los rangos establecidos como normales.

Respecto a los resultados del análisis de bioquímica sanguínea, se encontraron al final del experimento valores inferiores para los niveles de glucosa (GLUC) para el grupo Dosis baja respecto al grupo Dosis Alta, en las hembras. Los machos del grupo Dosis Alta en el muestreo final mostraron valores significativamente inferiores de ácido úrico (AU) respecto a los grupos Control y Dosis Baja.

Se encontraron diferencias significativas entre el muestreo inicial y final para: el fósforo (PHOS) que disminuyó significativamente en las hembras del grupo dosis alta, las proteínas totales (PT) aumentaron en el muestreo final, a excepción de las hembras del grupo Dosis Alta, los machos del grupo dosis alta disminuyeron significativamente los valores de ácido úrico (AU) en el muestreo final, los triglicéridos en los machos de ambos grupos tratados disminuyeron significativamente. Se presentaron valores superiores y significativos del fósforo (PHOS) en el muestreo inicial con respecto al final para ambos sexos de los grupos Dosis Baja y Alta, con un comportamiento similar en el grupo Control, pero sin alcanzar significación estadística. Respecto a la relación albúmina a globulinas (A/G), los valores fueron superiores y significativos en el muestreo inicial con respecto al muestreo final, a excepción de las hembras del grupo Dosis Alta. No se encontraron diferencias significativas entre grupos para los resultados de la medición de sodio y potasio en ambos muestreos. Sin embargo, ambos grupos tratados mostraron disminución del potasio del inicio al final del estudio en las hembras. Tendencia observada también, aunque en menor medida, en el grupo control. Estos valores están dentro del rango normal establecido al inicio del estudio por lo que se considera que esta disminución no tiene relación con el tratamiento.

No se encontraron alteraciones morfológicas de interés en los órganos y tejidos analizados en la patología. Solo se observaron en los grupos tratados pequeñas hemorragias petequiales en el pulmón de dos animales del grupo dosis alta, una hembra y un macho.

El análisis estadístico del peso absoluto y relativo de órganos sólo mostró diferencias significativas en los machos, específicamente en el peso relativo de testículos, con valores significativamente inferiores en los animales tratados. Estas diferencias no se correspondieron con hallazgos macroscópicos ni microscópicos.

En los órganos estudiados no existen alteraciones histopatológicas atribuibles al agente físico en ensayo. En dos animales se encontraron hemorragias retro oculares, que pueden haber sido provocadas por la acción traumática de la extracción de sangre por esta vía. Por otra parte, se encontraron patologías respiratorias de manera aislada, tanto en el grupo control como en los tratados.

En el sitio de exposición al campo magnético y los ganglios linfáticos relacionados, no se observaron signos de toxicidad como reacción inflamatoria, hiperemia o edema.

Evaluación Mutagénica del CMFEB

El estudio concluyó con un 100 % de supervivencia y ningún animal con signos de toxicidad. Se observaron disminuciones aisladas del peso corporal en todos los grupos que pudo estar asociada al estrés al que estuvieron sometidos los animales los dos días de estudio, con mayor sensibilidad en las hembras. Tal como ocurrió en los estudios previos este parámetro no se afectó por la aplicación del campo magnético.

Las [figuras 3](#) y [4](#) muestran el comportamiento de la presencia de EPC portadores de micronúcleos en el total de EPC observados y el porcentaje de EPC con micronúcleos respecto a los eritrocitos totales (frecuencia de EPC-MN y % EPC).

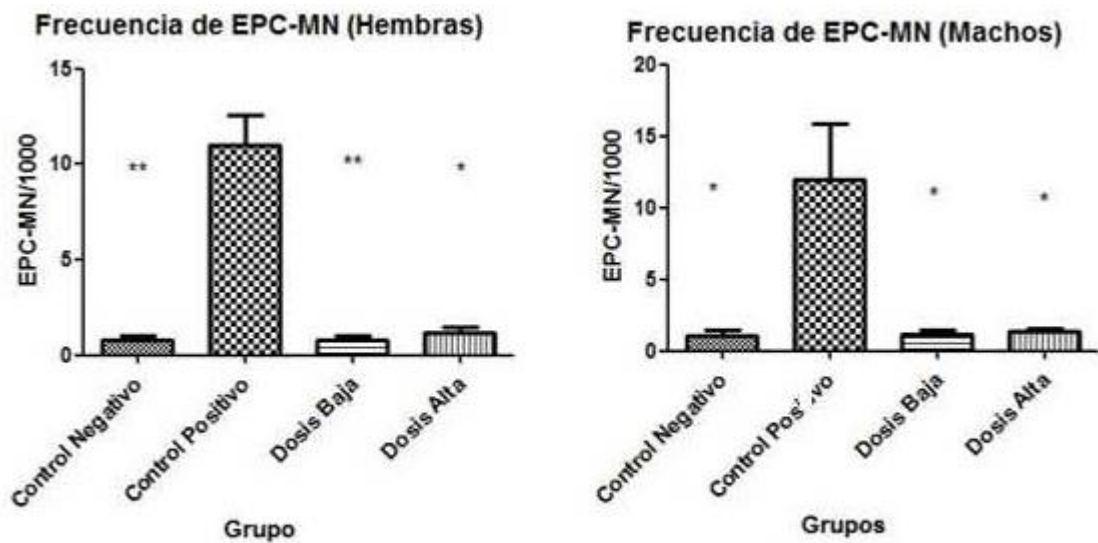


Fig. 3. Frecuencia de eritrocitos policromados portadores de micronúcleos por sexo.

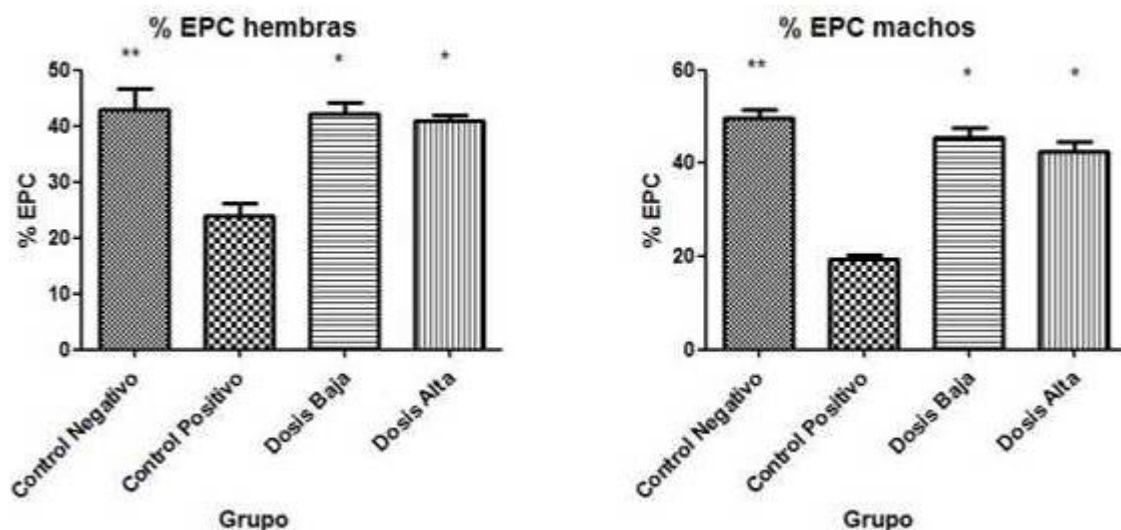


Fig. 4. Porcentaje de eritrocitos policromados con micronúcleos respecto al total de eritrocitos en la muestra.

La dosis evaluada de Ciclofosfamida indujo un incremento significativo de la frecuencia de EPC-MN y la disminución, también significativa, del % EPC^{20,21} respecto al control negativo y los grupos que recibieron CMFEB. Los resultados del control negativo concuerdan con los valores históricos del laboratorio²² y no tienen diferencias significativas con los grupos tratados para ninguna de las dos variables evaluadas. Ello indica que el CMFEB no produjo efectos genotóxicos ni citotóxicos sobre las células somáticas.

DISCUSIÓN

El peso corporal es uno de los parámetros que ofrece mayor información acerca de la toxicidad de un agente terapéutico; la pérdida significativa de éste puede ser uno de los indicadores más sensibles de deterioro y se interpreta, en la mayoría de los casos como signo de toxicidad.¹³ El hecho de no encontrarse diferencias significativas de los grupos experimentales respecto al control es la primera evidencia de que no existe toxicidad del CMFEB, confirmada por la no aparición de signos clínicos generales ni relacionados con una posible neurotoxicidad.

Al consultar la literatura se comprobó la similitud de los resultados hematológicos obtenidos en este ensayo con los reportados por otros autores para la especie.²³ El aumento de la hemoglobina y los eritrocitos en los machos de Control y Dosis Alta no refleja daño biológico al ser a niveles similares a los reportados en la literatura; por demás, este aumento también ocurrió en el grupo Dosis Baja, pero sin reflejarse estadísticamente. La inversión de la fórmula normal de predominio de linfocitos puede estar relacionada con una respuesta sistémica a la necrosis focal que presentó ese animal en el análisis histopatológico, ello no guarda relación con el agente evaluado al ser un animal del grupo Control.

De las variables bioquímicas que mostraron diferencias significativas sólo se aprecian como aparentemente asociadas al tratamiento los hallazgos del ácido úrico ya que en los machos del grupo Dosis Alta manifestaron valores significativamente inferiores a los del grupo Control, coincidiendo con una variación significativa del mismo parámetro del muestreo inicial al final y que tuvo similar comportamiento en las hembras del mismo grupo, aunque sin alcanzar significación estadística. No obstante, no se detectaron valores fuera del rango de lo normal para la especie al inicio del estudio ni en estos resultados. Por ello se puede definir el estado final de los animales como hipouricemia, la cual en todo caso es considerada benigna²⁴ y no tuvo relación con ningún hallazgo histopatológico.

El resto de los hallazgos carecen de significación biológica ya que ocurrieron aisladamente, sin relación causa-efecto y por lo general sus valores se enmarcaron dentro de los rangos de normalidad establecidos y fueron similares a estudios anteriores. Los cambios entre muestreos ocurridos en algunos parámetros, como la disminución de fosfatasa alcalina y fósforo (explicados generalmente por el crecimiento de los huesos y el incremento de la actividad enzimática asociada a este proceso en animales jóvenes y que disminuye hacia la adultez, al no presentar distinción de grupos ni sexos, parecen responder a variaciones fisiológicas relacionadas con la edad de los animales.²⁵ Debe señalarse que el poco tiempo de duración del estudio podría no ser relevante para observar esta tendencia.

En cuanto a las diferencias encontradas en el potasio entre el inicio y el final del estudio en las hembras de los grupos tratados, no tuvo resultados significativos y se manifestó también en el Control. En los tres grupos los valores al final del estudio estuvieron por debajo del rango normal establecido para el estudio. Por ello esa disminución no tiene relación con el tratamiento.

Los cambios macroscópicos detectados en algunos animales (pequeñas hemorragias petequiales), se correspondieron en el análisis microscópico con patologías espontáneas, las cuales se manifiestan comúnmente en la especie²⁵ y no deben ser atribuibles al efecto del agente terapéutico evaluado.

Las diferencias significativas en el peso relativo de testículos, en las que los animales de los grupos tratados presentaron valores significativamente inferiores a los del grupo Control, no se correspondieron con hallazgos macroscópicos ni microscópicos. Su origen puede estar en las variaciones producidas al momento de la toma de las muestras.

Estos resultados confirman los de estudios previos relativos a la seguridad de la utilización del CMFEB en el rango estudiado.²⁶ Las diferencias fundamentales con otros autores que reportan efectos adversos para estos niveles de campo²⁷ radican fundamentalmente en que los tiempos de exposición son mucho menores. Este es un resultado importante ya que enfatiza la necesidad de limitar el tiempo de exposición al campo magnético.

Como resultado del estudio realizado se arribó a la conclusión de que la aplicación de CMFEB a nivel del sistema nervioso central es segura bajo las condiciones experimentales estudiadas, teniendo en cuenta que no se detectaron signos de toxicidad, no se produjeron afectaciones en el peso corporal ni se detectaron alteraciones anátomo-patológicas, efectos genotóxicos ni citotóxicos sobre las células somáticas en las ratas Cenp: SPRD.

AGRADECIMIENTO

Al colectivo de investigadores del CETEX, ejecutores de los ensayos.

Apoyo Financiero

Por los fondos institucionales para la investigación del Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA) y el Fondo de Cooperación para el Desarrollo de Bélgica a través del programa VLIR-UOS en el contexto del proyecto de cooperación con la Universidad de Oriente.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kolominsky-Rabas PL, Wiedmann S, Weingärtner M, Liman TG, Endres M, Schwab S, et al. Time Trends in Incidence of Pathological and Etiological Stroke Subtypes during 16 Years: The Erlangen Stroke Project. *Neuroepidemiology* 2015;44:24-9.

2. Miranda Quintana JA. Enfermedades cerebrovasculares. Santiago de Cuba: Editorial Oriente; 2004.
3. Burridge S. Neurodegenerative diseases: Novel route to neuroprotection. *Nat Rev Drug Discov.* 2012;11:906-7.
4. Sutherland BA, Minnerup J, Balami JS, Arba F, Buchan AM, Kleinschnitz C, et al. Neuroprotection for ischaemic stroke: Translation from the bench to the bedside. *Int J Stroke.* 2012;7:407-18.
5. Balind SR, Selaković V, Radenović L, Prolić Z, Janać B. Extremely low frequency magnetic field induced changes in motor behaviour of gerbils submitted to global cerebral ischemia. *Behav Brain Res.* 2012;228:241-6.
6. Selakovic V, Balind SR, Radenovic L, Prolic Z, Janac B. Age-Dependent Effects of ELF-MF on Oxidative Stress in the Brain of Mongolian Gerbils. *Cell Biochem Biophys.* 2013;66:513-21.
7. Martín Codero JE, García Delgado JA, Vega Treto H, Bravo Acosta T. Magnetoterapia en el Ataque Transitorio Isquémico. *Investig Medicoquirúrgicas.* 2006;II:50-9.
8. Woldańska-Okońska M, Czernicki J. Effect of low frequency magnetic fields used in magnetotherapy and magnetostimulation on the rehabilitation results of patients after ischemic stroke. *Przegl Lek.* 2007;64:74-7.
9. Di Lazzaro V, Capone F, Apollonio F, Borea PA, Cadossi R, Fassina L, et al. A Consensus Panel Review of Central Nervous System Effects of the Exposure to Low-Intensity Extremely Low-Frequency Magnetic Fields. *Brain Stimul.* 2013;6:469-76.
10. Luukkonen J, Liimatainen A, Juutilainen J, Naarala J. Induction of genomic instability, oxidative processes, and mitochondrial activity by 50Hz magnetic fields in human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Mutat Res Mol Mech Mutagen.* 2014;760:33-41.
11. CCEEM. Guía para la Realización de Investigaciones Preclínicas Biológicas con Equipos Médicos. Cuba: Centro de Control Estatal de Equipos Médicos. Ministerio de Salud Pública; 1998.
12. UNE-EN ISO 10993-11:2009. Evaluación biológica de productos sanitarios. Parte 11: Ensayos de toxicidad sistémica. (ISO 10993-11:2006); 2009.
13. ENV/JM/MONO, OECD. Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation; 2000.
14. Good Laboratory Practice Standards. Code of Federal Regulations 40, Chapter I, Part 160; 2000.
15. OECD. Guideline for testing of chemicals. Proposal of updating Guideline 474. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test; 1997.
16. Balind SR, Selaković V, Radenović L, Prolić Z, Janać B. Extremely Low Frequency Magnetic Field (50 Hz, 0.5 mT) Reduces Oxidative Stress in the Brain of Gerbils Submitted to Global Cerebral Ischemia. *PLoS One.* 2014;9:e88921.

17. Marañón M, Sosa AJ, Rodríguez Y, Díaz BL, Jimenez C, Marañón E, et al. V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB. La Habana, Cuba: Springer. 2011 May;16-21:21-4.
18. Mancebo Rodríguez A, Acosta Lago E, Fuente s D, León Goñi A, Blanco Gámez D, Gonzalez Triana C, et al. DREM05 14. Toxicidad a dosis Repetida (14 días) por vía dérmica del Estimulador Magnético Local NaK 02 en Ratas CENP: SPRD. La Habana, Cuba; 2015.
19. Goñi L, Caridad A, Diuris B, Amelia P, González M, Arteaga BO, et al. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB , Cenp : SPRD (Hematological and biochemical parameters in Sprague Dawley laboratory rats breed in CENPALAB , Cenp : SPRD). REDVET, Rev Electrón Vet. 2011;12:1-10.
20. Oliveira RJ, Pesarini JR, José M, Salles S, Yumi T, Kanno N, et al. Effects of b -glucan polysaccharide revealed by the dominant lethal assay and micronucleus assays, and reproductive performance of male mice exposed to cyclophosphamide. Genet Mol Biol. 2014;119:111-9.
21. Salmani A, Kosari AA, Pirouzi A, Omid M, Mohsenzadeh M. Protective effect of methanolic extracts of. Trends Pharm Sci. 2015;1:243-50.
22. Curbelo A. Evaluación genotóxica y citotóxica in-vivo de los bionutrientes FITOMAS-E y FITOMAS-H; 2012.
23. Alemán C, Más R, I, Rodeiro I, Noa M, Hernández C, Menéndez R, et al. Reference database of the main physiological parameters in Sprague-Dawley rats from 6 to 32 months. Lab Anim. 1998;32:457-66.
24. Martín NE, Nieto VG. Hipouricemia y manejo renal del ácido úrico. Nefrología 2011;2:44-50.
25. Petterino C, Argentino-Storino A. Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. Exp Toxicol Pathol. 2006;57:213-9.
26. Lee HJ, Jin YB, Lee JS, Choi JI, Lee JW, Myung SH, et al. Combined Effects of 60 Hz Electromagnetic Field Exposure With Various Stress Factors on Cellular Transformation in NIH3T3 Cells. Bioelectromagnetics. 2012;33:207-14.
27. Foroozandeh E, Derakhshan-Barjoei P, Jadidi M. Toxic effects of 50 Hz electromagnetic field on memory consolidation in male and female mice. Toxicol Ind Health. 2013;29:293-9.

Recibido: 1 de diciembre de 2017.

Aprobado: 2 de febrero de 2028.

Miriam Marañón Cardonne. Universidad de Oriente. Facultad de Ingeniería en Telecomunicaciones, Informática y Biomédica. Santiago de Cuba, Cuba.
Correo electrónico: mmaranon@uo.edu.cu