

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO VENTANA EN LA INFLUENCIA DE
LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS CONTINUOS SOBRE EL
DESARROLLO DE LA GLÁNDULA PINEAL DEL EMBRIÓN DE POLLO**

TESIS DOCTORAL

CARLES OLONA CASAS

UNITAT D'ANATOMIA HUMANA I EMBRIOLOGIA
DEPARTAMENT CIÈNCIES MÈDIQUES BÀSIQUES
FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT
UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

REUS, 2005

7.- CONCLUSIONES

Como resultado del presente trabajo hemos llegado a las siguientes conclusiones

1. El control riguroso de los campos electromagnéticos continuos a los que han sido sometidos los embriones durante su desarrollo garantiza que no se hayan producido variaciones en las condiciones estándar de incubación (temperatura, grado de humedad, volteo y aislamiento del ambiente general del laboratorio). Esta premisa nos permite afirmar que las diferencias que aparezcan con respecto a los controles, en los distintos grupos de embriones expuestos sólo pueden ser razonablemente atribuibles al CEMc aplicado.
2. Los CEMc no han producido alteraciones en el proceso de maduración global (diferenciación y crecimiento) de los embriones. Este hecho se confirma porque no se han hallado diferencias en el estadio entre ninguno de los embriones de los grupos expuestos entre sí, ni respecto a los controles, a ninguna de las edades.
3. A los 10 días de desarrollo todos los embriones de los grupos expuestos, con excepción del grupo de 31,1 mT, presentan un peso superior al de los controles. A los 15 días los resultados solo se mantienen en los grupos expuestos a las intensidades más bajas. A los 21 días todos los grupos de embriones expuestos, tienen un peso inferior al de los controles. Tanto a los 10 como a los 21 días las diferencias que se detectan en los grupos expuestos a 31,1 mT son estadísticamente significativas.
4. Los hechos expuestos en el párrafo anterior descartan la posibilidad de existencia del denominado “efecto ventana” en la respuesta a los CEMc, para el peso. Por el contrario parece existir una

proporcionalidad directa entre la disminución del peso, la intensidad del campo aplicado y el tiempo de exposición.

5. La gran variabilidad de resultados observados en la talla de los embriones, en todos los grupos y a todas las edades, creemos que nos permite afirmar que los CEMc no tienen ninguna influencia sobre esta variable.
6. El estudio de las dimensiones de la glándula pineal, a las distintas edades, nos ha permitido conocer la forma de la misma y los cambios que se producen a lo largo del desarrollo.
7. En los embriones control de 10 días de desarrollo, la glándula pineal presenta una forma alargada. A los 15 días se torna más redondeada a expensas de su extremo más distal y a los 21, la forma es similar a la etapa anterior con un incremento de volumen considerable.
8. En los embriones control de 15 y 21 días se observa un aumento progresivo de las diferencias en las distancias anteroposteriores (glándula y luz) y craneocaudales (glándula y luz). Los valores obtenidos a los 21 días duplican los de la fase anterior y superan el triple de los valores obtenidos a los 10 días. Estos resultados reflejan cambios en el conjunto de la morfología externa de la glándula y en la posición de su luz. Así, el crecimiento de las paredes de la glándula se realiza de forma desigual con un predominio manifiesto de las porciones anterior y apical frente a la posterior y probablemente como consecuencia de este hecho, la luz glandular va siendo paulatinamente desplazada del extremo apical y empujada hacia la porción posterior.

-
9. El estudio de los diámetros vertical y sagital, así como de sus segmentos respectivos, nos confirman lo que apuntábamos en los párrafos anteriores; pudiendo añadir que, en los embriones control, los cambios de desplazamiento que se detectan en la luz glandular van acompañados de una disminución de su calibre.
 10. En los embriones expuestos, las glándulas siguen el mismo patrón de desarrollo que las de los controles aunque resultan ligeramente más pequeñas.
 11. Las diferencias detectadas no siguen una pauta que nos permita establecer la existencia del denominado efecto ventana, ya que incluso los valores que han resultado estadísticamente significativos tampoco tienen una distribución uniforme ni constante en un determinado grupo.
 12. La evolución de las áreas definidas en la glándula pineal, nos permite conocer las diferencias que se establecen, a lo largo del desarrollo, entre las tres regiones de la glándula.
 13. En los embriones control, a los 10 días, la diferencia entre las áreas es muy pequeña, siendo la apical quien presenta una mayor superficie. A los 21 días (momento previo a la eclosión) estas diferencias se hacen muy marcadas y las áreas apical y anterior cuadruplican su volumen, en detrimento del área posterior.
 14. En los embriones expuestos, las diferencias detectadas entre las áreas son semejantes a las halladas entre las de los controles: predominio de las áreas anterior y apical frente a la posterior.

-
15. En los controles a lo largo del desarrollo, se produce una disminución progresiva del número de vesículas por área. Creemos que este hecho puede estar relacionado, con el incremento del tamaño vesicular
 16. Por lo que respecta al efecto que los CEMc sobre la evolución de la densidad vesicular vemos que, en los embriones de 10 días, el número de vesículas por área, es superior al de los controles en todos los grupos, siendo estadísticamente significativas las diferencias que existen en el área apical de los expuestos a 26,2 mT y 31,1 mT.
 17. Los embriones expuestos de 15 días, (momento que coincide con el período de máxima actividad glandular), la respuesta no es la misma en todas las áreas. En el área apical se contabiliza un número de vesículas inferior al de los controles en todos los grupos; estos resultados son estadísticamente significativos. Sin embargo, en el área anterior el valor es superior al de los controles y estadísticamente significativo en los grupos de exposición a 26,2 y 31,1 mT.
 18. A los 21 días la respuesta de los embriones expuestos es variable. Solo el grupo expuesto a 22,7 mT presentan un número de vesículas por área superior al de los controles y el resto de grupos expuestos (estadísticamente significativa) en las áreas anterior y apical.
 19. Las variaciones en la superficie de las áreas y en el número de vesículas que se han detectado en los embriones expuestos, a las distintas etapas del desarrollo pueden traducir una mayor compactación de la glándula y esta a su vez, una aceleración de sus procesos de maduración.

20. Como conclusión final de nuestro estudio podemos afirmar que las diferencias detectadas entre los embriones expuestos y los controles no siguen una pauta que permita confirmar la existencia del denominado efecto ventana en la acción de los CEMc. Los valores que han resultado estadísticamente significativos, no poseen una distribución uniforme, ni constante en un determinado grupo. La única particularidad que parece reflejarse en nuestro estudio es que a la edad intermedia los embriones expuestos presentan un nivel de diferenciación superior al de los controles, sobre todo en la región apical, que se mantiene a lo largo del desarrollo para hacerse más evidente en los grupos expuestos a las intensidades más altas.

8.- BIBLIOGRAFÍA

Abdullakhodzhayeva MS, Razykov S. Structural changes in the central nervous system caused by exposure to permanent magnetic field. *Biull Eksp Biol Med* 1986, 102 (11): 600-602.

Abelson PH Effects of electric and magnetic fields.(Editorial). *Sci* 1989, 245 (4915): 241.

Adey WR. Introduction: Effects of electromagnetic radiation on the nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 1975, 247: 15-20.

Adey WR. Frequency and power windowing in tissue interactions with weak electromagnetic fields. *Proc of the IEEE* 1980, 68: 119-125.

Adey WR. Tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields. *Physiol Rev* 1981, 61 (2): 435-514.

Adey WR. Electromagnetic fields, cell membrane amplification, and cancer promotion. In: *Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields; The Question of Cancer*. Bary W. Wilson, Richard G. Stevens and Larry E. Anderson, eds. Battelle Press. 1989: 211-249.

Adey WR. Biological effects of electromagnetic fields. *J Cell Biochem* 1993, 51: 410-416.

Aige V, Murillo N. Diencephalic origin of the pineal gland of the chicken embryo. *Histol Histopathol* 1991, 6: 409-414.

Aige V, Murillo N. Effects of white light on the pineal gland of the chick embryo. *Histol Histopathol* 1992, 7: 1-6.

Aleandri V, Spina U, Morini A. The pineal gland and reproduction. *Hum Reprod Update* 1996, 2: 225-235.

Altar A. Development of the mammalian pineal gland. *Dev Neurosci* 1982, 5: 166-180.

Akasaka K, Nasu T, Katayama T, Murakami N. Development of regulation of melatonin release in pineal cells in chick embryo. *Brain Res* 1995, 692: 283-286.

Ancel P. Investigations on the teratogenic action of temporary cooling of the chicken egg in the course of incubation. *J Embryol Exp Morphol* 1958, 6: 335-345.

Asanova TP, Rakov AI. Hygiene of labor and professional diseases 5, Trans. G. Knickerbocker, 1975, IEEE Power Engineering Society Special Publication 10, Piscataway, New Jersey; 1966.

Bardasano JL. La glándula pineal. Madrid: Ed. H. Blume; 1978.

Bardasano JL, Bujan J. Pineal cells with multipolar spindles in chicken embryos exposed to magnetic fields. *Z Mikrosk Anat Forsch Leipzig* 1986, 100 (4s): 545-551.

Bardasano JL, Cos S, Picazo ML. Veränderungen der anzahl synaptischer bänder in pinealdrüse der ratte an geomagnetischen ruhetagen und gewittertagen. *J Hirnforsch* 1989, 30 (6) :639-643.

Bardasano JL, Meyer AJ, Picazo L. Cambios ultraestructurales en los pinealocitos de la paloma mensajera ("Columbia livia") sometida a la influencia de oscilaciones de campos magnéticos artificiales. I Ectopia nucleolar. *Trab Inst Cajal* 1981a, LXXII: 255-261.

Bardasano JL, Meyer AJ, Picazo L. Cambios ultraestructurales en los pinealocitos de la paloma mensajera ("Columbia livia") sometida a la influencia de oscilaciones de campos magnéticos artificiales. II Alteraciones nucleolares. *Trab Inst Cajal* 1981b, LXXII: 263-268.

Bardasano JL, Meyer AJ, Picazo L. Pineal cells with multipolar spindlen in chicken embryos exposed to magnetic fields. First trials. *Z Mikrosk Anat Forsch Leipzig* 1986, 100 (1s): 85-92.

Bargmann W. Die epiphysis cerebri. In: W von Möllerndorff. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Berlin: Springer-Verlag; 1943, 6 (4): 309-505.

Barnothy MF. Biological effects of magnetic fields on small mammals. *Biomed Sci Instrum* 1963, 1: 127.

Bartsch H, Bartsch C, Mecke D, Lippert TH. Seasonality of pineal melatonin production in the rat: possible synchronization by the geomagnetic field. *Chronobiol Int* 1994, 11 (1): 21-26.

Bawin SM, Adey WT, Sabbot IM. Ionic factors in release of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ from chicken cerebral tissue by electromagnetic fields. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978, 75: 6314-6318.

Bearwood CJ. Biological effects of static and extremely low-frequency magnetic fields: mechanisms of interaction. *S Afr J Sci* 1991, 87: 551-554.

Beattie CW, Glenny FH. Some aspects of the vascularization and chemical histology of the pineal gland in "Gallus". *Anat Anz* 1966, 118: 396-404.

Becker RO. The bioelectric factors in amphibian-limb regeneration. *J Bone Joint Surg Am* 1961, 43A: 643-656.

Becker RO. Electromagnetic controls over biological growth processes. *J Bioelectr* 1984, 3 (1-2): 105-118.

Beischer DE, Knepton JC. Influence of strong magnetic fields on the electrocardiogram of squirrel monkeys "Saimiri sciureus". *Aerosp Med* 1964, 35: 939-944.

Bellosi A. Lack of an effect of static magnetic field on calcium efflux from isolated chick brains. *Bioelectromagnetics* 1986, 7 (4):381-386.

Bergiannaki J, Paparrigopoulos TJ, Stefanis CN. Seasonal pattern of melatonin excretion in humans: relationship to daylength variation rate and geomagnetic field fluctuations. *Experientia* 1996, 52: 253-258.

Bergman E, Chacon L, House D, Koch BA, Koch WE, Leal J, Lovtrup S, Mantipliy E, Martin AH, Martucci GI, Mild KH, Monahan JC, Sanström M, Shamsaifar K, Tell R, Trillo MA, Ubeda A, Warner P. Development of chicken embryos in a pulsed magnetic field. *Bioelectromagnetics* 1990, 11:169-187.

Binkley SA. A timekeeping enzyme in the pineal gland. *Sci Am* 1979, 240 (4): 66-71.

Binkley SA. Pineal Biochemistry: comparative aspects and circadian rhythms in the Pineal Gland. In: *Anatomy and Biochemistry*. Vol 1, Chapter 6. Ed. R. Reiter. Boca Raton Florida: CRC Press; 1981.

Binkley SA. Circadian rhythms of pineal function in rats. *Endocr Rev* 1983 4 (3): 255-270.

Binkley SA, Brammer M. Development of daily cycles in the pineal gland. Melatonin rhythm generating system. *Int. Symp. Bethesda*. Basel: Karger; 1982. 124-131.

Binkley SA, McBride SE, Klein DC, Ralph CL. Pineal enzymes: Regulation of avian melatonin synthesis. *Sci* 1973, 181: 173-175.

Bischoff MB. Photoreceptor and secretory structures in the avian pineal organ. *J Ultrastruct res* 1969, 28: 16-26.

Blackman CF, Benane SG, Elliott DJ, House DE, Pollock MM. Influence of electromagnetic fields on the efflux of calcium ions from brain tissue in vitro: A three-model analysis consistent with the frequency response up to 510 Hz. *Bioelectromagnetics* 1988, 9: 215-227.

Blackman CF, Benane SG, House DE, Joines WT. Effects of ELF (1-120 Hz) and modulated (50Hz) RF fields on the Efflux of Calcium Ions From Brain Tissue In Vitri. *Bioelectromagnetics* 1985, 6:1-11.

Bliss VL, Heppner FH. Circadian activity rhythm influenced by near zero magnetic. *Nature* 1976, 261:411-412.

Boya J, Calvo J. Post-hatching evolution of the pineal gland of the

chicken. *Acta Anat* 1978, 101: 1-9.

Boya J, Calvo J. Ultrastructural study of the post-hatching evolution of the pineal gland of the chicken (*Gallus gallus*). *Acta Anat* 1980, 107: 143-168.

Boya J, Zamorano L. Ultrastructural study of the pineal gland of the chicken (*Gallus gallus*). *Acta Anat* 1975, 92: 202-226.

Bramer M, Binkley S. Daily rhythms of serotonin and N-acetyltransferase in chicks. *Comp Biochem Physiol* 1979, 63: 305-307.

Bruls E, Crasson M, Legros JJ. Mélatonine. I. Physiologie de la sécrétion. *Rev Med Liege* 2000, 55 (8): 785-792.

Calvo J, Boya J. Embryonic development of the pineal gland of the chicken (*Gallus gallus*). *Acta Anat* 1978, 101: 289-303.

Calvo J, Boya J. Development of the innervation in the chicken pineal gland (*Gallus gallus*). *Acta Anat* 1979a, 103: 212-225.

Calvo J, Boya J. Evolution and nature of the dense bodies in the chicken pinealocytes. *Acta Anat* 1979b, 104: 61-71.

Calvo J, Boya J. Ultrastructural study of the embryonic development of the pineal gland of the chicken (*Gallus gallus*). *Acta Anat* 1979c, 103: 9-73.

Calvo J, Boya J, Carbonell AL, Garcia Mauriño JE. Influence of the light and dark phase of the cycle on the cellular proliferation in the pineal gland of the adult rat: A bromodeoxyuridine immunoistochemical study. *J Pineal Res* 1997, 23: 1-4.

Cameron J. On the origin of the epiphysis cerebri as a bilateral structure in the chick. *Proc Roy Soc Edinb* 1903, 25: 160-165.

Campbell E, Gibson MA. A histological and histochemical study of the development of the pineal gland in the chick, *Gallus domesticus*. *Can J Zool* 1970, 48: 1321-28.

Cañedo L, Cantú RG, Hernández RJ. Magnetic field exposure during gestation: pineal and cerebral cortex serotonin in the rat. *Int J Dev Neurosci* 2003, 21 (5): 263-266.

Chernoff N, Rogers JM, Kavet R. A review of the literature on potential reproductive and developmental toxicity of electric and magnetic fields. *Toxicology* 1992, 74: 91-126.

Chiang H, Wu RY, Shao BJ, Fu YD, Yao GD, Lu DJ. Pulsed magnetic field from video display terminals enhances teratogenic effects of cytosine arabinoside in mice. *Bioelectromagnetics* 1995, 16: 70-74.

- Child C. The physiological gradients. *Protoplasm* 1929, 5: 447.
- Cid F. Breve historia de las Ciencias Médicas. 3ª ed. ed. Barcelona: Espaxs; 1990.
- Coogan PF, Aschengrau A. Exposure to power frequency magnetic fields and risk of breast cancer in the upper cape cod cancer incidence study. *Arch Environ Health* 1998, 53 (5): 359-367.
- Cope FW. Biological sensitivity to weak magnetic fields due to biological superconductive Josephson junctions?. *Physiol Chem Phys* 1973, 5: 173-176.
- Coulton LA, Barker AT. The effect of low-frequency pulsed magnetic fields on chick embryonic growth. *Phys Med Biol* 1991, 36: 369-381.
- Cox CF, Brewer LJ, Raeman CH, Schryver CA, Child SZ, Carstensen EL. A test for teratological effects of power frequency magnetic fields on chick embryos. *IEEE Trans Biomed Eng* 1993, 40 (7): 605-610.
- Crasson M, Beckers V, Pequeux C, Claustrat B, Legros JJ. Daytime 50 Hz magnetic field exposure and plasma melatonin and urinary 6-sulfatoxymelatonin concentration profiles in humans. *J Pineal Res* 2001, 31 (3): 234-41.
- Cremer-Bartels G, Krausek K, Mitoskas G, Brodersen D. Magnetic field of the earth as additional zeitgeber for endogenous rhythms?. *Naturwissenschaften* 1984, 71: 567-574.
- Delgado JMR, Leal J, Monteagudo JL, Gracia MG. Embryological changes induced by weak, extremely low frequency electromagnetic fields. *J Anat* 1982, 134: 533-551.
- Delgado JMR, Monteagudo JL, Garcia M, Leal J. Teratogenic effects of weak magnetic fields. *IRCS Med Sci* 1981, 9: 392.
- Delorenzi E. Influenza di un campo magnetico sulla moltiplicazione delle cellule coltivate *in vitro*. Incremento nella frequenza delle mitosi ed anomalie del processo mitotico. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1935, 10: 702-704.
- Demaine C, Semm P. The avian pineal gland as an independent magnetic sensor. *Neurosci Lett* 1985, 62: 119-122.
- Demaine C, Semm P. Magnetic fields abolish nyctemeral rhythmicity of responses of Purkinje cells to the pineal hormone melatonin in the pigeon's cerebellum. *Neurosci Lett* 1986, 72: 158-162.
- Descartes R. *Tractatus de homine*. Ed facsímil Amstelodami, 1686. (Barcelona: MRA, Creación y Realización Editorial S.L., 1994).

Deuchar E. The effect of a high temperature shock on early morphogenesis in the chick embryo. *J Anat* 1952, 86 (4): 443-458.

Dicarlo AL, Farrell JM, Litovitz TA. A simple experiment to study electromagnetic field effects: protection induced by short-term exposures to 60 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1998, 19: 498-500.

Didio LJA, Allen DJ, Litke LL, Yeasting RA. Light and electron microscopic study of the pineal gland in five day old chicks. *J Submicrosc Cytol (Bologna)* 1978, 10 (3): 265-279.

Diehl BJM. Time related changes in size of nuclei of pinealocytes in rats. *Cell Tissue Res* 1981, 218: 427-438.

Diehl BJM, Heidbüchel V, Welker HA, Vollrathl. Day-night changes of pineal gland volume and pinealocyte nuclear size assessed over 10 consecutive days. *J Neural Transm* 1984, 60: 19-29.

Dominguez Carmona M. Radiaciones electromagnéticas y salud. *An Re Acad Nac Med* 1992, 1: 27-94.

Doskocil M. Growth of the chick embryo pineal body (*epiphysis cerebri*) between the fourth and twelfth day of incubation. *Acta Univ Carol Med Praha* 1976, 22 (7/8): 487-496.

Dryer ST, Henderson D. A cyclic GMP-activated channel in dissociated cells of the chick pineal gland. *Nature* 1991, 353 (6346): 756-758.

Duriez R, Basset CAL. Effect of some electric signals transmitted by an induction coil on weight increase, incorporation of marker, and histological and ultrastructural appearance of the skeleton in a chick embryo. *C R Seances Acad Sci* 1980, 290: 1483-1486.

Eiselein JE, Boutell HM, Biggs MW. Biological effects of magnetic fields: negative results. *Aerosp Med* 1961, 32 (1): 383-386.

Eldarov AL, Kholodov YA. The effect of constant magnetic field upon the motive activity of birds. *Zh Obshch Biol* 1964, 25: 224-229.

Faluhelyi N, Reglodi D, Lengvári I, Csernus V. Development of the circadian melatonin rhythm and the effect of PACAP on melatonin release in the embryonic chicken pineal gland. An in vitro study. *Regul Pept* 2004; 123 (1-3): 23-28.

Fardon JC, Eymard ME, Basulto G. Effect of magnetic fields on the respiration of malignant, embryonic and adult tissue. *Nature* 1966, 211: 433.

Foster KR. Health effects of low-level electromagnetic fields: phantom or not-so-phantom risk?. *Health Phys* 1991, 62 (5): 429-435.

Gallera J. The effect of artificially induced changes in atmospheric environment on the development of chick embryos. *Aarau* 1949, 129: 161-162.

Garcia Paterson A, Puig Domingo M, Webb SM. Thirty years of human pineal research: Do we know its clinical relevance? *J Pineal Res* 1996, 20: 1-6.

Gaston S, Menaker M. Pineal function: the biological clock in the sparrow?. *Sci* 1968, 160 (832): 1125-1127.

Gerenscer VF, Barnothy MF, Barnothy JM. Inhibition of bacterial growth by magnetic fields. *Nature* 1962, 196: 539-543.

Gili J. Bases del diagnóstico por imágenes (1): Fundamentos biofísicos de la resonancia magnética nuclear. Tipos de tomógrafos RM. *Medicine* 1988a, 9: 3-10.

Gili J. Bases del diagnóstico por imágenes (1): Riesgos biológicos, recomendaciones e inconvenientes en las exploraciones por resonancia magnética. *Medicine* 1988b, 9: 23-26.

Gilman PA, Arnes RG, MC Cawley MA. Leukemia risk among US white male coal miners. A case-control study. *J Occup Med* 1985, 27: 669-671.

Gonzalez G, Garcia Hidalgo F. Ultraestructura de la glándula pineal de las aves. *Trab Inst Cajal* 1966, 58: 55-67.

Goto K, Miki N, Kondo H. An immunohistochemical study of pinealocytes of chicks and some other lower vertebrates by means of visidin (retinal cone-specific protein)-immunoreactivity. *Arch Histol Cytol* 52: 451-458.

Graham C, Cook MR, Riffle DW, Gerkovich MM, Cohen HD. Nocturnal melatonin levels in human volunteers exposed to intermittent 60 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1996, 17: 263-273.

Graham C, Cook MR, Sastre A, Riffle DW, Gerkovich MM. Multi-night exposure to 60Hz magnetic fields: effects on melatonin and its enzymatic metabolite. *J Pineal Res* 2000 28 (1): 1-8.

Greve P, Voisin P, Grechez Cassiau A, Bernard M, Collin JP, Guerlotte J. Circadian regulation of hydroxyindole-0-methyltransferase mRNA in the chicken pineal gland *in vivo* and *in vitro*. *Biochem J* 1996, 319: 761-766.

Grota LJ, Reiter RJ, Keng P, Michaelson S. Electric field exposure alters serum melatonin but non pineal melatonin synthesis in male rats. *Bioelectromagnetics* 1994 15: 427-437.

Haldar C, Araki M. Morphometric analysis of photoreceptive, neuronal and endocrinal cell differentiation of avian pineal cells: an *in vitro*

immunohistochemical study on the developmental transition from neuronal to photo-endocrinal property. *Zoolog Sci* 2002, 19: 781-787.

Halpren MH, Greene AE. Effects of magnetic field on growth of HeLa cells in tissue culture. *Nature* 1964, 202: 717.

Hall EJ, Bedford JS, Leask MJM. Some negative results in the search for a lethal effect of magnetic fields on biological materials. *Nature* 1964, 203: 1086-1087.

Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morphol* 1951, 88 (1): 49-92.

Hardell L, Holmberg B, Malmer H, Paulsson LE. Exposure to extremely low frequency electromagnetic fields and the risk of malignant diseases - an evaluation of epidemiological and experimental findings. *Eur J Cancer Prev* 1995, 4: 3-107.

Harrison JR, Klein I. Effect of lowered incubation temperature on the growth and differentiation of the chick embryo. *Biol Bull* 1954, 106 (1): 48-59.

Hendee WR, Boteler JC. The question of health effects from exposure to electromagnetic fields. *Health Phys* 1994, 66 (2): 127-136.

Herichova I, Zeman M, Mackova M, Griac P. Rhythms of the pineal N-acetyltransferase mRNA and melatonin concentrations during embryonic and post-embryonic development in chicken. *Neurosci Lett* 2001, 298 (2): 123-6.

Hill C. Two epiphyses in a four day chick. *Bull Northwest Univ Med Sch* 1900, 2: 513-517.

Isakson ST, Huffman BJ, Spiegel PB. Intensities of incandescent light and the development of chick embryos in vivo and in vitro. *Comp Biochem Physiol (a)* 1970, 35: 229-235.

Ito T, Matsuhima S. Electron microscopic observations on the mouse pineal with particular emphasis on its secretory nature. *Arch Histol Jpn* 1968, 30: 1-15.

Iwasaki T, Ohara H, Matsumoto S, Matsudaira H. Test of magnetic sensitivity in three different biological systems. *J Radiat Res* 1978, 19: 287-294.

John TM, Liu GY, Brown GM. 60 Hz magnetic field exposure and urinary 6-sulphatoxymelatonin levels in the rat. *Bioelectromagnetics* 1998, 19: 172-180.

Joshi MV, Khan MZ, Damle PS. Effect of magnetic field on chick

morphogenesis. *Differentiation* 1978, 10: 39-43.

Jové M. Desarrollo de la glándula pineal del embrión de pollo sometido a los efectos de campos electromagnéticos continuos. Desarrollo morfoestructural. [Tesis doctoral]. Tarragona: Universitat Rovira I Virgili; 1996.

Jové M, Cobos P, Torrente M, Gilabert R, Piera V. Embryonic development of pineal gland vesicles: a morphological and morphometrical study in chick embryos. *Eur J Morphol* 1999a, 37: 29-35.

Jové M, Torrente M, Gilabert R, Espinar A, Cobos P, Piera V. Effects of static electromagnetic fields on chick embryo pineal gland development. *Cells Tissues Organs* 1999b, 165: 74-80.

Juutilainen J. Effects of low frequency magnetic fields on chick embryos. Dependence on incubation temperature and storage of the eggs. *Z Naturforsch* 1986, 41c: 1111-1115.

Juutilainen J. Effects of low frequency magnetic fields on embryonic development and pregnancy. *Scand J Work Environ Health* 1991, 17: 149-158.

Juutilainen J, Harri M, Saali K, Lahtinen T. Effects of 100 Hz magnetic fields with various waveforms on the development of chick embryos. *Radiat Environ Biophys* 1986, 25: 65-74.

Juutilainen J, Laara E, Saali K. Relationship between field strength and abnormal development in chick embryos exposed to 50 Hz magnetic fields. *Int J Radiat Biol* 1987, 52 (5): 787-793.

Juutilainen J, Saali K. Development of chick embryos in 1 Hz to 100 kHz magnetic fields. *Radiat Environ Biophys* 1986, 25 (2): 135-140.

Kappers JA. The development topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. *Z Zellforsch* 1960, 52: 1163-1215.

Kappers JA. Short history of pineal discovery and research. *Prog Brain Res* 1979, 52: 3-22.

Karasek M, Lerchl A. Melatonin and magnetic fields. *Neuro Endocrinol Lett* 2002, 23 (suppl 1): 84-87.

Karasek M, Woldanska-Okonska M. Electromagnetic fields and human endocrine system. *ScientificWorld Journal* 2004, 4 (suppl2): 23-28.

Kato M, Honma K, Shigemitsu T, Shiga Y. Recovery of nocturnal melatonin concentration takes place within one week following cessation of 50 Hz circularly polarized magnetic field exposure for six weeks. *Bioelectromagnetics* 1994, 15: 489-492.

Koch WE, Koch BA. Exposure of chicken embryos to selected magnetic fields. *J Bioelectr* 1991, 10 (1-2): 65-80.

Kolin A, Brill NQ, Broberg PJ. Stimulation of irritable tissues by means of an alternating magnetic field. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959, 102: 251-253.

Korf HW. The pineal organ as a component of the biological clock. Phylogenetic and ontogenetic considerations. *Ann N Y Acad Sci* 1994, 719: 13-42.

Lain Entralgo P. *Historia de la Medicina*. Barcelona: Salvat editores, S.A.; 1990.

Laporte R, Fox LM, Mosherk K, Binkley S, McNulty JA. Day-night differences in the vesicle populations of nerve terminals in the rat and chick pineal gland. *Acta Anat* 1990, 137: 49-53.

Lauber JK, Schutze JV. Accelerated growth of embryo chicks under the influence of light. *Growth* 1964, 28 (3): 179-190.

Leal J, Trillo MA, Ubeda A, Abraira V, Shamsaifer K, Chacon L. Magnetic environment and embryonic development: a role of the earth's field. *IRCS Med Sci* 1986, 14: 1145-1146.

Lee JM, Stormshak F, Thompson JM, Hess DL, Foster DL. Melatonin and puberty in female lambs exposed to EMF: A replicate study. *Bioelectromagnetics* 1995, 16: 119-123.

Lengyel L. Further observations on the biological effect of the magnetic field. *Arch F Exper Zellf* 1934, 15: 246-249.

Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee Y, Mory W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958, 80: 2587.

Levallois P. Do power frequency magnetic fields cause leukemia in children? *Am J Prev Med* 1995, 11: 263-270.

Levengood WC. Morphogenesis as influenced by locally administered magnetic fields. *Biophys J* 1967, 7: 297-307.

Lewy H, Massot O, Touitou Y. Magnetic field (50 Hz) increases N-acetyltransferase, hydroxyl-indole-O-methyltransferase activity and melatonin release through an indirect pathway. *Int J Radiat Biol* 2003, 79 (6): 431-435.

Liburdy RP, Sloma TR, Sokolic R, Yaswne P. ELF magnetic fields, breast cancer, and melatonin: 60 Hz fields block melatonin's oncostatic action on ER breast cancer cell proliferation. *J Pineal Res* 1993, 14: 89-97.

Liebman P, Wölfler A, Felsner P, Hofer D, Schauenstein K. Melatonin and the Immune System. *Int Arch Allergy Immunol* 1997, 112: 203-211.

London SJ, Thomas DC, Bowman JD, Sobel E, Cheng TC, Peters M. Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *Am J Epidemiol* 1991, 134 (9): 923-937.

Loscher W, Mevissen M, Lerchl A. Exposure of female rats to a 100 microT 50 Hz magnetic field does not induce consistent changes in nocturnal levels of melatonin. *Radiat Res* 1998, 150: 557-567.

Loscher W, Wahnschaffe U, Mevissen M, Lerchl A, Stamm A. Effects of weak alternating magnetic fields on nocturnal melatonin production and mammary carcinogenesis in rats. *Oncology* 1994, 51: 288-295.

Lynch HJ. Diurnal oscillations in pineal melatonin content. *Life Sci* 1971, 10 (14): 791-795.

Maffeo S, Miller MW, Carstensen EL. Lack of effect of weak low frequency electromagnetic fields on chick embryogenesis. *J Anat* 1984, 139: 613-618.

Marsh G, Beams HW. *In vitro* control of growing chick nerve fibres by applied electric currents. *J Cell Comp Physiol* 1946, 39: 191-210.

Martin AH. Magnetic fields and time dependent effects on development. *Bioelectromagnetics* 1988, 9: 393-396.

Martínez Soriano F. Glándula pineal: Estructura y función (consideraciones fisiopatológicas). Valencia: Ed.Gregori S.A.; 1987.

Martínez Soriano F, Gimenez Gonzalez M, Armañazar E, Ruiz Torner A. Pineal "synaptic ribbons" and serum melatonin levels in the rat following the pulse action of 53 Gs (50 Hz) magnetic fields: an evolutive analysis over 21 days. *Acta Anat* 1992, 143: 189-293.

Matsushima S, Sakai Y, Hira Y, Kato M, Shigemitsu T, Shiga Y. Effect of magnetic field on pineal gland volume and pinealocyte size in the rat. *J Pineal Res* 1993, 14: 145-150.

McNulty JA, Fox LM, Lisco SJ. Pinealocyte dense-cored vesicles and synaptic ribbons: a correlative ultrastructural-biochemical investigation in rats and mice. *J Pineal Res* 1987, 4: 45-49.

McNulty JA, Fox LM, Mosher K, Binkley S. Synaptic ribbons and N-acetyltransferase activity in the avian pineal gland: quantitative changes over a 24 h photoperiod. *IRCS Medical Science* 1986, 14: 580-581.

Menendez RG. Three molecular mechanisms to explain some biological effects of electromagnetics fields and hipogravity. *Med Hypotheses* 1999, 52: 239-245.

Mevisen M, Haussler M, Szamel H, Emmendorffer A, Thum-Batterby S, Loscher W. Complex effects of long-term 50 Hz magnetic field exposure in vivo on immune functions in female Sprague-Dawley rats depend on duration of exposure. *Bioelectromagnetics* 1998, 19 (4): 259-270.

Mevissen M, Lerchl A, Loscher W. Study on pineal functions and DMBA-induced breast cancer formation in rats during exposure to a 100mG 50 Hz magnetic field. *J Toxicol Environ Health* 1996, 48: 169-185.

Milin J, Bajic M, Brakus V. Morphodynamic reactive response of the pineal gland of rats chronically exposed to stable strong magnetic field. *Neuroscience* 1988, 26 (3): 1083-1092.

Milin J, Bajic M, Lazetic B, Pavlov M. Morphodynamic response of the pineal gland to an initial magnetic field action. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 1984, VI: 5-18.

Möller W, Möller G. Structural and functional differentiation of the embryonic chick pineal organ in vivo and in vitro. A scanning electron microscopic and radioimmunoassay study. *Cell Tissue Res* 1990, 260: 337-348.

Mookerjee S. Effects of temperature-fasting on the estructural organization of chick embryos. *Wilhelm Roux Arch Entwicklungsmench Org* 1953, 146 (4): 543-573.

Moore R. Neural control of the pineal gland. *Behav Brain Res* 1996, 73: 125-130.

Moses GC, Martin AH. Effect of magnetic fields on membrane associated enzymes in chicken embryos, permanent or transient?. *Biochem Mol Biol Int* 1993, 29 (4): 757-762.

Moses GC, Martin AH. Effects of extremely low frequency electromagnetic field on soluble fractions of membrane associated enzymes in early chicken embryos. *Biochem Int* 1993, 28 (4): 659-664.

Mulay IL, Mulay LM. Effect on *Drosophila melanogaster* and S-37 tumor cells: postulates for magnetic fiels interactions. In: *Biological effects of magnetic fields*. Plenum Press MF Barnothy Editor New York 1964: 146-169.

Musy JP. Evolution of mortality and malformations of artificially incubated chick embryos. *Experientia* 1969, 25: 394-395.

Nowak JZ, Zawiska JB, Woldan-Tambor A, Sek B, Viosin P, Lintunen M, Panula P. Histamine in the chick pineal gland. Origin, metabolism and effects on the pineal function. *J Pineal Res* 1997, 22: 26-32.

Olah I, Glick B. Lymphopineal tissue in the chicken. *Dev Comp Immunol* 1984, 8 (4): 855-862.

Olcese J, Reuss S, Semm P. Geomagnetic field detection in rodents. *Life Sci* 1988, 42: 605-613.

Olcese J, Reuss S, Stehle J, Steinlechner S, Vollrath L. The mammalian pineal and retinae as geomagnetic field detectors. *Fundamentals and Clinics in Pineal Research*. Trentini GP, De Gaetani c, Pevet P (Hrg), Raven Press, New York. 1987; 79-82.

Olcese JM. The neurobiology of magnetic field detection in rodents. *Prog Neurobiol* 1990, 35: 325-330.

Olcese JM, Reuss S. Magnetic field effects on pineal gland melatonin synthesis: comparative studies on albino and pigmented rodents. *Brain Res* 1986, 369: 365-368.

Olcese JM, Reuss S, Vollrath L. Evidence for the involvement of the visual system in mediating magnetic field effects on pineal melatonin synthesis in the rat. *Brain Res* 1985, 333: 382-384.

Omura Y. Ultrastructural study of embryonic and post-hatching development in the organ of the chicken (Brown Leghorn, "Gallus domesticus"). *Cell Tissue Res* 1977, 183: 255-271.

Oshima K, Matsuo S. Functional morphology of the pineal gland in young chickens. *Anat Anz Jena* 1984, 156 (5): 407-418.

Oshima K, Matsuo S. Cyto differentiation of the chick pineal gland, with special reference to the photosensory and secretory elements. *J Pineal Res* 1988, 5: 397-410.

Parkinson WC. Comments on the use of electromagnetic fields in biological studies. *Calcif Tissue Int* 1985, 37: 198-207.

Pevet P. On the presence of different populations of pinealocytes in the mammalian pineal gland. *J Neural Transm* 1977, 40: 289-304.

Pevet P, Collin JP. Les pinealocytes de mammifères: diversité, homologies, origine. Etude chez la taupe adulte ("Talpa europaea"). *J Ultrastruct Res* 1976, 57: 22-31.

Picazo ML, Catala MD, Romo MA, Bardasano JL. Inhibition of melatonin in the plasma of third-generation male mice under the action of ELF magnetic fields. *Electro Magnetobiol* 1998, 17: 75-85.

Piera V, Espinar A, Jové M, Torrente M, Cobos P, Perez J. Efecto de los campos electromagnéticos continuos sobre el desarrollo del tejido óseo del embrión de pollo. *Rehabilitación* 1997, 31: 297-303.

Piera V, Jové M, Torrente M, Cobos P. Static electromagnetic field effects on pineal vesicles: A morphological and morphometric study in chick embryos. *Eur J Anat* 2000, 4: 35-43.

Piera V, Rodriguez A, Cobos A, Torrente M, Cobos P. Influence of continuous electromagnetic fields on the stage, weight and stature of the chick embryo. *Acta Anat* 1992, 145: 302-306.

Pierpaoli W, Lesnikov V. Theoretical considerations on the nature of the pineal "ageing clock" *Gerontology* 1997, 43: 20-25.

Quay WB. Histological structure and cytology of the pineal organ in birds and mammals. *Prog Brain Res* 1965, 10: 49-86.

Quay WB. Rhythmic and light induced changes in levels of pineal 5-hydroxyindoles in the pigeon (*Columba Livia*) *Gen Comp Endocrinol* 1966a, 6: 371-377.

Quay WB. Studies on the "commissuro-pineal neurosecretory cells" of birds. *Riv Biol* 1966b, XVI (4): 393-407.

Quay WB, Renzoni A. Comparative and experimental studies of pineal structure and cytology in passeriform birds. *Riv Biol* 1963, XVI (4): 393-407.

Quay WB, Renzoni A. Osservazioni sulle "cellule neurosecernenti commissuro-epifisarie" degli uccelli. *Riv Biol* 1966, LIX (3): 231-251.

Ralph CL. Structure and alleged functions of avian pineals. *Am Zool* 1970, 10: 217-235.

Ralph CL, Binkley S, McBride SE, Klein DC. Regulation of pineal rhythms in chickens: effects of blinding, constant light, constant dark and superior cervical ganglionectomy. *Endocrinology* 1975, 97: 1373-1378.

Ramirez E, Monteagudo JL, Garcia Gracia M, Delgado JMR. Oviposition and development of *Drosophila* modified by magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1983, 4: 315-326.

Redondo E, Franco AJ, Regodon S. Prenatal development of the sheep pineal gland: An ultrastructural study. *J Pineal Res* 1996, 21: 40-148.

Reiter RJ. The mammalian pineal gland: structure and function. *Am J Anat* 1981, 162: 287-313.

Reiter RJ. The pineal gland: and intermediary between the environment and the endocrine system. *Psychoneuroendocrinology* 1983, 8 (1): 31-40.

Reiter RJ. Action spectra, dose-response relationships and temporal aspects of light's effects on the pineal gland. *Ann N Y Acad Sci* 1985, 453:

215-230.

Reiter RJ. Pineal function in the human: implications for reproductive physiology. *J Obstet Gynaecol* 1986, 6 (Suppl 2): 77-81.

Reiter RJ. Pineal gland. Interface between the photoperiodo environment and the endocrine system. *Trends Endocrinol Metabol* 1991a, 2: 13-29.

Reiter RJ. Melatonin: the chemical expression of darkness. *Mol Cell Endocrinol* 1991b, 19: 153-158.

Reiter RJ. Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev* 1991c, 12 (2): 151-180.

Reiter RJ. Melatonin: That ubiquitously acting pineal hormone. *Int Union Physiol Sci/ Am Physiol Soc* 1991d, 6: 223-227.

Reiter RJ. Alterations of the circadian melatonin rhythm by the electromagnetic spectrum: A study in environmental toxicology. *Regul Toxicol Pharmacol* 1992a, 15: 226-244.

Reiter RJ. The ageing pineal gland and its physiological consequences. *Bioessays* 1992b, 14 (3): 169-175.

Reiter RJ. Electromagnetic fields and melatonin production. *Biomed Pharmacother* 1993a, 47: 439-444.

Reiter RJ. Static and extremely low frequency electromagnetic field exposure: reported effects on the circadian production of melatonin. *J Cell Biochem* 1993b, 51: 394-403.

Reiter RJ. Impact of the electromagnetic environment on the neurohormone melatonin. *Proceedings of the 13th International Congress of Biometeorology 12-18 September 1993, Calgary, Alberta, Canada. Biometeorology* 1994a, 1 (2): 135-153.

Reiter RJ. Melatonin suppression by static and extremely low frequency electromagnetic fields: Relationship to the reported increased incidence of cancer. *Rev Environ Health* 1994b, 10 (3-4): 171-186.

Reiter RJ. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Exp Gerontol* 1995, 30 (3-4): 199-212.

Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Prog Neurobiol* 1998, 56: 359-384.

Reno VR, Beischer DE. Cardiac excitability in high magnetic fields. *Aerosp Med* 1966, 37: 1229-1238.

Reuss S. Effects of an earth-strength magnetic field on pineal melatonin

- synthesis in pigeons. *Naturwissenschaften* 1987a, 74: 38-39.
- Reuss S. Electrical activity of the mammalian pineal gland. *Pineal Res Rev* 1987b, 5: 153-189.
- Reuss S, Olcese J. Magnetic field effects on the rat pineal gland: role of retinal activation by light. *Neurosci Lett* 1986, 64: 97-101.
- Reuss ST, Semm P, Vollrath L. Different types of magnetically sensitive cells in the rat pineal gland. *Neurosci Lett* 1983, 40: 23-26.
- Rivas L, Rius C, Tello I, Oroza MA. Effects of chronic exposure to weak electromagnetic fields in mice. *IRCS Medical Science* 1985, 13 661-662.
- Rondoni R. Influence of the temperature of incubation on the growth of the primitive organs of the chick embryo. *Monit Zool Ital* 1948, 56 (Suppl): 333-337.
- Root N. Variations in the relative growth of chick organs in the course of incubation at different constant temperatures. *Dokl Akad Nauk SSSR* 1957, 112 (3): 556-559.
- Rosen LA, Barber I, Lyle DB. A 0.5 G, 60 Hz magnetic field suppresses melatonin production in pinealocytes. *Bioelectromagnetics* 1998, 19 (2): 123-7.
- Saha S, Pal A, Albright JA. Growth of chick embryo modulated by pulsed electromagnetic fields. *Orthop Trans* 1983, 7: 352.
- Sakai I, Hira Y, Matsushima S. Regional differences in the pineal gland of the cotton rat, *Sigmondon Hispidus*: light microscopic, electron microscopic and immunohistochemical observations. *J Pineal Res* 1996, 20: 125-137.
- Sato T, Wake K. Innervation of the avian pineal organ. A comparative study. *Cell Tissue Res* 1983, 233: 237-264.
- Savitz DA, Calle EE. Leukemia and occupational exposure to electromagnetic fields: Review of Epidemiologic surveys. *J Occup Med* 1987, 29 (1): 47-71.
- Savitz DA, Pearce NE, Poole CH. Methodological issues in the epidemiology of electromagnetic fields and cancer. *Epidemiol Rev* 1989, 11: 59-78.
- Schneider T, Thalau HP, Semm P. Effects of light or different earth-strength magnetic fields on the nocturnal melatonin concentration in a migratory bird. *Neurosci Lett* 1994, 168: 73-75.
- Sedar JD. The influence of direct current fields upon the development

pattern of the chick embryo. *J Exp Zool* 1956, 133 (1): 47-71.

Selmaoui B, Lambrozo J, Touitou Y. Magnetic fields and pineal function in humans: evolution of nocturnal acute exposure to extremely low frequency magnetic fields on serum melatonin and urinary 6-sulfatoxymelatonin circadian rhythms. *Life Sci* 1996, 58 (18): 539-49.

Selmaoui B, Touitou Y. Sinusoidal 50 Hz magnetic fields depress rat pineal NAT activity and serum melatonin. Role of duration and intensity of exposure. *Life Sci* 1995, 47 (14): 1351-1358.

Semm P, Demaine C. Electrical responses to direct and indirect photic stimulation of the pineal gland in the pigeon. *J Neural Transm* 1983, 58: 281-289.

Semm P, Schenider T, Vollrath L. Effects of an earth strength magnetic field on electrical activity of pineal cells. *Nature* 1980, 288 (11): 607-608.

Shaw GM, Croen LA. Human adverse reproductive outcomes and electromagnetic field exposures: Review of epidemiologic studies. *Environ Health Perspect* 1993, 101 (Suppl4): 107-119.

Sienkiewicz Z. Rapporteur report: other tissues. *Radiat Prot Dosimetry* 2003, 106 (4): 391-396.

Sienkiewicz Z, Robbins L, Haylock RGE, Saunders RD. Effects of prenatal exposure to 50 Hz magnetic fields on development in mice: II. Postnatal development and behavior. *Bioelectromagnetics* 1994, 15: 363-375.

Sikov MR, Montgomery LD, Smith LG, Phillips RD. Studies on prenatal and postnatal development in rats exposed to 60 Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 1984, 15: 101-112.

Sikov MR, Rommereim DN, Beamer RL, Buschbom RL, Kaune MT, Phillips RD. Development studies of hanford miniature swine exposed to 60 Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 1987, 8: 229-242.

Simkó M, Mattsson MO. Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: possible immune cell activation. 2004, *J Cell Biochem* 93 (1): 83-92.

Sisken BF, Fowler I, Mayaud C, Ryaby JP, Ryaby J, Pilla AA. Pulsed electromagnetic fields and normal chick development. *J Bioelectr* 1986, 5 (1): 25-34.

Sobel E, Davannipour Z, Sulkava R, Erkinjuntii T, Wikstrom J, Henderson VW, Buckwalter G, Bowman JD, Lee PJ. Occupations with exposure to electromagnetic fields: a possible risk factor for Alzheimer's disease. *Am J Epidemiol* 1995, 142: 515-524.

Spiroff BEN. Embryonic post-hatching development of the pineal body of the domestic fowl. *Am J Anat* 1958, 97: 375-401.

Ssawastin PW. Magnetic growth reactions in plants. *Planta* 1930, 12: 327.

Stark KD, Krebs T, Altpeter E, Manz B, Griot C, Abelin T. Absence of chronic effect of exposure to short-wave radio broadcast signal on salivary concentrations in dairy cattle. *J Pineal Res* 1997, 22: 171-176.

Stehle J, Reuss T, Schroder H, Henschel M, Vollrath L. Magnetic field effects on pineal N-acetyltransferase activity and melatonin content in the gerbil-role of pigmentation and sex. *Physiol Behav* 1988, 44: 91-94.

Stevens RG, Davis S. The melatonin hypothesis: electric power and breast cancer. *Environ Health Perspect* 1996, 104: 135-140.

Stevens RG, Davis S, Thomas DB, Anderson LE, Wilson BW. Electric power, pineal function, and the risk of breast cancer. *FASEB J* 1992, 6: 53-860.

Studnicka FK. Die parietalorgane. En A Opperl (Ed.) *Lerhbuch der vergleichenden Mikroskopischen Anatomie* vol.V Springer-Jena; 1905.

Svedenstal BM, Johanson KJ. Fetal loss in mice exposed to magnetic fields during early pregnancy. *Bioelectromagnetics* 1995, 16: 284-289.

Toman R, Jedlicka J, Broucek J. The influence of a temporary magnetic field on chicken hatching. *J Environ Sci Health Part A Tox Hazard Subst Environ Eng* 2002, 37: 969-974.

Toroptsev IV, Taranov SV. [Morphological characteristics and various theories on the mechanism of biological effect of magnetic fields]. *Arkh Patol*, 1982, 44 (12): 3-11.

Touitou Y, Bogdan A, Auzéby A, Selmaoui B. Melatonin and aging. *Thérapie* 1998, 53 (5): 473-478.

Tripp HM, Warman GR, Arendt J. Circularly polarised MF (500 micro T 50 Hz) does not acutely suppress melatonin secretion from cultured Wistar rat pineal glands. 2003, *Bioelectromagnetics* 24 (2): 118-124.

Ubeda A, Leal J, Trillo MA, Jimenez MA, Delgado JMR. Pulse shape of magnetic fields influences chick embryogenesis. *J Anat* 1983, 137 (3): 513-536.

Ubeda A, Trillo MA, Chacon L, Blanco MJ, Leal J. Chick embryo can be irreversibly altered by early exposure to weak extremely-low-frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1994, 15: 385-398.

Ubeda A, Trillo MA, Leal J. Magnetic field effects on embryonic

development: influence of the organism orientation. *Med Sci Res* 1987, 15 (10): 531-532.

Veneziano PP. The effect of low intensity magnetostatic fields on the growth and orientation of the early embryo of "*Gallus domesticus*". *Zoology* 1965, 25: 4319.

Vollrath L. Comparative morphology of the vertebrate pineal complex. *Prog Brain Res* 1979, 52: 25-38.

Vollrath L, Spessert R, Krtzsch T, Keiner M, Hollmann H. No short-term effects of high-frequency electromagnetic fields on the mammalian pineal gland. *Bioelectromagnetics* 1997, 18 (5): 376-87.

Wainwright SD. Course of the increase in hydroxyindole-O-methyltransferase activity in the pineal gland of the chick embryo and young chick. *J Neurochem* 1974, 22: 193-194.

Walleczek J. Electromagnetic field effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. *FASEB J* 1992, 6: 3177-3185.

Ward VC. The development of the pineal gland in *Gallus domesticus*. [M.A. Thesis]. University of California; 1946.

Warman GR, Tripp HM, Warman VL, Arendt J. Circadian neuroendocrine physiology and electromagnetic field studies: precautions and complexities. *Radiat Prot Dosimetry* 2003, 106 (4): 369-373.

Webb SM, Puig Domingo M. Role of melatonin in health and disease. *Clin Endocrinol* 1995, 42: 221-234.

Welker HA, Semm P, Willig RP, Comentz JC, Witschko W, Vollrath L. Effects of an artificial magnetic field on serotonin N-acetyltransferase activity and melatonin content of the rat pineal gland. *Exp Brain Res* 1983, 50: 426-432.

Welsh MG. Current methodologies for the study of pineal morphophysiology. 1994, *J Pineal Res* 16: 113-120.

Wertheimer N, Leeper E. Electrical configurations and childhood cancer. *Am J Epidemiol* 1979, 109: 273-284.

Wertheimer N, Leeper E. Adult cancer related to electrical wires near the home. *Int J Epidemiol* 1982, 11: 345-355.

Wight PAL. Development of sympathetic innervation of the pineal of the domestic fowl. *Acta Morphol Neerl Scand* 1971, 9: 47-56.

Wilson BW, Anderson LE, Hilton DI, Phillips RD. Chronic exposure to 60 Hz electric fields: effects on pineal function in the rat. *Bioelectromagnetics*

1981, 2: 371-380.

Wilson BW, Anderson LE, Hilton DI, Phillips RD. Chronic exposure to 60 Hz electric fields: effects on pineal function in the rat. *Erratum*. *Bioelectromagnetics* 1981, 4: 293.

Wilson BW, Chess EK, Anderson LE. 60 Hz electric field effects on pineal melatonin rhythms: time course of onset and recovery. *Bioelectromagnetics* 1986, 7: 239-242.

Wilson BW, Stevens RG, Anderson LE. Neuroendocrine mediated effects of electromagnetic field exposure: possible role of the pineal gland. *Life Sci* 1989, 45: 1319-1332.

Wilson BW, Wright CW, Morris JE, Buschbom RL, Brow DP, Miller DL, Sommers-Flannigan R, Anderson LE. Evidence for an effect of ELF electromagnetic fields on human pineal gland function. *J Pineal Res* 1990, 9: 259-269.

Wolff E. Les bases de la tératogénèse expérimentale des vertébrés amniotes, d'après les résultats de méthodes directes. Strasbourg: Les Éditions de la librairie Union; 1936.

Wright WE, Peters JM, Mack TM. Leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *Lancet* 1982, 2: 1160-1161.

Wurtman RJ, Axelrod J. The pineal gland. *Sci Am* 1965, 213: 50-60.

Yaga K, Reiter RJ, Manchester LC, Nieves H, Sun JH, Chen LD. Pineal sensitivity to pulsed static magnetic fields changes during the photoperiod. *Brain Res Bull* 1993, 30: 153-156.

Yellon SM. Acute 60 Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. *J Pineal Res* 1994, 16: 136-144.

Zatz M, Gastel JA, Heath JR, Klein DC. Chick pineal melatonin synthesis: light and cyclic AMP control abundance of serotonin N-acetyltransferase protein. *J Neurochem* 2000, 74: 2315-21.

Zecca L, Mantegazza C, Margonato V, Cenetelli P, Carriatti M, Piva F, Dondi D, Hagino N. Biological effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats: III 50 Hz electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1998, 19,(1):,57-66.

Zeman M, Gwinner E, Somogyiova E. Development of melatonin rhythm in the pineal gland and eyes of chick embryo. *Experientia* 1992, 48: 765-768.

Zhang Q, Tabrah FL, Whittow GC. Effect of 60 Hz sinusoidal electromagnetic field on avian embryonic growth and oxygen consumption.

Electro and Magnetobiology 1993, 12 (1): 27-37.

Zhu K, Weiss NS, Stanford JL, Daling JR, Stergachis A, McKnight B, Brower HK, Levine RS. Prostate cancer in relation to the use of electric blanket or heated water bed. Epidemiology 1999, 514: 895-903.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN HISTÓRICA | 1 |
| 1.1 Estudio y descripción de la glándula pineal | 2 |
| 1.2 Relación de los campos electromagnéticos con la glándula pineal | 25 |
| 2. OBJETIVOS | 57 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | 59 |
| MATERIAL | 60 |
| 3.1 Características técnicas de los aparatos | 61 |
| 3.1.1 Solenoide | 61 |
| 3.1.2 Soporte fijador de los huevos | 64 |
| 3.1.3 Fuente de alimentación (estabilizada) | 67 |
| 3.1.4 Estufas incubadoras | 68 |
| 3.1.5 Jaulas de Faraday | 70 |
| 3.1.6 Fluxómetro | 71 |
| 3.2 Sistema de trabajo y control | 72 |
| 3.2.1 Control teórico-práctico del campo electromagnético | 74 |
| 3.2.1.A Cálculo teórico | 74 |
| 3.2.1 B Cálculo práctico | 76 |
| 3.2.2 Control de las condiciones de incubación | 79 |
| 3.2.2 A Temperatura | 79 |
| 3.2.2 B Humedad | 82 |
| 3.3 Material biológico | 83 |
| 3.4 Equipo de morfometría | 83 |
| MÉTODOS | 85 |
| 3.5 Series experimentales | 85 |
| 3.5.1 Identificación de los embriones | 87 |
| 3.5.2 Exteriorización de los embriones | 87 |
| 3.6 Determinación de estadio, peso y talla | 89 |
| 3.7 Procesado para microscopía óptica | 90 |
| 3.8 Criterios de selección de los cortes | 91 |
| 3.9 Parámetros establecidos | 92 |
| 3.9.1 Distancias | 94 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 3.9.2 | Diámetros | 96 |
| 3.9.3 | Áreas | 97 |
| 3.9.4 | Densidad vesicular | 101 |
| 3.10 | Análisis estadístico | 102 |
| 4. | OBSERVACIONES. | 103 |
| 4.1 | Peso, talla y estadio | 105 |
| 4.2 | Distancias y diámetros de la glándula pineal | 109 |
| 4.3 | Áreas y densidad vesicular | 122 |
| 5. | RESULTADOS | 129 |
| 5.1 | Efecto del campo electromagnético continuo en el desarrollo pondo- estatural del embrión de pollo | 130 |
| 5.1.1 | Peso | 130 |
| 5.1.2 | Talla | 132 |
| 5.1.3 | Estadio de desarrollo Hamburger-Hamilton (HH) | 133 |
| 5.2 | Efecto del campo electromagnético continuo en las dimensiones de la glándula pineal | 134 |
| 5.2.1 | Distancias | 134 |
| 5.2.2 | Diámetros y segmentos | 150 |
| 5.3 | Efecto del campo electromagnético continuo sobre la superficie de la glándula pineal y la densidad vesicular | 168 |
| 6. | DISCUSIÓN | 184 |
| 6.1 | Efecto de los campos electromagnéticos continuos en el desarrollo pondo- estatural del embrión de pollo | 185 |
| 6.2 | Efecto del campo electromagnético continuo en las dimensiones de la glándula pineal: distancias y diámetros | 188 |
| 6.3 | Efectos de los campos electromagnéticos continuos sobre los agregados celulares de la glándula pineal | 198 |
| 7. | CONCLUSIONES | 205 |
| 8. | BIBLIOGRAFÍA | 211 |

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AA: Área anterior

AP: Área posterior

APL: Área apical

CEMc: Campos electromagnéticos continuos

DAP: distancia anteroposterior de la glándula pineal

DAPL: distancia anteroposterior de la luz de la glándula pineal

DCC: distancia craneocaudal de la glándula pineal

DCCL: distancia craneocaudal de la luz de la glándula pineal

SA: segmento apical del diámetro sagital

SL: segmento de luz del diámetro sagital

SP: segmento posterior del diámetro sagital

VI: segmento inferior del diámetro vertical

VL: segmento de luz del diámetro vertical

VS: segmento superior del diámetro vertical

∅ sagital: diámetro sagital

∅ vertical: diámetro vertical

1.- INTRODUCCIÓN HISTÓRICA

1.1. ESTUDIO Y DESCRIPCIÓN DE LA GLÁNDULA PINEAL

La historia de las investigaciones en torno a la glándula pineal o “epiphysis cerebri” ha evolucionado, durante más de veinte siglos, de forma pareja a las principales ideas de la ciencia médica que, a menudo, se han visto sometidas a la influencia de concepciones filosóficas o religiosas.

Ya en las primeras civilizaciones orientales se consideraba la existencia de un “tercer ojo”, que posibilitaría un conocimiento superior. El egiptólogo alemán Karl Richard Lepsius, continuador de la labor del arqueólogo francés Champollion, destaca en su Libro Oculto de la Morada (1842) que el ojo místico evocado por los egipcios, también llamado “ojo de Horus” o “udjat”, concedía al iniciado clarividencia, la visión directa de lo invisible, el vasto dominio donde quedan impresos los sucesos del pasado y donde se elaboraba el porvenir universal. Los egipcios representaban a este “tercer ojo” como el extremo de un tentáculo saliendo de la cabeza, capaz de explorar las relaciones del hombre, símbolo del microcosmos, con el universo, símbolo del macrocosmos.

Entre los tibetanos el llamado “Hdab-ston” es el centro de convergencia de la energía inconsciente y el punto de proyección hacia la consciencia cósmica, equivalente en la filosofía hindú al sistema formado por los chacras del Kundalini-Yoga. El sexto chacra está situado simbólicamente entre las dos cejas, como muestra la amplia iconografía de Buda y Shiva, y es centro de concentración y meditación. Existe en la India, dentro de la disciplina del yoga, la escuela de Radosoami de Beas, que imparte el yoni-mudra para despertar, sin opresión ocular, el chacra pineal, técnica que se remonta a los orígenes de la cultura hindú.

En lo que refiere a la cultura occidental, Kappers (1979), considera que la historia de la investigación de la pineal puede dividirse en tres períodos: el primero comprende, desde tres siglos antes de nuestra Era hasta

mediados del siglo XIX, una época caracterizada por la fuerte influencia de los sistemas filosóficos y de la tradición, así como por la falta de experiencia personal y de métodos de investigación.

El segundo período abarcaría hasta la mitad del siglo XX, marcado por un gran interés por la glándula pineal, junto con el gran desarrollo de la Anatomía y el descubrimiento de los órganos endocrinos.

El tercer período que llega hasta nuestros días se destaca por los avances en el conocimiento de los aspectos bioquímicos y farmacológicos de la glándula pineal.

En los primeros postulados sobre la actividad cerebral, Anaximandro (560 a.C.) estableció el cerebro como receptáculo del alma. Aristóteles (384-322 a.C.) establece la existencia en los ventrículos laterales del cerebro de la “phantasia”, en el III ventrículo la “anamnesis” y en la parte caudal del IV ventrículo la “mneme”.

Es el famoso anatomista de la universidad de Alejandría, Herófilo (325-280 a.C.), el primer autor que menciona la pineal. Fue discípulo de Praxágoras, y continuó la obra de éste en los campos de la fisiología y la anatomía, sobretodo del sistema nervioso. Según dicho autor, fiel seguidor de la teoría humoral, la pineal permite regular la cantidad de “Pneuma” que pasa del III al IV ventrículo. Erasístratos (310-250 a.C.) defendía que en los ventrículos el pneuma zoticon (spiritus vitalis de los romanos), procedente del corazón, se trasformaba en pneuma psychion (spiritus animalis) que era el substrato del conocimiento.

Pasan cerca de cinco siglos hasta que Galeno de Pergamon (130-200 d.C.), figura suprema de la medicina antigua junto con Hipócrates, ofrece nuevos estudios de la pineal basados en la anatomía de los animales. Llama a la epíffisis “konarion”, ya que en algunos mamíferos tiene forma de piña. Este término se latinizará a “conarium” y persistirá en nuestros

días en referencia a los nervios conarios (*nervi conari*). Galeno niega la función que Herófilo atribuye a la pineal, ya que la describe fuera del sistema ventricular cerebral y al observar la importante relación topográfica vascular sostiene que la epíffisis se trata de una glándula linfática.

Durante la Edad Media, la Escolástica mantiene la teoría humoral aristotélica.

Desde el siglo XV en adelante, se habla de una "nueva era", ya que el Renacimiento supone una nueva perspectiva sobre muchos aspectos de la vida, renovación que afecta también a la Medicina, la Anatomía y la Fisiología.

Berengario da Carpi (1470-1530) es el primero en examinar la pineal del hombre cuidadosamente y compararla con la de otras especies.

Andreas Vesalius (1514-1564), discípulo de Sylvius, en su famoso De Humani Corporis Fabrica, Libri Septem, impreso en Basilea en 1543 e ilustrado por la escuela de Tiziano, muestra el órgano de una forma mucho más moderna. Describe la topografía y consistencia de la glándula pineal, pero no afirma sobre su posible función.

René Descartes (1596-1650) es conocido por considerar la epíffisis como el asiento del alma ya que es la única parte del encéfalo impar. La localización del alma es motivo frecuente de discusión en esta época entre filósofos y científicos. En su libro De Homine considera que la epíffisis, al estar situada en el centro geométrico del encéfalo, sería el instrumento destinado a coordinar las imágenes obtenidas por los órganos sensoriales pares y capaz de regular la distribución del *spiritus animalis* que, según Descartes, constituía el principio psíquico y somático activador. Este *spiritus animalis* llegaría a los músculos a través de los nervios, que considera huecos. Es el primero en apuntar el papel de

receptor e integrador de los estímulos de la pineal, se adelanta al concepto de transductor neuroendocrino. La teoría cartesiana se basa en el conocimiento profundo de la geometría y la mecánica y en concepciones psicoanatómicas de más de dos mil años.

Estas ideas son refutadas por Niel Steensen (1638-1686) en su Discours sur l'Anatomie du Cerveau, donde describe a la glándula pineal en una posición dorsal y fijada por las meninges.

El inicio de la segunda era en la investigación de la pineal se caracteriza por un renovado y sistemático interés en Anatomía comparada, Histología y Embriología. Después del descubrimiento de los órganos endocrinos por Claude Bernard (1813-1878) y Brown-Séquard (1817-1894) se consideró a la pineal como sería candidata a la producción hormonal. Heubner en 1898 describe a un chico con signos de pubertad precoz y que presenta un pinealoma. Bardasano (1978); Kappers (1979) y Martínez Soriano (1987).

A principios de siglo se realizan una serie de comunicaciones anatómicas por parte de Hill (1900), Cameron (1903) y Studnicka (1905), citadas por Spiroff (1958), González y García Hidalgo (1966), Campbell y Gibson (1970), Boya y Zamorano (1975), Didio y cols. (1978) y Kappers (1979), que proporcionan importante información sobre la Anatomía básica de la glándula pineal del embrión de pollo. Se destaca su similitud con el “tercer ojo” u órgano epifisario fotosensorial de los vertebrados inferiores. La epífisis de anfibios y reptiles es un órgano fotosensor y homólogo a la glándula pineal de los mamíferos. La regresión filogenética es evidente según estos autores, el órgano es un vestigio en los mamíferos.

Marburg en 1907 gesta el término de “pubertas praecox” o “genitosomia praecox” para el síndrome caracterizado por el desarrollo precoz de los caracteres sexuales primarios y secundarios, asociado a un tumor de la región pineal que aparece preferentemente en varones. Describe a la

pineal como una glándula endocrina que en los jóvenes puede ejercer influencia inhibitoria de la función hipotalámica y del desarrollo de los órganos reproductores. El hiperpinealismo causaría un excesivo enlentecimiento y desarrollo incompleto de las gónadas con adiposis general como consecuencia secundaria (Kappers, 1979).

En 1919 Tilney y Warren realizan un estudio comparativo de la Anatomía e Histología de los órganos pineales en vertebrados. Describen la pineal del embrión de pollo como un cono un poco aplanado o estructura cilíndrica folículo-glandular, aproximadamente de 2,5 x 1,5 mm, de diámetro. Está conectada por un tallo, muchas veces sólido, al techo del diencefalo entre la comisura habenular y la comisura posterior, opuesto al "recessus pinealis". Histológicamente la glándula está compuesta por células cilíndricas grandes en disposición radial y células pequeñas entre los cordones de células grandes (Spiroff, 1958 y Boya y Zamorano, 1975).

En 1942, Romieu y Jullien describen la estructura de la glándula pineal del *Gallus domesticus* durante el período de posteclosión, describen las vesículas y discuten su significado.(Quay 1966^b; González y García Hidalgo, 1966; Campbell y Gibson, 1970; Calvo y Boya, 1978 y Didio y cols., 1978).

En un importante y valioso trabajo, Bargmann (1943), describe la Anatomía e Histología de la pineal de todos los vertebrados, haciendo especial hincapié en la relación que existe entre su estructura microscópica en mamíferos y las condiciones internas y externas. Sin conocer factores externos que afecten a la estructura pineal, destaca la necesidad de investigar la influencia de la luz. Es también, el primero en realizar un extenso trabajo endocrinológico sobre la pineal de los vertebrados. En su opinión, el órgano podría regular la función hipotalámica, pero esta regulación no tiene que ser necesariamente hormonal, podría ser de naturaleza nerviosa, sugiere que el camino

neuronal podría existir entre la pineal y el hipotálamo. Bargmann en un estudio anatómico comparativo, justifica que filogenéticamente, el órgano cambia de ser fotoreceptor a secretor, las células fotosensoriales pierden sus organelas receptoras y se desarrollan hacia pinealocitos mamíferos. En los no mamíferos, las células fotosensoriales también podrían tener productos secretores en el interior del fluido cerebroespinal. En estadios filogenéticos posteriores, los productos secretores de un órgano más compacto y vascularizado alcanzarían el sistema sanguíneo. Aparentemente, Bargmann considera ambas funciones neural y hormonal en la glándula pineal de los mamíferos (Citado por Kappers, 1979).

En 1946, Ward realiza la tesis doctoral en la Universidad de California con el título de The development of the pineal body in the chick, donde describe la evaginación en el techo del diencéfalo a las 48 horas de incubación y su morfología durante el desarrollo. Encuentra una gran variabilidad individual en el desarrollo del cuerpo pineal del pollo.

Aún en nuestros días se utiliza como punto de referencia, el calendario cronológico de las distintas etapas evolutivas del embrión de pollo que realizan en 1951 Hamburger y Hamilton.

Vemos que en la primera mitad del siglo XX se conoce la evolución filogenética de la pineal y se supone la influencia antigonadotrópica así como la relación entre el hipotálamo y la pituitaria sin que lleguen a ser probadas.

En la segunda mitad del siglo XX empieza un nuevo período en la investigación de la pineal que llega al presente y establece las bases para su estudio en el futuro. El número de trabajos aumenta de forma exponencial favorecido por el mayor conocimiento y las relaciones multidisciplinarias entre los investigadores.

En 1958 Aaron B. Lerner y sus colaboradores de la *Yale University School of Medicine*, identifica la melatonina (5-metoxi-N-acetil-triptamina), en extractos de glándula pineal de bóvidos. La raíz etimológica proviene del griego *melas*: oscuro y *tonein*: supresión. Describe que su precursor es la serotonina, catalizada por la enzima hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT), que blanquea la piel de la rana (Wurtman y Axelrod, 1965).

Boris Spiroff, en el mismo 1958, describe el desarrollo embrionario y post-eclosión de la pineal del pollo. La sitúa entre los hemisferios cerebrales y el cerebelo, con un cuerpo cónico con vértice ventral. Aparece como una evaginación del techo del diencéfalo a las 48 horas. A las 78 horas el ápex se dirige anteriormente. La formación de vesículas primarias en el extremo distal, se produce a las 90 horas, no se observa continuidad entre la luz de las vesículas y el receso pineal. Las vesículas están separadas por tejido conectivo laxo, como el número de dichas vesículas va aumentando, éstas contactan unas con otras y la glándula tiene una apariencia compacta al 16^º día de incubación. Debido al aumento de los hemisferios cerebrales y del cerebelo, se produce un cambio en la dirección del eje longitudinal de la pineal, anteroposterior el día 13 y dorso-ventral el 18. También se observa un cambio en la forma que pasa de oval a piramidal. Spiroff describe que la conexión con el III ventrículo puede cerrarse a los 13 días, pero puede hacerlo a los 3 meses posteclosión.

Kappers en 1960 demuestra que aunque la pineal se origina en el cerebro, poco después del nacimiento pierde todas las conexiones nerviosas con él y que en la pineal de rata adulta penetran nervios simpáticos procedentes del ganglio cervical superior (Wurtman y Axelrod, 1965). Ésta conexión simpática también la describe Stamer en 1961 en la pineal de las aves (Calvo y Boya, 1979).

En 1963 se celebra en Amsterdam el primer simposio sobre la glándula pineal, donde se establece claramente que la pineal no es un solo órgano, sino al menos dos. Dentro de los vertebrados, la pineal podría ser una estructura fotorreceptora o una estructura secretora completamente diferente; desde las pineales fotorreceptoras a las secretoras habría habido una extraordinaria evolución, y aunque aún no se sabe si es que la célula fotorreceptora evolucionó específicamente hasta la secretora, o es que hay dos tipos de células a lo largo de la filogenia, lo que sí es seguro es que los órganos pineales no pueden ser clasificados automáticamente como glándulas. En segundo lugar, gracias a los estudios de Kappers, se llega a la conclusión de que, pese a que la pineal de los mamíferos se origina embriológicamente como parte del cerebro y está conectada a él mediante un tallo o pedúnculo, en los mamíferos adultos en realidad no forma parte del encéfalo, sino que recibe su única aferencia neuronal del sistema nervioso autónomo periférico.

Un momento muy importante en la historia de la investigación sobre la pineal, es el del descubrimiento de su relación con la periodicidad luz/oscuridad, el ritmo circadiano, la función pineal y la capacidad de reproducción, en estudios realizados por Wurtman y Axelrod, Quay , Reiter y otros, en la década de los sesenta. La prolongación de los períodos diarios con luz o con iluminación continua causan un aumento del peso de los ovarios de la rata, al igual que una disminución del contenido de serotonina y el peso de la pineal. Este efecto ocurre sólo si los nervios ópticos se encuentran intactos. La prolongación de la fase de oscuridad conlleva los efectos contrarios. De estos experimentos se puede concluir que, en general, largos períodos de oscuridad o ceguera estimulan la función de la glándula pineal, mientras se inhibe la función de los órganos sexuales. Por otro lado, en los largos períodos de iluminación ambiental la función pineal aparece inhibida y los órganos sexuales son estimulados.

También en ésta época se descubre la relación entre fotoperiodicidad y el contenido pineal de indolaminas de las enzimas implicados en la biosíntesis de melatonina. Quay y Renzoni en 1963, fueron los primeros en demostrar un ritmo circadiano de la serotonina de la pineal de rata, que es modificado por el ciclo estrogénico y por el fotoperíodo. Este ritmo persiste cuando las ratas están en oscuridad o ceguera permanente, pero la iluminación constante inhibe el ritmo circadiano de serotonina que también es suprimido por la ganglionectomía superior bilateral, la desaferenciación de los ganglios y la depleción de la serotonina y noradrenalina cerebrales. El ciclo de la melatonina se produce de forma inversa al de la serotonina.

En 1965, Quay, hace una detallada revisión de los conocimientos de la pineal en mamíferos y aves, incluyendo observaciones originales sobre su estructura. Algunas especies de aves presentan conjuntos de células endodimales o sus derivados, con un sistema de luces centrales. Describe el carácter secretor de algunas de sus células mesenquimales, las de situación más cercana a los vasos sanguíneos.

Siguiendo en el mismo año, Wurtman y Axelrod, publican una revisión sobre la estructura y función de la pineal. Postulan que la melatonina es una hormona de mamíferos, que se produce únicamente en la pineal, se secreta al torrente sanguíneo y tiene su efecto en órganos diana distantes como la vagina y los ovarios, sin poder identificar el lugar preciso de acción de ésta. Relacionan la fisiología de la pineal con la luminosidad.

Quay en 1966^a, establece que el metabolismo de las indolaminas de la pineal de aves y mamíferos, varía con los períodos de luz-oscuridad. La información luminosa es recibida por la retina y transmitida a la epífisis, la cual sintetiza una hormona, la melatonina, que aumenta durante la noche. La función de la epífisis en los mamíferos de reproducción estacional, consiste en sincronizar su actividad sexual con el fotoperíodo. El

fotoperíodo influye sobre el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal y controla la atrofia de las gónadas durante el invierno por un incremento de melatonina. En la estación reproductiva, la epíffisis sintetiza quizás también otros factores que con la melatonina, son inhibidores de las gónadas por bloqueo de las hormonas gonadotropas. Los fotorreceptores están en la retina. Su información se lleva desde los ojos a lo largo de una vía nerviosa que comprende las fibras retino-hipotalámicas, los núcleos supraquiasmáticos, las fibras hipotálamoespinales y de aquí, a través del sistema nervioso simpático y pasando por el ganglio simpático cervical, llega a la pineal. La interrupción de esa vía, corta la conexión entre el fotoperíodo y la función pineal.

Beattie y Glenny (1966), describen aspectos histoquímicos y de la vascularización de la glándula pineal en el primer año de vida en pollo. La vascularización corre a cargo de la arteria meníngea posterior. La red pineal está formada por finos vasos primarios que al penetrar en la glándula por sus porciones anterior y posterior, ascienden, formando la "rete pinealis" y otros vasos secundarios el "cor secretorium", que tienden a subdividir al parénquima en lóbulos.

González y García Hidalgo (1966), estudian la ultraestructura de la glándula pineal de pollos de dos meses de edad. Evidencian algunas similitudes con la pineal de los mamíferos. Describen tres tipos de células epifisarias: 1) Células de tipo A, de localización perivascular y distribución regular en toda la epíffisis, tienen un núcleo oscuro irregular con un nucleolo poco organizado y de límites difusos, citoplasma denso con rico retículo endoplásmico granular y agranular, de intensa actividad metabólica. 2) Células tipo B, con un núcleo irregular más claro que el de las A, nucleolo prominente y citoplasma con escaso retículo endoplásmico indicativo de una menor actividad metabólica. 3) Células tipo C, o células claras, menos frecuentes, con poca actividad metabólica, poseen un núcleo ovalado, uno o dos nucleolos y de citoplasma escaso. Además

apuntan la riqueza de inervación vegetativa adrenérgica, estructuras pseudolisosómicas polimórficas de carácter secretor, restos degenerados de segmentos externos de células fotorreceptoras y numerosas formaciones capilares.

Quay y Renzoni (1966), en un estudio con roedores, establecen el tamaño del núcleo y nucleolos del pinealocito. Describen un pico de actividad mitótica al mediodía y un punto de baja actividad en la noche. Los mismos autores en 1967 en un estudio de pineales de 54 especies de aves, describen su estructura y relaciones, en un plano sagital medio hay continuidad entre el parénquima pineal y las células endodimales del receso y el III ventrículo.

En 1968, Gaston y Menaker, descubren que la glándula pineal es necesaria para el normal funcionamiento del patrón circadiano de la actividad locomotora en el gorrión doméstico, sugieren que la pineal es un posible marcapasos circadiano, resultado verificado en otras especies de aves. (Binkley, 1982).

Bischoff en 1969 describe, mediante microscopía electrónica de transmisión, los tipos celulares de la glándula pineal de codorniz y de pollo "White Leghorn" adulto, que corresponden a células endodimales ciliadas, células secretoras y células fotorreceptoras.

Campbell y Gibson (1970), realizan un importante estudio histológico e histoquímico del desarrollo de la glándula pineal en el *Gallus domesticus*, desde el tercer día de incubación hasta la eclosión y a distintas edades posteclosión. Incluyen una detallada descripción celular de cada una de las etapas. Calculan el porcentaje de área glandular que ocupan las vesículas desde el séptimo día de incubación hasta 1 mes posteclosión. Del día 7 al 11 de incubación, decrece éste porcentaje, no por disminución del número y talla de las vesículas, sino por que el tejido conectivo estromal se desarrolla mucho, e incrementa el área total de la

glándula separando las vesículas. De los días 11 al 18 de incubación, hay un rápido incremento del área vesicular.

Ralph (1970), publica una revisión sobre las descripciones morfológicas y funcionales atribuidas hasta el momento a la pineal de las aves. Su morfología es variada en las distintas especies. Durante el desarrollo, la pineal de las aves maduras muestra curiosas aceleraciones de crecimiento y sufre considerables modificaciones citológicas. Algunos de estos cambios coinciden con el comienzo de la función sexual, pero otros no están relacionados con ella. Un trazo común es su forma folicular, su aspecto glandular en el joven y su transformación a más compacta y su aspecto de cuerpo inactivo en el adulto.

En 1971, se celebra el Simposio CIBA con una amplia representación de estudios de endocrinología pineal. Se demuestra que la melatonina produce un aumento de la serotonina cerebral en ciertas regiones y que la pinealectomía causa una disminución. Se comunica que la melatonina produce un aumento de sensibilidad del encéfalo frente a los barbitúricos, y la pinealectomía puede disminuir su letalidad. La pinealectomía puede causar la ovulación en animales con lesiones supraquiasmáticas. La melatonina puede bloquear la ovulación en animales normales.

Siguiendo en 1971, Wight estudia el desarrollo de la inervación simpática de la pineal de las aves domésticas; a los veinte días de incubación sólo se encuentran unos pocos nervios en la cápsula. Es después de la eclosión cuando las fibras colinérgicas y adrenérgicas, invaden progresivamente la glándula.

Lynch, 1971, observa en aves de corral y codorniz el mismo ritmo circadiano de serotonina y melatonina que encontraba Quay en ratas (1963, 1964). Este ritmo está muy relacionado con la actividad de NAT (serotonina N-acetil transferasa), enzima implicada en la síntesis de melatonina, se demuestra que sigue un ciclo desfasado 180° respecto al

de la serotonina. Éste ritmo se puede invertir alterando la luz ambiental, denervando el ganglio cervical superior así como con iluminación continua, pero no por oscuridad continua o ceguera (citado por Kappers, 1979).

La regulación enzimática pineal de la síntesis de melatonina se confirma en 1973 por Binkley y cols., en *Gallus domesticus*, White Leghorn, de ocho semanas. Observan niveles nocturnos de melatonina diez veces superiores a los diurnos y que la actividad de la N-acetil transferasa es 27 veces superior.

Ralph y cols. (1975), observan en *Gallus domesticus*, White Leghorn, el ritmo de síntesis de melatonina y comprueban, al igual que Klein, que provocando ceguera no se altera dicho ritmo.

Boya y Zamorano (1975), describen la ultraestructura de la glándula pineal del pollo *Gallus gallus* delimitando dos zonas distintas: la folicular, formada por células pineales A y B y la parafolicular, rodeando los folículos, formada por los dos tipos celulares y fibras nerviosas.

En 1976, Doskocil, calcula áreas en cortes seriados de glándula pineal de pollo y afirma que el crecimiento no es regular.

Pevet y Collin (1976), observan la pineal de mamíferos en estadios precoces y en adultos, describen que los pinealocitos provienen de células fotorreceptoras secretoras rudimentarias. Debido a este origen neuroectodérmico y secretor, el pinealocito no es una neurona y en este sentido, es distinto a la célula neurosecretora hipotalámica.

El mismo autor al año siguiente, realiza una revisión de las células presentes en la pineal de los mamíferos. Describe dos poblaciones diferentes de pinealocitos con un proceso secretor específico para cada una de ellas.

Omura en 1977, estudiando el desarrollo embrionario del pollo “Brown Leghorn”, muestra que hay actividad secretora desde los estadios embriológicos hasta el adulto.

Los prolíficos científicos Calvo y Boya (1978), realizan un estudio del desarrollo embrionario de la glándula pineal del embrión de pollo. Según dichos autores, el momento de aparición del esbozo pineal, en el techo del tercer ventrículo es al tercer día. La mayor parte del parénquima pineal deriva de la pared frontal del esbozo. Las vesículas y folículos se forman por proyecciones mamiliformes sólidas, que a los 4 días presentarán una luz central. A los 5 días existen proyecciones mamiliformes con una disposición en rosetas, sin luz central. A los 6 días se inicia la formación de luz en las prolongaciones mamilares y se convierten en vesículas, en la porción frontal del esbozo. A estas vesículas se las denomina primarias según Spiroff (1958), también se describen las secundarias y terciarias. No se observa comunicación entre las cavidades vesiculares y el receso pineal. Hasta los 11-12 días, cuando se produce el mayor índice de crecimiento, observan una capa folicular, compuestas de células columnares con núcleo ovoideo, orientadas radialmente alrededor de la luz y una capa parafolicular, formada por pequeñas células de núcleo esférico, situadas entre la capa folicular y la membrana basal. La vascularización aparece a los 5 días de incubación. Entre los días 19 y 21 la glándula posee forma triangular con los vértices inferiores situados entre los hemisferios y el cerebelo. El vértice se sitúa dorsalmente en la región ocupada por los plexos coroideos.

Los mismos autores, el mismo año, en un nuevo artículo estudian la evolución de la pineal después del nacimiento. Describen la desaparición progresiva de la luz folicular. El parénquima se organiza en nidos celulares separados por gruesas zonas ricas en fibras colágenas. En el primer mes aparece el tejido linfoide. Si bien en las primeras fases

embrionarias la pineal del pollo se asemeja a la de las aves inferiores, la del pollo adulto, lo hace a la de los mamíferos.

Didio y cols. (1978), estudian la pineal de pollos "White Leghorn" de 5 días, describen pinealocitos y células neurogliales.

Binkley (1979), nos dice que la actividad de N-acetil transferasa es alta durante la noche (en distintas especies) y que ello puede dar información distinta a cada especie. Considera que la pineal junto al hipotálamo, la glándula pituitaria y la glándula adrenal son las reguladoras del reloj biológico de los vertebrados.

Brammer y Binkley comprueban en 1979 que la glándula pineal de *Gallus domesticus* posee un ritmo circadiano de síntesis de melatonina, debido a la actividad de la N-acetil transferasa.

Los trabajos realizados en 1979^{a,b,c} por Calvo y Boya, desarrollan un estudio de la pineal del pollo por microscopía electrónica. Denominan pinealoblastos a las células indiferenciadas del esbozo primitivo pineal. Confirman las capas folicular y parafolicular con los pinealocitos A y B. También identifican lisosomas en los pinealocitos B. Realizan una descripción de la evolución de la innervación, las primeras fibras nerviosas se observan a los 17 días de desarrollo. A los 19 ya se hallan en la capa parafolicular. En los estudios en glándulas de pollo adulto no observan ningún proceso degenerativo.

Vollrath (1979), describe a la pineal como un órgano complejo y plantea la subdivisión en región medular y cortical.

Se publica en 1979 el importante estudio histórico y de revisión de la pineal, llevado a cabo por el holandés J. Ariëns Kappers. Divide los campos de investigación en citología, innervación, bioquímica, histoquímica y endocrinología. Sugiere que el pinealocito de los mamíferos deriva

filogenéticamente de la célula fotorreceptora de los no mamíferos. La inervación varía a medida que se avanza en la escala filogenética. En especies inferiores es pinealofugal a expensas de células fotorreceptoras y en los mamíferos es de tipo pinealopetal (eferente), de naturaleza simpática y más compleja. Describe la producción bioquímica de melatonina y otras indolaminas en todas las especies. Recuerda la relación ya descrita entre la glándula pineal y el sistema reproductor.

Un nuevo estudio ultraestructural de Boya y Calvo en 1980, de la evolución post-eclosión de la glándula, les permite reafirmarse en sus descripciones anteriores.

Binkley (1981), revisa la bioquímica de la pineal con un estudio comparativo de los ritmos circadianos y la secreción de melatonina, serotonina y enzimas relacionadas con los ciclos de luz-oscuridad. También compara la función pineal en vertebrados menores, aves y mamíferos.

Diehl (1981), demuestra en rata Sprague-Dawley, que existen dos patrones distintos en el tamaño de los pinealocitos de la médula y la corteza pudiendo indicar distintas funciones.

Reiter (1981), revisando la estructura y función de la glándula pineal en los mamíferos, observa que se sitúa entre la percepción del fotoperíodo y el eje neuroendocrino, siendo esta información utilizada de forma distinta según la especie: control del ciclo reproductivo, de la temperatura corporal, del metabolismo lipídico o el ritmo de actividad.

En 1982, Binkley y Brammer describen que la pineal de aves es la reguladora de su ciclo fisiológico y de su comportamiento relacionado con el fotoperíodo.

Altar (1982), revisa bibliográficamente la progresiva inervación noradrenérgica de la pineal de mamíferos y su influencia en el desarrollo de la misma como transmisor neuroendocrino del ritmo circadiano.

Binkley (1983), describe la pineal de mamíferos como reloj biológico relacionado con la luz ambiental.

Sato y Wake (1983), describen la presencia de células ganglionares nerviosas en las vesículas y en el tallo de la pineal de aves gallináceas.

Reiter (1983), observa que en los mamíferos aparecen alteraciones de la secreción de hormonas tiroideas y suprarrenales después de la pinealectomía.

Diehl y cols. (1984), basándose en la presencia de los cambios volumétricos de la pineal de rata confirman la formación rítmica de melatonina.

En 1984, Olah y Glick describen linfocitos, células plasmáticas, basófilos y eosinófilos en la pineal de pollo de tres y cuatro semanas.

Oshima y Matsuo (1984), en una descripción morfológico-funcional de la pineal del pollo, observan cambios en la talla y forma de los núcleos según el ciclo luz-oscuridad. Existen pinealocitos semejantes a células sensoriales con forma de pera, cilios, muchas mitocondrias y lisosomas grandes. Otros, parecidos a células secretoras, presentan microvillis y vesículas granulares.

Reiter, en 1985 relaciona los efectos temporales de la luz, su dosis-respuesta y la acción del espectro con la glándula pineal. El patrón de producción nocturna de melatonina varía en las distintas especies. El más común es aquel en el que los niveles de indoles empiezan a elevarse después del inicio de la fase de oscuridad, alcanzando un pico cerca de la mitad de la fase oscura y empiezan a descender gradualmente hasta

acercarse a los niveles bajos de melatonina durante el día. Los ojos para poder ejercer su papel de magnetorreceptor, requieren la presencia de una tenue luz roja durante la noche, que por sí misma, no inhibe la producción de melatonina pineal. El mismo autor, en 1986, revisa la función pineal en humanos, respecto la fisiología de la reproducción. La principal hormona pineal, la melatonina, tiene un papel inhibitorio en la función sexual, puede influir en el desarrollo puberal y el ciclo menstrual. La melatonina circulante se eleva en condiciones de estrés excesivo o de ejercicio, alterando el ciclo menstrual.

McNulty y cols., en sendos trabajos en 1986 y 1987 apuntan que las barras sinápticas de la pineal de *Gallus domesticus* y ratas se relacionan con los cambios cíclicos del fotoperíodo.

En 1988, Oshima y Matsuo, estudian la morfología celular de la pineal de pollo por edades. La diferenciación de los pinealocitos se produce a los 10 días, conteniendo mitocondrias sin ribosomas hasta el día 20. A los 13-14 días aparecen botones sinápticos y se invaginan los núcleos. La diferenciación de las células de sostén ocurre a partir del día 12, presentando un núcleo más periférico que el de los pinealocitos. Consideran células parafoliculares a aquellas que no conectan con la luz. Describen también la presencia de células pigmentadas en la pared posterior de la glándula, donde también aparecen las células nerviosas a partir del día 17.

En 1990, aparecen diversos estudios que describen cambios en la morfología ultraestructural de la pineal relacionados con el ciclo día-noche. Möller y Möller, describen diferencias en el desarrollo de la glándula mediante microscopía electrónica de barrido y radioinmunoensayo. Laporte y cols., observan mayor número de vesículas claras pequeñas durante la noche en pineal de ratas y pollos,

relacionándolas con el control adrenérgico de la glándula. Robertson, detecta diferencias en el número de barras sinápticas.

En 1991 Dryer y Henderson reproducen la inhibición de la secreción de melatonina por la presencia de luz en cultivos celulares.

Durante 1991 el neuroendocrinólogo R. J. Reiter realiza una serie de trabajos (1991^{a,b,c,d}), todos ellos relacionados con el ritmo circadiano de secreción de melatonina tras los que llega a la conclusión de que “La noche pertenece a la melatonina”. De todos ellos se resume que: En todos los mamíferos el pico de secreción de melatonina se produce por la noche. La melatonina secretada se distribuye rápidamente por el sistema vascular, siendo los niveles en sangre iguales a los secretados. Aparecen receptores específicos de melatonina en las neuronas del sistema nervioso central y en la glándula hipofisaria. La melatonina constituye un “regulador de reguladores” al controlar la secreción de hormonas hipofisarias y gonadotropas. La influencia de la melatonina llega a la fisiología intestinal e inmunológica.

Aige y Murillo (1991), realizan sustituciones prosencefálicas, cultivos in vitro de diencefalos aislados y escisiones totales y parciales del techo del diencefalo de embriones de pollo, con lo que consiguen concluir que la glándula pineal de pollo se diferencia en cultivos de diencefalo aislados, la diferenciación y desarrollo de la pineal en el techo del III ventrículo es independiente de la vecindad de las vesículas cerebrales y tiene su origen en el diencefalo, al eliminar totalmente el diencefalo a los dos días de incubación se produce agenesia pineal. En 1992, someten la pineal de embriones de pollo a una luz blanca durante la incubación, al obtener gran número de efectos teratológicos y mortalidad, concluyen que dicha glándula es sensible a la luz.

En el año 1992^{a,b}, Reiter prosigue sus estudios sobre la fisiología de la melatonina, observa que su secreción disminuye con la edad y que si sus

niveles se mantienen se aumenta la supervivencia de los animales estudiados. La melatonina posee efectos beneficiosos directa e indirectamente en el retardo del envejecimiento.

Zeman y cols. (1992), detectan un ritmo circadiano de secreción de melatonina en embriones de pollo de 18 días.

En 1993^{a,b} Reiter nos habla de la idea de que los campos electromagnéticos pueden alterar el ciclo circadiano de secreción de melatonina en la pineal, al igual que hace la luz. Desarrollaremos este concepto en el próximo apartado.

Con la fisiología de la glándula pineal descrita, en 1994 Korf, realiza una serie de consideraciones filogenéticas y ontogénicas de la secreción de melatonina. En los vertebrados inferiores la síntesis es regulada por los fotorreceptores intrapineales, por otra parte en los mamíferos depende de los fotorreceptores de la retina y de sus complejas conexiones neuronales con la pineal. En las aves ésta organización se encuentra a un nivel intermedio entre vertebrados superiores e inferiores. Destaca también que la noradrenalina como neurotransmisor tiene efectos contrarios en aves y mamíferos.

Webb y Puig Domingo en 1995 realizan una amplia revisión sobre la relación de la melatonina con distintas enfermedades, refiriendo su papel como hormona oncostática y contraceptivo oral. Destacan los efectos de los campos magnéticos sobre su secreción.

Reiter realiza en 1995 una revisión de los trabajos publicados sobre la relación de la glándula pineal y la melatonina con el envejecimiento, destacando el papel protector de la melatonina como protector de las macromoléculas, especialmente el DNA, contra los radicales libres, observándose estas acciones en el sistema nervioso central, principalmente.

Ya en el año 1996, Sakai, Hira y Matsushima estudian la pineal de ratones a microscopía óptica y electrónica, determinando que para comprender la significación de cada porción de pineal es importante conocer las diferencias morfológicas de cada una. Las dividen en distal, intermedia y proximal. Demuestran que el tamaño y la distribución de la inervación simpática siguen diferencias regionales.

Redondo, Franco y Regodón (1996), estudian ultraestructuralmente la pineal de oveja distinguiendo tres tipos de células, y observan que en el embrión la pineal ya tiene cierta función secretora.

El mismo año, Moore estudia la regulación del ritmo circadiano de la pineal de mamíferos, concluyendo que se realiza por: 1. Proyecciones visuales a través del tracto retinohipotalámico al núcleo supraquiasmático (marcapasos circadiano). 2. SNC que genera ritmo circadiano en el núcleo paraventricular. 3. Proyecciones del núcleo paraventricular a la columna celular intermediolateral torácica. 4. Fibras simpáticas preganglionares del ganglio cervical superior y 5. Fibras simpáticas postganglionares del ganglio cervical superior.

Siguiendo en la misma línea de investigación, Grève y cols., controlando la concentración de HIOMT-mRNA concluye que la regulación de la producción de melatonina en la pineal de pollo se lleva a cabo por un sistema oscilador circadiano localizado en el hipotálamo basal, vía simpática por el efecto de la luz en la retina y por un sistema en la propia pineal, con fotorreceptores propios, demostrados en estudios in vitro.

Aleandri, Spina y Moroni (1996), consideran que la pineal tiene un control neuroendocrino de la fisiología reproductiva, demostrado en los ciclos fértiles de los animales, y aunque no se ha demostrado en los humanos, podría regular la ciclicidad menstrual.

En 1996 se realizaron diversos estudios sobre las acciones de la melatonina. García-Patterson, Puig-Domingo y Webb realizan el estudio en humanos que les permite aventurar los efectos de su administración exógena como contraceptivo, oncostático o como medicación psiquiátrica.

En 1997, Pierpaoli y Lesnikov, consideran la senectud caracterizada por la pérdida de las funciones pineales, al alterarse el control neuroendocrino del sistema inmune.

También Liebman y cols., realiza en 1997 una revisión crítica de la relación de la melatonina con sus acciones neuroendocrinas e inmunomoduladoras.

El investigador español Calvo y cols. (1997) describe un disminución significativa de células pineales de ratas durante la fase oscura y un volumen máximo de la pineal en la fase lumínica. Lo relaciona con una acción antimitótica de la melatonina.

En 1999^a, Jové y cols., describen que la densidad de vesículas en la pineal disminuye de los 10 a los 15 días de incubación, sin cambios en el número total de vesículas y lo relacionan con la actividad de la glándula pineal durante el desarrollo embrionario.

Al llegar a 2000, Zatz y cols., estudian la secreción y síntesis de melatonina en cultivos de pinealocitos de pollo y observan que la luz rápidamente regula su síntesis.

En el 2001 Herichova y cols., continúan el estudio de la arilalquilamina N-acetiltransferasa (penúltima enzima en la síntesis de melatonina) en el embrión de pollo; concluyen, que la expresión de dicha enzima se inicia tempranamente y de forma rítmica durante el desarrollo del embrión a la vez que adquiere un papel primordial en la propia secreción rítmica de melatonina.

Haldar y Araki, en 2002, sugieren que la glándula pineal de las aves contiene diferentes tipos de células con diferente inmunoreactividad en el estado ontogénico, de los días 9 al 14 del desarrollo embrionario.

Faluhelyi y cols., 2004, realizan en un estudio *in vitro* de la glándula pineal del embrión de pollo y confirman que la epífisis es el principal regulador del ritmo circadiano de las aves. La secreción rítmica de melatonina, se inicia a los 16-18 días de vida embrionaria.

1.2. RELACIÓN DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS CON LA GLÁNDULA PINEAL

Los imanes (magnetos) recibieron su nombre de la antigua ciudad griega de Magnesia, cerca de la cual se descubrieron las primeras “piedras-imán”. La piedra-imán (magnetita) es un óxido de hierro que tiene propiedades magnéticas naturales. Según la tradición, Tales de Mileto, hacia el 550 a.C., fue el primer filósofo que lo describió.

En la edad de oro helenística, contemporáneo de Pericles, Sócrates, Protágoras, Heródoto, Sófocles y Eurípides; Hipócrates (460-377.C.) definido como “padre de la medicina” utiliza la magnetita en la obstetricia, el dolor cólico abdominal y la flatulencia. Se encuentra descrito en el Corpus Hipocraticum, recopilación de sus escritos.

Cayo Plinio II (23-79 d.C.) en su obra Naturalis Historia y Dioscórides en su Hylíká, recomiendan el uso de la magnetita con finalidad terapéutica para todo tipo de malestar, como afecciones oculares, golpes, molestias urinarias, pérdidas vaginales, hemoptisis, úlceras digestivas, etc.

Medio siglo después de Cristo en la India, Susruta, autor del Susruta Samhita que es uno de los mejores libros sobre cirugía, propone la utilización del “magnet” para la extracción de cuerpos extraños metálicos. Su escuela perdurará más de 400 años.

Alrededor del año 550 d. C. Ezio de Amida, erudito bizantino, indica que la piedra magnética tiene una acción parecida a la de la “ematita” que atenúa los dolores de podagra, quidagra y que curaba los dolores espásticos.

Siguiendo los estudios del anterior, Ali-Abbas de Persia (932-994), define en su libro Liber Regius que la magnetita sirve como remedio en todo tipo de dolencia.

Psellos de Bizancio en 1105, distingue entre una piedra magnética que atrae al hierro y otra que lo repele.

Ali ibn Sina o Avicena (981-1038), médico que llegará a ser gran visir del califa, duda de la acción magnética, interpreta el magnetismo como una verdadera fuerza específica y la utiliza para las afecciones hepáticas.

No se sabe quién fue el primero en colocar una aguja magnetizada sobre un pivote y encerrarla en una caja, para obtener la brújula. Se supone que fueron los chinos, quienes lo transmitieron a los árabes, los cuales, a su vez, lo introdujeron en Europa. Esto es muy dudoso, y puede ser sólo una leyenda. Sea como fuere, en el siglo XII la brújula es introducida en Europa y descrita con detalle, en 1269, por un estudiante francés más conocido por su nombre latinizado de Petrus Peregrinus, el cual llama “polo Norte” al extremo de la aguja imantada que apuntaba al Norte, y “polo Sur” al extremo opuesto.

Difícilmente se puede encontrar en el comienzo de la nueva era otro médico que haya trabajado y se haya interesado más por las propiedades de la magnetita que Paracelso (1493-1541). Según él, la magnetita ejerce una fuerza atractiva sobre las enfermedades marciales del cuerpo. El magneto hace que entren las hernias, que se curen los huesos fracturados (tanto del joven como del viejo) y que ayudado de otros medicamentos, se curen también la ictericia y la hidropesía.

El estudio científico de los imanes se inicia con William Gilbert (1564-1603), médico de la Corte de Isabel I de Inglaterra. Es éste quien descubre que la Tierra es, en realidad un gigantesco imán. Gilbert monta una aguja magnetizada de modo que pueda pivotar libremente en dirección vertical (una brújula de inclinación), y su polo Norte señala hacia el suelo (inclinación magnética). Usando un imán esférico como un modelo de la Tierra, descubre que la aguja se comportaba del mismo modo cuando se coloca sobre el “hemisferio Norte” de su esfera. En 1600,

Gilbert publica estos descubrimientos en su clásica obra De Magnete. En los tres siglos que han transcurrido desde los trabajos de Gilbert, nadie ha conseguido explicar el magnetismo de la Tierra de forma satisfactoria para todos los especialistas.

En el siglo XVII se fundan la *Royal Society of London* en 1660 y la *Académie de Sciences de Paris* en 1666, academias pioneras en la divulgación científica.

En 1775, Bolton publica un trabajo sobre la aplicación de la magnetita en pacientes epilépticos.

En el siglo XIX, con el gran desarrollo general de las ciencias, se establecen los principios de la electricidad, el magnetismo y la relación entre ellos. En 1800 el italiano Alessandro Volta inventa la pila eléctrica. Cavendish y Coulomb formulan las leyes matemáticas de la fuerza electrostática.

En la década de 1820, Faraday comienza un experimento que había descrito por vez primera Petrus Peregrinus – y que aún hoy sigue atrayendo a los jóvenes estudiantes de Física-. Consiste en esparcir finas limaduras de hierro sobre una hoja de papel situada encima de un imán y golpear suavemente el papel. Las limaduras tienden a alinearse alrededor de unos arcos que van del polo norte al polo sur del imán. Según Faraday, estas líneas magnéticas de fuerza forman un campo magnético. Faraday, se siente atraído por el tema del magnetismo al conocer las observaciones hechas, en 1820, por el físico danés Hans Christian Oersted – según las cuales una corriente eléctrica que atravesase un cable desvía la aguja de una brújula situada en su proximidad -, llega a la conclusión de que la corriente debe de formar líneas magnéticas de fuerza en torno al cable.

Más seguro está de ello al comprobar que el físico francés André Marie Ampère ha proseguido los estudios sobre los cables conductores de electricidad inmediatamente después del descubrimiento de Oersted. Ampère demuestra que dos cables paralelos, por los que circula la corriente en la misma dirección, se atraen. En cambio, se repelen cuando las corrientes circulan en direcciones opuestas. Ello es muy similar a la forma en que se repelen dos polos norte magnéticos (o dos polos sur magnéticos), mientras que un polo norte magnético atrae un polo sur magnético. Más aún, Ampère demuestra que una bobina cilíndrica de cable atravesada por una corriente eléctrica, se comporta como una barra imantada. En 1881, y en honor a él, la unidad de intensidad de una corriente eléctrica se denominará ampère o amperio.

En 1831, Faraday enrolla una bobina de cable en torno a un segmento de anillo de hierro, y una segunda bobina, alrededor de otro segmento del anillo. A continuación conecta la primera a una batería, con la idea de crear una corriente inducida que produzca, a su vez, una corriente eléctrica en la segunda bobina. Para detectarla, conecta la segunda bobina a un galvanómetro, instrumento para medir corrientes eléctricas, que había diseñado, el físico alemán JSC Schweigger, en 1820. El experimento no se desarrolla como había imaginado, pero descubre que cuando una corriente empieza a atravesar la primera bobina, se inicia un campo magnético que, a medida que se extiende, cruza la segunda bobina, en la cual produce una corriente eléctrica momentánea. De éste modo, Faraday descubre el principio de la inducción eléctrica y crea el primer “transformador”.

Los descubrimientos de Faraday conducen directamente no sólo a la creación de la dínamo para generar electricidad, sino que dan la base a la teoría electromagnética de James Clerk Maxwell (1831-1879), la cual agrupa la luz y otras formas de radiación – tales como la radioeléctrica- en una sola familia de radiaciones electromagnéticas. Maxwell demuestra

también que un campo eléctrico genera un campo magnético (inverso a la teoría de Faraday). Sus hipótesis, resumidas en un simple conjunto de cuatro ecuaciones, se publican en su obra A treatise on electricity and magnetism.

Las teorías de Maxwell se ven probadas en 1888 cuando Rudolf Hertz (1857-1894) genera las ondas electromagnéticas. Una aceleración de una carga eléctrica emite un campo eléctrico variable que se asocia a un campo magnético también variable y ambos perpendiculares entre sí, en la misma dirección de propagación, formando una onda, conocida como onda electromagnética. Éstas ondas son la base de la radiocomunicación.

Albert Einstein (1879-1955) publica en la revista *Annalen der Physik*, junto con otros artículos sobre el calor, la luz y la electricidad, el artículo Sobre la electrodinámica de los cuerpos en movimiento, considerado el primer trabajo que le llevará a la teoría de la relatividad.

En el siglo XX se genera un gran interés por el estudio de los efectos biológicos de estos avances tecnológicos, y se inicia la realización de un gran número de trabajos. Parkinson en 1985, postula que una de las principales dificultades que impiden el generalizar los resultados de los distintos estudios, es la gran variedad de factores físicos que intervienen y hay que tener en cuenta (forma de la onda electromagnética, intensidad y velocidad de variación del campo magnético, frecuencia y duración de los pulsos, su número en los grupos de ondas, etc.). De hecho, si no se conoce cual es la característica del estímulo que se influye directamente sobre el efecto biológico no podemos comparar los distintos resultados.

Relacionaremos los trabajos representativos del estudio del efecto biológico de los campos electromagnéticos y sus posibles aplicaciones en medicina.

En 1929 Child formula la teoría de los gradientes eléctricos axiales y un año más tarde, en 1930 Ssawastin la aplica en el estudio de vegetales y bacterias y más tarde en cultivos de tejidos humanos. Intenta correlacionar el carácter físico del campo magnético y su respuesta biológica. Lengyel (1934) somete un cultivo de fibroblastos a la influencia de un campo electromagnético continuo y observa un aumento del crecimiento y de la proliferación del mismo.

Delorenzi (1935) aplica un campo electromagnético continuo entre 200 y 1000 Gauss/cm² (20-100 mT), por medio de un imán artificial, a cultivos celulares de miocardio de embriones de pollo. Obtiene un incremento en la frecuencia de mitosis y alteraciones en la división celular (aparición de células polinucleadas y desestructuración de la migración cromosómica), siguiendo una dirección perpendicular a las líneas de fuerza del campo magnético.

En 1936 surgen los trabajos sobre teratogénesis experimental de Wolff que unificarán los criterios sobre el estadiaje y valoración del desarrollo, estableciendo la sistemática de las investigaciones posteriores a nivel embrionario.

Marsh y Beams (1946) profundizan en el estudio de Child sobre las propiedades eléctricas de los organismos. Considera que la polaridad eléctrica es la expresión del gradiente axial originado por las propias funciones fisiológicas. Esta polaridad es fundamental en la embriogénesis, dado que toda modificación de los parámetros eléctricos basales modifican el desarrollo y la regeneración del tejido nervioso del embrión de pollo.

Dos años más tarde, Rondoni analiza la influencia de las diferentes temperaturas de incubación (33°C-42°C), sobre el crecimiento embrionario del pollo. Muestra que los embriones incubados a baja temperatura (33°C) son de mayor longitud que aquellos incubados a

temperatura normal (37-38°C). Pero este crecimiento en longitud disminuye a partir de una temperatura elevada (42°C).

En 1949, Gallera estudia el efecto sobre la incubación del embrión de pollo, de las variaciones atmosféricas, siendo las fases más sensibles la gastrulación tardía y los estadios precoces de neurulación.

En 1952, Deuchar concluye que las elevadas temperaturas de incubación (45.5°C) y en las primeras fases del desarrollo (hasta las 72 horas) producen alteraciones de la morfogénesis. Siguiendo en esta línea encontramos los trabajos de Mookerjee (1953), Harrison y Klein (1954), Rott (1957) y Ancel (1958), que obtienen resultados similares a los de Deuchar, añadiendo que el descenso de la temperatura produce un aumento en el índice de mortalidad en la primera mitad del desarrollo, mientras que el aumento de temperatura la incrementan en la segunda mitad.

Volviendo al biomagnetismo, Sedar en 1956 estudia la relación entre las alteraciones en el desarrollo embrionario y las intensidades de campo aplicadas. Encuentra retraso general del desarrollo corporal y alteraciones en la embriogénesis en relación con la orientación del huevo respecto al eje electromagnético.

Kolin (1959) consigue la estimulación del tejido nervioso en extremidad de rana como resultado de la aplicación de un campo electromagnético pulsátil (226-874 mT a 1000 Hz). En la década de los 60 se especializa la investigación en los efectos biológicos de los campos magnéticos.

Becker (1961) estudia los factores bioeléctricos en la regeneración de las extremidades de los anfibios. Estos organismos presentan cargas positivas a nivel cefálico y negativas en las extremidades, esta diferencia de potencial puede estimular el crecimiento axial de una extremidad mediante las estructuras nerviosas.

En el mismo año, Eiselein Boutelly y Biggs, aplican un campo electromagnético de 1400 mT a ratones, sin encontrar alteraciones en el crecimiento global ni en los parámetros celulares sanguíneos.

Gerencser, Barnothy y Barnothy, (1962) aplican un campo electromagnético homogéneo y continuo de 3000 Oersteds a cultivos bacterianos y detectan una disminución significativa en su crecimiento. Gross aplica un campo magnético continuo de 40 mT a ratones inoculados con células de tumor ascítico de rata. Observa un incremento de la necrosis tumoral y de la mortalidad que atribuye a la lisis del sistema inmunitario.

También Barnothy en 1963, encuentra una aceleración del crecimiento y un aumento en el número de mitosis, en roedores a los que aplica un campo magnético continuo.

Hall, Bedford y Leask (1964), aplican un campo electromagnético de 500 a 7700 mT sobre cultivos celulares, sin encontrar diferencias significativas en cuanto al crecimiento ni a la multiplicación. Los mismos resultados son obtenidos por Halpren y Greene en cultivos de célula HeLa bajo un campo electromagnético continuo de 120 mT. Sin embargo, Mulay y Mulay observan efectos teratogénicos y retraso del desarrollo de la mosca *Drosophila melanogaster* al aplicarle un campo electromagnético estático de entre 100 y 4000 Oe.

Siguiendo en 1964, Eldarov y Kholodov describen un aumento de la actividad motora y de las alteraciones en la orientación espacial de aves sometidas a un campo electromagnético continuo de 0.6-1.7 Oe.

Beischer y Knepton (1964), son los primeros en describir los efectos electrocardiográficos de los campos electromagnéticos continuos, tales como la aparición de alteraciones en la repolarización, al exponer monos a un campo de 2 a 7 T.

Lauber y Schutze, estudian la incubación de huevos White Leghorn. Describen que la luz incandescente acorta el período de incubación, no así la luz fluorescente, si estos cambios se aplican en la primera semana de desarrollo. No analizan si los cambios pueden ser debidos al aumento de la temperatura o si la fuente de luz artificial puede crear un campo electromagnético.

En 1965, Veneziano encuentra un 15% de efectos patológicos en embriones de pollo sometidos a la acción de un campo electromagnético continuo y uniforme de 1.1- 31 Gs. Concretamente disminución del diámetro del blastodermo, hiperplasia y retraso general de crecimiento. El examen histológico revela una desorganización celular y una formación del tubo extraneural.

En 1966, Fardon, Eymard y Basulto descubren variaciones en la orientación de la estructura molecular y una inhibición de la respiración en células cancerosas embrionarias (ciclo de Krebs y cadena respiratoria mitocondrial), bajo los efectos de un campo electromagnético pulsátil, aunque estos cambios no se pueden reproducir en tejidos adultos.

Reno y Beischer obtienen cambios en las propiedades mecánicas y eléctricas en miocardios de aves y ratas bajo campos magnéticos continuos de 3400, 15600 y 10000 Gs.

En 1966 aparece uno de los primeros estudios sobre la posible interacción de los campos electromagnéticos con el sistema nervioso central, lo realizan Asanova y Rakov y aunque presenta defectos de metodología, describen la aparición de cefaleas, excitabilidad y fatiga en los trabajadores expuestos a alto voltaje (345 KV).

En el año 1967, Levengood describe retraso del desarrollo embrionario de la mosca "Drosophila melanogaster" con la influencia de un campo electromagnético continuo de 150Gs.

Durante 1969, Musy analiza la evolución de la mortalidad y aparición de malformaciones en embriones de pollo incubados artificialmente, observa hasta un 30% de mortalidad y un 4% de malformaciones, sin poder determinar los factores etiológicos específicos.

En 1973 Cope, confirma que el hombre y algunas otras especies de animales, presentan zonas corporales sensibles a los campos magnéticos débiles de entre 0.1 y 5 Gs, esto lo atribuye a la existencia de unos puntos de unión entre las membranas celulares que permitirían el paso de electrones según el campo magnético existente (uniones tipo Josephson).

Adey (1975) describe cambios fisiológicos y químicos en el sistema nervioso central relacionados con los campos electromagnéticos.

En el siguiente año, Bliss y Heppner alteran el ritmo circadiano de la glándula pineal mediante un cambio en el componente vertical del campo magnético terrestre.

En 1978, Bawin, Adey y Sabbot ya aplican un campo electromagnético pulsátil de alta frecuencia en el tejido cerebral de embrión de pollo y descubren un aumento del flujo de hidrogeniones.

En este año proliferan los estudios con campos electromagnéticos aplicados a seres vivos con resultados dispares. Johsi, Khan y Damle exponen embriones de pollo a un campo electromagnético pulsátil de 5000 Oe, describen retraso en el desarrollo y alteraciones en el tubo neural. Iwasaki y cols. no detectan alteraciones en el desarrollo de anfibios sometidos a 5000 Gs.

En 1979 se publican nuevos estudios en distintas especies animales y a muy diversas intensidades de campo. Destaca el estudio de Wertheiner y Leeper en el que publican la primera investigación acerca de la relación

entre cáncer infantil y la exposición a campos electromagnéticos debidos a las torres de alta tensión cercanas a sus hogares.

Adey, en 1980, considera que los distintos tipos de absorción de energía electromagnética por los distintos tejidos provocan cambios fisiológicos y químicos a determinadas frecuencias. Introduce el concepto de efecto ventana de la respuesta tisular al campo electromagnético.

Semm, Schneider y Vollrath, 1980, consideran a la glándula pineal como el punto del sistema nervioso central que puede ser más sensible a la variación de los campos electromagnéticos ya que dicha glándula es la responsable de la orientación de los animales migratorios, relacionada con el campo magnético terrestre. La pineal también está muy relacionada con el sistema nervioso simpático ya que éste es muy sensible a los estímulos magnéticos. Comprueban y describen una disminución en la actividad electrofisiológica de la pineal del cerdo de Guinea por estar expuestos a un campo magnético inducido.

En 1981, Adey publica una amplia revisión de la relación de los campos electromagnéticos y sus efectos en los tejidos, con una minuciosa exposición de los efectos en los distintos órganos y tejidos. Destaca el concepto de estructura dipolar del átomo y sus modificaciones debida a la acción de un campo electromagnético.

Bellossi recopila los estudios referentes a los campos electromagnéticos continuos describiendo alteraciones a nivel de gónadas, embrión, sistema inmunitario, corazón y sistema nervioso.

En el mismo 1981^{a,b}, los investigadores españoles Bardasano, Meyer y Picazo, describen ectopias nucleolares en el citoplasma y nucleolos de tipo anular en los pinealocitos de Columba Livia bajo la acción de campos electromagnéticos artificiales.

Otro investigador español, Delgado y cols., estudia en 1981 la teratogenia de los campos electromagnéticos pulsátiles de extrema baja frecuencia, destacando una mayor sensibilidad del sistema nervioso. Considera que estos cambios pueden ser debidos al mismo campo o al efecto térmico que estos provocan.

Wilson y cols. (1981^{a,b}), someten rata Sprague-Dawley a un campo eléctrico de 60Hz, observando una disminución estadísticamente significativa en la secreción nocturna de melatonina a cargo de la glándula pineal.

En 1982, Wertheimer y Leeper, estudian la influencia de los campos electromagnéticos en el desarrollo del cáncer. Realizan un estudio retrospectivo en personas fallecidas por cáncer y correlacionan la presencia de la enfermedad con el tiempo de exposición a campo electromagnético en sus domicilios. Observan un aumento significativo de cáncer en el sistema nervioso central, útero, mama y sistema linfático con efecto dosis-dependiente.

En otro estudio semejante, Wright Peters y Mack, no consiguen resultados estadísticamente significativos en la relación de la leucemia y el empleo relacionado con las líneas eléctricas.

En el mismo año, Toroptsev y Taranov, consideran que los cambios morfofuncionales debidos a un campo electromagnético se producen por un error en los mecanismos de adaptación.

En España, Delgado y cols., considera los campos pulsátiles más efectivos que los continuos, expone embriones de pollo a campos electromagnéticos pulsátiles de 120, 1200 y 12000 mT a 10, 100 y 1000 Hz, hallando alteraciones morfológicas en el sistema nervioso central principalmente y el miocardio.

En 1983 se publican numerosos estudios bioquímicos y electrofisiológicos que muestran la influencia de los campos magnéticos sobre la glándula pineal de aves y mamíferos. Welker y cols., describe la disminución de la concentración de N-acetiltransferasa junto con los niveles séricos de melatonina. Semm y Demaine, también observan que la inversión experimental del componente horizontal del campo magnético natural lleva a un significativo descenso de la melatonina y de la serotonina-N-acetiltransferasa. Reuss, Semm y Vollrath, también describen alteraciones en la pineal de la rata al variar el componente horizontal de campo magnético terrestre. Ubeda y cols., someten embriones de pollo a un campo pulsátil de 100 Hz, observando alteraciones teratogénicas a 1 uT: sistema nervioso central, circulatorio y digestivo; apunta el posible papel de los glucosaminoglucanos y un “efecto ventana de intensidad” no secundario a un incremento de la temperatura. Saha, Pal y Albright, afirman que los campos magnéticos afectan al desarrollo del embrión de pollo sin especificar las características de dichos campos. En estudios con “Drosophila”, Ramírez y cols., observa la mortalidad de los huevos y larvas expuestos a distintos campos magnéticos, siendo ésta superior en campos pulsátiles, seguida de los campos sinusoidales y de los estáticos.

Maffeo, Miller y Carstensen (1984), repiten el estudio de Delgado y cols. (1982) en embriones de pollo sin encontrar diferencias significativas.

Sikov y cols., tampoco observan alteraciones en el desarrollo perinatal de ratas Sprague-Dawley sometidas a campos eléctricos de 60 Hz y 65 kV/m.

En este año, Becker revisa y unifica conceptos sobre las fuerzas electromagnéticas y el control de los procesos normales de crecimiento.

Cremer-Bartels y cols. (1984), describe al geomagnetismo como un sincronizador externo de los ritmos pineales y que estos pueden alterarse por un campo electromagnético artificial.

Según Milin y cols., un campo magnético estático de 1 T tiene efectos depresivos en la citofisiología de la pineal de la rata.

Ya en 1985, Demaine y Semm observan una modificación en la actividad eléctrica celular de la glándula pineal del pichón, debido a una inversión gradual del campo magnético natural. Afirman que esta glándula posee sensibilidad magnética intrínseca que permite la orientación de las aves en el campo magnético terrestre. La información magnética en las palomas tendría, de esta forma, dos entradas, vía retina y vía pineal.

Blackman y cols. (1985), reintroduce el concepto de “efecto ventana”. Estudia embriones de pollo sometidos a un campo sinusoidal de frecuencia variable y observa alteraciones en el flujo de iones calcio en el tejido cerebral a frecuencias entre 45 y 105 Hz.

Olcese, Reuss y Vollrath, demuestran que la influencia del campo magnético afecta a la función de la pineal vía retina, al demostrar que la disminución de secreción de melatonina en ratas expuestas a campos magnéticos, no se produce si se les seccionan los nervios ópticos.

Rivas y cols., encuentra un decremento significativo del peso de ratones expuestos a campos electromagnéticos pulsátiles.

Durante el año 1985 se publican diversos estudios que relacionan la exposición de humanos a campos generados por las líneas y máquinas eléctricas con la aparición de cáncer (Gilman, Mima y Barregard).

En el año 1986 Olcese y Reuss, confirman sus anteriores estudios en diversas especies de ratones.

Demaine y Semm, apuntan que la glándula pineal participa en el ritmo endógeno del sistema nervioso central.

Bardasano y Bujan, y Bardasano y cols. (1986), en dos trabajos sucesivos evidencia la magnetosensibilidad de la pineal de pollo, al observar una serie de prolongaciones multipolares fusiformes en embriones expuestos a un campo magnético.

Siguiendo en el mismo año, Abdukkakhodzhayeva y Razykov analizan el efecto de un campo magnético continuo en neuronas, astrocitos y sinapsis de las áreas precentrales del córtex cerebral de rata. Observan que la aplicación del campo durante 15 días produce cambios adaptativos de las microestructuras y a los 30 días surgen cambios distróficos celulares.

Leal y cols., realizan un minucioso estudio intentando correlacionar el componente horizontal del campo magnético terrestre y los campos electromagnéticos pulsátiles. Sugieren que el campo magnético terrestre actúa por sí mismo en el desarrollo embriológico y, por tanto, puede resultar afectado por las oscilaciones del campo.

Bellosi no encuentra alteraciones en la liberación de iones calcio en cultivos "in vitro" de embriones de pollo sometidos a un campo electromagnético pulsátil de 200-900 mT.

Reuss y Olcese en 1986, utilizando como índices de magnetosensibilidad las actividades de N-acetiltransferasa e hidroxindol-O-metiltransferasa pineales, indican la necesidad de estimulación fotorreceptora a través de una tenue luz, para la percepción de los campos magnéticos débiles.

Wilson, Chess y Anderson, comprueban la disminución de los niveles de melatonina y la actividad de la N-acetiltransferasa en pineales de ratas expuestas a campos eléctricos uniformes de 60 Hz. La rápida recuperación, después del cese de la exposición eléctrica, sugiere que el complejo metabólico pineal no está comprometido permanentemente y que el efecto del ritmo circadiano puede mediarse neurológicamente.

Sisken y cols. (1986), encuentran un incremento de malformaciones en los embriones de pollo expuestos a un campo electromagnético durante 7 días, estos resultados no son estadísticamente significativos.

Durante el año 1986, el profesor finlandés Juutilainen y cols., realiza una serie de importantes trabajos para valorar las anomalías producidas en el desarrollo del embrión de pollo "White Leghorn" al ser sometidos a la influencia de campos electromagnéticos alternos de distintas frecuencias e intensidades. Describe que durante los dos primeros días del desarrollo, si los huevos son frescos y la temperatura inferior a 38°C, disminuye considerablemente el número de alteraciones. Las frecuencias estudiadas no modifican la temperatura del embrión. Las anomalías más representativas son una serie de torsiones anómalas, debido a la desorganización del crecimiento o de los factores que lo regulan como consecuencia del campo. Obtiene el mismo efecto aplicando un campo de 0.1-80 A/m durante las primeras 52 horas del desarrollo. En otro estudio realizado conjuntamente con Saali demuestra un incremento del índice de anormalidades en embriones de pollo expuestos a un campo pulsátil de onda sinusoidal, siendo entre las frecuencias 16.7 Hz y 100 kHz cuando aparece mayor porcentaje de anormalidades.

Ya en 1987 Juutilainen, en un nuevo estudio, sugiere que la exposición del embrión de pollo a campos magnéticos de 50 Hz causan anormalidades en el desarrollo y que el umbral de fuerza de campo a partir del cual se producen es de 0.98 y 1 A/m.

Sikov y cols. (1987), estudian el potencial de afectación teratológica de un campo eléctrico de 60Hz en la reproducción y desarrollo en cerdos Hanford y aprecian una asociación entre la exposición crónica y los defectos en el desarrollo del cerdo, aunque el cambio en la incidencia de malformaciones entre generaciones les impide concluir la relación causa – efecto.

Reuss realiza una revisión sobre la actividad eléctrica de la glándula pineal de mamíferos y en otro trabajo, el mismo 1987, observa que la pineal de las aves es sensible por sí sola a los campos magnéticos, en contraste con la de los mamíferos que precisan de la activación retiniana por la luz. Olcese y cols., determinan la necesidad de una tenue luz para que el campo magnético afecte la función pineal de ratas.

Savitz y Calle relacionan, en estudios epidemiológicos, la exposición profesional en trabajos relacionados con la electricidad y una mayor incidencia de leucemias.

En España, Ubeda, Trillo y Leal (1987), intentan determinar la relación entre la orientación del embrión de pollo y el campo magnético aplicado. Incuban huevos con el vértice más agudo orientado hacia el Oeste en un campo electromagnético horizontal con dirección Este-Oeste. Detectan la aparición de anomalías en los embriones de los huevos orientados en dirección Sur-Este y Sur-Oeste.

Gili (1988^{a, b}), analiza las bases físicas del fenómeno de resonancia magnética. Cree que la aplicación de un campo magnético estático no varía la estructura molecular atómica de los núcleos de hidrógeno, sino que modifica la orientación de su eje de giro. Concluye que al no variar la estructura molecular no se producen efectos biológicos importantes.

En 1988, Martin encuentra un incremento significativo de anomalías en el desarrollo del embrión de pollo expuesto a campos electromagnéticos pulsátiles de extrema baja frecuencia, durante las primeras 24 horas de incubación, pero no de las 24 a las 48 horas.

Olcese, Reuss y Semm, en nuevos estudios publicados en 1988, determinan que la retina de los mamíferos participa en la información magnética al sistema nervioso central. En la misma línea, Stehle y cols., observan un decremento nocturno de melatonina y N-acetiltransferasa en

ratones albinos que asocian a la magnetorrecepción gracias a la pigmentación de la retina.

Milin, Bajic y Brakus (1988), en ratas sometidas a un campo electromagnético estático, observan un mantenimiento de la actividad de los pinealocitos oscuros y una reducción de los claros.

En 1988, Blackman y cols., encuentran alteraciones en el intercambio iónico neuronal del calcio en los embriones de pollo expuestos a un campo de 50Hz, sin poder establecer significación fisiológica.

Durante el año 1989, Bardasano, Cos y Picazo, estudian la función magnetorreceptora de la glándula pineal, observando aumento de bandas sinápticas y cuerpos mieloides en los pinealocitos de rata expuestas a tormentas magnéticas naturales.

Wilson, Stevens y Anderson (1989), publican una revisión de la asociación de los campos electromagnéticos con la aparición de cáncer, depresiones y alteraciones de la reproducción. Sugieren que la glándula pineal desarrolla un rol central en la respuesta biológica a estos campos por la alteración de la secreción de melatonina.

Savitz, Pearce y Poole, realizan una exhaustiva revisión sobre la relación de los campos electromagnéticos y cáncer. Estudian los posibles efectos carcinogénicos de las radiaciones no ionizantes. Los conductores de alta energía eléctrica producen un campo eléctrico en su superficie, proporcional al voltaje. Llegan a la hipótesis que los trabajadores de las compañías eléctricas y de la población en general que vive en el radio de acción de los campos electromagnéticos que generan, presentan una mayor frecuencia de enfermedades cancerígenas. En el mismo sentido, Adey, lanza la idea que los campos electromagnéticos actúan como promotores carcinógenos a dos niveles: respuesta inmunitaria y mecanismos reguladores del crecimiento celular. Estos trabajos culminan

en una editorial de *Science* por Abelson en que hace referencia a los efectos de los campos eléctricos y magnéticos en general y pide prudencia a la hora de avanzar efectos aún no bien estudiados.

Es en el año 1990 cuando Bergman y diecisiete investigadores más, unen esfuerzos y hacen una revisión de los trabajos en los que se usan modelos embrionarios y fetales. Realizan seis experimentos independientes con un mismo diseño llevados a cabo en laboratorios de Canadá, España, Suecia y Estados Unidos, con el fin de clarificar resultados anteriores sobre el desarrollo del embrión de huevos fertilizados de *Gallus domesticus* sometido a campos magnéticos pulsátiles, a frecuencias e intensidades extremadamente bajas,. El equipo de cada laboratorio es idéntico: 2 incubadoras, cada una de ellas con una bobina Helmholtz para generar un campo magnético pulsátil y unipolar (500ms de duración de pulso, 100 pulsaciones/seg, 1 mT y 2 ms de tiempo de elevación y caída). El campo se aplica durante las primeras 48h de incubación. Después de 48 h se determina el desarrollo, morfología y estadio de maduración. Cuando los datos de los 6 laboratorios son examinados conjuntamente la diferencia en anomalías en expuestos (25%) y en controles (19%), aunque baja, es altamente significativa, así como la interacción entre incidencia de anomalías y localización del laboratorio. El factor o factores responsables de la variabilidad interlaboratorios es desconocido.

Wilson y cols., en 1990, defienden la hipótesis que la exposición periódica a campos eléctricos pulsátiles de corriente continua de extrema baja frecuencia o a campos magnéticos de suficiente intensidad y duración puede afectar la función de la glándula pineal en humanos.

Olcese realiza una revisión sobre los efectos de los campos magnéticos detectados en roedores, centrándose en la glándula pineal y la retina considerados como magnetorreceptores. Los niveles de melatonina pineal

y de la actividad dopaminérgica de las células de la retina, pueden utilizarse como parámetros de la influencia del campo magnético. Pineal y ojos, son componentes del sistema circadiano, los ojos, controlan los ciclos luz-oscuridad; y la glándula pineal, como expresión de ritmicidad del sistema nervioso central, ambos pueden ser influidos por el campo magnético. Afirma que existe una relación entre ritmo circadiano y campos magnéticos.

Iniciamos el año 1991 con los trabajos de Coulton y Barker y de Koch y Koch, que no obtienen alteraciones del desarrollo significativas en los embriones de pollo expuestos a campos electromagnéticos.

Durante el año 1991 aparecen diversos estudios epidemiológicos de los campos magnéticos: London y cols., encuentran una relación no estadísticamente significativa entre enfermos de leucemia y su exposición a conducciones eléctricas, Bearwood afirma que los efectos en los seres vivos pueden deberse a la orientación de los componentes de las estructuras macromoleculares, y Foster pone de manifiesto que la gran disparidad de parámetros utilizados y los resultados que se barajan entre los diferentes trabajos no nos permiten afirmar que los campos electromagnéticos pueden producir cáncer. Juutilainen no aprecia alteraciones en humanos expuestos a los campos electromagnéticos habituales en nuestro medio.

A la misma conclusión llegan Chernoff, Rogers y Kavet, en la revisión bibliográfica que realizan en 1992.

En el estudio con embriones de pollo, Domínguez-Carmona obtiene efectos teratogénicos, específicos para la intensidad de campo de $1 \mu\text{T}$, aportando la idea que los efectos puedan ser dosis-dependientes.

En 1992 el equipo de trabajo de la doctora Piera expone embriones de pollo raza "White Leghorn" a campos electromagnéticos continuos de 18.1

y 36,1 mT, los sacrifican a los 5, 10 y 15 días y determinan el estadio (Hamburger-Hamilton), el peso y la talla. A los 5 días de incubación, todos los embriones muestran un estadio similar. A los 10 y 15 días, los embriones expuestos a 18,1 mT presentan un estadio significativamente superior a los expuestos a campo electromagnético de 36,1 mT. Sin embargo con respecto al peso y la talla no encuentran diferencias entre los embriones expuestos y los controles con excepción de los embriones de 15 días expuestos a 36,1 mT, que presentan un mayor peso y talla que los controles.

El mismo año 1992 Stevens relaciona el cáncer de mama, la glándula pineal y el campo electromagnético. La exposición a los cambios de luz y a campos electromagnéticos, produce una disminución en la producción de melatonina pineal, que se ha demostrado como supresora de tumores mamarios. Propone que la corriente eléctrica, en parte, eleva el riesgo de cáncer de mama en las sociedades industrializadas.

Martínez Soriano y cols. (1992), al igual que en estudios anteriores, observa una disminución significativa del número de barras sinápticas junto con los niveles de melatonina en pinealocitos de rata expuestas a un campo magnético de 52 Gs y 50Hz.

Walleczek describe una depresión de la actividad inmune "in vivo" debido a campos electromagnéticos de muy baja frecuencia.

Durante 1992 Reiter revisa en diversos trabajos los efectos de los campos magnéticos. Sugieren que la corriente eléctrica producida por un campo magnético (corrientes de Foucault) disminuyen el metabolismo de las indolaminas y pueden ser un factor causal importante en los cambios metabólicos medidos. Describe que la producción y secreción de melatonina por la glándula pineal informa de los cambios temporales, diarios y anuales al resto del cuerpo. En los mamíferos el ritmo circadiano de la melatonina con niveles bajos durante el día y altos por la noche,

está sincronizado por el ciclo luz-oscuridad a través de la información recibida por los fotorreceptores de la retina. La magnitud del descenso de melatonina circulante por la exposición a la luz por la noche, se relaciona con la intensidad y la longitud de onda de la luz. Además de la luz visible, la luz ultravioleta y los campos eléctrico magnéticos de extrema baja frecuencia, pueden alterar el ritmo de melatonina. Esto influiría en el funcionamiento de diversos sistemas del organismo (reproductor, endocrino, inmune, sobre el crecimiento tumoral y sobre el estado de ánimo).

En el tema del efecto celular de las radiaciones electromagnéticas, destaca en 1993 el estudio de Adey, donde afirma que las membranas celulares son las responsables de los efectos biológicos de los campos electromagnéticos, dado que las radiaciones amplifican el movimiento iónico transmembrana del ión calcio, así como el transporte intracelular de hormonas y de neurotransmisores.

Moses y Martin estudian en 1993, embriones de pollo expuestos a campos magnéticos de 60 Hz y 4 μ T durante los 3 primeros días de incubación y detectan en los expuestos una reducción significativa del nivel de 5'nucleotidasa. En otro trabajo describen disminución de los valores de acetilcolinesterasa en el cerebelo de embrión de pollo, pero no en el córtex cerebral.

Yaga y cols. (1993), observa sensibilidad de la glándula pineal de rata a los campos magnéticos en todo el fotoperíodo.

Matsushima y cols. (1993), estudia la relación de los campos electromagnéticos alternos con el volumen pineal y el tamaño de los pinealocitos de la rata, de modo que estos últimos presentan un tamaño inferior en las ratas expuestas.

Zhang, Tabrah y Whittow, estudia embriones de pollo "White Leghorn" expuestos a campos electromagnéticos de 0,05, 0,1 y 0,2 ,y 60 Hz. Observan un aumento de tamaño y un mayor consumo de oxígeno en los embriones expuestos a 0,2 mT, destacando el desarrollo de los músculos pectorales y las deformidades del globo ocular. A 0,1 mT el desarrollo visceral es menor. Y a 0,05 mT (que es la intensidad del campo magnético terrestre), no se aprecian diferencias con respecto a los controles. Nos encontramos con otros autores que hablan de un "efecto ventana".

Cox y cols., realiza en 1993 un estudio similar al de Juutilainen en 1986 pero obtiene resultados contrarios, al no presentar diferencias significativas entre pollos expuestos y controles.

En el año 1993 también se publican estudios epidemiológicos sobre efectos de los campos electromagnéticos en humanos, como el de Liburdy y cols., que apunta a una estimulación de las células del cáncer de mama por campos de intensidades de 0,0002 y 0,0012 mT; Shaw y Croen destacan un aumento de abortos en mujeres que utilizan el video.

Reiter en 1993 y 1994^{a,b} publica cinco revisiones de trabajos en los que se estudian los cambios neuroendocrinos y neuroquímicos asociados a los campos electromagnéticos, resumen que en los vertebrados la exposición de luz por la noche presenta una caída de los niveles de melatonina, normalmente altos por la noche. La exposición a campos eléctricos o magnéticos sinusoidales o estáticos pulsátiles, también reduce la producción de melatonina pineal. La melatonina tiene diversas funciones en el organismo; así la reducción de la melatonina durante la noche, aumenta la vulnerabilidad de las células a los agentes carcinógenos. Cree plausible que la exposición a campos electromagnéticos artificiales, al reducir los niveles de melatonina, puede aumentar la incidencia de cáncer en los humanos.

Llegados al año 1994, Hendee y Boteler, recomiendan evitar una larga exposición a los campos electromagnéticos de baja frecuencia por su posible función como promotores del cáncer y los destaca como más activos que los campos eléctricos.

El mismo año, Loscher y cols., estudia la relación entre los campos electromagnéticos de extrema baja frecuencia y la producción nocturna de melatonina con la carcinogénesis mamaria en la rata. Siguiendo la misma línea de investigación, Kato y cols., demuestran que con un aumento de la intensidad del campo aplicado hay una reducción hormonal superior, siguiendo una relación inversamente proporcional. Yellon observa una reducción en la producción pineal de melatonina en hamsters expuestos a campos electromagnéticos de 0,1 mT, siendo esta reducción proporcional al tiempo de exposición.

Schneider, Thalau y Semm, en cambio, sólo describen disminución de los niveles de melatonina en aves a las que se expone a un campo magnético al que se le ha variado la intensidad y el componente horizontal del campo, no presentando alteraciones en aquellas aves expuestas a una sola variación del campo.

Bartsch y cols. (1994), también sugiere una posible relación entre la producción estacional de melatonina pineal de rata con el componente horizontal del campo magnético terrestre.

Durante este año 1994, se dedican diversos estudios de los efectos embriológicos de los campos electromagnéticos: Sienkiewicz y cols., no pueden demostrar efectos teratogénicos de campos de 20 mT en ratas embarazadas.

Úbeda y cols., expone embriones de pollo a campos electromagnéticos pulsátiles de 100 Hz y 1 μ T durante las primeras 48 horas de incubación, obteniendo un aumento significativo de malformaciones congénitas y

sobretudo una alta tasa de mortalidad precoz en los expuestos respecto a los controles. Yip y cols., también muestran diferencias significativas entre los embriones de pollo de 6 días expuestos a 1.5 T y los controles.

Lee y cols., en 1995, estudian ovejas púberes expuestas a campos eléctricos y a campos magnéticos sin apreciar modificaciones en los niveles de melatonina.

En el mismo 1995, Svedenstal y Johanson aplican un campo magnético de 20 kHz y 15 μ T en ratones embarazadas, observa disminución en el peso y la longitud de los embriones expuestos pero sin presentar diferencias estadísticamente significativas.

Chiang y cols., observa mayores efectos teratogénicos en ratones expuestos a un campo magnético combinado con un agente teratogénico como es la citosina arabinósido.

Selmaoui y Touitou (1995), estudian los niveles de N-acetiltransferasa, hidroxindol-O-metiltransferasa y melatonina en ratas expuestas a campo magnéticos sinusoidales. Concluyen que los campos magnéticos sinusoidales afectan la actividad NAT y melatonina que depende de la intensidad y la duración de la exposición.

Diversos estudios epidemiológicos intentan demostrar, durante 1995, la relación entre la exposición ambiental continuada a los campos electromagnéticos y la aparición de procesos malignos, como leucemia, linfoma, melanoma maligno, tumores del sistema nervioso central y / o cánceres hormonodependientes. Autores como Hardell y cols. afirman que la exposición continuada comporta un incremento de riesgo de sufrir enfermedades cancerosas. No obstante, la asociación causa-efecto aún no se puede demostrar científicamente, a pesar de que hay una base epidemiológica a su favor. Levallois afirma que la relación es dosis dependiente.

Sobel y cols., sin embargo, observan una mayor proporción de enfermos de Alzheimer entre trabajadores expuestos a campos electromagnéticos de frecuencia extremadamente baja.

Llegados a 1996, Bergiannaki, Papanigopoulos y Stefanis, observan diferencias estacionales en la excreción de melatonina en humanos que se correlacionan con la variación del ritmo día-noche y las fluctuaciones del componente vertical del campo magnético en las distintas estaciones.

Selmaoui, Lambrozo y Touitou, en 1996, detectan una disminución en la producción nocturna de melatonina en roedores expuestos a campos magnéticos de 50 Hz, y 10 μ T, pero no observan alteraciones en los humanos expuestos a los mismos campos. Los mismos resultados en humanos obtuvo Graham y cols., con intensidades de 20 mT.

Mevissen y cols. (1996), exponen ratas a campos magnéticos de 50 Hz y 10 mT y 5 mT, obteniendo un aumento no significativo estadísticamente de los tumores mamarios en las expuestas con respecto a los controles.

Así mismo, Stevens y Davis, en 1996 publican una revisión de los estudios que relacionan los campos electromagnéticos con el cáncer de mama, a través de las variaciones en los niveles de melatonina, con evidencias indirectas pero sin relación directa.

En 1997, Vollrath y cols., publican que en hamsters expuestos a un campo de 900 MHz no se observa afectación en la secreción de melatonina.

Stark y cols., tampoco aprecian alteraciones significativas en la secreción salivar de melatonina en vacas expuestas a campos electromagnéticos de 3 a 30 MHz, producidos por un radiotransmisor.

Piera y cols. (1997), estudian el desarrollo del tejido óseo del embrión de pollo, sometido a la acción de campos electromagnéticos continuos de 18

y 36 mT. Observan un incremento en los procesos de diferenciación y maduración embrionaria, una mayor densidad celular a los 5 días y menor a los 10 días de incubación, sobre todo a nivel epifisario proximal y diafisario, con una mayor diferenciación ósea a partir de los 10 días de incubación. Estas diferencias son más evidentes a la intensidad de 18 mT.

En 1998, Touitou y cols., realizan un trabajo de los efectos de los campos de 10 μ T en la glándula pineal de ratas y humanos, si bien observan alteraciones en las ratas, considera que el campo no afecta en el ritmo circadiano de secreción de melatonina de los humanos.

Reiter (1998), realiza una revisión en la que considera asumido que la secreción de melatonina está suprimida en los mamíferos expuestos a campos electromagnéticos. Propone que la reducción de melatonina en suero (que en algunos casos no se acompaña de cambios en la producción pineal) puede ser el resultado de un aumento de gasto y utilización de la melatonina como neutralizador de los radicales libres.

Por otro lado, Rosen, Barber y Lyle (1998), cultivan pinealocitos de roedores y los exponen a un campo alterno de 0,05 mT y 60 Hz, a otro continuo de 0,06 μ T y en ambos describen una reducción significativa de la secreción de melatonina respecto a los controles, por lo que concluyen que los campos electromagnéticos afectan concretamente a los pinealocitos.

En España, Picazo y cols., observa disminución de la secreción de melatonina en 3 generaciones consecutivas de ratones expuestos a campos electromagnéticos de 15 μ T.

Zecca y cols., exponen ratas a campos de 5 μ T y 100 μ T, no observa alteraciones morfológicas generales, en hígado, corazón, ganglios

linfáticos, médula ósea ni testes. Pero sí en el grupo de $100\mu\text{T}$ en los niveles de norepinefrina de la pineal y en el córtex frontal.

Otros efectos descritos de los campos electromagnéticos son, como describe Mevisen y cols., alteraciones en la respuesta mitogénica de las células T.

Dicarlo, Farrell y Litovitz (1998), observan que los embriones de pollo expuestos a un campo electromagnético de 60 Hz presentan menor mortalidad inducida por anoxia.

También aparecen durante el año 1998 estudios en los que no se aprecian alteraciones debidas a los campos electromagnéticos, como son los de John, Li y Brown en ratas expuestas a 1 mT y de Löscher, Mevisen y Lerchl en ratas bajo 100 mT.

Coogan y Aschengran (1998), no aprecian relación con el cáncer de mama en mujeres expuestas a diversos campos habituales en su medio.

En 1999 Menéndez teoriza sobre el efecto biológico de los campos electromagnéticos que actuarían alterando los grupos cargados de los aminoácidos y por tanto la síntesis de proteínas.

Zhu y cols. (1999), no observa relación entre el uso de mantas eléctricas o camas de agua caliente con la aparición de cáncer de próstata.

También en 1999^b, Jové y cols., describen que las glándulas pineales de embriones de pollo de 5 días expuestos a un campo electromagnético continuo de 18 mT tienen un estadio de desarrollo más avanzado que los controles o los expuestos a 36 mT. En embriones de 15 días, las glándulas pineales de los expuestos son menores en sus valores morfométricos respecto a los controles y estos resultados son estadísticamente significativos. En otro trabajo publicado por el mismo equipo, Piera y cols. (2000), estudian los cambios en la morfología y

densidad de las vesículas pineales del embrión de pollo, sometido a las mismas intensidades de campo electromagnético; los resultados muestran un estímulo de la maduración y desarrollo de la glándula. Sugieren que los campos electromagnéticos continuos afectan al desarrollo de los embriones de una forma desigual según la intensidad de campo, la duración de la exposición y el órgano estudiado.

Graham y cols. (2000), realizan un estudio randomizado y a doble ciego en treinta hombres jóvenes expuestos durante 4 noches consecutivas a un campo magnético de 28,3 μT a los que se controlaban los niveles de melatonina. Sugieren un posible efecto acumulativo de los campos magnéticos sin ser estadísticamente significativo.

Bruls, Crasson y Legros (2000), hacen una revisión de la fisiología de la secreción de melatonina en mamíferos, entre otros factores destacan la asociación de los campos electromagnéticos y disminución de la secreción de melatonina.

En 2001 Crasson y cols., realizan un estudio similar en 21 hombres expuestos a 100 μT sin apreciar variaciones significativas en la secreción de melatonina.

En 2002, Toman, Jedlicka y Broucek, exponen huevos de pollo a un campo electromagnético de 0,07 mT manifestando un menor peso de los pollos nacidos en los grupos expuestos respecto a los controles con diferencias estadísticamente significativas.

En los últimos años, son muchos los trabajos que relacionan los campos electromagnéticos de distintos tipos e intensidades, con la disminución de la secreción de melatonina en distintas especies animales. Karasek y Lerchl (2002), y Warman y cols. (2003), atribuyen a esta disminución, un efecto oncogénico. En el año 2003, describen estos efectos en ratas diversos autores: Tripp Warman y Arendt; y Lewy, Massot y Touitou.

Cañedo, Cantú y Hernández (2003), exponen ratas gestantes a campos electromagnéticos de baja frecuencia, cuantifican los niveles de serotonina en el córtex cerebral y en la glándula pineal, siendo elevados en el córtex pero no encuentran cambios significativos en la pineal.

Karasek y Woldanska-Okonska (2004), relacionan los campos electromagnéticos con el sistema endocrino humano y apuntan la relación entre la disminución de melatonina y la aparición de ciertas neoplasias. Simkó y Mattsson (2004), profundizan en el tema y añaden que la relación que existe, sea debida al aumento de los radicales libres.

Del exhaustivo análisis bibliográfico realizado podemos apreciar que el espectro electromagnético es considerablemente grande y que existen múltiples factores (ambientales y secundarios a los campos electromagnéticos), que pueden influir en el desarrollo embriológico de las especies sometidas a su influjo.

El electromagnetismo, es un concepto que incluye: las radiaciones electromagnéticas, los campos electromagnéticos (alternos y continuos), las ondas electromagnéticas, campos eléctricos y campos magnéticos. La heterogeneidad de campos electromagnéticos, la gran variedad de aparatos capaces de generarlos y su propia capacidad para alterar algunas de las condiciones normales de incubación, ha dado lugar a una gran disparidad en los resultados obtenidos. Es importante, homogeneizar los estudios que se realicen para poder comparar los resultados obtenidos ya que en la mayoría de trabajos efectuados hasta el momento siempre existen parámetros diferentes y diferenciales (tipo de campo, intensidad del mismo, etc.). Por otro lado, un problema con el que nos encontramos frecuentemente en las revisiones bibliográficas, es el de no conocer de que modo se han solventado las modificaciones que generan los campos electromagnéticos sobre las condiciones normales de incubación

(temperatura, grado de humedad, vibraciones, etc.) y que por si solas, son capaces de provocar alteraciones en el desarrollo.

En la serie de estudios que hemos llevado a cabo, se ha utilizado un campo electromagnético continuo y homogéneo, que ha permitido mantener constantes y dentro de los estándares, todas las condiciones de incubación de los embriones, siendo la inducción electromagnética aplicada, el único factor que es variado (a voluntad), en las distintas etapas experimentales. El generador de campo electromagnético continuo diseñado se ha introducido en el interior de la incubadora correspondiente y en la que se realizan las modificaciones necesarias para que las condiciones estándar de incubación no resulten alteradas.

Los resultados obtenidos por nuestro grupo investigador demuestran que los campos electromagnéticos continuos son capaces de modificar los procesos de maduración y crecimiento de un organismo en desarrollo como es el embrión de pollo. Los cambios detectados no son uniformes y varían en función del órgano/sistema estudiado, la intensidad del campo aplicada y los días de incubación.

En los estudios sobre la glándula pineal los resultados nos orientan hacia un posible efecto acumulativo de la acción de los CEMc aplicados, que varía en función de la intensidad de campo aplicado. El hecho de que en estudios realizados previamente, sobre órganos/sistemas distintos a la glándula pineal, aportaran resultados similares nos hizo postular la posible existencia de un “efecto ventana” en la acción de los CEMc como ya habían apuntado otros autores (Mulay y Mulay, 1964; Adey, 1980; Ubeda y cols., 1983; Blackman y cols., 1985).

En los estudios previos solo se han utilizado dos intensidades de CEMc. Para poder esclarecer la existencia o no del denominado “efecto ventana” nos parece necesario ampliar el abanico de intensidades de CEMc a

aplicar, situándolo por encima y por debajo de las utilizadas hasta el momento.

Por lo que respecta a los días en los que se analizan los posibles efectos de los CEMc hemos observado que, de los tres periodos estudiados (5, 10 y 15 días) los efectos más evidentes aparecen en la etapa intermedia del desarrollo. Al plantearnos el estudio actual mantenemos los periodos intermedios y sustituimos la etapa de los 5 días (en la que los cambios detectados han sido mínimos), por la de 21 días (momento de eclosión) con la finalidad de conocer la evolución de los efectos detectados en las etapas anteriores.

Al igual que se ha realizado en otros trabajos, y de forma previa al estudio sobre la glándula pineal, se analizarán los efectos que los distintos campos aplicados sobre el desarrollo pondoestatural de los embriones.

2.- OBJETIVOS

En la presente Tesis Doctoral, al someter a los embriones de pollo (durante distintas fases de su desarrollo) a los efectos de los campos electromagnéticos continuos de 9,1 mT, 13,6 mT, 22,7 mT, 26,2 mT, 31,1 mT, se pretende alcanzar los siguientes objetivos:

- Sobre el embrión de pollo
 - Estudiar los efectos sobre el estadio, peso y talla.

- Sobre la glándula pineal
 - Determinar y analizar los efectos sobre la morfología y tamaño de la glándula pineal, a los 10, 15 y 21 días del desarrollo de los embriones.
 - Determinar y analizar los efectos sobre la distribución de las vesículas pineales en los mismos periodos de desarrollo que en el caso anterior.
 - Determinar la relación de proporcionalidad o no (efecto ventana) entre la intensidad de campo electromagnético aplicado y los efectos biológicos detectados.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL

Concretados los objetivos y realizadas las hipótesis de trabajo, fueron evaluadas las distintas posibilidades de generar un campo electromagnético de forma artificial y que cumpliera las condiciones siguientes:

- Ser continuo o alterno (en función de la corriente eléctrica aplicada).
- Ser homogéneo y uniforme.
- Ser mensurable.

Se decide construir un modelo solenoidal recto por cumplir con los requisitos antes mencionados y además porque:

- La inducción electromagnética, puede ser fija o variable a voluntad, lo cual nos permite trabajar con intensidades que pueden oscilar entre las 0 y las 50 mT.
- El control del campo electromagnético y el de los parámetros que genera, pueden ser controlados en todo momento.
- La bobina inductora puede construirse sobre un carrete cuyo tamaño nos permite ubicarla en el interior de una estufa incubadora y a su vez poder colocar en su centro hasta un máximo de 12 huevos.

La figura 1 esquematiza la dirección de las líneas de fuerzas en el interior y exterior de la bobina, así como la posición en la que se situaron los huevos respecto al campo electromagnético.

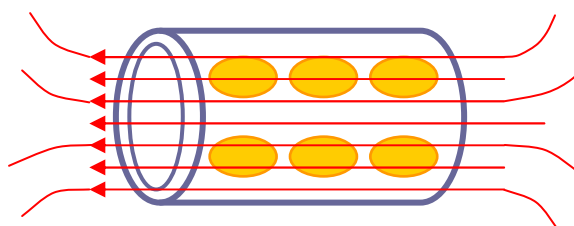


Figura 1: Esquema de un campo electromagnético continuo y homogéneo

3.1.- CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS APARATOS

3.1.1 Solenoide

La bobina solenoidal se construye sobre un carrete (chasis) de material plástico (PVC), cuyas dimensiones permiten:

- Colocación en su interior un máximo de 12 huevos.
- Alojarse externamente la bobina.
- Introducirla y manipularla con facilidad en el interior de la estufa incubadora (Figuras 2 y 3)

Características

- Longitud total del carrete (L).....200 mm
- Longitud útil de la bobina (l).....160 mm
- Diámetro interno de la bobina (D_I).....120 mm
- Diámetro interno útil de la bobina (D_U).....110 mm
- Diámetro externo del carrete (D_E).....190 mm
- Capacidad útil (núcleo de la bobina).....138.544 mm³

Características técnicas del solenoide

a) 1952.83 m de hilo de cobre monofilamento y de sección 0.8659 mm², barnizado exteriormente y con unas resistencias térmicas de :

- 0.0195 Ω/m entre 0-10°C
- 0.0205 Ω/m entre 10-20°C
- 0.0212 Ω/m entre 30-40°C

- b) Múltiples capas concéntricas superpuestas, alineadas y aisladas entre sí, con un número de vueltas máximo de 3946.70.
- c) Salidas y conexiones intermedias que nos permiten trabajar con distintas longitudes de hilo conductor, o su equivalente en número de espiras. Esta característica nos ofrece un amplio abanico de posibilidades en la obtención de campos electromagnéticos, de distinta inducción electromagnética. Las conexiones, en número de 6, son realizadas según se especifica en la tabla 1

Tabla 1: Relación longitud/espiras de cada una de las conexiones intermedias del solenoide.

| CONEXIONES | Nº ESPIRAS | LONGITUD (m) |
|------------|------------|--------------|
| 1 | 2789.66 | 1292.45 |
| 2 | 3023.44 | 1419.81 |
| 3 | 3280.77 | 1561.32 |
| 4 | 3492.24 | 1683.96 |
| 5 | 3724.95 | 1830.10 |
| 6 | 3946.70 | 1952.83 |

El cálculo teórico de todos los componentes electromecánicos, se realiza sobre la base de las características técnico-espaciales que nos permiten obtener las inducciones electromagnéticas establecidas para el presente trabajo (de 0 a 40 mT).

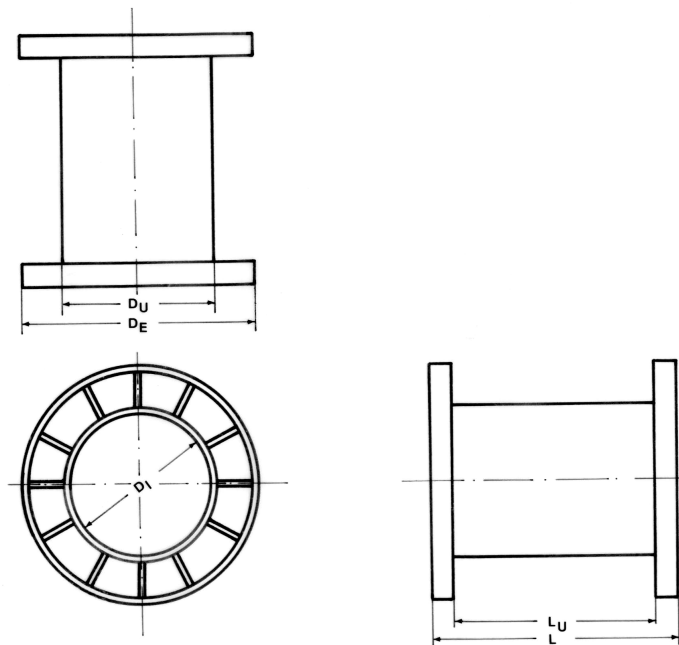


Figura 2: Plano del solenoide (1:4)

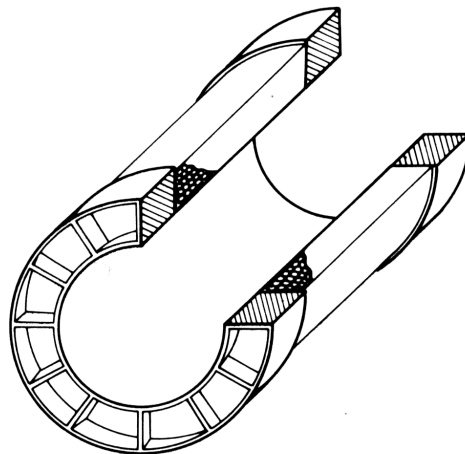


Figura 3: Perspectiva del solenoide (1:3)

3.1.2 Soporte fijador de los huevos

Con el objeto de poder colocar los huevos en el interior de la bobina solenoidal y de que el eje mayor del huevo sea paralelo a las líneas de fuerza del campo magnético, se construye una estructura de soporte que permita su distribución y que facilite una maniobrabilidad y acceso sencillo, rápido y cómodo.

La estructura construida consta de 2 láminas de madera contrachapada de 4 mm de grosor de 90x200mm de tamaño, dispuestas perpendicularmente y paralelas a las líneas de fuerza del campo (Figura 4). A su vez, dicho soporte, se coloca en un cilindro de PVC de diámetro ligeramente inferior al del carrete de la bobina; para crear una pequeña cámara de aire que facilite la refrigeración del sistema y evite que la superficie externa de los huevos esté en contacto directo con las paredes de la bobina inductora (Figura 5).

Por último, para permitir un correcto apoyo y fijación de los huevos, se realiza un vaciado rectangular de 20x180mm en las láminas de madera. Esto nos permite colocar 4 baterías de 3 huevos cada una, aprovechando al máximo la capacidad de la bobina a la vez que se impide el desplazamiento de los huevos durante el volteo (Figura 6).

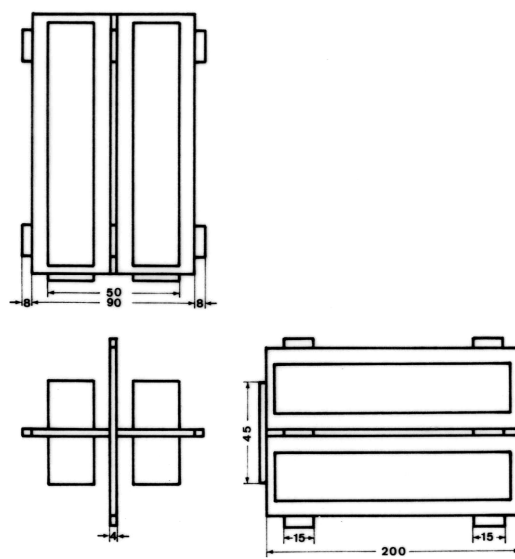


Figura 4: Plano del soporte de los huevos (1:3)

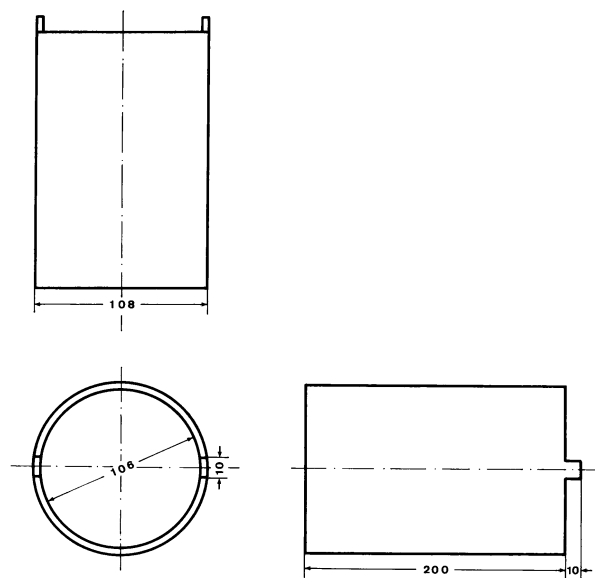


Figura 5: Plano del cilindro(1:3)

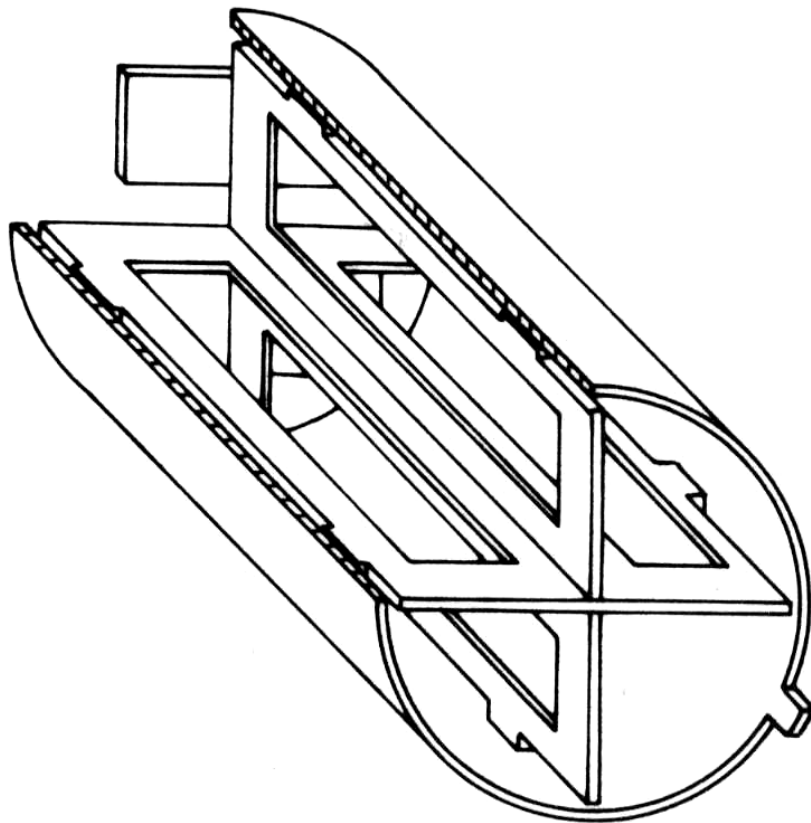


Figura 6: Perspectiva del soporte incluido en el cilindro (1:3)

3.1.3 Fuente de alimentación (estabilizada)

La fuente de alimentación utilizada para el suministro de corriente eléctrica continua está provista de conexión para toma de tierra, como sistema de descarga y protección eléctrica y tiene las siguientes características técnicas:

- Marca..... Promax
- Modelo..... FAC-522B
- Regulación carga..... $\leq 0.2\%$
- Regulación red..... $\leq 0.02\%$
- Tensión de salida estabilizada en C.C..... 0-54 V
- Intensidad de salida estabilizada..... 0-2 A
- Corriente de cortocircuito..... ≈ 2.4 A
- Coeficiente de temperatura..... $\leq 0.04\%$ por $^{\circ}\text{C}$
- Resolución..... ± 0.1 V/ 0.01 A
- Tensión de red (C.A.)..... 220V, 50 H
- Dimensiones..... 185x210x265 mm.

Está constituida en base a un circuito impreso monolítico para transformar la corriente alterna (CA) en corriente continua (CC), con estabilizador y control automático de desconexión por aumento de la temperatura interna.

El voltaje y la intensidad de la corriente de salida son controlados por tres potenciómetros de ajuste fino que nos permiten obtener la monitorización de los parámetros necesarios por medio de un voltímetro y un amperímetro digitales.

3.1.4 Estufas incubadoras

Características técnicas (Figura 7):

- Marca..... Masalles
- Modelo..... 25
- Tensión de red:..... 220V / 60H / 1.1 A
- Control de temperatura automático de gran precisión, por dos termistores con indicador electrónico visual externo.
- Control automático de selección de temperaturas por reostato exterior, regulable a voluntad y que acciona una resistencia interna que calienta el aire ambiente de la incubadora.
- Refrigeración del ambiente de incubación por medio de un ventilador central situado en el techo (ventilador núm 1), conectado y controlado por los sensores de temperatura de los reostatos.
- Bandeja motorizada de volteo.
- Control manual y/o automático de volteo horario, con contador visual externo.
- Cámara de incubación, isotérmica, de dimensiones 485x670x550 mm, compuesta por 3 capas superpuestas de fibra de vidrio, madera y plástico termoestable rígido.
- Orificios de ventilación, situados en la pared posterior de la cámara.

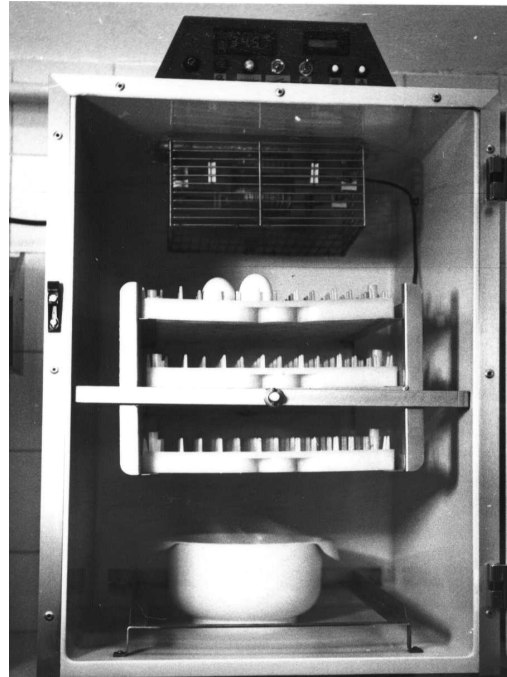


Figura 7: Estufa incubadora



Figura 8: Incubadora, solenoide y ventiladores protegidos por las jaulas de Faraday

3.1.5 Jaulas de Faraday

Para aislar y derivar las corrientes producidas tanto por la bobina, como por los aparatos existentes en el interior de la estufa y en el laboratorio, se instalan cuatro jaulas de Faraday (Figura 8).

Cada una de estas jaulas se construye con malla metálica (enrejado cuadrangular de 10x10 mm) de hierro galvanizado (zincado) electrosoldado de 1 mm de diámetro, que se sitúan cubriendo los componentes generadores de campos electromagnéticos, permitiendo el acceso a los mismos a través de compuertas móviles. Así:

1. Jaula A: Alrededor de la bobina inductora, envolviéndola completamente.
2. Jaula B: Cubriendo todos los ventiladores.
3. Jaula C: Cubriendo la estufa incubadora en la que se aloja la bobina.
4. Jaula D: Cubriendo la estufa incubadora de los grupos control (no expuestos al campo electromagnético).

3.1.6 Fluxómetro

Para la medición, tanto del campo magnético ambiental, como del generado por la bobina o por las estructuras del laboratorio se utiliza un fluxómetro.

Las características técnicas del fluxómetro son las siguientes:

- Marca..... Oxford Instruments Magnetometer
- Modelo..... kGAUSS-031T
- Margen de medida..... 0G – 150 KG
- Margen de error..... $\pm 2.5\%$
- Sonda de cristal de Germanio que mide el campo mediante el efecto Hall.
- Control digital del campo (4 dígitos) con coma flotante según la escala.
- Ajuste fino manual con control de puesta a cero por medio de un reostato externo.
- Corrector automático de la medición del campo para temperaturas entre 4.2-300°K.

3.2.- SISTEMA DE TRABAJO Y CONTROL

La bobina, con su jaula correspondiente, se instala en el interior de la incubadora (Figura 9), apoyada y fijada al soporte de volteo, y orientada de tal forma que una de sus bocas, se dirija hacia la puerta de la incubadora, con lo cual se facilita el acceso a la misma.

La incubadora, recubierta por su correspondiente jaula de Faraday, se sitúa sobre una mesa de madera del laboratorio, en un área aislada físicamente del resto. En la mesa sólo se hallan 2 torretas de conexión eléctrica de corriente alterna, con 2 salidas cada una, a 220 V/ 50H y con las respectivas derivaciones a tierra, en las cuales se efectúan las conexiones eléctricas correspondientes.

La estufa incubadora de los huevos controles (protegida con su jaula correspondiente) se sitúa a 3 m de distancia de la anterior, en el mismo soporte y con la misma orientación.

Previamente a la realización de las conexiones e instalación definitivas, se comprueba la no existencia de aparatos eléctricos ni conducciones de alta tensión en el área de trabajo que puedan influir en los parámetros estudiados. La fuente de alimentación se coloca al lado de las estufas y se procede a la conexión eléctrica de todos los componentes.

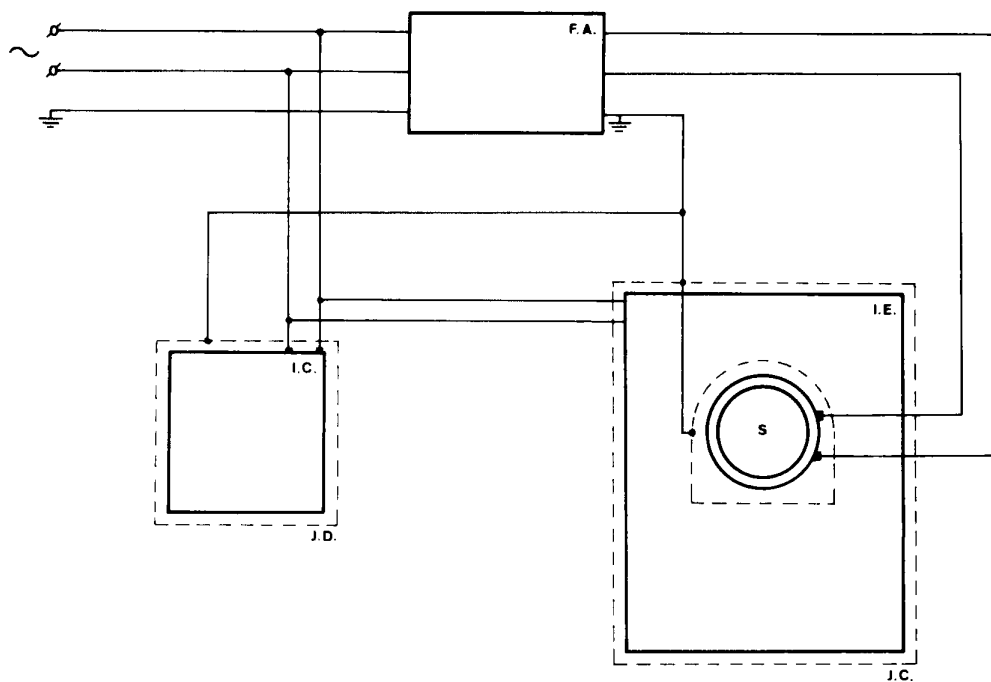


Figura 9. Instalación eléctrica de los aparatos.

IE = Incubadora expuestos

JE = Jaula Faraday expuestos

S = Solenoide

IC = Incubadora controles

JC = Jaula Faraday controles

FA = Fuente alimentación

3.2.1 Control teórico-práctico del campo electromagnético

a) Cálculo teórico

Basándonos en las características físico-químicas del material utilizado y el tipo de corriente eléctrica motriz que se ha de aplicar a la bobina, se efectúa el cálculo teórico del campo electromagnético en el interior del solenoide.

Según la ley de HOPKINSON la inducción electromagnética en el interior de una bobina solenoidal se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$H = \frac{4\pi \cdot N \cdot I}{L}$$

Donde:

H= Inducción electromagnética (mT)
N= Número de espiras
I= Intensidad de corriente (Amperios)
L= Longitud útil de la bobina (cm)

El flujo magnético se calcula: $\Phi = H \cdot S$

Donde:

Φ= Flujo magnético (maxvelio)
S= Sección interna (cm²)
H= Inducción electromagnética

Las líneas de fuerza en el interior de la bobina son paralelas al eje longitudinal de la misma (parámetro no modificable), mientras que su número (inducción electromagnética), puede ser modificado variando los parámetros: **N** (Número de espiras), **I** (Intensidad de la corriente), **L** (Longitud de la bobina).

Efectuados todos los cálculos para cada una de las salidas de la bobina, obtenemos los valores de intensidad y voltaje para cada una de las inducciones electromagnéticas determinadas (Tabla 2).

TABLA 2.- Valores teóricos de intensidad y voltaje necesarios para obtener las densidades de flujo magnético

| CONEXIONES | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Long. hilo (m) | | 1292.45 | 1419.81 | 1561.32 | 1683.96 | 1830.10 | 1952.83 |
| Nº. espiras | | 2789.66 | 3023.44 | 3280.77 | 3492.24 | 3724.25 | 3946.70 |
| mT | | | | | | | |
| 2.5 | A | 0.114 | 0.105 | 0.097 | 0.091 | 0.085 | 0.081 |
| | V | 3.123 | 3.160 | 3.210 | 3.248 | 3.297 | 3.353 |
| 5.0 | A | 0.229 | 0.211 | 0.195 | 0.183 | 0.171 | 0.162 |
| | V | 6.274 | 6.351 | 6.454 | 6.533 | 6.634 | 6.707 |
| 7.5 | A | 0.344 | 0.317 | 0.292 | 0.274 | 0.257 | 0.243 |
| | V | 9.425 | 9.541 | 9.665 | 9.781 | 9.971 | 10.060 |
| 10 | A | 0.458 | 0.423 | 0.390 | 0.366 | 0.343 | 0.324 |
| | V | 12.549 | 12.732 | 12.908 | 13.066 | 13.307 | 13.413 |
| 15 | A | 0.688 | 0.635 | 0.585 | 0.549 | 0.515 | 0.486 |
| | V | 18.851 | 19.113 | 19.363 | 19.599 | 19.981 | 20.120 |
| 20 | A | 0.917 | 0.846 | 0.780 | 0.733 | 0.687 | 0.648 |
| | V | 25.125 | 25.464 | 25.817 | 26.168 | 26.654 | 26.827 |
| 25 | A | 1.147 | 1.058 | 0.975 | 0.916 | 0.859 | 0.810 |
| | V | 31.427 | 31.845 | 32.272 | 32.701 | 33.327 | 33.533 |
| 30 | A | 1.376 | 1.270 | 1.170 | 1.099 | 1.031 | 0.972 |
| | V | 37.702 | 38.226 | 38.726 | 39.234 | 40.000 | 40.240 |
| 35 | A | 1.605 | 1.481 | 1.365 | 1.282 | 1.202 | 1.135 |
| | V | 43.976 | 44.587 | 45.181 | 45.767 | 46.635 | 46.988 |
| 39 | A | 1.789 | 1.651 | 1.521 | 1.429 | 1.304 | 1.264 |
| | V | 49.018 | 49.695 | 50.345 | 51.015 | 51.592 | 52.329 |
| 40 | A | 1.830 | 1.693 | 1.560 | 1.466 | 1.374 | 1.297 |
| | V | 50.141 | 50.959 | 51.635 | 52.336 | 53.308 | 53.695 |

A = Amperios

V = Voltios

b) Cálculo práctico (medición del campo real)

Mediante el fluxómetro se efectúan las mediciones del campo electromagnético existente en el interior del laboratorio y en sus estructuras.

Las intensidades obtenidas fueron las siguientes:

- Ambiente del laboratorio..... 0-0,1 mT
- Incubadora de controles.....0-0,1 mT
- Soporte metálico de la mesa de trabajo..... .0,2 mT
- Bobina desconectada, interior.....0-0,1 mT

Estas mediciones se repiten con la bobina e incubadoras en marcha (a 37.5°C de temperatura, 80% de humedad ambiental y a la máxima densidad de flujo magnético). Se observa la aparición de un campo electromagnético alrededor de la bobina que desaparece aproximadamente a 30 cm, de distancia de la misma. Esta distancia se reduce considerablemente cuando las jaulas de Faraday están conectadas según se refleja en la tabla 3. Al verificar el “Norte terrestre”, vemos que éste no sufre variación alguna, lo cual nos permite asegurar que el campo inducido es menor al campo magnético terrestre.

Tabla 3.- Valores de las mediciones del campo magnético en las proximidades de la bobina inductora en diferentes condiciones.

| Distancia Sonda-bobina | Jaula solenoide | Puerta estufa | Jaula estufa | Campo magnético |
|-------------------------------|------------------------|----------------------|---------------------|------------------------|
| 20 cm | Desconectada | Abierta | Desconectada | 9 mT |
| 20 cm | Conectada | Abierta | Desconectada | 6 mT |
| 30 cm | Conectada | Abierta | Desconectada | 4 mT |
| 30 cm | Conectada | Cerrada | Desconectada | 3 mT |
| 30 cm | Conectada | Cerrada | Conectada | 0-1mT |

También se realizan las mediciones en el interior de la bobina para comprobar, de una manera práctica, la relación que existe entre el valor

teórico de CEM aplicado y el valor práctico obtenido (éste último debe ser menor por la pérdida de energía existente).

Para ello se introduce la sonda del fluxómetro en el interior de la bobina y se aplican los voltajes e intensidades teóricos, con el fin de conocer sus respectivas inducciones electromagnéticas (Tabla 4).

TABLA 4: Comparación entre flujo magnético teórico y práctico.

| DENSIDADES DE FLUJO MAGNÉTICO (mT) | |
|---|-----------------------|
| VALOR TEÓRICO | VALOR PRÁCTICO |
| 2.5 | 2,4780 |
| 5.0 | 4,5114 |
| 7.5 | 6,8368 |
| 10 | 9,1650 |
| 15 | 13,6878 |
| 20 | 18,1344 |
| 25 | 22,7198 |
| 30 | 26,2742 |
| 35 | 31,1470 |
| 39 | 35,2197 |
| 40 | 36,1228 |

Las diferencias entre los valores teóricos (aplicados) y los prácticos (obtenidos por medición directa del campo con el fluxómetro) son, en todos los casos, inferiores al 10% lo que, dadas las características del material experimental y del tipo de corriente aplicado, puede considerarse aceptable (Figura 10).

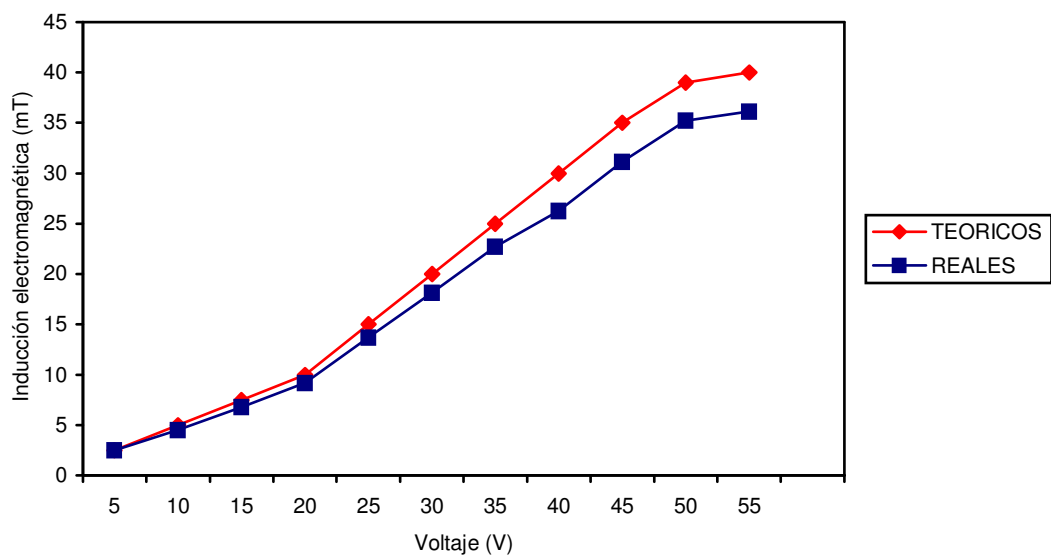


Figura 10: Valores teórico/reales de las inducciones electromagnéticas del solenoide

3.2.2 Control de las condiciones de incubación

a) Temperatura

El paso de la corriente a través de la bobina provoca un desprendimiento de energía en forma de calor (efecto Joule); por este motivo y con el fin de no alterar la temperatura normal de incubación, se realizó un estudio específico de la misma.

Se calculó, en base a la “ley de Joule”, el calor extra que generaba la bobina conectada a la máxima potencia:

$$Q = R \cdot I^2 \cdot t \cdot 0.24$$

Donde:

Q= Energía calorífica desprendida por la resistencia al paso de la corriente por el hilo conductor

R= Resistencia total de la bobina (Ohm)

I= Intensidad de la corriente (A)

t= tiempo de funcionamiento (s)

La energía calórica generada por la bobina en estas condiciones fue de:

$$Q = 16.71 \text{ calorías/segundo}$$

Los valores reales de la temperatura de incubación se obtiene por mediación de un segundo termostato colocado en el interior de la bobina, en la zona donde se colocan los huevos, V1 (Figura 11)

Como el sistema de refrigeración propio de la incubadora es insuficiente para reducir el exceso de calor generado, se instalan dos ventiladores suplementarios (V2 y V3) en su interior del siguiente modo (Figura 11)

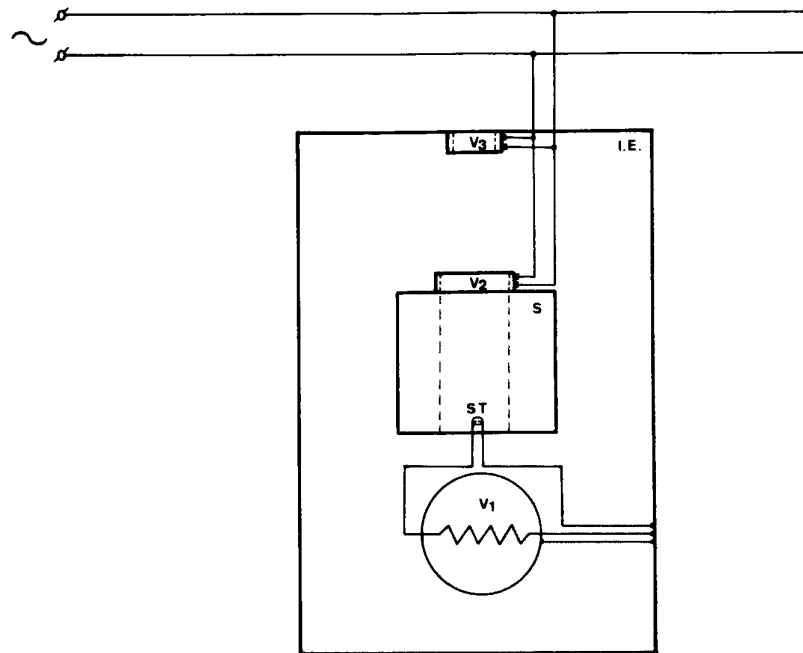


Figura 11. Esquema eléctrico de la incubadora de los huevos expuestos (**IE**)
S = Solenoide **V₁, V₂, V₃** = Ventiladores **ST** = Sensor temperatura

Ventilador 1 (**V2**) situado en el extremo de la bobina, dando lugar a un flujo de aire que circula por el interior de la bobina.

Marca: Papst-Lufter Motoren KG.
 Modelo: 8550N.
 Tensión: 220v 50-60 Hz
 Potencia: 13/15 W 1200/1300 rpm

Ventilador 2 (**V3**), situado en la pared de la estufa, concretamente en el propio orificio de ventilación, que facilita la disminución de la temperatura por forzar el intercambio de aire.

Marca: Papst-Lufter Motoren KG.
 Modelo: 8440N
 Tensión: 220v 50-60Hz
 Potencia: 13/15W 1000/1150 rpm

Una vez conectados los ventiladores suplementarios, se repitieron los controles de temperatura en el interior de la incubadora en la que se instala el solenoide.

Las mediciones se realizaron combinando las siguientes posibilidades:

1. Bobina (C) a distintas intensidades y (D) desconectada.
2. Temperatura en el interior del solenoide (BOBINA) y en su exterior (temperatura AMBIENTE de la incubadora).
3. Variación en la conexión (C) y desconexión (D) de los distintos ventiladores.

Los resultados obtenidos se exponen en la tabla 5.

Tabla 5. Controles prácticos y ajustes de la temperatura de incubación.

| BOBINA | VENTILADORES | | | TEMPERATURAS °C | |
|--------|--------------|---|---|-----------------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | BOBINA | AMBIENTE |
| D | D | D | D | 25 | 25 |
| D | C | C | C | 28 | 28 |
| C | D | D | D | 44 | 40 |
| D | C | D | D | 27 | 27 |
| C | C | D | D | 43 | 37 |
| C | C | C | D | 40 | 36 |
| C | C | C | C | 36 | 35 |

D: Bobina desconectada C: Bobina conectada

Se comprobó que con el solenoide conectado, produciendo la máxima intensidad de campo magnético, y los tres ventiladores en funcionamiento se provocaba una circulación de aire caliente en la incubadora que mantenía la temperatura en el interior de la bobina a un mínimo de 36°C.

Esto permitió que variando según las necesidades el número de ventiladores en funcionamiento, pudiéramos garantizar una temperatura

de incubación constante de 37,5°C para todas las series de embriones expuestos.

b) Humedad

El grado de humedad en el interior de las incubadoras se midió de forma continua por un higrómetro comercial, marca Brut-Hygrometer y se mantuvo en valores superiores al 70%.

3.3 MATERIAL BIOLÓGICO

El material biológico utilizado para la realización de la presente tesis doctoral consta de un total de 220 huevos fecundados de la raza White Leghorn (*Gallus domesticus*) obtenidos de una granja comercial (Nueva Comarcal, Reus, España)

3.4 EQUIPO DE MORFOMETRÍA

El estudio morfométrico se realizó (Figura 12) en un procesador de imágenes MOP-VIDEOPLAN 2000 Kontron, que cuenta con una CPU (Unidad Central de Proceso) tipo Z80 que funciona con un sistema operativo CP/M 86, implementado con un programa básico compilado en MS/BASIC, que hace posible la recogida de datos de los periféricos, la gestión de archivos y de los protocolos de medida realizando posteriormente un mínimo tratamiento estadístico de los resultados.

La unidad central de proceso tiene incorporados los siguientes periféricos:

- Cámara de video (Hitachi) conectado a un microscopio planapocromático (Zeiss).
- Digitalizador planimétrico.
- Monitor de televisión de alta resolución (Sony Trinitron).
- Impresora HP color

La medición de los parámetros a determinar se efectuó con la imagen proyectada sobre un monitor de televisión y las medidas se obtuvieron con un lápiz de lectura óptico.

Los valores obtenidos fueron transferidos mediante un bus RS232 Centronics, redireccionando la salida de impresora a un ordenador AT; lo

cual permitió un cálculo estadístico de los datos, más completo que el que permitía el implementado en el morfómetro.

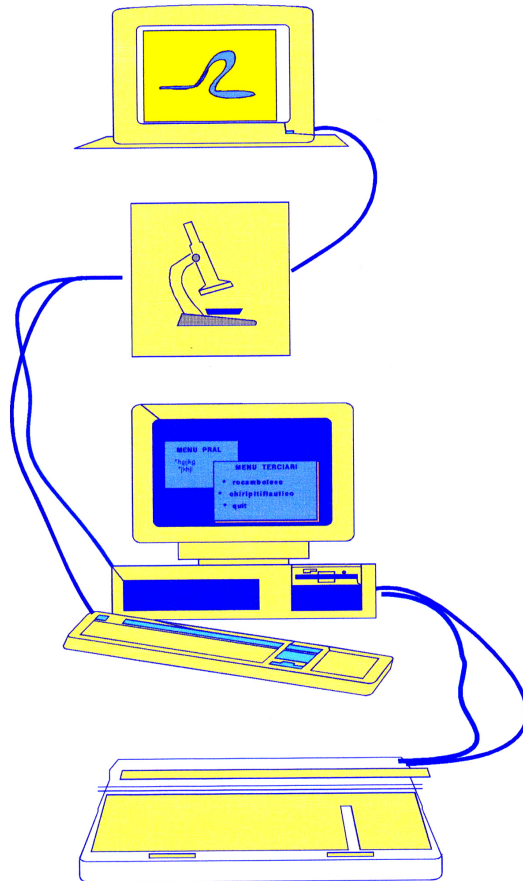


Figura 12: Unidad de morfometría

MÉTODOS

3.5. SERIES EXPERIMENTALES

Se emplean un total de 220 huevos fecundados de la raza White-Leghorn, de los cuales 180 han sido incubados bajo la acción del campo electromagnético generado, y se han considerado expuestos y 40 han sido incubados sin dicha influencia y se consideran controles.

Tanto los huevos controles como los expuestos, fueron colocados en la incubadora correspondiente, con su polo más agudo orientado hacia el sur del campo.

Condiciones físicas de incubación:

- Temperatura 37,5 °C
- Humedad superior al 70 %, medida de forma continua por un higrómetro comercial marca Brut-Hygrometer.
- Volteo de los huevos: automático una vez cada hora.
- Condiciones lumínicas: oscuridad durante todo el periodo de incubación.

Los embriones utilizados se han sacrificado a los 10, 15 ó 21 días de incubación y su estadio de desarrollo se determina según de Hamburger y Hamilton (1951).

Las intensidades de CEMc utilizadas han sido de: 9,1 mT, 13,6 mT, 22,7 mT, 26,2 mT y 31,1 mT.

La elección de los huevos de una misma puesta para ser destinados a controles o expuestos, así como para ser sacrificados en una determinada fecha, se randomiza mediante una serie de números aleatorios obtenidos por ordenador.

Las series, finalmente quedan constituidas tal y como indican las tablas 6 y 7.

Tabla 6: Distribución de los embriones sacrificados a los 10 y 15 días

| INTENSIDAD | SERIE | EXPUESTOS | EXPUESTOS | | CONTROL | CONTROL | |
|------------|-------|-----------|-----------|---------|---------|---------|---------|
| | | | 10 DIAS | 15 DIAS | | 10 DIAS | 15 DIAS |
| 9,1 mT | A | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | B | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | C | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 13,6 mT | A | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | B | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | C | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 22,7 mT | A | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | B | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | C | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 26,2 mT | A | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | B | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | C | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| 31,1 mT | A | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | B | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | C | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 |

Tabla 7: Distribución de los embriones sacrificados a los 21 días

| INTENSIDAD | EXPUESTOS | CONTROLES |
|------------|-----------|-----------|
| 9,1 mT | 12 | 2 |
| 13,6 mT | 12 | 2 |
| 22,7 mT | 12 | 2 |
| 26,2 mT | 12 | 2 |
| 31,1 mT | 12 | 2 |

3.5.1 Identificación de los embriones

Cada embrión se identifica mediante dos letras y un número.

| | | |
|---------------|---------------------|---------------|
| LETRA DE EDAD | LETRA DE INTENSIDAD | Nº DE EMBRION |
|---------------|---------------------|---------------|

La primera letra señala la edad de sacrificio del embrión:

- **T** para los sacrificados a los 10 días
- **L** para los sacrificados a los 15 días
- **V** para los sacrificados a los 21 días

La segunda letra señala la intensidad de campo bajo la que se ha incubado el embrión:

- **A** corresponde a 9,1mT
- **B** corresponde a 13,6 mT
- **D** corresponde a 22,7 mT
- **E** corresponde a 26,2 mT
- **F** corresponde a 31,1 mT
- **X** corresponde a los controles

El número identifica al embrión dentro de cada grupo: de **0** a **12**.

3.5.2 Exteriorización de los embriones

A la totalidad de los embriones, tras su exteriorización e independientemente del período en que son sacrificados y de su pertenencia al grupo control o expuesto, se les determina estadio, peso y talla.

El sacrificio de los embriones, tras su extracción del huevo, se ha realizado en todos los casos, en la franja horaria de 9 h a 11 h.

3.6 DETERMINACIÓN DEL ESTADIO, PESO Y TALLA

Para la valoración del estadio, se ha utilizado una lupa binocular marca Zeiss, modelo 475057, con dispositivo incorporado para cámara fotográfica marca Fujica modelo ST 901 y una fuente de luz fría marca Schott, modelo KL1500.

Se siguen los criterios de estadiaje de Hamburger y Hamilton (1951) para el embrión de pollo, para cada una de las edades estudiadas, 10, 15 y 21 días de incubación.

Previo a la determinación del peso de los embriones, se coloca el embrión durante unos segundos sobre papel de filtro de laboratorio, para que este absorba el líquido periférico. Para este fin, se utiliza una báscula electrónica marca Sartorius analytic, modelo A2005, de alta precisión.

La talla en milímetros (mm), entendida como la distancia vértex-cóccix, se determina con una cinta métrica.

3.7 PROCESADO PARA MICROSCOPIA ÓPTICA

Las muestras se fijan en formaldehído al 10 %. En los embriones de 10 y 15 días, se fija toda la cabeza, tras cortar transversalmente el cuello del embrión.

En el caso de los embriones de 21 días, se realiza la exéresis del encéfalo; durante esta manipulación, las cabezas de los pollitos, tras ser separadas del tronco se mantienen sumergidas en el mismo líquido fijador.

Tras el lavado de las muestras para eliminar el fijador, se secan en papel de filtro y se deshidratan en una serie creciente de alcoholes.

La imbibición de parafina de las muestras se tiene lugar en el interior de una estufa marca P-Selecta modelo 207, a 60 °C.

Mediante un microtomo (Reichter-Jung, modelo 2030) provisto de cinta transportadora, se realizan cortes seriados, en el plano sagital, de 7 µm de grosor. Los cortes así obtenidos, se adhieren a los portas mediante una fina capa de gelatina oro y se mantienen 24 horas en una estufa, a 40 °C.

La tinción posterior de las muestras se realiza con Hematoxilina-Eosina.

3.8 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS CORTES

De entre todos los cortes en que aparece la glándula pineal se selecciona aquel en el que se realizarán las mediciones. Este corte será el MEDIO, es decir, aquel en el que el número de cortes anteriores a él sea igual al de cortes posteriores (por ejemplo, si se han realizado 101 cortes de la glándula pineal, las mediciones se realizarán en el número 51, tendremos 50 cortes anteriores y 50 posteriores al escogido).

3.9 PARÁMETROS ESTABLECIDOS

En el estudio morfométrico de la glándula pineal del embrión de pollo, se han definido distintos parámetros, en los que se ha tenido en consideración los siguientes factores como fuente de variabilidad estructural y/o metodológica:

- 1) La forma irregular y el crecimiento asimétrico de la glándula pineal en las distintas etapas del desarrollo.
- 2) La orientación de corte de la cabeza del embrión y por tanto de la glándula pineal.
- 3) La dificultad en obtener la orientación ideal de los cortes, dada la flexión del embrión y el pequeño tamaño de la glándula pineal.

Tanto para la selección de los cortes como para el estudio de las distancias y diámetros, se ha utilizado una Lupa estereoscópica binocular marca Zeiss, modelo 475057, con ocular milimetrado, dispositivo incorporado para cámara fotográfica (Fujica ST 901) y una fuente de luz fría (Schott KL1500).

Para la determinación de las áreas y de las densidades, se ha utilizado un Sistema de análisis de imagen semiautomático (MOP-VIDEOPLAN 2000, KONTRON), que cuenta con una Unidad Central de Proceso tipo Z80 y funciona con un sistema operativo CP/M 86. La unidad central de proceso tiene incorporados los siguientes periféricos:

- Video cámara color HITACHI, modelo VK-C2000E, conectada a un microscopio ZEISS.
- Digitalizador planimétrico.
- Monitor de televisión Sony Triniton RGB, modelo KX-14CP1.

La obtención de estos últimos parámetros se realiza a partir de la imagen proyectada sobre un monitor de televisión, mediante un lápiz de lectura óptico.

De forma previa y sistemáticamente, antes de la obtención de cada uno de los parámetros, se procede a la calibración del microscopio con un micrómetro objetivo en función de los aumentos utilizados, que han sido

- Embriones de 10 y 15 días: medida áreas x 25.
- Embriones de 21 días: medida áreas x 10.

Para poder realizar las distintas mediciones, se establece previamente un eje de coordenadas:

Partiendo del ángulo formado por la inclinación frontal de la glándula pineal con el techo del diencefalo, se traza una tangente con el punto más alto del techo del diencefalo; a esta línea se le denomina eje horizontal. Se traza una línea perpendicular a la anterior y tangente al extremo posterior de la glándula, a esta línea se le denomina eje vertical.

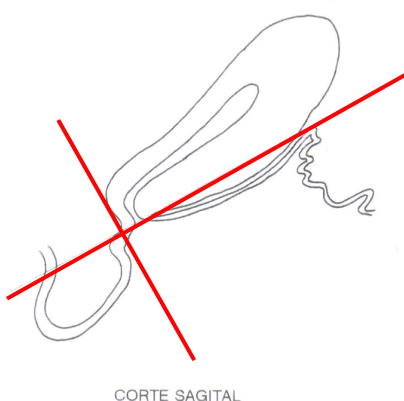


Figura 13: Esquema de corte sagital con el eje de coordenadas

3.9.1 Distancias

Se define como distancia a la longitud, en milímetros, entre un punto determinado de la glándula pineal y otro punto externo a ella. Son indicadores de la disposición de la glándula pineal en la cabeza del embrión. (figuras 14, 15 y 16))

- **Distancia anteroposterior (DAP):** longitud, entre el eje vertical y una línea paralela a éste y tangente al extremo más anterior de la glándula pineal.
- **Distancia anteroposterior de la luz (DAPL):** longitud entre el eje vertical y una línea paralela a éste y tangente al extremo anterior de la luz de la glándula.
- **Distancia craneocaudal (DCC):** longitud entre dos líneas paralelas al eje horizontal y tangentes a los extremos craneal y caudal, respectivamente, de la glándula pineal.
- **Distancia craneocaudal de la luz (DCCL):** longitud entre dos líneas paralelas al eje horizontal, uno tangente al extremo caudal de la glándula y otro tangente al extremo craneal de su luz.
- **Proporción entre DAPL/DAP:** proporción que se establece entre la distancia antero-posterior total y la de la luz.
- **Proporción entre DCCL/DCC:** proporción que se establece entre la distancia cráneo-caudal total y la de la luz.

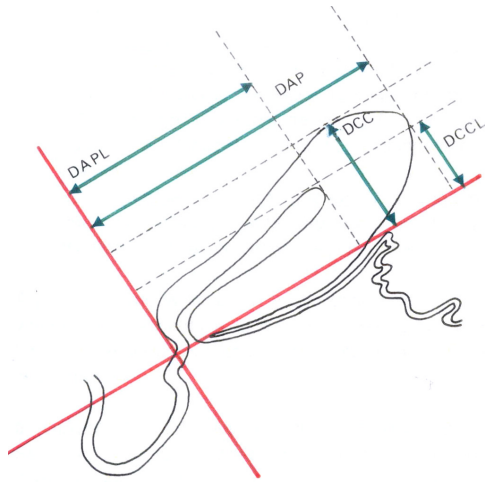


Figura 14: Distancias determinadas en la glándula pineal de los embriones de 10 días

0.2 mm

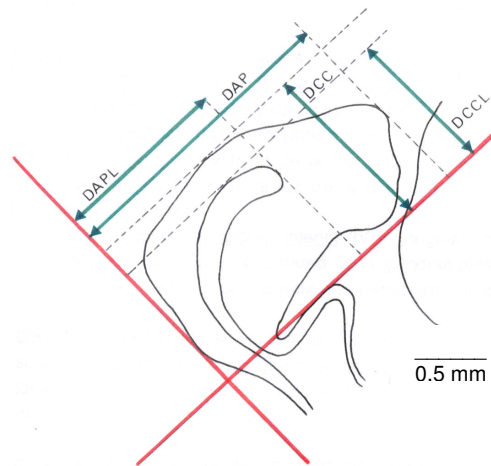


Figura 15: Distancias determinadas en la glándula pineal de los embriones de 15 días

0.5 mm

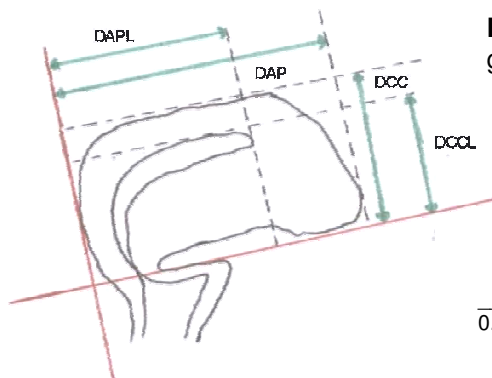


Figura 16: Distancias determinadas en la glándula pineal de los embriones de 21 días

0.8 mm

3.9.2 Diámetros

Se define como diámetro la longitud en milímetros, entre dos puntos de la propia glándula pineal. Los diámetros son indicadores del tamaño de la glándula. A cada una de las tres divisiones de un diámetro se le denomina segmento. Los segmentos indican la longitud proporcional de las distintas paredes de la glándula pineal. (Figuras 17,18 y 19)

- **Diámetro sagital:** longitud entre los extremos anterior y posterior de la glándula pineal, medida sobre una línea paralela al eje horizontal y que atraviese la luz glandular, a 21 μm de su punto más craneal. El diámetro sagital se subdivide en tres segmentos:

Segmento sagital posterior: Longitud entre los extremos posteriores de la pared y de la luz de la glándula pineal, corresponde a la pared posterior de la glándula.

Segmento sagital de la luz: Longitud entre los extremos anterior y posterior de la luz de la glándula pineal.

Segmento sagital anterior : Longitud entre los extremos anteriores de la luz y de la pared de la glándula pineal, corresponde a la zona apical de la glándula.

- **Diámetro vertical.** Longitud entre el extremo superior e inferior de la glándula pineal, medida sobre una línea paralela al eje vertical que atraviesa la luz y situado a 21 μm del extremo más apical de la luz glandular. El diámetro vertical se subdivide en tres segmentos:

Segmento vertical superior : longitud entre los extremos superiores de la pared y de la luz de la glándula pineal, corresponde a la pared posterior de la glándula.

Segmento vertical de la luz : longitud entre los extremos superior e inferior de la luz de la glándula pineal.

Segmento vertical inferior : longitud entre los extremos inferiores de la luz y de la pared de la glándula pineal, corresponde a la pared anterior de la glándula.

Se han estudiado los segmentos según el porcentaje que representan sobre el diámetro estudiado.

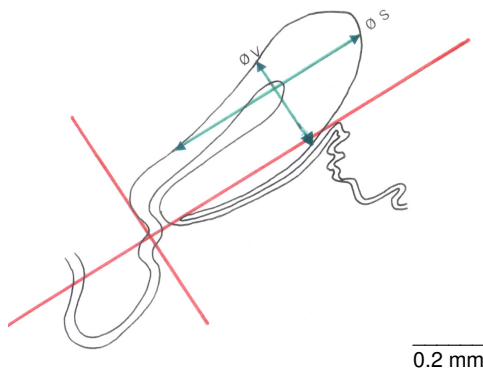


Figura 17: Diámetros determinados en la glándula pineal de los embriones de 10 días.

Figura 18: Diámetros determinados en la glándula pineal de los embriones de 15 días.

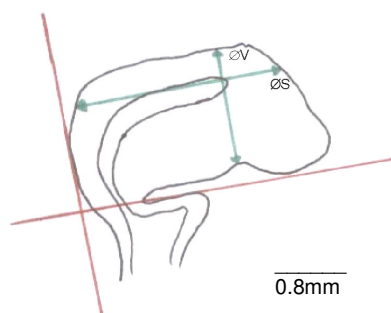
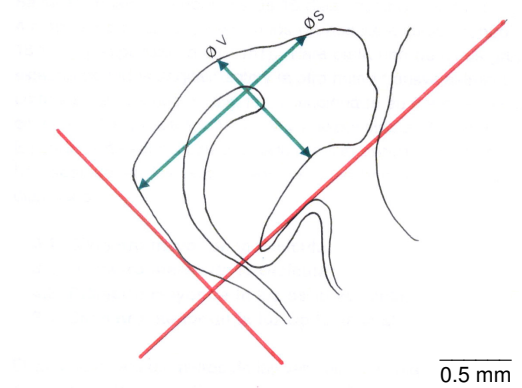


Figura 19: Diámetros determinados en la glándula pineal de los embriones de 21 días

3.9.3 Áreas

Se considera área (mm^2), a una determinada superficie de la glándula pineal delimitada: por sus propias paredes, los ejes de coordenadas establecidos y/o líneas paralelas a los mismos, (Figuras 20, 21 y 22), así:

- **Área apical (APL):** Región de parénquima glandular que queda delimitada por la superficie más distal de la glándula y una línea paralela al eje vertical y tangente al extremo más distal de la luz glandular.
- **Área anterior (AA):** Región de parénquima glandular delimitada por las paredes anteriores de la glándula y su luz, por la porción de eje horizontal que corta dicha región por su base y el límite de la región apical.
- **Área posterior (AP):** Región de parénquima glandular delimitada por las paredes más posteriores de la glándula y su luz, la porción de eje vertical que corta dicha región por su base y el límite de la región apical.

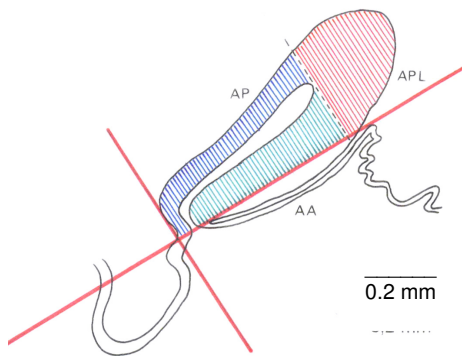


Figura 20: Áreas determinadas en la glándula pineal de los embriones de 10 días

Figura 21: Áreas determinadas en la glándula pineal de los embriones de 15 días.

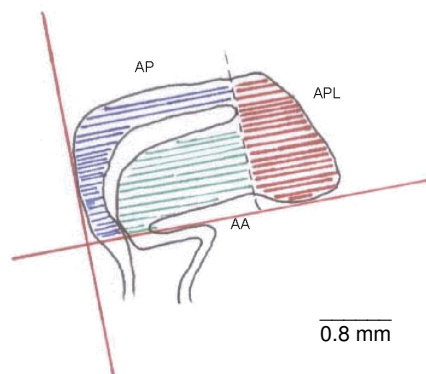
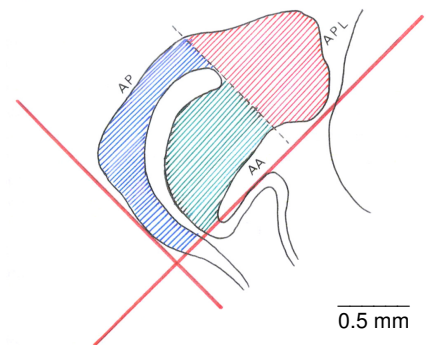


Figura 22: Áreas determinadas en la glándula pineal de los embriones de 21 días

3.9.4 Densidad vesicular

En cada una de las áreas determinadas, apical, anterior y posterior, se realiza el conteo de vesículas, que se determinan como cada una de las agrupaciones de células parenquimales, dispuestas radialmente, con una luz central.

Así quedarán definidos los siguientes parámetros de densidad:

- Número de vesículas / área apical
- Número de vesículas / área anterior
- Número de vesículas / área posterior

3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos obtenidos se ha realizado por el paquete informático SPSS, versión 6.1.

□ **Análisis descriptivo:**

La descripción de las variables se ha efectuado mediante media y desviación estándar.

□ **Análisis Univariable**

La comparación de grupos se ha efectuado mediante análisis de la varianza de un factor (ANOVA). Para comparaciones múltiples de los grupos dos a dos, se ha practicado la corrección de Bonferroni.

El nivel de significación estadística aceptado para la comparación inicial ha sido de $p < 0,05$.

4.- OBSERVACIONES

En este capítulo se exponen las mediciones cuantitativas realizadas sobre todos los embriones estudiados.

Las observaciones realizadas se subdividen en los siguientes apartados:

1. Peso, talla y estadio de los embriones.
2. Distancias y diámetros de la glándula pineal.
3. Áreas de la glándula y determinación de la densidad de vesículas en cada una de ellas.

4.1 PESO, TALLA Y ESTADIO

En cada una de las tablas de este apartado (de la 8 a la 25) se indica la identificación del embrión (embrión), el estadio de desarrollo según Hamburger y Hamilton (estadio HH), el peso en gramos (gr) y la talla en milímetros (mm).

Si alguno de los embriones muere o presenta malformaciones, el dato queda reflejado en la tabla correspondiente, pero no se incluye en el estudio.

En las tablas, los datos obtenidos se agrupan según la edad de los embriones, la condición de control o expuesto y la intensidad de CEMc aplicada.

Tabla 8: Valores de estadio, peso y talla de los embriones control de 10 días.

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| TX1 | 36 | 2,98 | 40 |
| TX2 | 35 | 2,23 | 38 |
| TX3 | 36 | 3,19 | 41 |
| TX4 | 36 | 2,9 | 41 |
| TX5 | 35 | 3,09 | 42 |
| TX6 | 36 | 3,1 | 43 |
| TX7 | 36 | 2,58 | 39 |
| TX8 | 35 | 2,11 | 31 |
| TX9 | 36 | 2,64 | 38 |
| TX10 | 36 | 2,39 | 44 |
| TX11 | 36 | 2,64 | 38 |
| TX12 | 36 | 3,23 | 39 |
| TX13 | 37 | 3,32 | 44 |
| TX14 | 36 | 3,58 | 41 |
| TX15 | 36 | 2,93 | 43 |

Tabla 11: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| TD1 | 36 | 2,84 | 44 |
| TD2 | 36 | 3,49 | 46 |
| TD3 | 36 | 3,47 | 47 |
| TD4 | 35 | 3,35 | 45 |
| TD5 | 36 | 3,2 | 42 |
| TD6 | 36 | 3,11 | 44 |
| TD7 | 36 | 3,37 | 45 |
| TD8 | 36 | 3,28 | 43 |
| TD9 | 36 | 3,39 | 43 |
| TD10 | 36 | 3,19 | 43 |
| TD11 | 36 | 2,88 | 43 |
| TD12 | 36 | 2,8 | 42 |

Tabla 9: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| TA1 | | muerto | |
| TA2 | 36 | 3,41 | 40 |
| TA3 | 36 | 4 | 40 |
| TA4 | 36 | 3,6 | 42 |
| TA5 | 36 | 3,66 | 45 |
| TA6 | 36 | 3,32 | 41 |
| TA7 | 36 | 2,88 | 39 |
| TA8 | 36 | 3,41 | 40 |
| TA9 | 36 | 3,41 | 40 |
| TA10 | 36 | 4 | 40 |
| TA11 | 36 | 3,66 | 42 |
| TA12 | 36 | 3,6 | 45 |

Tabla 12: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| TE1 | 36 | 3,06 | 42 |
| TE2 | 35 | 2,92 | 41 |
| TE3 | 36 | 3,13 | 44 |
| TE4 | 35 | 3,14 | 43 |
| TE5 | 36 | 2,78 | 42 |
| TE6 | 36 | 2,94 | 46 |
| TE7 | 36 | 2,98 | 42 |
| TE8 | 36 | 2,23 | 38 |
| TE9 | 36 | 3,05 | 44 |
| TE10 | 36 | 3,14 | 39 |
| TE11 | | malformado | |
| TE12 | | muerto | |

Tabla 10: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| TB1 | 36 | 3,14 | 43 |
| TB2 | 36 | 2,62 | 40 |
| TB3 | 36 | 2,9 | 39 |
| TB4 | 35 | 2,41 | 39 |
| TB5 | 36 | 3,05 | 39 |
| TB6 | 36 | 3,03 | 41 |
| TB7 | 36 | 2,99 | 44 |
| TB8 | 36 | 2,46 | 41 |
| TB9 | 36 | 3,05 | 45 |
| TB10 | 36 | 2,83 | 40 |
| TB11 | 36 | 2,94 | 40 |
| TB12 | 36 | 3,11 | 41 |

Tabla 13: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| TF1 | 36 | 3,36 | 42 |
| TF2 | 35 | 2,44 | 37 |
| TF3 | 36 | 2,43 | 37 |
| TF4 | 36 | 2,01 | 37 |
| TF5 | 36 | 2,81 | 41 |
| TF6 | 36 | 2,08 | 37 |
| TF7 | 36 | 2,33 | 41 |
| TF8 | 36 | 2,17 | 41 |
| TF9 | | malformado | |
| TF10 | | malformado | |
| TF11 | | muerto | |
| TF12 | 36 | 2,08 | 37 |

Tabla 14: Valores de estadio, peso y talla de los embriones control de 15 días

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| LX1 | 41 | 14,95 | 67 |
| LX2 | 41 | 17 | 77 |
| LX3 | 41 | 11,19 | 61 |
| LX4 | 41 | 16,02 | 72 |
| LX5 | 41 | 11,83 | 65 |
| LX6 | 43 | 14,54 | 71 |
| LX7 | | muerto | |
| LX8 | 41 | 13,98 | 72 |
| LX9 | 41 | 15,19 | 70 |
| LX10 | 42 | 14,67 | 73 |
| LX11 | 40 | 13,27 | 67 |
| LX12 | 41 | 17,7 | 78 |
| LX13 | 41 | 14,95 | 67 |
| LX14 | 39 | 12,03 | 59 |
| LX15 | | malformado | |

Tabla 17: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| LD1 | 40 | 14,92 | 74 |
| LD2 | 41 | 16,68 | 67 |
| LD3 | 41 | 16,33 | 64 |
| LD4 | 41 | 14,7 | 74 |
| LD5 | 41 | 16,44 | 71 |
| LD6 | 40 | 12,15 | 69 |
| LD7 | 41 | 11,74 | 62 |
| LD8 | 41 | 14,16 | 62 |
| LD9 | 41 | 12,19 | 73 |
| LD10 | 41 | 11,68 | 70 |
| LD11 | 41 | 11,58 | 71 |
| LD12 | 41 | 14,57 | 64 |

Tabla 15: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| LA1 | 41 | 16,03 | 70 |
| LA2 | 41 | 14,46 | 73 |
| LA3 | 41 | 13,9 | 80 |
| LA4 | 41 | 14,95 | 67 |
| LA5 | 40 | 14,26 | 64 |
| LA6 | 41 | 12,94 | 63 |
| LA7 | 41 | 14,57 | 53 |
| LA8 | 41 | 15,97 | 66 |
| LA9 | 41 | 14,95 | 67 |
| LA10 | 41 | 16,03 | 70 |
| LA11 | 41 | 15,74 | 74 |
| LA12 | 41 | 14,46 | 73 |

Tabla 18: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| LE1 | 41 | 13,85 | 72 |
| LE2 | 41 | 13,2 | 66 |
| LE3 | 41 | 11,16 | 65 |
| LE4 | 40 | 12,57 | 62 |
| LE5 | 39 | 12,52 | 60 |
| LE6 | 40 | 12,65 | 63 |
| LE7 | 40 | 12,17 | 65 |
| LE8 | 41 | 13,18 | 71 |
| LE9 | 41 | 12,88 | 71 |
| LE10 | 41 | 10,69 | 67 |
| LE11 | 41 | 13,74 | 66 |
| LE12 | 41 | 12,34 | 68 |

Tabla 16: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| LB1 | 41 | 13,1 | 74 |
| LB2 | 41 | 14,71 | 71 |
| LB3 | 41 | 14,48 | 69 |
| LB4 | 41 | 16,09 | 71 |
| LB5 | 41 | 14,15 | 68 |
| LB6 | 40 | 13,43 | 65 |
| LB7 | 39 | 13,25 | 64 |
| LB8 | 41 | 15,15 | 69 |
| LB9 | 41 | 16,89 | 72 |
| LB10 | 41 | 13,33 | 71 |
| LB11 | 41 | 14,46 | 69 |
| LB12 | | muerto | |

Tabla 19: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO HH | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------------|------------|-------------|
| LF1 | 41 | 14,5 | 72 |
| LF2 | 41 | 11,68 | 66 |
| LF3 | 41 | 14,03 | 69 |
| LF4 | 41 | 13,44 | 66 |
| LF5 | 40 | 10,71 | 62 |
| LF6 | 40 | 10,53 | 59 |
| LF7 | 41 | 12,56 | 63 |
| LF8 | 41 | 14,51 | 66 |
| LF9 | 41 | 11,18 | 69 |
| LF10 | 41 | 14,35 | 73 |
| LF11 | 41 | 12,65 | 70 |
| LF12 | 41 | 12,4 | 70 |

Tabla 20: Valores de estadio, peso y talla de los embriones control de 21 días

| EMBRIÓN | ESTADIO | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------|------------|-------------|
| | HH | | |
| VX1 | | malformado | |
| VX2 | 46 | 45,03 | 95 |
| VX3 | 46 | 53,04 | 110 |
| VX4 | 46 | 41,74 | 86 |
| VX5 | 46 | 46,2 | 91 |
| VX6 | 46 | 47,52 | 98 |
| VX7 | 46 | 44,4 | 91 |
| VX8 | 46 | 49,02 | 96 |
| VX9 | 46 | 48,18 | 97 |
| VX10 | 46 | 50,41 | 100 |
| VX11 | 46 | 44,24 | 91 |
| VX12 | | malformado | |
| VX13 | | malformado | |
| VX14 | 46 | 46,27 | 86 |

Tabla 23: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------|------------|-------------|
| | HH | | |
| VD1 | 46 | 41,75 | 92 |
| VD2 | 46 | 42,49 | 91 |
| VD3 | 46 | 37,39 | 89 |
| VD4 | 46 | 38,6 | 100 |
| VD5 | 46 | 46,9 | 92 |
| VD6 | | muerto | |
| VD7 | 46 | 41,51 | 101 |
| VD8 | 46 | 40,78 | 92 |
| VD9 | 46 | 35,01 | 91 |
| VD10 | 46 | 41,79 | 92 |
| VD11 | 46 | 37,41 | 101 |
| VD12 | 46 | 41,75 | 98 |

Tabla 21: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------|------------|-------------|
| | HH | | |
| VA1 | 46 | 36 | 100 |
| VA2 | | malformado | |
| VA3 | 43 | 36,11 | 101 |
| VA4 | 46 | 39,36 | 100 |
| VA5 | 46 | 36,35 | 98 |
| VA6 | 46 | 40,15 | 97 |
| VA7 | 46 | 35,62 | 100 |
| VA8 | 46 | 42,81 | 98 |
| VA9 | 46 | 36,14 | 101 |
| VA10 | 46 | 36,18 | 99 |
| VA11 | 46 | 35,67 | 103 |
| VA12 | 46 | 39,46 | 97 |

Tabla 24: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------|------------|-------------|
| | HH | | |
| VE1 | 46 | 42,91 | 82 |
| VE2 | 46 | 38,47 | 80 |
| VE3 | | malformado | |
| VE4 | 46 | 38,81 | 81 |
| VE5 | 46 | 43,31 | 82 |
| VE6 | 46 | 44,6 | 89 |
| VE7 | 45 | 50,24 | 91 |
| VE8 | 46 | 41,46 | 94 |
| VE9 | 46 | 40,16 | 89 |
| VE10 | 46 | 42,99 | 82 |
| VE11 | 46 | 38,49 | 81 |
| VE12 | 46 | 43,33 | 89 |

Tabla 22: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------|-------------|-------------|
| | HH | | |
| VB1 | 46 | 39,5 | 102 |
| VB2 | 46 | 39,01 | 99 |
| VB3 | 46 | 34,45 | 82 |
| VB4 | 46 | 44,14 | 85 |
| VB5 | 46 | 37,42 | 84 |
| VB6 | 46 | 36,98 | 88 |
| VB7 | 46 | 40,78 | 88 |
| VB8 | 46 | 46,42 | 82 |
| VB9 | 46 | 39,52 | 81 |
| VB10 | 46 | 39,39 | 83 |
| VB11 | | sin embrión | |
| VB12 | 46 | 39,46 | 101 |

Tabla 25: Valores de estadio, peso y talla de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | ESTADIO | PESO gr | TALLA mm |
|---------|---------|-------------|-------------|
| | HH | | |
| VF1 | 46 | 30,52 | 97 |
| VF2 | 46 | 25,4 | 94 |
| VF3 | 46 | 34,67 | 100 |
| VF4 | 46 | 36,85 | 98 |
| VF5 | 46 | 30,53 | 98 |
| VF6 | 46 | 26,99 | 94 |
| VF7 | 46 | 34,68 | 101 |
| VF8 | 46 | 36,88 | 98 |
| VF9 | 46 | 30,51 | 98 |
| VF10 | 46 | 36,84 | 97 |
| VF11 | | sin embrión | |
| VF12 | | muerto | |

4.2 DISTANCIAS Y DIÁMETROS DE LA GLÁNDULA PINEAL

En las tablas siguientes (26 a 61) se muestran los valores obtenidos, en milímetros, de las distancias y diámetros de la glándula pineal agrupados según la edad del embrión, condición de control o expuestos, e intensidad del CEMc aplicado.

Los valores que, por el estado de la muestra, no han podido ser determinados con exactitud, se han dejado en blanco.

DAP: distancia anteroposterior

DAPL: distancia anteroposterior de la luz

DAPL/DAP: relación entre ambas distancias

DCC: distancia craneocaudal

DCCL: distancia craneocaudal de la luz

DCCL/DCC: relación entre ambas distancias

Tabla 26: Valores de las distancias, en mm, de los embriones control de 10 días

| EMBRION | DAP | DAPL | DAPL/DAP | DCC | DCCL | DCCL/DCC |
|---------|------|------|----------|------|------|----------|
| TX1 | 1,2 | 0,9 | 75,00 | 0,5 | 0,4 | 80,00 |
| TX2 | | | | | | |
| TX3 | 0,9 | 0,5 | 55,56 | 0,5 | 0,4 | 80,00 |
| TX4 | 0,92 | 0,5 | 54,35 | 0,52 | 0,48 | 92,31 |
| TX5 | | | | | | |
| TX6 | 1,05 | 0,9 | 85,71 | 0,54 | 0,43 | 79,63 |
| TX7 | 1,18 | 0,8 | 67,80 | 0,52 | 0,4 | 76,92 |
| TX8 | 1,1 | 0,9 | 81,82 | 0,5 | 0,42 | 84,00 |
| TX9 | 1,05 | 0,9 | 85,71 | 0,54 | 0,43 | 79,63 |
| TX10 | | | | | | |
| TX11 | 1,1 | 0,9 | 81,82 | 0,5 | 0,4 | 80,00 |
| TX12 | 1,1 | 0,9 | 81,82 | 0,5 | 0,42 | 84,00 |
| TX13 | | | | | | |
| TX14 | | | | | | |
| TX15 | | | | | | |

Tabla 27: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRION | DAP | DAPL | DAPL/DAP | DCC | DCCL | DCCL/DCC |
|---------|------|------|----------|------|------|----------|
| TA1 | | | | | | |
| TA2 | 1,14 | 0,7 | 61,40 | 0,5 | 0,4 | 80,00 |
| TA3 | 1,24 | 0,92 | 74,19 | 0,68 | 0,54 | 79,41 |
| TA4 | 0,98 | 0,5 | 51,02 | 0,62 | 0,3 | 48,39 |
| TA5 | 1,3 | | | 0,42 | | |
| TA6 | 1,12 | 0,7 | 62,50 | 0,5 | 0,4 | 80,00 |
| TA7 | 1,22 | 0,9 | 73,77 | 0,66 | 0,55 | 83,33 |
| TA8 | 1,1 | 0,72 | 65,45 | 0,52 | 0,48 | 92,31 |
| TA9 | 1,2 | 0,9 | 75,00 | 0,55 | 0,47 | 85,45 |
| TA10 | 1,1 | 0,75 | 68,18 | 0,5 | 0,4 | 80,00 |
| TA11 | 1,2 | 0,85 | 70,83 | 0,6 | 0,43 | 71,67 |
| TA12 | 1,12 | 0,8 | 71,43 | 0,55 | 0,45 | 81,82 |

Tabla 28: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRION | DAP | DAPL | DAPL/DAP | DCC | DCCL | DCCL/DCC |
|---------|------|------|----------|------|------|----------|
| TB1 | 1,3 | 0,86 | 66,15 | 0,44 | 0,24 | 54,55 |
| TB2 | 0,98 | 0,7 | 71,43 | 0,36 | 0,28 | 77,78 |
| TB3 | 1,34 | 0,9 | 67,16 | 0,5 | 0,32 | 64,00 |
| TB4 | 0,7 | 0,3 | 42,86 | 0,4 | 0,32 | 80,00 |
| TB5 | | | | | | |
| TB6 | | | | | | |
| TB7 | 1,25 | 0,85 | 68,00 | 0,5 | 0,33 | 66,00 |
| TB8 | 1,1 | 0,72 | 65,45 | 0,52 | 0,35 | 67,31 |
| TB9 | 1,2 | 0,8 | 66,67 | 0,45 | 0,3 | 66,67 |
| TB10 | 1,2 | 0,86 | 71,67 | 0,44 | 0,35 | 79,55 |
| TB11 | | | | | | |
| TB12 | 1,28 | 0,75 | 58,59 | 0,45 | 0,28 | 62,22 |

Tabla 29: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL/DAP | DCC | DCCL | DCCL/DCC |
|---------|------|------|----------|------|------|----------|
| TD1 | 1,1 | 0,68 | 61,82 | 0,54 | 0,44 | 81,48 |
| TD2 | 1,14 | 0,7 | 61,40 | 0,62 | 0,44 | 70,97 |
| TD3 | 1,1 | | | 0,6 | | |
| TD4 | 1,2 | 0,82 | 68,33 | 0,4 | 0,3 | 75,00 |
| TD5 | 1,4 | 1,16 | 82,86 | 0,54 | 0,46 | 85,19 |
| TD6 | 1,3 | 0,9 | 69,23 | 0,42 | 0,3 | 71,43 |
| TD7 | | | | | | |
| TD8 | 1,1 | 0,69 | 62,73 | 0,55 | 0,45 | 81,82 |
| TD9 | 1,15 | 0,7 | 60,87 | 0,55 | 0,45 | 81,82 |
| TD10 | 1,12 | 0,7 | 62,50 | 0,6 | 0,46 | 76,67 |
| TD11 | 1,2 | 0,8 | 66,67 | 0,45 | 0,44 | 97,78 |
| TD12 | 1,21 | 0,8 | 66,12 | 0,56 | 0,43 | 76,79 |

Tabla 30: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| TE1 | 1,4 | 1,06 | 75,71 | 0,5 | 0,3 | 60,00 |
| TE2 | 1,38 | 1 | 72,46 | 0,5 | 0,3 | 60,00 |
| TE3 | 1,2 | 0,8 | 66,67 | 0,32 | | 0,00 |
| TE4 | 1,2 | 0,96 | 80 | 0,44 | 0,32 | 72,73 |
| TE5 | 1,38 | 1,08 | 78,26 | 0,52 | 0,32 | 61,54 |
| TE6 | 1,3 | 0,78 | 60 | 0,42 | 0,3 | 71,43 |
| TE7 | 1,4 | 1,02 | 72,85 | 0,54 | 0,36 | 66,67 |
| TE8 | 1,36 | 1,08 | 79,41 | 0,34 | 0,26 | 76,47 |
| TE9 | 1,3 | 0,78 | 60 | 0,42 | 0,3 | 71,43 |
| TE10 | 1,36 | 1,08 | 79,41 | 0,34 | 0,26 | 76,47 |
| TE11 | | | | | | |
| TE12 | | | | | | |

Tabla 31: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL/DAP | DCC | DCCL | DCCL/DCC |
|---------|-----|------|----------|------|------|----------|
| TF1 | 1 | 0,6 | 60,00 | 0,46 | 0,36 | 78,26 |
| TF2 | 1,4 | 0,82 | 58,57 | 0,58 | 0,44 | 75,86 |
| TF3 | 1,4 | 0,9 | 64,29 | 0,4 | 0,34 | 85,00 |
| TF4 | 1,2 | 0,9 | 75,00 | 0,42 | 0,34 | 80,95 |
| TF5 | 1,2 | 0,7 | 58,33 | 0,42 | 0,34 | 80,95 |
| TF6 | 1,3 | 0,8 | 61,54 | 0,5 | 0,44 | 88,00 |
| TF7 | 1,3 | 0,8 | 61,54 | 0,45 | 0,36 | 80,00 |
| TF8 | 1,2 | 0,7 | 58,33 | 0,42 | 0,34 | 80,95 |
| TF9 | | | | | | |
| TF10 | | | | | | |
| TF11 | | | | | | |
| TF12 | | | | | | |

Tabla 32: Valores de las distancias, en mm, de los embriones control de 15 días

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| LX1 | 1,5 | 1,1 | 73,33 | 0,8 | 0,74 | 92,50 |
| LX2 | 1,68 | 1 | 59,52 | 0,9 | 0,7 | 77,78 |
| LX3 | | | | | | |
| LX4 | 1,6 | 1,1 | 68,75 | 0,7 | 0,6 | 85,71 |
| LX5 | 1,5 | | 0,00 | 1 | 0,7 | 70,00 |
| LX6 | | | | | | |
| LX7 | | | | | | |
| LX8 | | | | | | |
| LX9 | 1,36 | 0,94 | 69,12 | 0,66 | 0,54 | 81,82 |
| LX10 | 1,04 | 0,88 | 84,62 | | | |
| LX11 | 1,1 | 0,86 | 78,18 | 0,74 | 0,64 | 86,49 |
| LX12 | 1,36 | 0,92 | 67,65 | 0,64 | 0,52 | 81,25 |

Tabla 33: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| LA1 | 1,48 | | 0,00 | 0,76 | | 0,00 |
| LA2 | 1,42 | 0,6 | 42,25 | 0,78 | 0,64 | 82,05 |
| LA3 | 1,34 | 0,44 | 32,84 | 0,7 | 0,6 | 85,71 |
| LA4 | 1,62 | 0,66 | 40,74 | 0,8 | 0,48 | 60,00 |
| LA5 | 1,44 | 0,68 | 47,22 | 0,72 | 0,6 | 83,33 |
| LA6 | 1,58 | 0,78 | 49,37 | 0,9 | 0,8 | 88,89 |
| LA7 | 1,68 | 0,7 | 41,67 | 0,98 | 0,78 | 79,59 |
| LA8 | 1,24 | 0,66 | 53,23 | 0,8 | 0,6 | 75,00 |
| LA9 | 1,46 | 0,68 | 46,58 | 0,74 | 0,62 | 83,78 |
| LA10 | 1,56 | 0,76 | 48,72 | 0,86 | 0,78 | 90,70 |
| LA11 | | | | | | |
| LA12 | | | | | | |

Tabla 34: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| LB1 | 1,4 | 1 | 71,43 | 0,82 | 0,7 | 85,37 |
| LB2 | 1,42 | 1 | 70,42 | 1,2 | 0,76 | 63,33 |
| LB3 | | | | | | |
| LB4 | 1,4 | 0,58 | 41,43 | 1,08 | 0,8 | 74,07 |
| LB5 | 1,14 | 0,7 | 61,40 | 0,58 | 0,44 | 75,86 |
| LB6 | 1,4 | 0,7 | 50,00 | 0,92 | 0,56 | 60,87 |
| LB7 | 0,34 | 0,6 | 176,47 | 0,92 | 0,78 | 84,78 |
| LB8 | 1,44 | 0,72 | 50,00 | 0,8 | 0,62 | 77,50 |
| LB9 | 1,56 | 0,72 | 46,15 | 0,92 | 0,8 | 86,96 |
| LB10 | 1,36 | | 0,00 | 0,7 | 0,5 | 71,43 |
| LB11 | | | | | | |
| LB12 | | | | | | |

Tabla 35: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| LD1 | 1,34 | 0,84 | 62,69 | 0,74 | 0,71 | 95,95 |
| LD2 | 1,32 | 0,7 | 53,03 | 0,84 | 0,7 | 83,33 |
| LD3 | 1,32 | 0,68 | 51,52 | 0,74 | 0,6 | 81,08 |
| LD4 | 1,36 | 0,46 | 33,82 | 1 | 0,62 | 62,00 |
| LD5 | | | | | | |
| LD6 | 1,38 | 0,42 | 30,43 | 0,7 | 0,52 | 74,29 |
| LD7 | 1,6 | | 0,00 | 0,7 | | 0,00 |
| LD8 | 1,1 | 0,58 | 52,73 | 0,92 | 0,78 | 84,78 |
| LD9 | 1,24 | 0,84 | 67,74 | 0,86 | 0,74 | 86,05 |
| LD10 | | | | | | |
| LD11 | 1,5 | 1,1 | 73,33 | 0,96 | 0,86 | 89,58 |
| LD12 | 1,5 | | 0,00 | 0,82 | | 0,00 |

Tabla 36: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| LE1 | 1,5 | 1,04 | 69,33 | 0,9 | 0,74 | 82,22 |
| LE2 | 1,7 | 1,28 | 75,29 | 0,74 | 0,68 | 91,89 |
| LE3 | 1,3 | 1 | 76,92 | 0,82 | 0,68 | 82,93 |
| LE4 | 1,48 | 0,84 | 56,76 | 0,72 | 0,62 | 86,11 |
| LE5 | 1,7 | 0,7 | 41,18 | 0,82 | 0,62 | 75,61 |
| LE6 | 1,5 | 0,74 | 49,33 | 0,9 | 0,74 | 82,22 |
| LE7 | | | | | | |
| LE8 | 1,5 | 1,01 | 67,33 | 0,88 | 0,7 | 79,55 |
| LE9 | 1,52 | 0,86 | 56,58 | 0,78 | 0,68 | 87,18 |
| LE10 | | | | | | |
| LE11 | | | | | | |
| LE12 | | | | | | |

Tabla 37: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| LF1 | 1,26 | 0,5 | 39,68 | 0,74 | 0,54 | 72,97 |
| LF2 | 1,62 | 1,1 | 67,90 | 0,94 | 0,82 | 87,23 |
| LF3 | 1,64 | 1 | 60,98 | 0,82 | 0,66 | 80,49 |
| LF4 | 1,64 | 1,24 | 75,61 | 0,78 | 0,64 | 82,05 |
| LF5 | | | | | | |
| LF6 | 1,3 | 0,6 | 46,15 | 1,1 | 0,8 | 72,73 |
| LF7 | 1,5 | 1,02 | 68,00 | 0,8 | 0,7 | 87,50 |
| LF8 | | | | | | |
| LF9 | 1,3 | 0,7 | 53,85 | 0,84 | 0,72 | 85,71 |
| LF10 | 1,52 | 1 | 65,79 | 0,8 | 0,7 | 87,50 |
| LF11 | | | | | | |
| LF12 | | | | | | |

Tabla 38: Valores de las distancias, en mm, de los embriones control de 21 días

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| VX1 | | | | | | |
| VX2 | 1,76 | 1,28 | 72,73 | 0,76 | 0,52 | 68,42 |
| VX3 | 2,28 | 1,6 | 70,18 | 1 | 0,88 | 88,00 |
| VX4 | 2,6 | 1,76 | 67,69 | 1,28 | 1,12 | 87,50 |
| VX5 | 2,2 | 1,36 | 61,82 | 1,16 | 0,8 | 68,97 |
| VX6 | 2,4 | 1,64 | 68,33 | 1,4 | 0,76 | 54,29 |
| VX7 | | | | | | |
| VX8 | 2,2 | 1,4 | 63,64 | 1,1 | 0,88 | 80,00 |
| VX9 | 2,26 | 1,58 | 69,91 | 1,24 | 1,1 | 88,71 |
| VX10 | 2,38 | 1,62 | 68,07 | 1,32 | 0,78 | 59,09 |
| VX11 | | | | | | |
| VX12 | | | | | | |

Tabla 39: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|-----|------|------------|------|------|------------|
| VA1 | | | | | | |
| VA2 | | | | | | |
| VA3 | | | | | | |
| VA4 | 2 | 1,4 | 70,00 | 1,08 | 0,88 | 81,48 |
| VA5 | | | | | | |
| VA6 | 2,6 | 1,6 | 61,54 | 1,2 | 1,08 | 90,00 |
| VA7 | 2,4 | 1,64 | 68,33 | 1,4 | 0,76 | 54,29 |
| VA8 | | | | | | |
| VA9 | | | | | | |
| VA10 | | | | | | |
| VA11 | | | | | | |
| VA12 | | | | | | |

Tabla 40: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| VB1 | 1,8 | 1,32 | 73,33 | 1 | 0,8 | 80,00 |
| VB2 | 2,4 | 1,28 | 53,33 | 0,8 | 0,72 | 90,00 |
| VB3 | 2 | 1,2 | 60,00 | 0,88 | 0,76 | 86,36 |
| VB4 | 2,2 | 1,32 | 60,00 | 0,8 | 0,68 | 85,00 |
| VB5 | 2,24 | 1,44 | 64,29 | 1,2 | 1,12 | 93,33 |
| VB6 | 2,6 | 1,6 | 61,54 | 1,2 | 1,08 | 90,00 |
| VB7 | 2 | 1,28 | 64,00 | 0,96 | 0,8 | 83,33 |
| VB8 | 1,6 | 1 | 62,50 | 0,68 | 0,48 | 70,59 |
| VB9 | 2 | 1,3 | 65,00 | 0,94 | 0,8 | 85,11 |
| VB10 | 2 | 1,28 | 64,00 | 0,88 | 0,78 | 88,64 |
| VB11 | | | | | | |
| VB12 | | | | | | |

Tabla 41: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| VD1 | 1,28 | 0,72 | 56,25 | 0,48 | 0,36 | 75,00 |
| VD2 | 1,4 | 0,8 | 57,14 | 0,8 | 0,6 | 75,00 |
| VD3 | 1,2 | 0,8 | 66,67 | 0,68 | 0,6 | 88,24 |
| VD4 | | | | | | |
| VD5 | 1,32 | 0,76 | 57,58 | 0,52 | 0,44 | 84,62 |
| VD6 | | | | | | |
| VD7 | 1,36 | 0,8 | 58,82 | 0,8 | 0,56 | 70,00 |
| VD8 | 1,24 | 0,8 | 64,52 | 0,64 | 0,56 | 87,50 |
| VD9 | 1,28 | 0,68 | 53,13 | 0,56 | 0,4 | 71,43 |
| VD10 | | | | | | |
| VD11 | | | | | | |
| VD12 | | | | | | |

Tabla 42: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|-----|------|------------|------|------|------------|
| VE1 | 1,8 | 1 | 55,56 | 0,84 | 0,6 | 71,43 |
| VE2 | 1,8 | | 0,00 | 0,6 | | 0,00 |
| VE3 | | | | | | |
| VE4 | 1,8 | 1 | 55,56 | 0,84 | 0,64 | 76,19 |
| VE5 | 1,4 | 1,2 | 85,71 | 0,56 | 0,44 | 78,57 |
| VE6 | | | | | | |
| VE7 | 1,7 | 1,1 | 64,71 | 0,7 | 0,56 | 80,00 |
| VE8 | 1,8 | 0,9 | 50,00 | 0,84 | 0,6 | 71,43 |
| VE9 | 1,5 | 1 | 66,67 | 0,6 | 0,48 | 80,00 |
| VE10 | | | | | | |
| VE11 | | | | | | |
| VE12 | | | | | | |

Tabla 43: Valores de las distancias, en mm, de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | DAP | DAPL | DAPL / DAP | DCC | DCCL | DCCL / DCC |
|---------|------|------|------------|------|------|------------|
| VF1 | 2,24 | 1,52 | 67,86 | 1 | 0,8 | 80,00 |
| VF2 | 1,84 | | 0,00 | 0,64 | | 0,00 |
| VF3 | 1,4 | | 0,00 | 0,76 | | 0,00 |
| VF4 | 1,2 | 0,8 | 66,67 | 0,4 | 0,36 | 90,00 |
| VF5 | 1,82 | 1,5 | 82,42 | 0,72 | 0,64 | 88,89 |
| VF6 | 2 | 1,5 | 75,00 | 0,88 | 0,72 | 81,82 |
| VF7 | 1,52 | 1,4 | 92,11 | 0,8 | 0,76 | 95,00 |
| VF8 | | | | | | |
| VF9 | | | | | | |
| VF10 | | | | | | |
| VF11 | | | | | | |
| VF12 | | | | | | |

Tabla 44: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones control de 10 días.

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| TX1 | 0,58 | 20 | 14 | 65 | 0,8 | 35 | 32 | 35 |
| TX2 | | | | | | | | |
| TX3 | 0,4 | 20 | 15 | 65 | 0,8 | 67 | 12 | 20 |
| TX4 | 0,5 | 12 | 12 | 76 | 0,8 | 82 | 8 | 10 |
| TX5 | | | | | | | | |
| TX6 | 0,47 | 27 | 21 | 51 | 0,97 | 48 | 26 | 25 |
| TX7 | 0,56 | 21 | 14 | 64 | 0,8 | 35 | 32 | 35 |
| TX8 | 0,58 | 20 | 14 | 65 | 0,8 | 35 | 32 | 35 |
| TX9 | 0,47 | 27 | 21 | 51 | 0,97 | 48 | 26 | 25 |
| TX10 | | | | | | | | |
| TX11 | 0,58 | 20 | 14 | 65 | 0,8 | 35 | 32 | 35 |
| TX12 | 0,58 | 20 | 13 | 65 | 0,8 | 35 | 31 | 35 |
| TX13 | | | | | | | | |
| TX14 | | | | | | | | |
| TX15 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 45: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| TA1 | | | | | | | | |
| TA2 | 0,4 | 20 | 10 | 70 | 0,9 | 44 | 22 | 33 |
| TA3 | 0,7 | 20 | 11 | 68 | 0,9 | 42 | 37 | 20 |
| TA4 | 0,4 | 20 | 10 | 70 | 0,72 | 64 | 14 | 22 |
| TA5 | 0,5 | | | | 0,92 | | | |
| TA6 | 0,38 | 21 | 10 | 68 | 0,88 | 45 | 22 | 32 |
| TA7 | 0,7 | 20 | 11 | 68 | 0,9 | 24 | 42 | 22 |
| TA8 | 0,4 | 20 | 10 | 70 | 0,9 | 46 | 23 | 29 |
| TA9 | 0,7 | 20 | 11 | 68 | 0,92 | 24 | 30 | 45 |
| TA10 | 0,38 | 16 | 10 | 73 | 0,88 | 44 | 22 | 33 |
| TA11 | 0,54 | 22 | 15 | 63 | 0,9 | 22 | 37 | 40 |
| TA12 | 0,42 | 24 | 14 | 62 | 0,92 | 45 | 22 | 32 |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 46: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| TB1 | 0,5 | 36 | 60 | 43 | 1,02 | 43 | 33 | 23 |
| TB2 | 0,32 | 18 | 18 | 62 | 0,58 | 31 | 55 | 14 |
| TB3 | 0,7 | | | | 1 | | | |
| TB4 | 0,4 | 20 | 10 | 70 | 0,5 | 56 | 20 | 24 |
| TB5 | | | | | | | | |
| TB6 | | | | | | | | |
| TB7 | 0,5 | 24 | 36 | 60 | 1,02 | 43 | 33 | 23 |
| TB8 | 0,34 | 23 | 17 | 59 | 0,58 | 31 | 55 | 14 |
| TB9 | 0,5 | 28 | 32 | 60 | 1,02 | 43 | 35 | 21 |
| TB10 | 0,32 | 19 | 19 | 62 | 0,7 | 26 | 43 | 11 |
| TB11 | | | | | | | | |
| TB12 | 0,5 | 28 | 32 | 32 | 1,02 | 43 | 35 | 21 |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 47: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| TD1 | 0,58 | 20 | 14 | 65 | 0,7 | 43 | 43 | 14 |
| TD2 | 0,6 | 16 | 16 | 66 | 0,9 | 46 | 7 | 46 |
| TD3 | 0,36 | | | | 0,9 | | | |
| TD4 | 0,4 | 30 | 10 | 60 | 0,74 | 54 | 30 | 16 |
| TD5 | 0,6 | 20 | 20 | 60 | 1,1 | 22 | 34 | 43 |
| TD6 | 0,48 | 25 | 12 | 62 | 0,84 | 55 | 26 | 43 |
| TD7 | | | | | | | | |
| TD8 | 0,58 | 20 | 14 | 65 | 0,72 | 44 | 41 | 14 |
| TD9 | 0,6 | 20 | 13 | 66 | 0,9 | 46 | 7 | 46 |
| TD10 | 0,38 | | | | 0,92 | | | |
| TD11 | 0,4 | 30 | 10 | 60 | 0,72 | 53 | 30 | 16 |
| TD12 | 0,6 | 17 | 17 | 66 | 0,9 | 44 | 9 | 46 |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 48: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| TE1 | 0,44 | 32 | 27 | 41 | 0,9 | 35 | 42 | 22 |
| TE2 | 0,4 | 25 | 25 | 50 | 0,8 | 37 | 37 | 25 |
| TE3 | | | | | 0,8 | 75 | 12 | 12 |
| TE4 | 0,4 | 25 | 20 | 55 | 0,7 | 34 | 37 | 28 |
| TE5 | 0,48 | 29 | 8 | 62 | 0,74 | 43 | 30 | 27 |
| TE6 | 0,36 | 61 | 11 | 28 | 0,96 | 54 | 23 | 23 |
| TE7 | 0,46 | 35 | 22 | 52 | 0,72 | 61 | 19 | 47 |
| TE8 | 0,34 | 59 | 17 | 23 | 0,68 | 38 | 32 | 29 |
| TE9 | 0,36 | 61 | 11 | 27 | 0,96 | 54 | 23 | 23 |
| TE10 | 0,34 | 59 | 17 | 23 | 0,68 | 38 | 32 | 29 |
| TE11 | | | | | | | | |
| TE12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 49: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| TF1 | 0,38 | 26 | 16 | 58 | | | | |
| TF2 | 0,58 | 17 | 14 | 69 | 0,84 | 44 | 24 | 36 |
| TF3 | | | | | | | | |
| TF4 | 0,4 | 20 | 20 | 60 | 0,7 | 45 | 26 | 28 |
| TF5 | 0,4 | 20 | 10 | 70 | 0,8 | 37 | 37 | 25 |
| TF6 | 0,5 | 20 | 16 | 64 | 0,8 | 37 | 25 | 37 |
| TF7 | 0,45 | 22 | 18 | 60 | 0,7 | 43 | 28 | 28 |
| TF8 | 0,4 | 20 | 10 | 70 | 0,8 | 37 | 37 | 25 |
| TF9 | | | | | | | | |
| TF10 | | | | | | | | |
| TF11 | | | | | | | | |
| TF12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 50: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones control de 15 días.

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| LX1 | 0,76 | 10 | 10 | 78 | 1 | 20 | 40 | 40 |
| LX2 | 0,92 | 24 | 9 | 67 | 1,3 | 46 | 23 | 30 |
| LX3 | | | | | | | | |
| LX4 | 0,7 | 28 | 11 | 60 | 1,1 | 27 | 36 | 36 |
| LX5 | 0,98 | 28 | 20 | 51 | 1,2 | | | |
| LX6 | | | | | | | | |
| LX7 | | | | | | | | |
| LX8 | | | | | | | | |
| LX9 | 0,64 | 12 | 12 | 75 | 0,9 | 44 | 22 | 33 |
| LX10 | | | | | 0,72 | 41 | 41 | 16 |
| LX11 | 0,7 | 28 | 14 | 57 | 0,9 | 22 | 22 | 55 |
| LX12 | 0,64 | 12 | 12 | 75 | 0,9 | 44 | 22 | 33 |
| LX13 | 0,7 | 14 | 11 | 74 | 1 | 20 | 40 | 40 |
| LX14 | | | | | | | | |
| LX15 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 51: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| LA1 | 0,62 | | | | 1 | | | |
| LA2 | 0,74 | 13 | 19 | 67 | 0,66 | 51 | 15 | 36 |
| LA3 | 0,68 | 17 | 20 | 62 | 0,8 | 55 | 13 | 25 |
| LA4 | 0,7 | 34 | 11 | 54 | 1,3 | 64 | 5 | 31 |
| LA5 | 0,6 | 13 | 16 | 70 | 1,02 | 63 | 10 | 27 |
| LA6 | 0,9 | 15 | 13 | 71 | 1,2 | 66 | 7 | 27 |
| LA7 | 0,94 | 21 | 8 | 70 | 1,08 | 66 | 6 | 28 |
| LA8 | 0,7 | 28 | 17 | 54 | 1,1 | 47 | 7 | 45 |
| LA9 | 0,62 | 16 | 16 | 67 | 1,02 | 63 | 8 | 29 |
| LA10 | 0,9 | 15 | 13 | 71 | 1,1 | 63 | 7 | 29 |
| LA11 | | | | | | | | |
| LA12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 52: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| LB1 | 0,82 | 17 | 19 | 63 | 1 | 50 | 10 | 40 |
| LB2 | 0,96 | 16 | 21 | 62 | 1,1 | 45 | 9 | 45 |
| LB3 | | | | | | | | |
| LB4 | 1 | 22 | 8 | 70 | 0,8 | 62 | 7 | 30 |
| LB5 | 0,52 | 19 | 15 | 65 | 0,8 | 50 | 10 | 40 |
| LB6 | 0,84 | 31 | 9 | 59 | 1,1 | 62 | 9 | 29 |
| LB7 | 0,86 | 16 | 14 | 69 | 0,84 | 66 | 7 | 26 |
| LB8 | 0,78 | 25 | 10 | 64 | 1 | 58 | 14 | 28 |
| LB9 | 0,92 | 11 | 17 | 71 | 0,88 | 57 | 23 | 20 |
| LB10 | 0,58 | 24 | 14 | 62 | 0,9 | 77 | 7 | 15 |
| LB11 | | | | | | | | |
| LB12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 53: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 10 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| LD1 | 0,64 | 6 | 9 | 84 | 0,9 | 55 | 15 | 29 |
| LD2 | 0,8 | 15 | 12 | 72 | 0,8 | 62 | 12 | 25 |
| LD3 | 0,72 | 16 | 8 | 75 | 0,7 | 48 | 28 | 23 |
| LD4 | 0,9 | 31 | 22 | 46 | 1,04 | 67 | 10 | 23 |
| LD5 | | | | | | | | |
| LD6 | 0,64 | 22 | 15 | 62 | 0,9 | 62 | 15 | 22 |
| LD7 | | | | | | | | |
| LD8 | 0,84 | 16 | 12 | 76 | 0,6 | 33 | 33 | 33 |
| LD9 | 0,78 | 10 | 23 | 66 | 0,8 | 25 | 50 | 25 |
| LD10 | | | | | | | | |
| LD11 | 0,86 | 18 | 7 | 74 | 0,9 | 33 | 22 | 44 |
| LD12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 54: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|------|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| LE1 | 0,8 | 27 | 10 | 62 | 0,8 | 50 | 12 | 37 |
| LE2 | 0,72 | 17 | 11 | 72 | 1,2 | 25 | 25 | 50 |
| LE3 | | | | | 0,8 | 50 | 15 | 35 |
| LE4 | 0,66 | 24 | 9 | 67 | 1,02 | 45 | 12 | 43 |
| LE5 | 0,74 | 13 | 8 | 76 | 1,2 | 58 | 8 | 33 |
| LE6 | 0,88 | 14 | 5 | 82 | 1 | 50 | 20 | 30 |
| LE7 | | | | | | | | |
| LE8 | 0,8 | 27 | 10 | 62 | 0,8 | 50 | 12,5 | 37 |
| LE9 | 0,68 | 26 | 9 | 65 | 1 | 44 | 12 | 44 |
| LE10 | | | | | | | | |
| LE11 | | | | | | | | |
| LE12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 55: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 15 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| LF1 | 0,68 | 23 | 12 | 65 | 0,84 | 71 | 12 | 17 |
| LF2 | 0,88 | 14 | 11 | 75 | 1,1 | 45 | 13 | 42 |
| LF3 | 0,82 | 17 | 10 | 73 | 0,84 | 48 | 17 | 36 |
| LF4 | 0,76 | 18 | 8 | 74 | 1,3 | 54 | 23 | 23 |
| LF5 | | | | | | | | |
| LF6 | 1 | 16 | 6 | 78 | 0,8 | 50 | 12 | 37 |
| LF7 | 0,78 | 18 | 5 | 77 | 0,7 | 43 | 14 | 43 |
| LF8 | | | | | | | | |
| LF9 | 0,76 | 13 | 10 | 76 | 0,74 | 40 | 27 | 32 |
| LF10 | 0,98 | 16 | 8 | 75 | 0,8 | 50 | 17 | 45 |
| LF11 | | | | | | | | |
| LF12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 56: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones control de 21 días

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| VX1 | | | | | | | | |
| VX2 | 0,64 | 19 | 12 | 69 | 1,36 | 20 | 6 | 73 |
| VX3 | 0,96 | 8 | 17 | 75 | 1 | 12 | 40 | 48 |
| VX4 | 1,2 | 7 | 13 | 80 | 1,6 | 62 | 25 | 12 |
| VX5 | 0,96 | 12 | 12 | 75 | 1,08 | 63 | 7 | 30 |
| VX6 | 0,88 | 14 | 9 | 77 | 0,96 | 58 | 12 | 29 |
| VX7 | | | | | | | | |
| VX8 | 0,96 | 12 | 12 | 75 | 1,08 | 63 | 7 | 30 |
| VX9 | 0,96 | 8 | 17 | 75 | 1 | 48 | 12 | 40 |
| VX10 | 0,88 | 14 | 9 | 77 | 0,96 | 58 | 10 | 31 |
| VX11 | | | | | | | | |
| VX12 | | | | | | | | |
| VX13 | | | | | | | | |
| VX14 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 57: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| VA1 | | | | | | | | |
| VA2 | | | | | | | | |
| VA3 | | | | | | | | |
| VA4 | 0,92 | 13 | 13 | 74 | 1,12 | 11 | 18 | 71 |
| VA5 | | | | | | | | |
| VA6 | 1,12 | 14 | 11 | 75 | 1,28 | 62 | 16 | 22 |
| VA7 | 0,88 | 14 | 9 | 77 | 0,96 | 58 | 12 | 29 |
| VA8 | | | | | | | | |
| VA9 | | | | | | | | |
| VA10 | | | | | | | | |
| VA11 | | | | | | | | |
| VA12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 58: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| VB1 | 0,88 | 14 | 9 | 77 | 0,8 | 25 | 10 | 65 |
| VB2 | 0,76 | 11 | 21 | 68 | 1 | 60 | 20 | 20 |
| VB3 | 0,8 | 15 | 10 | 75 | 1,2 | 63 | 10 | 27 |
| VB4 | 0,76 | 16 | 11 | 74 | 1 | 36 | 12 | 52 |
| VB5 | 1,16 | 7 | 17 | 76 | | | | |
| VB6 | 1,12 | 14 | 11 | 75 | 1,28 | 62 | 16 | 22 |
| VB7 | 0,96 | 12 | 17 | 71 | 0,8 | 70 | 15 | 15 |
| VB8 | 0,64 | 31 | 19 | 50 | 1 | 40 | 20 | 40 |
| VB9 | 0,88 | 14 | 18 | 68 | 0,88 | 64 | 14 | 23 |
| VB10 | 0,8 | 15 | 10 | 75 | 0,96 | 38 | 15 | 50 |
| VB11 | | | | | | | | |
| VB12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 59: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| VD1 | 0,4 | 20 | 20 | 60 | 1 | 48 | 8 | 44 |
| VD2 | 0,64 | 19 | 19 | 62 | 0,48 | 50 | 25 | 25 |
| VD3 | | | | | | | | |
| VD4 | | | | | | | | |
| VD5 | 0,44 | 27 | 18 | 55 | 1 | 44 | 8 | 48 |
| VD6 | | | | | | | | |
| VD7 | 0,6 | 20 | 13 | 67 | 0,52 | 54 | 23 | 23 |
| VD8 | 0,52 | 23 | 15 | 61 | 0,56 | 57 | 14 | 28 |
| VD9 | 0,4 | 20 | 20 | 60 | 0,96 | 46 | 8 | 46 |
| VD10 | | | | | | | | |
| VD11 | | | | | | | | |
| VD12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 60: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| VE1 | 0,64 | 19 | 12 | 69 | 0,88 | 81 | 9 | 9 |
| VE2 | | | | | | | | |
| VE3 | | | | | | | | |
| VE4 | 0,72 | 17 | 11 | 72 | 1 | 60 | 20 | 20 |
| VE5 | 0,56 | 29 | 7 | 64 | 0,68 | 29 | 29 | 41 |
| VE6 | | | | | | | | |
| VE7 | 0,64 | 19 | 12 | 69 | 0,84 | 81 | 9 | 9 |
| VE8 | 0,68 | 18 | 12 | 71 | 1 | 56 | 20 | 24 |
| VE9 | 0,56 | 29 | 7 | 64 | 0,72 | 33 | 28 | 39 |
| VE10 | | | | | | | | |
| VE11 | | | | | | | | |
| VE12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

Tabla 61: Valores de los diámetros (en milímetros) y de los porcentajes de sus segmentos en las pineales de los embriones de 21 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | Ø V | SEGMENTOS Ø V | | | Ø S | SEGMENTOS Ø S | | |
|---------|------|---------------|-----|----------|------|---------------|-----|-----------|
| | | Superior | Luz | Inferior | | Anterior | Luz | Posterior |
| VF1 | 0,88 | 14 | 14 | 73 | 1 | 56 | 20 | 24 |
| VF2 | | | | | | | | |
| VF3 | | | | | | | | |
| VF4 | | | | | | | | |
| VF5 | 0,92 | 17 | 13 | 70 | 0,88 | 59 | 14 | 27 |
| VF6 | 0,8 | 15 | 10 | 75 | 0,94 | 57 | 13 | 30 |
| VF7 | 0,64 | 19 | 12 | 69 | 0,68 | 71 | 12 | 18 |
| VF8 | | | | | | | | |
| VF9 | | | | | | | | |
| VF10 | | | | | | | | |
| VF11 | | | | | | | | |
| VF12 | | | | | | | | |

Ø V: diámetro vertical

Ø S: diámetro sagital

4.3 ÁREAS Y DENSIDAD VESICULAR

En las tablas 62 a 79 se muestran la superficie en mm², de las distintas áreas determinadas de todos los embriones, así como la densidad de vesículas por área. Se diferencia entre áreas apical, anterior y posterior.

Los valores que, por al estado de la muestra, no han podido ser determinados con exactitud, se han dejado en blanco.

Tabla 62: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones control de 10 días

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| TX1 | 0,25 | 28 | 0,17 | 35 | 0,19 | 16 |
| TX2 | | | | | | |
| TX3 | 0,19 | 26 | 0,19 | 32 | 0,08 | 25 |
| TX4 | 0,19 | 26 | 0,11 | 36 | 0,11 | 9 |
| TX5 | | | | | | |
| TX6 | | | | | | |
| TX7 | 0,24 | 29 | 0,18 | 28 | 0,18 | 16 |
| TX8 | 0,25 | 24 | 0,17 | 35 | 0,19 | 10 |
| TX9 | | | | | | |
| TX10 | | | | | | |
| TX11 | 0,24 | 29 | 0,16 | 31 | 0,18 | 16 |
| TX12 | 0,25 | 24 | 0,17 | 35 | 0,17 | 12 |
| TX13 | | | | | | |
| TX14 | | | | | | |
| TX15 | | | | | | |

Tabla 63: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 10 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| TA1 | | | | | | |
| TA2 | 0,25 | 28 | 0,19 | 37 | 0,12 | 33 |
| TA3 | 0,19 | 21 | 0,29 | 28 | 0,18 | 0 |
| TA4 | 0,23 | 26 | 0,08 | 62 | 0,08 | 12 |
| TA5 | 0,3 | 30 | 0,26 | 19 | 0,13 | 23 |
| TA6 | 0,25 | 32 | 0,2 | 35 | 0,12 | 25 |
| TA7 | 0,2 | 30 | 0,28 | 25 | 0,17 | 6 |
| TA8 | 0,26 | 27 | 0,19 | 31 | 0,12 | 33 |
| TA9 | 0,19 | 26 | 0,28 | 25 | 0,18 | 6 |
| TA10 | 0,25 | 32 | 0,2 | 30 | 0,12 | 8 |
| TA11 | 0,2 | 30 | 0,27 | 30 | 0,17 | 0 |
| TA12 | 0,26 | 27 | 0,19 | 37 | 0,12 | 33 |

Tabla 64: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 10 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| TB1 | 0,23 | 34 | 0,31 | 29 | 0,15 | 20 |
| TB2 | 0,14 | 43 | 0,14 | 36 | 0,07 | 0 |
| TB3 | 0,26 | 27 | 0,27 | 30 | 0,19 | 10 |
| TB4 | 0,14 | 43 | 0,06 | 66 | 0,06 | 17 |
| TB5 | | | | | | |
| TB6 | | | | | | |
| TB7 | 0,24 | 29 | 0,32 | 25 | 0,16 | 12 |
| TB8 | 0,15 | 46 | 0,15 | 40 | 0,08 | 12 |
| TB9 | 0,23 | 35 | 0,3 | 27 | 0,16 | 19 |
| TB10 | 0,15 | 40 | 0,15 | 40 | 0,08 | 0 |
| TB11 | | | | | | |
| TB12 | 0,24 | 33 | 0,31 | 29 | 0,15 | 20 |

Tabla 65: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 10 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| TD1 | 0,34 | 18 | 0,23 | 22 | 0,11 | 0 |
| TD2 | 0,31 | 39 | 0,24 | 33 | 0,17 | 18 |
| TD3 | 0,18 | 39 | 0,18 | 33 | 0,15 | 20 |
| TD4 | 0,27 | 15 | 0,18 | 17 | 0,1 | 10 |
| TD5 | 0,22 | 23 | 0,32 | 22 | 0,17 | 12 |
| TD6 | 0,32 | 25 | 0,26 | 31 | 0,14 | 14 |
| TD7 | | | | | | |
| TD8 | 0,34 | 18 | 0,24 | 21 | 0,11 | 0 |
| TD9 | 0,31 | 32 | 0,24 | 33 | 0,17 | 12 |
| TD10 | 0,18 | 44 | 0,18 | 33 | 0,16 | 19 |
| TD11 | 0,27 | 18 | 0,18 | 22 | 0,1 | 10 |
| TD12 | 0,3 | 33 | 0,24 | 33 | 0,16 | 12 |

Tabla 66: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 10 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| TE1 | 0,17 | 41 | 0,2 | 15 | 0,16 | 19 |
| TE2 | 0,17 | 41 | 0,19 | 21 | 0,16 | 12 |
| TE3 | 0,13 | 69 | 0,12 | 50 | 0,11 | 9 |
| TE4 | 0,12 | 50 | 0,17 | 29 | 0,09 | 11 |
| TE5 | 0,17 | 41 | 0,26 | 23 | 0,14 | 14 |
| TE6 | 0,22 | 32 | 0,17 | 35 | 0,15 | 13 |
| TE7 | 0,26 | 27 | 0,17 | 41 | 0,13 | 23 |
| TE8 | 0,11 | 36 | 0,22 | 27 | 0,1 | 10 |
| TE9 | 0,2 | 40 | 0,17 | 29 | 0,15 | 13 |
| TE10 | 0,16 | 31 | 0,18 | 33 | 0,13 | 8 |
| TE11 | | | | | | |
| TE12 | | | | | | |

Tabla 67: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 10 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| TF1 | 0,15 | 60 | 0,13 | 31 | 0,08 | 25 |
| TF2 | 0,21 | 43 | 0,33 | 21 | 0,16 | 12 |
| TF3 | 0,16 | 31 | 0,16 | 31 | 0,16 | 25 |
| TF4 | 0,15 | 40 | 0,18 | 39 | 0,12 | 25 |
| TF5 | 0,2 | 30 | 0,19 | 31 | 0,1 | |
| TF6 | 0,21 | 43 | 0,34 | 20 | 0,16 | 12 |
| TF7 | 0,16 | 44 | 0,19 | 37 | 0,12 | 25 |
| TF8 | 0,2 | 30 | 0,2 | 30 | 0,1 | 20 |
| TF9 | | | | | | |
| TF10 | | | | | | |
| TF11 | | | | | | |
| TF12 | | | | | | |

Tabla 68: Superficie (mm²) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones control de 15 días

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área |
| LX1 | 0,33 | 18 | 0,55 | 14 | 0,34 | 9 |
| LX2 | 0,29 | 24 | 0,75 | 12 | 0,44 | 7 |
| LX3 | | | | | | |
| LX4 | 0,33 | 24 | 0,56 | 11 | 0,29 | 10 |
| LX5 | | | | | | |
| LX6 | | | | | | |
| LX7 | | | | | | |
| LX8 | | | | | | |
| LX9 | 0,32 | 19 | 0,49 | 14 | 0,19 | 21 |
| LX10 | 0,16 | 19 | 0,5 | 10 | 0,34 | 6 |
| LX11 | 0,15 | 27 | 0,48 | 17 | 0,29 | 14 |
| LX12 | 0,34 | 18 | 0,5 | 14 | 0,25 | 16 |
| LX13 | 0,34 | 18 | 0,54 | 15 | 0,33 | 9 |
| LX14 | | | | | | |
| LX15 | | | | | | |

Tabla 69: Superficie (mm²) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 15 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área |
| LA1 | 0,27 | 26 | 0,41 | 19 | 0,39 | 8 |
| LA2 | 0,53 | 15 | 0,37 | 19 | 0,18 | 6 |
| LA3 | 0,4 | 17 | 0,31 | 22 | 0,2 | 5 |
| LA4 | 0,79 | 10 | 0,31 | 22 | 0,22 | 4 |
| LA5 | 0,75 | 8 | 0,72 | 8 | 0,31 | 6 |
| LA6 | 0,98 | 7 | 0,48 | 17 | 0,27 | 7 |
| LA7 | 0,84 | 11 | 0,66 | 17 | 0,39 | 3 |
| LA8 | 0,63 | 17 | 0,32 | 25 | 0,22 | 9 |
| LA9 | 0,65 | 11 | 0,45 | 13 | 0,24 | 8 |
| LA10 | 0,69 | 10 | 0,42 | 19 | 0,29 | 3 |
| LA11 | | | | | | |
| LA12 | | | | | | |

Tabla 70: Superficie (mm²) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 15 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área |
| LB1 | 0,26 | 23 | 0,51 | 20 | 0,34 | 5 |
| LB2 | 0,48 | 14 | 0,49 | 14 | 0,25 | 4 |
| LB3 | | | | | | |
| LB4 | | | | | | |
| LB5 | 0,34 | 20 | 0,22 | 27 | 0,13 | 15 |
| LB6 | 0,61 | 11 | 0,45 | 27 | 0,24 | 4 |
| LB7 | 0,77 | 12 | 0,32 | 25 | 0,19 | 10 |
| LB8 | 0,72 | 12 | 0,34 | 26 | 0,23 | |
| LB9 | 0,87 | 10 | 0,41 | 15 | 0,22 | 4 |
| LB10 | 0,61 | 11 | 0,22 | | 0,15 | |
| LB11 | | | | | | |
| LB12 | | | | | | |

Tabla 71: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 15 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| LD1 | 0,54 | 7 | 0,49 | 16 | 0,22 | 0 |
| LD2 | 0,55 | 16 | 0,32 | 28 | 0,17 | 0 |
| LD3 | 0,45 | | 0,3 | | 0,21 | |
| LD4 | 0,9 | 10 | 0,26 | 34 | 0,21 | 5 |
| LD5 | | | | | | |
| LD6 | 0,75 | 4 | 0,19 | | 0,17 | 0 |
| LD7 | 0,58 | 14 | 0,32 | 25 | 0,18 | 0 |
| LD8 | 0,52 | 11 | 0,43 | 16 | 0,19 | 0 |
| LD9 | 0,47 | 15 | 0,45 | 18 | 0,46 | 2 |
| LD10 | | | | | | |
| LD11 | 0,47 | 15 | 0,86 | 16 | 0,3 | 0 |
| LD12 | 0,58 | 12 | 0,4 | 22 | 0,22 | 4 |

Tabla 72: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 15 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| LE1 | 0,74 | 12 | 0,24 | 37 | 0,29 | 7 |
| LE2 | 0,43 | 14 | 0,64 | 17 | 0,35 | 0 |
| LE3 | 0,31 | 16 | 0,37 | 29 | 0,36 | 3 |
| LE4 | 0,35 | 11 | 0,43 | 21 | 0,35 | 6 |
| LE5 | 0,99 | 6 | 0,51 | 20 | 0,19 | 0 |
| LE6 | 1,06 | 10 | 0,55 | 18 | 0,25 | 4 |
| LE7 | | | | | | |
| LE8 | 0,72 | 12 | 0,24 | 33 | 0,28 | 3 |
| LE9 | 0,5 | 10 | 0,43 | 21 | 0,35 | 3 |
| LE10 | | | | | | |
| LE11 | | | | | | |
| LE12 | | | | | | |

Tabla 73: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 15 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| LF1 | 0,69 | 20 | 0,24 | 50 | 0,15 | 20 |
| LF2 | 0,78 | 13 | 0,7 | 16 | 0,32 | 6 |
| LF3 | 0,61 | 10 | 0,67 | 19 | 0,26 | 8 |
| LF4 | 0,72 | 12 | 0,47 | 25 | 0,26 | 11 |
| LF5 | | | | | | |
| LF6 | 0,7 | 14 | 0,6 | 20 | 0,3 | 7 |
| LF7 | 0,55 | 13 | 0,63 | 24 | 0,2 | 5 |
| LF8 | | | | | | |
| LF9 | 0,53 | 17 | 0,44 | 29 | 0,28 | 7 |
| LF10 | 0,54 | 13 | 0,58 | 21 | 0,25 | 4 |
| LF11 | | | | | | |
| LF12 | | | | | | |

Tabla 74: Superficie (mm²) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones control de 21 días

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área |
| VX1 | | | | | | |
| VX2 | 0,42 | 9 | 0,42 | 21 | 0,31 | 6 |
| VX3 | 0,53 | 11 | 0,54 | 11 | 0,32 | 3 |
| VX4 | 1,26 | 3 | 0,97 | 8 | 0,31 | 3 |
| VX5 | 1,19 | 4 | 0,53 | 21 | 0,21 | 0 |
| VX6 | 0,83 | 7 | 0,75 | 15 | 0,21 | 0 |
| VX7 | | | | | | |
| VX8 | 1,08 | 5 | 0,53 | 19 | 0,2 | 0 |
| VX9 | 0,63 | 9 | 0,54 | 11 | 0,28 | 4 |
| VX10 | 0,98 | 6 | 0,65 | 17 | 0,21 | 0 |
| VX11 | | | | | | |
| VX12 | | | | | | |
| VX13 | | | | | | |
| VX14 | | | | | | |

Tabla 75: Superficie (mm²) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 21 días expuestos a CEMc de 9,1 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área |
| VA1 | | | | | | |
| VA2 | | | | | | |
| VA3 | | | | | | |
| VA4 | 0,68 | 6 | 0,53 | 15 | 0,32 | 0 |
| VA5 | | | | | | |
| VA6 | 1,28 | 6 | 1,08 | 9 | 0,3 | 3 |
| VA7 | 0,83 | 7 | 0,75 | 15 | 0,21 | 0 |
| VA8 | | | | | | |
| VA9 | | | | | | |
| VA10 | | | | | | |
| VA11 | | | | | | |
| VA12 | | | | | | |

Tabla 76: Superficie (mm²) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 21 días expuestos a CEMc de 13,6 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área | mm ² | Vesículas / área |
| VB1 | 0,42 | 17 | 0,64 | 13 | 0,78 | 1 |
| VB2 | 0,6 | 13 | 0,64 | 17 | 0,21 | 0 |
| VB3 | 0,75 | 11 | 0,52 | 19 | 0,22 | 5 |
| VB4 | 0,81 | 7 | 0,78 | 10 | 0,21 | 0 |
| VB5 | 1,61 | 5 | 0,68 | 18 | 0,22 | 0 |
| VB6 | 1,28 | 6 | 1,08 | 9 | 0,3 | 3 |
| VB7 | 0,82 | 9 | 0,59 | 17 | 0,17 | 0 |
| VB8 | 0,36 | 17 | 0,32 | 28 | 0,34 | 0 |
| VB9 | 0,83 | 8 | 0,64 | 14 | 0,3 | 0 |
| VB10 | 0,8 | 9 | 0,6 | 17 | 0,28 | 0 |
| VB11 | | | | | | |
| VB12 | | | | | | |

Tabla 77: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 21 días expuestos a CEMc de 22,7 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| VD1 | 0,29 | 17 | 0,21 | 33 | 0,07 | 14 |
| VD2 | 0,38 | 16 | 0,3 | 27 | 0,08 | 12 |
| VD3 | 0,31 | 22 | 0,18 | 50 | 0,08 | 0 |
| VD4 | | | | | | |
| VD5 | 0,33 | 18 | 0,25 | 32 | 0,11 | 9 |
| VD6 | | | | | | |
| VD7 | 0,34 | 18 | 0,26 | 27 | 0,08 | 12 |
| VD8 | 0,32 | 22 | 0,18 | 50 | 0,09 | 0 |
| VD9 | 0,29 | 21 | 0,21 | 38 | 0,09 | 0 |
| VD10 | | | | | | |
| VD11 | | | | | | |
| VD12 | | | | | | |

Tabla 78: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 21 días expuestos a CEMc de 26,2 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| VE1 | 0,75 | 11 | 0,49 | 14 | 0,17 | 6 |
| VE2 | 0,58 | 14 | 0,39 | 18 | 0,25 | 0 |
| VE3 | | | | | | |
| VE4 | 0,5 | 12 | 0,72 | 12 | 0,27 | 0 |
| VE5 | 0,17 | 18 | 0,46 | 20 | 0,2 | 5 |
| VE6 | | | | | | |
| VE7 | 0,74 | 11 | 0,52 | 15 | 0,18 | 6 |
| VE8 | 0,68 | 10 | 0,45 | 18 | 0,22 | 0 |
| VE9 | 0,7 | 9 | 0,5 | 18 | 0,2 | 0 |
| VE10 | | | | | | |
| VE11 | | | | | | |
| VE12 | | | | | | |

Tabla 79: Superficie (mm^2) de cada una de las áreas establecidas en la glándula pineal y densidad vesicular (vesículas / área) en cada una de ellas. Embriones de 21 días expuestos a CEMc de 31,1 mT

| EMBRIÓN | ÁREA APICAL | | ÁREA ANTERIOR | | ÁREA POSTERIOR) | |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área | mm^2 | Vesículas / área |
| VF1 | 0,85 | 7 | 0,68 | 12 | 0,42 | 2 |
| VF2 | | | | | | |
| VF3 | 0,28 | 18 | 0,31 | 22 | 0,21 | 0 |
| VF4 | | | | | | |
| VF5 | | | | | | |
| VF6 | 0,35 | 17 | 0,4 | 20 | 0,29 | 0 |
| VF7 | 0,49 | 10 | 0,45 | 15 | 0,28 | 0 |
| VF8 | | | | | | |
| VF9 | | | | | | |
| VF10 | | | | | | |
| VF11 | | | | | | |
| VF12 | | | | | | |

5.- RESULTADOS

5.1.- EFECTO DEL CAMPO ELECTROMAGNÉTICO CONTINUO EN EL DESARROLLO PONDO-ESTATURAL DEL EMBRIÓN DE POLLO

5.1.1 PESO

Las tablas 80 a 82 se expresan los resultados como la media (m) y la desviación estándar (DE) de los valores del peso de los embriones (controles y expuestos) en cada una de las edades estudiadas (10, 15 y 21 días).

Tabla 80: Peso, en gramos, de los embriones de 10 días de los grupos control y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 15 | 12 | 12 | 12 | 10 | 9 |
| m | 2,86 | 3,54 | 2,87 | 3,19 | 2,93 | 2,41 |
| DE | 0,42 | 0,31 | 0,25 | 0,24 | 0,27 | 0,43 |

DE: desviación estándar m: media p<0,01 n: número de embriones

Tabla 81: Peso, en gramos, de los embriones de 15 días de los grupos control y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 13 | 12 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| m | 14,41 | 14,85 | 14,45 | 13,93 | 12,58 | 12,71 |
| DE | 1,94 | 0,96 | 1,22 | 1,98 | 0,93 | 1,47 |

DE: desviación estándar m: media p<0,0007 n: número de embriones

Tabla 82: Peso, en gramos, de los embriones de 21 días de los grupos control y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 12 | 11 | 11 | 11 | 11 | 10 |
| m | 46,91 | 37,62 | 39,73 | 40,48 | 42,25 | 32,38 |
| DE | 3,27 | 2,41 | 3,26 | 3,22 | 3,43 | 4,2 |

DE: desviación estándar m: media p<0,01 n: número de embriones

A los 10 días los embriones expuestos, con excepción del grupo 31,1 mT, presentan un peso superior al de los controles. A los 15 días, solo poseen un peso superior al de los controles los grupos expuestos a CEMc de me-

nor intensidad. A los 21 días, todos los grupos de embriones expuestos presentan un valor del peso inferior al de los controles.

Al realizar el test de comparaciones múltiples se detecta que las diferencias existentes entre los grupos de 31,1 mT y los controles a los 10 y a los 21 días son estadísticamente significativas.

5.1.2 TALLA

En las tablas 83, 84 y 85 se expresan la media y la desviación estándar de los resultados obtenidos para la variable talla de los distintos grupos de embriones (controles y expuestos a CEMc) a cada una de las edades estudiadas.

Tabla 83: Talla, en milímetros, de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 15 | 12 | 12 | 12 | 10 | 9 |
| m | 40,13 | 41,27 | 41 | 43,91 | 42,1 | 38,89 |
| DE | 3,43 | 2,05 | 2 | 1,56 | 2,38 | 2,26 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0002 n: número de embriones

Tabla 84: Talla en milímetros de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 13 | 12 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| m | 69,15 | 68,33 | 69,36 | 68,42 | 66,33 | 67,08 |
| DE | 5,54 | 6,8 | 2,94 | 4,5 | 3,72 | 4,2 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,6130 n: número de embriones

Tabla 85: Talla en milímetros de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 12 | 11 | 11 | 11 | 11 | 10 |
| m | 94,63 | 99,45 | 88,63 | 94,45 | 85,45 | 97,5 |
| DE | 6,87 | 1,86 | 8,07 | 4,55 | 4,96 | 2,22 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0002 n: número de embriones

El análisis de la varianza muestra que las diferencias que se aprecian entre los embriones expuestos y los controles, tanto a los 10 como a los 21 días, son estadísticamente significativas. Sin embargo, realizadas las pruebas de comparación múltiple dos a dos, ninguno de los valores resulta estadísticamente significativo.

5.1.3.- ESTADIO DE DESARROLLO SEGÚN HAMBURGER-HAMILTON, (HH)

Las tablas 86, 87 y 88 muestran la media y la desviación estándar del estadio de los embriones (controles y expuestos a CEMc) en cada una de las etapas del desarrollo estudiadas.

Tabla 86: Estadio de desarrollo (HH) de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 15 | 12 | 12 | 12 | 10 | 9 |
| m | 35,87 | 36 | 35,91 | 35,91 | 35,8 | 35,89 |
| DE | 0,51 | 0 | 0,29 | 0,29 | 0,42 | 0,33 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,8697 n: número de embriones

Tabla 87: Estadio de desarrollo (HH) de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 13 | 12 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| m | 40,71 | 40,91 | 40,73 | 40,83 | 40,58 | 40,83 |
| DE | 0,91 | 0,29 | 0,65 | 0,39 | 0,67 | 0,39 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,6213 n: número de embriones

Tabla 88: Estadio de desarrollo (HH) de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc.

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 12 | 11 | 11 | 11 | 11 | 10 |
| m | 46 | 45,73 | 46 | 46 | 45,9 | 46 |
| DE | 0 | 0,9 | 0 | 0 | 0,3 | 0 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,68 n: número de embriones

Las diferencias que se observan entre los grupos de embriones expuestos y los controles, no son estadísticamente significativas en ninguna de las etapas del desarrollo estudiadas.

5.2 EFECTO DEL CAMPO ELECTROMAGNÉTICO CONTINUO EN LAS DIMENSIONES DE LA GLÁNDULA PINEAL

5.2.1 DISTANCIAS

Se han determinado en los embriones de 10, 15 y 21 días:

- Distancias anteroposterior de la glándula pineal (DAP) y de su luz (DAPL), así como la relación entre ambas (DAPL/DAP).
- Distancias craneocaudal de la glándula pineal (DCC) y de su luz (DCCL), así como la relación entre ambas (DCCL/DCC).

Los resultados se muestran como media (m) y desviación estándar (DE).

DISTANCIA ANTEROPOSTERIOR

En las siguientes tablas se exponen la media y la desviación estándar de los valores obtenidos para la distancia anteroposterior de la glándula pineal (DAP) en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc) a las distintas edades estudiadas.

Tabla 89: Distancia anteroposterior (mm), de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 1,07 | 1,16 | 1,15 | 1,18 | 1,33 | 1,25 |
| DE | 0,10 | 0,09 | 0,20 | 0,09 | 0,08 | 0,13 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0004 n: número de embriones

Tabla 90: Distancia anteroposterior (mm), de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 10 | 8 | 8 |
| m | 1,39 | 1,48 | 1,27 | 1,37 | 1,52 | 1,47 |
| DE | 0,21 | 0,13 | 0,37 | 0,14 | 0,13 | 0,16 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,1590 n: número de embriones

Tabla 91: Distancia anteroposterior (mm), de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 7 |
| m | 2,26 | 2,33 | 2,08 | 1,30 | 1,69 | 1,72 |
| DE | 0,24 | 0,30 | 0,29 | 0,07 | 0,17 | 0,36 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0001 n: número de embriones

Las diferencias detectadas entre los grupos de embriones expuestos y el control, tanto a los 10 y como a los 21 días (tablas 89, 91) son estadísticamente significativas. Esto no ocurre con los resultados obtenidos entre los distintos grupos a los 15 días (tabla 90).

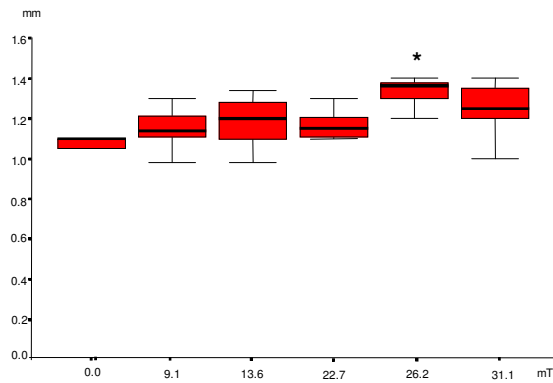


Figura 23. Análisis estadístico de la distancia anteroposterior (mm) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y a expuestos a 9,1 mT y 13,6 mT

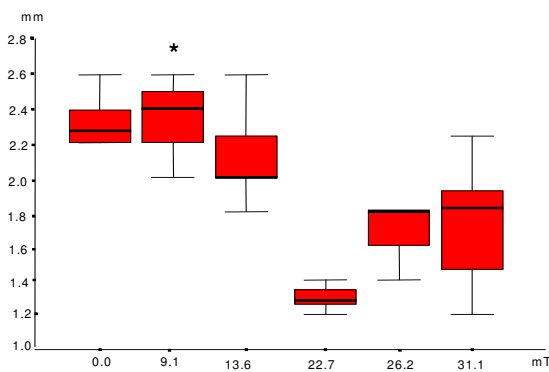


Figura 24. Análisis estadístico de la distancia anteroposterior (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

A los 10 días, todos los grupos de embriones expuestos presentan una distancia anteroposterior superior a la de los controles. Al aplicar la prueba de comparaciones múltiples se observa (Figura 23) que solo son estadísticamente significativas las diferencias que se establecen entre el grupo de expuestos a 26,2 mT, el grupo control y los grupos expuestos a 9,1 y 13,6 mT.

A los 21 días ocurre lo contrario que a los 10 días. Todos los embriones de los grupos expuestos a CEMc (con excepción del grupo de 9,1 mT), presenta una distancia anteroposterior inferior a la de los controles. Sin embargo, al aplicar la prueba de comparaciones dos a dos, las únicas diferencias estadísticamente significativas que se detectan son las que se establecen (Figura 24) entre el grupo de expuestos a 9,1 mT, los controles y el resto de grupos de embriones expuestos.

DISTANCIA ANTEROPOSTERIOR DE LA LUZ

En las siguientes tablas (92, 93 y 94) se muestran la media y la desviación estándar de los valores determinados para la distancia anteroposterior de la luz (DAPL) de la glándula pineal, en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc) a las distintas edades.

Tabla 92: Distancia anteroposterior de la luz (mm) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,80 | 0,77 | 0,75 | 0,79 | 0,96 | 0,78 |
| DE | 0,17 | 0,13 | 0,18 | 0,15 | 0,13 | 0,10 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0439 n: número de embriones

Tabla 93: Distancia anteroposterior de la luz (mm), de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,97 | 0,66 | 0,75 | 0,70 | 0,93 | 0,89 |
| DE | 0,09 | 0,10 | 0,16 | 0,22 | 0,19 | 0,26 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0038 n: número de embriones

Tabla 94: Distancia anteroposterior de la luz (mm), de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 7 |
| m | 1,53 | 1,55 | 1,30 | 0,77 | 1,03 | 1,34 |
| DE | 0,16 | 0,13 | 0,15 | 0,05 | 0,10 | 0,31 |

DE: desviación estándar m media p= 0,000 n: número de embriones

Las diferencias que se aprecian entre los distintos grupos de embriones expuestos y el control, a cada una de las edades, son estadísticamente significativas.

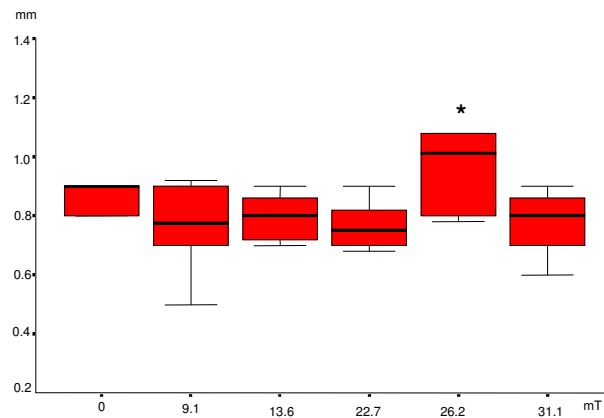


Figura 25. Análisis estadístico de la distancia anteroposterior de la luz (mm) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

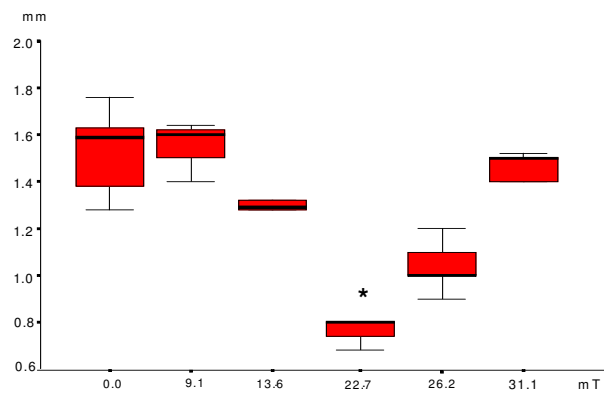


Figura 26. Análisis estadístico de la distancia anteroposterior de la luz (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

A los 10 días, solo los embriones del grupo de expuestos a 26,2 mT presentan una distancia anteroposterior de la luz de la pineal mayor que la del grupo control y el resto de grupos de embriones expuestos. Realizadas las comparaciones múltiples dos a dos, a los resultados obtenidos, se observa que todas las diferencias son estadísticamente significativas (Figura 25).

A los 21 días ocurre algo similar, pero en este caso es el grupo de embriones expuestos a 22,7 mT quien presenta un valor inferior al grupo control y al resto de grupos de embriones expuestos. Realizadas las comparaciones múltiples dos a dos, a los resultados obtenidos, se observa que las diferencias son estadísticamente significativas (Figura 26).

Al aplicar la misma prueba a los resultados obtenidos entre los distintos grupos de embriones, a los 15 días de desarrollo, no se han detectado diferencias estadísticamente significativas.

➤ **Relación porcentual entre distancia anteroposterior de la luz y distancia anteroposterior**

Las tablas 95, 96 y 97 exponen la media y la desviación estándar de los valores obtenidos para la relación porcentual entre la distancia anteroposterior de la luz glandular y la de la pared glandular (DAPL/DAP) en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc) a las distintas edades estudiadas.

Tabla 95: Relación DAPL/DAP de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,74 | 0,67 | 0,64 | 0,66 | 0,72 | 0,62 |
| DE | 0,12 | 0,07 | 0,09 | 0,06 | 0,08 | 0,05 |

DE: desviación estándar m media p= 0,0240 n: número de embriones

Tabla 96: Relación DAPL/DAP de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,72 | 0,45 | 0,71 | 0,53 | 0,62 | 0,60 |
| DE | 0,07 | 0,06 | 0,44 | 0,15 | 0,13 | 0,12 |

DE: desviación estándar m media p= 0,0774 n: número de embriones

Tabla 97: Relación DAPL/DAP, de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 7 |
| m | 0,68 | 0,67 | 0,63 | 0,59 | 0,63 | 0,77 |
| DE | 0,04 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,13 | 0,11 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0002 n: número de embriones

Solo son estadísticamente significativas las diferencias que se aprecian entre los distintos grupos de embriones expuestos y el control, a los 10 y 21 días de desarrollo.

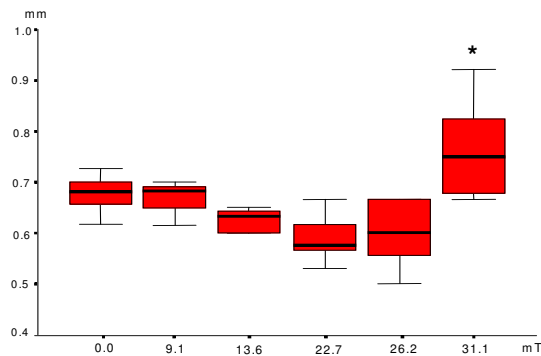


Figura 27. Análisis estadístico de la relación DAPL/DAP (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto al resto de expuestos

A los 10 días todos los grupos de embriones expuestos presentan una relación DAPL/DAP inferior a la de los controles. Realizadas las comparaciones dos a dos, ninguna de estas diferencias resulta estadísticamente significativa.

A los 21 días ocurre lo mismo que a los 10, salvo con el grupo de embriones expuesto a 31,1 mT que presentan una relación DAPL/DAP superior a la del resto de grupos. Al aplicar la prueba de las comparaciones dos a dos, éstas últimas diferencias son estadísticamente significativas con la salvedad de las observadas con respecto al grupo control (Figura 27).

DISTANCIA CRANEOCAUDAL

En las tablas siguientes (98, 99 y 100) se muestran la media y la desviación estándar de los valores determinados para la distancia craneocaudal (DCC) de la glándula pineal en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc) a las distintas edades.

Tabla 98: Distancia craneocaudal (mm), de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,51 | 0,55 | 0,45 | 0,53 | 0,43 | 0,46 |
| DE | 0,02 | 0,08 | 0,05 | 0,07 | 0,08 | 0,06 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,0240$ n: número de embriones

Tabla 99: Distancia craneocaudal (mm), de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,78 | 0,80 | 0,88 | 0,83 | 0,82 | 0,85 |
| DE | 0,12 | 0,09 | 0,19 | 0,11 | 0,07 | 0,12 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,5885$ n: número de embriones

Tabla 100: Distancia craneocaudal (mm), de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 7 |
| m | 1,16 | 1,23 | 0,93 | 0,64 | 0,71 | 0,74 |
| DE | 0,20 | 0,16 | 0,17 | 0,13 | 0,13 | 0,19 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,0001$ n: número de embriones

A los 10 y 21 días (tablas 98,100) el análisis de la varianza muestra que las diferencias detectadas entre los distintos grupos de embriones expuestos y los controles, son estadísticamente significativas. Esto no ocurre con los resultados obtenidos a los 15 días.

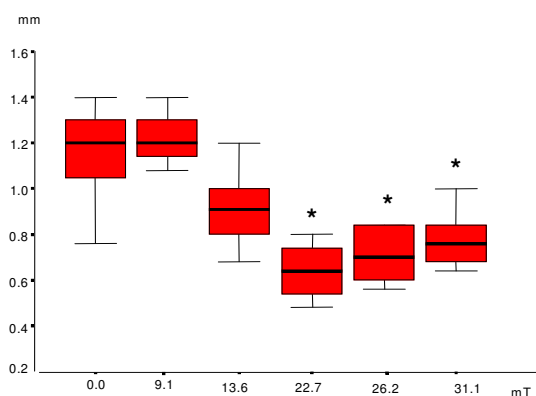


Figura 28. Análisis estadístico de la distancia craneocaudal (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controlados y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y expuestos a 9,1 mT y 13,6 mT

A los 10 días la respuesta es muy variable. En los grupos expuestos a 9,1 y 22,7 mT los valores de la distancia craneocaudal son superiores a los de los controles; en los grupos expuestos a 13,6 mT, 26,2 mT y 31,1 mT, este mismo valor, es inferior al de los controles. Realizadas las comparaciones múltiples dos a dos, entre los distintos grupos podemos decir que ninguna de las diferencias apreciadas es estadísticamente significativa.

A los 21 días, solo el grupo de expuestos a 9,1 mT presenta una distancia craneocaudal superior a la de los controles. Realizada la prueba de las comparaciones múltiples se aprecia que la disminución, en este parámetro, que existe en los grupos expuestos a las intensidades altas (22,7 mT, 26,2 mT y 31,1 mT) con respecto a los controles y resto de grupos expuestos (9,1 mT y 13,6 mT), son estadísticamente significativas (Figura 28).

DISTANCIA CRANEOCAUDAL DE LA LUZ

En las tablas 101, 102 y 103 se muestran la media y la desviación estándar de los valores determinados para la distancia craneocaudal de la luz (DCCL) de la glándula pineal, en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc) a las distintas edades.

Tabla 101: Distancia craneocaudal de la luz (mm), de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,51 | 0,55 | 0,45 | 0,53 | 0,43 | 0,46 |
| DE | 0,02 | 0,08 | 0,05 | 0,07 | 0,08 | 0,06 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0240 n: número de embriones

Tabla 102: Distancia craneocaudal de la luz (mm), de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,78 | 0,80 | 0,88 | 0,83 | 0,82 | 0,85 |
| DE | 0,12 | 0,09 | 0,19 | 0,11 | 0,07 | 0,12 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,5885 n: número de embriones

Tabla 103: Distancia craneocaudal de la luz (mm), de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 7 |
| m | 0,85 | 0,91 | 0,80 | 0,50 | 0,55 | 0,66 |
| DE | 0,19 | 0,16 | 0,18 | 0,10 | 0,08 | 0,18 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0001 n: número de embriones

Como en el apartado anterior las diferencias que se aprecian entre los distintos grupos de embriones a los 10 y 21 días son estadísticamente significativas.

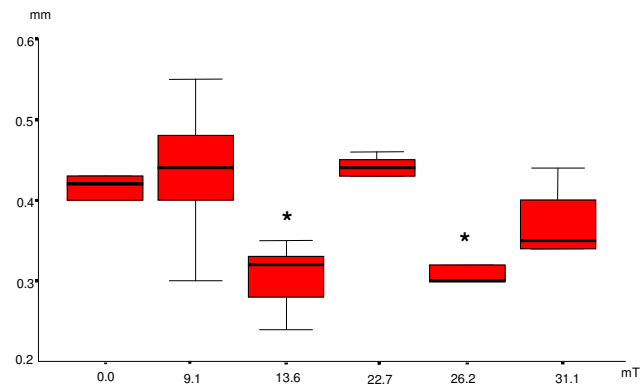


Figura 29. Análisis estadístico de la distancia craneocaudal de la luz (mm) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

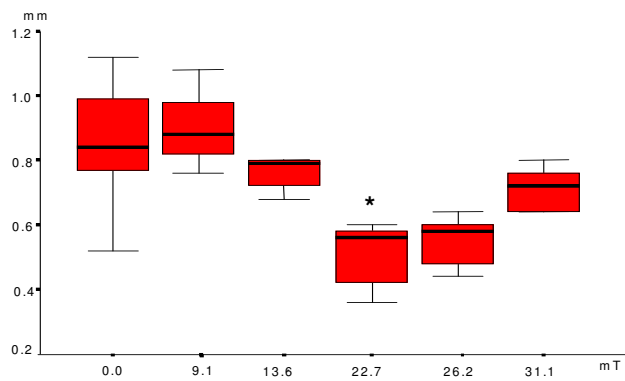


Figura 30. Análisis estadístico de la distancia craneocaudal de la luz (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles y expuestos a 9,1 mT y 13,6 mT

A los 10 días, los resultados coinciden con los obtenidos para la distancia craneocaudal de la glándula. En este caso, al aplicar la prueba de las comparaciones múltiples dos a dos, la disminución de la distancia craneocaudal de la luz glandular que presentan los embriones de los grupos de 13,6 y 26,2 mT con respecto a los controles y resto de grupos expuestos, es estadísticamente significativa (Figura 29).

A los 21 días ocurre lo mismo que a los 10. Los resultados obtenidos para la distancia craneocaudal de la luz glandular coinciden con los de la distancia craneocaudal de la pineal. Sin embargo, al aplicar la prueba de las comparaciones dos a dos, se detecta que solo es estadísticamente significativa la diferencia que presenta el grupo de expuestos a 22,7 mT con respecto al grupo control y a los grupos expuestos a 9,1 y 13,6 mT (Figura 30).

➤ **Relación porcentual entre la distancia craneocaudal de la luz y la distancia craneocaudal de la glándula**

Las tablas 104, 105 y 106 muestran la media y la desviación estándar de los valores obtenidos para la relación porcentual entre la distancia craneocaudal de la luz glandular y la de la pared glandular (DCCL/DCC) en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc) a las distintas edades estudiadas.

Tabla 104: Relación DCC/DCCL de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,82 | 0,78 | 0,69 | 0,80 | 0,68 | 0,81 |
| DE | 0,04 | 0,11 | 0,09 | 0,08 | 0,07 | 0,03 |

DE: desviación estándar m: media $p=0,0004$ n: número de embriones

Tabla 105: Relación DCC/DCCL de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,83 | 0,81 | 0,76 | 0,82 | 0,83 | 0,82 |
| DE | 0,07 | 0,09 | 0,09 | 0,10 | 0,05 | 0,06 |

DE: desviación estándar m: media $p=0,3649$ n: número de embriones

Tabla 106: Relación DCC/DCCL de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 7 |
| m | 0,74 | 0,75 | 0,85 | 0,79 | 0,76 | 0,87 |
| DE | 0,14 | 0,19 | 0,06 | 0,08 | 0,04 | 0,06 |

DE: desviación estándar m: media $p=0,1044$ n: número de embriones

Realizado el análisis de la varianza solo resultan estadísticamente significativas las diferencias existentes, a los 10 días, entre los diferentes grupos de embriones expuestos y el control: todos los grupos de embriones expuestos presentan una relación DCCL/DCC, inferior a la de los contro-

les Sin embargo al aplicar la prueba de comparaciones dos a dos, ninguna de estas diferencias ha resultado estadísticamente significativa.

5.2.2 DIÁMETROS Y SEGMENTOS

DIAMETRO VERTICAL

Se ha determinado la longitud, en milímetros, del diámetro vertical y de sus segmentos: superior, inferior y de la luz (porcentajes totales,%) en todos los embriones y a cada una de las edades.

En las tablas 107, 108 y 109, los resultados se expresan como media y desviación estándar de todos los valores obtenidos del diámetro vertical de la pineal en todos los grupos de embriones (controles y expuestos a CEMc), para cada una de las edades estudiadas.

Tabla 107: Diámetro vertical (mm) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 0,52 | 0,50 | 0,45 | 0,51 | 0,40 | 0,44 |
| DE | 0,67 | 0,14 | 0,12 | 0,10 | 0,05 | 0,07 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0645 n: número de embriones

Tabla 108: Diámetro vertical (mm) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 0,75 | 0,74 | 0,81 | 0,77 | 0,75 | 0,83 |
| DE | 0,13 | 0,13 | 0,16 | 0,10 | 0,08 | 0,11 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,5069 n: número de embriones

Tabla 109: Diámetro vertical (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 0,93 | 0,97 | 0,88 | 0,50 | 0,63 | 0,81 |
| DE | 0,15 | 0,13 | 0,16 | 0,10 | 0,06 | 0,13 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0001 n: número de embriones

Tras el análisis de la varianza solo se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de embriones expuestos y el control a los 21 días de desarrollo.

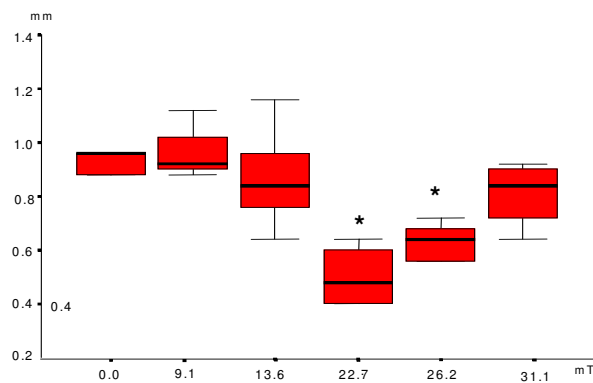


Figura 31. Análisis estadístico del diámetro vertical (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)

* Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

Así, a los 21 días (con excepción del grupo de 9,1 mT) todos los grupos de embriones expuestos poseen un diámetro vertical inferior al grupo control. Realizadas las comparaciones múltiples dos a dos, se observa que solo son estadísticamente significativas las diferencias que se aprecian entre los grupos de embriones expuestos a 22.7 y 26.2 mT, el resto de grupos expuestos y los controles (Figura 31).

➤ **Segmento superior del diámetro vertical**

Las tablas 110, 111 y 112 muestran la media y desviación estándar de los valores del porcentaje obtenidos para el segmento superior del diámetro vertical de la glándula pineal en todos los grupos de embriones y en cada una de las edades estudiadas.

Tabla 110: Segmento superior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 20,78 | 20,30 | 24,5 | 22 | 42,89 | 20,71 |
| DE | 4,44 | 2,00 | 6 | 5,17 | 16,54 | 2,75 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,0013$ n: número de embriones

Tabla 111: Segmento superior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 19,5 | 19,11 | 20,11 | 16,75 | 21,14 | 16,87 |
| DE | 8,19 | 7,30 | 6,01 | 7,54 | 6,26 | 3,04 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,8247$ n: número de embriones

Tabla 112: Segmento superior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 11,75 | 13,67 | 14,90 | 21,50 | 21,83 | 16,25 |
| DE | 4,03 | 0,58 | 6,23 | 3,02 | 5,60 | 2,22 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,0008$ n: número de embriones

El análisis de la varianza muestra que las diferencias que aparecen entre los grupos expuestos y los controles tanto a los 10 como a los 21 días son estadísticamente significativas, cosa que no ocurre con los grupos de 15 días de desarrollo.

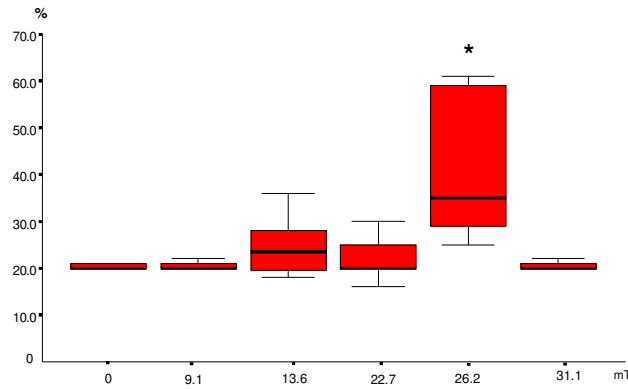


Figura 32. Análisis estadístico del segmento superior del diámetro vertical (%) de la luz de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

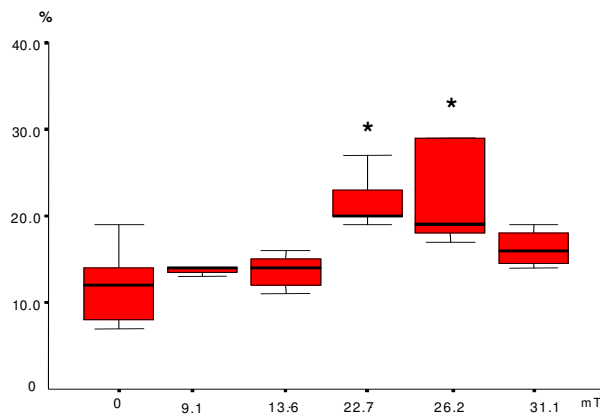


Figura 33. Análisis estadístico del segmento superior del diámetro vertical (%) de la luz de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles

A los 10 días, solo el grupo de expuestos a 9,1mT posee un porcentaje de segmento superior del diámetro vertical inferior al de los controles. Sin embargo al aplicar la prueba de las comparaciones dos a dos, se detecta que solo es estadísticamente significativa la diferencia (Figura 32) que existe entre el grupo de embriones expuestos a 26.2 mT, los controles y el resto de grupos expuestos.

A los 21 días, todos los porcentajes del segmento superior que ostentan los grupos expuestos son superiores a los de los controles. Sin embargo al realizar las comparaciones múltiples dos a dos (Figura 33) observamos que solo son estadísticamente significativas las diferencias que existen entre los grupos de embriones expuestos a 22.7 y 26.2 mT y los controles. Ambos grupos presentan un valor superior al de los controles.

➤ **Segmento de la luz del diámetro vertical de la glándula**

Las tablas 113, 114 y 115 muestran la media y desviación estándar de los valores del porcentaje obtenidos para el segmento de la luz del diámetro vertical de la glándula pineal en todos los grupos de embriones y en cada una de las edades estudiadas.

Tabla 113: Segmento de la luz del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 15,33 | 11,2 | 28 | 14 | 17,56 | 14,86 |
| DE | 3,32 | 1,81 | 15,79 | 3,28 | 6,60 | 3,80 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0056 n: número de embriones

Tabla 114: Segmento de la luz del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 12,37 | 14,78 | 14,11 | 13,5 | 8,86 | 8,75 |
| DE | 3,42 | 3,86 | 4,48 | 6,12 | 1,95 | 2,43 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0104 n: número de embriones

Tabla 115: Segmento de la luz del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 12,62 | 11,00 | 14,30 | 17,50 | 10,17 | 12,25 |
| DE | 3,07 | 2,00 | 4,50 | 2,88 | 2,48 | 1,71 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0179 n: número de embriones

Realizado el análisis de la varianza observamos diferencias estadísticamente significativas a todas las edades estudiadas.

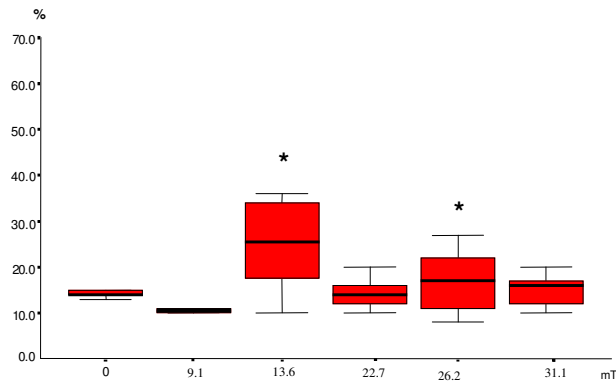


Figura 34. Análisis estadístico del segmento de la luz del diámetro vertical (%) de la luz de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

A los 10 días, el segmento de la luz del diámetro vertical es mayor en los grupos de embriones expuestos a intensidades de 13,6 y 26,2 mT, que en el control y el resto de grupos expuestos. Al aplicar la prueba de las comparaciones múltiples dos a dos, se detecta que estas diferencias son estadísticamente significativas (Figura 34), con excepción de la que se establece entre los propios grupos (entre 13,6 y 26,2 mT).

Tanto a los 15 y como a los 21 días los resultados son variables. Al aplicar la prueba de las comparaciones múltiples dos a dos entre los grupos, cada una de las edades, las diferencias detectadas no son estadísticamente significativas.

➤ **Segmento inferior del diámetro vertical de la glándula**

Las tablas 116, 117 y 118 muestran la media y desviación estándar de los valores del porcentaje obtenidos para el segmento inferior del diámetro vertical de la glándula pineal en todos los grupos de embriones y en cada una de las edades estudiadas.

Tabla 116: Segmento inferior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 63 | 68 | 56 | 63,33 | 40,11 | 64,43 |
| DE | 7,73 | 3,30 | 12,27 | 2,78 | 15,19 | 5,22 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0001 n: número de embriones

Tabla 117: Segmento inferior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 67,12 | 65,11 | 65 | 69,37 | 69,43 | 74,12 |
| DE | 10,02 | 6,90 | 4,12 | 11,53 | 7,57 | 4,01 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0531 n: número de embriones

Tabla 118: Segmento inferior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 75,37 | 75,33 | 70,90 | 60,83 | 68,17 | 71,75 |
| DE | 3,11 | 1,53 | 8,01 | 3,87 | 3,43 | 2,75 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0008 n: número de embriones

Realizado el análisis de la varianza observamos diferencias estadísticamente significativas en los grupos de embriones expuestos y controles a los 10 y 21 días de desarrollo, cosa que no ocurre con las diferencias entre los grupos a los 15 días de desarrollo.

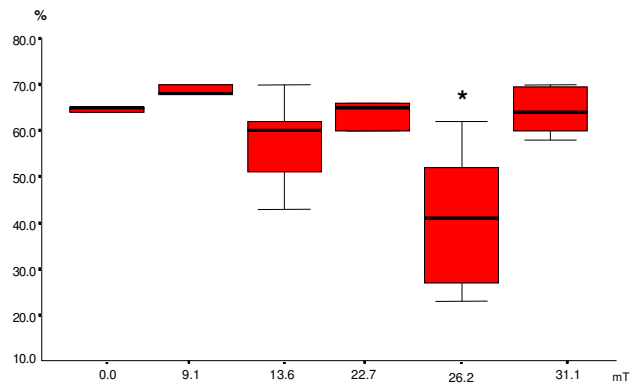


Figura 35. Análisis estadístico del segmento inferior del diámetro vertical (%) de la luz de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

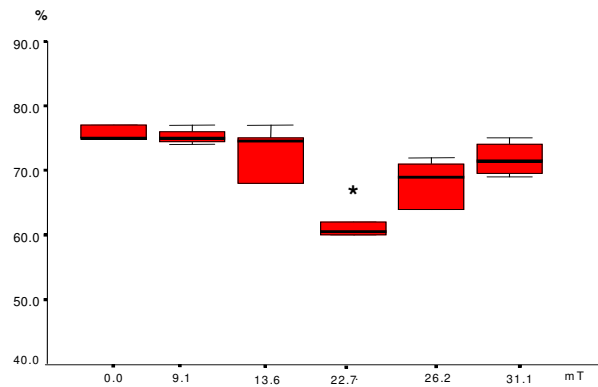


Figura 36. Análisis estadístico del segmento inferior del diámetro vertical (%) de la luz de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

A los 10 días, los resultados son variables. En unos grupos el porcentaje del segmento inferior del diámetro vertical (9,1 mT, 22,7 mT y 31,1 mT) es superior al de los controles y en otros (13,1 mT y 26,2 mT), es inferior. Realizado el análisis de las comparaciones múltiples dos a dos se observa que solo la disminución del porcentaje que ostentan los embriones del grupo de 26,2 mT con respecto a los controles y resto de grupos expuestos, es estadísticamente significativa (Figura 35).

A los 21 días, todos los grupos expuestos poseen un porcentaje del segmento inferior al de los controles. Al aplicar el análisis de las comparaciones múltiples dos a dos resulta, que solo las diferencias que se establecen entre el grupo de expuestos a CEMc de 22,7 mT con los controles y resto de grupos expuestos son estadísticamente significativas (Figura 36).

DIÁMETRO SAGITAL

Se ha determinado la longitud, en milímetros, del diámetro sagital y de sus segmentos: anterior, posterior y de la luz (porcentajes totales,%) en todos los embriones y a cada una de las edades.

En las tablas 119, 120 y 121, los resultados se expresan como media y desviación estándar de todos los valores obtenidos del diámetro sagital de la pineal, en todos los grupos de embriones (controles y expuestos a CEMc) y para cada una de las edades estudiadas.

Tabla 119: Diámetro sagital (mm) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 0,84 | 0,88 | 0,83 | 0,85 | 0,79 | 0,77 |
| DE | 0,07 | 0,06 | 0,23 | 0,12 | 0,11 | 0,06 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,2755$ n: número de embriones

Tabla 120: Diámetro sagital (mm) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 1,00 | 1,03 | 0,94 | 0,83 | 0,98 | 0,89 |
| DE | 0,18 | 0,18 | 0,12 | 0,14 | 0,17 | 0,20 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,1640$ n: número de embriones

Tabla 121: Diámetro sagital (mm) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 1,13 | 1,12 | 0,99 | 0,75 | 0,85 | 0,87 |
| DE | 0,23 | 0,16 | 0,16 | 0,26 | 0,14 | 0,14 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,0141$ n: número de embriones

El análisis de la varianza solo muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de embriones expuestos y el control a los 21 días de desarrollo. En efecto a esta edad los valores del diámetro sagital

son inferiores a los controles en todos los grupos de embriones expuestos, sin embargo, la prueba de comparaciones múltiples no detecta diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos estudiados.

➤ Segmento anterior del diámetro sagital

Las tablas 122, 123 y 124 muestran la media y desviación estándar de los valores del porcentaje obtenidos para el segmento anterior del diámetro sagital de la glándula pineal en todos los grupos de embriones y en cada una de las edades estudiadas.

Tabla 122: Segmento anterior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 46,67 | 40 | 39,5 | 45,22 | 46,9 | 40,5 |
| DE | 17,12 | 13,05 | 9,62 | 9,88 | 13,62 | 3,89 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,6341$ n: número de embriones

Tabla 123: Segmento anterior del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 33 | 59,78 | 58,56 | 48,12 | 46,5 | 50,12 |
| DE | 11,77 | 6,98 | 9,70 | 15,95 | 9,65 | 9,52 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,0005$ n: número de embriones

Tabla 124: Segmento anterior del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 48,00 | 43,67 | 50,89 | 49,83 | 56,67 | 60,75 |
| DE | 20,44 | 28,36 | 16,07 | 4,92 | 22,45 | 6,95 |

DE: desviación estándar m: media $p= 0,2795$ n: número de embriones

El análisis de la varianza solo muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de embriones expuestos y el control, a los 15 días de desarrollo.

En efecto, a los 15 días, el porcentaje del segmento anterior del diámetro sagital, es superior al de los controles en todos los grupos de embriones expuestos. Realizadas las comparaciones múltiples dos a dos se observa que todas estas diferencias son estadísticamente significativas.

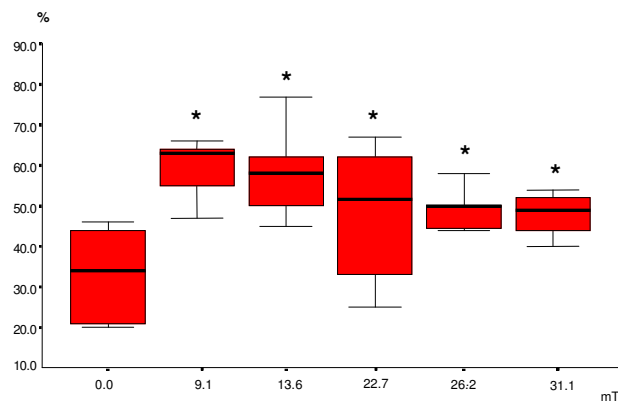


Figura 37. Análisis estadístico del segmento anterior del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles

➤ Segmento de la luz del diámetro sagital

Las tablas 125, 126 y 127 muestran la media y desviación estándar de los valores del porcentaje obtenidos para el segmento de la luz del diámetro sagital de la glándula pineal en todos los grupos de embriones y en cada una de las edades estudiadas.

Tabla 125: Segmento de la luz del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 25,67 | 27,1 | 38,62 | 25,22 | 28,7 | 29,5 |
| DE | 9,27 | 8,94 | 11,90 | 14,21 | 9,29 | 5,96 |

DE: desviación estándar m: media $p=0,2327$ n: número de embriones

Tabla 126: Segmento de la luz del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 30,75 | 8,67 | 10,67 | 23,12 | 14,56 | 16,87 |
| DE | 9,21 | 3,35 | 5,12 | 13,48 | 5,42 | 5,49 |

DE: desviación estándar m: media $p=0,0001$ n: número de embriones

Tabla 127: Segmento de la luz del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 14,87 | 15,33 | 14,67 | 14,33 | 19,17 | 14,75 |
| DE | 11,81 | 3,05 | 3,71 | 7,86 | 8,75 | 3,59 |

DE: desviación estándar m: media $p=0,6145$ n: número de embriones

De forma similar a lo que ocurría con el segmento anterior de este diámetro, el análisis de la varianza solo muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de embriones expuestos y los controles a los 15 días de desarrollo.

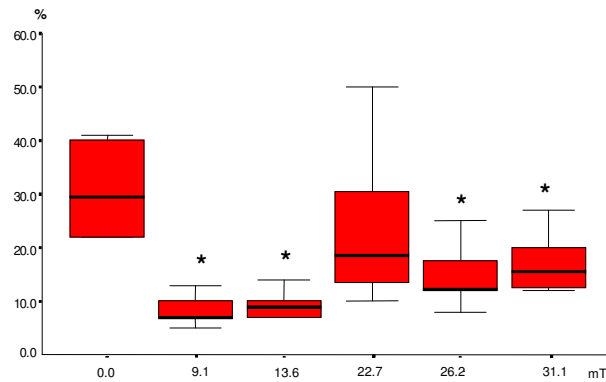


Figura 38. Análisis estadístico del segmento de la luz del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles

En este caso, todos los grupos de embriones expuestos presentan un porcentaje del segmento de luz, inferior al del grupo control. Aplicando la prueba de comparaciones múltiples se observa que todas las diferencias son estadísticamente significativas (Figura 38) con excepción de las apreciadas en el grupo de expuestos a CEMc de 22,7 mT.

➤ **Segmento posterior del diámetro sagital**

Las tablas 128, 129 y 130 muestran la media y desviación estándar de los valores del porcentaje obtenidos para el segmento posterior del diámetro sagital de la glándula pineal en todos los grupos de embriones y en cada una de las edades estudiadas.

Tabla 128: Segmento posterior del diámetro vertical (%) de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 9 | 11 | 9 | 11 | 9 | 7 |
| m | 28,33 | 30,8 | 18,88 | 31,56 | 26,5 | 29,83 |
| DE | 9,01 | 7,98 | 5,05 | 15,76 | 8,77 | 5,34 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0813 n: número de embriones

Tabla 129: Segmento posterior del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 9 | 8 | 7 | 8 |
| m | 35,37 | 30,78 | 30,33 | 28 | 38,62 | 34,37 |
| DE | 10,98 | 6,18 | 9,81 | 7,43 | 6,57 | 9,94 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0866 n: número de embriones

Tabla 130: Segmento posterior del diámetro sagital (%) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 6 | 6 | 4 |
| m | 36,62 | 40,67 | 34,89 | 35,67 | 23,67 | 24,75 |
| DE | 17,92 | 26,50 | 17,47 | 11,50 | 13,99 | 5,12 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,2291 n: número de embriones

Realizado el análisis de la varianza, ninguna de las diferencias observadas entre los grupos de embriones expuestos y los controles, a ninguna de las edades estudiadas, ha resultado ser estadísticamente significativas.

5.3.- EFECTO DEL CAMPO ELECTROMAGNÉTICO CONTINUO SOBRE LA SUPERFICIE DE LA GLÁNDULA PINEAL Y LA DENSIDAD VESICULAR

Para poder evaluar los efectos de los CEMc sobre la superficie glandular, se divide a esta última en zonas a las que denominamos áreas. Tal y como se expresa en el apartado de material y método se considera área a una determinada superficie de la glándula pineal (mm^2), delimitada: por sus propias paredes, los ejes de coordenadas establecidos y/o líneas paralelas a los mismos, (Figuras 20, 21 y 22). Así quedan definidas las áreas: apical, anterior y posterior.

Una vez establecidas estas superficies se procede a determinar su densidad vesicular, es decir, el número de vesículas por área (vesículas / área) en cada una de ellas.

ÁREA APICAL

Las tablas 131, 132 y 133 muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos para el área apical de la glándula pineal en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc), a las tres edades estudiadas.

Tabla 131: Superficie (mm^2) del área apical de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 7 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,23 | 0,23 | 0,20 | 0,28 | 0,17 | 0,18 |
| DE | 0,03 | 0,04 | 0,05 | 0,06 | 0,04 | 0,03 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0004 n: número de embriones

Tabla 132: Superficie (mm^2) del área apical de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 8 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,28 | 0,65 | 0,58 | 0,58 | 0,64 | 0,64 |
| DE | 0,08 | 0,21 | 0,21 | 0,14 | 0,29 | 0,09 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0043 n: número de embriones

Tabla 133: Superficie (mm^2) del área apical la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 4 |
| m | 0,86 | 0,93 | 0,83 | 0,32 | 0,59 | 0,49 |
| DE | 0,31 | 0,31 | 0,37 | 0,03 | 0,21 | 0,25 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0031 n: número de embriones

Realizado el análisis de la varianza muestra que todas las diferencias detectadas a los 10, 15 y 21 días son estadísticamente significativas.

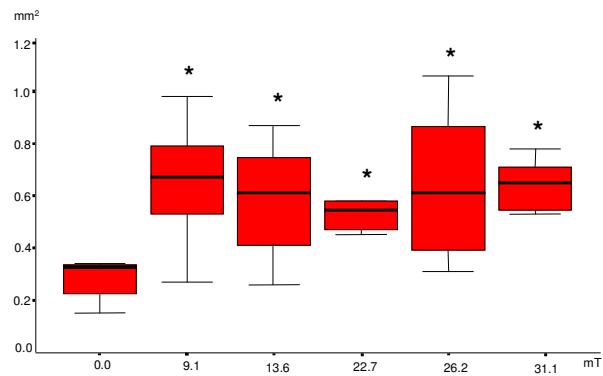


Figura 39. Análisis estadístico de la superficie del área apical (mm^2) de la glándula pineal de los embriones de 15 días, controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles

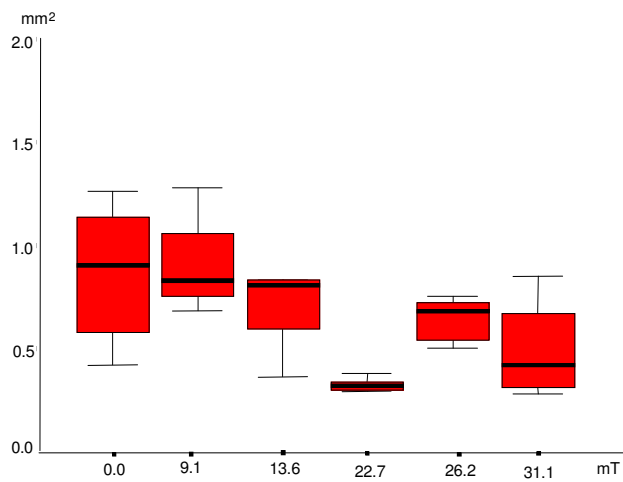


Figura 40. Análisis estadístico de la superficie del área apical (mm^2) de la glándula pineal de los embriones de 21 días, controles y expuestos a CEMc (mT)
 * Diferencia significativa respecto a los controles , 9,1 mT y 13,6 mT

Realizadas las comparaciones múltiples dos a dos con los resultados obtenidos a los 10 días, no se detectan diferencias estadísticamente significativas.

A los 15 días, todos los grupos de embriones expuestos presentan una superficie del área apical superior a la de los controles. Al aplicar la prueba de comparaciones dos a dos, se aprecia que todas las diferencias son estadísticamente significativas (Figura 39).

A los 21 días, los resultados observados son variables. El grupo expuesto a 9,1 mT presenta una superficie superior a los controles mientras que en el resto de grupos, la superficie es menor que en los controles. Al aplicar la prueba de las comparaciones múltiples se aprecia que solo las diferencias que se establecen entre los embriones expuestos a 22,7 mT, los controles y los grupos expuestos a 9,1 mT y 13,6 mT (Figura 40) son estadísticamente significativas.

➤ **Densidad vesicular del área apical**

Las tablas 134, 135 y 136 muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos de densidad vesicular para el área apical de la glándula pineal en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc), a las tres edades estudiadas.

Tabla 134: Densidad vesicular (núm vesículas / área) del área apical de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 7 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 26,57 | 28,09 | 36,67 | 27,64 | 40,8 | 40,12 |
| DE | 2,15 | 3,21 | 6,65 | 10,20 | 11,87 | 10,11 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0002 n: número de embriones

Tabla 135: Densidad vesicular (núm vesículas / área) del área apical de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 8 | 10 | 8 | 8 |
| m | 20,87 | 13,20 | 14,12 | 11,56 | 11,37 | 14,00 |
| DE | 3,56 | 5,69 | 4,76 | 4,03 | 2,97 | 3,12 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0036 n: número de embriones

Tabla 136: Densidad vesicular (núm vesículas / área) del área apical de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 4 |
| m | 6,75 | 6,33 | 10,20 | 19,14 | 12,14 | 13,00 |
| DE | 2,77 | 0,58 | 4,26 | 2,48 | 3,02 | 5,35 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0001 n: número de embriones

Todas las diferencias detectadas entre los grupos de embriones expuestos y los controles, a los 10,15 y 21 días, son estadísticamente significativas.

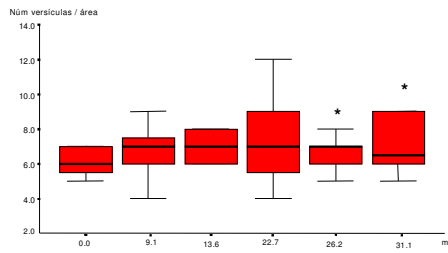


Figura 41. Análisis estadístico de la densidad vesicular (núm de vesículas/ área) en el área apical de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y expuestos a 9,1 mT y 22,7 mT

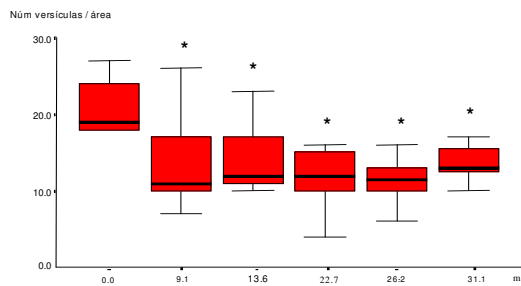


Figura 42. Análisis estadístico de la densidad vesicular (núm de vesículas/ área) en el área apical de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles

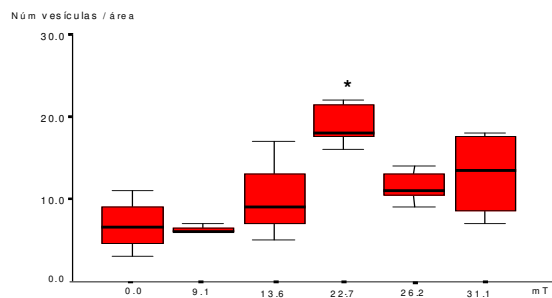


Figura 43. Análisis estadístico de la densidad vesicular (núm de vesículas/ área) en el área apical de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

A los 10 días todos los grupos expuestos a CEMc presentan un número de vesículas por área superior al de los controles. A los 15 días los resultados se invierten y los grupos expuestos presentan una densidad vesicular inferior a la de los controles.

Al aplicar la prueba de comparaciones múltiples a los resultados obtenidos a los 10 días se detecta que solo son estadísticamente significativas las diferencias que existen entre los grupos expuestos a 26,2 mT y 31,1 mT y los controles, expuestos a 9,1 mT y expuestos a 22,7 mT (Figura 41).

Sin embargo, al aplicar esta misma prueba a los resultados obtenidos a los 15 días (Figura 42), todas las diferencias detectadas han resultado ser estadísticamente significativas.

A los 21 días, los grupos de embriones expuestos, con excepción del grupo de 9,1mT, presentan unos valores superiores a los de los controles. Al aplicar la prueba de comparaciones dos a dos, solo resultan estadísticamente significativas las diferencias existentes entre grupo de expuestos a 22,7 mT, el control y el resto de grupos expuestos (Figura 43).

ÁREA ANTERIOR

Las tablas 137, 138 y 139 muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos para el área anterior de la glándula pineal en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc), a las tres edades estudiadas.

Tabla 137: Superficie (mm²) del área anterior de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 7 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,16 | 0,22 | 0,22 | 0,23 | 0,18 | 0,21 |
| DE | 0,03 | 0,06 | 0,09 | 0,04 | 0,03 | 0,77 |

DE: desviación estándar m: media $\rho=0,0819$ n: número de embriones

Tabla 138: Superficie (mm²) del área anterior de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 8 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,55 | 0,44 | 0,37 | 0,40 | 0,43 | 0,54 |
| DE | 0,09 | 0,14 | 0,11 | 0,19 | 0,14 | 0,15 |

DE: desviación estándar m: media $\rho=0,0260$ n: número de embriones

Tabla 139: Superficie (mm²) del área anterior de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 4 |
| m | 0,62 | 0,79 | 0,65 | 0,23 | 0,50 | 0,46 |
| DE | 0,17 | 0,28 | 0,19 | 0,04 | 0,10 | 0,16 |

DE: desviación estándar m: media $\rho=0,0001$ n: número de embriones

Realizado el análisis de la varianza muestra que las diferencias observadas entre los embriones expuestos y los controles, a los 15 y 21 días, son estadísticamente significativas, lo que no ocurre a los 10 días.

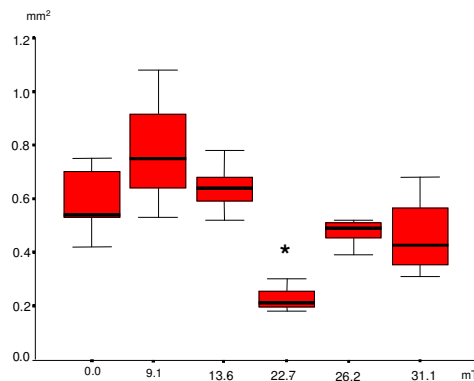


Figura 44. Análisis estadístico de la superficie del área anterior (mm^2) de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

A los 15 días todos los embriones de los grupos de embriones expuestos presentan una superficie del área anterior, inferior a la de los controles. Al realizar la prueba de las comparaciones múltiples no se demuestra que dichas diferencias sean estadísticamente significativas.

A los 21 días, la respuesta es variable. Los grupos expuestos a intensidades bajas, presentan una superficie del área anterior superior a la de los controles; el resto de grupos (22,7 mT, 26,2 mT y 31,1 mT) poseen una superficie inferior. Aplicada la prueba de comparaciones dos a dos, las únicas diferencias estadísticamente significativas son las que se detectan entre el grupo expuesto a 22,7 mT, los controles y el resto de grupos de embriones expuestos (Figura 44).

➤ **Densidad vesicular del área anterior**

Las tablas 140, 141 y 142 muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos de densidad vesicular para el área anterior de la glándula pineal en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc), a las tres edades estudiadas.

Tabla 140: Densidad vesicular (número vesículas / área) del área anterior de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 7 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 33,14 | 32,64 | 35,78 | 27,27 | 30,3 | 30 |
| DE | 2,91 | 11,16 | 12,59 | 6,37 | 10,11 | 6,70 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,5519 n: número de embriones

Tabla 141: Densidad vesicular (número vesículas / área) del área anterior de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 8 | 10 | 8 | 8 |
| m | 13,37 | 18,10 | 22,00 | 21,87 | 24,50 | 25,50 |
| DE | 2,26 | 4,84 | 5,66 | 6,68 | 7,48 | 10,68 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0025 n: número de embriones

Tabla 142: Densidad vesicular (número vesículas / área) del área anterior de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 4 |
| m | 15,37 | 13,00 | 16,20 | 36,71 | 16,43 | 17,25 |
| DE | 4,95 | 3,46 | 5,35 | 9,83 | 2,82 | 4,57 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0001 n: número de embriones

A los 15 y 21 días el análisis de la varianza muestra que todas las diferencias detectadas entre los embriones expuestos y los controles son estadísticamente significativas. Esto no ocurre con los resultados a los 10 días.

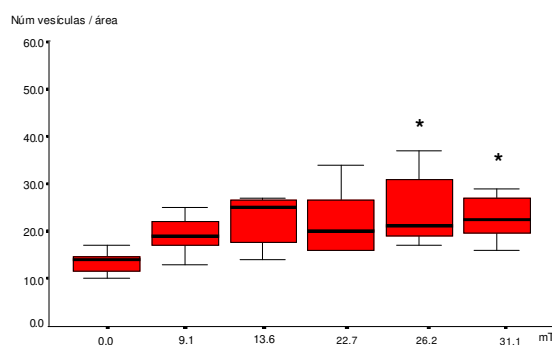


Figura 45. Análisis estadístico de a densidad vesicular (núm de vesículas / área) en el área anterior de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles

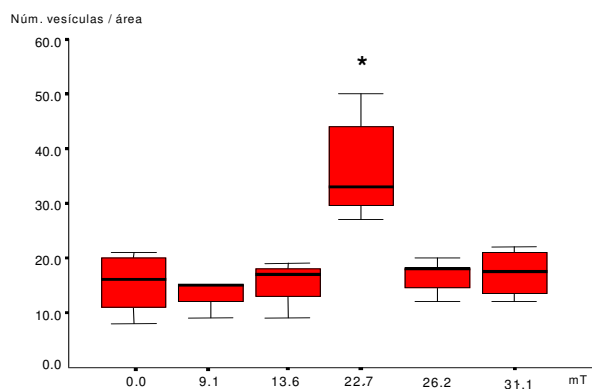


Figura 46. Análisis estadístico de a densidad vesicular (núm de vesículas / área) en el área anterior de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles y al resto de expuestos

A los 15 días todos los grupos expuestos a CEMc presentan una densidad vesicular superior a la de los controles. Al aplicar la prueba de comparaciones múltiples a estos resultados se detecta que solo son estadísticamente significativas las diferencias que existen entre los grupos expuestos a 26,2 mT y 31,1 mT y los controles (Figura 45) .

A los 21 días todos los grupos expuestos presentan valores superiores a los de los controles, con excepción del grupo de expuestos a 9,1 mT. Sin embargo, al aplicar la prueba de comparaciones múltiples a los resultados obtenidos, solo resultan estadísticamente significativas las diferencias detectadas entre el grupo expuesto a 22,7 mT con respecto al grupo control y el resto de expuestos a CEMc (Figura 46).

ÁREA POSTERIOR

Las tablas 143, 144 y 145 muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos para el área posterior de la glándula pineal en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc), a las tres edades estudiadas.

Tabla 143: Superficie (mm²) del área posterior de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 7 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 0,16 | 0,14 | 0,12 | 0,14 | 0,13 | 0,12 |
| DE | 0,04 | 0,03 | 0,05 | 0,03 | 0,02 | 0,03 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,3274 n: número de embriones

Tabla 144: Superficie (mm²) del área posterior de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 8 | 10 | 8 | 8 |
| m | 0,31 | 0,27 | 0,22 | 0,23 | 0,30 | 0,25 |
| DE | 0,07 | 0,07 | 0,06 | 0,09 | 0,06 | 0,05 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0399 n: número de embriones

Tabla 145: Superficie (mm²) del área posterior de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 4 |
| m | 0,26 | 0,28 | 0,30 | 0,09 | 0,21 | 0,30 |
| DE | 0,05 | 0,06 | 0,18 | 0,01 | 0,04 | 0,09 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0002 n: número de embriones

A los 15 y 21 días el análisis de la varianza muestra que todas las diferencias detectadas entre los embriones expuestos y los controles son estadísticamente significativas. Esto no ocurre con los resultados a los 10 días.

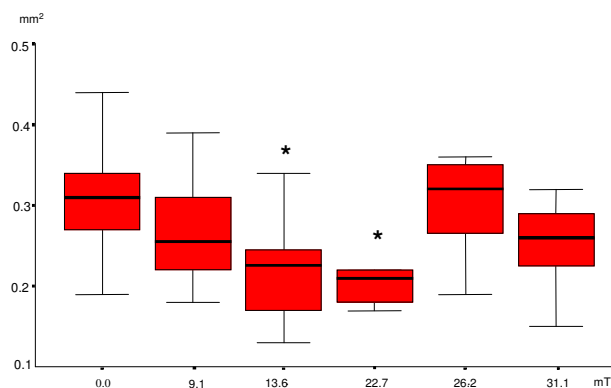


Figura 47. Análisis estadístico del área posterior (mm^2) de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc (mT)

* Diferencia significativa respecto a los controles y expuestos a 26,2 mT

A los 15 días todos los grupos expuestos a CEMc presentan una densidad vesicular inferior a la de los controles. Al aplicar la prueba de comparaciones múltiples a estos resultados se detecta que solo son estadísticamente significativas las diferencias que existen entre los grupos expuestos a 13,6 y 22,7 mT respecto a los controles y el grupo de expuesto a CEMc de 26,2 mT (Figura 47) .

A los 21 días la respuesta al CEMc es muy variable y al aplicar la prueba de comparaciones múltiples no se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos.

➤ **Densidad vesicular del área posterior**

Las tablas 146, 147 y 148 muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos de densidad vesicular para el área posterior de la glándula pineal en todos los embriones (controles y expuestos a CEMc), a las tres edades estudiadas.

Tabla 146: Densidad vesicular (núm vesículas / área) del área posterior de la glándula pineal de los embriones de 10 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 7 | 11 | 9 | 11 | 10 | 8 |
| m | 14,86 | 16,27 | 12,22 | 11,54 | 13,2 | 20,57 |
| DE | 5,37 | 13,37 | 7,85 | 6,68 | 4,61 | 6,13 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,2898 n: número de embriones

Tabla 147: Densidad vesicular (núm vesículas / área) del área posterior de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 10 | 8 | 10 | 8 | 8 |
| m | 11,50 | 5,90 | 7,00 | 1,22 | 3,25 | 8,50 |
| DE | 5,10 | 2,13 | 4,56 | 1,99 | 2,49 | 5,10 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,0001 n: número de embriones

Tabla 148: Densidad vesicular (núm vesículas / área) del área posterior de la glándula pineal de los embriones de 21 días controles y expuestos a CEMc

| | Control | 9,1mT | 13,6mT | 22,7mT | 26,2mT | 31,1mT |
|-----------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|
| n | 8 | 3 | 10 | 7 | 7 | 4 |
| m | 2,00 | 1,00 | 0,90 | 6,71 | 2,43 | 0,50 |
| DE | 2,33 | 1,73 | 1,73 | 6,45 | 3,05 | 1,00 |

DE: desviación estándar m: media p= 0,2897 n: número de embriones

Realizado el análisis de la varianza muestra que las diferencias detectadas entre embriones expuestos y controles a los 15 días son estadísticamente significativas. Esto no ocurre a los 10 y 21 días.

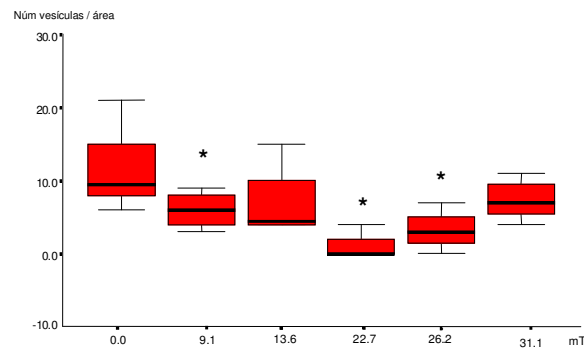


Figura 48. Análisis estadístico de a densidad vesicular (núm de vesículas / área) en el área posterior de la glándula pineal de los embriones de 15 días controles y expuestos a CEMc (mT)
* Diferencia significativa respecto a los controles

A los 15 días todos los grupos expuestos a CEMc presentan una densidad vesicular inferior a la de los controles. Al aplicar la prueba de comparaciones múltiples a estos resultados, se detecta que solo son estadísticamente significativas las diferencias que se establecen entre los grupos expuestos a 9.1 mT, 22.7 mT y 26.2 mT y el grupo control (Figura 48).

6.- DISCUSIÓN

6.1. EFECTO DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS CONTÍNUOS EN EL DESARROLLO PONDOESTATURAL DEL EMBRIÓN DE POLLO

Uno de los principales problemas que genera la aplicación de los campos electromagnéticos continuos (CEMc), es el de mantener las condiciones de incubación de los embriones dentro de los límites de normalidad. Estudios realizados por distintos autores (Rondoni 1948, Deuchar 1952, Mookerjee 1953, Harrison y Klein 1954, Root 1957, Ancel 1958), ya demostraron que variaciones en la temperatura de incubación de los huevos provocaban alteraciones en el desarrollo de los embriones. Por este motivo, tanto la temperatura de incubación como el grado de humedad y el volteo de los huevos, han sido rigurosamente controlados durante todo el periodo en que los huevos permanecen en el interior de la incubadora bajo la acción del CEMc generado. De este modo los resultados que aportamos, sólo pueden ser razonablemente atribuidos a las diferentes intensidades de campo aplicado.

Autores como Lauber y Shutze (1964), Isakson, Huffman y Spiegel (1970) o Delgado y cols. (1981) y Delgado y cols. (1982), han detectado la aparición de malformaciones en los embriones desarrollados bajo la acción de campos magnéticos, sin embargo, la reproducción de sus experimentos en otros laboratorios, no da lugar a los mismos resultados (Maffeo, Miller y Carstensen 1984). Estas diferencias podrían ser debidas a discordancias en la metodología utilizada o a la falta de control de alguna de las condiciones de incubación.

Piera y cols. en 1992 publicaron los resultados sobre el estudio de la influencia de los CEMc sobre el estadio, peso y talla de los embriones de pollo en desarrollo. Utilizan intensidades de 18,1 y 36,1 mT; los embriones se sometieron a la acción de una u otra intensidad, desde el principio de la incubación hasta los 5, 10 y 15 días. Se demostró que los embriones de 10 y 15 días que habían sido sometidos a CEMc de 18,1 mT presentaban

estadios de desarrollo superiores a los controles y a expuestos a intensidades de 36,1 mT. Estos resultados eran parecidos a los presentados por Duriez y Basset (1980) utilizando intensidades de campo similares (100 y 500 Gs/cm²).

Jové y cols. (1999^b), describen un efecto acumulativo de los CEMc al observar un efecto más pronunciado a los 10 y 15 días de exposición que a los 5 días. La diferencia de pesos observada a los 15 días coincide con Piera y cols. (1992), que describen una aceleración del desarrollo más manifiesta a la intensidad de 18,1 mT que a la de 36,1 mT. Los autores postularon la existencia de un “efecto ventana” por el hecho de que los efectos detectados sobre el desarrollo fuese más manifiesto a la intensidad de 18,1 mT que a la de 36,1 mT. Esta hipótesis ya había sido formulada con anterioridad por autores como Mulay y Mulay (1964), Adey (1980), Ubeda y cols. (1983), Blackman y cols. (1985).

El hecho de que en los trabajos realizados sólo se hubieran empleado dos intensidades de CEM nos parece insuficiente para confirmar o refutar dicha hipótesis. Con la finalidad de intentar esclarecer la existencia de dicho efecto, en el presente trabajo se utiliza una gama más amplia de intensidades de CEMc, situándolas por encima y por debajo de las utilizadas hasta el momento por nuestro grupo de investigación.

En lo que respecta al estadio, no hemos hallado ninguna diferencia entre los embriones expuestos y los controles (ni por edad, ni por intensidad de campo aplicado).

Los mecanismos fundamentales del desarrollo de los seres vivos, son dos: la diferenciación y el crecimiento. Las variaciones en los procesos de maduración y diferenciación (aceleración o enlentecimiento) se traducen en una variación en el estadio de desarrollo; no hallar diferencias entre los embriones expuestos y los controles en este parámetro, parece indicar

que no existe un efecto demostrable de la acción de los CEMc sobre los procesos de diferenciación.

En el estudio del peso y de la talla hemos apreciado que a los 10 días, ambos parámetros son ligeramente superiores en los embriones expuestos que en los controles, a todas las intensidades utilizadas salvo para el grupo de 31,1 mT (estadísticamente significativo). En los embriones de 15 días observamos que sólo los embriones expuestos a las intensidades más bajas, presentan peso y talla superior al de los controles. A los 21 días todos los embriones expuestos presentan (sea cual sea la intensidad aplicada) un peso inferior al de los controles, que resulta estadísticamente significativo para los embriones del grupo expuesto a 31,1 mT (como a los 10 días). Los resultados de la talla, a esta edad, presentan una gran variabilidad y ninguna significación estadística.

Estos resultados no parecen aportar ninguna luz sobre la existencia del efecto ventana, sin embargo, lo que sí parece ponerse de manifiesto es el efecto acumulativo de los CEMc, que coincide con los resultados obtenidos por Jové y cols. (1999^b), ya que el peso de los expuestos disminuye a medida que aumenta la intensidad y el tiempo de exposición.

Si nos fijamos en los procesos de crecimiento, que pueden traducir el peso y la talla de los embriones, las diferencias halladas entre expuestos y controles parecen seguir una pauta que relaciona la intensidad del campo aplicado y el tiempo de exposición. Las intensidades más altas producen una disminución del peso y de la talla de los embriones, sin embargo, este hecho no va acompañado de un retraso del momento de eclosión.

6.2. EFECTO DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS CONTÍNUOS EN LAS DIMENSIONES DE LA GLÁNDULA PINEAL: distancias y diámetros

El interés del estudio de estos parámetros es el de permitirnos conocer de que modo crece la glándula pineal. Del estudio de las distancias establecidas podremos deducir como cambia la forma de la glándula a lo largo de su desarrollo. Del estudio de los diámetros, y de los segmentos que en ellos se delimitan, podremos conocer el modo en que se realiza el desarrollo de la glándula, es decir las variaciones de grosor de sus paredes y del espacio (luz glandular) que delimitan.

Autores como Campbell y Gibson (1970), Akasaka y cols. (1995) y Jové y cols, (1999^a), han comprobado y descrito que la glándula sufre modificaciones en su forma a lo largo del desarrollo y que estos cambios van acompañados de variaciones de grosor de sus paredes. En efecto, según los dichos autores, las paredes de la glándula no crecen de forma uniforme y relacionan dicha desigualdad con sus distintos estados madurativos. Así, aceptan que la pineal evoluciona fundamentalmente a expensas de su porción apical y de su pared anterior. Calvo y Boya (1978) consideran que la pineal adulta se desarrolla a expensas de su pared anterior mientras que la posterior, corresponde a una pequeña porción del parénquima adulto

Para establecer las dimensiones y determinar, tanto las distancias como los diámetros de la glándula pineal, se han tenido en cuenta los cambios de situación, de orientación y de forma que sufre la epífisis a lo largo del desarrollo del embrión.

A los 10 días, la glándula ocupa una situación dorsal, con un eje mayor horizontal, de forma que la pared anterior contacta prácticamente con el techo del diencéfalo. Según algunos autores, es en este momento cuando se inicia la actividad funcional de la glándula (Akasaka y cols., 1995).

A los 15 días la situación es más dorsal y su orientación es vertical debido al crecimiento de las estructuras vecinas (hemisferios cerebrales y cerebelo). La forma es más o menos triangular en su extremo distal y ovalada en el proximal. Es el momento de su máxima actividad que decrecerá hasta la eclosión del pollo (Campbell y Gibson, 1970; Akasaka y cols., 1995).

A los 21 días, al igual que describen Calvo y Boya (1978), apreciamos que su orientación es completamente vertical y de forma triangular con los vértices inferiores entre los hemisferios cerebrales y el cerebelo.

Por lo anteriormente expuesto, resulta evidente que los puntos de referencia que se utilicen para determinar las dimensiones de la glándula deben ser específicos, fijos y constantes para cada una de las edades (Jové y cols., 1999^a), no siendo posible uniformizarlos. Es por ello que el estudio de la variación de los parámetros mencionados se realiza a cada una de las edades (10, 15 y 21 días). Por este mismo motivo, las comparaciones se realizan entre los diferentes grupos de embriones expuestos y los controles de una misma edad.

Como ya hemos mencionado, el estudio de las distancias (antero-posterior y craneocaudal de la glándula y de su luz), nos permitirá deducir la forma y el tamaño global de la glándula. Por ello la determinación de dichos parámetros ha sido realizada sobre líneas paralelas a unos ejes preestablecidos que enmarcan a la glándula y/o su luz, por lo que sus variaciones también traducen las diferencias de tamaño de ambas (Jové y cols., 1999^a).

Para poder comprobar la falta de uniformidad en el desarrollo de las paredes de la glándula, se calculan, a partir de los diámetros establecidos los porcentajes de cada uno de los segmentos (Jové y cols., 1999^b) lo cual nos dará información sobre las variaciones de grosor de las mismas.

Relacionando los valores obtenidos de las distancias, entre sí, en cada una de las etapas estudiadas (10, 15 y 21 días) podremos conocer la forma de la glándula en los controles y su variación a largo del desarrollo del embrión. Los datos obtenidos nos permiten, con posterioridad, comparar la forma que presentan los embriones de los distintos grupos expuestos con los controles y así valorar los efectos de los CEMc aplicados.

Por la relación DAP/DCC podremos conocer la morfología externa de la glándula. Así, a los 10 días la DAP de la epífisis es el doble que la DCC lo cual nos permite deducir que su forma es elongada. A los 15 días, la relación entre ambas distancias disminuye, sin embargo a los 21 días, dicha relación vuelve a aumentar y se iguala a la de los 10 días. Estas variaciones indican que en las etapas intermedias del desarrollo se produce un evidente cambio de forma que continua en las etapas posteriores hasta los momentos previos a la eclosión. Estos resultados confirman los presentados por Jové y cols. (1999^b).

Por los resultados obtenidos del estudio de la relación entre las distancias de la glándula y su luz, podremos deducir la posición relativa de esta última con respecto a la porción más apical/posterior de la glándula. Entre los 10 y los 15 días, se produce un ligero aumento de las diferencias entre las distancias en ambos sentidos (anteroposterior y craneocaudal). El aumento de la diferencia entre las distancias anteroposteriores nos indica que el extremo más apical de la luz ha quedado retrasado con respecto al de la glándula. Algo similar ocurre con las diferencias entre las distancias craneocaudales, un aumento entre ellas, nos refleja un aumento de la distancia entre la porción más posterior de la luz glandular y la porción más posterior de la pineal (este última diferencia no es tan marcada como el que se detecta en la región apical). Estos cambios, en su conjunto, apuntan a un paulatino desplazamiento de la luz hacia la zona más posterior de la glándula.

A los 21 días estos cambios aún son más evidentes. El valor de la diferencia entre el extremo mas apical de la glándula y de la luz casi se ha triplicado con respecto a los 10 días. El valor de la diferencia entre las distancias craneocaudales tiene el mismo comportamiento.

El conjunto de las diferencias detectadas en los parámetros estudiados nos muestran una glándula pineal que aumenta progresivamente de tamaño, pero de forma desigual. Así, los cambios de tamaño que se detectan parecen indicar un aumento de las porciones mas anteriores de la glándula que a su vez provocan un desplazamiento posterior de su luz.

A los 10 días, el valor de la distancia anteroposterior de todos los embriones expuestos es superior al de los controles (la diferencia que existe entre el grupo de 26,1 mT y los controles es estadísticamente significativa). Por lo que respecta a la distancia craneocaudal todos los embriones expuestos presentan valores menores que los controles, con excepción de los grupos expuestos a 9,1 y 22,7 mT. Todos estos valores son estadísticamente significativos. Si analizamos la relación existente entre ambas medidas (DAP/DCC), observamos que en todos los casos es superior en los embriones expuestos que en los controles, es decir, que la distancia anteroposterior es algo mayor del doble que la distancia craneocaudal, pudiendo llegar a ser superior al triple en el caso de los expuestos a 26,1 mT. Si para analizar los resultados obtenidos con los grupos de embriones expuestos aplicamos el mismo razonamiento realizado con los grupos control, apreciamos que la glándula pineal de los embriones expuestos es más alongada que la de los controles, en cualquiera de las intensidades de CEMc aplicado. Por lo que respecta a la relación entre las distancias de la glándula y su luz (DAPL/DAP y DCCL/DCC), todos los valores obtenidos por los grupos de embriones expuestos son inferiores a los de los controles, lo cual parece implicar un pequeño desplazamiento posterior de la luz.

A los 15 días, la distancia anteroposterior, no presenta valores uniformes, mientras en unos grupos expuestos los valores son más altos que en los controles en otros grupos los valores son inferiores (13,6 mT y 22,7 mT) sin que ninguno de los resultados obtenidos sea estadísticamente significativo. Por lo que respecta a la distancia craneocaudal todos los valores de los embriones expuestos son superiores a los de los controles aunque, tampoco en este caso, los resultados sean estadísticamente significativos. Si observamos el cambio producido entre los 10 y los 15 días, vemos que los valores obtenidos en todos los grupos han aumentado y que los cifras más altas corresponden a los grupos de embriones expuestos. Si comparamos, entre ambos momentos del desarrollo, la relación existente entre las dos distancias (DAP/DCC) observamos que a los 15 días es menor en todos los grupos de embriones expuestos. Este hecho evidencia un cambio de forma en la pineal de los embriones expuestos de 15 días con respecto a la de 10 días, consistente en un ensanchamiento y acortamiento de la glándula como en los grupos controles. Por lo que respecta a la relación entre las dimensiones de la glándula y su luz, no se aprecian variaciones.

A los 21 días, el valor absoluto de la distancia anteroposterior craneocaudal sigue aumentando con respecto a los 10 y a los 15 días, sin embargo, el conjunto de embriones expuestos presentan valores inferiores a los de los controles con excepción del grupo expuesto a 9,1 mT que presenta valores superiores. La relación entre las dimensiones longitudinales y las verticales ha aumentado con respecto a los 15 días volviendo a alcanzar cifras semejantes a las de los 10 días; es decir las DAP vuelve a alcanzar valores superiores al doble de la DCC, salvo en el caso del grupo de expuestos a 9,1 mT. Este hecho se traduce en un nuevo cambio (menos evidente en el grupo de expuestos a 9,1 mT) en la forma de la glándula que se torna más voluminosa.

Si valoramos la relación existente entre las dimensiones de la glándula y su luz observamos un cambio con respecto a las etapas anteriores. Por lo que respecta a la relación DAPL/DAP, a los 21 días, es inferior a la de los controles en todos los grupos de exposición (resultado equivalente al de las etapas anteriores); sin embargo, la relación de las dimensiones verticales nos muestran valores superiores a los controles en todos los grupos de embriones expuestos. Esta última observación parece indicar que el cambio de morfología externa de la glándula, va acompañado de una variación en la disposición de su luz, en el sentido de haber sido desplazada por un aumento del grosor de las paredes que la delimitan.

Mientras la variación en las dimensiones de la glándula nos permiten conocer como ha cambiado la forma de la pineal a lo largo del desarrollo, del estudio de los diámetros y sobre todo de los segmentos que se establecen en cada una de ellos, podremos conocer el modo en que se realiza dicho desarrollo. Este punto es importante porque autores como Campbell y Gibson (1970) y Jové y cols. (1999^a) han comprobado que las modificaciones de las paredes de la glándula pineal a lo largo de su desarrollo, no son uniformes. Esta desigualdad la relacionan con el estado madurativo/funcional de la glándula; así, se acepta que la pineal se desarrolla fundamentalmente a expensas de la porción apical y de su pared anterior.

Con las determinaciones realizadas obtenemos los datos necesarios para la evaluación del proceso de crecimiento de las distintas paredes de la glándula y de su luz. Del estudio del diámetro sagital y sus segmentos obtenemos información sobre el desarrollo anteroposterior de la glándula y de la proporción que ocupan su porción apical (SA), su luz (SL) y su porción posterior (SP); del diámetro vertical conoceremos la altura de la glándula y que ocupan en ella la pared anterior (VI), la luz (VL) y la pared posterior (VS).

Entre los grupos controles, los valores absolutos de los diámetros aumentan de forma similar a lo largo del desarrollo. Por lo que respecta a los segmentos de este último, observamos que a los a los 10 días el segmento anterior (porción apical) mantiene un amplio predominio sobre los otros dos; a los 15 días, los porcentajes entre los segmentos se iguala, en detrimento del segmento anterior, mientras que a los 21 días, el cambio que se aprecia nos indica un nuevo aumento de los segmentos anterior y posterior, a costa del de la luz. En el caso de los segmentos del diámetro vertical vemos, que la variación de las proporciones de sus segmentos con la edad, es más uniforme. Así, mientras los segmentos superior y de luz disminuyen progresivamente, el segmento inferior (pared anterior) aumenta, manteniéndose la relación entre los segmentos a cada una de las edades.

Estas apreciaciones concuerdan perfectamente con las realizadas al analizar los resultados de las dimensiones de la glándula y su relación entre ellas, confirmándose los cambios de forma descritos entre los 10 y los 21 días. Por lo que respecta a las proporciones de los segmentos, los resultados también confirman los cambios de forma supuestos por la interpretación de la relación entre las dimensiones de la glándula y su luz. Así podemos deducir que el motivo por el cual tiene lugar un desplazamiento progresivo de la luz glandular a lo largo del desarrollo es el aumento de grosor de la porción apical y de la pared anterior de la epífisis. Estas observaciones ratifican las de autores como Calvo y Boya (1978) y Jové y cols. (1999^a), en lo que hace referencia a los cambios de morfología general de la glándula y a la forma en que estos se producen.

El estudio de los resultados de estos mismos parámetros en los grupos de embriones expuestos muestra, que a los 10 días, el valor absoluto del diámetro vertical en todos los grupos, es inferior al de los controles y las proporciones de los distintos segmentos se mantienen similares a las de los controles. Así, el segmento inferior (pared anterior), es superior a los

otros dos segmentos en todos los grupos, salvo en el grupo de expuestos a 26,1 mT. En este último grupo el segmento superior (pared posterior) aumenta en detrimento del inferior; ambos valores son estadísticamente significativos.

A estos mismos días, los valores absolutos del diámetro sagital no presentan un comportamiento tan uniforme como el vertical. Mientras en unos grupos (9,1 mT y 22,7 mT) los valores son mayores a los de los controles en otros presenta valores inferiores; sin embargo, el porcentaje entre sus segmentos es similar al de los controles y el segmento equivalente a la porción apical de la glándula es el mayor en todos los grupos.

A los 15 días los valores absolutos de los diámetros son: inferiores a los de los controles, en el caso del sagital y superiores a los de los controles en el caso del vertical. En ambos casos, hay una excepción en sentido contrario que se refiere a los grupos expuestos a 9,1 mT. Por lo que se refiere a los porcentajes de cada uno de los segmentos, en esta fase del desarrollo, los valores que refieren el diámetro sagital, son muy variables, no mantienen la proporcionalidad de los controles (SA 33%, SL 31%, SP 36%); en general el segmento anterior es siempre superior a los otros dos y el segmento correspondiente a la luz de la glándula, está muy reducido, esto se hace muy evidente en el grupo de expuestos a 9,1 mT (SA 60%, SL 9%, SP 30%). Los segmentos del diámetro vertical, sin embargo, guardan las mismas proporciones que los de los controles. Estos resultados confirman el cambio de forma de la glándula apuntado con anterioridad, en el sentido de adoptar una forma más redondeada que la de los 10 días.

Los 21 días los valores absolutos de ambos diámetros, en los embriones expuestos, son inferiores a los de los controles, con excepción del diámetro vertical de los grupos de 9,1 y 18,1 mT que es ligeramente

superior. Por lo que hace referencia a los segmentos de dichos diámetros, vemos que en el caso del sagital, los porcentajes se mantienen equivalentes a los de los controles (\pm SA 48%, SL 15%, SP 37%), salvo en los grupos de exposición más alta (26,2 mT/ 31,1 mT/ 36,1 mT) en los que la porción del segmento anterior aumenta en detrimento del posterior, cosa que no ocurre en los otros grupos. Los segmentos del diámetro vertical, se mantienen similares a los de los controles, las pequeñas diferencias mencionadas, con respecto a ellos, en los grupos de 9,1 y 18,1 mT no se reflejan en los porcentajes de sus segmentos que se mantienen en los mismos valores que los controles.

En resumen podríamos decir que, en general, las glándulas de los embriones expuestos siguen el mismo patrón de desarrollo que los controles aunque sean ligeramente más pequeñas. Las pequeñas diferencias detectadas no siguen una pauta que nos permita establecer la existencia del denominado efecto ventana, ya que incluso los valores que han resultado estadísticamente significativos tampoco tenían una distribución uniforme ni constante en un determinado grupo. La particularidad que parece reflejarse en los grupos de embriones expuestos con respecto a los controles, es que en la edad intermedia (a los 15 días) los embriones expuestos presentan un nivel de diferenciación de la porción apical de la glándula superior al de los controles y que se mantiene a lo largo del desarrollo para hacerse más evidente en los grupos más altos de exposición.

Estos resultados difieren en algunos aspectos de los obtenidos por Jové y cols. (1999^b); en su estudio describe que a los 10 días los dos grupos de embriones expuestos presentan diámetros superiores a los de los controles y a los 15 los resultados se invierten siendo los resultados de los expuestos inferiores a los de los controles. En su caso, los resultados obtenidos en los embriones expuestos se relacionan directamente con la

intensidad de CEMc aplicados y no del tiempo de exposición a los mismos.

6.3. EFECTOS DE LOS CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS CONTÍNUOS SOBRE LOS AGREGADOS CELULARES DE LA GLÁNDULA PINEAL

Delimitadas las diferentes áreas de la glándula (Jové, 1996) se determina su superficie y se cuantifica el número de vesículas existentes en cada una de ellas, a cada una de las edades.

Durante el desarrollo de la pineal del embrión de pollo pueden observarse distintas formas de agrupación celular, cuya evolución puede ser utilizada como punto de partida del estado de maduración y diferenciación de la glándula (Spiroff, 1958; Campbell y Gibson, 1970; Calvo y Boya, 1978; Ohshima y Matsuo, 1988). Según, Calvo y Boya (1978) el primer estadio evolutivo de dichas agrupaciones son las “rosetas” (grupos de células dispuestas radialmente con un centro difuso), cuyo momento de aparición es motivo de controversia entre los diferentes autores: 3-4 días para Spiroff (1958), 5º día para Ohshima y Matsuo (1988), ó 7º día para Campbell y Gibson (1970).

Siguiendo con la descripción de Calvo y Boya (1978), las rosetas se convierten en vesículas tras la aparición de una luz central siendo, a los 10 días de desarrollo, la agrupación celular más abundante. Jové (1996) y Jové y cols. (1999^a), confirman la clasificación de los agregados celulares de la pineal realizada con anterioridad y demuestran que a los 5 días, el 85% de los embriones poseen como único tipo de agrupación celular las rosetas, situadas fundamentalmente en las áreas anterior y apical de la glándula. Según los mismos autores, a partir de los 10 días de desarrollo, las vesículas han pasado a ser el tipo de agrupación celular más abundante, sustituyendo a las rosetas. También diferencian dos tipos de formaciones vesiculares (esféricas y elípticas) y a pesar de que no clarifican la significación de unas u otras, apuntan que ésta característica

pueda estar relacionada con sus diferentes estados evolutivos, siendo las elípticas una forma más evolucionada.

El interés por el estudio de los distintos tipos de agregados celulares que aparecen durante el desarrollo y maduración de la glándula pineal deriva de la relación que parecen poseer dichas formaciones con la síntesis de melatonina (Wainwright, 1974; Greve y cols., 1996; Akasaka y cols., 1995).

Los aspectos histológicos e inmunohistoquímicos de la glándula pineal de los vertebrados, han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, los trabajos realizados sobre la pineal de las aves, son escasos (Quay, 1965; Ralph y cols., 1975; Doskocil, 1976; Binkley, 1973; 1981; Reiter, 1985 y 1995; Goto, Miki y Kondo, 1989; Möller y Möller, 1990; Welsh, 1994; Jové, 1996). Hasta el momento los estudios sobre la presencia y tamaño de las vesículas pineales están basados, fundamentalmente en análisis cualitativos, son pocos los que aportan datos cuantitativos (Jové y cols., 1999^a).

Según Akasaka y cols. (1995) los mecanismos que regulan la síntesis de melatonina en el pollo, se establecen durante su desarrollo embrionario. Campbell y Gibson (1970), y Greve y cols. (1996) basándose en estudios histoquímicos apoyan dicha hipótesis y manifiestan que el máximo papel secretor de la glándula se sitúa entre los días 10 y 17, a partir del cual dicha capacidad disminuye. A pesar de la posible relación entre los agregados celulares de la glándula pineal y la síntesis de melatonina, son pocas las descripciones histológicas y/o morfométricas realizadas sobre dichas formaciones en la epífisis de las aves (Spiroff, 1958; Campbell y Gibson, 1970; Amura, 1977; Calvo y Boya, 1978; Jové, 1996; Jové y cols., 1999^a; Piera y cols., 2000).

El estudio de la evolución de las áreas de la glándula, en los controles, nos muestra las diferencias que se establecen entre cada una de ellas a

lo largo del desarrollo. A los 10 días la diferencia de superficie entre las áreas, es pequeña, siendo la apical quien presenta a una mayor superficie. A los 21 días (momento previo a la eclosión) estas diferencias se hacen muy marcadas y las áreas apical y anterior cuadruplican su volumen en detrimento del área posterior. Estos resultados confirman la existencia de distintos etapas en la velocidad de crecimiento de la glándula como apuntaba Spiroff (1958): crecimiento rápido, entre los días 5 y 12 de incubación; un período de pequeños cambios de volumen, entre los días 12 y 17; una última etapa de incremento rápido de su volumen, que abarca desde los últimos 5 días de incubación hasta el 2º mes posteclosión.

Los resultados obtenidos en el estudio de las áreas en los embriones expuestos nos permiten apreciar que su desarrollo sigue un patrón muy similar al de los controles. Así, en todas las edades hay un predominio de las áreas anterior y apical frente a la posterior. Sin embargo si analizamos lo que sucede en cada una de ellas a las distintas edades vemos que a los 10 días, no hay un predominio del área apical frente a la anterior como en los controles; ambas se igualan en detrimento del área posterior.

A los 15 días, la superficie del área apical aumenta considerablemente en todos los grupos de embriones expuestos. Las áreas anterior y posterior, por el contrario, disminuyen de superficie con respecto a los controles. Todas las diferencias detectadas del área apical y de los grupos expuestos a: 9,1 mT, 22,7 mT y 26,2 mT en el área posterior, son estadísticamente significativas.

A los 21 días ocurre algo distinto, la relación de tamaños entre las áreas es semejante a la de los controles, es decir, las áreas anterior y apical siguen teniendo mayor superficie que la posterior; sin embargo la respuesta a los CEMc aplicados es distinta. En general, los grupos de embriones expuestos a las intensidades de campo inferiores poseen

valores superiores a los de los controles (las diferencias no son significativas); por el contrario, los grupos expuestos a las intensidades más altas, presentan todos superficies inferiores a las de los controles. En este último caso, las diferencias que se aprecian en las áreas anterior y apical del grupo de 22,7 mT, son estadísticamente significativas.

Por lo que respecta al número de vesículas por área, los resultados en los grupos control muestran que existe una disminución progresiva del número de vesículas a lo largo del desarrollo y que las áreas que poseen valores superiores son la anterior y la apical.

En los embriones expuestos los resultados no son tan uniformes y varían en función del momento del desarrollo que analicemos, el área y la intensidad de exposición a que han sido sometidos los embriones. Así, a los 10 días, en las áreas anterior y posterior hay menos vesículas que en los controles, mientras que en el área apical ocurre lo contrario. Las únicas diferencias estadísticamente significativas las encontramos en esta última superficie en los grupos expuestos a 26,2 y 31,1 mT.

A los 15 días de desarrollo (momento que coincide con el período de máxima actividad glandular), los embriones de los grupos expuestos presentan una respuesta inversa a la de los 10 días. En el área apical, la densidad vesicular de todos los grupos expuestos es menor a la de los controles y en la anterior es superior. Todas las diferencias del área apical son estadísticamente significativas y mientras que en el área anterior solo lo son las detectadas entre los grupos expuestos a 26,2 y 31,1 mT y los controles. A los 21 días los resultados en los grupos de embriones expuestos muestran que en todas las áreas de la glándula hay un mayor número de vesículas que en los controles. Sin embargo, las únicas diferencias estadísticamente significativas las hallamos en el grupo de expuestos a 22,7 mT.

Si relacionamos los resultados obtenidos en el estudio de las áreas, con la densidad vesicular observamos que, tanto a los 10 como a los 15 días, existe una relación directa entre el aumento del área y la disminución del número de vesículas. Los resultados más evidentes y con un porcentaje más elevado de diferencias significativas, los encontramos en los embriones de 15 días; todas las áreas apicales son mayores en los expuestos y también todos ellos presentan un menor número de vesículas que los controles. En las otras dos áreas las diferencias significativas no corresponden siempre a los mismos grupos pero sin embargo tiene una tendencia a coincidir en los grupos de exposición a 22,7 y 26,2 mT. Otro resultado a tener en cuenta a los 15 días, es la disminución del número de vesículas que tiene lugar en el área posterior de los embriones expuestos a 9,1 mT, 22,7 mT y 26,2 mT, sin embargo, la desviación estándar es tan alta que resta valor al resultado. El hecho de que los cambios más evidentes ocurran a los 15 días y en el área apical tiene un doble interés; por un lado, esta etapa del desarrollo coincide con el periodo de máxima actividad glandular, y por otro, que el resultado coincide con los resultados apuntados por otros autores. Calvo y Boya (1978), Sakai, Hira y Matsushima (1996), Jové y cols. (1999^b), Piera y cols. (2000), describen un desarrollo desigual de la glándula con un predominio de las zonas apical y anterior frente a la posterior. Relacionan esta desigualdad en el crecimiento con la maduración y la presencia predominante de vesículas frente a otras formas de agrupación celular que se hallan en la zona más posterior de la glándula. En referencia a la disminución del número de vesículas entre los días 10 y 15 que se detecta en nuestros resultados, también hallamos coincidencias con otros autores o con los obtenidos por nuestro grupo investigador en trabajos anteriores.

Así, Campbell y Gibson (1970) tras calcular la relación existente entre la superficie vesicular y la del conjunto de la glándula a lo largo del desarrollo nos dicen que entre los días 7 y 11 dicha proporción es baja,

para ir aumentando a partir del día 17. Piera y cols. (2000) realizan un estudio similar pero diferenciando las tres regiones de la glándula y al igual que en el presente estudio refieren una disminución del número de vesículas por área entre los días 10 y 15 de incubación.

Al relacionar los resultados del cálculo de las áreas y de la densidad vesicular en los embriones de 21 días, observamos que, en general, los embriones expuestos presentan superficies inferiores a las de los controles y un número de vesículas, superior (con la salvedad del grupo expuesto a 9,1 mT). Todas las diferencias detectadas a esta edad corresponden al grupo de expuestos a 22,7 mT.

De acuerdo con los resultados de Spiroff (1958) y de Campbell y Gibson (1970), la disminución de la densidad detectada en nuestro estudio, puede estar relacionada con la mayor compactación de la estructura glandular que tiene lugar durante este período de desarrollo. Autores como Ito y Matsushima (1968), Diehl y cols. (1984), Matsushima y cols. (1993) sugieren que los cambios de volumen de la glándula pueden estar relacionados con los cambios de tamaño de las células pineales. Otros como Calvo y cols. (1997), relacionan los cambios de volumen de la glándula con las fases de luz y oscuridad en coincidencia con el ritmo circadiano de secreción de melatonina. Así podría suceder que los cambios detectados en la glándula durante los días 10, 15 y 21 de incubación, puedan ser utilizados como un indicativo de la actividad funcional de la misma durante su desarrollo.

Tras la revisión de la literatura, solo podemos comparar nuestros resultados con los obtenidos por Jové y cols. (1999^b) y Piera y cols. (2000), y de forma similar a lo que describen dichos autores, el aumento de número de vesículas y la disminución de la superficie del área anterior, podrían traducir un mayor grado de diferenciación de dicha área.

Numerosos autores (Semm, Schenider y Vollrath, 1980; Grota y cols., 1994; Reiter, 1994^b; Selmaoui y Touitou, 1995), sostienen que la sensibilidad de la glándula pineal a los CEM se refleja en una disminución de la síntesis de melatonina. Greve y cols. (1996), Akasaka y cols. (1995) y Nowak y cols. (1997), describen en el embrión de pollo, los mecanismos reguladores de la síntesis de melatonina, así como la presencia de productos de secreción en las vesículas.

A la luz de los resultados expuestos creemos poder afirmar que no existe una respuesta uniforme a los CEMc. Que los cambios que se detectan reflejan variaciones en el ritmo de crecimiento y maduración de la glándula pineal y que de forma general interpretamos como de aceleración de sus procesos de maduración. Estos hechos se hacen especialmente evidentes en los embriones los 10 y 15 días de desarrollo, expuestos a CEMc de 26,2 mT y 31,1 mT y en a los 21 días de incubación, en el grupo expuestos a CEMc de 22,7 mT.