

## **Efectos de los campos magnéticos sobre el metabolismo oxidativo muscular en respuesta a la exposición prolongada**

Effects of magnetic fields on muscle oxidative metabolism in response to prolonged exposure

MERCADO, M<sup>1</sup>.; TOLEDO, M<sup>1</sup>.; PALLARES, C<sup>1</sup>.; ROLLA, D<sup>1</sup>.; GASTALDI, R<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280 (1427) Buenos Aires. <sup>2</sup> Profesor de Bioestadística, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral. Bv. Pellegrini 2750 (3000). Santa Fe. Argentina

### **RESUMEN**

Un campo eléctrico es una fuerza creada por la atracción y repulsión de cargas eléctricas. Su aplicación en el tejido biológico fue iniciada por el fisiólogo alemán Du Bois-Reymond (1818-1896). En la actualidad los campos magnéticos pulsátiles de baja frecuencia son utilizados habitualmente en terapia física de rehabilitación para el tratamiento de lesiones neurológicas reversibles del sistema musculo-esquelético y como coadyuvante de cirugías ortopédicas. En el presente protocolo se estudió la variable del tiempo de exposición a los campos magnéticos pulsátiles con la correspondiente evaluación del efecto sobre músculo esquelético, por medio de pruebas inmunohistoquímicas y análisis morfométricos de las fibras musculares.

Se determinaron las variables fundamentales en el tratamiento con campos magnéticos pulsátiles (CMP), teniendo en cuenta que la información bibliográfica aporta datos acerca de la frecuencia e intensidad de los campos magnéticos, dejando sin una definición específica la variable de tiempo de exposición. Es de fundamental importancia, conocer los efectos biológicos y terapéuticos de las técnicas de fisioterapia utilizadas en la práctica clínica, como así también conocer la correcta aplicación de las variables: frecuencia, intensidad y tiempo que cada tratamiento necesita.

Palabras clave: (Campos magnéticos), (exposición), (tiempo), (músculo esquelético)

Correspondencia *e-mail*: María Cristina Pallares cpallares69@gmail.com

Recibido: 07/11/2014

Aceptado: 28/10/2016

## SUMMARY

An electric field is a force created by the attraction and repulsion of electric charges. Its application in biological tissue was initiated by the German physiologist Du Bois-Reymond (1818-1896). Currently pulsed magnetic fields of low frequency are commonly used in physical therapy rehabilitation treatment of reversible neurological injuries musculoskeletal system and as an adjunct to orthopedic surgeries. In the present protocol, particularly the variable of time of exposure to pulsed magnetic fields with the corresponding assessment of the effect on skeletal muscle using immunohistochemistry and morphometric analysis of muscle fibers.

Fundamentals were determined on treatment with pulsed magnetic fields (PMF), considering that the bibliographic information provides data on the frequency and intensity of magnetic fields, leaving without a specific definition of the variable exposure time. It is of fundamental importance to know the biological and therapeutic effects of physical therapy techniques used in clinical practice, as well as knowing the correct application of the variables: frequency, intensity and time each treatment needs.

Keywords: (Magnetic Fields), (exposure time), (skeletal muscle)

## INTRODUCCIÓN

El tejido muscular se caracteriza por su capacidad para contraerse en respuesta a un estímulo del sistema nervioso. De los tres principales tipos de músculos, el esquelético y el cardíaco son grandes consumidores de energía<sup>2</sup>.

Las energía para la contracción muscular proviene de la concentración de ATP presente en la fibra muscular, que es del orden de los 4mM (milimoles), siendo suficiente para mantener la contracción total durante 1 o 2 segundos como máximo. Una vez que el ATP se desdobra a ADP éste puede ser fosforilado para formar de nuevo ATP. Hay varias fuentes de energía para esta refosforilación: fosfocreatina, glucógeno, y el metabolismo oxidativo.

La cantidad total de fosfocreatina es muy reducida, de forma tal que permite que la contracción muscular no se prolongue más de 7 a 8 segundos. El glucógeno, almacenado en las células musculares, puede usarse directamente como fuente de energía para la contracción muscular o para reconstituir la fosfocreatina, la contracción máxima no puede prolongarse más allá de un minuto cuando se emplea esta fuente de energía.

El metabolismo oxidativo es la combinación de varios sustratos, carbohidratos, grasas y proteínas con oxígeno para liberar ATP aportando el 95% de la energía para mantener contracciones musculares prolongadas<sup>6</sup>. Es el sistema de energía más complicado y utiliza glicólisis, el ciclo del ácido cítrico, y la cadena de transporte de electrones. Cada uno de estos complejos son múltiples cascadas de reacción que resultan en la producción de ATP y energía<sup>10</sup>.

El oxígeno es transportado por la cascada respiratoria al sitio de la oxidación en los tejidos activos<sup>6</sup>. El electrón adquirido en NADH y FADH se añade a los átomos de hidrógeno y átomos de oxígeno para formar agua, junto con la energía para crear ATP a partir de ADP. El último receptor de electrones en la cadena es oxígeno. Este proceso se denomina fosforilación oxidativa<sup>10</sup>.

Durante el ejercicio intenso, las células del músculo esquelético activas finalmente determinan la demanda aeróbica, ya que más del 90% de la energía se gasta en las células musculares. El oxígeno es transportado en la circulación unido a la hemoglobina de los eritrocitos, mientras que los sustratos son

transportados en el plasma. El suministro de oxígeno debe ser continuo, porque sólo hay un mínimo de reserva de oxígeno en el cuerpo de la mayoría de especies de mamíferos, mientras que los sustratos se almacenan en cantidades significativas dentro de las células musculares<sup>3</sup>.

El metabolismo energético aeróbico tiene lugar en las mitocondrias, requiere oxígeno y resulta en la mayor liberación de energía. La glucólisis aeróbica es el método más eficiente de producción de energía. Anaeróbicamente sólo 2 moles de ATP se sintetizan a partir de 1 mol de glucógeno, mientras que un total de 38 moles de ATP podrían ser sintetizados a partir de la misma cantidad de glucógeno en presencia de oxígeno<sup>2</sup>.

Cuando se acerca un campo magnético al organismo, éste provocará influencias en las cargas eléctricas e iónicas del interior corporal. La terapia de campos magnéticos pulsátiles es un método de tratamiento no invasivo e indoloro. La técnica consiste en aplicar campos magnéticos pulsátiles (CMP) a aquellas zonas corporales afectadas de una disfunción, controlando la frecuencia e intensidad de estos campos<sup>17</sup>.

La utilización de CMP con fines terapéuticos está indicada como coadyuvante en diversos tratamientos como contracturas musculares, úlceras generadas por presión, insuficiencia vascular y más ampliamente en la consolidación de fracturas<sup>5, 7, 4</sup>. La acción terapéutica más estudiada es la estimulación de la osteogénesis. A nivel celular se han encontrado incrementos en la circulación y migración de células epiteliales, neutrófilos, macrófagos y diversos factores de crecimiento<sup>5</sup>, además de aumentar la producción de fibroblastos, los niveles de colagenasa y de disminuir el edema e inhibir el surgimiento de mastocitos y bacterias<sup>13</sup>.

A nivel molecular se facilita la cohesión de las proteínas y concatenantes proteicos, se optimiza la organización molecular, y se modula la actividad enzimática. Asimismo, activan el metabolismo celular a través del estímulo de la función mitocondrial, y mejoran la capacidad de respuesta celular<sup>15</sup>.

En la operación de la técnica, las variables a tener en cuenta son la frecuencia (50 – 100 Hz), la intensidad (1 - 100 Gauss), el modo de emisión (pulsado o continuo) y el tiempo de duración de la sesión. El objetivo del presente estudio fue observar si la variable de tiempo tiene influencia sobre el metabolismo oxidativo músculo-esquelético<sup>8</sup>, dado que referencias bibliográficas sugieren que las variables frecuencia e intensidad son las más importantes en la elección del protocolo de tratamiento<sup>14</sup>.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en condiciones experimentales in vivo con 10 ratas macho, Sprague Dawley de 70 días de edad y de 450 gr. de peso corporal. Los animales fueron mantenidos en lugar acondicionado con comodidad y confort, comida apropiada y agua ad libitum. A las cuales se les tomó muestras pretratamiento y postratamiento de músculo semitendinoso, músculo bíceps femoral, músculo recto femoral. Para ello los animales fueron sedados con xilazina (15 mg/kg) y ketamina (70 mg/kg). La biopsia muscular tomada fue del tipo escisional, de acuerdo al protocolo aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y uso de Animales de laboratorio (Cicual) para realizar el estudio.

Se utilizó un equipo de Campos Magnéticos Pulsátiles (CMP), generador de corrientes a bobinas planas, de baja frecuencia, 50-100 (Hz), pulsátil de 2,5 segundos y una intensidad de 100 Gauss. Marca SEAKIT.

Las ratas se dividieron en dos grupos:

Grupo A (6 ratas): tratado con campos magnéticos pulsátiles, frecuencia 50 Hz, intensidad 100 Gauss, por un período de 48 hs.

Grupo control B (4 ratas): tratado con campos magnéticos pulsátiles, frecuencia 50 Hz, intensidad 100 Gauss, por un período de 30 minutos.

Finalizado el período se tomaron biopsias de los músculos sometidos a la acción de los campos magnéticos pulsátiles y de los de

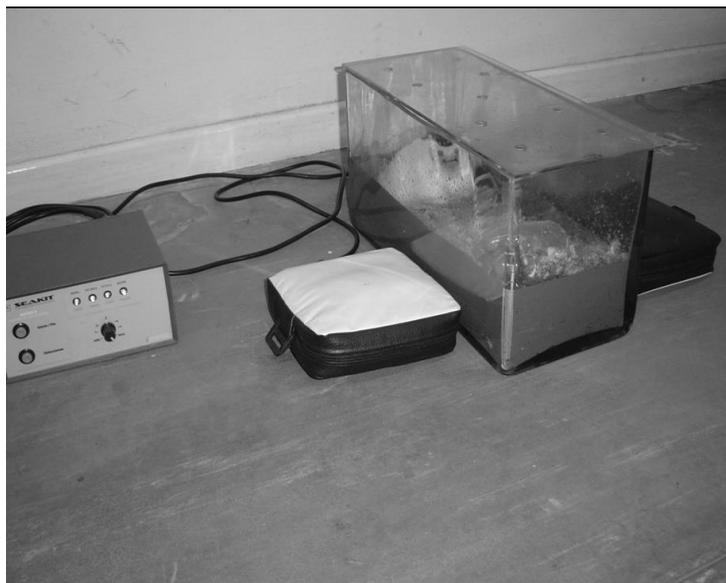
control pretratamiento. Las muestras obtenidas se enviaron al laboratorio para realizar análisis inmunohistoquímicos y morfométricos de las células musculares a los fines de comparar la demanda oxidativa (DO), medidas en áreas de micras cuadradas, pretratamiento y postratamiento. (Figuras 1,2, 3, 4).

Los anticuerpos fueron provistos por el Developmental Studies Hybridoma Bank, department of Biology, 028 BBE, University of IOWA, USA.

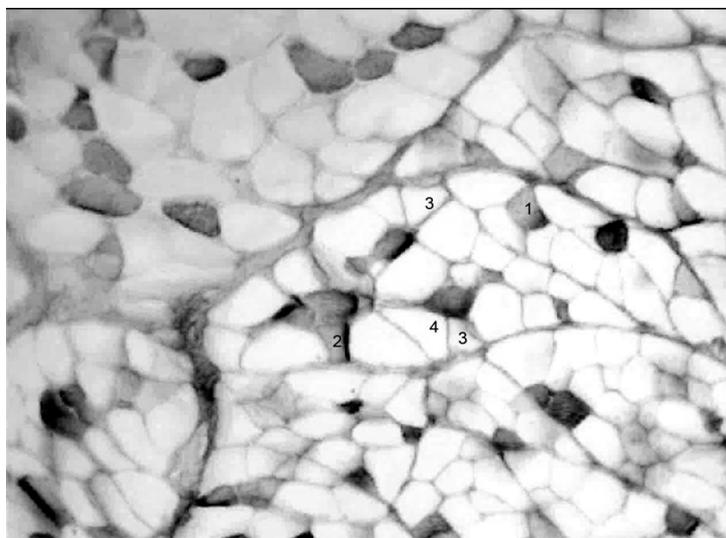
Los cortes fueron bloqueados con solución de suero normal de cabra, incubados con

el anticuerpo primario a 37° C durante 45 minutos en cámara húmeda, luego incubado con el anticuerpo secundario y revelado mediante el complejo avidina-biotina, diaminobenzidina-peroxidasa. Con el objeto de identificar el metabolismo fibrilar predominante, cortes seriados de los distintos músculos fueron teñidos por las técnicas de nicotamida adenina tetrazolium reductasa (NADH-TR).

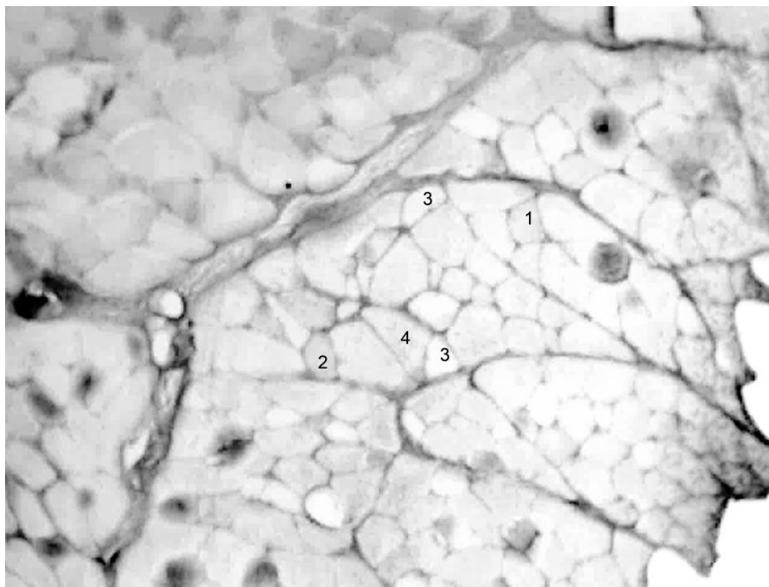
Se utilizó el test de Kurskal-Wallis (Anova no Paramétrico) para el análisis estadístico de datos obtenidos de cada muestra muscular.



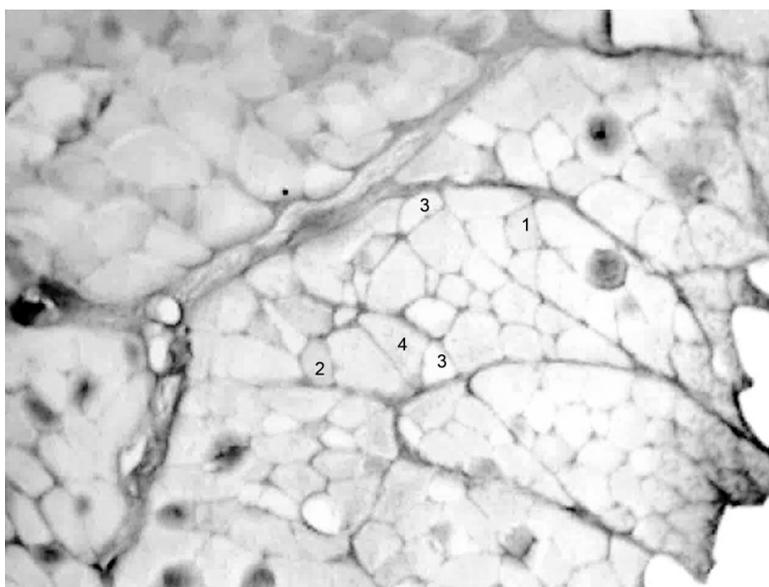
**Figura 1.** Diseño Experimental. Campos Magnéticos de baja frecuencia pulsátil. Marca SEAKIT.



**Figura 2.** Anticuerpo: N2.261: marca + fibras I y IIA, Fibras I (1), fibras IIA (2), fibras IIX (3), fibras IIB (4). 100X



**Figura 3.** Anticuerpo A4.1519: Marca + sólo fibras IIA Fibras IIA (2). 100X.



**Figura 4.** Anticuerpo BF-35: marca + fibras I, IIA y IIB, Fibras I (1), IIA (2) y IIB (4). 100X.

## RESULTADOS

Realizado el análisis inmunohistoquímico y morfométrico de muestras musculares se obtuvieron resultados altamente significativos en cuanto al aumento de la demanda oxidativa (DO), para cada uno

de los músculos investigados, comparado el postratamiento prolongado con respecto a los valores pretratamiento. ( $p < 0,0001$ ). Los resultados se encuentran referidos en la Tabla N° 1.

Área en micras cuadradas	m. semitendinoso	m. Bíceps femoral	m. Recto femoral
DO pretratamiento	149,41	121,55	156,35
DO postratamiento	184,57	171,60	184,57

**Tabla Nº 1.** Valores medios de demanda oxidativa en área en micras cuadradas.

## DISCUSIÓN

En la bibliografía especializada se le asigna poca importancia al tiempo como variable, indicando que éste debe ajustarse a las indicaciones del fabricante, refiriendo los efectos generales de esta técnica y sus contraindicaciones, sin mencionar los efectos biológicos de una sobredosificación a la exposición prolongada<sup>1, 9, 15, 16</sup>.

En Medicina Veterinaria la mayoría de los pacientes tratados presentan miopatías secundarias a otras patologías, con mayor frecuencia la enfermedad articular degenerativa. Por lo tanto

la estandarización de las variables involucradas en la terapia permitirá una mayor eficacia en el tratamiento, aprovechando al máximo los efectos biológicos ya comprobados de la terapia de campos magnéticos pulsátiles.

Mediante las pruebas inmunohistoquímicas se pudo determinar la importancia del tiempo de aplicación en los valores del metabolismo oxidativo muscular, observando una diferencia significativa en los resultados obtenidos entre los individuos del grupo A, con respecto a los del grupo B, comparando la Demanda Oxidativa Muscular. (Ver Tabla 2).

Área en micras cuadradas	DO
Grupo A	142,43
Grupo B	180,23

**Tabla Nº 2.** Valores medios de demanda oxidativa

Al aumentar el metabolismo oxidativo que es más eficiente en la generación de energía, se favorecen los procesos de recuperación muscular, en el presente estudio determinamos que el tiempo de aplicación de campos magnéticos pulsátiles tiene una influencia significativa como variable a tener en cuenta en los protocolos de fisioterapia.

Este resultado permite inferir que son necesarios otros estudios para documentar la importancia del tiempo en el metabolismo celular, en la fisiología y en la morfología de las mitocondrias expuestas.

## CONCLUSIONES

La mayoría de los más recientes resultados experimentales en investigación de ingeniería biomédica apoyan ciertos nuevos enfoques en la modelización teórica de las interacciones entre los campos magnéticos pulsátiles y la materia biológica. Los investigadores en ingeniería

biomédica consideran actualmente que los bioefectos de los campos magnéticos se volverán comprensibles sin hacer a un lado la física, sino más bien desarrollando modelos detallados más complejos, basados en conocidas leyes físicas, en los cuales se consideren parámetros adicionales (por ejemplo, frecuencia, intensidad, forma de ondas, y dirección de campo)<sup>11</sup>.

La dilucidación de los mecanismos físicos de las modalidades médicas del bioelectromagnetismo constituye la clave para el desarrollo de tratamientos clínicos eficientes y óptimos. Aún un avance relativamente pequeño más allá del conocimiento actual de los mecanismos fundamentales tendría un valor práctico significativo. En la investigación, biomédica, el bioelectromagnetismo puede proporcionar una mejor comprensión de los mecanismos fundamentales de comunicación y regulación en niveles que van desde lo intracelular hasta lo orgánico. Además podría

conducir directamente hacia mayores avances en los métodos de diagnóstico y tratamiento individual más poderoso para el desarrollo de intervenciones clínicas eficientes y óptimas<sup>12</sup>.

En el presente estudio se observó que además de las variables frecuencia e intensidad en el desarrollo del protocolo de tratamiento de una terapia con campos magnéticos pulsátiles de baja frecuencia se debería incluir al tiempo de exposición como una variable importante, debido a que hubo un aumento del metabolismo oxidativo de todos los grupos musculares estudiados postratamiento, dado que a igualdad de condiciones (frecuencia e intensidad fija), la prolongación del tiempo de exposición fue la causa de los cambios observados en las pruebas inmunohistoquímicas.

Los sistemas energéticos utilizados dependen de las fuerzas requeridas por el programa y la duración del entrenamiento. Si los sistemas de energía son insuficientes para satisfacer las demandas requeridas, el programa no beneficiará al paciente y puede dañar realmente el proceso de rehabilitación<sup>10</sup>.

Cabe destacar la importancia en el incremento del metabolismo oxidativo dado que el estrés oxidativo ha sido asociado a la disminución de la performance, fatiga, daño muscular y exceso de entrenamiento. Por esa razón, algunos investigadores sugieren que reducir el estrés oxidativo puede mejorar la tolerancia al ejercicio, así como la performance física<sup>2</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Arcas, P.; M; Gálvez Domínguez, D.; Morales Meseguer, J.M; Castro León, J.C; Paniagua Román, S. Manual de Fisioterapia. 1. ed. Mad. Madrid. España. 2004. Módulo III.
2. Atalay. M.; Osmo Otto. H. Músculo Metabolismo Energético. Fisiología y Mantenimiento. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). Universidad de Kuopio, Finlandia. 2011. Vol IV: 26-47.
3. Aurino de Pinho, R.; Costa de Araújo, M; Ghisi, G.; Benetti, M. Enfermedad Arterial Coronaria, Ejercicio Físico y Estrés Oxidativo. *Arq. Bras. Cardiol.* 2010; 94(4): 531-537.
4. Betti E., Marchetti S., Cadossi R., Faldini C., Faldini A. Effect of stimulation by low-frequency pulsed electromagnetic fields in subjects with fracture of the femoral neck. In: Bersani F, editor. *Electricity and magnetism in biology and medicine*. New York: Kluwer Academic/Plenum, 1999: 853-855.
5. Bojrab, J.; Monnet, E. *Mecanismos de enfermedad en cirugía de pequeños animales*. 3. ed. Intermédica. Bs. As. Arg. 2011: 771 – 772.
6. Cordero, M. *Agentes Físicos Terapéuticos*. Editorial Ciencias Médicas (ECIMED). La Habana, Cuba. 2008; 26: 490.
7. Finkelstein E., Chang W., Chao P, Gruber D., Minden A., Hung C.T., Bulinski J.C. Roles of microtubules, cell polarity and adhesion in electric-field-mediated motility of 3T3 fibroblasts. *J. Cell Sci*, 117, 1533–1545, 2004.
8. Guyton, A. *Tratado de Fisiología Médica*. 12. ed. Elsevier, Madrid, España, 2011: 78.
9. Martínez Escudero, C.; Capellas Sans, L.; Tinoco González, J. *Magnetoterapia en retardos de consolidación. Rehabilitación (Madrid)* 2001; 35(5):312-314.
10. Millis Darryl L.; Levine D.; Taylor R.A. *Canine Rehabilitation Physical Therapy*. 2. ed. Editorial Elsevier. USA. 2014:163.
11. Moncada Acevedo, M.E.; De La Cruz Saavedra, J.; Pinedo Jaramillo, C.R. Los campos bioeléctricos y algunas aplicaciones médicas – Revisión. *Rev. de Ingeniería Biomédica*. Colombia. 2011; 5:50-59.
12. Rubik, B.; Becker, R.O.; Flower, R.G.; Hazlewood, C.F.; Liboff, A.R.; Walleczek, A. Aplicaciones del bioelectromagnetismo en medicina. Panel de estudio de los Institutos Nacionales de Salud (NIH), USA. Hallado en <http://www.sld.cu/galerías/pdf/sitios/rehabilitación.fis/biomagnetism.pdf>. Acceso el 10 de agosto de 2014.
13. Silveira, P; Acordi da Silva, L.; Fraga, D. B. Physical exercise increases mitochondrial function and reduces oxidative damage in skeletal muscle. *European journal of applied physiology* 105 (6), 861-867.

14. Song B., Zhao, M., Forrester, J.V., McCaig C.D. Electrical cues regulate the orientation and frequency of cell division and the rate of wound healing in vivo. 99, 13577–82, 2002.
15. Rodríguez Betancourt, M.; Mursulí Sosa, M; Díaz Batista, R; Rodríguez Navia, T. Magnetoterapia en el dolor miofacial. *Gaceta Médica Espirituana*. Cuba. 2011; 13(3)
16. Rodríguez Martín, J.M. *Electroterapia en Fisioterapia*. 2. ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 2004: 479-491.
17. Xhardez, Y. *Vademécum de Kinesioterapia y de Reeducción Funcional*. 4. Ed. Editorial El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 2002: 58-60.