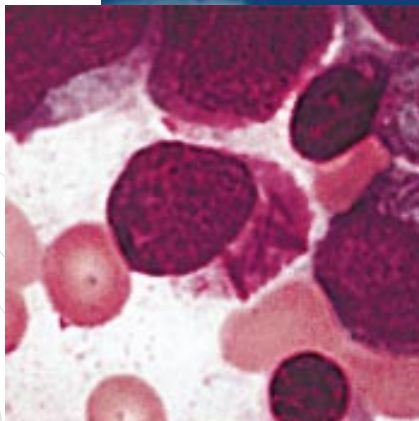


Newsletter

Edition Wissenschaft

Forschungsgemeinschaft Funk e.V.

Nr. 1/95



Wachstumsverhalten von humanen Leukämiezellen

Von R. Fitzner, E. Langer, E. Zemann,
U. Neibig und K. Brinkmann



Forschungsgemeinschaft Funk

Forschungsgemeinschaft
Funk

Editorial

Liebe Leserinnen und Leser,

die Forschungsgemeinschaft Funk e.V. wurde 1992 mit dem erklärten Ziel ins Leben gerufen, die biologischen Wirkungen elektromagnetischer Wellen auf Mensch und Umwelt zu untersuchen. Gleichzeitig hat die sachliche und objektive Information der Öffentlichkeit für uns einen hohen Stellenwert. Neben dem bewährten „Newsletter“, der das gesamte Thema EMV und EMVU behandelt, werden Sie künftig auch im Newsletter „Edition Wissenschaft“ über den aktuellen Stand der wissenschaftlichen Forschung informiert.

Zahlreiche Forschungsaufträge wurden an unabhängige Wissenschaftlergruppen vergeben. Die Ergebnisse der Einzelprojekte werden wir Ihnen in loser Form in dem neuen Newsletter „Edition Wissenschaft“ vorstellen. Die beauftragten Projekte befaßten sich mit den biologischen Wirkung hochfrequenter elektromagnetischer Felder, wie sie im Mobilfunk genutzt werden. Fazit der Studien: Bislang konnte kein Hinweis auf eine krebserzeugende bzw. krebserfördernde Wirkung gefunden werden.

Die ersten vier Beiträge sind nicht als „Abschlußbericht“ der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. zu verstehen. Vielmehr sind die Untersuchungsergebnisse eine Basis für weitere Studien. Die Forschungsgemeinschaft Funk wird daher in weiteren Ausgaben der „Edition Wissenschaft“ über den aktuellen Kenntnisstand die Öffentlichkeit informieren.

Gerd Friedrich

Inhalt

| | |
|--|----|
| Vorwort: Biologische Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern | 3 |
| Teilbericht: Wachstumsverhalten von humanen Leukämiezellen ... | 5 |
| 1. Einleitung und Fragestellung | 5 |
| 2. Material und Methoden | 7 |
| 2.1. Versuchsanordnung | 7 |
| 2.2. Zellkultivierung | 8 |
| 2.3. Bestimmung der Thymidinkinase-Aktivität | 9 |
| 3. Ergebnisse | 9 |
| 3.1. Verdoppelungszeiten | 9 |
| 3.2. Thymidinkinase-Aktivität in Zellkulturüberständen | 10 |
| 4. Schlußfolgerung | 10 |
| 5. Literatur | 10 |
| Summary: Growth behaviour of human leukemia HL-60 cells ... | 11 |

Newsletter Edition Wissenschaft

Untersuchungsreihe „Biologische Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern“

1. Ausgabe:

Wachstumsverhalten von humanen Leukämiezellen (Promyelozyten) unter Einfluß von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (1,8 GHz und 900 MHz, jeweils mit 217 Hz gepulst) zur Prüfung auf krebspromovierende Effekte

2. Ausgabe:

Der Einfluß hochfrequenter elektromagnetischer Felder des Mobilfunks auf die Calcium-Homöostase von Herzmuskelzellen und Lymphozyten

3. Ausgabe:

Expositionseinrichtungen

4. Ausgabe:

Zellproliferation, Schwesterchromatidaustausche, Chromosomenaberrationen, Mikrokerne und Mutationsrate des HGPRT-Locus nach Einwirkung von elektrischen Hochfrequenzfeldern (440 MHz, 900 MHz und 1,8 GHz) auf humane periphere Lymphozyten

Biologische Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern

Prof.Dr.-Ing. Dr.-Ing. E.h. Karl Brinkmann,
Prof. Dr.-Ing. Rudolf Elsner

Beim Einsatz von Mobilfunkgeräten setzt sich der Nutzer der Wirkung elektromagnetischer Strahlung aus. Deshalb muß sichergestellt werden, daß er keine körperliche Schädigung erleidet. Der Hersteller ist daher verpflichtet, Normenvorschriften einzuhalten. Diese Normen beruhen auf der Kenntnis der thermischen Wirkungen elektromagnetischer Felder. Bekannt ist, daß bei einer spezifischen Absorptionsrate (SAR) von 4 W/kg tierisches und damit vermutlich auch menschliches Gewebe sich um 1°C erwärmt [1]. Um die allgemeine Bevölkerung vor solcher Schädigung zu schützen, ist ein Fünftel dieses Wertes als SAR-Grenzwert von 80 mW/kg vorgeschrieben. Bei Einhaltung dieses Wertes treten sicher keine thermischen Wirkungen auf.

In letzter Zeit ist aber verschiedentlich darauf hingewiesen worden, daß elektromagnetische Felder auch athermische Wirkungen haben könnten. Festzustellen, ob solche Wirkungen auftreten, ist Inhalt unseres Forschungsvorhabens.

Es ist sinnvoll und üblich, solche Wirkungen am biologischen Verhalten tierischer oder menschlicher

Zellen zu beobachten. Die Zellen befinden sich in einer Nährflüssigkeit und werden für eine geeignete Zeitdauer einem hochfrequenten elektromagnetischen Feld ausgesetzt. Um Fremdeinflüsse eliminieren zu können, wird parallel eine Vergleichsprobe, ohne einem hochfrequenten Feld ausgesetzt zu sein, beobachtet. Unterschiedliches Verhalten der Zellen mit und ohne Exposition kann dann nur durch den Einfluß des elektromagnetischen Feldes verursacht sein. Offen muß allerdings bei dieser Untersuchungsmethode bleiben, ob diese Wirkungen auch Schädigungen hervorrufen. Das könnte nur durch Versuche am Gesamtorganismus geklärt werden. Richtig bleibt aber, wenn keine oder nur vernachlässigbare Wirkungen auftreten, können auch keine Schädigungen vorhanden sein. Untersucht wurden Lymphozyten gesunder männlicher Spender (Arbeitsgruppe Eberle, Braunschweig), Herzmuskelzellen und Lymphozyten (Arbeitsgruppe Meyer, Bonn) und humane Leukämiezellen (Arbeitsgruppe Fitzner, Berlin). Die Exposition erfolgte mit 440 MHz (C-Netz), 900 MHz (D-Netz) und 1.800 MHz (E-Netz). Im D- und E-Band wurden pulsmodierte Signale

verwendet. Die Nährflüssigkeit wurde auf $37^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ konstant gehalten. Die Probenhalter mit Zellen, Nährflüssigkeit und Weißöl zur Temperaturkonstanthaltung waren bei der Arbeitsgruppe Eberle und Fitzner mit Abmessungen von 10 cm relativ groß. Bei der Arbeitsgruppe Meyer mit Abmessungen von 1 cm entsprechend kleiner.

Die elektromagnetischen Felder sollten ohne störende Prüfobjekte in ihrer Struktur möglichst homogen sein. Dazu wurden geeignete Wellenleiter (Arbeitsgruppe Elsner/Neibig, Braunschweig) bereitgestellt. Diese Wellenleiter sind metallisch geschlossene Räume, so daß die inneren Hochfrequenzfelder nicht nach außen störend wirken können und fremde Felder nicht in den Meßraum verfälschend eindringen können.

Die Leistung, die der Wellenleiter am Ort des Prüfobjektes zur Verfügung stellt, ist wesentlich höher als die Leistung, die die Nährflüssigkeit annimmt. Das liegt an den elektromagnetischen Eigenschaften der Nährflüssigkeit. Die Leistungsdichte in der Nährflüssigkeit und damit auch in den Zellen kann



Einbringen des bestückten Probenhalters in die TEM-Zelle; am linken Bildrand sind einige Geräte zur Erzeugung und Aufnahme der hochfrequenten elektromagnetischen Felder sichtbar; die permanente Kontrolle und Meßdatenaufzeichnung der Feldstärken ist durch eine Computersteuerung gewährleistet.

nicht gemessen werden. Deshalb wurde mit Kenntnis der elektromagnetischen Eigenschaften der Nährflüssigkeit und des Materials des Probenträgers die elektrische und magnetische Feldstärke in der Nährflüssigkeit berechnet. Daraus ergeben sich über die elektrische Leitfähigkeit des Materials die SAR-Werte als Leistungsdichte der elektromagnetischen Strahlung in der Nährflüssigkeit. Die berechneten Werte konnten nur mit einigen Vereinfachungen gewonnen werden. Sie können daher maximal um den Faktor zwei nach oben oder unten von den wirklichen Werten abweichen. Die SAR-Werte sollten für alle Versuche bei 80 mW/kg bzw. $80 \mu\text{W}/\text{cm}^3$ liegen. Das konnte nur in der Größenordnung erreicht werden, da die Berechnungen aus zeitlichen Gründen durchgeführt wurden, während die biologischen Untersuchungen schon liefen. Die meisten berechneten Werte liegen unter diesen Normenwerten.

Für die elektrische und magnetische Feldstärke liegen nach DIN VDE 0848 Teil 2 die Grenzwerte bei 100 V/m bzw. 0,265 A/m (entsprechend einer magnetischen Flußdichte von 0,3 μT). Berechnungen

ergaben ferner, daß bei den verwendeten Nährflüssigkeiten die magnetische Feldstärke im Wellenleiter durch Einbringen des Prüfobjektes nur sehr wenig verändert wird, während die elektrische Feldstärke dabei wesentlich kleiner wird. Das geschieht auch im menschlichen Körper in gleicher Weise.

In den folgenden vier Teilberichten sind die biologischen Grundlagen, die Meßaufbauten und die Ergebnisse dargestellt. Alle Ergebnisse lassen keine athermischen Wirkungen erkennen.

- Teilbericht:
Dipl.-Ing. Uwe Neibig, Technische Universität Braunschweig
„Expositionseinrichtungen“
- Teilbericht:
Dr. rer. nat. Susanne Diener, Prof. Dr. rer. nat. Paul Eberle, Technische Universität Braunschweig
„Zellproliferation, Schwesterchromatidaustausche, Chromosomenaberrationen, Mikrokern und Mutationsrate des HGPRT-Locus nach Einwirkung von elektromagnetischen Hochfrequenzfeldern (440 MHz, 900

MHz und 1,8 GHz) auf humane periphere Lymphozyten“

- Teilbericht:
Dr. rer. nat. Rainer Meyer, Universität Bonn
„Der Einfluß hochfrequenter elektromagnetischer Felder des Mobilfunks auf die Calcium-Homöostase von Herzmuskelzellen und Lymphozyten“
- Teilbericht:
Dr. med. R. Fitzner, E. Langer, Freie Universität Berlin
„Wachstumsverhalten von humanen Leukämiezellen (Promyelozyten) unter Einfluß von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (1,8 GHz und 900 MHz, jeweils mit 217 Hz gepulst) zur Prüfung auf krebspromovierende Effekte“

Diese Arbeiten wurden mit Mitteln der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. gefördert.

Literatur

- [1] Heinrich Baggenstoes: „Dosi-metrische Untersuchungen zum Mobilfunk“, Kleinheubacher Berichte, Band 37 (1993), S. 589

Teilbericht:

Wachstumsverhalten von humanen Leukämiezellen (Promyelozyten)

unter Einfluß von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (1,8 GHz und 900 MHz, jeweils mit 217 Hz gepulst) zur Prüfung auf krebspromovierende Effekte

Dr. med. R. Fitzner, E. Langer, Dipl.-Ing. E. Zemann, Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie Universitätsklinikum Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin

Dipl.-Ing. U. Neibig, Institut für Nachrichtentechnik, Technische Universität Braunschweig, Schleinitzstraße 23, D-38092 Braunschweig

Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. E.h. K. Brinkmann, Leiter des Forschungsverbundes „EMV biologischer Systeme“, Institut für Hochspannungstechnik, Technische Universität Braunschweig, Pockelsstraße 4, D-38106 Braunschweig

1. Einleitung und Fragestellung

Seit einiger Zeit werden in der Öffentlichkeit Befürchtungen geäußert, daß elektromagnetische Felder krebsauslösend bzw. -fördernd (also kanzerogen) sein könnten. Die Kanzerogenität von Agentien (seien es chem. Substanzen oder physikalische Einflüsse wie elektromagnetische Wellen) stellt sich einerseits als tumorinitierende, andererseits als tumorpromovierende Wirkung dar. Die Tumorinitiation beinhaltet die Transformation von normalen Zellen in bösartige Tumorzellen (also die Umwandlung der Erbinformation der Zelle), während die Tumorpromotion Verstärkungseffekte an solchen umgewandelten Zellen beschreibt, die die Ausbreitungstendenz und den Malignitätsgrad eines Tumors und damit sein Aggressionspotential kennzeichnen. Je aggressiver bösartige

Zellen reagieren, desto weniger greifen Schutzmechanismen im menschlichen Gesamtorganismus. Die analytische Erfassung von Pa-

rametern, die das Wachstumsverhalten von menschlichen Tumorzellen quantitativ beschreiben, scheinen in geeigneter Weise diese Verhältnisse widerzuspiegeln. Dabei kann nur ein Vielfaches an Veränderung unter Magnetfeldexposition gegenüber Kontrollen ohne Feld als promovierender Effekt bewertet werden.

Durch zahlreiche In-vitro-Untersuchungen an bereits transformierten Tumorzellen tierischer und menschlicher Herkunft konnten wir nachweisen, daß eine 50 Hz-Magnetfeldexposition keine zusätzliche Promotion dieser Zellen bewirkt [1].

In den folgenden In-vitro-Untersuchungen an Suspensionskulturen von humanen Leukämiezellen (Promyelozyten) wird der Fragestellung nachgegangen, ob in hochfrequenten elektromagnetischen Feldern von 1,8 GHz mit 217 Hz gepulst und 900 MHz,

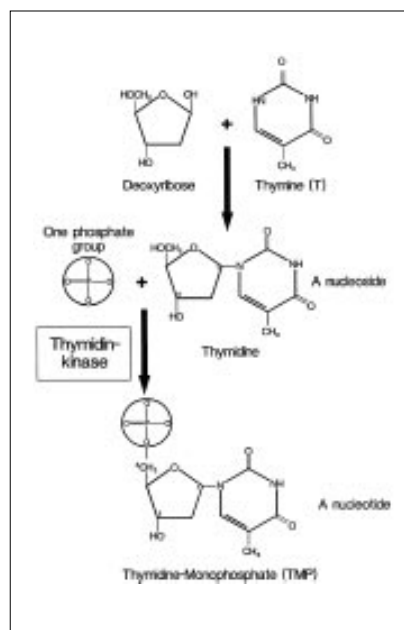


Abb.1: Biochemische Wirkungsweise der Thymidinkinase
(Dr. med. R. Fitzner/Inst. f. Kl. Ch. u. Kl. Bioch./UK BF FU Berlin (August 1995))

Einleitung

ebenfalls mit 217 Hz gepulst, eine zusätzliche Promotion des Wachstumsverhaltens von bereits transformierten menschlichen Tumorzellen und damit eine Kanzerogenität nachzuweisen ist.

Dabei werden als kritische Indikatoren der Wachstumsgeschwindigkeit der Leukämiezellen die Verdoppelungszeit und die Synthese und Freisetzung des Enzyms Thymidinkinase (TK) in standardisierten Suspensionskulturen bestimmt. Die im elektromagnetischen Feld exponierten Zellen werden dabei mit ansonsten methodisch identischen Kontrollen ohne Hochfrequenzexposition verglichen. Ein nachweisbarer Effekt müßte zu einer vielfachen Steigerung der Zellteilungsgeschwindigkeit und Bildung und Freisetzung der Thymidinkinase in der Suspensionskultur führen.

Klinisch-diagnostisch ist die Bestimmung der Thymidinkinase-Aktivität geeignet, hämatologische Malignome wie myeloische oder lymphoblastische Leukämien, aber auch solide Tumore wie kleinzellige Bronchialkarzinome, Mammakarzinome und Hirntumore

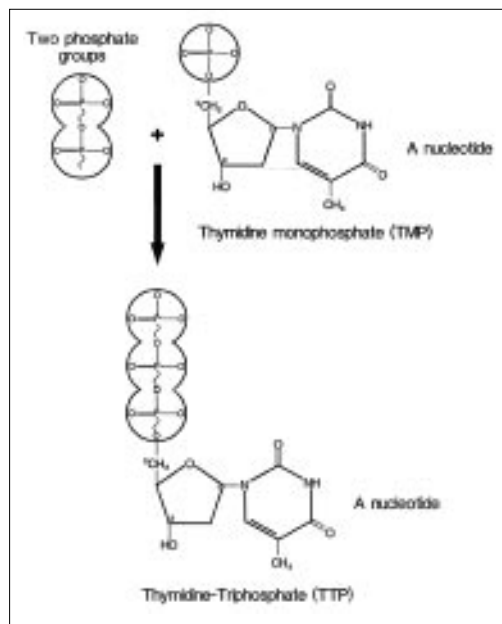


Abb.2: Umwandlung von TMP in TTP
(Dr.med.R.Fitzner/Inst.f.Kl. Ch.u.Kl.Bioch./UKBF FU Berlin (August 1995))

re sensitiv zu erfassen [3]. Bei gesunden Erwachsenen ist die Serumaktivität gering (Normbereich: < 7 U/l). Bei Patienten mit stark proliferierenden Malignomen ist die Serumaktivität deutlich erhöht, bei einigen Patienten bis auf das Hundertfache des Normbereichs.

Zellbiochemisch ist die Thymidinkinase ein intrazelluläres Enzym, welches in Säugetierzellen in An-

wesenheit von Adenosintriphosphat (ATP) die Phosphorylierung von Thymidin in Thymidinmonophosphat katalysiert (Abb. 1).

Das aus dem Thymidinmonophosphat entstehende Thymidintriphosphat wird in der Zelle zur DNS-Synthese verwendet, die während des Zellzyklus in der Synthesephase erfolgt (Abb. 2).

Innerhalb des Zellzyklus (Abb. 3), der aus G₁-, S-, G₂- und Mitosephase besteht, ist die Thymidinkinase-Aktivität in der postmitotischen Ruhephase (G₁-Phase) und in der Synthesephase (S-Phase) am höchsten. Die Aktivität des Enzyms korreliert zur mitotischen Zellteilungsgeschwindigkeit und der damit verbundenen identischen DNA-Reduplikation.

In hochdifferenzierten Geweben mit abgeschlossener Zellproliferation (z.B. Nierenparenchym, Nervengewebe) dauert die postmitotische Ruhephase an. Deshalb wird die G₁-Phase hier G₀-Phase genannt. In diesen hinsichtlich

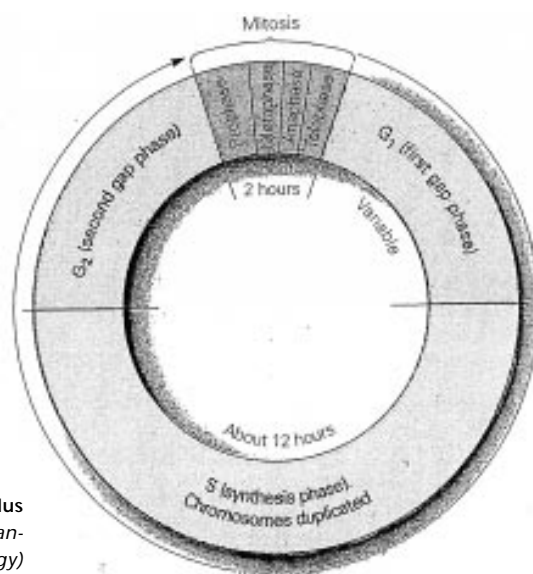


Abb. 3: Zellzyklus
(Aus: Rhoades & Pflanzer; Human Physiology)



Abb. 4: Versuchsanlage

der Vermehrung ruhenden Zellen ist die Thymidinkinase-Aktivität nur gering.

In Säugetierzellen kommen zwei verschiedene Isoenzyme vor. Die Thymidin-Kinase 1 (TK1) findet sich überwiegend im Zytosol („Zytosol-TK“), das zweite Isoenzym, TK2, wurde in den Mitochondrien entdeckt. Die Thymidin-Kinase verwendet als *salvage enzyme* endogenes Thymidin aus dem Zellstoffwechsel oder exogenes Thymidin aus der Nahrung als Substrat.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchsanordnung

Für die Untersuchungen wird als Feldgenerator eine sogenannte GTEM-Zelle (Gigahertz-Transversal-Elektro-Magnetische-Zelle, Modell 5302, Hersteller EMCO, USA) und als Signalquelle ein Signalgenerator (Typ SMT 03, Rhode und Schwarz), dem jeweils ein Bandverstärker für den Frequenzbereich von 900 MHz

und für 1800 MHz nachgeschaltet wird, verwendet. Die GTEM-Zelle dient gleichzeitig der Abschirmung vor äußeren Störeinflüssen. Zur Abschirmung der Kontrollzellen dient eine HF-Box. (Abb. 4)

Zur Aufrechterhaltung einer konstanten Temperatur von 37 °C in der Versuchsanordnung wird ein Ölthermostatsystem verwendet mit einer Impräzision von $\pm 0,1$ °C.

Die Reagenzgläser mit den Zellsuspensionen werden in einem Acrylglas-Probenhalter, der an das Ölthermostat angeschlossen ist, in die GTEM-Zelle gebracht und dort mittels Styroporhalter im Winkel von 45° gelagert. Ein

gleicher Probenhalter steht für die Kontrollzellen zur Verfügung.

Die Feldstärken des elektromagnetischen Feldes im Medium bei der Frequenz 1,8 GHz, mit 217 Hz gepulst, betragen 26 V/m für das elektrische bzw. 0,8 A/m für das magnetische Feld bezogen auf vertikale Probenlagerung in der GTEM-Zelle. Bei der erforderlichen Probenlagerung im Winkel von 45° liegen die Feldstärken unterhalb der o.g.

Bei 900 MHz, ebenfalls mit 217 Hz gepulst, betragen die Feldstärken 19 V/m für das elektrische bzw. 0,5 A/m für das magnetische Feld bezogen auf die vertikale Lagerung. Die magnetische Flußdichte beträgt bei

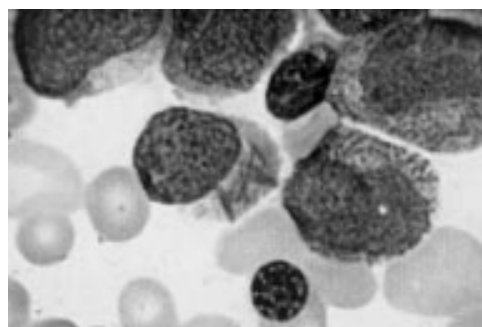


Abb. 5: Promyelozytenleukämie (Knochenmark x 1500)
(Aus: Begemann H, Rastetter J; Atlas der Klinischen Hämatologie)

HF-Expositionen

(Dr.med.R.Fitzner/Inst.f.Kl.Ch.u.Kl.Bioch./UKBF FU Berlin (August 1995))

Abb. 6: Verdoppelungszeiten bei 900 MHz

Ausgangszellzahl 40.000/ml;
Student's T-Test (Einzel- und Mittelwerte): $p > 0.05$

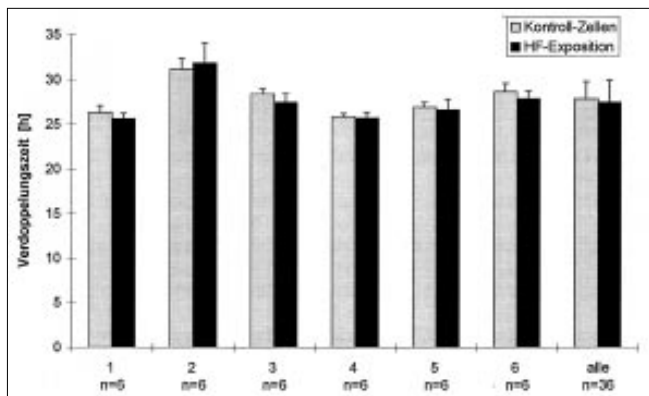


Abb. 7: Verdoppelungszeiten bei 1,8 GHz

Z.A.=Ausgangszellzahl, A=80.000/ml, B=40.000/ml;
Student's T-Test (Einzel- und Mittelwerte): $p > 0.05$

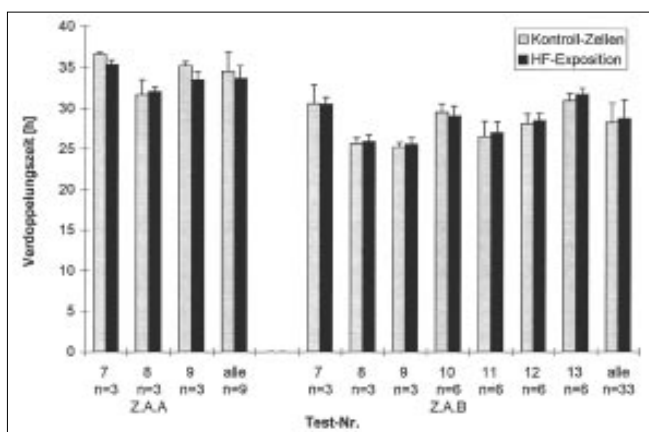


Abb. 8: TK im Zellüberstand bei 900 MHz

Ausgangszellzahl 40.000/ml;
Student's T-Test (Einzel- und Mittelwerte): $p > 0.05$

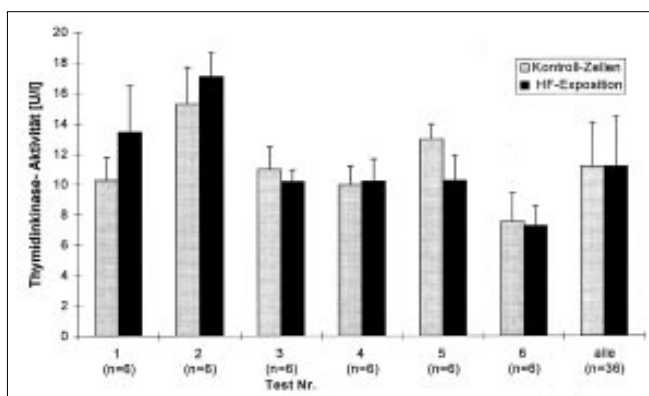
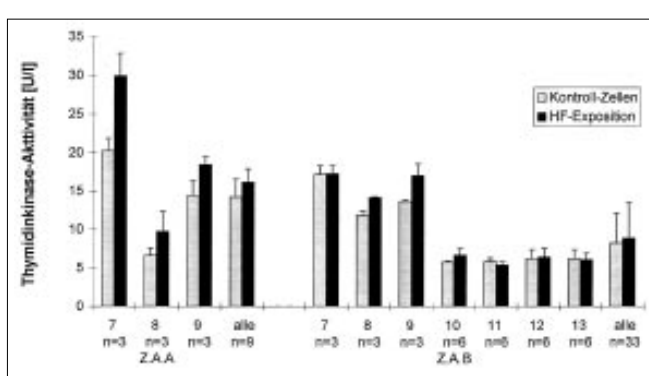


Abb. 9: TK im Zellüberstand bei 1,8 GHz

Z.A.=Ausgangszellzahl, A=80.000/ml, B=40.000/ml;
Student's T-Test (Einzel- und Mittelwerte): $p > 0.05$



1,8 GHz ca 1 μ T, bei 900 MHz ca. 0,6 μ T (bezogen auf die vertikale Lagerung).

Die Dauer der Hochfrequenzfeldexposition beträgt 24 Stunden.

2.2. Zellkultivierung

Für die In-vitro-Untersuchungen werden Zellen des humanen Leukämie-Stammes HL-60 (American Type Culture Collection Certified Cell Lines 240) verwendet. Die Zellen stammen von einer 35jährigen Frau, die an einer akuten myeloischen Leukämie erkrankt war. Bei diesen Zellen handelt es sich um entartete Promyelozyten. Normale Promyelozyten kommen in der Regel nur im Knochenmark vor, während die entarteten Promyelozyten (große, polymorphe Zellen mit breitem blauem Cytoplasma und grober azurophiler Granula, die zu sogenannten „Auer-Stäbchen“ deformiert sein kann) im Krankheitsverlauf auch in die periphere Blutbahn gelangen. (Abb.5)

Die Zellen werden in RPMI 1640 Medium mit 8 % fötalem Kälberserum und 2 % Humanserum bei 37 °C gezüchtet. Die Zellpassagen erfolgen alle 3-4 Tage.

Für die Versuche werden die Zellsuspensionen immer in einer bestimmten Zelldichte (Zellzahl/ml Suspension, „Ausgangszellzahl“) hergestellt und dann auf die einzelnen für den Versuch benötigten Röhrchen verteilt, so daß gleiche Ausgangsbedingungen für alle verwendeten Zellsuspensionen vorliegen. (Einzelheiten zur Zelldichte siehe unter „Ergebnisse“.)

2.3. Bestimmung der Thymidinkinase-Aktivität

Zur Ermittlung der Thymidinkinase-Aktivität in den Zellkultur-Überständen wird verfahrenstechnisch ein Radio-Enzym-Assay verwendet.

Als Substrat wird in diesem Test 125Jod-markiertes Desoxyuridin eingesetzt. Die Thymidinkinase in der Probe wandelt dieses Substrat zu 125Jod-markiertem Desoxyuridin-monophosphat um, welches an eine Trennmittel-Tablette gebunden wird. Das restliche radioaktiv markierte Substrat wird durch mehrere Waschschrte entfernt. Die verbleibende Radioaktivität wird gemessen und die Enzymaktivität mittels einer mitgeführten Standardkurve berechnet. Dabei ist die Radioaktivitätsmenge der Thymidinkinase-Aktivität direkt proportional.

Die relative Standardabweichung von Assay zu Assay ist bei den Mittelwerten 6 und 22 U/l einer kommerziellen Kontrolle 10 %, bei einem eigenen Zellüberstandspool ebenfalls 10 %. Die relative Standardabweichung innerhalb eines Assays ist bei einem matrixgleichen Pool 3 % .

3. Ergebnisse

3.1. Verdoppelungszeiten

Die Verdoppelungszeiten werden aus der Wachstumsdauer und der eingesetzten Zellzahl pro ml sowie der zum Versuchsende erhaltenen Zellzahl berechnet. Die Verdoppelungszeiten der im elektromagnetischen Feld exponierten humanen

Verdoppelungszeiten humaner Leukämiezellen (900 MHz)

| Versuch | Expositionszeit | Ausgangszellzahl | VZ im Hochfrequenzfeld bezogen auf die VZ der Kontrollen in Prozent (Mittelwert ± s) |
|---------|-----------------|---------------------------|--|
| 1 | 24 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 97,2 ± 1,6 (n=6) |
| 2 | 24 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 102,2 ± 6,7 (n=6) |
| 3 | 24 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 96,8 ± 5,3 (n=6) |
| 4 | 24 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 99,3 ± 3,6 (n=6) |
| 5 | 24 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 98,9 ± 6,2 (n=6) |
| 6 | 24 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 97,3 ± 5,1 (n=6) |

Tab. 1: Verdoppelungszeiten (VZ) humaner Leukämiezellen in einem Hochfrequenzfeld von 900 MHz, mit 217 Hz gepulst (elektrische Feldstärke 19 V/m, magnetische Feldstärke 0,5 A/m)

Leukämiezellen werden als prozentualer Anteil der Verdoppelungszeiten der nicht exponierten Kontrollzellen (diese entsprechen 100 %) dargestellt (Tab. 1 und 2).

Wie aus den Tabellen 1 und 2 ersichtlich, kommt es unter Einfluß der untersuchten elektromagnetischen Felder im Vergleich zu den Kontrollen zu keiner erheblichen Verkürzung der Verdoppelungszeiten. Es hätten sonst Prozentzahlen systematisch und deutlich unter 100 % ermittelt werden müssen. Die Streubreite der Verdoppelungszeiten liegt im Rahmen des bei Zellkulturen zu

erwartenden Variationskoeffizienten.

Die Mittelwerte der Verdoppelungszeiten der im Hochfrequenzfeld exponierten Zellen im Vergleich zu den identisch behandelten Kontrollzellen ohne Hochfrequenzfeldeinfluß sind in den Abbildungen 8 und 9 dargestellt.

Wie aus den Diagrammen ersichtlich, unterscheiden sich die Verdoppelungszeiten der exponierten Zellen nicht wesentlich von denen der Kontrollzellen. Zur Signifikanzprüfung der Mittelwerte und aller Einzelwerte

Verdoppelungszeiten humaner Leukämiezellen (1,8 GHz)

| Versuch | Expositionszeit | Ausgangszellzahl | VZ im Hochfrequenzfeld bezogen auf die VZ der Kontrollen in Prozent (Mittelwert ± s) |
|---------|-----------------|---------------------------|--|
| 1 | 24 h | 0,8 x 10 ⁴ /ml | 97,9 ± 6,0 (n=7) |
| 2 | 24 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 101,4 ± 6,7 (n=33) |
| 3 | 24 h | 8,0 x 10 ⁴ /ml | 98,8 ± 4,1 (n=13) |
| 4 | 8 h | 0,8 x 10 ⁴ /ml | 97,5 ± 3,5 (n=2) |
| 5 | 8 h | 4,0 x 10 ⁴ /ml | 107,6 ± 11,6 (n=2) |
| 6 | 8 h | 8,0 x 10 ⁴ /ml | 97,7 ± 8,1 (n=2) |

Tab. 2: Verdoppelungszeiten (VZ) humaner Leukämiezellen in einem Hochfrequenzfeld von 1,8 GHz, mit 217 Hz gepulst (elektrische Feldstärke 26 V/m, magnetische Feldstärke 0,8 A/m)

wurde der Student's T-Test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % durchgeführt. Da $p > 0,05$ sind keine signifikanten Unterschiede zwischen der Verdoppelungszeit der Kontrollzellen und der im Hochfrequenzfeld exponierten Zellen festzustellen.

3.2. Thymidinkinase-Aktivität in Zellkultur-Überständen

Die Thymidinkinase-Aktivitäten in den Zellkultur-Überständen bei einer HF-Exposition von 900 MHz und 1,8 GHz im Vergleich zu den Kontroll-Zellkulturen sind in den Abbildungen 8 und 9 dargestellt.

Eine vielfache Steigerung der TK-Aktivität der exponierten Zellen gegenüber den Kontrollzellen ist nicht erkennbar. Somit ist ein Feldeffekt (eine Wirkung der hochfrequenten elektromagnetischen Felder) nicht festzustellen. Die zusätzlich durchgeführte Signifikanzprüfung der Mittelwerte und aller Einzelwerte mit dem Student's T-Test ergab ein $p > 0,05$. Damit unterscheiden sich die TK-Aktivitäten in den Zellkultur-Überständen zwischen Kontrollzellen ohne HF-Exposition und den exponierten Zellen nicht signifikant voneinander.

4. Schlußfolgerung

Die im Hochfrequenzfeld (900 MHz und 1,8 GHz jeweils mit 217 Hz gepulst) exponierten, bereits transformierten humanen weißen Blutzellen (Leukämiezellen) zeigen im Vergleich zu den mitgeführten identischen Kon-

trollzellen ohne HF-Exposition keine vielfache Steigerung des Wachstums, da sich sowohl die Verdoppelungszeiten als auch die im Zellüberstand gemessenen Thymidinkinase-Aktivitäten nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Eine zusätzlich durchgeführte Signifikanzprüfung auf Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Verdoppelungszeiten von exponierten Zellen und Kontrollzellen ohne Exposition und zwischen den Ergebnissen der Thymidinkinase-Aktivitäten im Zellüberstand mit und ohne HF-Exposition ergab statistisch keinen signifikanten Unterschied.

Als Resultat läßt sich unter der

hier untersuchten Hochfrequenzfeldexposition von 900 MHz und 1,8 GHz mit 217 Hz gepulst (bei einer elektrischen Feldstärke von 19 bzw. 26 V/m, einer magnetischen Feldstärke von 0,5 bzw. 0,8 A/m und einer magnetischen Flußdichte von 0,6 bzw. 1,0 μT) mit den Prüfparametern Verdoppelungszeit und Thymidin-Kinase-Aktivität eine zusätzliche Promotion humaner Leukämiezellen ausschließen.

Damit ist eine Kanzerogenität von elektromagnetischen Feldern, wie sie in ähnlicher Weise in digitalen Mobilfunknetzen auftreten, auf Basis dieser Untersuchungen nicht festzustellen.

5. Literatur

- [1] Fitzner R.: Untersuchungen über Krebspromotion. Symposium Elektromagnetische Verträglichkeit biologischer Systeme in schwachen 50-Hz-Magnetfeldern. 04.10.1994, Braunschweig. In: Brinkmann K., Kärner H.C., Schaefer K.: Elektromagnetische Verträglichkeit biologischer Systeme. Band 4, S.111-127, VDE-Verlag Berlin Offenbach 1995
- [2] Fitzner R., Langer E., Zemann E.: Growth behaviour of human leukemic cells (promyelocytes) influenced by high frequency electromagnetic fields (1.8 GHz pulsed and 900 Mhz pulsed) for the investigation of cancer promoting effects. Platform and poster session. BEMS 17th annual meeting 18. - 22. 6. 1995, Boston
- [3] Gronowitz J.S., Källander C.F.R., Diderholm H., Hagberg H., Petersson U.: Application of an in vitro assay for serum thymidine kinase: Results on viral disease and malignancies in humans. Int. J. Cancer 33, 5-12 (1984)
- [4] Begemann H., Rastetter J.: Atlas der Klinischen Hämatologie. 3. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1978
- [5] Rhoades R., Pflanzner R. (eds): Human Physiology. Second Edition, Saunders College Publishing, Fort Worth Philadelphia San Diego 1992

Growth behaviour

of human leukemia HL-60 cells influenced by high frequency electromagnetic fields for the investigation of cancer promoting effects

Dr. med R. Fitzner, E. Langer, Dipl.-Ing. E. Zemann, Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie der Freien Universität Berlin, Hindenburgdamm 30, D-12200 Berlin

For quite some time now, the question has been discussed of whether electromagnetic fields may cause or promote cancer. The cancerogenic effect of agents is that they either initiate tumors or promote tumors. Initiation of tumors means a transformation of normal cells into malignant tumor cells, i.e. a change in the genetic factors of the cell, whereas tumor promotion describes the augmentative effects in transformed cells, which characterize the propagation tendency, the degree of malignancy of the tumor and thus its aggressive potential.

Through numerous in-vitro-investigations using animal and human tumor cells already transformed, we were able to prove that not additional promotion of these cells was caused by being exposed to 50 Hz magnetic fields.

This study deals with the results of in-vitro-tests of human leukemia HL-60 cells in suspension cultures exposed to high frequency electromagnetic fields of 1.8 GHz pulsed with 217 Hz and 900 MHz pulsed with 217 Hz. The question is whether an additional promotion of growth of transformed human tumor cells and because of this a cancerogenic effect can be proved.

As critical analytical indicators of the growth speed of leukemia cells the doubling time and the synthesis

and release of the enzyme thymidine kinase (TK) have been determined. Cells exposed to electromagnetic fields are compared with identical controls not exposed to high frequency fields. A provable effect would lead to a multiple acceleration of cell division and to the generation and release of thymidine kinase in suspension cultures.

Biochemically, thymidine kinase is an intra-cellular enzyme which catalyses the phosphorylation of thymidine into thymidine monophosphate. Thymidine triphosphate generated from thymidine monophosphate is used for the DNA synthesis in cells. In high-differentiated tissues with terminated cell proliferation (for instance kidney parenchyma, nerve tissue) the thymidine kinase activity is only low. The extracellular serum activity is low with healthy adults. With patients with proliferative malignomas (for instance myeloid or lymphoblastic leukemia, but also solid tumors like small-cell-type lung carcinomas, mammary carcinomas and brain tumors) serum activity is significantly higher.

The experimental equipment consists of a GTEM-cell, model 5302, made by EMCO, USA, a signal generator, type SMT 03, by Rhode & Schwarz, Germany, and band amplifiers for the frequency range of 900 MHz and 1.8 GHz. A thermostat

maintains a constant temperature of $37\text{ °C} \pm 0.1\text{ °C}$. The samples are exposed to high frequency electromagnetic fields for 8 and 24 hours. For the in vitro tests, cells of human leukemia origin HL-60 were used. The cells were cultured in RPMI 1640 medium. To determine thymidine kinase activity in the cell culture supernatant a radio enzyme assay is employed.

Already transformed human white blood cells (leukemia cells), which were exposed to high frequency fields (900 MHz and 1.8 GHz, pulsed with 217 Hz) show no multiple increase in growth speed compared with identical control cells not exposed, because doubling time and thymidine kinase activity, measured in the cell culture supernatants, do not differ essentially from each other.

Due to the test results based on the parameters doubling time and thymidine kinase activity, an additional promotion of human leukemia cells exposed to high frequency fields of 900 MHz and 1.8 GHz, pulsed with 217 Hz, can be excluded. Based on these investigations, which simulated electromagnetic field conditions as they exist in digital mobile telephone networks, a cancerogenic effect of electromagnetic fields can therefore not be determined.



Impressum

Newsletter Edition Wissenschaft der FGF e.V.

Herausgeber: Forschungsgemeinschaft Funk e.V., Rathausgasse 11a,
D-53113 Bonn, Telefon: 0228 / 72622-0, Telefax: 0228 / 7262211

Redaktion: Gerd Friedrich (verantw.)

Grafik, Satz, Layout: Autoren Societät, Bonn

Die vorliegende Studie wurde im Auftrag der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. durchgeführt. Die Berichte geben die Meinungen der Autoren wieder und stellen daher nicht unbedingt auch die Meinung der FGF dar.