

# In vitro-Unter und

Lutz Haberland



## *In vitro*-Untersuchungen

Die erste Session, die sich speziell mit *in vitro*-Untersuchungen beschäftigte, war Tutorial Session 1: „High-Throughput Screening Techniques in EMF Research“. Die Vorträge sind detailliert im **Bericht von Vijayalaxmi** wiedergegeben. Kurz zusammengefasst: Die relativ neuen Technologien Proteomics and Transcriptomics scheinen ein gutes Werkzeug zu sein, um zu testen, welchen Einfluss EMF auf die Expression und Aktivierung von (z. T. in ihrer Funktion unbekannt) Proteinen haben. Die Empfindlichkeit der Methoden ist allerdings begrenzt, die erwarteten geringen Effekte müssen jedenfalls mit anderen, sensibleren Methoden überprüft werden.

Auch mit Hilfe der eben angesprochenen Methoden untersuchten **R. Nylund** u.a. (Gruppe D. Leszczynski) den Einfluss von modulierten (GSM) und unmodulierten 1800 MHz-Feldern (2 W/kg) auf die Proteinexpression in einer humanen Endothel-Zelllinie. Sie fanden eine erhöhte Expression bei 58 von 1476 untersuchten Proteinen, allerdings nur bei GSM-modulierten Feldern, nicht bei unmodulierten. Viele der verstärkt exprimierten Proteine sind mit der Funktion des Zellskeletts verknüpft. Bei der Wiederholung der Versuche ein Jahr später, diesmal aber mit der etwas traditionelleren Methode der Western-Blot-Analyse, konnte kein Effekt gefunden werden. Die Ursache dieser Diskrepanz ist auch den Autoren noch unklar, sie wollen die Versuche – auch mit anderen Zelllinien – wiederholen.

Im Zusammenhang mit der von der Gruppe um D. Leszczynski gefundenen verstärkten Expression und Phosphorylierung von Stressproteinen (HSP, u.a. vorgestellt auf der BEMS-Tagung 2003) sind zwei Poster interessant. **F. Pouletier de Gannes** und Mitarbeiter nutzte die gleiche humane Endothel-Zelllinie wie die Gruppe um Leszczynski, sowie eine ähnliche, um die Expression von HSP27 bei Exposition mit einem 900

# suchungen Mechanismen

MHz-Feld, SAR = 2,0 W/kg zu untersuchen. Signifikante Änderungen wurden nicht gefunden, allerdings bei der Zelllinie von Leszczynski ein Trend zu erhöhter Expression nach einer Stunde Exposition. Dieser Befund hatte schon auf dem HSP-Workshop im April in Helsinki zu heftigen Diskussionen geführt, „ob da vielleicht nicht doch ein Effekt ist“, der mit einer größeren Anzahl von Versuchen auch signifikant werden könnte. Die Gruppe um **J. Miyakoshi** untersuchte die Expression der Stressproteine HSP27 und HSP70 in humanen Gliomazellen bei Exposition mit einem 1950 MHz-CW-Feld (SAR: 1, 2 und 10 W/kg). Sie fanden keine Änderung der Expression der Proteine, nur beim höchsten SAR-Wert wurde ein Trend zu verringerter Phosphorylierung von HSP27 festgestellt.

Der Einfluss von Hochfrequenzfeldern auf das Enzym Ornithindekarboxylase (ODC) ist schon seit Jahren Forschungsthema, insbesondere die Gruppe um Litovitz hatte von positiven Resultaten berichtet. Das Enzym ODC wird speziell mit der Entstehung von Krebszellen in Verbindung gebracht. **M. Taxile** und Mitarbeiter wollten diese Versuche replizieren, einmal mit 50 Hz-modulierten 835 MHz-Feldern und als Erweiterung mit 217 Hz (GSM) modulierten 1800 MHz-Feldern. Allerdings konnten sie weder bei 0,5, 1,0 noch bei 2,5 W/kg eine Änderung der ODC-Aktivität feststellen.

J. Tattersall und Kollegen fanden 2001 einen Einfluss von 700 MHz-Feldern auf die elektrische Aktivität von Hippokampus-Gewebsschnitten von Ratten. Ein Poster von **A.J. Smith** (Gruppe von Tattersall) zeigte die Ergebnisse ähnlicher Untersuchungen an Hippokampus-Gewebsschnitten von Mäusen, diesmal aber bei 900 MHz. Hier konnten keine Unterschiede zwischen Exposition und Sham (Kontrollexperimente) gefunden werden. Ob dieses Fehlen eines Effektes möglicherweise an der anderen Frequenz liegt, wurde nicht erklärt. Es sind aber weitere Versuche mit 400 MHz (Tetra) und 2200 MHz (UMTS) geplant.

Freie Radikale und hierbei insbesondere Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) werden immer wieder als mögliche Angriffspunkte für elektromagnetische Felder ins Spiel gebracht. **M. Lantow** und **M. Simkó** betrachteten den Einfluss von 1800 MHz-Feldern (SAR = 0,5 bis 2,0 W/kg) in verschiedenen Zelllinien. Sie konnten keine signifikante Änderung der ROS-Produktion feststellen (Poster).

Bei der Betrachtung der vorgestellten Untersuchungen fällt die Häufung von Replikationsexperimenten auf. (An und für sich eine löbliche Entwicklung.) Wenn die Ergebnisse allerdings fast ausschließlich diametral zu den vorherigen Resultaten sind, zeigt dies nur, dass es sich bei den biologischen Effekten von EMF nahe oder unterhalb der Grenzwerte entweder um sehr geringe Effekte, oder solche, die von sehr vielen Einflussfaktoren abhängig sind, handeln muss. Dafür scheint die richtige Untersuchungsmethodik noch nicht gefunden zu sein.

## Mechanismen

Wie schon im vergangenen Jahr wurde das Thema Mechanismen zusammen mit dem Thema Modellierung behandelt, wobei letzteres deutlich dominierte. Dies zeigte sich darin, dass von den acht Vorträgen in Session 6 „Mechanisms and Modeling“ sich nur ein Referat tatsächlich mit einem möglichen Mechanismus befasste.

**J. Carson** (Koautor: J. Walleczek) befasste sich mit dem lichtabhängigen Magnetfeldeinfluss auf einen periodischen Peroxidase-Oxidase-Oszillator. Bei diesem künstlichen chemischen Oszillator ändern sich periodisch die Konzentrationen der Moleküle NADH, Sauerstoff, Wasserstoffperoxid und Stickstoff. Dieses System wird als Modell für auch in biologischen Systemen ablaufende periodische Oszillationen angesehen. Die Autoren fanden nun einen lichtabhängigen Effekt statischer Magnetfelder. Die chemischen

Oszillationen wurden nur dann in ihrer Amplitude beeinflusst, wenn gleichzeitig Licht, insbesondere der Wellenlängen 580 – 700 nm, und ein Magnetfeld von ca. 80 mT einwirkte. Erklärt wurde der Effekt damit, dass das Licht die Stoffwechselzwischenprodukte in einen Triplett-Zustand anregt, der dann durch das doch recht starke Magnetfeld beeinflusst werden kann. Die Arbeit ist ein weiterer Beitrag zur Radikalpaar-Theorie, aber zur Erklärung von Phänomenen bei Magnetfeldintensitäten, wie sie normalerweise in der Umwelt auftreten, nicht geeignet.

Weitere Ausführungen zu möglichen Mechanismen versteckten sich u.a. in der Students Session. Zwei Vorträge (und zwei Poster) der Gruppe um **G. D'Inzeo** beleuchteten die Anstrengungen, mehr Licht in die Vorgänge auf zellulärem Niveau, insbesondere um Zellmembranen, zu bringen (Stichwort Mikrodosimetrie).

Im Vortrag von **M. Gianni** wurde der Einfluss niederfrequenter Felder auf die Nervenfaseraktivität betrachtet. Nach der Theorie des stochastischen Rauschens wird das Signal-Rausch-Verhältnis verstärkt, wenn zu einem periodischen Signal (hier EMF im Bereich von 20 bis 100 Hz) ein bestimmter Betrag von stochastischem Rauschen dazukommt, der auch Frequenzanteile des periodischen Signals enthält. Endpunkt ist die Änderung des Membranpotentials. Bei den Berechnungen wurde davon ausgegangen, dass die Nervenfaseraktivität bei ziemlich konstant 83 Hz liegt. In der Diskussion wurde bemängelt, dass es keine Nerven gibt, die konstant bei dieser Frequenz feuern.

**M. Pellegrino** sprach anschließend zu Mikrowelleneffekten (0.8 bis 2 GHz, SAR 1 W/kg, cw und GSM-Modulation) auf die Funktion von Ionenkanälen. Die experimentellen Untersuchungen erbrachten eine Verringerung der Öffnungswahrscheinlichkeit der Kanäle bei Exposition, während die Leitfähigkeit konstant blieb. Die experimentellen Ergebnisse sollen nun mit mathematischen Modellen beschrieben und erklärt, sowie in Zukunft auch vorhergesagt werden. Diese Arbeit ist aber leider noch nicht vollendet.

Eine Übersichtsarbeit zu kürzlich diskutierten Mechanismushypothesen verbarg sich in Session 7 „RF-Studies“. **A. Sheppard** fasste die Vorstellungen zu

nichtlinearen Reaktionen, kurzzeitigen Erwärmungen auf kleinem Gebiet (Wasserschichten um Makromoleküle, Makromoleküle selbst, ganze Zellen) und resonanten Anregungen von Makromolekülen durch hochfrequente Felder zusammen. Er kam zu dem Schluss, dass bei Intensitäten innerhalb der gültigen Grenzwerte die Diffusion der Energie zwischen den Molekülen zu groß ist, um nennenswerte Energieeinträge bzw. Temperaturerhöhungen zu verursachen. Eine Anregung von Makromolekülen ist zudem bei Frequenzen unter  $10^{11}$  Hz (der Mobilfunk sendet bei  $10^9$  Hz) aufgrund von Modellrechnungen nicht zu erwarten.

Aus Session 11 „Biological Effects and Medical Applications“ können zwei der drei Vorträge ebenfalls dem Themenbereich „Mechanismen“ zugeordnet werden. **D. Leszczynski** versuchte, die von seiner Gruppe berichteten Effekte hochfrequenter Felder auf die Proteinexpression auf einen Einfluss auf den Faltungsprozess der Proteine zurückzuführen. Eine detaillierte Vorstellung hierzu fehlt allerdings noch.

Die Wechselwirkung elektromagnetischer Felder mit Elektronen, insbesondere solchen in der DNS, auch bezeichnet als Elektronen-Transfer, ist der bevorzugte Mechanismus für **M. Blank**. Da die Wasserstoff-Bindungen zwischen den DNS-Molekülen recht schwach sind, sollen von außen einwirkende Felder hier leicht zu Elektronenverschiebungen, und damit zu Schwächungen der Bindungen führen können. In der z. T. lebhaft geführten Diskussion wurde u. a. bemängelt, dass man die Feldwirkung auf freie Elektronen, auch nicht größenordnungsmäßig, mit der Wirkung auf gebundene Elektronen gleichsetzen sollte.

Abschließend sei angemerkt, dass noch immer kein Mechanismus für nichtthermische (für Hochfrequenzfelder) und „nicht-reizende“ Effekte (für Niederfrequenz) bekannt ist, der die Anzahl an berichteten experimentellen Ergebnissen erklären kann.

Organisatorisch wäre es für die nächste Tagung sicherlich sinnvoll, die Mechanismus-Vorträge auch in einer Session mit entsprechendem Namen zusammenzulegen.

*Lutz Haberland ist Biophysiker an der Universität Rostock und arbeitet als wissenschaftlicher Berater für die Forschungsgemeinschaft Funk.*