

Beide Auswirkungen scheinen daher in Zusammenhang zu stehen.

Die zugrundeliegenden Mechanismen sind gegenwärtig unbekannt, da die angewendeten SAR-Niveaus unterhalb der thermischen Schwelle liegen und der Effekt beim GSM-1800-Signal nicht beobachtet wurde.

Schlussfolgerungen

Wir testeten die Auswirkungen einer einzelnen und von wiederholten Expositionen mit GSM-1800 und UMTS-Signalen auf die Produktion von Radikalen in den Hirnen ausgewachsener junger und älterer Ratten. In den Hirnen der beiden Rattengruppen wurden keinerlei Auswirkungen bei Einmalexposition festgestellt. Wiederholte Expositionen über längere Zeit mit dem GSM-1800-Signal führten ebenfalls zu keinen Effekten. Wir fanden allerdings, dass wiederholte UMTS-Expositionen den oxidativen Stress (Lipoperoxidation und DNA-Oxidation) in den Hirnen ausgewachsener junger Ratten zu verringern vermochte, während sich bei älteren Ratten keine Auswirkungen zeigten.

Wir fanden keinerlei Nachweise dafür, dass die Exposition mit GSM-1800 und UMTS zu einer Zunahme von Radikalen im Hirn von Ratten führt und damit schädliche Auswirkungen nach sich ziehen könnte.

Einfluss von elektromagnetischen Feldern auf die Stabilität des menschlichen Genoms: Replikations- und Erweiterungsstudie

Projektziele

Publizierte Genotoxizitätsanalysen (Kometentests) deuten darauf hin, dass intermittierende (ein/aus) Exposition von primären menschlichen Fibroblasten (Bindegewebszellen) gegenüber niederfrequenten (NF) bzw. hochfrequenten (HF) elektromagnetischen Feldern (EMF) zu erhöhtem Auftreten von DNA-Strangbrüchen im Genom führen kann. Unser Projekt sollte diese möglicherweise wichtigen und ernsthaften Befunde überprüfen und in unserem auf Gendefekte und Genreparatur spezialisierten Labor weiterführend ergründen.

Experimenteller Ansatz

Die vom Wiener Forschungsteam um Prof. Rüdiger gefundenen Kometeneffekte zeigten sich deutlicher bei NF- als bei HF-Exposition. Ausgehend von diesen Erkenntnissen haben wir uns entschlossen, eine Replikationsstudie

the brains of young adult and elderly rats. There were no effects whatsoever from a single exposure in both groups of rats. Repeated exposure to GSM-1800 did not alter radical stress in the brains of the rats. We found that repeated exposure to UMTS decreased oxidative stress (lipoperoxidation and DNA oxidation) in the brains of young adult rats, while no effects could be seen in those of elderly rats.

We found no evidence that exposure to GSM-1800 and UMTS could lead to detrimental effects through radical stress induction.

Referenzen / References

The Swiss Research Foundation on Mobile Communication was acknowledged in the following scientific contributions (posters).

Lagroye I., Haro E., Ladevèze E., Madelon C., Billaudel B., Taxile M., Veyret B. (June 2007): Effects of mobile telephony signals exposure on radical stress in the rat brain. Twenty-nine Annual Technical Meeting of the Bioelectromagnetics Society, Kanazawa, Japan.

Lagroye I., Haro E., Ladevèze E., Billaudel B., Taxile M., Veyret B. (April 2007): Effects of GSM-1800 exposure on radical stress in rat brain. 8th International Congress of the European BioElectromagnetics Association, Bordeaux, France

Impact of Exposure to Electromagnetic Fields on Human Genome Stability: Replication Study and Extension

Objectives of the Proposed Study

Experimental evidence from genotoxicity tests (Comet assays) suggested that intermittent exposure of human fibroblasts to high (RF) and low (ELF) frequency electromagnetic fields (EMFs) increases the level of DNA strand-breaks in their genomes. As the mechanisms of genome damage and repair are the focus of our research, we proposed this project to revisit and investigate in greater detail this potentially important and disturbing finding.

Experimental Approach

The ELF-EMF induced Comet effects reported by the research group of Prof. Rüdiger in Vienna were generally more robust than those observed upon RF exposure. On the basis of this experimental evidence, we decided to start the replication study with ELF- rather than with

mit NF-Befeldung zu starten. Diese NF-Versuche sollten ausserdem die Entwicklung möglichst empfindlicher Nachweistechiken ermöglichen, welche schliesslich entsprechende Untersuchungen unter HF-Befeldung gestatten. Wir etablierten und optimierten auch neue biologische Modelle und technische Verfahren zum Nachweis von schwachen genotoxischen Effekten. Dabei fokussierten wir uns auf Behandlungsarten, welche geringe Schäden an den DNA-Basen bewirken (Oxidation von Basen, falscher Einbau von Uracil) oder die entsprechenden Reparaturmechanismen beeinträchtigen. Diese Grundlagenarbeiten haben uns klar gezeigt, dass verbesserte biochemische und biologische Techniken dringend notwendig sind, um die EMF-induzierten Comet-Effekte über das Deskriptive hinaus kausal zu ergründen und zu verstehen.

Wir untersuchten mögliche genotoxische Effekt von NF-EMF auf vier menschliche Zelllinien, drei Fibroblasten (ES-1, HR-1d, MRC5) und die gut untersuchte HeLa-Krebszelllinie. Für die Exposition verwendeten wir das IT'IS-System sXcELF. Die hier berichteten Ergebnisse beziehen sich auf 50-Hz-Befeldung bei 1 mT während 15 Stunden, wobei die Felder in dieser Zeit abwechselungsweise 5 Minuten eingeschaltet und 10 ausgeschaltet waren.

Für die HF-Experimente verwendeten wir die zwei Zelllinien ES-1 und HR-1d. Als Expositionsapparatur diente das Gerät sXc1950. Wir exponierten die Zellen zu einem HF-Feld von 1950 MHz das in der Art eines GSM-Handy-Signals moduliert war (Modus GSM-talk). Wiederum wurden intermittierend befelddet (5 Minuten an / 10 Minuten aus über 16 Stunden) und zwar mit SAR-Werten von 1 W/kg und 2 W/kg.

Resultate

Unsere Resultate zeigten, dass niederfrequente (50 Hz) EMF-Exposition die Anzahl DNA-Strangbrüche in ausgewählten menschlichen Zellen erhöhen kann. Diese Erhöhung zeigte sich beim angewandten Nachweisverfahren (Kometenanalyse) in einer Erhöhung des so genannten «Schweifeffektors» (Fig. 17). Menschliche Fibroblasten zeigten die Kometeneffekte unterschiedlich stark, aber durchwegs, während sich bei der Tumorzelle HeLa keine Effekte nachweisen liessen. Die Veränderungen des Schweifeffektors waren generell gering, aber statistisch

RF-EMF exposure conditions. So, we used the ELF-EMF setup to gear up and develop technology with improved sensitivity and dynamic range for RF-EMF studies to be carried out later. For the same reasons, we also

started to establish additional genotoxicity models and assays. Thereby, we focused on genotoxic treatments that induce low levels of DNA base damage

(base oxidation and uracil misincorporation) and/or inhibit relevant DNA repair pathways. Throughout the course of this project we experienced that without improved technology, we would not be able to carry the biological problem of EMF induced genome instability beyond a purely descriptive level of understanding.

We explored possible genotoxic effects of ELF-EMFs in four different human cell lines, three of them were primary fibroblasts (ES-1, HR-1d, MRC5), and one a cervical carcinoma cell line (HeLa). IT'IS provided and maintained the exposure setup sXcELF. Unless stated otherwise, we applied 50 Hz (power line) and 1 mT (or sham) for 15 hours in an intermittent type of exposure, where the coils alternate between 5 min on and 10 min off.

For the RF experiments we used the two primary fibroblast cell lines ES-1 and HR-1d, and the radiofrequency exposure setup sXc1950. We exposed the cells at 1950 MHz signal modulated in a way resembling a real phone talk (GSM-Talk mode). Exposure was performed with intermittency cycles of 5 minutes on, 10 minutes off for a total of 16 hours at SAR values of 1 and 2 W/kg.

Results

Our results show that EMFs in the range of power lines (50 Hz) can cause an increase in Comet tail parameters when applied intermittently to certain human cell lines (Fig. 17). Primary human fibroblasts appear to be consistently but variably affected, but the p53 deficient cancer cell line HeLa is not. The Comet effects are generally small but statistically significant and resemble a treatment of the same cell lines with 10 μM H_2O_2 . Cells continuously exposed to the 50 Hz EMF, however, do not show any Comet effects. Exactly why intermittency is important remains unclear at this point, but this strongly suggests that thermal aspects do not play an important role here.

Antragsteller	Prof. P. Schär, Prof. N. Kuster
Institution	Universität Basel
Laufzeit	August 2004 – Dezember 2006
Kontakt	primo.schaer@unibas.ch
Referenz	17

signifikant und lagen in der Grössenordnung von Schäden, die sich aus einer Behandlung mit 10 μM H_2O_2 ergeben. Wurden die Zellen kontinuierlich und nicht intermittierend exponiert, liessen sich keine Veränderungen nachweisen. Warum intermittierende Befeldung wichtig ist, bleibt unklar, es ist jedoch ein Hinweis darauf, dass thermische Effekte keine Rolle spielen dürften.

Mittels Kontrollexperimenten konnten wir ausschliessen, dass die Effekte durch die Expositionseinrichtung selbst erzeugt wurden oder ein Ergebnis der visuellen

Control experiments excluded potential artifacts relating to exposure chamber or incubator biases and to Comet analysis by visual classification of stages. The combination of Comet analyses with Fpg treatment ruled out a major contribution of oxidative damage to the DNA directed effects of EMF exposure. Cell cycle analyses further indicated that the Comet effect depends on S-phase progression of cells, suggesting that the EMF affects processes associated with DNA replication. We also noticed a small increase of apop-

Abbildung 17: Kometenanalyse nach NF-Exposition mit 50 Hz, 1 mT, 15 h, intermittierend (links) und kontinuierlich (rechts). Gezeigt sind die prozentualen Anteile von Zellen in den Kometenstadien A – E für Scheinbefeldung und reale Exposition. Gezeigt sind Beispiele von zwei humanen Fibroblasten (HR-1d, ES-1) und einer Krebszelllinie (HeLa), alle analysiert unter exponentiellen Wachstumsbedingungen. Die Zahlenwerte stellen Mittelwerte und Standardfehler von mindestens drei unabhängigen Experimenten (n) dar. Stadium A stellt Zellen mit intakter genomischer DNA dar, Stadien B – E Zellen mit zunehmender DNA-Fragmentierung. Sterne stehen für die statistische Signifikanz gemäss t-Test: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$. Die Textkästen zeigen die errechneten Schweifaktoren für Scheinbefeldung und für reale Exposition mit statistischer Signifikanz gemäss t-Test ($p(s)$) und Anzahl Experimente (n).

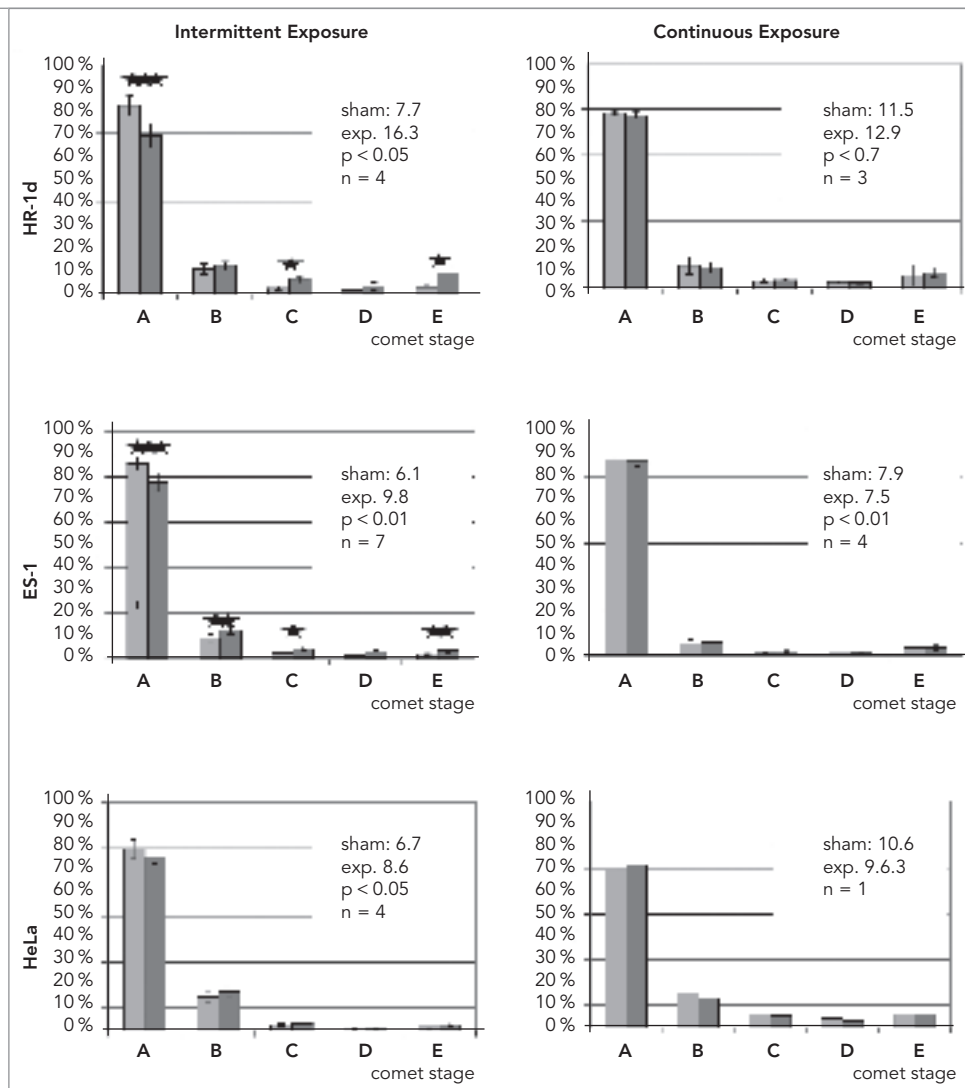


Figure 17: Comet analysis of the cell lines after 50 Hz EMF exposure at 1 mT for 15 h; exposure was either intermittent (cycles of 5 min on/10 min off) or continuous as indicated. Shown are examples of two primary human fibroblast cell lines (HR-1d, ES-1) and one human cancer cell line (HeLa), all assayed under exponential growth conditions. Graphs illustrate percentages of cells in Comet stages A – E for sham- and EMF exposed cells. Values represent means and standard errors of at least three independent experiments. Stage A represents cells with mostly intact DNA and stages B – E cells with increasing amount of DNA fragmentation. Stars indicate statistical significance levels as calculated by the student's t-test: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.005$. The text box shows tailfactor values for sham and EMF-exposed cells, the significance level of the tailfactors by student's t-test ($p(s)$) and the number of experiments (n).

Auswertung der Kometentests waren. Durch die Kombination von Kometenanalyse und Vorbehandlung mit Fpg-Protein konnten wir auch nahezu ausschliessen, dass EMF-Exposition zu einer Erhöhung der oxidativen Schädigung der DNA führt. Zellzyklus-Analysen zeigten, dass die beobachteten Kometeneffekte nur in der S-Phase des Zellzyklus auftreten. Es scheint also, dass EMF primär Prozesse im Zusammenhang mit der DNA-Replikation beeinflusst. Wir beobachteten auch einen geringen Anstieg der Anzahl apoptotischer Zellen. Diese könnten einige der in der Kometenanalyse identifizierten Zellen im E-Stadium (mit stark fragmentierter DNA) darstellen. Apoptotische DNA-Fragmentierung kann allerdings nur einen kleinen Teil der Erhöhung des Schweiffaktors erklären.

Die Experimente mit HF-Exposition sind in der Abschlussphase und werden im nächsten Jahresbericht referiert.

Schlussfolgerungen

Wir konnten die Resultate der Forschungsgruppe Rüdiger replizieren und zeigen, dass EMF-Befeldung von Zellen eine Veränderung des Kometen-Schweiffaktors bewirken kann. Wir konnten zudem Zusammenhänge zeigen zwischen diesem Effekt und der zellulären Reaktion auf DNA-Schädigungen, dem Zellzyklus (S-Phase) sowie der Apoptose. Das sind interessante Befunde, welche genauere Untersuchungen über die beteiligten biochemischen Mechanismen rechtfertigen und nahelegen. Unsere Ergebnisse liefern wichtige Ausgangspunkte für solche vertieften Studien. Unsere Arbeit hat aber auch gezeigt, dass umfangreiche Grundlagenforschung von hoher Qualität erforderlich ist, um gültige und weiterführende biologische Modelle und technische Nachweismethoden zu entwickeln, welche für eine Erfolg versprechende Aufklärung der Zusammenhänge zwischen EMF-Exposition und Genom-Stabilität erforderlich sind.

totoc fibroblasts upon ELF-EMF exposure, which may constitute a subpopulation of stage E cells seen in the Comet assays. Apoptotic DNA fragmentation, however, does not fully account for the tailfactor increases seen upon ELF-EMF exposure.

The RF-experiments are currently finalised and will be presented in the next Annual Report.

Conclusions

In conclusion, we were able to replicate experimental evidence showing that EMF exposure can produce a detectable Comet tailfactor increase. We also uncovered links between these effects and cellular DNA damage responses, S-phase progression and apoptosis. These are interesting observations that justify more intense investigation into the underlying molecular details, to which our study may provide an entry point. However, this work has also shown that a vast amount of high quality basic research will be required to establish appropriate models that allow the biological endpoints and significance of the RF-EMF induced Comet tailfactor increase to be explored.