



25.8.2005 / Jürg Fröhlich, Gregor Dürrenberger

## Kommentar zur Reflex-Studie

### 1. Profil der Studie

Das Reflex-Projekt (Reflex: Risk Evaluation of Potential Environmental Hazards From Low Energy Electromagnetic Field Exposure Using Sensitive 'in vitro' Methods) untersuchte „im Reagenzglas“ Effekte von nicht-ionisierender elektromagnetischer Strahlung mit Intensitäten unterhalb der ICNIRP-Grenzwerte auf Zellen und Zellprozesse. Dabei wurden generell doppelblinde Protokolle verwendet. Die Expositionsapparate und die molekularbiologischen Analyseverfahren entsprachen fast durchwegs dem neuesten Stand der Technik.

Getestet wurden Effekte von niederfrequenter und von hochfrequenter elektromagnetischer Strahlung. Es wurden Zellen vom Menschen und von Tieren eingesetzt. Die biologischen Endpunkte, das heisst die interessierenden Effekte, umfassten Schädigungen des Genoms ('Genotoxizität'), Wirkungen auf den Zellzyklus (Zellwachstum und Vermehrung), Einflüsse auf den programmierten Zelltod (Apoptose), sowie Effekte im Bereich der Regulation von Genen und Proteinen (Genexpression).

Das Hauptziel des Reflexprojekts war, zur Klärung der in der internationalen Literatur beschriebenen und z.T. widersprüchlichen Laborbefunde über Effekte von EMF auf Zellen beizutragen.

Die Studie wurde von der EU (mit Zuschüssen der Stiftung VerUm sowie der Regierungen der Schweiz und von Finnland) mit insgesamt über 3 Mio. Euro unterstützt und im Kontext des 5. EU-Rahmenprogramms durchgeführt. Es beteiligten sich daran insgesamt 12 Forschungsgruppen aus 7 Ländern. Laborexperimente wurden von 9 Gruppen durchgeführt. Die Gesamtleitung lag bei der Stiftung VerUm (München). Der Bericht kann heruntergeladen werden von: <http://www.verum-foundation.de/cgi-bin/content.cgi?id=euprojekte01>.

### 2. Struktur und Forschungsinhalte

Im Folgenden werden die Experimente, welche die 9 Labors durchführten, überblicksartig dargestellt. Dabei werden pro Labor die verwendeten Zelltypen und die biologischen Endpunkte aufgelistet. In der ersten Liste sind die Angaben für die Experimente bei niederfrequenten elektromagnetischen Feldern dargestellt, in der zweiten Liste diejenigen für die Experimente unter Einfluss von hochfrequenten Feldern.

#### 2.1 Niederfrequente Exposition

| Labor       | Zelltypen   |  | Endpunkte |      |     |     |
|-------------|---|--|-----------|------|-----|-----|
|             | Humanzellen   | Tierzellen   | Tox.      | Pro. | Ap. | Ex. |
| Berlin      | -   | -  |           |      |     |     |
| Wien        | Fibroblasten, Lymphozyten, Monozyten, Melanozyten, Muskelzellen | Granulosa-Zellen (Ratte)                                 | x         |      | x   | x   |
| Gatersleben | -   | Embryonale Stammzellen, Neuronale Vorläuferzellen (Maus) | x         | x    | x   | x   |



| Labor    | Zelltypen          |   | Tox. | Endpunkte |     |     |
|----------|--------------------|---|------|-----------|-----|-----|
|          | Humanzellen        | Tierzellen  |      | Pro.      | Ap. | Ex. |
| Madrid   | Neuroblastomzellen | -   |      | x         | x   |     |
| Helsinki | -                  | -   |      |           |     |     |
| Hannover | -                  | Oozyten (Krallenfrosch), Granulosa-Zellen (Ratte), Eizellen (Hamster) | x    |           |     | x   |
| Bordeaux | Lymphozyten        | Embryonale Stammzellen (Maus)   |      | x         |     |     |
| Bologna  | -                  | -   |      |           |     |     |
| Milano   | Neuroblastomzellen | -   |      |           |     | x   |

Tox.=Genotoxizität, Pro.=Zellproliferation und Zellzyklus, Ap.=Apoptose, Ex.=Genexpression

## 2.2 Hochfrequente Exposition

| Labor       | Zelltypen                                 |  | Tox. | Endpunkte |     |     |
|-------------|---|--|------|-----------|-----|-----|
|             | Humanzellen                               | Tierzellen   |      | Pro.      | Ap. | Ex. |
| Berlin      | Leukämiezellen                            | -  |      |           |     |     |
| Wien        | Fibroblasten                              | Granulosa-Zellen (Ratte)                                 | x    |           |     |     |
| Gatersleben | -   | Embryonale Stammzellen, neuronale Vorläuferzellen (Maus) | x    |           | x   | x   |
| Madrid      | Neuroblastomzellen                        | Embryonale neuronale Stammzellen (Ratte)                 |      | x         |     | x   |
| Helsinki    | Endothelzellen                            | -  |      |           | x   | x   |
| Hannover    | -   | -  |      |           |     |     |
| Bordeaux    | Lymphozyten, Thymozyten                   | -  |      | x         | x   | x   |
| Bologna     | Nervenzellen, Endothelzellen, Immunzellen | Nervenzellen (Astrozyten) (Ratte)                        |      |           | x   | x   |
| Milano      | -   | -  |      |           |     |     |

Tox.=Genotoxizität, Pro.=Zellproliferation und Zellzyklus, Ap.=Apoptose, Ex.=Genexpression

## 2.3 Uebergreifende Aktivitäten

| Labor      | Aufgaben                                   |
|------------|--|
| München    | Projektkoordination                        |
| Zürich     | Expositionseinrichtungen und Dosimetrie    |
| Heidelberg | Analysen zur Genexpression bei Humanzellen |

## 2.4 Kommentar

Die Reflex-Studie hat eine grosse Anzahl verschiedener menschlicher und tierischer Zellen eingesetzt, mit einer grossen Anzahl unterschiedlicher Signale exponiert und auf die biologischen Endpunkte Genexpression, genotoxische Wirkungen, Zellzyklus und Apoptose hin untersucht. Die Gesamtanlage der Studie ist eher unsystematisch. Es wurden keine einheitlichen, standardisierten Versuchsprotokolle bezüglich der Exposition (Feldstärke, spezifische Absorptionsrate, Zeitdauer, On-Off Zyklen, etc.) eingesetzt. Auf der Seite der Zellbiologie sind einheitliche, standardisierte Versuchsprotokolle fast unmöglich. Jeder Zelltyp und jede Zelllinie hat ihre spezifischen Anforderungen. Nicht alle Zellen eignen sich für alle Arten von Versuchen. Die Auswahl des Modells (Zellsystems) ist durch die konkrete Fragestellung limitiert. Die Reflex-Studie konzentrierte sich darauf auf gewisse Zelltypen spezialisierte Labors in die Expositionsversuche einzubeziehen.

Nur in zwei Experimenten verwendeten (zwei) Labors gleiche Zellen und Expositionen zur Untersuchung derselben Endpunkte. Alle anderen Experimente unterscheiden sich in mindestens einer der drei Dimensionen „Zelltyp“, „Exposition“ und „Endpunkt“. Generell wurden für verschiedene Endpunkte verschiedene Zelltypen in z.T. unterschiedlichen Stadien des Zellzyklus verwendet. Auch ist die Repetitionsrate der Experimente zwischen den Labors unterschiedlich. Die Ergebnisse sind insofern nicht so leicht miteinander vergleichbar, was deren Interpretation erschwert. Dazu kommt eine unterschiedliche Datenauswertung und eine verschiedene Darstellung der Resultate im Bericht.

## 3. Resultate

In den nachfolgenden Tabellen sind die Hauptbefunde des Reflexprojekts zusammengestellt, zunächst für niederfrequente Expositionen, danach für hochfrequente Befeldung. Pro Endpunkt ist je eine Tabelle vorhanden.

### 3.1 Niederfrequente Exposition (Expositionen in mT)

#### 3.1.1. Genexpression

| Zelltyp                          | #Labs | Exposition | Signaltyp               | Ergebnis                                 |
|----------------------------------|-------|------------|-------------------------|--|
| Humanzellen                      |       |            |                         |  |
| Neuroblastom-Zellen (NB69)       | 1     | 1 / 2      | 50Hz-Sinus, 5'on/5'off  | kein Effekt                              |
| Fibroblasten                     | 1     | 1          | 50Hz-Sinus, 5'on/5'off  | kein Effekt                              |
| Tierzellen                       |       |            |                         |  |
| Embryonale Stammzellen (Maus)    | 1     | 2          | 50Hz-Sinus              | Kurzzeitige Hochregulierung einiger Gene |
| Neuronale Vorläuferzellen (Maus) | 1     | 2          | 50Hz-Sinus, 5'on/30'off | kein Effekt                              |
| Granulosa-Zellen (Ratte)         | 1(a)  | 1          | 50Hz-Sinus, 5'on/5'off  | kein Effekt                              |



### 3.1.2. Genotoxische Effekte

| Zelltyp                       | #Labs | Exposition                    | Signaltyp                           | Ergebnis  |
|-------------------------------|-------|-------------------------------|-------------------------------------|---|
| Humanzellen                   |       |                               |                                     |   |
| Fibroblasten                  | 1     | 0.2 - 2.0                     | 3Hz-550Hz-Sinus, versch. Intervalle | Erhöhung Strangbrüche, Chromosomenabberationen (bis zu Faktor 4) <sup>a</sup> . Bestätigung der Bildauswertung durch 2 unabhängige Labors <sup>b</sup> . Replikation der Versuche durch ein unabh. Labor bestätigte Effekte nicht |
| Melanozyten                   | 1     | 1                             | 50Hz-Sinus, 5'on/10'off             | Erhöhung Srangbrüche (bis zu Faktor 3)  |
| Lymphozyten                   | 1     | 1                             | 50Hz-Sinus, 5'on/10'off             | kein Effekt   |
| Monozyten                     | 1     | 1                             | 50Hz-Sinus, 5'on/10'off             | kein Effekt   |
| Muskelzellen                  | 1     | 1                             | 50Hz-Sinus, 5'on/10'off             | kein Effekt   |
| Tierzellen                    |       |                               |                                     |   |
| Embryonale Stammzellen (Maus) | 1     | 2                             | 50Hz-Powerline, 5'on/30'off         | kein Effekt   |
| Granulosa-Zellen (Ratte)      | 1(a)  | 1 / 0.02 / 0.6 (letzte: 1kHz) | 8Hz-1kHz, 5'on/10'off               | Erhöhung Strangbrüche (bis zu Faktor 3)   |
| Granulosa-Zellen (Ratte)      | 1(b)  | 1                             | 50Hz-Sinus, 5'on/10'off             | Erhöhung Srangbrüche (bis zu Faktor 3)  |

### 3.1.3. Zellzyklus

| Zelltyp  | #Labs | Exposition | Signaltyp                      | Ergebnis                                   |
|--|-------|------------|--------------------------------|--|
| Humanzellen  |       |            |                                |  |
| Neuroblastom-Zellen (NB69)   | 1     | 0.01 - 2.0 | 50Hz-Sinus, versch. Intervalle | Steigerung des Zellwachstums               |
| Lymphozyten  | 1     | 0.05       | 50Hz-Sinus, versch. Intervalle | kein Effekt                                |
| Tierzellen   |       |            |                                |  |
| Embryonale Stammzellen (Maus)  | 1     | 2          | 50Hz-Sinus                     | kein Effekt                                |
| Embryonale Stammzellen im Differenzierungsstadium zu Herzzellen (Maus) | 1     | 0.8        | 50Hz-Sinus, versch. Intervalle | Beschleunigung des Differenzierungsablaufs |

<sup>a</sup> Zunahme der Anzahl DNA Brüche verändert sich über die Expositionszeit (DNA-Reparaturmechanismus).

<sup>b</sup> Konsistenz bezüglich Zunahme der Anzahl der Mikrokerne.



### 3.1.4. Apoptose

| Zelltyp                       | #Labs | Exposition | Signaltyp  | Ergebnis  |
|-------------------------------|-------|------------|------------|---|
| Humanzellen                   |       |            |            |   |
| Neuroblastomzellen (NB69)     | 1     | 0.1        | ?          | Signifikante Verminderung der spontanen Apoptose (indirekte Hinweise via Genexpression)       |
| Fibroblasten                  | 1     | 1          | ?          | kein Effekt   |
| Tierzellen                    |       |            |            |   |
| Embryonale Stammzellen (Maus) | 1     | 2          | 50Hz-Sinus | Kein Effekt, aber möglicherweise Einfluss auf Apoptose (indirekte Hinweise via Genexpression) |

## 3.2 Hochfrequente Exposition (Expositionen in W/kg)

### 3.2.1. Genexpression

| Zelltyp                          | #Labs | Exposition | Signaltyp                                 | Ergebnis  |
|----------------------------------|-------|------------|---|---|
| Humanzellen                      |       |            |   |   |
| HL-60                            | 1     | 0.2 - 3    | CW, gepulst 217Hz, Talk, 5'on/10'off      | Veränderung der Regulation verschiedener Proteine   |
| Neuroblastomzellen (NB69)        | 1     | 1 - 2      | CW, GSM-basic                             | Verminderte Expression Rezeptor für Fibroblastenwachstumsfaktor   |
| Lymphozyten                      | 1     | 1.4 - 2    | CW, gepulst 217Hz, Talk, 5'on/10'off      | kein Effekt   |
| Immunzellen                      | 1     | 2          | GSM900, gepulst                           | Kaum Einfluss   |
| Endothelzellen                   | 1     | 2          | GSM900, gepulst                           | Kein Einfluss auf Stressprotein hsp70   |
| Endothelzellen                   | 1     | 2.4        | GSM900, gepulst, GSM1800-basic, talk      | Erhöhung Stressprotein hsp70  |
| Tierzellen                       |       |            |   |   |
| Embryonale Stammzellen (Maus)    | 1     | 1.5        | GSM basic, 5'on/30'off                    | Hochregulierung Stressprotein, von Proteinen die für Zelldifferenzierung und Zellzyklus zuständig sind, sowie eines Krebsgens |
| Nervenzellen (Ratte)             | 2     | 2          | GSM900, gepulst                           | Kein Effekt im einen Labor, im anderen keine eindeutigen Resultate  |
| Nervenzellen (Astrozyten, Ratte) | 1     | 2          | GSM900, gepulst                           | Nicht konsistent  |
| Neuronale Stammzellen (Ratte)    | 1     | 1 - 2      | CW, gepulst 217Hz, Talk, DTX, 5'on/10'off | Verminderte Expression Rezeptor für Fibroblastenwachstumsfaktor   |

### 3.2.2. Genotoxische Effekte

| Zelltyp                          | #Labs | Exposition | Signaltyp                            | Ergebnis   |
|----------------------------------|-------|------------|--------------------------------------|--|
| Humanzellen                      |       |            |                                      |  |
| HL-60                            | 1     | 1.3 / 1.6  | CW, gepulst 217Hz, Talk, 5'on/10'off | Erhöhung Strangbrüche (bis zu Faktor 4) <sup>c</sup> .   |
| Fibroblasten                     | 1     | 2          | CW, Pulse 217Hz, Talk, 5'on/10'off   | Erhöhung Strangbrüche (~Faktor 2), Chromosomenabberationen. Bestätigung der Bildauswertung durch 2 unabhängige Labors <sup>d</sup> . |
| Tierzellen                       |       |            |                                      |  |
| Embryonale Stammzellen (Maus)    | 1     | 1.5        | GSM-basic, 5'on/30'off               | Erhöhung Strangbrüche nach Exposition  |
| Neuronale Vorläuferzellen (Maus) | 1     | 1.5        | GSM-basic, 5'on/30'off               | Erhöhung Strangbrüche  |
| Granulosa-Zellen (Ratte)         | 1     | 2          | CW, Pulse 217Hz, Talk, 5'on/10'off   | Erhöhung Strangbrüche (~Faktor 2)  |

### 3.2.3. Zellzyklus

| Zelltyp                       | #Labs | Exposition | Signaltyp                                       | Ergebnis                                 |
|-------------------------------|-------|------------|---|--|
| Humanzellen                   |       |            |   |  |
| HL-60                         | 1     | 0.2 - 3    | CW, gepulst 217Hz, Talk, 5'on/10'off            | kein Effekt                              |
| Neuroblastom-Zellen (NB69)    | 1     | 1 - 2      | CW, gepulst 217Hz, Talk, DTX, 5'on/10'off       | kein Effekt                              |
| Lymphozyten                   | 1     | 1.4 - 2    | GSM-talk - 5'on/20'off; GSM-talk - 5'on/20h off | kein Effekt                              |
| Thymozyten                    | 1     | 1.4 - 2    | GSM-talk - 5'on/20'off; GSM-talk - 5'on/20h off | kein Effekt                              |
| Tierzellen                    |       |            |   |  |
| Embryonale Stammzellen (Maus) | 1     | 1.5        | GSM-basic, 5'on/30'off                          | kein Effekt                              |
| Neuronale Stammzellen (Ratte) | 1     | 1.0 - 2.0  | CW, gepulst 217Hz, Talk, DTX, 5'on/10'off       | Einzelne Effekte auf Zelldifferenzierung |

<sup>c</sup> Zunahme der Anzahl DNA Brüche verändert sich über die Expositionszeit (DNA-Reparaturmechanismus).

<sup>d</sup> Konsistenz bezüglich Zunahme der Anzahl der Mikrokerne.



### 3.2.4. Apoptose

| Zelltyp                                    | #Labs | Exposition | Signaltyp                                  | Ergebnis  |
|--|-------|------------|--|---|
| Humanzellen                                |       |            |  |   |
| HL-60                                      | 1     | 0.2 - 3.0  | CW, gepulst<br>217Hz, Talk,<br>5'on/10'off | kein Effekt   |
| Lymphozyten                                | 1     | 1.4 - 2.0  | CW, gepulst<br>217Hz, Talk,<br>5'on/10'off | kein Effekt   |
| Thymozyten                                 | 1     | 1.4 - 2.0  | CW, Pulse 217Hz,<br>Talk, 5'on/10'off      | kein Effekt   |
| Immunzellen                                | 1     | 2          | GSM900, gepulst                            | kein Effekt   |
| Endothelzellen                             | 1     | 2.4        | GSM900, gepulst                            | Apoptose könnte beeinflusst werden<br>(indirekte Hinweise)  |
| Tierzellen                                 |       |            |  |   |
| Embryonale<br>Stammzellen<br>(Maus)        | 1     | 1.5        | GSM-basic,<br>5'on/30'off                  | Möglicher Einfluss auf die Apoptose<br>(indirekte Hinweise) |
| Neurale Stammzel-<br>len (Ratte)           | 1     | 2          | GSM900, gepulst                            | kein Effekt   |
| Nervenzellen<br>(Astrozyten), (Rat-<br>te) | 1     | 2          | GSM900, gepulst                            | kein Effekt   |

### 3.3 Kommentar

Die Reflex-Studie verwendete fast durchwegs modernste Expositionseinrichtungen für die niederfrequente und die hochfrequente elektromagnetische Befeldung der Zellen. Ein Teil der Zellen wurde jeweils exponiert, der andere Teil als Kontrolle nur „zum Schein“ befeldet ("Sham"-Bedingung). Die Experimente wurden dabei blind durchgeführt, d.h. erst nach der biologischen Analyse und der statistischen Auswertung der Proben wurde offengelegt, welche Kulturen tatsächlich befeldet wurden und welche nicht. So konnte vermieden werden, dass allfällige Vorurteile der Forschenden die Analyse beeinflussen würden. Die biologischen Auswertungsverfahren zur Analyse von Genexpression, genotoxischen Wirkungen und Einflüssen auf Zellzyklus und Apoptose basierten auf etablierten Standardtechnologien.

Die Studie konnte Auswirkungen von nieder- und hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf die Genexpression feststellen. Dabei zeigte sich eine komplexe Abhängigkeit der Effekte von der Intensität der Strahlung, der Signalart, dem Zelltyp, dem Alter des Spenders der Zellen und der „Güte“ des DNA-Reparaturmechanismus (genetischer Hintergrund). Bei niederfrequenten Feldern wurden die Effekte bei vergleichsweise hohen Magnetfeldstärken beobachtet. Eine Interpretation der Reflex-Resultate zur Genexpression ist schwierig und spekulativ. Das gilt ganz besonders hinsichtlich ihrer möglichen gesundheitlichen Bedeutung. Veränderungen der Genexpressionsmuster, welche als Folge der Exposition auftreten, können zwar zelluläre Reaktionen und Zustände aufzeigen, sind aber ohne weiterführende Studien der beteiligten physiologischen Prozesse, funktionell schwer zu interpretieren.

Sowohl die Bestrahlung mit niederfrequenten als auch mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern zeigte genotoxische Wirkungen unterhalb der geltenden Grenzwerte. Im niederfrequenten Bereich wurden die Wirkungen allerdings nur beobachtet, wenn die Felder abwechselnd ein- und ausgeschaltet worden waren (Maximum der Wirkung von intermittierender Befeldung für Fibroblasten bei 5 Minuten ein, 10 Minuten aus). Bei kontinuierlicher Befeldung wurden keine Effekte gefunden. Die genotoxischen Wirkungen (Strangbrüche, Chromosomenabberationen, Mikrokerne) wurden nur bei bestimmten Zelltypen beobachtet. Die meisten unmittelbar nach der Exposition erfassten Strangbrüche wurden von den Zellen wieder repariert, ausser es handelte sich um Zellen mit defekter DNA-Reparatur. Das Ergebnis (Erhöhung der Strangbrüche) der niederfrequenten Befeldung von Fibroblasten konnte bei einer Replikation des Experiments in einem zweiten Labor nicht bestätigt werden. Bei Hochfrequenzbestrahlung wurden DNA-Strangbrüche in einzelnen Zelltypen auch bei kontinuierlicher Befeldung (nicht nur bei intermittierender) festgestellt. Genotoxische Wirkungen von Hochfrequenzexposition traten besonders bei mittleren Feldstärken um 1.5W/kg auf. Unterhalb von 1 W/kg und oberhalb von 3W/kg schienen sie wenig ausgeprägt.

Mit der ROS-Hypothese (ROS: reactive oxygene species) ist ein theoretischer Ansatz präsentiert worden, der genotoxische Wirkungen erklären könnte: Es ist bekannt, dass Sauerstoffradikale DNA-Schäden verursachen können. Die ROS-Hypothese geht davon aus, dass EMF die Entstehung dieser reaktiven Partikel fördern, bzw. deren Lebensdauer verlängern könnte.

In Bezug auf die Endpunkte „Zellzyklus“ und „Apoptose“ lieferte das Reflexprojekt keine oder keine konsistenten Resultate. Insgesamt scheinen weder niederfrequente noch hochfrequente elektromagnetische Felder Zellzyklus, Zellwachstum, Zellvermehrung und Zelltod zu beeinflussen. Die gefundenen Effekte im Bereich Genexpression und Erbgutschäden scheinen nicht zu einer sichtbaren Einbusse der Vitalität und der Funktionalität der Zellen zu führen. Allerdings schliessen die Autoren aufgrund ihrer Resultate zur Genexpression eine mögliche Wirkung auf die Apoptose nicht aus.

### **3.4 Schlussbemerkung**

Die Reflex-Studie förderte wichtige Erkenntnisse an den Tag, die zusammen mit den bestehenden 'in vitro' Daten in die Beurteilung der gesundheitlichen Risiken von EMF einfließen werden. Allerdings müssen die Ergebnisse noch sorgfältig mit z.T. anders ausgefallenen Resultaten früherer Studien verglichen werden; und zweifellos sollten die wichtigsten Befunde in unabhängigen Labors repliziert werden, um deren Robustheit zu prüfen. Eine solche Prüfung wird gegenwärtig in einem von der Forschungsstiftung Mobilkommunikation finanzierten Projekt (<http://www.mobile-research.ethz.ch/projekte.htm#17>) durchgeführt. Dabei geht es insbesondere um die Befunde mit Fibroblasten (Arbeitsgruppe Rüdiger).

Ein Defizit der Reflex-Studie ist, dass die Protokolle bezüglich Exposition unterschiedlich und die Art der Auswertung und die Darstellung der Resultate so verschieden sind. Sinn, Zweck und Umfang einheitlicher Protokolle sollten im Falle weiterer Expositionsversuche im Vorfeld eingehender diskutiert werden.





Zumindest für Nicht-Biologen ist es zudem schwierig, die Resultate der Experimente angemessen zu beurteilen. Über die Genauigkeit bzw. die Unsicherheit der biologischen Analyseverfahren wird nichts gesagt, und die biologische Bedeutung der Ergebnisse wird nicht im Lichte anderer, bekannter Wirkstoffe oder natürlicher Variationen erklärt. Gemäss Auskunft bestehen die Hauptprobleme, welche die Auswertung sogar für Biologen schwierig macht darin, dass 1) durchwegs geringe, kaum messbare Effekte beobachtet werden, 2) wenig sensitive und kaum spezifische Standardtechniken zur Analyse verwendet wurden und 3) kausale mechanistische Informationen fehlen und dadurch die Forschungsansätze beschreibender Natur sind. Damit die geringen Effekte klarer und spezifischer erfasst werden können, müssen die zellbiologischen Techniken verfeinert werden.

Insgesamt haben die Befunde der Reflex-Studie die Risikobeurteilung komplexer und offener gemacht. Die z.T. widersprüchlichen Laborbefunde über Effekte von EMF auf Zellen konnten durch die Reflex-Studie nicht geklärt werden.



## Anhang

### 1. Liste der Labors und der Hauptverantwortlichen

| Ort         | Institution  | Projektleiter |
|-------------|--|---------------|
| Berlin      | Inst. für klinische Chemie, Universitätsklinikum Benjamin Franklin | Tauber        |
| Wien        | Abt. für Arbeitsmedizin, Universitätsklinik Wien                   | Rüdiger       |
| Gatersleben | Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung           | Wobus         |
| Madrid      | Insalud, Ramon y Cajal Hospital                                    | Trillo        |
| Helsinki    | STUK – Radiation and Nuclear Safety Authority                      | Lesczynski    |
| Hannover    | Ins. Für Biophysik, Universität Hannover                           | Kolb          |
| Bordeaux    | Laboratoire PIOM, ENSCPB   | Lagroye       |
| Bologna     | Dipartimento di Fisica, Università degli Studi di Bologna          | Bersani       |
| Milano      | Cattedra di Farmacologia, Università degli Studi di Milano         | Clementi      |
| München     | VERUM – Stiftung für Verhalten und Umwelt                          | Adlkofer      |
| Zürich      | Institut für Integrierte Systeme, ETH Zürich                       | Kuster        |
| Heidelberg  | Ressourcenzentrum für Genomforschung GmbH                          | Maercker      |

### 2. Zur Bedeutung der biologischen Endpunkte

Hinsichtlich der gesundheitlichen Bedeutung sind die biologischen Endpunkte von zytogenetischen Effekten in folgende Prioritätenliste zu bringen:

1. Genexpression: Zellfunktionen werden durch Regulation von Genen gesteuert. Wenn der genaue Pfad von der Aktivierung eines bestimmten Gens (Genexpression) bis zur funktionellen (oder dysfunktionalen) Reaktion der Zelle (physiologische Bedeutung der durch die Gene gebildeten Proteine) unbekannt ist, dann lassen sich aus Befunden zur Genexpression keine Aussagen zur gesundheitlichen Relevanz ableiten.
2. Genotoxische Schäden: Ein genotoxischer Effekt als solcher ist nicht notwendigerweise ein Gesundheitsrisiko, die meisten DNA Schäden durch zellinterne Reparaturmechanismen korrigiert werden können. Ein Grossteil der beobachteten DNA Strangbrüche wird innerhalb der ersten Stunde nach Auftreten der Störung bereinigt. Nicht oder fehlerhaft korrigierte Schäden können allerdings Genfunktionen inaktivieren oder verändern und somit zum Beispiel zu einem erhöhten Krebsrisiko führen.
3. Zellzyklus: Üblicherweise vermehren (prolifrieren) sich menschliche Zellen nur wenn sie durch Signale von anderen Zellen dazu aufgefordert werden. Sonst verbleiben sie in einem Ruhestadium. Ist der Anteil von Zellen in aktiver Phase erhöht, so kann das ein Indikator für Zellen auf dem Tumorpfad sein.
4. Apoptose: damit wird der programmierte Zelltod bezeichnet. Er sorgt dafür, dass nicht mehr benötigte oder geschädigte Zellen zerstört werden. Störungen in der Regulierung der Apoptose können ernsthafte gesundheitliche Folgen haben.



### 3. Zur Bedeutung der Analyseverfahren

Nachfolgend eine Übersicht über einige häufig verwendete Analyseverfahren für ausgewählte biologische Endpunkte.

| Schaden  | Nachweisverfahren  | Bedeutung   |
|--|--|---|
| <b>Genexpression</b>                                     |  |   |
| Veränderungen in der Auf- und Abregulation von Proteinen | DNA-Chip-Array   | Interpretation hinsichtlich gesundheitlicher Bedeutung häufig sehr schwierig, da Zellfunktionen meist durch Zusammenspiel von Proteinen reguliert werden. |
| <b>Genotoxische Effekte</b>                              |  |   |
| DNA Basenschäden   | Alkalischer Kometentest<br>Flüssigkeitschromatographie             | Können zu DNA Strangbrüchen und Mutationen führen   |
| DNA Einzelstrangbrüche                                   | Alkalischer Kometentest<br>Pulsfeld-Gelelektrophorese              | Häufig vorkommend, effektive Reparaturmechanismen   |
| DNA Doppelstrangbrüche                                   | Alkalischer u. neutraler Kometentest<br>Pulsfeld-Gelelektrophorese | Kritischer Schaden, schlecht reparierbar, kann Chromosomenschäden oder Apoptosis auslösen   |
| Chromosomenschäden                                       | Lichtmikroskopie   | Numerische und/oder strukturelle Abberationen. Irreversibel. Häufige Ursache von Aborten.   |
| Mikrokerne   | Lichtmikroskopie   | Indikator für Chromosomenschäden  |
| Schwesterchromatid Austausch                             | Lichtmikroskopie   | Häufig Folge einer DNA-Reparatur  |
| Erhöhte Signalisierung von DNA-Schäden                   | 'Western Blotting'<br>Immunfluoreszenzmikroskopie                  | Signalproteine zur Aktivierung von Reparaturmechanismen als Indikatoren für DNA-Schäden   |
| <b>Zellzyklus</b>  |  |   |
| Zellzyklusanalyse  | Durchflusszytometrie   | Normalerweise ist der Anteil inaktiver Zellen (G0-Phase) gross. Grössere Anteile anderer Phasen weisen auf erhöhte Zellvermehrung hin.                    |
| <b>Apoptose</b>  |  |   |
| DNA-Fragmentierung                                       | Durchflusszytometrie<br>TUNEL-Assay                                | Störungen in der Apoptoseregulation stehen in engem Zusammenhang mit der Entstehung von Tumoren, autoimmunem und neurodegenerativen Erkrankungen          |