

# Brain in a dish – Effects of RF-EMF (5G) on brain development and neurodegeneration

Dr. Myles Capstick, Dr. Angélique Ducray and Prof. Dr. Meike Mevissen

All over the world, the 5G New Radio (NR) technology for broadband cellular networks is frequently used. The increasing usage of cell phones, particularly within the 5G NR mobile phone network, and the close proximity of the devices to the brain led to growing concerns about possible adverse effects to human health, especially the human brain.

In this project we investigate the impact of radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in the 5G NR frequency range 1 (FR1) (<6 GHz) on neuronal development. The study's aim is to analyze possible effects of RF-EMF exposure during different stages of brain development or the emergence and/or development of neurodegenerative diseases (e.g., Parkinson's disease).

The RF-EMF exposure set-up allows for well-defined exposure of neuronal cell cultures and different stages of the brain organoid development with electromagnetic signals characteristic of those used for the newest 5G mobile communication technology.

Previous experiments were based on traditional *in vitro* cell cultures (2D) or *in vivo* studies with animals. In our project, we use 3D "mini brains", namely human brain organoids originating from human pluripotent stem cells. The advantage of this *in vitro* model is that it represents the complexity of the human brain, as the brain organoids exhibit similar morphological and physiological traits as "real" brains. Additionally, in contrast to studies with laboratory animals, this approach will reduce some uncertainty in extrapolation, as the brain organoids originate from human cells.

Different stages of neuronal development (stem cells, embryonic bodies and organoids) will be exposed to RF-EMF for time periods of various lengths. In addition, disease models can be used, e.g. neuronal cells and/or mini brains that are genetically modified representing one genetic cause of Parkinson's disease. All experiments will be performed under double-blinded conditions, with half of the organoids being sham-exposed. Phenotypic characterization of cells (dopaminergic for midbrain), fitness, neuronal differentiation and biomarkers for neuronal development will be analyzed using state-of-the-art analyses. Moreover, cellular signaling pathways, playing an important role in neurodegenerative diseases, will be investigated.

In mature brain organoids, the electrical activity of the neuronal network will be analyzed using multiple electrode arrays (MEA). The goal is to expose both normal/healthy organoids and genetically modified cell lines related to neurodegenerative diseases (e.g., Parkinson's disease) to 5G radiation.

This project will provide insight into possible effects of 5G NR FR1 (<6 GHz) RF-EMF exposure into sensitive stages of the brain development in a model system that captures most of the complexity of the human brain.

# Minigehirne aus dem Labor – Wirkungen von HF-EMF (5G) auf die Gehirnentwicklung und Neurodegeneration

Dr. Myles Capstick, Dr. Angélique Ducray and Prof. Dr. Meike Mevissen

Die 5G New Radio (NR)-Technologie für mobile Breitbandnetze wird weltweit eingesetzt. Die zunehmende Nutzung von Mobiltelefonen insbesondere innerhalb des 5G NR Mobilfunknetzes, und die Nähe der Geräte zum Gehirn führen zu wachsender Besorgnis über mögliche schädliche Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit, insbesondere auf das menschliche Gehirn.

In diesem Projekt untersuchen wir die Auswirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (RF-EMF) im 5G NR Frequenzbereich 1 (FR1) (<6 GHz) auf die neuronale Entwicklung. Ziel der Studie ist es, mögliche Auswirkungen einer RF-EMF-Exposition während verschiedener Stadien der Gehirnentwicklung oder der Entstehung und/oder Entwicklung neurodegenerativer Erkrankungen (z.B. Parkinson) zu analysieren.

Der Aufbau der HF-EMF-Exposition ermöglicht eine genau definierte Exposition neuronaler Zellkulturen und verschiedener Stadien der Entwicklung von Hirnorganoiden mit elektromagnetischen Signalen, wie sie für die neueste 5G-Mobilfunktechnologie verwendet werden.

Frühere Experimente basierten auf traditionellen *in vitro* Zellkulturen (2D) oder *in vivo* Tierstudien. In unserem Projekt verwenden wir „Mini-Gehirne“ (3D), sogenannte menschliche Hirnorganoiden, die aus menschlichen pluripotenten Stammzellen stammen. Der Vorteil dieses *in vitro* Modells besteht darin, dass es die Komplexität des menschlichen Gehirns widerspiegelt, da die Hirnorganoiden ähnliche morphologische und physiologische Merkmale wie "echte" Gehirne aufweisen. Ausserdem verringert dieser Ansatz im Gegensatz zu Studien mit Labortieren eine gewisse Unsicherheit bei der Extrapolation, da die Hirnorganoiden von menschlichen Zellen stammen.

Verschiedene Stadien der neuronalen Entwicklung (induzierte pluripotente Stammzellen, embryonale „bodies“ und Organoiden) werden für unterschiedlich lange Zeiträume HF-EMF ausgesetzt. Darüber hinaus können Krankheitsmodelle verwendet werden, z.B. neuronale Zellen und/oder Mini-Gehirne, die genetisch verändert sind und eine genetische Ursache der Parkinson-Krankheit darstellen. Alle Experimente werden unter doppelt verblindeten Bedingungen durchgeführt, wobei die Hälfte der Organoiden einer Scheinexposition unterzogen wird. Die phänotypische Charakterisierung der Zellen (dopaminerge Zellen für das Mittelhirn), die Fitness, die neuronale Differenzierung sowie Biomarker für die neuronale Entwicklung werden mit Hilfe modernster Analysen untersucht. Darüber hinaus werden zelluläre Signalwege, die bei neurodegenerativen Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen, untersucht.

In ausgereiften Hirnorganoiden wird die elektrische Aktivität des neuronalen Netzwerks mit Hilfe von Mehrfachelektroden-Arrays (MEA) analysiert. Ziel ist es, sowohl normale/gesunde Hirn-Organoiden als auch genetisch veränderte Zelllinien, die mit neurodegenerativen Krankheiten (z.B. Parkinson) in Verbindung stehen, einer 5G-Strahlung auszusetzen.

Dieses Projekt wird Einblicke in die möglichen Auswirkungen von 5G NR FR1 (<6 GHz) HF-EMF-Exposition auf empfindliche Stadien der Gehirnentwicklung in einem Modellsystem geben, das die Komplexität des menschlichen Gehirns weitgehend abbildet.