

Stellungnahme des BfS zum Abschlussbericht des REFLEX Forschungsverbundes (5. EU-Rahmenprogramm)

Der Forschungsverbund REFLEX unter der Koordination von Prof. F. Adlkofer (VERUM-Stiftung, München) hat innerhalb des 5. EU-Rahmenprogramms die biologischen Wirkungen nieder- und hochfrequenter Felder in zahlreichen *in vitro* Studien, d. h. an verschiedenen Zellkulturen, untersucht. Die umfangreichen Versuchsreihen sind abgeschlossen und als EU-Abschlussbericht [1] veröffentlicht worden. An dem Projekt waren 11 Forschergruppen aus sieben europäischen Ländern beteiligt. Es handelte sich dabei nicht um Ringversuche mit einheitlichen, standardisierten Versuchsprotokollen, sondern um eine Vielzahl von Einzelexperimenten, die sich nur in wenigen Bereichen überschneiden oder ergänzt haben. Die Qualität und Darstellung der einzelnen Versuche sind sehr unterschiedlich und erfordern eine differenzierte Auseinandersetzung mit den einzelnen Ergebnissen. Details der jeweiligen Befeldungsbedingungen, Zahl der durchgeführten Experimente und Angaben zur Statistik fehlen in mehreren Fällen oder müssen mühsam zusammengesucht werden. Durch umfangreiche Querverweise und eine inkonsequente Einteilung nach untersuchten Endpunkten werden die Lesbarkeit, die Verständlichkeit und v. a. ein Vergleich einzelner Versuchsansätze erheblich erschwert. Der 259-seitige Bericht ist für Gutachter, Fachgremien oder interessierte Wissenschaftler nur mit hohem Zeitaufwand nachvollziehbar, die vorliegende Stellungnahme spiegelt insofern die Komplexität der durchgeführten Experimente wieder. Einige Teilergebnisse wurden in Fachjournalen publiziert. Im folgenden werden die wesentlichen Ergebnisse aus dem EU-Abschlussbericht (siehe www.verum-foundation.de) vorgestellt und aus Sicht des BfS fachlich kommentiert.

1. NIEDERFREQUENTE FELDER

Expositionsanlage und Versuchsdesign

Die meisten Versuchsreihen wurden bei 50 Hz-Feldern, wie sie z. B. bei der Stromversorgung im Haushalt vorkommen, durchgeführt. Die hierfür von der ETH Zürich (AG Kuster) entwickelte Expositionsanlage wurde nachvollziehbar beschrieben und charakterisiert. Die Zellkulturen von 4 Arbeitsgruppen (AG Rüdiger von der Universitätsklinik Wien, AG Wobus vom Institut für Pflanzengenetik Gatersleben, AG Kolb von der Universität Hannover und AG Clementi von der Universität Mailand) wurden in diesen Anlagen den niederfrequenten Feldern ausgesetzt (befeldet). Eine verblindete Exposition war gewährleistet, d. h. bei der Auswertung war nicht bekannt, ob es sich um exponierte Proben oder scheinexponierte Kontrollen handelte. Hierdurch wurde eine von der Erwartungshaltung des Auswerters unbeeinflusste Analyse sichergestellt.

Zwei Arbeitsgruppen (AG Trillo vom Hospital Madrid und AG Lagroye vom Labor PIOM Bordeaux) benutzten Expositionsanlagen, in denen keine verblindete Exposition möglich war. Während bei der Arbeitsgruppe Lagroye wirklich scheinbefeldet wurde ("nonparallel current", d. h. gegenläufige Felder löschen sich aus), arbeitete die AG Trillo mit einer tatsächlichen Nichtbefeldung. Verglichen wurden hierbei eine exponierte Probe mit einer Kontrolle, die sich in einem anderen Brutschrank befand, d.h. nicht unter den selben Umgebungsbedingungen gehalten wurde. Dadurch ist die Vergleichbarkeit mit den anderen Arbeiten eingeschränkt und die Belastbarkeit der Daten geschwächt.

a. Effekte unterhalb des Grenzwertes für 50 Hz-Felder (unterhalb 100 μ T)

Genotoxizität (COMET-Assay)

Nur eine der 11 Arbeitsgruppen (AG Rüdiger von der Universitätsklinik Wien) untersuchte mögliche genotoxische Effekte unterhalb der Grenzwerte. Bei einer dauerhaften (kontinuierlichen) Befeldung wurden in menschlichen Fibroblasten (Vorläuferzellen der Fibrozyten, die das Bindegewebe, wie beispielsweise Knochen, Sehnen, Bänder bilden) keine Erbgut-schädigenden (genotoxischen) Effekte festgestellt. Wurden jedoch Expositionsszenarien gewählt, bei denen das Feld in unterschiedlichen Abständen bzw. mit unterschiedlicher Dauer an oder ausgeschaltet wurde, dann konnte die Arbeitsgruppe um Rüdiger in mehreren dieser Szenarien Schädigungen des Erbguts in Form von DNA-Strangbrüchen mit Hilfe des alkalischen und neutralen COMET-Assays beobachten. Der COMET-Assay ist eine etablierte, empfindliche Methode zum Nachweis von DNA-Schäden. Der Effekt war nach 15 Stunden Befeldung mit einem ständig im Rhythmus von 5 min eingeschalteten und 10 min ausgeschalteten Feld (intermittierende Befeldung) am deutlichsten und wurde bereits bei magnetischen Flussdichten ab 35 μ T signifikant. Als möglichen Wirkmechanismus diskutieren die Autoren das verstärkte Auftreten reaktiver Sauerstoffverbindungen in der Zelle, die wiederum die DNA schädigen. Experimente zur Überprüfung dieser Hypothese, z. B. durch Nachweis von verstärkter Anwesenheit reaktiver Sauerstoffverbindungen in der Zelle, wurden von der Arbeitsgruppe nicht durchgeführt. Den Umstand, dass die Effekte nur bei intermittierender Exposition auftreten, erklärt die Arbeitsgruppe damit, dass die DNA-Reparatursysteme bei andauernder, nicht aber bei intermittierender Befeldung wirksam werden bzw. dort 10 - 12 h benötigen, um aktiv zu werden. Diese Erklärung ist zwar ungewöhnlich und biologisch nicht schlüssig, prinzipiell jedoch auch nicht auszuschließen. Nicht erwähnt wurde, ob Vibrationen (siehe unten) und mögliche Schaltartefakte (Abriss-Ströme und Spannungen) bei der An/Aus-Exposition berücksichtigt bzw. ausgeschlossen wurden.

Einen weiteren Unsicherheitsfaktor bei der Beurteilung der Ergebnisse stellt die unübliche Art der Auswertung der COMET-Assays durch die AG Rüdiger dar. Die Zellschädigung wurde per Auge abgeschätzt. Auf diese Weise wurden 5 Schadensklassen definiert und unterschiedlich gewichtet, d. h. der angegebene „Tailfaktor“ ist ein von der Arbeitsgruppe Rüdiger definiertes Maß der DNASchädigung (Diem und Rüdiger, 1999 [2]). Durch die vorgenommene Gewichtung kommt der Zuordnung einzelner Zellen eine vergleichsweise große Bedeutung zu. Die Verlässlichkeit der Schadensabschätzung per Auge und die Verlässlichkeit des selbst definierten Tailfaktors sind daher zu hinterfragen. Eine unabhängige Reproduktion dieser Ergebnisse mit Hilfe eines halbautomatischen oder vollautomatischen Bildanalysesystems würde die Belastbarkeit der Daten erhöhen.

b. Effekte oberhalb des Grenzwertes für 50 Hz-Felder (oberhalb 100 μ T)

Genotoxizität (COMET-Assay, Mikrokerne und Chromosomenschäden)

Bei Befeldung oberhalb des Grenzwertes für niederfrequente magnetische Felder (bei 1000 μ T, 5 min an, 10 min aus) beobachtete die Arbeitsgruppe Rüdiger DNA-Strangbrüche in drei von sechs untersuchten Zelllinien. Während Lymphozyten (Zellen des Immunsystems), Monozyten (Zellen des Immunsystems; Vorläufer der Makrophagen = Fresszellen) und Skelettmuskelzellen unbeeinflusst blieben, nahm die DNA-Strangbruchrate in Melanocyten (Pigmentzellen der Haut), Fibroblasten und Ratten-Granulosazellen (Zellen, die die Eizellreifung bewirken) zu. Nach Beendigung der Befeldung wurden die Strangbrüche innerhalb weniger Stunden vollständig repariert. Bei andauernder Feldexposition fand ebenfalls eine Reparatur der gesetzten Schäden statt, das Ausgangsniveau wurde im Untersuchungszeitraum aber nicht wieder erreicht. Weiterhin beschreibt die Arbeitsgruppe Rüdiger einen altersabhängig stärkeren Anstieg der DNA-Strangbrüche. Die Hypothese altersabhängiger Unterschiede aufgrund abnehmender DNA-Reparaturkapazität ist nachvollziehbar, angesichts von nur 6 Probanden sind die Folgerungen der Arbeitsgruppe Rüdiger bezüglich der Alterseffekte jedoch nicht als belastbar anzusehen.

Die Ergebnisse bezüglich der genotoxischen Effekte werden von der Arbeitsgruppe Kolb (Universität Hannover) in Ratten-Granulosazellen tendenziell bestätigt, wobei aufgrund der großen Standardabweichungen das Ergebnis für 50 Hz nicht signifikant ist. Demgegenüber findet die Arbeitsgruppe Wobus (Institut für Pflanzengenetik Gatersleben) in embryonalen Stammzellen der Maus keine genotoxischen Effekte, die Expositionsszenarien sind jedoch nicht direkt vergleichbar. Die Arbeitsgruppe Wobus hat darüber hinaus als einzige eine hinsichtlich auftretender Vibrationen „gedämpfte“ Expositionsanlage verwendet. Es liegen dem BfS keine Daten vor, ob die von der Arbeitsgruppe Kuster abgeschätzten Vibrationen von unter 1 m/s^2 , die offenbar in den exponierten Proben um Faktor 20 über den schein-exponierten Ansätzen liegen,

biologisch relevant sein können. Würde man die von der Arbeitsgruppe Rüdiger verwendeten Fibroblasten und das exakte Expositionsszenario der Arbeitsgruppe Rüdiger in der „vibrationsgedämpften“ Anlage der Gruppe Wobus wiederholen, könnte man diese Störgröße ausschließen.

Neben DNA-Strangbrüchen in COMET-Assays beobachtete die AG Rüdiger auch eine Zunahme von Mikrokernen. Mikrokernkerne bestehen aus Chromosomen oder Chromosomenstücken, die bei der Zellteilung nicht in eine der beiden Tochterzellkerne aufgenommen werden. Die Auswertung in Bezug auf die Mikrokernbildung wurde von zwei anderen Labors außerhalb des REFLEXForschungsverbundes in der Tendenz bestätigt. Die Ergebnisse differieren zwischen den Labors zwar beträchtlich, dennoch ist eine Zunahme von Mikrokernen unter dem gewählten intermittierenden Expositionsszenario, d. h. bei 1000 μT , als Hinweis auf genotoxische Effekte ernst zu nehmen. Entsprechende Experimente unterhalb des Grenzwertes von 100 μT wurden bisher nicht durchgeführt.

Erwähnenswert ist eine kleine Tabelle zu Chromosomenschäden (Chromosomenbrüche, Lücken, Ringchromosomen, dizentrische und azentrische Chromosomen), die bisher nur von der Arbeitsgruppe Rüdiger beschrieben wurden. Hier ist die Darstellung der Ergebnisse, der methodischen Details und der Auswertung für eine fachliche Beurteilung nicht ausreichend, so dass die Daten wenig belastbar sind.

Es wäre zu erwarten, dass bei den massiven Chromosomenschäden die negativen Folgewirkungen bei der Vielzahl der vorliegenden Studien nachweisbar sein müssten bzw. sich bei anderen Endpunkten wie einer unkontrollierten Zellvermehrung (Zellproliferation) und programmierten Zelltod (Apoptose) (siehe unten) wieder finden.

In der Diskussion des Abschnitts „Chromosomenaberrationen“ erwähnen die Autoren vier Studien (Jakobson-Kram, 1997 [3]; Galt, 1995 [4]; Scarfi, 1991 [5]; Paile, 1995 [6]), die „*unter kontinuierlicher Befeldung eine Zunahme von Chromosomenschäden detektieren konnten*“. Hierbei handelt es sich jedoch um Studien, die **keine** derartigen Effekte zeigen konnten. Offenbar sollte der Satz lauten "Several other studies... could **not** detect an increase in chromosomal damage...". Da es sich um einen stark sinnentstellenden - wie wir annehmen - Schreibfehler handelt, sollte er korrigiert werden.

Zellphysiologie

Das Membranpotential der Mitochondrien (Zellorganellen, in denen die zelluläre Energiegewinnung stattfindet), die Regulation des Zellvolumens und die Konzentration an freiem Ca^{++} im Zellplasma wurden nicht beeinflusst, auch nicht in den Zellsystemen, die deutliche genotoxische Effekte zeigten (siehe oben), so dass sich die genschädigenden Wirkungen auf diesen Ebenen in Versuchsreihen von zwei

Arbeitsgruppen (AG Kolb und AG Rüdiger) nicht widerspiegeln. Allerdings wurden nicht alle genannten Endpunkte von beiden Arbeitsgruppen systematisch untersucht.

Zellproliferation, Differenzierung und Apoptose

Hinweise auf eine Feldbeeinflussung dieser komplexen zellphysiologischen Prozesse von Zellwachstum und -vermehrung, der Entwicklung spezialisierter Zellen aus Vorläuferzellen und eines kontrollierten Absterbens von Zellen sind schwach, wenig belastbar oder fehlen ganz.

Die Arbeitsgruppe Trillo (Hospital Madrid) findet in der Neuroblastomzelllinie NB69 (Neuroblastomzellen: Zellen eines Tumors des Nervensystems) sowohl bei 10 μT als auch bei 100 μT eine gleich große, d.h. von der magnetischen Flussdichte unabhängige schwache Zunahme der Wachstumsrate, und bei 100 μT eine Hemmung der spontanen Apoptose (programmierter Zelltod). Die Aussagekraft ist aber durch das nicht verblindete Versuchsdesign und die fehlende scheinexponierte Kontrolle eingeschränkt.

Die AG Rüdiger konnte in den gegenüber der Feldeinwirkung sehr empfindlichen humanen Fibroblasten (siehe oben - Genotoxizität) keine Hinweise auf apoptotische Prozesse feststellen. Ebenso wenig fand die AG Lagroye vom Labor PIOM Bordeaux eine Beeinflussung des Zellwachstums in menschlichen Lymphozyten (Immunzellen).

Die Ausdifferenzierung embryonaler Stammzellen der Maus zu neuronalen Zellen (Zellen des Nervensystems) wurde in Versuchen von der AG Wobus nicht beeinflusst. Demgegenüber beobachtete die AG Lagroye im gleichen Zellsystem eine erhöhte Expression von herzspezifischen Genen und damit einhergehend eine beschleunigte Differenzierung zu Herzzellen nach Befeldung mit 800 μT . Für diese Versuche wurde eine spezielle Form der Zellkultur, so genannte „hängende Tropfen“ verwendet. Ob - bzw. mit welchem Ergebnis - die Feldverteilung in diesem besonderen System, das von den üblicherweise verwendeten Zellkulturschalen deutlich abweicht, analysiert wurde, geht aus dem Bericht nicht hervor.

Genexpression

Dieser Begriff bezeichnet die Umsetzung der genetischen Information in funktionsfähige Genprodukte, die Proteine (Eiweiße). Abhängig vom Zelltyp, vom Entwicklungsstand der Zelle sowie von inneren und äußeren Einflüssen ändert sich das Muster der tatsächlich in einer Zelle vorhandenen (exprimierten) Proteine ständig. Die Regulation der Genexpression ist außerordentlich komplex. Bei dieser Art von Analysen wird eine in bestimmter Weise behandelte Zellkultur (in diesem Fall eine befeldete Probe) mit einer Kontrollkultur verglichen.

5 Arbeitsgruppen untersuchten Veränderungen der Genexpression in unterschiedlichen Zelllinien bei unterschiedlichen Expositionsszenarien. Bei 6- stündiger Exposition (2300 μ T, 5 min ein, 30 min aus) war z. B. die Expression der Genprodukte *egr-1*, *p21* und *c-jun* in einer gegenüber dem normalen Zelltyp genetisch veränderten (*p53* - defizienten) Zellvariante erhöht, nicht jedoch im entsprechenden Normaltyp. Dieser vorübergehende Effekt war bei kontinuierlicher Exposition nicht zu sehen, auch nicht bei dem in Fibroblasten laut Rüdiger stark genotoxischen Szenario von 5 min Feld an und 10 min Feld aus. Auch bei längeren Expositionszeiten oder geringeren Flussdichten (100 μ T und 1000 μ T) wurden von der AG Wobus (Institut für Pflanzengenetik Gatersleben) keine Effekte beobachtet. Ähnlich komplex und mit unklarer physiologischer Bedeutung waren einige Gene (*GADD45*, *bcl-2* und *bax*) bei neuronalen Vorläuferzellen der Maus hoch- bzw. herunterreguliert. Demgegenüber blieb eine Reihe neuronaler Gene in einer Versuchsserie von der AG Clementi (Universität Mailand) an der menschlichen Neuroblastomzelllinie SY5Y und die Expression von Ionenkanälen in Frosch-Eizellen in Versuchen der AG Kolb (Universität Hannover) unverändert.

Zum Endpunkt „Differenzielle Genexpression“ wurden - nach eigenen Angaben - von der AG Maercker (Ressourcenzentrum für Genomforschung Heidelberg) umfangreiche Gesamtgenom-Analysen an 10 verschiedenen Zelllinien durchgeführt. Im vorliegenden Abschlussbericht werden allerdings nur Daten zu einer Zellart, den humanen Fibroblasten, präsentiert. Hier könnten sich Einflüsse z. B. auf Komponenten des Zytoskeletts (Stütz- u. Bewegungsapparat in Zellen) oder auf an innerzellulären Signalübertragungs-Prozessen beteiligte Proteine abzeichnen. Die Schwankungen zwischen den einzelnen Experimenten waren jedoch hoch, so dass die Belastbarkeit der Ergebnisse begrenzt ist. Eine Beurteilung, ob die in Zellkultur vorhandenen, vielfältigen Effekte *in vivo* (im lebenden Organismus) auftreten bzw. dort biologisch relevant sind, ist aufgrund der vorgelegten Datenbasis nicht möglich und wird von den Autoren des Berichts auch nicht versucht.

2. HOCHFREQUENTE ELEKTROMAGNETISCHE FELDER

Expositionsanlage und Versuchsdesign

Auch für den Hochfrequenzbereich werden die von ETH Zürich (AG Kuster) entwickelten Expositionsanlagen (Befeldung nach GSM1800-Standard) kurz aber nachvollziehbar beschrieben. Die Experimente der Arbeitsgruppen Tauber (Universitätsklinikum Benjamin Franklin Berlin), Trillo (Hospital Madrid) und Lagroye (Labor PIOM Bordeaux) wurden in den für das Projekt konzipierten Anlagen durchgeführt. Die Arbeitsgruppe Leszczynski (STUK - Radiation and Nuclear Safety Authority Helsinki) verwendete zunächst eine vorhandene Expositionsanlage für 900 MHz, in der eine verblindete Exposition nicht möglich war. Im Laufe des Projekts erhielt der Teilnehmer zusätzlich die GSM1800 Anlage. Die Arbeitsgruppe Bersani (Universität Bologna) verwendete

ebenfalls eine bereits vorhandene Anlage, die für eine Befeldung nach GSM900-Standard aufgerüstet wurde. Auch hier war eine Computer-kontrollierte verblindete Exposition nicht möglich. Nicht erwähnt wird die Expositionsanlage der Arbeitsgruppe Rüdiger (Universitätsklinik Wien), so dass unklar ist, wann in welche(n) Anlage(n) gearbeitet wurde bzw. ob eine technische Betreuung durch die Arbeitsgruppe Kuster gegeben war.

Der Anspruch, innerhalb des Forschungsverbundes unter vergleichbaren Expositionsbedingungen zu arbeiten, wird leider kaum erfüllt. Dies betrifft vor allem die Vielzahl der unterschiedlichen Expositionsszenarien hinsichtlich der Feldstärken, Expositionszeiten, Frequenzen, GSM-Befeldungsmodi, etc.. Ein systematischer Vergleich der einzelnen Ergebnisse zwischen den Arbeitsgruppen ist deshalb oft nicht möglich.

Genotoxische Effekte

Die Arbeitsgruppe Tauber (Universitätsklinikum Benjamin Franklin Berlin) untersuchte an einer menschlichen Leukämiezelllinie (HL-60) Hochfrequenz (HF) bedingte DNA-Schäden. Bei HL-60 Zellen handelt es sich um eine genetisch vom normalen Zelltyp abweichende, im Labor gut etablierte und charakterisierte menschliche Zelllinie. Untersucht wurden DNA-Strangbruchraten, die Bildung von Mikrokernen, Einflüsse auf den Zellzyklus, Zellschädigungen (Zytotoxizität), Schäden an Mitochondrien sowie spezielle DNA-Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies. Bei einer Befeldung mit 1.3, 1.6 und (allerdings weniger ausgeprägt) 2 W/kg, nicht jedoch mit 1 und 3 W/kg erhöhte sich die DNA-Strangbruchrate und parallel dazu die Zahl der Mikrokerne („Fenster-effekt“). Während der Anstieg der Strangbruchrate bereits nach einer Expositionsdauer von 2 Stunden signifikant war, galt dies für die Bildung von Mikrokernen erst bei einer 24-stündigen Befeldung (Expositionsdauer). Die Effekte traten sowohl bei kontinuierlicher als auch bei rhythmisch wechselnder Befeldung (5 min an, 10 min aus) in vergleichbarer Höhe und unabhängig von der Signalform (kontinuierliches Feld, 217 Hz gepulst oder Talk-Modus) auf. Trotz der gesetzten Schäden wurden keine Effekte auf den Zellzyklus, Vermehrung oder Überlebensfähigkeit der Zellen festgestellt. Apoptose ("programmierter Zelltod", u. a. ein Schutzmechanismus zur Ausschaltung stark geschädigter Zellen) wurde nicht hervorgerufen.

Zwei unterschiedliche Versuchsansätze der AG Tauber lassen vermuten, dass das vermehrte Auftreten reaktiver Sauerstoffverbindungen als Wirkmechanismus für die DNA-Schäden in Frage kommt. Verteidigungssysteme der Zellen gegen diesen oxidativen Stress wurden nicht aktiviert, zumindest konnte eine solche Aktivierung nicht nachgewiesen werden. Der von Tauber beobachtete „Fenster-effekt“ zwischen 1 und 2 W/kg ist zur Zeit biologisch nicht erklärbar, kann prinzipiell jedoch nicht ausgeschlossen

werden. Methoden und Ergebnisse sind nachvollziehbar beschrieben. Die Daten sind bisher jedoch nicht in einem Fachjournal publiziert.

Während die Arbeitsgruppe Tauber unterhalb von 1 W/kg keine genschädigenden Effekte findet, beschreibt die Arbeitsgruppe Rüdiger (Universitätsklinikum Wien) DNA-Strangbrüche in Fibroblasten bereits bei 0,3 W/kg. Oberhalb von 1 W/kg nehmen die Schäden nicht weiter zu, aber auch nicht wieder ab. Der von Tauber beschriebene „Fenster effekt“ ist in Fibroblasten demnach nicht vorhanden. Nahezu analog zum niederfrequenten Bereich werden von der AG Rüdiger auch die Bildung von Mikrokernen und umfangreiche Chromosomenschäden beschrieben. Insofern gelten die bereits zur Niederfrequenz dargelegten Kritikpunkte und Anmerkungen, v. a. im Hinblick auf die Auswertung des COMET-Assays per subjektiver Einteilung der geschädigten Zellen nach Augenmaß und den fehlenden Details zur Analyse der Chromosomenschäden. Die Dokumentation der Methoden und Ergebnisse ist bei den Versuchsreihen von der Arbeitsgruppe Rüdiger deutlich schwächer als bei der Arbeitsgruppe Tauber. Angaben zur Zahl der Wiederholungsexperimente oder zur statistischen Signifikanz fehlen häufig oder müssen mühsam zusammengesucht werden. Speziell hinsichtlich der Chromosomenschäden ergibt sich ein Widerspruch zwischen Text (Zitat: „vorläufige Experimente“, „500 Metaphasen ausgewertet“) und der Tabelle 21 (Zitat: „eine Zahl von 1000 Metaphasen wurde in jedem von fünf unabhängigen Experimenten ausgewertet“).

Aus dem Projektbericht wird zudem nicht deutlich, in welchen Expositionsanlagen die Versuche durchgeführt wurden und inwieweit die technische Betreuung durch die Arbeitsgruppe Kuster gegeben war. Aufgrund der dargelegten Schwächen sind die Ergebnisse der AG Rüdiger als weniger belastbar zu betrachten, sie stützen aber tendenziell die Ergebnisse der Arbeitsgruppe Tauber, zumal von der Arbeitsgruppe Wobus ebenfalls eine schwache, aber signifikante Strangbruchinduktion in den von dieser Gruppe verwendeten embryonalen Stammzellen von Mäusen erwähnt wird.

Zellproliferation, Differenzierung und Apoptose

Effekte auf Zellwachstum und -vermehrung, auf die Entwicklung spezialisierter Zellen aus Vorläuferzellen und auf das kontrollierte Absterben von Zellen (z. B. nach starker Schädigung) waren - ähnlich wie bei der niederfrequenten Befeldung - entweder nicht vorhanden oder wenig belastbar. Dies gilt v. a. für apoptotische Prozesse (Prozesse, die im Verlauf des programmierten Zelltods ablaufen), die in mehreren Nervenzelllinien und in einer menschlichen Immunzelllinie von der AG Bersani (Universität Bologna), in menschlichen Lymphozyten von der AG Lagroye (PIOM Bordeaux) und in HL60-Zellen von der AG Tauber (Universitätsklinikum Benjamin Franklin Berlin) untersucht wurden.

Genexpression

Auf dem Gebiet der Genexpression entsteht der Eindruck eines in seiner Komplexität kaum überschaubaren Gemenges unterschiedlichster Auf- und Abregulationen verschiedener Gene, die zudem zelltyp- bzw. sogar subzelltypspezifisch sind und vom jeweiligen Expositionsszenario und/oder vom Signaltyp abhängen.

Speziell zur Frage der Signaltypabhängigkeit bietet der Abschlussbericht sämtliche Möglichkeiten: So beobachtete z. B. die Arbeitsgruppe Wobus (Institut für Pflanzengenetik Gatersleben) in nur einem von fünf unterschiedlichen Expositionsszenarien, nämlich bei GSM-Basic (GSM-217 Hz TDMA mit zusätzlicher 8 Hz Modulation: 1.5 W/kg, 5 min an, 30 min aus, 48 Stunden Expositionsdauer) und nur in der genetisch vom Normaltyp abweichenden p53-defizienten Zellvariante die Zunahme des Stressproteins hsp70 (heat shock protein 70), vorübergehend auch die Zunahme der Genprodukte c-jun, c-myc und p21. Beispielhaft soll angemerkt werden, dass in dieser Versuchsreihe der hsp70-Spiegel in den scheinexponierten p53-defizienten Zellen weit unterhalb des hsp70-Spiegels im Normaltyp liegt und im Laufe der Zellkulturdauer immer weiter abnimmt. In den HF-exponierten p53-defizienten Zellen steigt dann der hsp70-Spiegel auf das Niveau normaler Zellen an. Es bleibt offen, ob bzw. welche biologische Bedeutung diese Rückführung auf Normalniveau hat. Demgegenüber wurde von anderen REFLEX-Forschungsgruppen weder in humanen U87 Astrocytomazellen (Gehirntumorzellen), noch in SY5Y Neuroblastomzellen oder in C6 Ratten-Gliomazellen (Gehirntumorzellen) eine Beeinflussung von hsp70 festgestellt.

Die AG Trillo (Hospital Madrid) untersuchte in der menschlichen Neuroblastomzelllinie NB69 die Expression verschiedener Eiweiße, die als Rezeptoren (Andockstellen) für Wachstumsfaktoren (FGF-Rezeptoren) dienen. Die Ergebnisse betreffen bestimmte Zelltypen innerhalb dieser Zellkultur (Sub- Zellpopulationen) und die Effekte wirken sich offenbar abhängig vom Signaltyp sogar in gegensätzliche Richtungen aus. Die Arbeitsgruppe Leszczynski (STUK - Radiation and Nuclear Safety Authority Helsinki) hingegen findet Hinweise, dass in dem dort verwendeten Endothel-Zellsystem (Endothel = Zellen die u. a. die Blutgefäße auskleiden) der Talk-Modus (simuliert Konversation, d. h. wechselt zwischen GSMBasic und GSM-DTX) Effekte verursacht, die von einem kontinuierlichen Feld (continuous waves; unmoduliertes Signal als Referenz) nicht verursacht werden.

Die Arbeitsgruppe Lagroye (PIOM Bordeaux) fand in humanen Lymphozyten keinen Einfluss hochfrequenter Felder auf die Genexpression. Ebenso wie die Arbeitsgruppe Bersani (Universität Bologna) keinen Einfluss auf Expression und Aktivität eines am Stickoxid-Stoffwechsel beteiligten Enzyms (NOS) in Nervenzellen feststellte.

Von der Arbeitsgruppe Leszczynski (STUK Helsinki) wurden menschliche Zellen aus Nabelschnurendothel (zwei Varianten, EA.hy926 und EA.hy926v1) befördert. Ein Schwerpunkt der Untersuchungen lag auf der Hochfrequenz-bedingten Aktivierung des

Stressproteins hsp27 (heat shock protein 27). Leszczynski stellte die Arbeitshypothese auf, dass die Aktivierung von hsp27 sowohl zu einer Hemmung des programmierten Zelltods (Apoptose) als auch zu einer Veränderung des Zytoskeletts (Stütz- u. Bewegungsapparat in Zellen) führen kann und somit eine Schlüsselfunktion bei möglichen Wirkungen hochfrequenter elektromagnetischer Felder einnimmt. Es ist dies ein plausibles Modell. Die Effekte auf hsp27 konnten aber durch Versuche von der Arbeitsgruppe Bersani (Universität Bologna) nicht reproduziert werden.

Analog zu den Versuchsreihen unter niederfrequenter Befeldung (siehe oben) hat die Arbeitsgruppe Maercker (Ressourcenzentrum für Genomforschung Heidelberg) mit Hilfe von DNA-Chip-Arrays Expressionsanalysen des gesamten Genoms von 10 verschiedenen Zelllinien durchgeführt. Die statistische Analyse der umfangreichen Daten ergibt Schwerpunkte bei den Gengruppen Signaltransduktion (Weiterleitung von Signalen innerhalb der Zelle), Ionen/Elektronentransport (Transport von Energie über die Zellmembran), Energie/Proteinmetabolismus (Energie- und Eiweiß- Stoffwechsel), Zellvermehrung, Apoptose (programmierter Zelltod), Immunantwort/Entzündung und extrazelluläre Matrix/Zytoskelett (außerhalb der Zelle befindliche Strukturen). Bei signifikant verändertem Genexpressionsmuster ist mit entsprechenden Auswirkungen auf zellphysiologischer Ebene zu rechnen. In mehreren Versuchsreihen wurden jedoch keine signifikante Beeinflussung der Endpunkte Zellvermehrung, Zellzyklusregulation oder Apoptose festgestellt. D. h. die physiologische Bedeutung der Effekte auf Genexpressionsebene ist schon für den jeweiligen Zelltyp nicht abzuschätzen, geschweige denn für den Gesamtorganismus. Rückschlüsse auf gesundheitliche Effekte beim Menschen lassen sich hieraus nicht ziehen.

3. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Mehrere Forschungsgruppen fanden keine signifikanten Effekte von nieder- oder hochfrequenten Feldern auf das Zellwachstum, die Differenzierung oder das kontrollierte Absterben von Zellen (Apoptose). Die Ergebnisse zur Genexpression waren vielfältig und komplex, die Reproduzierbarkeit und biologische Relevanz der einzelnen Ergebnisse ist jedoch derzeit noch nicht absehbar. Im Vordergrund stehen die Ergebnisse von zwei Arbeitsgruppen:

- **AG Rüdiger**, Universität Wien: genschädigende Wirkungen bei niederfrequente Befeldung
- **AG Tauber**, Universitätsklinikum Benjamin Franklin Berlin: genschädigende Wirkungen bei hochfrequenter Befeldung

Niederfrequente Felder

Die von der Arbeitsgruppe Rüdiger in Fibroblasten bei intermittierender, nicht aber bei kontinuierlicher Feldexposition beobachteten genotoxischen Effekte stellen trotz der in Abschnitt 1.1. und 1.2. skizzierten methodischen Unsicherheiten die für den Strahlenschutz wichtigsten Ergebnisse dieses Abschnitts dar. Dass sich diese Effekte in anderen wesentlichen Endpunkten wie Zellwachstum und -vermehrung oder beim programmierten Zelltod (Apoptose) nicht niederschlagen, ist allerdings biologisch schwer erklärbar.

Die Ergebnisse unterhalb der Grenzwerte sind bisher nur von der Arbeitsgruppe Rüdiger beschrieben. Einzelne Forschungsergebnisse müssen zumindest in einem zweiten, unabhängigen Labor reproduziert werden, bevor sie als wissenschaftlich bestätigt angesehen werden können. Experimente zur möglichen Genotoxizität (Genschädigung) von Feldern sind nicht neu. Bisher konnte jedoch die überwiegende Mehrheit experimenteller Studien einen Zusammenhang von niederfrequenten Feldern und genotoxischen Effekten unterhalb der Grenzwerte nicht feststellen. Zu diesem Schluss kamen mehrere nationale und internationale Expertengremien, die regelmäßig alle zur Verfügung stehenden Forschungsergebnisse bewerten. Als Beispiel ist der Review der *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection* - Exposure to Static and Low Frequency Electromagnetic Fields, Biological Effects and Health Consequences (0-100 kHz) aus dem Jahr 2003 [7] zu nennen.

Der Koordinator des REFLEX Programms, Prof. Adlkofer, stellt abschließend fest, dass alle Ergebnisse ausschließlich an Zellkulturen gewonnen wurden und daher nicht geeignet sind, um Aussagen über die gesundheitliche Relevanz für den Menschen zu treffen. Diese Einschätzung gilt sowohl für die Ergebnisse zur Niederfrequenz als auch zur Hochfrequenz und wird vom BfS geteilt. Zellkulturversuche können wichtige Hinweise auf mögliche molekulare Wirkmechanismen oder Zielstrukturen liefern. Schlüsse über die physiologische Bedeutung im lebenden Organismus können aber nur im Zusammenhang mit Ergebnissen aus Tierversuchen oder epidemiologischen Studien gezogen werden.

Hochfrequente Felder

Die Arbeitsgruppe Tauber findet an einer menschlichen Leukämiezelllinie genotoxische Wirkungen von HF-Feldern unterhalb des Teilkörper-Grenzwertes von 2 W/kg. Die Ergebnisse werden aus fachlicher Sicht ernst genommen, da

- sie nachvollziehbar dargestellt werden und wissenschaftliche Qualitätskriterien bezüglich Versuchsdesign, Statistik, etc. erfüllt sind,
- zwei verschiedene Genotoxizitätsassays (COMET-Assay und Mikrokerne) angewandt wurden,

- ein möglicher Wirkmechanismus (reaktive Sauerstoffspezies) vorgestellt wird und
- die Ergebnisse durch andere Forschergruppen innerhalb des REFLEX-Verbundes unterstützt werden.

Einschränkend bleiben v. a.

- die noch ausstehende Reproduktion (Wiederholungsstudie in einem anderen Labor),
- die Tatsache, dass nur in bestimmten Zelltypen und nur bei bestimmten SAR-Werten ein genschädigender Effekt gesehen wurde ("Fenster effekt"), dies aber auf Prozesse zurückgeführt wird, die im Prinzip in allen Zellarten vorhanden sind (Entstehung von Sauerstoffradikalen bzw. Umgang der Zellen mit diesen genschädigenden Verbindungen),
- die nicht vorhandenen Folgewirkungen auf zellphysiologischer Ebene und damit die Frage der Relevanz für den Organismus (*in vivo*),
- die bisher fehlende - bei wissenschaftlichen Studien jedoch geforderte - Veröffentlichung in einem Fachjournal nach Begutachtung durch unabhängige Experten.

Bei der Befeldung mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern wurden *in vitro*-Effekte bei solchen Werten der Spezifischen Absorptionsrate (SAR) beobachtet, die während eines Handytelefonats unter schlechten Bedingungen oder beim Verbindungsaufbau im Kopf des Mobilfunknutzers durchaus auftreten können. Diese Werte liegen jedoch um mehrere Größenordnungen oberhalb der Exposition durch Mobilfunkbasisstationen. In diesem Sinne decken die vom BfS kommunizierten Vorsorgemaßnahmen bezüglich der Nutzung von Geräten mit möglichst niedrigen SAR-Werten und einfacher Verhaltensmaßnahmen zur Vermeidung von Leistungsspitzen den *in vitro* beobachteten möglichen Wirkungsbereich ab (siehe http://www.bfs.de/elektro/papiere/empfehlungen_handy.html).

Im Hochfrequenz-Bereich ist es zudem notwendig, die Ergebnisse im Zusammenhang mit den übrigen internationalen wissenschaftlichen Veröffentlichungen auf diesem Gebiet zu sehen. Mehrere nationale und internationale Expertengremien konnten auf der Basis von wissenschaftlichen Publikationen keine gesundheitsrelevanten Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern unterhalb der Grenzwerte nachweisen. In einem vor kurzem erschienenen Review zum genschädigenden Potenzial von Hochfrequenz- Feldern (Vijayalaxmi und Obe, 2004 [8]) wurden 53 wissenschaftliche Publikationen aus den Jahren 1990 - 2003 kritisch analysiert und bewertet. Die Stärken und Schwächen der einzelnen Studien wurden näher dargestellt, so dass die unterschiedliche Belastbarkeit der vorhandenen Daten erkennbar ist. Mehrheitlich wurden keine genschädigenden Wirkungen festgestellt. Es wurden gleichzeitig mögliche Hinweise auf genschädigende Wirkungen beschrieben, die jedoch in Wiederholungsstudien z. T. von denselben Forschergruppen nicht reproduziert

werden konnten. Aktuelle Ergebnisse aus z. B. dem Forschungsverbund PERFORMB innerhalb desselben 5. EU-Rahmenprogramms wie REFLEX stützen nicht die Hypothese, dass Mobilfunkfelder genschädigend wirken können. Die Ergebnisse von REFLEX werden aber in jedem Fall weiter verfolgt.

Ausblick

Zur Zeit sind im Rahmen des Deutschen Mobilfunk Forschungsprogramms (siehe www.emf-forschungsprogramm.de) mehrere Projekte geplant bzw. werden bereits durchgeführt, die die Endpunkte Genschädigung (Genotoxizität) und differentielle Genexpression (Umsetzung der genetischen Information in funktionsfähige Genprodukte, meist Proteine) umfassend abdecken. Eine Erweiterung um eine Studie am menschlichen Fibroblasten ist vorgesehen. Hierzu gehören die Projekte „Einfluss von GSM-Signalen auf isoliertes menschliches Blut. A. Genotoxizität“, „Einfluss von GSM-Signalen auf isoliertes menschliches Blut. B. Differentielle Genexpression“, „Untersuchungen zu Wirkmechanismen an Zellen unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunktechnologie. C. Funktionen“ sowie das auf die Blut-Hirn-Schranke bezogene Projekt „*In vitro* - Experimente unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunkkommunikation. C. Blut-Hirn-Schranke“.

Auch in anderen nationalen wie internationalen Forschungsprogrammen werden derzeit mögliche Wirkungen von Mobilfunkfeldern untersucht. Die WHO plant, auf der Basis der neuen und z. T. noch zu erwartenden Ergebnisse im Jahr 2006 eine Neubewertung des gesundheitlichen Risikos durch Hochfrequenz-Felder, vorwiegend aufgrund neuer Telekommunikationstechnologien, durchzuführen. Die Ergebnisse des Deutschen Mobilfunk Forschungsprogramms werden in diese Neubewertung einfließen.

4. LITERATUR

- [1] REFLEX: Risk evaluation of potential environmental hazards from low frequency electromagnetic field exposute using sensitive *in vitro* Methods - Final Report http://www.itis.ethz.ch/downloads/REFLEX_Final%20Report_171104.pdf
- [2] Diem E., Rüdiger H.W. (1999), Mikrokerntest und Comet Assay: Ein Ergebnisvergleich bei Normalprobanden, Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed. 34, 437-441
- [3] Jacobson-Kram D, Tepper J, Kuo P, San RHC, Curry PT, Wagner VO, Putmann DL (1997) Evaluation of the genotoxicity of pulsed electric and electromagnetic fields used for bone growth stimulation, Mutat Res 388, 45-57
- [4] Galt S., Wahlström J., Hamnerius Y, Holmqvist D, Johannesson T (1995) Study of effects of 50 Hz magnetic fields on chromosome aberrations and the growth-related enzyme ODC in human amniotic cells, Bioelectrochem Bioenerg 36, 1-8
- [5] Scarfi MR, Bersani F, Cossarizza A, Monti A, Castellani D, Cadossi R, Franceschetti G, Franceschi C (1991) Spontaneous and mitomycin-C induced micronuclei in human lymphocytes exposed to extremely low frequency pulsed magnetic fields, Biochem Biophys Res Commun. 176, 194-200
- [6] Paile, W, Jokela K, Koivistoinen A, Salomaa S (1995), Effects of 50 Hz sinusoidal magnetic fields and spark discharges on human lymphocytes in vitro, Bioelectrochem Bioenerg 36, 15-22
- [7] ICNIRP - International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection: Exposure to static and low frequency elektromagnetic fields, biological effects and health consequences (0-100 kHz), ICNIRP 13/2003 <http://www.icnirp.org>
- [8] Vijayalaxmi, Obe, G. (2004) Controversial cytogenetic observations in mammalian somatic cells exposed to radiofrequency radiation, Radiation Research 162, 481-496