



Spotlight on EMF Research

Spotlight on „ Acute radiofrequency electromagnetic radiation exposure impairs neurogenesis and causes neuronal DNA damage in the young rat brain“ by Singh et al. in Neurotoxicity (2023)

Kategorie [Hochfrequente Felder, experimentelle Tierstudie]

Spotlight - Jun/2023 no.7 (Deu)

Kompetenzzentrum elektromagnetische Felder (KEMF)

1 Einordnung des Artikels in den Kontext durch das BfS

Oxidativer Stress wird häufig als ein möglicher Wirkmechanismus hochfrequenter elektromagnetischer Felder (HF-EMF) auf das Nervensystem vorgeschlagen. Der Begriff oxidativer Stress beschreibt ein Ungleichgewicht zwischen der Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und dem zellulären antioxidativen Abwehrsystem. ROS werden auf natürliche Weise bei der zellulären Energieproduktion oder von Immunzellen zur Abwehr von Krankheitserregern produziert, fungieren aber auch als Signalübermittler. Der Gehalt an ROS wird normalerweise durch antioxidative Mechanismen, z. B. antioxidative Enzyme, kontrolliert. In diesem Zusammenhang ist es wichtig, zwischen physiologischem oxidativem Stress (Eustress), der für zelluläre Prozesse notwendig ist, und schädlichem oxidativem Stress (Disstress) zu unterscheiden, zwischen denen es keine klar definierte Grenze gibt [2].

2 Resultate und Schlussfolgerungen aus der Perspektive der Autoren

Die Autoren vermuten, dass die Wirkung von HF-EMF-Strahlung auf das Gehirn von Jugendlichen negative gesundheitliche Effekte durch oxidativen Stress, DNA-Schäden, Hemmung der DNA-Reparatur, veränderte Gen- und Proteinexpression, epigenetische Veränderungen und veränderten intrazellulären Kalzium-Stoffwechsel verursachen könnte. Die zellulären Mechanismen, die diesen Wirkungen im jungen Gehirn zugrunde liegen, sind nicht bekannt, aber es werden nicht-thermische Wirkungen vermutet.

Um ihre Hypothesen zu testen und die Auswirkungen von HF-EMF auf das sich entwickelnde Gehirn zu klären, untersuchten die Autoren, ob eine einmalige Exposition mit 1,51 W/kg für 8 Stunden oxidativen Stress, DNA-Schäden, morphologische und entwicklungsbedingte Veränderungen im Gehirn einer heranwachsenden Ratte hervorrufen kann.

Die paramagnetische Elektronenresonanz-Spektroskopie (EPR) zum Nachweis freier Radikale wurde unter Verwendung von 5,5-Dimethyl-1-pyrrolin-N-oxid (DMPO) als Spin-Falle angewandt. Die DNA-Schäden wurden mit dem Comet-Assay bewertet.

In den exponierten Gehirnen wurden erhöhte Werte von oxidativem Stress und DNA-Schäden beobachtet. Die Anzahl der BrdU-positiven (5'-Brom-2'-Desoxy-Uridin) Zellen im Gyrus dentatus nahm bei den exponierten Ratten ab, was auf eine verminderte Neurogenese hinweist. Die RF-EMF-Exposition führte auch zu degenerativen Veränderungen und einer geringeren Anzahl von Neuronen im Gyrus dentatus, hatte aber keine Auswirkungen auf andere Regionen des Hippocampus und der Großhirnrinde. Die Aktivität von Procaspase3 (Vorläufer von Caspase3, einer Cystein-Protease, die schließlich zur Apoptose, einer Form des programmierten Zelltods, führt) stieg nach der Exposition in keiner der Gehirn-Regionen an.

Die Autoren schlussfolgern, dass eine kurzzeitige akute Exposition bei RF-EMF oxidativen Stress in den Hirnregionen junger, heranwachsender Ratten mit einem deutlichen Anstieg der kohlenstoffzentrierten Radikale und der Lipidperoxidation induziert. Ratten, die bei RF-EMF exponiert wurden, zeigten Einzelstrang-DNA-Brüche im Kortex und Hippocampus, beeinträchtigte Neurogenese im Hippocampus und erhöhte neuronale Degeneration in der Dentalgyrus-Region des Hippocampus.

3 Kommentare des BfS

Die der Studie zugrunde liegende Fragestellung ist von wissenschaftlichem Interesse und von Relevanz für den Strahlenschutz. Das Thema einer möglicherweise erhöhten Vulnerabilität von Kindern und Jugendlichen ist nach wie vor Gegenstand der Diskussion und der öffentlichen Besorgnis. Die Arbeit entspricht jedoch nicht den gängigen Qualitätskriterien, da Kontrollen in der gesamten Arbeit fehlen und die gewählten Methoden für diese Fragestellung nur bedingt geeignet sind.

Aus der Beschreibung des Expositionsaufbaus kann gefolgert werden, dass ein ausreichender Expositions-kontrast zwischen exponierten und scheinexponierten Tieren bestand, obwohl es mehrere Punkte gibt, die Anlass zu Bedenken geben. Die für die Expositions-berechnung verwendete Formel ist unvollständig, daher ist es nicht möglich zu rekonstruieren, wie die Exposition berechnet wurde. Die Formeln von Durney [3] wurden ursprünglich für eine Fernfeldsituation entwickelt. In einem Nahfeld, wie es in der vorliegenden Studie verwendet wurde, ist die Modellierung eines Rattenkopfes als Ellipsoid eine sehr grobe Annäherung. Das Vorhandensein des Körpers der Ratte beeinflusst die Feldverteilung und die Exposition des Kopfes. In einer solchen Situation ist es derzeit Stand der Technik, voxelbasierte anatomische Tiermodelle zu verwenden und die Gehirnexposition mathematisch zu simulieren, z. B. mit der FDTD-Methode [4].

Die Autoren geben keine Auskunft darüber, ob die Experimente und Messungen verblindet durchgeführt wurden. Daher kann eine Verzerrung nicht ausgeschlossen werden. Lediglich die optischen Auswertungen (z.B. Comet-Assay, BrdU, neuronale Färbung und Immunhistochemie des Gehirns) wurden von den Autoren verblindet gegenüber der Expositionsgruppe durchgeführt.

Die vorgestellten EPR-Spektren, die einen einzigen Peak aufweisen, sind für diese Methode nicht typisch. Unter natürlichen Bedingungen sind normalerweise mehrere Peaks sichtbar. Die Autoren interpretieren ihren Befund als eine Zunahme von kohlenstoffzentrierten Radikalen mit angrenzendem Sauerstoff in der belichteten Probe ($g = 2,0035$) und verweisen auf [5]. In dieser Referenz werden jedoch weder RPM (Umdrehungen pro Minute) noch ein g-Faktor, der das magnetische Moment charakterisiert, erwähnt.

Die Bestimmung der Lipidperoxidation durch Messung der mit Thiobarbitursäure reagierenden Substanzen (TBARS) ist unspezifisch, da es zu viele nichtoxidative Stressreaktionen gibt, die TBARS erzeugen, einschließlich des Stoffwechsels [6]. Die Studie bietet keine Positiv- und Negativkontrollen, die für die Einordnung der gemessenen Effektgröße erforderlich sind. Das Ausmaß der Veränderung der Lipidperoxidation, oder ob diese einen Einfluss auf die Hirnentwicklung haben kann, lässt sich daher aus den vorliegenden Daten nicht ableiten.

Für den Comet-Assay fehlt ebenfalls eine Positivkontrolle (z.B. Proben, die mit ionisierender Strahlung oder Wasserstoffperoxid behandelt wurden), die nötig wäre, um die tatsächlichen Effektgrößen bei der HF-EMF exponierten Gruppe einordnen zu können.

Bezüglich der Schätzung der Anzahl proliferierender (BrdU-positiven) Zellen fehlt eine Negativkontrolle, z. B. eine Käfigkontrolle, so dass es schwierig ist, die physiologische Relevanz dieses statistisch signifikanten Effekts zu interpretieren. Nach einer einmaligen Injektion von 300 µl BrdU sollte sich die Zahl der BrdU-positiven Zellen innerhalb von zwei bis 24 Stunden verdoppeln, was auf die normale Zellteilungsrate bei unbehandelten jungen Ratten zurückzuführen ist. In der vorliegenden Studie stieg die Anzahl der BrdU-positiven Zellen in diesem Zeitraum bei den scheinexponierten Tieren um den Faktor 1,3 und bei den exponierten Tieren um den Faktor 1,1 an. Dies deutet darauf hin, dass möglicherweise auch bei den scheinexponierten Tieren der Zellteilungsprozess bereits ungewöhnlich gering war.

Für die Quantifizierung des Anteils von Neuronen mit normaler Morphologie liegen weder Positiv- noch Negativkontrollen vor, so dass die physiologische oder gesundheitliche Relevanz der Abnahme von Zellen mit normaler Morphologie (von ca. 95% verringert auf ca. 91%) nicht beurteilt werden kann.

Um die Zahl der reifen Neuronen zu schätzen, wurde die relative Fluoreszenzintensität des neuronalen Kernantigens NeuN gemessen, so dass unklar bleibt, ob sich die Anzahl von Neuronen oder die Expression von NeuN in signifikantem Ausmaß verringerte. Die Expression von NeuN in reifen Neuronen ist normalerweise stabil, jedoch nicht in bestimmten (patho-)physiologischen Situationen [7]. Es bleibt unklar, ob dies in der vorliegenden Studie der Fall war oder ob die Zahl der reifen Neuronen korrekt bestimmt wurde. Auch hier wäre eine Positiv- und Negativkontrolle hilfreich, wenn auch nicht zwingend erforderlich, gewesen um die Ergebnisse zu interpretieren.

Insgesamt bietet die vorliegende Studie aufgrund methodischer und konzeptioneller Schwächen keinen Erkenntnisgewinn hinsichtlich einer möglichen, altersabhängigen Empfindlichkeit gegenüber HF-EMF.

Referenzen

- [1.] Singh, K.V., C. Prakash, J.P. Nirala, R.K. Nanda and P. Rajamani, *Acute radiofrequency electromagnetic radiation exposure impairs neurogenesis and causes neuronal DNA damage in the young rat brain*. Neurotoxicology, 2023. **94**: p. 46-58.
- [2.] Sies, H. and D.P. Jones, *Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020. **21**(7): p. 363-383.
- [3.] Durney C. H., I.M.F., Massoudi H. and C. C. Johnson, *An Empirical Formula for Broad-Band SAR Calculations of Prolate Spheroidal Models of Humans and Animals*. IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, 1979(27(8):): p. 758-763.
- [4.] Ilaria Liorni, B.L., Silvia Farcito, and Niels Kuster, *Computational Anatomical Animal Models: Methodological developments and research applications*, in *Computational Animal Phantoms for Electromagnetic Dosimetry*, H. Zaidi, Editor. 2018. p. 11-1 – 11-18.
- [5.] Barclay, L.R. and M.R. Vinqvist, *Membrane peroxidation: inhibiting effects of water-soluble antioxidants on phospholipids of different charge types*. Free Radic Biol Med, 1994. **16**(6): p. 779-88.
- [6.] Henschenmacher, B., A. Bitsch, T. de Las Heras Gala, H.J. Forman, A. Fragoulis, P. Ghezzi, et al., *The effect of radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) on biomarkers of oxidative stress in vivo and in vitro: A protocol for a systematic review*. Environ Int, 2022. **158**: p. 106932.
- [7.] Duan, W., Y.P. Zhang, Z. Hou, C. Huang, H. Zhu, C.Q. Zhang, et al., *Novel Insights into NeuN: from Neuronal Marker to Splicing Regulator*. Mol Neurobiol, 2016. **53**(3): p. 1637-1647.

Impressum

Bundesamt für Strahlenschutz
Postfach 10 01 49
38201 Salzgitter

Tel.: +49 30 18333-0

Fax: +49 30 18333-1885

E-Mail: spotlight@bfs.de

De-Mail: epost@bfs.de-mail.de

www.bfs.de

Bitte beziehen Sie sich beim Zitieren dieses Dokumentes immer auf folgende URN:

urn:nbn:de:0221-2023072638659

Spotlight - Jun/2023 no.7 (Deu)