



Bundesamt
für Strahlenschutz

Spotlight on EMF Research

Spotlight on „Biological responses to terahertz radiation with different power density in primary hippocampal neurons” by Li Zhao et al. in PLoS ONE (2023)

Kategorie [Hochfrequente Felder, In-vitro-Studie]

Spotlight - Aug/2023 no.2 (Deu)

Kompetenzzentrum elektromagnetische Felder (KEMF)

1 Einordnung des Artikels in den Kontext durch das BfS

Terahertz (THz)-Wellen sind elektromagnetische Felder im Frequenzbereich von 100 Gigahertz (GHz) bis 3000 GHz und höher und werden manchmal auch „Submillimeterwellen“ genannt. Solche Frequenzen werden von aktuellen Kommunikationstechnologien nicht genutzt, werden aber in der nächsten Generation der Mobilkommunikation, 6G, zum Einsatz kommen. Mögliche Anwendungsszenarien sind beispielsweise holografische Anwendungen oder erweiterte Realitäten (XR). Solche Anwendungen benötigen große zusammenhängende Frequenzbereiche mit Bandbreiten von mehreren GHz, die nur im THz-Bereich verfügbar sind [2]. Die gesundheitlichen Auswirkungen und biologischen Wirkungen von THz-Wellen wurden jedoch nicht im gleichen Umfang untersucht wie die derzeit verwendeten Frequenzen, und es sind weitere Untersuchungen erforderlich.

2 Resultate und Schlussfolgerungen aus der Perspektive der Autoren

Die Autoren untersuchten die biologischen Auswirkungen einer Exposition mit THz-Wellen auf die primären Hippocampus-Neuronen von Ratten (Rattenstamm „Wistar“) in einer Zellkulturstudie. Primäre Neuronen wurden aus neugeborenen Ratten isoliert, kultiviert und zufällig in verschiedenen exponierte Gruppen aufgeteilt. Die Neuronen wurden THz-exponiert (0,12 THz bei 10 mW und 0,157 THz bei 50 mW für 10 oder

30 Minuten) und mit einer schein-exponierten Gruppe verglichen. Unmittelbar oder 1 h nach der Exposition wurden die i) Zellaktivität, ii) Zellapoptose, iii) Auswirkungen auf die Zellstruktur, iv) Neuronenfunktion und v) die Konzentration von Aminosäure-Neurotransmittern im Kulturüberstand analysiert.

Die Zellaktivität war in der Gruppe der primären Neuronen, die 10 min lang 0,12 THz ausgesetzt war, unmittelbar und 1 h nach der Exposition statistisch signifikant verringert. Nach 30-min Expositionsdauer war der Rückgang erst 1 h nach Expositionsende statistisch signifikant. Im Gegensatz dazu zeigte die Gruppe, die 0,157 THz ausgesetzt war, unmittelbar nach 30-min Exposition einen statistisch signifikanten Anstieg der Zellaktivität, 1 h nach der Exposition wurde jedoch kein Unterschied in der Zellaktivität beobachtet. Auch nach einer Expositionsdauer von 10 min (unmittelbar oder 1 h nach Ende der Exposition) änderte sich die Zellaktivität nicht. Da in der 0,12- und 0,157-THz-exponierten Gruppe nach 30 min gegensätzliche Effekte auf die Zellaktivität beobachtet wurden, wurde in den nachfolgenden Analysen nur dieser Zeitpunkt untersucht.

Der Apoptose-Assay zeigte eine statistisch signifikante Induktion von Apoptose unmittelbar nach 30-min Exposition in den 0,12 und 0,157 THz-exponierten Gruppen im Vergleich zu den scheinexponierten Gruppen.

Die Ultrastruktur der Neuronen wurde unmittelbar nach 30-min Exposition mittels Transmissionselektronenmikroskopie untersucht. Die 0,12 THz-exponierte Gruppe zeigte geschwollene Mitochondrien, beschädigte Cristae, geschwollenes endoplasmatisches Retikulum und eine erhöhte Lysosomenzahl. Die 0,157 THz-exponierte Gruppe zeigte ähnliche Veränderungen, jedoch mit weniger Lysosomen.

Die Konzentrationen von 16 Aminosäuren wurden im Kulturüberstand unmittelbar nach 30 min Exposition gemessen. Die Konzentration von Leucin, Lysin, Arginin, Threonin, Phenylalanin und Serin war nach der Exposition gegenüber 0,12 oder 0,157 THz etwas niedriger. Prolin war in der 0,157 THz exponierten Gruppe im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen statistisch signifikant niedriger. Die Glutaminsäure-Konzentration war nach der Exposition gegenüber 0,157 THz erhöht. Es wurden gegensätzliche Auswirkungen auf die Cystein-Konzentration beobachtet, mit niedrigeren Werten in der 0,12 THz-exponierten Gruppe und höheren Werten in der 0,157 THz-exponierten Gruppe im Vergleich zur schein-exponierten Gruppe.

Die Wirkung auf die Neuronenfunktion wurde durch Immunfluoreszenzfärbung des Proteins PSD-95 untersucht. Veränderungen in der Expression und Lokalisierung von PSD-95 wurden sowohl in 0,12- als auch 0,157-THz-exponierten Zellen beobachtet, die Unterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant.

Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die *in vitro* THz-Exposition von primären Hippocampus-Neuronen von Ratten zelluläre Apoptose und veränderte zelluläre Aktivität auslöste, sowie die Freisetzung von Aminosäure-Neurotransmittern regulierte. Sie geben weiter an, dass die beobachteten Effekte eng mit der Intensität, der Dauer der Exposition und der Wellenlänge zusammenhängen. Die Autoren nehmen an, dass die gegensätzlichen Auswirkungen auf die Zellaktivität bei den beiden Leistungsintensitäten auf die Reaktion auf akuten Stress zurückzuführen sind. Dabei würden in den gegenüber 0,157 THz exponierten Zellen Kalziumionen hochreguliert und die Enzymaktivität erhöht werden.

3 Kommentare des BfS

Die Forschung, die sich auf biologische Wirkungen der Terahertz-Strahlung auf Nervenzellen und das Nervensystem sowie die zugrundeliegenden Wirkmechanismen konzentriert, ist bisher begrenzt. Die Möglichkeit einer durch die Umwelt veränderten neuronalen Aktivität und/oder Funktion kann zu Hirntumoren und anderen Nervenerkrankungen führen oder Gedächtnis und Lernfähigkeit beeinflussen. Dies wäre wichtig für die Bewertung gesundheitlicher Auswirkungen von THz-Wellen. Die Autoren greifen damit ein Thema von hoher Relevanz auf und verfolgen dieses mit einem interessanten und umfangreichen experimentellen Ansatz, in dem sie die Lebensfähigkeit und verschiedene funktionelle Aktivitäten der neuronalen Zellen unter THz-Exposition untersuchen.

Die Untersuchung der Zellaktivität führte zu gegensätzlichen Ergebnissen in den 0,12 und 0,157 THz exponierten Gruppen. Der verwendete Zellaktivitätstest ist ein Zelllebensfähigkeitstest, der die Anzahl lebender Zellen in der Zellkultur quantifiziert [3]. Die Autoren geben an, dass die Neuronen nach der Bestrahlung auf 96-Well-Platten übertragen wurden, es werden jedoch keine Einzelheiten darüber angegeben, wie die Zellen übertragen wurden, und der Verweis auf das Protokoll des Herstellers bietet keine weiteren Informationen. Dies ist von entscheidender Bedeutung, da Neuronen adhäsive Zellen sind und nur mit harschen Methoden geerntet werden können. Dies könnte die Lebensfähigkeit der Zellen und damit die Ergebnisse beeinflusst haben.

Da die Messung der Zellaktivität bzw. Zelllebensfähigkeit in drei unabhängigen Experimenten durchgeführt wurden, könnten sich mögliche Auswirkungen durch die Ernte und Übertragung der Zellen nach Mittelung der Ergebnisse ausgeglichen haben. Dies ist jedoch schwer zu beurteilen, da die Ergebnisse des Tests nur anhand der optischen Dichte (OD) und nicht als Verhältnis der Anzahl lebensfähiger Zellen von Schein- und exponierten Zellen dargestellt werden. Die angezeigte OD unterscheidet sich stark zwischen den beiden Frequenz-/Leistungsgruppen. Bei niedriger Leistung (0,12 THz, 10 mW) liegen die gemessenen ODs bei etwa 3, bei hoher Leistung (0,157 THz, 50 mW) liegen die gemessenen ODs bei etwa 0,6. Das bedeutet, dass scheinexponierte Zellen auch unterschiedliche OD-Werte aufweisen. Die Autoren erwähnen oder diskutieren diese Diskrepanz nicht.

Die Beobachtung, dass eine THz-Exposition bei hoher Leistung (0,157 THz, 50 mW) nach der Exposition zu lebensfähigeren Zellen führt, steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der Apoptose-Messung. Während sich in der mit 0,157 THz exponierten Gruppe unmittelbar nach 30 min Exposition ein statistisch signifikanter Anstieg der Apoptose zeigte (sogar höher als in der 0,12 THz-Gruppe), zeigte der Zellaktivitätstest in derselben Gruppe nach derselben Expositionszeit einen Anstieg lebensfähiger Zellen. Diese widersprüchlichen Ergebnisse wurden in der Diskussion nicht berücksichtigt.

Aufgrund der gegensätzlichen Ergebnisse im Zellaktivitätstest in den beiden unterschiedlichen Frequenz-/Leistungsgruppen entschieden sich die Autoren, für ihre nachfolgenden Analysen nur die 30-minütige Expositionszeit zu verwenden. Diese Entscheidung ist nicht nachvollziehbar zumal auch die 10-minütige Expositionszeit zu unterschiedlichen Ergebnissen führte (Abnahme in der 0,12-THz-Gruppe, kein Effekt in der 0,157-THz-Gruppe).

Die elektronenmikroskopischen Bilder sind nicht sehr scharf und es ist unklar, auf welche Strukturen einige der integrierten Pfeile zeigen. Darüber hinaus ist die erhöhte Anzahl an Lysosomen in der 0,12 THz-exponierten Gruppe in den Abbildungen nicht dargestellt. Wie beschädigte Zellstrukturen identifiziert und klassifiziert wurden, wird im Text nicht angegeben.

Für die Quantifizierung von Aminosäure-Neurotransmittern im Zellüberstand wählten die Autoren 16 Aminosäuren, von denen einige jedoch hauptsächlich als Vorläufer von Neurotransmittern dienen [4]. Eine veränderte Konzentration dieser Aminosäuren im Überstand bedeutet daher nicht unbedingt eine veränderte Freisetzung der entsprechenden Neurotransmitter. Darüber hinaus ist unklar, ob und welche der beobachteten Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen statistisch signifikant waren, da drei p-Werte mit genau demselben Wert angegeben werden. Einige der Aminosäuren zeigen in den unterschiedlich exponierten Gruppen gleiche oder sogar größere Konzentrationsänderungen, sind jedoch nicht mit einem p-Wert gekennzeichnet.

Bei der Untersuchung der Expression des Proteins PSD-95 wurde keine Auswirkung auf die Neuronenfunktion festgestellt, obwohl dies aufgrund der beobachteten Veränderungen der Zelllebensfähigkeit, der Veränderungen der Ultrastruktur und der Konzentration von Neurotransmittern zu erwarten gewesen wäre. Die Autoren gehen von einer PSD-95-unabhängigen Modulation der Neuronenfunktion aus. Alternativen werden nicht weiter in Betracht gezogen oder untersucht.

Darüber hinaus fehlen in der Arbeit einige allgemeine Details, die die Aussagekraft der Ergebnisse verbessert hätten: Es gibt keine Informationen zur Verblindung von Experimenten und deren Auswertungen. Die Autoren beschreiben weder, warum sie die Frequenzen 0,12 THz und 0,157 THz gewählt

haben, noch erwähnen sie, warum dafür unterschiedliche Leistungen verwendet wurden. Darüber hinaus wird die Leistungsdichte oder die spezifische Absorptionsrate (SAR) innerhalb der Zellkultur nicht angegeben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Studie einen sehr interessanten Ansatz verfolgte, ihr Beitrag zur Bewertung biologischer Effekte von THz-Wellen auf neuronale Zellen jedoch angesichts der widersprüchlichen Ergebnisse begrenzt ist.

Referenzen

Der erste Literaturverweis ist immer das vorliegende Manuskript, und der Verweis in geschweiften Klammern am Ende {xx} entspricht einer Referenz im vorliegenden Manuskript und ist im Verweisstiel des Manuskripts geschrieben.

- [1] Zhao L, Yi R, Liu S, Chi Y, Tan S, Dong J, Wang H, Zhang J, Wang H, Xu X, Yao B, Wang B, Peng R, "Biological responses to terahertz radiation with different power density in primary hippocampal neurons" PLoS One. 2023 Jan 20;18(1):e0267064. doi: 10.1371/journal.pone.0267064.
- [2] Rohde & Schwarz White Paper "Fundamentals of THz technology for 6G". PD 3683.6158.52, Version 01.02, November 2022 (ch)
- [3] Kamiloglu S, Sari G, Ozdal T, Capanoglu E, "Guidelines for cell viability assays." Food Frontiers 1.3 (2020): 332-349. doi:10.1002/fft2.44
- [4] Dalangin R, Kim A, Campbell RE, "The role of amino acids in neurotransmission and fluorescent tools for their detection." Int J Mol Sci. 2020 Aug 27;21(17):6197. doi: 10.3390/ijms21176197.

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: urn:nbn:de:0221-2023081738846

Spotlight - Aug/2023 no.2 (Deu)