



Spotlight on EMF Research

Spotlight on “2.45 Ghz microwave radiation induced oxidative stress: Role of inflammatory cytokines in regulating male fertility through estrogen receptor alpha in Gallus gallus domesticus” by Gupta et al. in Biophysical Research Communication (2022)

Kategorie [Hochfrequente Felder, experimentelle Tierstudie]

Spotlight - Aug/2023 no.1 (Deu)

Kompetenzzentrum elektromagnetische Felder (KEMF)

1 Einordnung des Artikels in den Kontext durch das BfS

Oxidativer Stress wird häufig als möglicher Wirkmechanismus von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (HF-EMF) auf die männliche Fruchtbarkeit diskutiert. Der Begriff oxidativer Stress beschreibt ein Ungleichgewicht zwischen der Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und dem zellulären antioxidativen Abwehrsystem. ROS werden natürlicherweise 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, 3].

2 Resultate und Schlussfolgerungen aus der Perspektive der Autoren

Nach der Arbeitshypothese der Autoren führt die Exposition mit hochfrequenter Mikrowellenstrahlung (MW) in lebenden Zellen zu einem Anstieg reaktiver Sauerstoffspezies, die Lipide, Proteine und Nukleinsäuren schädigen und in der Folge zu einer Entzündungsreaktion führen. Entzündungsreaktionen können die Expression des Östrogenrezeptors modulieren, einem wichtigen Einflussfaktor für die

männlichen Fruchtbarkeit. In der Studie wurde die Aktivität von oxidativen Enzymen und die Expression des Östrogenrezeptors im Hodengewebe von jungen männlichen Hühnern untersucht, die einer hochfrequenten Mikrowellenstrahlung ausgesetzt waren.

14 Tage alte männliche Hühner (*Gallus gallus domesticus*) wurden in zwei Gruppen mit je sieben Hühnern aufgeteilt. Die erste Gruppe wurde für zwei Stunden/ Tag mit 2,45 GHz mit kontinuierlicher MW-Strahlung von einem WiFi-Router exponiert, was zu einer durchschnittlichen Ganzkörper-SAR von 0,998 W/kg führte. Die zweite Gruppe wurde entsprechend scheinexponiert, wobei der WiFi-Router jedoch ausgeschaltet war. Nach 30 Tagen wurden die Hühner gewogen und getötet. Die Hoden wurden gewogen und als Gewebeschnitte mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt oder mit Antikörpern gegen die Zytokine IL-1 β und IL-10 gefärbt. Die ER α -Expression wurde nach vorheriger Homogenisierung des Gewebes mittels Western Blot analysiert. Für den Nachweis von oxidativem Stress wurde die Aktivität der antioxidativen Enzyme (Katalase (CAT), Superoxid-Dismutase (SOD) und Glutathion-Synthetase (GSH)) und die Konzentration von H₂O₂ und Malondialdehyd (MDA) durch photochemische Methoden gemessen.

In der exponierten Gruppe zeigte die morphometrische Untersuchung der Hoden eine statistisch signifikante Abnahme des Gewichts, Volumens und des gonadosomatischen Index (Indikator für die Geschlechtsreife der Tiere). Darüber hinaus zeigte die histologische Färbung eine erhebliche Verringerung des Durchmessers der Hodenkanälchen in der exponierten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe sowie einen signifikanten Anstieg von Interleukin-1 β (IL-1 β) bei gleichzeitiger Verringerung von Interleukin-10 (IL-10). Zudem zeigte das exponierte Gewebe im Vergleich zur Kontrolle eine signifikante Steigerung von H₂O₂ und MDA und eine geringere Expression von ER α . Laut den Autoren deuten die Ergebnisse auf eine durch Exposition verursachte, stressinduzierte Entzündungsreaktion hin.

Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Hoden anfällig für Schäden durch freie Radikale sind und ein stark betroffenes Organ für durch MW-Exposition induzierten oxidativen- und entzündlichen Stress darstellen. Daher ist es nach Ansicht der Autoren offensichtlich, dass MW über die Herunterregulierung von ER α im Hoden männliche Unfruchtbarkeit bei Hühnern verursachen kann.

3 Kommentare des BfS

Die Autoren untersuchten die Auswirkungen von Mikrowellen-Strahlung auf oxidativen Stress und männliche Fruchtbarkeit. Dieses Thema ist für den Strahlenschutz von hoher Relevanz, aber die Übertragbarkeit der an Hühnern gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen ist begrenzt. Außerdem erfüllt die Studie wesentliche Qualitätskriterien nicht: Es fehlen Positiv- und Negativkontrollen, die notwendig sind, um das Ausmaß eines Effekts in den untersuchten Proben zu bewerten. Die Experimente waren nicht verblindet, was zu einem hohen Risiko für Verzerrungen führt. Die Expositionsrechnung ist nicht präzise: Die Autoren geben an, dass der Router mit 25 dBm strahlt, was 0,312 W entspricht. Es wurden 7 Hühner mit einem ungefähren Gewicht von 90 g exponiert. Das bedeutet, dass eine Gesamtleistung von 0,312 W auf 630 g verteilt werden muss, was ungefähr 0,5 W/kg ergibt. Das ist die Hälfte dessen, was die Autoren als Expositionsniveau angeben. Außerdem wird bei dieser sehr vereinfachten Berechnung nicht berücksichtigt, dass nur ein Bruchteil der emittierten Energie tatsächlich von den Hühnern absorbiert wird. Ob die angegebenen Feldstärken korrekt sind, lässt sich anhand der vorgelegten Daten nicht beurteilen. Dazu wären weitere Informationen (verwendete Antennen, sowie Ausrichtung und Abstand zum Käfig) notwendig. Außerdem war die "scheinexponierte" Gruppe nicht wirklich scheinexponiert, da das Gerät vollständig ausgeschaltet war, so dass die Kontrollgruppe als „nicht exponiert“ bezeichnet werden sollte.

Hinsichtlich des Körpergewichts und der Größe der Hoden fanden die Autoren signifikante Unterschiede zwischen der nicht exponierten- und der exponierten Gruppe. Da Positiv- und Negativkontrollen fehlen, ist die tatsächliche Effektgröße unklar und könnte auf die sehr kleine Fallzahl (n= 7) zurückzuführen sein. Da die Unterschiede in absoluten Zahlen sehr gering sind, könnten alle analysierten Parameter durchaus innerhalb des normalen physiologischen Bereichs liegen.

Es ist ein häufiges Dilemma, dass die zur Untersuchung von oxidativem Stress ausgewählten Marker nicht spezifisch und daher nicht zuverlässig sind: Die Aktivität antioxidativer Enzyme steigt häufig als Reaktion auf

die Produktion von Elektrophilen, die die Transkriptionsfaktoren Nrf2 und KEAP1 [3] aktivieren, die ihrerseits Gene für antioxidative Enzyme regulieren. Die gleichen Verbindungen werden jedoch auch im Stoffwechsel produziert oder mit der Nahrung aufgenommen. Oxidativer Stress kann zwar zu einem Anstieg der antioxidativen Enzyme führen, doch sind diese keine zuverlässigen Indikatoren. Die Messung einer einzelnen H₂O₂-Konzentration ist nicht geeignet, um oxidativen Stress zu bestimmen, weil die Konzentration starken Schwankungen unterliegt - um eine zuverlässige Aussage über oxidativen Stress zu machen, ist eine Zeitkinetik erforderlich [4]. Der MDA-Spiegel wird neben oxidativem Stress von vielen verschiedenen Prozessen beeinflusst, so dass auch dieser Marker nicht spezifisch ist [4]. Insgesamt lassen die Daten keine Rückschlüsse auf einen erhöhten oxidativen Stress in der exponierten Gruppe zu.

Um Unterschiede in der ER α -Expression zwischen der scheinexponierten und der exponierten Gruppe zu zeigen, wurde eine Western-Blot-Analyse durchgeführt und die ER α -Banden quantifiziert. Die Quantifizierung von ER α wurde jedoch nicht korrekt durchgeführt. Bei der Quantifizierung von Proteinbanden ist es ein Standardverfahren, die jeweilige Proteinbande auf die Ladekontrolle (z. B. β -Actin) zu normieren, um Unterschiede in der Beladung des Gels zu berücksichtigen. Die Autoren gehen auch selbst darauf ein und zeigen daher ein vollständiges Gel, um zu demonstrieren, dass die verwendeten Proben gleiche Mengen an β -Actin enthalten (ohne es dabei zu quantifizieren). Es ist jedoch keine ER α -Bande bei 64 kDa sichtbar, so dass es sich um ein anderes Gel handeln könnte, was die Schlussfolgerung der Autoren nicht rechtfertigt.

Es werden signifikant erhöhte Mengen des proinflammatorischen Zytokins IL-1 β und signifikant geringere Mengen des entzündungshemmenden IL-10 in der exponierten Gruppe im Vergleich zur Kontrolle beobachtet. Die Unterschiede sind signifikant, aber in absoluten Zahlen sind die Unterschiede gering. Das erhöhte IL-1 β wird von Immun- und Gewebezellen aufgrund von Gewebeverletzungen oder Infektionen produziert, so dass die höhere Aktivierung in der exponierten Gruppe viele verschiedene Ursachen haben könnte und nicht unbedingt auf die MW-Exposition zurückzuführen ist [5].

Bei der Bewertung der Ergebnisse im Kontext der vorhandenen wissenschaftlichen Literatur fällt auf, dass fast ausschließlich Studien zitiert werden, die die Ergebnisse der Autoren bestätigen. Eine übergeordnete Diskussion auch von Studien, die zu anderen Ergebnissen kommen, wäre für ein schlüssiges Bild wünschenswert.

Die der Studie zugrunde liegende Fragestellung ist von wissenschaftlichem Interesse und für den Strahlenschutz relevant. Allerdings weist die Studie zu viele methodische Defizite auf, um zum Stand der Wissenschaft beizutragen.

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 Verweistil des Manuskripts geschrieben.

- [1] Gupta, V. and R. Srivastava, 2.45 GHz microwave radiation induced oxidative stress: Role of inflammatory cytokines in regulating male fertility through estrogen receptor alpha in Gallus gallus domesticus. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022. 629: p. 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.09.009>.
- [2] Forman, H.J. and H. Zhang, Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov*, 2021. 20(9): p. 689-709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>.
- [3] 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. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>.
- [4] 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.

<https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106932>.

- [5] Kaneko, N., M. Kurata, T. Yamamoto, S. Morikawa and J. Masumoto, The role of interleukin-1 in general pathology. Inflamm Regen, 2019. 39: p. 12. <https://doi.org/10.1186/s41232-019-0101-5>.

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:0221-2023081738858

Spotlight - Aug/2023 no.1 (Deu)