

Spotlight on EMF Research

Spotlight on “Effects of 5G-modulated 3.5 GHz radiofrequency field exposures on HSF1, RAS, ERK, and PML activation in live fibroblasts and keratinocytes cells” by Joushomme et al. in Scientific Reports (2023)

Kategorie [Hochfrequente Felder, In-vitro-Studie]

Spotlight - Jan/2024 no.4 (Deu)

Kompetenzzentrum elektromagnetische Felder (KEMF)

1 Einordnung des Artikels in den Kontext durch das BfS

Die neue Mobilfunktechnologie 5G arbeitet derzeit auf Frequenzen zwischen 700 MHz und 4 GHz. Ein wichtiges Frequenzband für die 5G-Nutzung liegt bei 3,5 GHz. Bislang gibt es bei 3,5 GHz nicht so viele Studien, die mögliche gesundheitliche Auswirkungen untersuchen, wie bei niedrigeren Frequenzbereichen. Da 5G auch höhere Frequenzbereiche als 3,5 GHz nutzen wird, und die Eindringtiefe der hochfrequenten elektromagnetischen Felder (HF EMF) in den menschlichen Körper mit steigender Frequenz weiter abnimmt, werden Hautzellen zu einem primären Ziel bei der Untersuchung möglicher gesundheitlicher Auswirkungen. Eine Möglichkeit zur Untersuchung negativer Auswirkungen einer 5G-Exposition auf Hautzellen besteht darin, die Aktivierung verschiedener zellulärer Stressreaktionswege zu überprüfen. Ein genauerer Blick auf Unregelmäßigkeiten dieser Wege wird zu einer verbesserten Bewertung der Gesundheitsrisiken von 5G beitragen.

2 Resultate und Schlussfolgerungen aus der Perspektive der Autoren

Die Autoren untersuchten die Hypothese, ob die Exposition gegenüber 5G-modulierten hochfrequenten EMF bei 3,5 GHz die Stressreaktion in menschlichen Hautzellen beeinflussen kann. Zu diesem Zweck wurde die Aktivität von vier Proteinen untersucht, die an Signalwegen in Antwort auf umweltbedingten Zellstress beteiligt sind: i) Hitzeschockfaktor 1 (HSF1), ein Hauptregulator der Transkription von Hitzeschockproteinen in Eukaryoten; ii) Rat Sarcoma Virus (RAS) und iii) Extrazelluläre signalregulierte Kinase (ERK), beide sind Schlüsselemente im RAS/MAPK-Signalweg, der für verschiedene zelluläre Prozesse wie Genexpression, Wachstum und Überleben wichtig ist; und iv) Promyelocytic Leukemia Protein (PML), das die Grundlage für

PML-Kernkörper bildet, die sich als Reaktion auf verschiedene Stressbedingungen, einschließlich oxidativem Stress, bilden und für Apoptose und DNA-Reparatur wichtig sind. Da die Haut zum primären Zielgewebe bei Exposition gegenüber 5G wird, wurden Keratinozyten (HaCaT-Zelllinie) und menschliche Hautfibroblasten (XP6BE-Zelllinie) als Zellmodelle verwendet. Keratinozyten sind die Zellen der obersten, schützenden und luftexponierten Hautschicht, während Fibroblasten Teil des Bindegewebes unterhalb dieser Schicht sind. Die inter- und intramolekularen Proteinwechselwirkungen von manipulierten Proteinen und Proteindomänen, die die Übertragung von Stresssignalen widerspiegeln, wurden durch Biolumineszenz-Resonanz-Energietransfer (BRET) bewertet, eine Technik, die auf strahlungslosem Energietransfer zwischen einem Donor und einem Akzeptor basiert. Um BRET in lebenden Zellen zu messen, wurden cDNA-Expressionsvektoren entworfen, die die betreffenden Proteine kodieren und mit Akzeptor- und/oder Donor-BRET-Sonden markiert sind. Die Expressionsvektoren wurden dann durch transiente Transfektion in die Zellen eingefügt.

Die transfizierten Fibroblasten wurden 24 Stunden lang einem 5G-modulierten 3,5-GHz-Signal bei spezifischen Absorptionsraten (SAR) von 0,25, 1 und 4 W/kg exponiert oder schein-exponiert. Es wurden eine kontinuierliche (CW) sowie eine intermittierende Exposition (IE) (5 min EIN/10 min AUS) implementiert. Um den durch die Exposition verursachten Temperaturanstieg auszugleichen, wurde der Zellinkubator so eingerichtet, dass die biologischen Proben während des gesamten Experiments bei 37 °C gehalten wurden.

Um den Einfluss einer 24-stündigen Exposition auf die Grundaktivität oder die chemisch induzierte Aktivierung von HSF1, RAS, ERK und PML zu beurteilen, wurden transfizierte Hautfibroblasten mit steigenden Konzentrationen verschiedener, Signalweg-spezifischer chemischer Substanzen inkubiert und das resultierende BRET-Signal gemessen. Zum Vergleich von 5G-exponierten und schein-exponierten Zellen wurden drei Werte aus jeder resultierenden sigmoidalen Dosis-Wirkungs-Kurve bestimmt: 1) das untere Plateau als Maß für die Grundaktivität, 2) das obere Plateau minus dem unteren Plateau als Maß für die maximale Wirksamkeit, 3) log EC50 als Fähigkeit der Chemikalien, eine Aktivierung auszulösen, d. h. die Konzentration der Chemikalie, bei der die BRET-Reaktion in der Mitte zwischen dem unteren und oberen Ende der Kurve lag.

Zunächst wurde der Einfluss der Exposition auf die Grundaktivität oder die chemisch induzierte HSF1-Aktivierung bewertet. Transfizierte Zellen wurden 18 Stunden lang mit MG132, einem Proteasom-Inhibitor, der proteotoxischen Stress auslöst, inkubiert. Die HF-EMF-Exposition führte nur bei 0,25 W/kg (CW) und bei 0,25 und 1 W/kg (IE) zu einer statistisch signifikanten und konsistenten Abnahme der Grundaktivität von HSF1. Bei keinem anderen Parameter oder Zustand wurden Unterschiede zu schein-exponierten Zellen festgestellt.

Zweitens wurde eine chemisch induzierte Aktivierung der RAS- und ERK-Stresssensoren erreicht, indem die Zellen 15 Minuten lang mit Phorbol-Myristat-13-Acetat (PMA) inkubiert wurden. Die einzige auffällige Beobachtung war eine leichte, aber statistisch signifikante Abnahme der PMA-Fähigkeit ERK zu aktivieren, wenn die Zellen bei 0,25 W/kg (CW) exponiert wurden.

Drittens wurden die Zellen mit Arsentrioxid, einem Auslöser von oxidativem Stress, der die SUMOylierung von PML auslöst, inkubiert. Die SUMOylierung, d.h. das Anhängen des Proteins SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) an PML, ist ein Schlüsselereignis, das zur PML-Aktivierung führt. Eine statistisch signifikante Abnahme der basalen SUMOylierung wurde in Zellen beobachtet, die gegenüber 4 W/kg (CW) exponiert waren, und eine statistisch signifikante Abnahme der maximalen Wirksamkeit von Arsentrioxid wurde in allen Expositionsgruppen im CW-Modus beobachtet.

Die gleiche Versuchsreihe, jedoch nur im CW-Modus, wurde auch an Keratinozyten durchgeführt. Der einzige beobachtete Unterschied zwischen schein- und 5G-exponierten Keratinozyten war ein statistisch signifikanter Anstieg der maximalen PMA-Wirksamkeit ERK zu aktivieren, wenn die Zellen gegenüber 1 W/kg exponiert wurden.

In der Diskussion weisen die Autoren darauf hin, dass die wenigen beobachteten statistisch signifikanten Veränderungen zwischen Zelltypen, effektivem SAR, Expositionsmodus und zellulärem Stressreaktionsweg inkonsistent sind. Es wurde kein dosisabhängiger Effekt beobachtet, mit Ausnahme der maximalen Wirksamkeit von Arsenitoxid zur Auslösung der PML-SUMOylierung, aber das Ausmaß des Effekts war gering. Die bei Fibroblasten beobachtete Abnahme der HSF1-Basalaktivität bei niedrigen SAR-Werten wurde auch in einer früheren Studie an HEK293T-Zellen beobachtet [2]. Da es bei hohen SAR-Werten keinen Effekt auf HSF1 gab, diskutieren die Autoren die Möglichkeit eines hormetischen Dosis-Wirkungs-Effekts, der weiter untersucht werden sollte. Hormesis stimuliert eine biologische Reaktion in Zellen bei geringen, subtoxischen Mengen eines Stressors, führt jedoch zu schädlichen Auswirkungen bei hohen, toxischen Mengen desselben Stressors. Insgesamt kommen die Autoren zu dem Schluss, dass ihre Studie keine schlüssigen Beweise für molekulare Effekte in Hautzellen liefert, wenn sie 24 Stunden lang gegenüber 5G-modulierten hochfrequenten EMF exponiert werden.

3 Kommentare des BfS

Joushomme et al. präsentieren eine umfassende und gut durchgeführte Studie mit einer klaren Hypothese. Die Autoren konzentrieren sich auf vier Proteine, die an wichtigen Stressreaktionswegen von Zellen beteiligt sind, und verwenden einen eleganten Ansatz der Biosensortechnik, der die Überwachung der Aktivität dieser Wege mithilfe von BRET ermöglicht. Die Methoden werden ausführlich beschrieben und Qualitätsstandards, darunter eine gut durchgeführte dosimetrische Bewertung, eine Temperaturkontrolle, eine Scheinkontrolle und unabhängige Experimente für jede Versuchsbedingung, implementiert.

Die Autoren diskutieren ihre Ergebnisse im Hinblick auf eine mögliche hormetische Dosis-Wirkungs-Beziehung, ihre Argumentation ist jedoch nicht vollständig nachvollziehbar. Die Abnahme der Grundaktivierung und der chemisch induzierten Aktivierung der Stressreaktionsproteine HSF1, ERK und PML in Fibroblastenzellen wurde entweder bei hohen (4 W/kg für PML) oder niedrigen SAR-Werten (0,25 oder 1 W/kg für HSF1 und ERK) beobachtet. Bei Keratinozyten war der einzige beobachtete Effekt eine Steigerung und keine Abnahme der Wirksamkeit von PMA zur Aktivierung von ERK bei 1 W/kg. Diese inkonsistenten Ergebnisse machen es schwierig, auf eine hormetische Dosis-Wirkungs-Beziehung zu schließen. Es ist auch unklar, warum es bei niedrigen Konzentrationen zu einer Abnahme und nicht zu einer Erhöhung der Grundaktivität von Stressreaktionsproteinen kommen sollte, da eine hormetische Wirkung im Allgemeinen durch die Stimulierung biologischer Reaktionen bei niedrigen Konzentrationen eines Stressfaktors gekennzeichnet ist [3]. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die HF-EMF-Exposition irgendeine Art von Auswirkung nur auf bestimmte Stress-Signalwege hat, wie z. B. diejenigen, die HSF1 umfassen.

Eine Einschränkung der Studie ist, wie auch von den Autoren erwähnt, die hohe Zahl statistischer Tests (multiples Testen), was bedeutet, dass es wahrscheinlich zu falsch positiven Ergebnissen kommt. Neben dem Fehlen einer klaren Dosis-Wirkungs-Beziehung und widersprüchlichen Ergebnissen bei Fibroblasten und Keratinozyten gibt es keine schlüssigen Beweise für molekulare Effekte von 5G-modulierten 3,5-GHz-Signalen. Der unabhängig voneinander beobachtete Rückgang der basalen HSF1-Spiegel in zwei Zelllinien bedarf einer weiteren Validierung, einschließlich zusätzlicher SAR-Werte und Expositionsdauern.

Die methodisch gut und umfassend durchgeführte Studie leistet einen wichtigen Beitrag zur Risikobewertung von 5G. Zusammenfassend stimmen wir mit der Schlussfolgerung der Autoren überein, dass die Ergebnisse der Studie keine überzeugenden Hinweise darauf liefern, dass eine 24-stündige Exposition von Hautzellen gegenüber 5G-Signalen eine Stressreaktion auslöst. Ähnlich umfassende Untersuchungen auf Stressreaktionen von Hautzellen im Millimeterwellenbereich (>20 GHz) wären eine sinnvolle Ergänzung.



Referenzen

- [1] Joushomme A, Orlacchio R, Patrignoni L, et al. Effects of 5G-modulated 3.5 GHz radiofrequency field exposures on HSF1, RAS, ERK, and PML activation in live fibroblasts and keratinocytes cells. *Sci Rep.* 2023;13(1):8305. Published 2023 May 23. doi:10.1038/s41598-023-35397-w
- [2] Poque, E. et al. Effects of radiofrequency field exposure on proteotoxic-induced and heat-induced HSF1 response in live cells using the bioluminescence resonance energy transfer technique. *Cell Stress Chaperones* 26, 241–251 (2021) {13}
- [3] Mattson MP. Hormesis defined. *Ageing Res Rev.* 2008;7(1):1-7. doi:10.1016/j.arr.2007.08.007



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:0221-2024020141273](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0221-2024020141273)

Spotlight - Jan/2024 no.4 (Deu)