

## 1800-MHz-Einfluss auf das Zellwachstum im Gehirn

**In diesem Experiment wurden Zellwachstum und Zelltod von Stammzellen im Gehirn (Hippocampus) von Mäusen in 2 Altersstufen nach Bestrahlung (8 Stunden 3 Tage lang) untersucht, bei neugeborenen und jugendlichen Tieren (7 oder 21 Tage alt). Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede beim Zelltod (Apoptose), aber bei den Neugeborenen zeigte das Wachstum der Stammzellen signifikante Veränderungen. Der Einfluss von 1800-MHz-Strahlung auf das Wachstum der Stammzellen hängt vom Entwicklungsstadium des Gehirns ab.**

Es ist weitgehend akzeptiert, dass in der Entwicklung befindliche Organismen empfindlich gegenüber elektromagnetischen Feldern sind, wobei bestimmte Organe empfindlicher sind als andere. Das Gehirn ist besonders betroffen und hier ist der Hippocampus am empfindlichsten. Als Folge können neurologische Fehlfunktionen auftreten wie Bewegungs-, Empfindungs-, Lern- und Gedächtnisstörungen; Schlaf und Wohlbefinden können beeinträchtigt sein. Ursachen dafür können Zelltod (Apoptose) durch die Strahlung oder Schädigung des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung in Stammzellen des Hippocampus sein.

Apoptose ist ein wichtiger Vorgang zur Aufrechterhaltung der Homöostase im Laufe des gesamten Lebens, besonders wichtig aber während der frühen Entwicklung des Gehirns. Die Protease Caspase-3 hat eine einleitende Funktion bei mehreren apoptotischen Wegen und deshalb wird ihre Aktivierung als Nachweis für Apoptose im Labor eingesetzt. Neubildung von Nervenzellen (Neurogenese) nach der Geburt geschieht lebenslang in bestimmten Bereichen des Gehirns, besonders im Gyrus dentatus des Hippocampus und in der Subventrikularzone der Seitenventrikelwände. Das Zellwachstum ist in der frühen Phase nach der Geburt stark und nimmt mit zunehmendem Alter ab. Neurogenese im Hippocampus ist mit der Gedächtnisbildung verbunden und wird von verschiedenen physiologischen und pathologischen Reizen beeinflusst, z. B. durch Sauerstoffmangel in den Organen bei Durchblutungsstörungen oder durch Strahlung.

Frühere Arbeiten mit jungen und älteren Tieren hatten ergeben, dass die Apoptoserate nach Sauerstoffunterversorgung des Gehirns aufgrund von Durchblutungsstörungen erhöht ist, jetzt wollten die Forscher wissen, ob elektromagnetische Felder das sich entwickelnde Gehirn beeinträchtigen. Die Hypothese ist, dass junge Gehirne empfindlich auf Umweltreize reagieren, entweder durch Induktion von Zelltod der neuronalen Stammzellen (Stammzellen teilen sich, indem sie eine Zelle absondern, die die neuronalen Vorläuferzellen (Neuroblasten) bilden, welche später zu reifen Nervenzellen ausdifferenzieren; die Stammzelle bleibt am „Heimatort“ zurück) oder Veränderung des Zellwachstums kurz nach der Bestrahlung. In dieser Studie wurden 7 (P7) und 21 Tage (P21) alte Mäuse eingesetzt, weil deren Hirne mit denen von menschlichen Neugeborenen und Jugendlichen vergleichbar sind. 8 Stunden Bestrahlung 3 Tage lang hat keine sichtbaren Auswirkungen auf Mütter und Nachkommen. Hier wurde die Wirkung von 1800-MHz-Strahlung, die der eines Mobiltelefons in nächster Nähe ähnelt, auf Zelltod und Stammzellteilung im Gyrus dentatus von Gehirnen in der Entwicklung untersucht.

Je 12 Mäuse von beiden Geschlechtern (6/6) und beider Altersstufen (7 oder 21 Tage alt) bildeten entweder Kontroll- oder scheinbestrahlte Gruppen. Am Tag 7 bzw. Tag 21 nach der Geburt wurden die Tiere der Strahlung von 1800 MHz 8 Stunden pro Tag mit einem elektrischen Feld von 28 V/m ausgesetzt, die SAR im Gehirn betrug 1,16 W/kg. 24 Stunden nach Ende der Bestrahlung wurden die Hirne entnommen und auf Zellwachstum, Zellzahl, Zelltod, auf DNA-Synthese (BrdU) und Apoptose (Caspase-3) im Hippocampus (Gyrus dentatus, Subgranularzone) untersucht. Es wurden 3 verschiedene Methoden angewandt, um verschiedene Stadien und Mechanismen der Gehirnentwicklung zu analysieren. BrdU (Bromdesoxyuridin) wird in neu gebildete DNA eingelagert, wenn Zellen durch die S-Phase des Zellzyklus gehen. PHH3 (Phospho-Histon-H3) ein ist eine Phosphorylase und ein Zeichen für Zellteilung; sie ist besonders aktiv während der Mitose (M-Phase des Zellzyklus). BLBP (Brain specific lipid-binding protein) kommt hauptsächlich in den radialen Neurogliazellen vor und ist während der Entwicklung vorübergehend an der Differenzierung von Nervenzellen und später an der Wanderung der reifen Zellen beteiligt.

Die Untersuchung des Gehirns ergab keine signifikante Wirkung der Strahlung auf die Apoptose in Gyrus dentatus, Subventrikularzone, Hirnrinde, Striatum und Thalamus. Durch die Strahlung waren in den P7-Mäusen nicht-signifikant mehr Apoptose-Zellen zu sehen als bei den Kontrollen, bei den P21-Tieren gab es keine Unterschiede.

Das Zellwachstum im Hippocampus war bei den P7-Tieren höher als bei den älteren Tieren. Die 1800-MHz-Strahlung steigerte die DNA-Synthese in den neuronalen Stamm- und Vorläufer-Zellen der P7-Tiere, aber verminderte die Zellteilung und die Gesamtzahl der Stammzellen im Hippocampus im Vergleich zu den Kontrollen. Es gab keine signifikanten Änderungen im Zellwachstum bei den P21-Mäusen nach Bestrahlung. Das Zellwachstum war signifikant erhöht in der Subgranularzone des Gyrus dentatus bei den P7-Mäusen: BrdU-Zellzahl in den Kontrolle  $27,9 \pm 11,7$  Zellen/mm gegenüber den P21-Kontrollen mit  $7,4 \pm 1,8$  Zellen/mm. Die Zahl der BrdU-Zellen betrug bei den bestrahlten P7-Mäusen  $51,6 \pm 11,8$  Zellen/mm, bei den P21-Mäusen gab es keine signifikanten Unterschiede. Es gab auch keine Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren bei beiden Altersstufen.

Die BLBP-Methode diente dazu zu bestimmen, ob die 1800-MHz-Strahlung Auswirkungen auf die Stammzellen insgesamt hat. Deshalb wurde die Zahl der undifferenzierten, BLBP-positiven Zellen in der Subgranularzone bestimmt. Die Anzahl der BLBP-positiven Zellen in den Gehirnen der P7-Kontrolltiere betrug  $43,0 \pm 10,2$  Zellen/mm, eine sehr viel höhere Zahl als bei den P21-Tieren ( $15,4 \pm 2,2$  Zellen/mm). Die Anzahl der BLBP-positiven Zellen nahm ab auf  $31,1 \pm 5,8$  Zellen/mm in den bestrahlten P7-Mäusen, während es keine signifikanten Unterschiede in der BLBP-Markierung nach Bestrahlung der P21-Tiere gab.

Die Ergebnisse dieser Kurzzeit-Studie geben Hinweise, dass sehr junge in der Entwicklung befindliche Individuen empfindlicher sind als ältere. Es zeigte sich kein Einfluss der 1800-MHz-Strahlung auf den neuronalen Zelltod im Hippocampus, aber es ist nicht bekannt, ob es eine Dosis-abhängige Beziehung gibt zwischen Bestrahlung und Apoptose der Nervenzellen. Dazu ist weitere Forschung nötig.

Die hier angewendeten 3 Methoden untersuchten die Wirkung der 1800-MHz-Strahlung auf 3 verschiedene bestimmte Zellprozesse in verschiedenen Stadien der Entwicklung im Hippocampus. BrdU wird während der S-Phase des Zellzyklus in neu gebildete DNA eingelagert, PHH3 ist besonders

aktiv während der M-Phase des Zellzyklus und BLBP zeigt die Verhältnisse im Stammzell-Pool in den radialen Neurogliazellen an. Die kurzzeitige Bestrahlung mit 1800 MHz steigerte die DNA-Synthese in Stammzellen des Hippocampus in den unreifen Hirnen der 7 Tage alten Mäuse, aber nicht bei den jungen erwachsenen Tieren. Die Zellteilung (mit PHH3 bestimmt) war vermindert in unreifen, aber nicht in den juvenilen Hirnen nach Bestrahlung. Das zeigt an, dass die Beeinträchtigung durch die Strahlung im Zellzyklus vom Entwicklungsstadium des Gehirns abhängt. Zudem war der Stammzell-Pool reduziert im unreifen Gehirn nach Bestrahlung (BLBP), wahrscheinlich bedingt durch die Hemmung der Zellteilung, was zu verminderter Erneuerung der Stammzellen führt. Die kurzzeitige Bestrahlung hatte kaum Einfluss auf den Zelltod der Stammzellen oder der Nervenzellen im Hippocampus, bei beiden Altersstufen. Der Einfluss der Strahlung auf Zellwachstum und Zellteilung der neuronalen Stammzellen war nur in den P7-Mäusehirnen (Neugeborene) zu sehen, nicht bei Tieren, die in einem Alter ähnlich dem von menschlichen Teenagern sind. Das zeigt, dass die Empfindlichkeit gegenüber 1800-MHz-Strahlung während der Entwicklung berücksichtigt werden muss, wenn der Schutz vor elektromagnetischen Feldern beurteilt wird. Die Langzeitwirkung der Strahlung auf neurologische Funktionen muss weiter erforscht werden.

#### Quelle:

Xu F, Bai Q, Zhou K, Ma L, Duan J, Zhuang F, Xie C, Li W, Zou P, Zhu C (2017): Age-dependent acute interference with stem and progenitor cell proliferation in the hippocampus after exposure to 1800 MHz electromagnetic radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine* 36 (2), 158–166

## Wirkung von Mikrowellen II

# 1800 MHz (GSM) verändern Gehirne junger Ratten

**Die Fragestellung war, ob Bestrahlung mit 1800 MHz eine positive oder negative Wirkung hat, wenn eine einmalige zweistündige Bestrahlung des Kopfes von Ratten (2,9 W/kg) erfolgt nachdem bei den Tieren eine akute Entzündung ausgelöst wurde. Getestet wurden 14 Tage und 2 Monate alte Tiere auf TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL-6, CCL2, NOX2, NOS2 und Morphologie der Mikroglia. Es zeigten sich unterschiedliche Reaktionen je nach Alter der Tiere.**

Da die Wirkungen von Mikrowellen auf Gesundheit und Wohlbefinden noch immer nicht klar sind, so die Autoren, insbesondere wie das Gehirn in Bezug auf Gedächtnis, Blut-Hirn-Schranke, oxidativen Stress, Überleben von Nervenzellen, Feuerungsrate der Nervenzellen, Erregungsleitung und Reaktivität der Astroglia betroffen ist, sollte hier untersucht werden, wie sich die Strahlung auf die Entwicklung des Gehirns auswirken kann. Man ging der Frage nach, ob eine kurzzeitige 2-stündige Bestrahlung nur des Kopfes Auswirkungen – positive oder negative – auf die entzündlichen Reaktionen im Nervengewebe hat, die durch Lipopolysaccharid (LPS, Zellwandbestandteile von gramnegativen Bakterien) ausgelöst wurden in jungen und erwachsenen, 2 Wochen oder 2 Monate alten Ratten. Der Fokus der Untersuchung lag auf dem zerebralen Cortex.

Weil Entzündungen des Nervengewebes oft mit Änderungen der exzitatorischen Reizleitung einhergehen, wurden die im Nervensystem weit verbreiteten AMPA-Rezeptoren ( $\alpha$ -

Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionsäure-Rezeptor) untersucht. AMPA-Rezeptoren sind Kationenkanäle für Neurotransmitter. In diesem Experiment wurde die Bestrahlung des Kopfes mit 1800 MHz unter experimentellen Bedingungen untersucht, die keinen Zellstress oder Reaktionen der Gliazellen in gesunden Ratten im Alter von 14 Tagen oder 2 Monaten hervorrufen.

Man untersuchte 2 Hauptgruppen: junge, in der Entwicklung befindliche (14 Tage alt) und erwachsene (2 Monate alt) männlichen Ratten. Zunächst wurde bei beiden Gruppen (je 6 Tiere pro Gruppe) die Wirkung von LPS allein auf die Expression der proentzündlichen Gene getestet. Das E.coli-LPS wurde den 14 Tage und 2 Monate alten Tieren i. p. gespritzt, 24 Stunden danach erfolgte die Bestimmung der Entzündungen in der Hirnrinde. Die Bestrahlung wurde 24 Stunden nach Gabe von LPS vorgenommen und dauerte 2 Stunden unter Narkose (an Tag 15 nach der Geburt), die SAR betrug 2,9 W/kg. 24 oder 72 Stunden nach Ende der Bestrahlung wurde das Gehirn entnommen. Dann gab es 6 Untergruppen junge (je 5–7 Tiere) und 10 Untergruppen erwachsene männliche Ratten (je 6 Tiere), die auf 1800 MHz oder eine Kombination von 1800 MHz mit LPS untersucht wurden. Die Hälfte dieser Gruppen wurde scheinbestrahlt. Im Hirngewebe wurde die Genexpression von TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL-6, CCL2, NOX2 und NOS2 bestimmt und die Morphologie der Mikroglia untersucht.

Bei den erwachsenen Ratten trat 24 Stunden nach der LPS-Gabe ein signifikanter Anstieg der Transkripte auf, die für die proentzündlichen Zytokine kodieren oder Enzyme, die die Bildung von Reaktiven Sauerstoff- oder Stickstoff-Molekülen katalysieren wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CCL2, NOX2 oder NOS2. Die größten Unterschiede traten bei NOX2- und IL-1 $\beta$ -Transkripten auf, die 4- bzw. 12-fach anstiegen. Ähnlich reagierten die mit LPS-behandelten jungen Ratten, es kam zu 6-facher Erhöhung bei IL-1 $\beta$  und zu 4-facher bei NOX2. Im Unterschied zu den erwachsenen Tieren führte die LPS-Behandlung bei den jungen Ratten zu einer Abnahme der NOS2- und IL-6-Genexpression, während sich das TNF- $\alpha$ -Transkript nicht signifikant von den Kontrollen unterschied.

Die Wirkung der Strahlung auf die proentzündlichen Gene: in den jungen und erwachsenen männlichen Ratten war 24 Stunden nach der Bestrahlung die Konzentrationen der Transkripte von Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) oder NOX2-NADPH-Oxidase um 50–60 % reduziert gegenüber den Kontrolltieren. Die erwachsenen Ratten zeigten auch 50 % Reduktion der IL-1 $\beta$ -mRNA, aber sie unterschieden sich von den jungen Tieren dadurch, dass keine Suppression der NOX2-Gene auftrat und sie zeigten ein signifikantes Wachstum der Mikrogliazellen, das bei den jungen Ratten nicht auftrat.

Die Ergebnisse zeigen Unterschiede in der Genexpression unter akuten durch LPS ausgelösten Nervenentzündungen bei jungen und erwachsenen Ratten. Eine einmalige 2-stündige Bestrahlung mit 1800 MHz und einer lokalen SAR in der Hirnrinde von 2,9 W/kg führte zu einer Herunterregulation der durch LPS hervorgerufenen Expression von IL-1 $\beta$ -mRNA in jungen und erwachsenen Ratten und führte zu einer signifikanten Reduktion von NOX2-mRNA in jungen, aber nicht in den erwachsenen Ratten. Diese Wirkungen waren 24 Stunden nach der Bestrahlung zu sehen, aber nach 72 Stunden nicht mehr sichtbar.

Da Entzündungen des Nervensystems oft mit Veränderungen der Erregungsleitung (exzitatorischer Neurotransmission) in Zusammenhang stehen, wurden Änderungen in der Expression und Phosphorylierung der  $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionsäure-(AMPA)-Rezeptoren in den ausge-