

Veränderungen der Kalzium-Ionen Aktivität durch extrem niederfrequente und radiofrequente elektromagnetische Felder*

Dr. Carl F. Blackman

US Environmental Protection Agency (MD-68),
Research Triangle Park, NC 27711-2055, USA, Blackman.Carl@epa.gov

Einleitung

Kalzium-Ionen spielen bei vielen biologischen Prozessen eine wichtige Rolle. Beispielsweise kann die Kalzium-Ionen Aktivität als ein Indikator für die intrazelluläre Signalübertragung dienen. Innerhalb der Zelle liegt Kalzium überwiegend in den Mitochondrien, dem endoplasmatischen Retikulum und anderen Membranstrukturen gespeichert sowie an Calmodulin gebunden vor. Es wird aus diesen Speichern durch Signale, die über verschiedene biochemische Pfade und das Auslösen von molekularen Umwandlungen laufen, freigesetzt. Die Kalzium-Ionen Aktivität spielt auch bei der Aufrechterhaltung von Funktion und Integrität der Membranen eine Rolle. Weiters sind sie für die Aktivität des zentralen und peripheren Nervensystems, speziell für die Freisetzung der Neurotransmitter und die Auslösung des Aktionspotentials besonders bedeutsam.

Die Kalzium-Ionen Aktivität wurde in mehreren Studien zur Wirkung elektrischer und magnetischer Felder (EMF) auf biologische Systeme als Effektindikator eingesetzt. In einer Untersuchungsserie wurde gezeigt, dass die Kalzium-Ionen Aktivität ein Surrogat für die Freisetzung von Neurotransmittern aus Gehirnzellen der Katze darstellt (Kaczmarek & Adey, 1973; 1974). Als solches wurde die Kalzium-Ionen Aktivität anschließend in großen Untersuchungsserien zweier unabhängiger Gruppen eingesetzt (Übersicht in Adey, 1992, und Blackman, 1992), um Effekte elektromagnetischer Felder auf das Hirngewebe von Küken zu charakterisieren. Zwei andere Gruppen benutzten ebenfalls die Kalzium-Ionen Aktivität, um die Effekte von EMF auf Kulturen von Neuroblastom-Zellen (Dutta et al., 1984; 1989; 1992) bzw. auf das schlagende Froschherz (Schwartz et al. 1990) zu studieren.

Dieser Vortrag soll die Bedeutung des Hühnerhirnzellkultur-Modells für die Identifizierung kritischer Expositionsbedingungen unterstreichen. Damit kann der Einfluss von EMF auf das Nervensystem gezeigt sowie Ähnlichkeiten der biologischen Reaktion auf EMF stark unterschiedlicher Frequenzen dargestellt werden.

Material und Methoden

Gehirngewebe von frisch geschlüpften Küken (ein bis sieben Tage alt) wurde als Surrogat für Säugertiergewebe verwendet. Dazu wurden beide Vorderhirnhälften entnommen und für 30 Minuten in eine Salzlösung, die Spuren von radioaktiven Kalzium-Ionen enthielt, eingebracht. Nach sorgfältigem Abspülen wurden die beiden Hirnhälften desselben Kükens in getrennte Gefäße gegeben, welche mit einer vergleichbaren Salzlösung aber ohne radioaktive Kalzium-Ionen versehen waren. Ein Gefäß wurde in eine Expositions-kammer, das andere in ein Wasserbad gestellt. Nach 20 Minuten in der Kammer mit oder ohne EMF Exposition wurde die Salzlösung auf radioaktive Kalzium-Ionen untersucht. Zur Standardisierung des Ergebnisses wurde als Maßzahl der Kalzium-Ionen Freisetzung das

*) Übersetzung: M. Kundi, H-P. Hutter, H. Moshhammer, Wien, Österreich

Verhältnis des Zahlenwerts der exponierten zu der Kontrollprobe aus dem Wasserbad gebildet. Die Resultate wurden auf Basis des Vergleichs der standardisierten Werte der exponierten zu jenen der scheinexponierten Proben gewonnen.

Es wurde eine Vielzahl von EMF Expositionsbedingungen getestet, um die kritischen Charakteristika zu ermitteln, die für das Auftreten einer Änderung der Kalzium-Ionen Aktivität verantwortlich sind. Zwei stark unterschiedliche Frequenzbereiche wurden untersucht: (a) sinusförmige Wellen zwischen 1 und 510 Hz, hier als ELF (extremely low frequency) bezeichnet, und (b) sinusförmige Wellen mit einer Frequenz von 50, 147 und 450 MHz, d.s. radiofrequente Felder (RFR), die mit ELF amplitudenmoduliert wurden, hier bezeichnet als AM-RFR. Obwohl diese Frequenzbereiche hinsichtlich ihrer Erzeugung sehr unähnlich sind, wird sich zeigen, dass die biologischen Effekte dieser EMF sehr ähnlich sind. Für beide Frequenzbereiche wurden Dosis-Wirkungs-Beziehungen bei ausgewählten Frequenzen untersucht, um die Wirkungsweise(n) besser charakterisieren zu können. Schließlich hat das unerwartete nicht-lineare Verhalten, was Frequenz und Intensität anlangt, die Suche nach weiteren Bedingungen begründet, die die Resultate beeinflusst haben könnten. Zwei wichtige Studien untersuchten den möglichen Einfluss des Erdmagnetfelds und die zusätzliche EMF Exposition der Eier während der Inkubation hinsichtlich der Reaktion des Hirngewebes beim geschlüpften Küken auf das EMF.

Das EMF wurde durch zwei Feldquellen erzeugt: Einerseits wurden Funktionsgeneratoren eingesetzt, um ELF zu generieren, die mit der Signalquelle des RF Feldes zur Erzeugung von AM-RFR verknüpft wurden. Die Expositions-kammern bestanden aus TEM Zellen (Crawford-Zellen) unter temperaturkontrollierten Bedingungen. Andererseits wurden parallele Platten zur Erzeugung eines ELF Feldes verwendet.

Ergebnisse

Es konnte gezeigt werden, dass Veränderungen der Kalzium-Ionen Aktivität in biologischem Material eine nicht-lineare Funktion der Intensität des EMF aufweisen. Das gilt sowohl für ELF als auch für AM-RFR. ELF-Exposition von Hühnerhirngewebe bei einer Frequenz von 16 Hz hat Veränderungen der Kalzium-Ionen Aktivität in zwei scharf getrennten Intensitätsbereichen ergeben, die von Bereichen getrennt waren, bei denen keine Veränderungen auftraten (Abb. 1). Detailliertere Untersuchungen zu diesem nicht-linearen Verhalten wurden von unserer Gruppe und der von Adey (siehe Adey, 1992 und Blackman, 1992 und die darin enthaltenen Literaturhinweise) durchgeführt, wobei bei 16 Hz amplitudenmodulierte radiofrequente Felder bei einer Trägerfrequenz von 50, 147 und 450 MHz eingesetzt wurden. Das Resultat unserer Arbeiten war das Auffinden weiterer Regionen mit Änderungen der Kalzium-Ionen Aktivität unterbrochen von Regionen ohne Aktivitätsveränderungen (Abb. 2). Diese nicht-linearen Reaktionen wurden Reaktions-„Fenster“ genannt. Grodsky (1976) und andere Autoren haben die Hypothese vertreten, dass der diesen Fenstereffekten zugrunde liegende Mechanismus Austauschprozesse innerhalb eines dynamischen Systems beinhalten müsse, die durch EMF beeinflusst würden. Kürzlich haben Thompson et al. (1998) das Modell von Grodsky nachgeprüft und vereinfacht sowie auf unsere Daten aus den Untersuchungen zu AM-RFR bei 50 und 147 MHz angewandt. Mit einem adjustierbaren Parameter konnten sie das Ergebnis von 29 unserer 30 Experimente, die mit unterschiedlichen Intensitäten durchgeführt worden waren, vorhersagen (Thompson et al., 2000; im Druck).

Spezifische Frequenzen elektromagnetischer Felder zeigten ebenfalls einen differentiellen Effekt auf die Kalzium-Ionen Aktivität. Radiofrequente Felder bewirken Änderungen der Kalzium-Ionen Aktivität nur, wenn sie amplitudenmoduliert sind und dann auch nur bei Modulationsfrequenzen um 16 Hz. Effekte traten bei Modulationsfrequenzen von 6, 9, 11, 16 und 20 Hz nicht aber bei 0,5, 3, 25 und 35 Hz auf. Detailliertere Untersuchungen von ELF zwischen 1 und 510 Hz haben gezeigt, dass es eine Reihe von Frequenzfenstern gibt, bei denen Effekte auftreten, unterbrochen von Frequenzen ohne Effekt (Abb. 3). Es wurde danach gezeigt, dass sowohl die Intensität (Abb. 4) als auch die Orientierung des Erdmagnetfelds während der Exposition die Wirkung bei spezifischen Frequenzen beeinflussen kann. Diese Resultate führten zur Entwicklung von Ionenresonanz-Modellen und Prüfungen der Vorhersagen dieser Modelle (Blackman, 1985; Liboff, 1985).

Ein weiteres Experiment wurde durchgeführt, um zu untersuchen, ob die elektromagnetische Umwelt des sich entwickelnden Hühnerembryos Einfluss auf die spätere Reaktion des Hirngewebes des geschlüpften Kükens hinsichtlich der Frequenz- und Intensitätsfenster hat. Die Eier wurde einem elektrischen Feld von 10 V/m bei 50 und 60 Hz während der gesamten 21-tägigen Inkubationsdauer exponiert und danach das Hirngewebe des geschlüpften Kükens auf Veränderungen der Kalzium-Ionen Aktivität untersucht. Diese Untersuchungen zeigten eine veränderte Reaktion des Hirngewebes aufgrund der vorausgehenden Exposition der Eier (Blackman et al. 1988).

Auch andere biologische Systeme zeigten ebenfalls nicht-lineare Kalzium-Ionen Aktivität als Funktion von Frequenz und Intensität. Schwartz et al. (1990) fanden eine erhöhte Kalzium-Ionen Freisetzung von präparierten schlagenden Froschherzen nur innerhalb zweier Intensitätsbereiche getrennt von Bereichen ohne Effekt bei Exposition mit 240 MHz (moduliert mit 16 Hz) Feldern. Weiters fanden Dutta et al. (1984, 1987, 1992) nicht-lineare Änderungen der Kalzium-Ionen Aktivität bei menschlichen Neuroblastom Zelllinien exponiert mit ELF Feldern. Die nicht-lineare Natur der Reaktion auf EMF Exposition wurde demnach in mehreren biologischen Systemen beobachtet und kann als gut gesichert gelten.

Diskussion

Die Untersuchung von durch EMF induzierten Änderungen des Kalziumhaushalts wurde durch eine Publikation aus dem Jahr 1968 initiiert, die ELF-induzierte Änderungen der Reaktionszeit bei Versuchspersonen beschrieb (Harner, 1968). Nachfolgende Arbeiten dieser Forschergruppe mit Affen zeigten ähnliche Änderungen im EEG und der Reaktionszeit, wie sie bei Versuchspersonen beobachtet worden waren. Diese Arbeiten führten zu Studien über EEG-Veränderungen bei Katzen und Studien der Neurotransmitter- und Kalzium-Ausschüttung (eine Übersicht dieser Experimente findet sich in Blackman, 1999). In der Folge gaben diese Untersuchungen Anlass zu den oben berichteten Experimenten an Hühnerhirnpräparaten und darüber hinaus zu Untersuchungen menschlichen Gehirngewebes und innervierter Herzmuskeln. Schließlich wurde ein theoretischen Modell, das 1976 vorgeschlagen wurde, kürzlich revidiert und in reformulierter Form auf das Phänomen der Fenstereffekte angewandt (Thompson et al. 2000, im Druck). Dieses Modell sagt 29 von 30 experimentellen Resultaten der Untersuchungen zu AM-RFR mit nur einem angepassten Modellparameter korrekt voraus, ein sehr bedeutsames Ergebnis. Es ergibt sich also eine Kette von Befunden ausgehend von Verhaltensänderungen beim Menschen, über geänderte hirnelektrische Vorgänge und biochemische Veränderungen, die mit hirnelektrischen Änderungen zusammenhängen, bis hin zu theoretischen Modellen der EMF-induzierten Änderungen der Kalzium-Ionen Aktivität. Dieser Forschungszusammenhang repräsentiert einen wesentlichen Beitrag, der eine Verbindung von Verhaltenseffekten infolge der EMF Exposition zu Erklärungen des Wirkungsmechanismus herstellt.

Mehrere unabhängige Laboratorien haben das nicht-lineare Verhalten der Kalzium-Ionen Aktivität in Gewebeproben des Nervensystems und in anderen Geweben beobachtet. Das Phänomen kann nicht auf eine thermische Belastung durch die EMF Exposition zurückgeführt werden. Die Resultate dieser Untersuchungen wurden von vielen Organisationen, die derzeit Expositionsgrenzwerte zum Schutz der Gesundheit entwickeln, weder angemessen bewertet noch berücksichtigt.

Die Vernachlässigung dieses umfangreichen, zusammenhängenden experimentellen und theoretischen Materials durch die meisten Gruppierungen, die Expositionsgrenzwerte setzen, muss neu bewertet werden. Diese Neubewertung ist insbesondere durch neue Laboruntersuchungen zu begründen, die Änderungen der Reaktionszeit durch Expositionen mit Mobilfunksignalen aufzeigten. Sind diese Ergebnisse in irgendeiner Weise jenen Resultaten ähnlich, die schon in den späten 60er und frühen 70er Jahren bei Menschen und Affen beobachtet worden waren?

Die hier präsentierten Daten über EMF-induzierte Veränderungen der Kalzium-Ionen Aktivität und die damit zusammenhängenden biologischen Untersuchungen unterstreichen die Bedeutung eines Wechsels von dem traditionell technikzentrierten zu einem biologischen (gesundheitlich orientierten) Zugang. In der Vergangenheit führte die Dominanz des technikzentrierten Ansatzes zu einer Koordinierung in der Forschung über nieder- und hochfrequente EMF, welche den Informationsgewinn

behinderte, der andernfalls eine bedeutende Unterstützung für weitergehende Untersuchungen dargestellt hätte.

Danksagung

Ich danke den Reviewern, Elder, Richard, Kundi und Rogers, für hilfreiche Kommentare während der Verfassung dieses Artikels. Die Forschung und Bewertung, die in diesem Artikel vorgetragen wird, wurde vom National Health und Environmental Effects Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency revidiert und zur Publikation freigegeben. Diese Freigabe bedeutet jedoch nicht notwendig, dass der Inhalt die Ansicht und die Politik der EPA widerspiegelt, noch bedeutet die Nennung von Handelsnamen oder kommerziellen Produkten eine Genehmigung oder Empfehlung für deren Verwendung.

References

- Adey, W.R., 1992, Collective properties of cell membranes. In Norden B, Ramel C (eds): "Interaction Mechanisms of Low-Level Electromagnetic Fields in Living Systems." Oxford: Oxford University Press, pp 47-77.
- Blackman, C.F., 1985, The biological influences of low-frequency sinusoidal electromagnetic signals alone and superimposed on RF carrier waves, in: Interaction between Electromagnetic Fields and Cells, (A. Chiabrera, C. Nicolini, and H. P. Schwan, eds), NATO ASI Series A97, Plenum, New York, pp. 521-535.
- Blackman, C.F., House, D.E., Benane, S.G., Joines, W.T., and Spiegel, R.J., 1988, Effect of ambient levels of power-line-frequency electric fields on a developing vertebrate. *Bioelectromagnetics* 9(2):129-140.
- Blackman, C.F., 1992, Calcium release from neural tissue: experimental results and possible mechanisms. In Norden B, Ramel C (eds): "Interaction Mechanisms of Low-Level Electromagnetic Fields in Living Systems." Oxford: Oxford University Press, pp. 107-129.
- Blackman, C.F., 1999, Biologically active EMF exposure parameters. Proceedings of the Workshop on possible biological and health effects of RF electromagnetic fields, University of Vienna, October 25-28, 1998, Vienna, Austria.
- Dutta, S.K., Subramoniam, A., Ghosh, B., and Parshad, R., 1984, Microwave radiation-induced calcium ion efflux from human neuroblastoma cells in culture, *Bioelectromagnetics* 5:71-78.
- Dutta, S.K., Ghosh, B., and Blackman, C.F., 1989, Radiofrequency radiation-induced calcium-ion-efflux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture, *Bioelectromagnetics* 10(2): 197-202.
- Dutta, S.K., Das, K., Ghosh, B., and Blackman, C.F., 1992, Dose dependence of acetylcholinesterase activity in neuroblastoma cells exposed to modulated radio-frequency electromagnetic radiation, *Bioelectromagnetics*, 13: 317-322.
- Grodsky, I.T., 1976, Neuronal membrane: a physical synthesis, *Mathematical Biosciences* 28:191-219.
- Hamer, J., 1968, Effects of low level, low frequency electric fields on human reaction time, *Commun. Behav. Biol.* 2(5) Part A:217-222.
- Kaczmarek, L.K., and Adey, W.R., 1973, The efflux of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ and $[\text{}^3\text{H}]\text{gamma-aminobutyric acid}$ from cat cerebral cortex, *Brain Res.* 63: 331-342.
- Kaczmarek, L.K., and Adey, W.R., 1974, Weak electric gradients change ionic and transmitter fluxes in cortex, *Brain Res.* 66:537-540.
- Liboff, A.R., 1985, Cyclotron resonance in membrane transport, in: Interaction between Electromagnetic Fields and Cells, (A. Chiabrera, C. Nicolini, H. P. Schwan, eds), NATO ASI Series A97, Plenum, New York, pp. 281-296.

- Schwartz, J.-L., House, D.E., and Mealing, G.A.R., 1990, Exposure of frog hearts to CW or amplitude-modulated VHF fields: selective efflux of calcium ions at 16 Hz, *Bioelectromagnetics* 11:349-358.
- Thompson, C.J., Yang, Y.S., Anderson, V., and Wood, A.W., 1998, A cooperative model for Ca^{++} -efflux from cells exposed to EMF, Abstract A-8-5, Twentieth Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, June 7-11, St. Petersburg, FL.

Abb. 1 Kalzium-Ionen Aktivität in Hühnerhirnpräparaten als Funktion der Intensität des 16 Hz Magnetfelds. Zwischen 28 und 32 Proben wurden pro Intensität verwendet, um die Werte nach Exposition und Scheinexposition zu erhalten. Es gibt zwei gut definierte Intensitätsbereiche, die statistisch signifikante Unterschiede der Kalzium-Ionen Aktivität ergaben. (Anm: 1 mG rms = 0,1 µT rms)

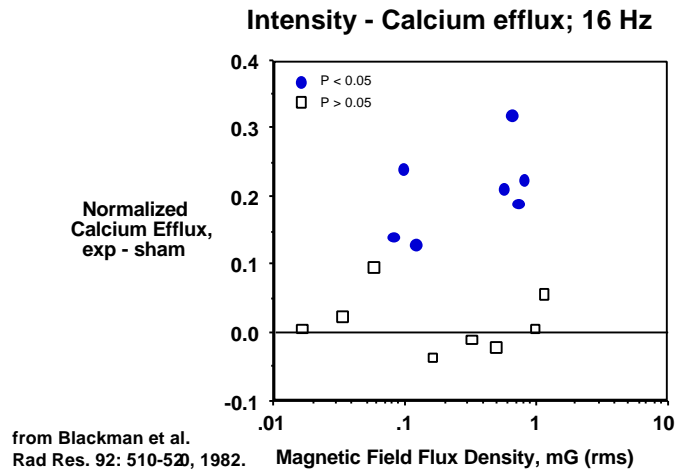


Abb. 2 Reaktion von Hühnerhirngewebe auf ein 50 MHz radiofrequentes EMF amplitudenmoduliert bei 16 Hz. Log P ist der Logarithmus der Wahrscheinlichkeit, dass die exponierten und scheinexponierten Proben aus der selben Population stammen, als Funktion der AM-RFR Intensität. Stammen die Proben nicht aus derselben Population, dann ist die Wahrscheinlichkeit klein (und daher die log-Wahrscheinlichkeit stärker negativ) und deutet eine Effektregion an. Zwischen 28 und 32 Proben wurden pro Intensität für Expositions- und Scheinexpositionsbedingung verwendet. Schwarze und gestreifte Balken zeigen einen auf dem 5%-Niveau signifikanten Effekt an, weiße und graue einen nicht signifikanten. Das Verhältnis der Differenzen zwischen benachbarten Flussdichten, die maximale Effekte erbrachten (a/b, b/c, c/d) sind alle gleich 1,38. Diese Beobachtung wurde damals nicht gründlich verstanden, aber sie scheint mit dem Modell von Thompson et al. (1998) erklärbar. (Anm. 1 mW/cm² = 10 W/m²)

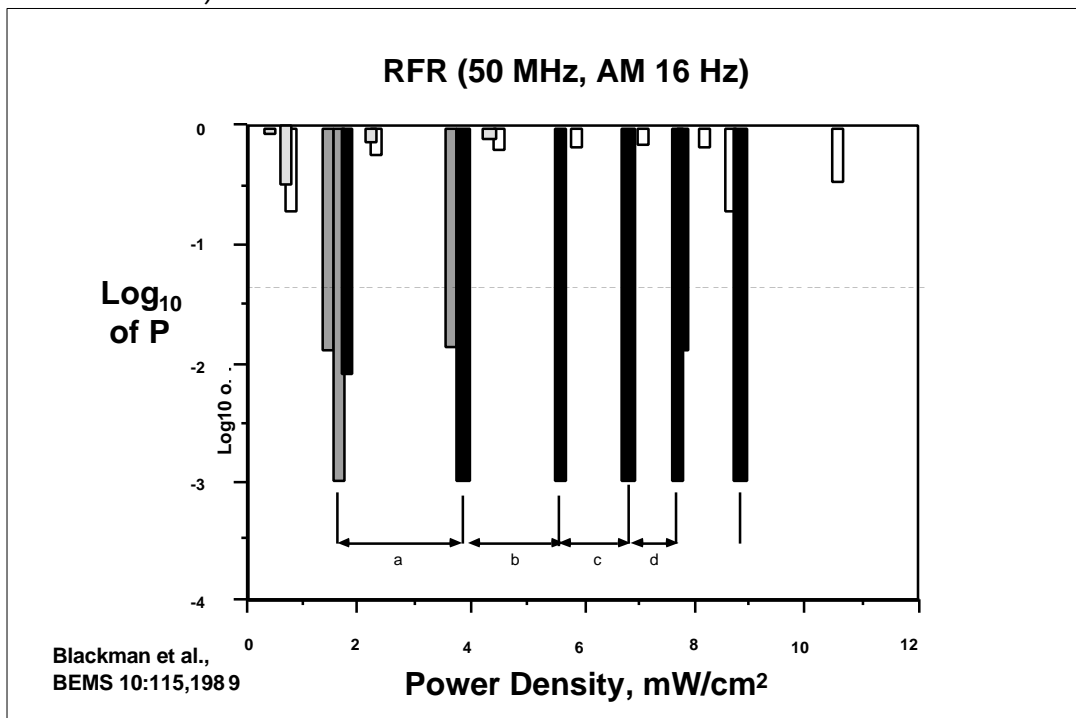


Abb. 3 Reaktion von Hühnerhirngewebe auf verschiedene niederfrequente Exposition von 1 bis 510 Hz bei einer konstanten Feldstärke von 0,69 mG (= 0,069 μ T rms). Zwischen 28 und 32 Proben wurden pro Frequenz verwendet, um die Werte nach Exposition und Scheinexposition zu erhalten. Gefüllte Kreise zeigen statistisch signifikante Änderungen der Kalzium-Ionen Aktivität bei den exponierten im Vergleich mit den scheinexponierten Proben an ($p < 0,05$).

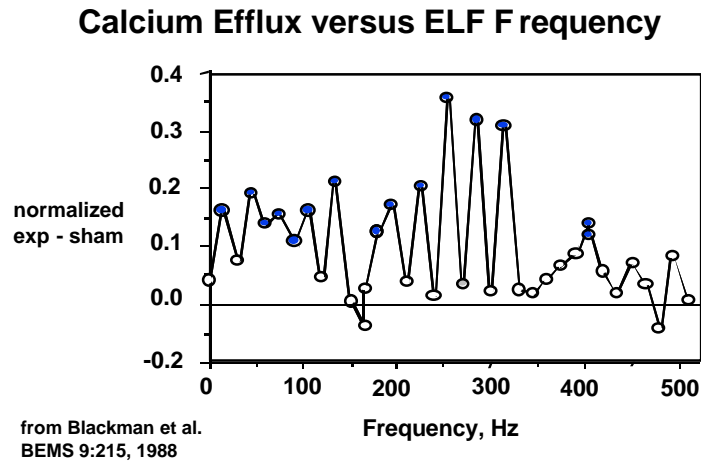


Abb. 4 Einfluss eines statischen Magnetfelds auf ELF Felder, die statistisch signifikante Unterschiede der Kalzium-Ionen Aktivität in Hühnerhirnpräparaten erbrachten. Zwischen 28 und 32 Proben wurden pro Datenpunkt verwendet, um die Werte nach Exposition und Scheinexposition zu erhalten. Die durchbrochene vertikale Linie bei 380 mG (38 μ T) zeigt das äußere statischen Magnetfeld an. Frequenzeffekte traten bei 15 und 45 Hz (dunkle Symbole) aber nicht bei 30 Hz (offene Symbole). Eine Änderung des statischen Magnetfelds bewirkte einen Effekt bei 30 Hz und ein Verschwinden des Effekts bei 15 Hz.

