

Genotoxische Effekte durch hochfrequente elektromagnetische Felder

Gutachter:

Dr. R. Gminski

Dr. Dr. K. Schlatterer

Dr. R. G. Fitzner

Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie

Direktor: Prof. Dr. R. Tauber

Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin (CBF)

Hindenburgdamm 30, D – 12200 Berlin, Germany

Priv. Doz. Dr. Myrtill Simkó

Universität Rostock

Fachbereich Biowissenschaften

Institut für Zellbiologie und Biosystemtechnik

Arbeitsgruppe Umweltphysiologie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Ziel des Gutachtens	A-5
2	Auswahl und Evaluierung der Studien	A-6
3	Darstellung und Gruppierung der Studien	A-10
4	Gesamtbewertung für das Themenfeld	A-10
5	Literaturverzeichnis	A-17
6	Tabelle 1: Übersicht zu den berücksichtigten Studien	A-20

1 Einleitung und Ziel des Gutachtens

Umweltbedingte elektromagnetische Felder (EMF), die durch das Stromnetz, durch Überlandleitungen und zunehmend durch die Betreibung von Mobilfunk auftreten, werden mit Krebserkrankungen, wie Leukämie bei Kindern und anderen Krebsarten, in Zusammenhang gebracht. Zahlreiche in den letzten Jahren durchgeführte epidemiologische Studien deuten auf diesen Zusammenhang hin. Einige Autoren bemängeln jedoch die Qualität und die Vergleichbarkeit dieser Studien und sehen keine Korrelation zwischen EMF und Krebserkrankungen. Diese Kontroverse löste eine heftige öffentliche Diskussion aus, da unter Wissenschaftlern unterschiedliche Meinungen bezüglich der möglichen Gesundheitsrisiken elektromagnetischer Felder bestehen.

Da die Wirkmechanismen der bereits beschriebenen Effekte von EMF auf zelluläre Systeme unbekannt sind, ist eine kausale Interpretation dieser Befunde und die biologische Risikobewertung kaum möglich. Übereinstimmung besteht jedoch dahingehend, dass hohe Expositionen von elektromagnetischen Feldern mit biologischem Material in Wechselwirkung treten und dadurch biologische Effekte induzieren. Die Dosis-Wirkungsbeziehungen lassen bislang keine eindeutigen Aussagen zu, ob die Intensität des Feldes oder die Dosis (Intensität \times Zeit) der auslösende Faktor für diese Effekte ist. Obgleich in den letzten Jahren eine zunehmende Anzahl von Publikationen zur Wirkung elektromagnetischer Felder erschienen ist, besteht die dringende Notwendigkeit, die Wirkmechanismen genauer zu erforschen.

Es wird im Allgemeinen angenommen, dass den beobachteten zellulären Effekten eine Vielzahl verschiedener Primärreaktionen zugrunde liegt. Die Frage, ob EMF neoplastische Veränderungen verursachen können, die letztlich zur kanzerogenen Entartung führen, ist deshalb von besonderem Interesse.

Die weltweite Zunahme der Mobilfunk-Nutzer (im Jahr 2003 bis 700 Mio.) und die damit verbundene Zunahme der Elektromagnetfeld-Immission führt wegen der diskutierten möglichen gesundheitlichen Schädigungen zu wachsender Besorgnis in der Bevölkerung. Diese Besorgnis wächst auch wegen der widersprüchlichen Ergebnisse der durchgeführten Studien, die oft mit fehlenden oder ungenauen Kontrollen durchgeführt wurden oder auch mit Messungenauigkeiten behaftet sind.

Bei hohen Leistungsdichten werden in biologischen Systemen thermische Effekte induziert. Die Basisgröße für thermische Wirkungen ist die spezifische Absorptionsrate (SAR), angegeben in W/kg, bei der biologische Wirkungen aufgrund von Wärmeentwicklung auftreten. Eine SAR von 1 bis 4 W/kg führt bei Menschen nach 30 min zu einer Temperaturerhöhung um etwa 1°C, gemittelt im Ganzkörper. Zum Schutz der Bevölkerung wurde ein SAR-Grenzwert von 80 mW/kg festgesetzt (ICNIRP). Die Frage, ob niedrigere Leistungsdichten von hochfrequenten EMF (RF-EMF), die nicht zu einer messbaren Erwärmung von Geweben führen, athermische Wirkungen hervorrufen können, ist immer noch offen.

Die Energie nicht-ionisierender Strahlung wie die von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern ist zu gering (Energien <12 eV), um Moleküle wie z.B. die DNA durch Spaltung von Atombindung zu schädigen. Technisch erzeugte RF-EMF sind meist streng periodisch und unterscheiden sich dadurch vom thermischen Rauschen. Wechselwirkungen mit biologischen Systemen sind dann zu erwarten, wenn die Pe-

riodizität des Feldes mit charakteristischen Zeitstrukturen des biologischen Systems übereinstimmt. Hochfrequente Felder wirken im atomaren und molekularen Maßstab. Resonanzen können bei Protein-Dipolmolekülen oder bei oszillierenden Ladungsverteilungen im Bereich von 1 kHz -1 MHz auftreten. Diese können dann zur Störung des genetischen Apparates der Zellen führen, wie z.B. die Beeinträchtigung der zell-eigenen Reparaturmechanismen, welche kontinuierlich immer wieder auftretende spontane Mutationen reparieren.

Trotz der Vielzahl der Untersuchungen, die sich mit der Frage der Induktion genetischer Schädigung durch RF-EMF beschäftigen, ergibt sich bis zum Jahr 1999 kein einheitliches Bild. Einigen Studien, die eine Korrelation zwischen genetischen Schädigungen und RF-EMF beschrieben, stehen andere gegenüber, die keine genotoxischen Effekte ermitteln konnten. Manche Studien haben das Defizit, ungenügend standardisierte und kontrollierte Expositionsbedingungen anzuwenden, wobei z.B. teilweise Temperatureinflüsse nicht auszuschließen sind. In der wissenschaftlichen Fachwelt wird daher übereinstimmend ein hoher Klärungsbedarf durch Forschung gesehen, um kausale Zusammenhänge und mögliche Wirkmechanismen zu erkennen.

Ziel des vorliegenden Gutachtens ist es, die wissenschaftlichen Untersuchungen zur Genotoxizität aus den Jahren 2000 bis 2004 aufzuführen und die herauszufiltern, die zur Bewertung möglicher Gesundheitsrisiken durch hochfrequente elektromagnetische Felder, wie sie im Mobilfunk verwandt werden, besonders beachtenswert sind. Dabei wurde die Zellproliferation als zusätzlicher Parameter berücksichtigt.

Folgende Fragestellungen sind hier von Bedeutung:

- Wie sind die Studien unter Berücksichtigung standardisierter technischer Versuchskonzeptionen und biomedizinischer Nachweismethoden zu bewerten?
- Welche Relevanz haben die Untersuchungsergebnisse für die Gesundheit des Menschen?

2 Auswahl und Evaluierung der Studien

2.1 Literaturerfassung

Für das Gutachten wurde zusätzlich zur Auswertung der im „PubMed“ (Artikeldatenbank der US-Bibliothek für Medizin, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) erhältlichen Literatur auch in weiteren Datenbanken recherchiert:

1. Literaturdatenbank des Forschungszentrums für elektro-magnetische Umweltverträglichkeit (WBLDB)
http://wbldb.femu.rwth-aachen.de/db_status.php3?l=g
2. Datenbanken der WHO (WHO und IEEE)
<http://www10.who.int/peh-emf/emfstudies/database.cfm>
<http://www10.who.int/peh-emf/emfstudies/IEEEdatabase.cfm>
3. The Wireless Information Resource Centre (WIRC)
<http://www.wirc.org/bibliography/index.shtml>
4. Electric Words
<http://www.electric-words.com/cell/sindex.html>

Die Grundrecherche wurde im Mai 2004 abgeschlossen. Berücksichtigt werden nur wissenschaftliche Veröffentlichungen aus „peer-reviewed Journals“, die sich mit der

Genotoxizität und der Störung des Zellwachstums in tierischen und menschlichen Zellen durch hochfrequente elektromagnetische Felder beschäftigen. Weiterhin wurden Angaben zur technischen Beschreibung der Exposition und der applizierten Dosis besonders berücksichtigt. Bewertungen aus Review-Artikeln wurden nicht vorgenommen.

2.2 Bewertungskriterien

Das Ziel des vorliegenden Gutachtens besteht darin, die wissenschaftlichen Studien aus den Jahren 2000 bis 2004 zu erfassen und die herauszufiltern, die zur Bewertung möglicher Gesundheitsrisiken elektromagnetischer Immissionen durch den Mobilfunk bevorzugt geeignet sind (siehe Tabelle 1). Unverzichtbare Voraussetzung für die Aufnahme von wissenschaftlichen Studien in die Bewertung ist ihre Veröffentlichung in einer begutachteten wissenschaftlichen Fachzeitschrift und ihre Zitierung in den oben aufgeführten Literaturdatenbanken oder analog die Zusammenfassung und Akzeptanz in einem europäischen Verbundprojekt (EU Projekt).

Die folgenden Kriterien wurden für die Bewertung der Studien aufgestellt:

1. Das biologische System
 - 1.1. Untersuchungsobjekt (Zellsystem und Kultivierungsbedingungen)
 - 1.2. Untersuchte biologische Endpunkte
 - 1.3. Untersuchungsmethode (Versuchsablauf, verwendete Verfahren)
 - 1.4. Ergebnisse und Statistik
2. Exposition und applizierte Dosis
 - 2.1. Trägerfrequenz bzw. -frequenzbereich
 - 2.2. Modulationsart
 - 2.3. Modulationsfrequenz- und Frequenzbereich
 - 2.4. Spezifische Absorptionsrate (SAR)
 - 2.5. Elektrische Feldstärke
 - 2.6. Dauer der Exposition
 - 2.7. weitere Expositionsparameter (z.B. Temperatur)
 - 2.8. Expositionsquelle bzw. Expositionsumgebung (z.B. Antenne mit freier Abstrahlung, Transmission-Line)
3. Exakte Dokumentation der Untersuchungsbedingungen (Nachvollziehbarkeit)
4. Eignung des verwendeten Modells (im Hinblick auf die Aussagen über die Wirkung beim Menschen)
5. Bezug zu anderen Untersuchungen (Repetitionsexperimente)
6. Bedeutung (Hauptaussage der Untersuchungsergebnisse, Bedeutung für die Bewertung von Gesundheitsrisiken für den Menschen)

Die Risikoanalyse ist nicht nur auf die verwendeten Frequenzen und Modulationen beschränkt, die originär beim Mobilfunk Einsatz finden, sondern auch auf Studien, die mit anderen Trägerfrequenzen (100 MHz bis 10 GHz) gearbeitet haben, ausgedehnt. Bei Experimenten auf zellulärer Ebene werden immer wieder Effekte beschrieben, die insbesondere bei bestimmten Modulationen auftreten oder hier besonders ausgeprägt sind. Es ist jedoch zurzeit nicht möglich zu entscheiden, ob die

Mehrzahl der dokumentierten Effekte auf die hochfrequente Trägerwelle oder auf ihre Modulation zurückzuführen sind. Deshalb wurden die verwendeten Modulationsformen erfasst und berücksichtigt. Vor dem Hintergrund der Natur und der Bedeutung thermischer Effekte, wurde auch bei spezifischen Absorptionsraten auf die Festlegung einer festen Ausschlussgrenze verzichtet. Nicht berücksichtigt wurden Studien, bei denen die RF-EMF-Exposition zu einem erheblichen Anstieg der Temperatur ($>1^{\circ}\text{C}$) während der Exposition der Zellen führt. Trotzdem lässt sich nicht exakt feststellen, ob die als „nicht-thermisch“ bezeichneten Effekte in Wahrheit geringfügige thermische Effekte sein könnten, die zu den normalen physiologischen Reaktionen auf minimale diathermische Erwärmung gehören. Somit wird offenbar, dass die gezielte Auswahl der Expositionseinrichtung entscheidend die Qualität der Ergebnisse beeinflussen kann. Genauso bedeutsam sind eine exakte Dosimetrie und Temperaturkontrolle für die Qualität der Messergebnisse. Die Dokumentation der SAR-Werte und ihre Verteilung, Abweichungen von den SAR-Werten sowie die Änderung der Temperatur sind wünschenswert, aber werden nicht immer eingehalten. So konnte ein Teil der Untersuchungen keine homogene HF-Feldverteilung garantieren. Daraus ist zu folgern, dass der technische und methodische Anteil von RF-EMF-Experimenten transparent und in hohem Maße standardisiert sowie qualitätskontrolliert sein muss.

Die Zytogenetik stellt eine Reihe von Methoden zur Verfügung, die einen detaillierten Einblick in die Zellfunktionen von den globalen Vorgängen der Zellreifung und -teilung bis hin zu einzelnen genetischen Ereignissen ermöglichen. Auf zellulärer Ebene sind zum einen unmittelbare Einwirkungen des nicht modulierten hochfrequenten elektromagnetischen Feldes auf die Erbsubstanz denkbar, die sich bei Versagen der zelleigenen Reparaturmechanismen als Mutationen manifestieren können und somit Primärreaktionen auslösen. Der Einfluss auf physiologische Parameter hingegen wird auf die niederfrequente Modulation der HF-Felder zurückgeführt und als Sekundärreaktion bezeichnet. Die Sekundärreaktionen hängen u.a. von der Modulationsart und -tiefe ab. Die Pulsmodulation scheint physiologisch besonders wirksam zu sein. Solche Sekundärreaktionen können dann möglicherweise in zelluläre Prozesse eingreifen, wie z.B. Einflüsse auf die Zellmembran, auf die intrazellulären Signal-Übertragungsprozesse und nicht zuletzt Veränderungen im Zellzyklus sind denkbar. Störungen dieser Prozesse können wie direkte Schäden an der Erbsubstanz zu einer Veränderung der betroffenen Zellen, zu Störungen der interzellulären Kommunikation und zu einer veränderten Zellteilungsrate und damit zu einer verlangsamten oder - was im Hinblick auf einen potentiellen karzinogenen Effekt von Bedeutung ist - zu einer beschleunigten Zellteilung führen. Bei Erkrankungen wie Krebs, die ihren Beginn in der DNA-Schädigung nehmen, spielen diese Nachweismethoden eine wichtige Rolle in der Forschung. Dabei werden nachfolgend aufgeführte Veränderungen bzw. Schäden der Zelle vorrangig verfolgt: DNA-Strangbrüche, Schwesternchromatidaustausch, Chromosomenaberrationen und Induktionen von Mikrokernen sowie die Beschleunigung des Zellzyklus und der Proliferation. Die Kenngrößen des Zellzyklus und der Zellproliferation beschreiben die Funktion der Zelle auf einem hohen Integrationsgrad und können damit belegen, ob sich in der Summe von vielen, zum Teil gegenläufigen Faktoren, eine Einflussgröße dominant durchsetzt.

Deshalb wurden Studien besonders berücksichtigt, die neben den Untersuchungen zur Genotoxizität nach RF-EMF-Exposition sich auch mit Veränderungen des Zellzyklus und der Zellproliferation befassen.

In den ausgewerteten Studien wurden die zytogenetischen Effekte in vitro größtenteils mit folgenden Methoden nachgewiesen:

DNS-Einzelstrang- oder DNS-Doppelstrangbrüche mittels neutralem und alkalischem COMET Assay. Einzelstrangbrüche sind generell sehr häufig in Zellen und werden effektiv repariert. Hierbei wird der Bereich mit dem Einzelstrangbruch "herausgeschnitten" und die Lücke mit Informationen aus dem zweiten, unbeschädigten Strang wieder aufgefüllt. Ihre biologische Bedeutung ist daher umstritten, man geht davon aus, dass dieser Schaden weniger kritisch für die Zelle ist. Eine zu hohe Anzahl dieser Schäden kann aber zu einer Überlastung der Reparatursysteme führen und möglicherweise zu Mutationen. Diese Einzelstrangbrüche werden mit dem alkalischen COMET-Assay nachgewiesen. Daneben werden mit der alkalischen Version des COMET-Assays auch alkali-labile Stellen (ALS), DNA-DNA/DNA-protein cross-links sowie Reparaturprozesse festgestellt. Doppelstrangbrüche sind dagegen weit aus komplizierter zu reparieren. Sie werden mit dem neutralen COMET-Assay nachgewiesen. Aus klassischer Sicht werden nicht-reparierte Doppelstrangbrüche als kritischer Schaden angesehen, der z.B. zum Zelltod führt. Auch die Entstehung von Chromosomenaberrationen (klastogener Effekt) wird in Zusammenhang mit ihnen betrachtet.

Schwesterchromatidaustausch

Schwesterchromatidaustausch ist eine spezielle Variante einer Chromosomenmutation, zum Teil als Folge einer DNA-Reparatur. Der Austausch kommt zustande, wenn die beiden Hälften eines Chromosoms (die Schwesterchromatiden) so geschädigt werden, dass die DNA-Stränge aufbrechen und auf dem jeweils falschen "Arm" des Chromosoms wieder in den Strang eingefügt werden. Ein Chromosom besteht aus einem Desoxyribonukleinsäuredoppelstrang. Entlang dieser beiden komplementären Stränge wird bei der Zellteilung jeweils ein neuer Strang synthetisiert, so dass schließlich zwei identische Schwesterchromatiden aus Doppelsträngen entstehen. Zur Erkennung der Schwesterchromatiden ist es erforderlich, jeweils eines zu markieren. Das lässt sich durch den Einbau von Bromdesoxyuridin (BrdU) in die DNA während zwei aufeinanderfolgender Zellteilungen erreichen. Ein Schwesterchromatid erscheint dann dunkel und eines hell. Die zwei Chromatiden sind am Centromer miteinander verbunden. Es wird der Austausch zwischen den beiden Schwesterchromatiden erfasst.

Mikrokernbildung

Mikrokern (Micronuclei) entstehen, wenn die Chromosomenverteilung bei der Zellteilung nicht regulär abläuft. Chromosomenreste, die nicht in die entstehenden Zellkerne der zwei Tochterzellen integriert werden können, bilden dann oft einen mikroskopisch sichtbaren Mikrokern. Mikrokern können in Zellen durch schädliche Einwirkungen von mutagenen Substanzen entstehen, welche entweder Chromosomen brechen (klastogene Wirkung) oder den Spindelapparat in seiner Funktion stören. Die Anwesenheit von Micronuclei ist ein Indikator für Chromatid- bzw. Chromosomenfragmente, Schäden an der Spindel (Mitose) und das Auftreten von numerischen Chromosomenaberrationen. Ihr Auftreten kann als Nachweis von Schäden im gene-

tischen Apparat dienen, sodass sie routinemäßig als Indikatoren für genotoxische Einflüsse eingesetzt werden.

Chromosomenaberrationen

Chromosomenaberrationen sind teilweise lichtmikroskopisch sichtbare, strukturelle Veränderungen (Aberrationen) der Chromosomen wie Stückverluste, Verdopplungen, Verdrehungen oder Verschiebungen. Bei den Veränderungen an den Chromosomen unterscheidet man im Allgemeinen zwischen strukturellen und numerischen Chromosomenaberrationen (Chromosomenmutationen). Beide Fälle sind irreversibel. Numerische Chromosomenaberrationen führen zu einer Änderung in der Anzahl der Chromosomen eines Genoms. Eine Ursache hierfür ist eine Störung bei der Meiose, bei der sich zwei gepaarte Chromosomen nicht trennen und so, anstatt auf zwei Tochterzellen verteilt zu werden, beide in dieselbe Tochterzelle gelangen. Diese besitzt nun ein Chromosom zuviel (Trisomie), während die andere eines zu wenig aufweist (Monosomie). Bei einer strukturellen Chromosomenaberration kommt es zu Chromatidbrüchen, Chromosomenbrüchen, a- und dizentrischen Chromosomen. Chromosomenaberrationen werden bei ca. 25% aller Spontanaborte festgestellt, wobei diese Zahl noch weitaus höher sein dürfte, da ein großer Teil an Frühaborten unbemerkt abläuft.

Genmutation

Irreversible Veränderungen im Erbgut, die durch Verlust, Ergänzung oder Austausch von DNA-Bausteinen (Basen) zustande kommen. Geringe Genmutationen können zu Schäden im Organismus führen, müssen aber nicht. Eine geringe Mutationsrate kommt natürlicherweise in allen Lebewesen ständig vor und wird durch zelleigene Reparaturmechanismen korrigiert. Bleibt eine Mutation bestehen, kann es dadurch zu Krebserkrankungen kommen.

Zellproliferation

Unter Zellproliferation versteht man die Zellvermehrung, wobei die Zellproliferationsrate ein Maß für die Teilungsgeschwindigkeit der Zellen ist. Deren Veränderung kann als Indiz für eine schädliche Beeinflussung des Zellzyklus gelten, z.B. in Richtung einer Tumorentwicklung.

3 Darstellung und Gruppierung der Studien

In der Tabelle 1 sind die Studien aufgeführt, in denen genotoxische Einflüsse durch HF-Feldexposition untersucht wurden. Dabei erfolgte eine Aufgliederung der Studien, die als biologisches Material humane Zellen (Gruppen 1 + 2) oder tierische Zellen (Gruppe 3) verwendet haben. Weiterhin wurden die Studien nach Angaben zur Zellproliferation sortiert (Gruppen 1 mit, Gruppe 2 ohne Angaben zur Zellproliferation) und nach der Anzahl und Komplexität der verwendeten zytogenetischen Endpunkte (Rangfolge: COMET < SCE < MN < Chromosomenaberration).

4 Gesamtbewertung für das Themenfeld

4.1 Gruppe 1

Studien zur Genotoxizität nach RF-EMF-Exposition an menschlichen Zellen unter der Kontrolle der Zellproliferation bzw. des apoptotischen Vorganges wurden in der Gruppe 1 aufgelistet. Der Vergleich der vorliegenden Daten dieser Gruppe ist jedoch nicht trivial, da unterschiedliche Expositionssignale und SAR-Werte, sowie unter-

schiedliche Zellsysteme und Expositionszeiten verwendet wurden, so dass eine Gesamtbetrachtung der in der Gruppe 1 vorliegenden Studien schwierig ist. Betrachtet man die Ergebnisse im Allgemeinen, dann kann die Bewertung der vorliegenden Daten so zusammengefasst werden, dass von den 9 durchgeführten Studien in drei Studien genotoxische Veränderungen nachgewiesen wurden. Dabei ist anzumerken, dass von diesen Studien in zwei Studien Effekte nur unter besonderen Expositionsbedingungen (phasenmoduliertes Signal bzw. hohe SAR-Werte und lange Expositionszeiten) erzielt wurden.

D'Ambrosio et al. (2002) untersuchten mögliche zytogenetische Schäden nach Einwirkung von Mikrowellen auf humane Lymphozyten. Die Zellen wurden mit Mikrowellen, der Frequenz 1748 MHz, ohne Modulation oder mit Phasenmodulation (GSMK) befeldet. Neben einer Kontrolle ohne Feld wurden die Lymphozyten für 15 Min. einer maximalen SAR von 5 W/kg ausgesetzt. Die statistische Bewertung der Ergebnisse führte zu keiner Erhöhung der Mikrokern-Häufigkeit nach Exposition mit Mikrowellen ohne Modulation im Vergleich zur Kontrolle ohne Feld. Für die Exposition der humanen Lymphozyten mit GSMK-Mikrowellen (Amplitudenmodulation) resultiert dagegen eine statistisch signifikante Erhöhung in der Mikrokern-Häufigkeit (um 35%). Eine signifikante Veränderung der Teilungsrate der Lymphozyten konnte in keinem Fall beobachtet werden. Die Autoren leiten aus dem Ergebnis eine mögliche genotoxische Wirkung der GSMK-Felder ab. Neben dieser Arbeit mit positivem Befund gibt es eine weitere Arbeit, die ein positives Ergebnis zeigt.

Tice et al. (2002) untersuchten den Einfluss mehrerer Feldkonfigurationen bei den Frequenzen 837 MHz und 1909,8 MHz auf Vollblutkulturen. Dabei wurden die 837 MHz mit 12,5 kHz sinusförmig moduliert oder puls förmig mit 217 Hz (TDMA und CDMA) und bei 1909,8 MHz 217 Hz puls förmig GSM moduliert. Die Expositionsdauer betrug jeweils 3 und 24 h bei SAR-Werten von 1, 2,5, 5 und 10 W/kg. In der umfangreichen Studie wurden positive Befunde nur nach extremer Belastung (24 h Exposition, SAR 10 W/kg) und nur für den Parameter Mikrokernbildung gefunden. Bei dieser extremen Belastung kommt es zu einer durchschnittlich vierfachen Erhöhung der Anzahl der Mikrokerne im Vergleich zur Kontrolle. Bei einem SAR-Wert von 5 W/kg während 24 h konnte eine signifikante Erhöhung nur bei Feldern analoger und digitaler TDMA-Technologie gemessen werden. Als Ursache schließen die Autoren, trotz guter thermischer Kontrolle, lokale thermische Effekte nicht aus. Weiterhin konnten für den Replikationsindex (RI), als Marker der Beeinflussung von Zellteilung, keine Unterschiede zwischen RF-EMF-befeldeten Zellen und Sham-Kontrolle beobachtet werden.

Ein internationales Forscherteam hat in der so genannten **Reflex-Studie 2004** (Risk evaluation of potential environmental hazards from low-energy electromagnetic field (EMF) exposure using sensitive in vitro methods, supported by EU, 5th Framework Programme)¹ in Laborversuchen Hinweise dafür gefunden, dass RF-EMF das menschliche Erbgut schädigen können. Hochfrequente Felder zeigten genschädigende Einflüsse in Fibroblasten, HL-60 Zellen, Granulosazellen von Ratten und neuronalen Progenitorzellen, die aus embryonalen Stammzellen von Ratten gewonnen wurden. Die verschiedenen Zellen reagierten auf Hochfrequenzexpositionen von 1800 MHz mit DNA-Strangbrüchen (Einfach- und Doppelstrangbrüche) sowie einer

¹ http://www.itis.ethz.ch/downloads/REFLEX_Final%20Report_171104.pdf

Erhöhung der Mikrokernfrequenz im SAR-Bereich zwischen 0,3 - 2 W/kg auf unterschiedliche Weise. Auch chromosomale Abberationen in Fibroblasten wurden nach einer Hochfrequenz-Exposition beobachtet. In HL-60 Zellen konnte die Zunahme einer intrazellulären Erzeugung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) während einer Hochfrequenzexposition durchflußzytometrisch gezeigt werden. Die Autoren diskutieren, dass die DNA-Brüche durch die Bildung von freien Radikalen induziert werden (Fitzner et al. 2004). Dies wird auch durch den Nachweis der Blockierung des DNA-Schadens durch Vitamin C (Ascorbinsäure), einem bekannten Radikalfänger, erhärtet. Bei den untersuchten Zellsystemen konnten keine Einflüsse von Hochfrequenzexposition auf Zellzyklus, Zellproliferation und Zelltod gefunden werden. Allerdings wurden die Versuche der REFLEX-Forschergruppe bislang nicht von anderen Forschergruppen reproduziert und nur an Zelllinien durchgeführt. Den eben dargestellten Untersuchungen mit positiven Befunden steht eine überwiegende Anzahl von Publikationen gegenüber, die keinen Einfluss von RF-EMF auf zytogenetische Messgrößen bzw. Zellproliferation in Blutzellen oder anderen Zellen nachweisen konnten. In Gruppe 1 sind für den Zeitraum 2000 bis 2004 hierzu sechs Arbeiten aufzuführen.

In 4 Studien (**Zeni et al. 2003; McNamee et al. 2003, Vijayalaxmi et al. 2001a, 2001b**) wurden humane Blutzellen auf genotoxische Effekte untersucht, wobei der Mikrokerntest, der Nachweis von Chromosomenaberrationen und der alkalische COMET-Assay angewandt wurden. Die Autoren haben unterschiedliche HF-Signale für die Exposition der Zellen appliziert, wobei die SAR-Werte in einem Bereich von 0,2-10 W/kg lagen. Die vier Autoren konnten keine signifikanten Veränderungen in Bezug auf die Induktion von genotoxischen Effekten nachweisen.

Zeni et al. (2003) legten für ihre Untersuchungen Lymphozytenkulturen von 20 gesunden Probanden an, um diese in einer TEM-Zelle unter Bedingungen zu befeldern, die denen während des Telefonierens mit einem Mobilfunk-Handgerät entspricht. Zum einen wurden die Zellen bei 900 MHz wechselweise 44 h lang alle 3 h für 6 Min. mit einem SAR-Wert von 1,6 W/kg befeldert (6 min/3 h Pause in 14 on/off Zyklen), in anderen Experimenten erfolgte die Befeldung mit einem SAR-Wert von nur 0,2 W/kg für 1 h pro Tag im Verlaufe von 3 Tagen. Außer unmodulierten Feldern wurden auch nach GSM gepulste 900 MHz-Felder verwendet. Bei der intensiveren Befeldung erfolgte ein rascher Temperaturanstieg der Proben um 0,6 °C, der in der Pause wieder abfiel. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl der Mikrokern- oder anderer Parameter des Zellzyklus (Proliferations-Index) ermittelt werden.

McNamee et al. (2003) untersuchten DNA-Schäden und Mikrokern- in menschlichen Blutzellkulturen nach Exposition mit 1900 MHz Mikrowellen ohne Modulation (CW) und gepulst (PW). Die Exposition der Zellen mit SAR-Werten von 0 bis 10 W/kg bei 37.0 ± 1.0 °C dauerte 24 h. DNA-Schäden wurden sofort nach der Befeldung mit dem alkalischen COMET-Assay untersucht. Es ließ sich kein Einfluss der Felder auf die DNA-Integrität nachweisen, ebenso wenig wie auf die Häufigkeit von Mikrokernen. Die applizierten Felder haben keine messbare Wirkung auf die menschlichen Blutzellen gezeigt.

In zwei Studien untersuchten **Vijayalaxmi et al. (2001a, 2001b)** den Einfluss von CDMA- und FDMA-modulierten Mikrowellen auf chromosomale Schäden und die Bildung von Mikrokernen in humanen Lymphozyten in vitro. Die SAR-Werte für das applizierte 847,74 MHz-Mobilfunkfeld (CDMA) liegen bei einer Leistungsdichte von 950

W/m² um 4,9 und 5,5 W/kg. Für das applizierte 835,62 MHz-Mobilfunkfeld (FDMA, CW) liegen die SAR-Werte bei einer Leistungsdichte von 860 W/m² um 4,4 und 5,0 W/kg. Neben den 24 h lang befeldeten Zellen und den Kontrollen werden als positive Kontrolle Blutzellen radioaktiv mit 1,5 Gy bestrahlt. Die Temperatur während der Exposition der Zellen betrug $37 \pm 0,3$ °C. Nach der Befeldung werden die scheinexponierten und befeldeten Lymphozyten bei 37°C weiterhin für 42 oder 72 h in einer Kulturlösung gehalten. Zytogenetische Schäden werden aus dem Auftreten von chromosomalen Aberrationen und der Anzahl der Mikrokerne bestimmt. Die Daten zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen exponierten Lymphozyten und der Kontrolle hinsichtlich Zellproliferation (Mitotischer Index), Häufigkeit der chromosomalen Aberrationen und Häufigkeit der Mikrokerne. Beide Studien lassen aus den Ergebnissen keinen Hinweis für eine genotoxische Wirkung der applizierten Mobilfunkfelder ableiten.

Humane lymphoblastoide Zellen (Molt-4) wurden in einer Studie (**Hook et al. 2004**) mit dem COMET-Assay untersucht. Als Expositionssignale werden vier verschiedene Frequenzen/Modulationen verwendet: 847.74 MHz (CDMA), 835,62 MHz (FDMA), 813,56 MHz (iDEN) und 835.62 MHz (TDMA). Expositionszeiten betragen bis zu 24 h und es wurden SAR-Werte zwischen 0,24 mW/kg bis 3,2 W/kg verwendet. Die Autoren fanden bis zu einem SAR-Wert von 3,2 W/kg keinen Einfluss (gepulster) hochfrequenter Felder. Weiterhin konnte keine Apoptoseinduktion mit dem Annexin V-Test nachgewiesen werden.

Interessanterweise setzten **Miyakoshi et al. 2002a** in einer Studie humane Gliomazellen (MO54) für die Untersuchung zur Auswirkung von 2,4 GHz (CW) und 1,5 GHz (PDC) ein. Hierbei wurden SAR-Werte bis zu 200 W/kg für 48 h appliziert und in allen untersuchten biologischen Endpunkten (Mikrokerntest, Chromosomenaberrationen, Schwesterchromatidaustausch, alkalischer COMET-Assay, Mutationen) zeigten sich keine Einwirkungen durch die HF-Signale (siehe auch Miyakoshi et al. 2002b).

4.2 Gruppe 2

Studien zur Genotoxizität nach RF-EMF-Exposition an menschlichen Zellen ohne Berücksichtigung eines Effektes auf die Zellproliferation bzw. der Apoptose wurden in der Gruppe 2 aufgelistet. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die hier zur Bewertung herangezogenen Studien höchst uneinheitliche Ergebnisse in Bezug auf Auslösung genotoxischer Effekte durch RF-EMF ergaben. In 11 durchgeführten Untersuchungen fanden sich bei 3 Studien Hinweise auf genotoxische Effekte. Wie bereits in Gruppe 1 ist ein Vergleich der Daten dadurch erschwert, dass unterschiedliche Expositionssignale und SAR-Werte, sowie unterschiedliche Zellsysteme und Expositionszeiten verwendet wurden. In 7 Untersuchungen zeigten sich in humanen Lymphozyten bzw. Leukozyten weder mit dem Mikrokerntest, dem COMET-Assay, noch in den Untersuchungen auf Chromosomenaberrationen und Schwesterchromatidaustausch genotoxische Effekte (**Vijayalaxmi et al. 2000, Miyakoshi et al. 2002b, McNamee et al. 2002 a und 2002b, Zhang et al. 2002, Maes et al. 2000, Maes et al. 2001**). Die Studie von **Zotti-Martelli et al. (2000)** wies für humane Lymphozyten eine Erhöhung der Mikrokernfrequenzen sowohl bei hoher elektrischer Feldstärke als auch bei verlängerter Expositionsdauer (30 und 60 Min.) nach. In humanen peripheren Blutlymphozyten beschrieben **Mashevich et al. (2003)** in vitro Effekte von RF-EMF auf die chromosomale Instabilität. Diese wird in Form von Chromosomenreplikation und Aneuploidie (Verlust von Chromosomen an menschlichen Lymphozyten)

gemessen. Die Zellen wurden in Kulturflaschen 72 h einem 830 MHz-Mikrowellenfeld ausgesetzt, der mittlere SAR-Wert lag je nach Versuch zwischen 1,6 und 8,8 W/kg. Die schein- und exponierten Proben wurden bei einer Temperatur zwischen 34 und 37,5 °C gehalten. Es zeigte sich dosisabhängig ein zunehmender Verlust des Chromosoms 17.

Weiterhin sind für humane Fibroblasten in unterschiedliche Interpretationsrichtungen weisende Ergebnisse beschrieben. Während **Rüdiger et al. 2003** an kultivierten humanen Fibroblasten DNA-Schädigungen detektierten, wurden keine chromosomalen Aberrationen in humanen Fibroblasten (WI-38) von einer koreanischen Arbeitsgruppe (**unknown**, WHO-Meeting on EMF Biological Effects, Seoul, Korea, 2001) gefunden.

4.3 Gruppe 3

In der Gruppe 3 wurden die Studien zusammengefasst, die genotoxische Wirkungen von HF-Feldern in tierischen Zellsystemen untersucht haben. Diese Gruppe ist daher als Ergänzung und nicht als Bestandteil des Gutachtens anzusehen.

Von insgesamt 5 durchgeführten Studien zur genotoxischen Wirkung hochfrequenter elektromagnetischer Felder in den Jahren 2000-2004, wurden 4 Untersuchungen an Mausfibroblasten C3H 10T1/2 (Lagroye et al. 2004; Li et al. 2001; Bisht et al. 2002; Park and Kim 2002) und eine Studie an Eierstockzellen des chinesischen Hamsters CHO-K1 (Koyama et al. 2003) durchgeführt. In allen Studien konnten keine genotoxischen Veränderungen nachgewiesen werden. Die Autoren hatten den alkalischen COMET-Assay (in 2 Studien) und den Mikrokerntest (in 2 Studien) sowie den Chromosomenaberrationstest und Transformationstest (in einer Studie) verwendet. Weiterhin wurden Nachweismethoden für Protein-DNA- und DNA-DNA-Crosslinks angewandt. Die zur Exposition der Zellen applizierten RF-Signale, SAR-Werte und Expositionszeiten sind mit denen in der Gruppe 1 aufgeführten Werten vergleichbar. Leider wurde in diesen Studien die Kontrolle der Zellproliferation nicht erwähnt, in einigen wurden jedoch Positivkontrollen mitgeführt.

4.4 Zusammenfassende Bewertung

Ziel des Gutachtens ist zu klären, ob die Exposition von Zellen in in-vitro-Experimenten mit der simulierten Anwendung der in der modernen drahtlosen Kommunikation verwendeten Hochfrequenzstrahlung auf „nicht-thermische“ Weise genetische und zytogenetische Anomalien induziert. Zur Bewertung wurden Studien aufgeführt, für die sowohl genotoxische Effekte als auch Auswirkungen auf die Zellvermehrung (Zellproliferation) beobachtet wurden. Als genotoxische Wirkungen wurden u.a. DNA-Strangbrüche, Schwesterchromatidaustausche, Mikrokernbildung und Chromosomen-Aberrationen untersucht. In den Ergebnissen der Gruppen 1 und 2 zeigten sich zum Teil kontroverse Daten. Ein Grund für die kontroverse Datenlage können Unterschiede in den verwendeten Zelltypen, der zytogenetischen Methoden sowie der Bedingungen und der Dauer der RF-EMF-Exposition (Frequenz, Modulation, SAR) sein. Weiterhin können auch mögliche methodische Artefakte von großer Bedeutung sein, die bei der Herstellung der mikroskopischen Präparate auftreten. Sie können zur Überschätzung oder Unterschätzung der durch RF-EMF induzierten, genetischen Effekte führen. Auf Grund der limitierten Anzahl der vorliegenden Untersuchungen, die in das Gutachten einbezogen werden konnten, ist eine endgültige Aussage über die genotoxische Wirkung hochfrequenter elektromagnetischer Felder kaum möglich. Es filtert sich jedoch heraus, dass wenn genotoxische Effekte durch

HF-Felder induziert werden können, diese in spezifischen Zelltypen aufzuspüren sind und vermutlich nicht in Zellen des peripheren Blutsystems. Weiterhin ergibt sich die Frage zu den Wirkmechanismen der eventuell auftretenden DNA-Schädigungen. Hierzu scheint als Ausgangsbasis für weitere Untersuchungen die Entstehung freier Radikale als ein möglicher Mechanismus zu liegen.

Die "Freie Radikal-Hypothese" basiert darauf, dass die Exposition von Zellen mit EMF die Bildung freier Radikale induziert. Dies wurde bereits von mehreren Autoren vorgeschlagen (Grundler et al. 1992, Lai and Singh 2004, Simkó and Mattsson 2004, Simkó 2004).

Für die freie Radikaltheorie durch RF-EMF-Einwirkung können zwei plausible Mechanismen diskutiert werden: Zum einen die erhöhte Produktion freier Radikale und damit zusammenhängend die Erhöhung möglicher DNA-Schädigungen, und zum anderen durch die Verminderung der Wirkung von Radikalfängern wie z.B. der Superoxid-Dismutase (SOD) oder Melatonin (Reiter 1994, 1995), die dann durch die Erhöhung der Bildung freier Radikale die genetische Schadensbildung vergrößert.

Die Untersuchungen an HL-60-Zellen (Reflex 2004) ergeben Hinweise auf die erhöhte Bildung von ROS (Fitzner et al. 2004) und deren Blockierung durch Vitamin C (Ascorbinsäure). Anstieg bzw. Abnahme von ROS korrelieren mit dem Ausmaß des genetischen Schadens. Auch Lai und Singh (2004) berichten darüber, dass die Verabreichung von Melatonin, N-tert-butyl-Phenylnitron, Trolox (ein Vitamin E-Analogon) sowie 7-Nitroindazol vor einer EMF-Exposition die Ausbildung von DNA-Brüchen blockiert. Bei allen Substanzen wie auch beim Vitamin C handelt es sich um bekannte Radikalfänger, was einen weiteren Hinweis auf die Beteiligung von freien Radikalen bei der Wirkung von EMF unterstützt. Welche der oben aufgeführten Mechanismen für RF-EMF letztendlich in Frage kommen könnten, müsste in weiteren Studien untersucht werden.

Die Abschätzung einer möglichen Einwirkung von RF-EMF auf das genetische Material menschlicher Zellen ist außerordentlich wichtig. Als Folge eines genetischen Schadens in somatischen Zellen kann entweder die Entstehung eines Tumors ausgelöst oder der Zelltod induziert werden. Aus der Beobachtung genotoxischer Effekte, insbesondere wenn diese nur in in-vitro Untersuchungen festgestellt werden, kann jedoch nicht auf eine zwangsläufige Erhöhung des Krebsrisikos geschlossen werden. Lebende Organismen verfügen über eine Reihe von Reparaturmechanismen und Schutzfunktionen, mit denen Schäden an der DNA behoben oder „entartete“ Zellen neutralisiert werden können. Weiterhin sei hier an die Empfehlungen von Regulierungsgremien erinnert, die eine Klassifizierung von Noxen als genotoxisch oder nicht-genotoxisch nicht allein auf der Basis einer einzigen Test-Methode treffen. Vielmehr ist eine Vielzahl von Tests durchzuführen, wie z.B. Mutationstests in Salmonellen und Drosophila, Mikrokerntests in Nagern, Chromosomenaberrationen und Mikrokerne in Lymphozyten aus menschlichem Blut, sowohl in vitro als auch in vivo. RF-EMF ist nur dann als genotoxisch einzustufen, wenn alle oder die Mehrheit der Tests signifikante Effekte aufweisen. Weiterhin ist es nicht zulässig Rückschlüsse aus in-vitro Ergebnissen auf die Bedingungen im Tier oder Menschen in vivo zu übertragen. Auch ist die Frage zu stellen, ob die Methoden der mikroskopischen Analyse sensibel genug sind, um auch schwache genetische Veränderungen aufzuzeigen. Die bisher veröffentlichten Ergebnisse reichen nicht aus, um eine mutagene Wirkung

von HF-Signalen zu belegen. Gründe für die widersprüchlichen Ergebnisse bezüglich RF-EMF-induzierter DNA- bzw. Chromosomenschäden könnten sein: methodische Schwächen, inadequate Dosimetrie, Schwierigkeiten beim Ausschluss potentieller thermischer Effekte („hot spots“) oder unzureichende biologische Experimentalbedingungen. Generell sollte aus diesem Gutachten geschlossen werden, dass es aus den aufgeführten Studien zur Genotoxizität der Jahre 2000 bis 2004 zur Zeit keinen gesicherten wissenschaftlichen Nachweis für die Annahme gibt, wonach eine Exposition von Zellen mit RF-EMF zytogenetische Veränderungen induzieren, die eine biologische Bedeutung für die menschliche Gesundheit haben könnten.

Empfehlungen bzgl. zukünftiger Forschung. Zur Klärung der kontroversen Datenlage hinsichtlich der Genotoxizität von RF-EMF wäre eine multizentrische Kooperationsstudie unter Einbeziehung internationaler, erfahrener Zytogenetiker sinnvoll. Dabei sollten z.B. menschliche periphere Lymphozyten und menschliche kultivierte Fibroblasten mit identischen zytogenetischen Methoden untersucht werden. Das Versuchsdesign sollte im Einklang mit der Empfehlung von COST Action 281 stehen und müsste eine komplexe Prüfung der verwendeten Zellen/Zelllinien bzgl. möglicher schädigender Wirkungen von RF-EMF mit anerkannten Nachweismethoden vorsehen. Wesentlicher Teil einer komplexen Prüfung ist die Verwendung verschiedener zytogenetischer Endpunkte sowie der Messung von Markern des Zellwachstumsverhaltens.

5 Literaturverzeichnis

- Bisht, K. S., Moros, E. G., Straube, W. L., Baty, J. D., and Roti Roti, J. L. (2002). The effect of 835.62 MHz FDMA or 847.74 MHz CDMA modulated radiofrequency radiation on the induction of micronuclei in C3H 10T(1/2) cells. *Radiat Res* **157**, 506-15.
- d'Ambrosio, G., Massa, R., Scarfi, M.R., Zeni, O. (2002) Cytogenetic damage in human lymphocytes following GSM phase modulated microwave exposure. *Bioelectromagnetics* **23**,7-13
- Fitzner R, Gminski R, Schlatterer K (2004) Radiofrequency electromagnetic fields (1800 MHz) induce elevated production of reactive oxygen species in human promyelocytic HL-60 cells. Poster presentation. Bioelectromagnetics Society 26th Annual Meeting, 20-24th June, Washington, 2004
- Grundler, W., Kaiser, F., Keilmann, F., Walleczek, J. (1992) Mechanisms of electromagnetic interaction with cellular systems. *Naturwissenschaften* **79**, 551-559
- Hook, G. J., Zhang, P., Lagroye, I., Li, L., Higashikubo, R., Moros, E. G., Straube, W. L., Pickard, W. F., Baty, J. D., and Roti Roti, J. L. (2004). Measurement of DNA damage and apoptosis in Molt-4 cells after in vitro exposure to radiofrequency radiation. *Radiat Res* **161**, 193-200.
- Koyama, S., Nakahar, T., Wake, K., Taki, M., Isozumi, Y., Miyakoshi, J. (2003) Effects of high frequency electromagnetic fields of micronucleus formation in CHO-K1 cells. *Mutat Res* **541**(1-2), 81-89
- Lagroye, I., Hook, G. J., Wettring, B. A., Baty, J. D., Moros, E. G., Straube, W. L., and Roti Roti, J. L. (2004). Measurements of alkali-labile DNA damage and protein-DNA crosslinks after 2450 MHz microwave and low-dose gamma irradiation in vitro. *Radiat Res* **161**, 201-14.
- Lai, H. and Singh, N. P. (2004). Magnetic field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. doi: 10.1289/ehp.6355 (available at. <http://dx.doi.org/>) Online 26 January 2004
- Li, L., Bisht, K. S., Lagroye, I., Zhang, P., Straube, W. L., Moros, E. G., and Roti Roti, J. L. (2001). Measurement of DNA damage in mammalian cells exposed in vitro to radiofrequency fields at SARs of 3-5 W/kg. *Radiat Res* **156**, 328-332.
- Maes, A., Collier, M., and Verschaeve, L. (2000). Cytogenetic investigations on microwaves emitted by a 455.7 MHz car phone. *Folia Biologica (Praha)*,**46**(5), 175-180
- Maes, A., Collier, M., and Verschaeve, L. (2001). Cytogenetic effects of 900 MHz (GSM) microwaves on human lymphocytes. *Bioelectromagnetics* **22**, 91-96.
- Mashevich, M., Folkman, D., Kesar, A., Barbul, A., Korenstein, R., Jerby, E., and Avivi, L. (2003). Exposure of human peripheral blood lymphocytes to electromagnetic fields associated with cellular phones leads to chromosomal instability. *Bioelectromagnetics* **24**, 82-90.
- McNamee, J. P., Bellier, P. V., Gajda, G. B., Lavalley, B. F., Lemay, E. P., Marro, L., and Thansandote, A. (2002a). DNA damage in human leukocytes after acute in vitro exposure to a 1.9 GHz pulse-modulated radiofrequency field. *Radiat Res* **158**, 534-537.
- McNamee, J. P., Bellier, P. V., Gajda, G. B., Miller, S. M., Lemay, E. P., Lavalley, B. F., Marro, L., and Thansandote, A. (2002b). DNA damage and micronucleus induction in human leukocytes after acute in vitro exposure to a 1.9 GHz continuous-wave radiofrequency field. *Radiat Res* **158**, 523-533.
- McNamee, J. P., Bellier, P. V., Gajda, G. B., Lavalley, B. F., Marro, L., Lemay, E., and Thansandote, A. (2003). No evidence for genotoxic effects from 24 h exposu-

- re of human leukocytes to 1.9 GHz radiofrequency fields. *Radiat Res* **159**, 693-697
- Miyakoshi et al., principal investigator (2002a) 2.4 GHz (CW) and 1.5 GHz (PDC) exposure on micronucleus formation, sister chromatid exchange, chromosome aberrations, DNA damage, and genetic mutation as well cell cycle, signal transduction, transformation and cell division. BEMS 2002 Quebec, Canada (zit. in WHO EMF Studies Database)
- Miyakoshi, J., Yoshida, M., Tarusawa, Y., Nojima, T., Wake, K., Taki, M. (2002b) Effects of high frequency electromagnetic fields on DNA strand breaks using COMET assay methods. *Electrical Engineering in Japan* **141**(4), 9-15
- Park, W.Y., Kim, N., principal investigators (2002) Cell phone exposure and analysis of transformation. Korean Meeting on EMF Bioeffects 2002 (zit. WHO EMF Studies Database)
- Reiter, R.J. (1994) Pineal function during aging: attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. *Acta Neurobiol Exp (Warsz)* **54** Suppl:31-39
- Reiter, R.J. (1995) Oxygen radical detoxification processes during aging: the functional importance of melatonin. *Aging (Milano)* **7**(5),340-351
- Reflex 2004:
http://www.itis.ethz.ch/downloads/REFLEX_Final%20Report_171104.pdf
- Roti Roti, J.L. (2004) 2450 MHz (CW) exposure and effects on DNA crosslinking. *Radiat Res* **161**,201-214
- Rudiger, H., Diem, E., Ivancsits, S., Jahn, O. (2003) Non-thermal DNA breackage by mobile phone radiation in human fibroblasts. Meeting February 2003, institute of Physics, London (zit. WHO EMF Studies Database)
- Simkó M: Induction of cell activation processes by low frequency electromagnetic fields. *The Scientific World* **4**, 4–22, (2004)
- Simkó M. and Mattsson M.O. (2004) Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro. A possible cell activation stimulus? (*J. Cell. Biochem.* **93**, 83-92 (2004)
- Tice, R. R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J. C., and Sasaki, Y. F. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen* **35**, 206-21.
- Tice, R. R., Hook, G. G., Donner, M., McRee, D. I., and Guy, A. W. (2002). Genotoxicity of radiofrequency signals. I. Investigation of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells. *Bioelectromagnetics* **23**, 113-126.
- Unknown (2001) 1.765 GHz (CDMA) exposure to cell culture and analysis of chromosome aberrations. WHO Meeting on EMF Biological Effects, Seoul, Korea 2001 (zit. WHO EMF Studies Database)
- Vijayalaxmi, Frei, M. R., Dusch, S. J., Guel, V., Meltz, M. L., and Jauchem, J. R. (1997). Frequency of micronuclei in the peripheral blood and bone marrow of cancer-prone mice chronically exposed to 2450 MHz radiofrequency radiation. *Radiat Res* **147**, 495-500.
- Vijayalaxmi, Leal, B. Z., Szilagyi, M., Prihoda, T. J., and Meltz, M. L. (2000). Primary DNA damage in human blood lymphocytes exposed in vitro to 2450 MHz radiofrequency radiation. *Radiat Res* **153**, 479-486.
- Vijayalaxmi, Bisht, K. S., Pickard, W. F., Meltz, M. L., Roti Roti, J. L., and Moros, E. G. (2001a). Chromosome damage and micronucleus formation in human blood

- lymphocytes exposed in vitro to radiofrequency radiation at a cellular telephone frequency (847.74 MHz, CDMA). *Radiat Res* **156**, 430-432.
- Vijayalaxmi, Leal, B. Z., Meltz, M. L., Pickard, W. F., Bisht, K. S., Roti Roti, J. L., Straube, W. L., and Moros, E. G. (2001b). Cytogenetic studies in human blood lymphocytes exposed in vitro to radiofrequency radiation at a cellular telephone frequency (835.62 MHz, FDMA). *Radiat Res* **155**, 113-121.
- Zhang, M.B., He, J.L., Jin, L.F., Lu, D.Q. (2002) Study of low-intensity 2450-MHz microwave exposure enhancing the genotoxic effects of mitomycin C using micronucleus test and comet assay in vitro. *Biomed Environ Sci* **15**(4):283-290
- Zeni, O., Chiavoni, A. S., Sannino, A., Antolini, A., Forigo, D., Bersani, F., and Scarfi, M. R. (2003). Lack of genotoxic effects (micronucleus induction) in human lymphocytes exposed in vitro to 900 MHz electromagnetic fields. *Radiat Res* **160**, 152-158.
- Zotti-Martelli, L., Peccatori, M., Scarpato, R., Migliore, L. (2000) Induction of micronuclei in human lymphocytes exposed in vitro to microwave radiation. *Mutat Res* **472**(1-2), 51-58

6 Tabelle 1: Übersicht zu den berücksichtigten Studien

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Gruppe 1	Humane Zellen			Mit Angaben zum Zellwachstum	
Hook et al. 2004	Molt-4 T lymphoblastoid cells	Four types of frequency/modulation forms were studied: 847.74 MHz code-division multiple-access (CDMA), 835.62 MHz frequency-division multiple-access (FDMA), 813.56 MHz (iDEN), and 836.55 MHz time-division multiple-access (TDMA). Exponentially growing cells were exposed to RF radiation for periods up to 24 h using a radial transmission line (RTL) exposure system. Specific absorption rates were 3.2 W/kg for CDMA and FDMA, 2.4 or 24 mW/kg for iDEN, and 2.6 or 26 mW/kg for TDMA	single-cell gel electrophoresis assay. Positive control: 1 Gy ¹¹⁷ Cs gamma rays and 44°C for 20 min	The annexin V affinity assay was used to detect apoptosis	No statistically significant difference in the level of DNA damage or apoptosis between sham-treated cells and cells exposed to RF radiation for any frequency, modulation or exposure time. Exposure of Molt-4 cells to CDMA, FDMA, iDEN or TDMA modulated RF radiation does not induce alterations in level of DNA damage or induce apoptosis
d'Ambrosio et al. 2002	Human peripheral blood cultures	1.748 GHz, either continuous wave (CW) or phase only modulated wave (GMSK), for 15 min. The maximum specific absorption rate (approximately 5 W/kg) was higher than that occurring in the head of mobile phone users	cytokinesis block micronucleus assay	cell proliferation kinetics, proliferation index	no changes were found in cell proliferation kinetics after exposure to either CW or GMSK fields. As far as genotoxicity is concerned, the micronucleus frequency result was not affected by CW exposure; however, a statistically significant micronucleus effect was found following exposure to phase modulated field. These results would suggest a genotoxic power of the phase modulation per se

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Zeni et al. 2003	The experiments were performed on peripheral blood from 20 healthy donors	Several conditions were tested by varying the duration of exposure, the specific absorption rate (SAR), and the signal [continuous-wave (CW) or GSM (Global System of Mobile Communication) modulated signal]. (1) CW intermittent exposure (SAR = 1.6 W/kg) for 6 min followed by a 3-h pause (14 on/off cycles); (2) GSM signal, intermittent exposure as described in (1); (3) GSM signal, intermittent exposure as described in (1) 24 h before stimulation with phytohemagglutinin (8 on/off cycles); (4) GSM signal, intermittent exposure (SAR = 0.2 W/kg) 1 h per day for 3 days. The SARs were estimated numerically	cytokinesis-block micronucleus assay	Cytotoxicity was also investigated using the cytokinesis-block and proliferation index	No statistically significant differences were detected in any case in terms of either micronucleus frequency or cell cycle kinetics.
McNamee et al. 2003	human blood cell cultures, leukocytes	24-h continuous-wave (CW) and pulsed-wave (PW) 1.9 GHz RF-field exposures. Mean specific absorption rates (SARs) ranged from 0 to 10 W/kg, and the temperature within the cultures was maintained at 37.0 ± 1.0 °C for the duration of the 24-h exposure period	primary DNA damage (alkaline COMET assay) and micronucleus induction	proliferation index	No significant differences in primary DNA damage were observed between the sham-treated controls and any of the CW or PW 1.9 GHz RF-field-exposed cultures when processed immediately after the exposure period by the alkaline COMET assay. No significant differences in the incidence of micronuclei, incidence of micronucleated binucleated cells, frequency of binucleated cells, or proliferation index between sham-treated controls and any of the CW or PW 1.9 GHz RF-field-exposed cultures. In conclusion: no evidence of 1.9 GHz RF-field-induced genotoxicity in human blood cell cultures after 24-h exposure

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Tice et al. 2002	human blood leukocytes and lymphocytes	<p>The signals were voice modulated 837 MHz produced by an analog signal generator or by a time division multiple access (TDMA) cellular telephone, 837 MHz generated by a code division multiple access (CDMA) cellular telephone (not voice modulated), and voice modulated 1909.8 MHz generated by a GSM-type PCS cellular telephone.</p> <p>Cells were exposed at 37 ± 1 °C, for 3 or 24 h at average SARs of 1.0-10.0 W/kg</p>	strand breaks/alkali labile sites, alkaline (pH>13) single cell gel electrophoresis (SCG) assay. Cytokinesis-block micronucleus assay	Leukocyte viability, binucleated cell index (BCI), replicative index (RI)	<p>Exposure for either 3 or 24 h did not induce a significant increase in DNA damage in leukocytes, nor did exposure for 3 h induce a significant increase in micronucleated cells among lymphocytes. However, exposure to each of the four RF signal technologies for 24 h at an average SAR of 5.0 or 10.0 W/kg resulted in a significant and reproducible increase in the frequency of micronucleated lymphocytes. The magnitude of the response (approximately four fold) was independent of the technology, the presence or absence of voice modulation, and the frequency (837 vs. 1909.8 MHz). This research demonstrates that, under extended exposure conditions, RF signals at an average SAR of at least 5.0 W/kg are capable of inducing chromosomal damage in human lymphocytes</p>

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Vijayalaxmi et al. 2001a	Peripheral blood samples collected from four healthy nonsmoking human volunteers	847.74 MHz radiofrequency (RF) radiation (continuous wave), a frequency employed for cellular telephone communications. A code division multiple access (CDMA) technology, exposure times 24 h with a nominal net forward power of 75 W and a nominal power density of 950 W/m ² (95 mW/cm ²). Mean specific absorption rate (SAR) 4.9 or 5.5 W/kg. Blood aliquots sham-exposed or exposed in vitro to 1.5 Gy of gamma radiation as controls. Temperatures of medium during RF-radiation and sham exposures in the Radial Transmission Line facility were controlled at 37 ± 0.3 °C	Genetic damage was assessed from the incidence of chromosome aberrations and micronuclei	The extent of alteration in the kinetics of cell proliferation was determined from the mitotic indices in 48-h cultures and from the incidence of binucleate cells in 72-h cultures	no significant differences between RF-radiation-exposed and sham-exposed lymphocytes with respect to mitotic indices, frequencies of exchange aberrations, excess fragments, binucleate cells, and micronuclei. Thus there was no evidence for induction of chromosome aberrations and micronuclei in human blood lymphocytes exposed in vitro for 24 h to 847.74 MHz RF radiation (CDMA) at SARs of 4.9 or 5.5 W/kg
Vijayalaxmi et al. 2001b	Freshly collected peripheral blood samples from four healthy human volunteers	24 h to 835.62 MHz radiofrequency (RF) radiation, a frequency employed for customer-to-base station transmission of cellular telephone communications. An analog signal was used, and the access technology was frequency division multiple access (FDMA, continuous wave). A nominal net forward power of 68 W was used, and the nominal power density at the center of the exposure flask was 860 W/m ² . Mean specific absorption rate in the exposure flask was 4.4 or 5.0 W/kg. 1.50 Gy of gamma radiation as positive control	Genetic damage was assessed from the incidence of chromosome aberrations and micronuclei	The extent of alteration in the kinetics of cell proliferation was determined from the mitotic indices in 48-h cultures and from the incidence of binucleate cells in 72-h cultures	No significant differences between RF-radiation- and sham-exposed lymphocytes with respect to mitotic indices, incidence of exchange aberrations, excess fragments, binucleate cells, and micronuclei. Thus, under the experimental conditions tested, there is no evidence for the induction of chromosomal aberrations and micronuclei in human blood lymphocytes exposed in vitro for 24 h to 835.62 MHz RF radiation at SARs of 4.4 or 5.0 W/kg

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
REFLEX 2004 (abgeschlossen Mai 2004)	HL-60 cells, cultured human fibroblasts from both young and old donors, granulosa cells	24 hours to 1800 MHz (GSM) at 0.3 to 2 W/kg. wave guide system sXc1800, Temperature: 37 ± 0.1 °C	COMET assay, Micronuclei induction, chromosome aberrations. Detection of reactive oxygen species (ROS)	apoptosis was assessed using Annexin V-affinity assay and TUNEL assay. Determination of cell cycle and cellular growth	Results suggested an effect of 1.8 GHz and 1.9 GHz exposure on inducing single and double strand breaks in HL-60 cells, cultured human fibroblasts and granulosa cells and micronuclei frequencies. For HL-60 cells no changes were found in cell proliferation kinetics, cell cycle, cellular growth and apoptosis after exposure to CW. Detection of ROS. Inhibition of DNA damage by ascorbic acid
Miyakoshi et al. 2002a (Principal invest.)	Human glioma cells MO54	2.4 GHz (CW) and 1.5 GHz (PDC) exposure at high SARs (up to 200 W/kg) for 2 days in a circular waveguide	sister chromatid exchange, chromosome aberrations, micronucleus formation, COMET assay, genetic mutation	cell cycle, signal transduction, transformation, and cell division	Preliminary findings reported at the BEMS meeting in 2002 showed exposure at up to 50 W/kg had no effect on HGPRT locus mutations, and exposure at up to 100 W/kg had no effect on DNA strand breaks using an alkaline COMET assay. Additional studies are ongoing using 2.4 GHz (CW) and 1.5 GHz (PDC) exposure and analysis of sister chromatid exchange, chromosome aberrations, micronucleus formation, DNA damage, and genetic mutation as well as cell cycle, signal transduction, transformation, and cell division
Gruppe 2	Humane Zellen			Keine Angaben zum Zellwachstum	
Rudiger et al. 2003	Cultured human fibroblasts	1800 MHz (either CW, GSM, intermittent, or talk-modulated) at SARs of 1.2 or 2 W/kg for up to 24 hours. Wave guide system sXc1800, Temperature: 37 ± 0.1 °C	single strand breaks by neutral COMET assay and double strand breaks by alkaline COMET assay		Increased DNA damage was reported by both alkaline and neutral COMET assay after 16 and 24 hour exposures, with a maximal effect of 8-9% increase in comet tail migration. GSM, intermittent, and talk modulated caused more damage than CW alone

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Vijayalaxmi et al. 2000	Human peripheral blood samples	Pulsed-wave 2450 MHz radiofrequency (RF) radiation for 2 h. The RF radiation was generated with a net forward power of 21 W and transmitted from a standard gain rectangular antenna horn in a vertically downward direction. The average power density at the position of the cells in the flask was 5 mW/cm ² . The mean specific absorption rate, calculated by finite difference time domain analysis, was 2.135 (± 0.005 SE) W/kg. Aliquots of whole blood that were sham-exposed or exposed in vitro to 50 cGy of ionizing radiation from a ¹³⁷ Cs gamma-ray source were used as controls	primary DNA damage (single-strand breaks and alkali-labile lesions) using the alkaline COMET assay with three different slide-processing schedules. 1) cells immediately after the exposures and at 4 h after incubation of the exposed blood at 37 ± 1 °C to allow time for rejoining of any strand breaks present immediately after exposure, i.e. to assess the capacity of the lymphocytes to repair this type of DNA damage		At either time, the data indicated no significant differences between RF-radiation- and sham-exposed lymphocytes with respect to the comet tail length, fluorescence intensity of the migrated DNA in the tail, and tail moment. The conclusions were similar for each of the three different COMET assay slide-processing schedules examined. Thus, under the experimental conditions tested, there is no evidence for induction of DNA single-strand breaks and alkali-labile lesions in human blood lymphocytes exposed in vitro to pulsed-wave 2450 MHz radiofrequency radiation, either immediately or at 4 h after exposure
Miyakoshi et al. 2002b	Human glioma cells MO54	2.54 GHz exposure at high SARs (50 and 100 W/kg) for 2 h in a TE ₀₁ circular waveguide.	COMET assay		exposure up to 100 W/kg had no effect on DNA strand breaks using the alkaline COMET assay
Zotti-Martelli et al. 2000	human peripheral blood lymphocytes in vitro	different frequencies (2.45 and 7.7GHz) and power density (10, 20 and 30mW/cm ² for three times (15, 30 and 60min). Power density, not SAR?	micronucleus (MN) assay		The results showed for both radiation frequencies an induction of micronuclei as compared to the control cultures at a power density of 30mW/cm ² and after an exposure of 30 and 60min. Our study would indicate that microwaves are able to cause cytogenetic damage in human lymphocytes mainly for both high power density and long exposure time.

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Unknown (WHO meeting on EMF Biological Effects, Seoul, Korea, 2001)	Jurkat (human T-cells), WI-38 (human fibroblasts), DO11.10 (mouse T cells), and C3H 10T1/2 (mouse fibroblasts)	1.765 GHz CDMA for up to 72 hours at 1.5 or 75 W/kg.	Chromosome aberration		No chromosome effects were observed as a result of RF exposure, even at 75 W/kg
McNamee et al. 2002a	Cultured human leukocytes	1.9 GHz pulse-modulated radiofrequency (RF) field for 2 h using a series of six circularly polarized, cylindrical waveguides. Mean specific absorption rates (SARs) ranged from 0 to 10 W/kg, and the temperature within the cultures during the exposure was maintained at 37.0 ± 0.5 °C.	DNA damage was quantified in leukocytes by the alkaline COMET assay and the cytokinesis-block micronucleus assay.		When compared to the sham-treated controls, no evidence of increased primary DNA damage was detected by any parameter for any of the RF-field-exposed cultures when evaluated using the alkaline COMET assay. Furthermore, no significant differences in the frequency of binucleated cells, incidence of micronucleated binucleated cells, or total incidence of micronuclei were detected between any of the RF-field-exposed cultures and the sham-treated control at any SAR tested

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
McNamee et al. 2002b	Human blood cultures (cultured human leukocytes)	1.9 GHz continuous-wave (CW) radiofrequency (RF) field for 2 h using a series of six circularly polarized, cylindrical waveguides. Mean specific absorption rates (SARs) of 0.0, 0.1, 0.26, 0.92, 2.4 and 10 W/kg. were achieved, and the temperature within the cultures during a 2-h exposure was maintained at 37.0 ± 0.5 °C. Concurrent negative (incubator) and positive (1.5 Gy, ¹³⁷ Cs gamma radiation) control cultures were run for each experiment	DNA damage was quantified immediately after RF-EMF exposure using the alkaline COMET assay, and four parameters (tail ratio, tail moment, comet length and tail length) were used to assess DNA damage for each comet. The formation of micronuclei in the RF-EMF-exposed blood cell cultures was assessed using the cytokinesis-block micronucleus assay		No evidence of increased primary DNA damage was detected by any parameter for RF-field-exposed cultures at any SAR tested. There was no significant difference in the binucleated cell frequency, incidence of micronucleated binucleated cells, or total incidence of micronuclei between any of the RF-field-exposed cultures and the sham-exposed controls at any SAR tested. These results do not support the hypothesis that acute, nonthermalizing 1.9 GHz CW RF-field exposure causes DNA damage in cultured human leukocytes
Zhang et al. 2002	whole blood cells from a male donor and a female donor	The whole blood cells from a male donor and a female donor were either only exposed to 2450-MHz microwaves (5.0 mW/cm ²) for 2 h or only exposed to MMC (0.0125 µg/mL, 0.025 µg/mL and 0.1 µg/mL) for 24 h; and the samples were exposed to MMC for 24 h after exposure to MW for 2 h	single cell gel electrophoresis (SCGE) assay (COMET assay) and cytokinesis-blocked micronucleus (CBMN) test in vitro		The low-intensity 2450-MHz microwave radiation can not induce DNA and chromosome damage, but can increase DNA damage effect induced by MMC in COMET assay.

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Maes et al. 2000	human lymphocytes	455.7 MHz microwave-exposed human lymphocytes and in lymphocytes that were subsequently exposed to MMC or X-rays. The exposure was performed by placing the cells at 5 cm from the antenna of a car phone. In this way the specific absorption ratio was approximately 6.5 W/kg. The temperature and humidity was kept constant during the experiments	chromosome aberration and sister chromatid exchange frequency		No statistically significant difference was found between microwave-exposed and unexposed control samples. When the microwave exposure was followed by exposure to MMC, some differences were found between the combined treatments and the MMC treatments alone. However, there was no consistency in the results. Combined treatments with X-rays did not provide any indication of a synergistic action between the RF fields and X-rays, either. The data therefore do not support the hypothesis that RF fields act synergistically with chemical or physical mutagens
Maes et al. 2001	Cultured human lymphocytes	900 MHz radiation, TEM cell. Three different modes of exposure (continuous, pseudo-random and dummy burst) were studied for different power outputs (0, 2, 8, 15, 25, 50 W). The specific absorption rates varied between 0 and 10 W/kg	chromosome aberration and sister chromatid exchange frequency methods		They investigated the possible effects of the 900 MHz radiation alone as well as of combined exposure to the chemical or physical mutagens mitomycin C and X-rays. Overall, no indication was found of a mutagenic, and/or co-mutagenic/synergistic effect of this kind of nonionizing radiation.

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Mashevich et al. 2003	to primary human lymphocytes	830 MHz (CW) RF for 72 hours at average SARs from 1.6 – 8.8 W/kg. At the highest average SAR, high frequency structure simulation (HFSS) computations showed peak SAR estimated in the range of 22.46 W/kg. Exposure resulted in temperatures of 34.5 - 37.5 °C, and at the highest exposure level the incubator temperature had to be set at 33.5 °C to insure the exposed culture temperature did not exceed 38 °C Thermal effect? Dosimetry?	analysis of chromosome replication / aneuploidy via in situ hybridization		The authors report a linear increase with exposure level and aneuploidy of chromosome 17 as detected by using alpha-satellite probes and in situ hybridization (in the earlier BEMS presentation, the authors reported data using probes for chromosome 17 genes p53 and EGFR / HER2-neu). The threshold for these effects was reported at 2.9 ± 0.35 W/kg. The authors also reported dose dependent asynchronous replication with increased exposure. The authors suggest non-thermal epigenic alterations are involved in SAR dependent genetic toxicity
Gruppe 3	Tierische Zellen			Keine Angaben zum Zellwachstum	
Lagroye et al. 2004	murine C3H 10T1/2 cells	2 hours to 2450 MHz RF for 1.9 W/kg or Cis-Platinum (CDDP), followed by exposure or sham exposure to 4 Gy of gamma radiation (¹³⁷ Cs)	DNA breaks using the Olive COMET assay		No DNA damage was detected after exposure to 2450 MHz or CDDP alone. When control samples were treated with proteinase K, DNA migration did increase, although detection of 4 Gy initiated DNA breaks was more sensitive in the absence of proteinase K. This study addresses comments made by Drs. Lai and Singh that the Olive COMET assay may not be appropriate to observe DNA breaks as originally reported in 1994 due to the absence of a proteinase K digestion step that may cause a lack of detection of DNA breaks due to 2450 MHz RF induced DNA-DNA and DNA-protein crosslinking

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Li et al. 2001	murine C3H 10T1/2 cells	2, 4 or 24 h exposure to 847.74 MHz CDMA and 835.62 MHz FDMA modulated radiations in RTL irradiators, to 37.0 ± 0.3 °C, SAR: 3.2-5.1 W/kg	Alkaline COMET assay		exposure of cells at 37 °C CDMA or FDMA at SAR values of up to 5.1 W/kg did not induce DNA damage
Koyama et al. 2003	Chinese hamster ovary CHO-K1 cells	<p>(1) exposed to RHF-EMF for 18 h at average SARs of 13, 39 and 50 W/kg with input power 7.8 W, and were compared with a sham-exposed control; (2) the cells were exposed to a RF-EMF at SARs of 78 and 100 W/kg with input power 13 W, and were compared with a sham-exposed control; (3) the cells were treated with bleomycin alone or with bleomycin followed by exposure to a RF-EMF for 18 h at SARs of 25, 78 and 100 W/kg, and were compared with a bleomycin-treated positive control. The cells treated with bleomycin alone were compared with sham-exposed controls; and (4) a high temperature control, CHO-K1 cells were incubated at 39 °C for 18 h.</p> <p>Exposure source: cavity Location: Cells in the annular culture plates were exposed to RF-EMF in the cavity. Exposure time: C.W. for 18 h; sham Exp. was performed</p>	The MN frequency in cells in the inner, middle and outer wells of an annular culture plate was determined for the following four conditions during cell division		These results indicate that cells exposed to a RF-EMF at a SAR of 78 W/kg and higher form MN more frequently than sham-exposed cells, while exposure to a RF-EMF at up to 50 W/kg does not induce MN formation. In addition, a RF-EMF at a SAR of 78 W/kg and higher may potentiate MN formation induced by bleomycin-treatment

Zitat	Zelltyp	Expositionsbedingung (Dauer, Frequenz, SAR, weitere Angaben)	Nachweis-Methoden	Angaben zur Zellproliferation (Prüfmethode)	Ergebnisse
Bisht et al. 2002	murine C3H 10T1/2 cells	835.62 MHz frequency division multiple access (FDMA) or 847.74 MHz code division multiple access (CDMA) modulated RF radiation. Exponentially growing cells or plateau-phase cells were exposed to CDMA (3.2 or 4.8 W/kg) or FDMA (3.2 or 5.1 W/kg) RF radiation for 3, 8, 16 or 24 h.	micronuclei with cytochalasin B at a concentration of 2 µg/ml for 22 h was found to yield the maximum number of binucleated cells in C3H 10T1/2 cells		No exposure condition was found by analysis of variance to result in a significant increase relative to sham-exposed cells either in the percentage of binucleated cells with micronuclei or in the number of micronuclei per 100 binucleated cells. No significant exposure-related differences for either plateau-phase cells or exponentially growing cells
Park and Kim 2002 (Principal invest.)	C3H 10T1/2 (mouse fibroblasts) and other cell lines	exposed to 836.5 MHz (CDMA) at SAR up to 36.5 W/kg and 1.765 GHz (CDMA) at SAR up to 38.2 W/kg for up to 72 hours	Transformation assay and chromosome aberrations		No effect on transformation or chromosome aberrations was reported