

dr hab. n. med. RYSZARD WIADERKIEWICZ
Zakład Histologii
Katedra Morfologii
Śląski Uniwersytet Medyczny
40-762 Katowice
ul. Medyków 18

Skutki biologiczne ekspozycji na pola elektromagnetyczne – badania eksperymentalne

Słowa kluczowe: pola elektromagnetyczne, in vitro, in vivo.

Key words: electromagnetic fields, in vitro, in vivo.

Prezentowana praca jest przeglądem badań eksperymentalnych nad wpływem pól elektromagnetycznych na procesy biologiczne przebiegające w organizmach żywych. Przedstawiono metody stosowane do oceny oddziaływania pól elektromagnetycznych na poziomie komórkowym oraz dokonano analizy otrzymanych za ich pomocą wyników.

WPROWADZENIE

Badania nad biologicznymi skutkami oddziaływania pól elektromagnetycznych są prowadzone na świecie od niemal pół wieku. Początkowo były prowadzone głównie na zlecenia agencji rządowych ze względu na powszechne stosowanie częstotliwości radiowej przez urządzenia telekomunikacyjne i radary. Należy jednak pamiętać, że żyjemy w środowisku „prześięknętym” promieniowaniem elektromagnetycznym o szerokim zakresie częstotliwości. Dlatego uwagę badaczy zwraca zarówno promieniowanie o wielkiej częstotliwości z zakresu radiowego (rzędu MHz), jak również promieniowanie o bardzo małej częstotliwości (50/60 Hz). Związane jest to z jednej strony z gwałtownym rozwojem telefonii komórkowej, a z drugiej z ekspozycją na pola generowane przez linie przesyłowe wysokiego napięcia oraz różne urządzenia elektryczne powszechnego użytku.

Istotny wzrost zainteresowania wpływem pól magnetycznych na organizmy żywe spowodowały badania epidemiologiczne, których wyniki wykazały, że ekspozycja na pola elektromagnetyczne może mieć działanie kancerogenne. Na poziomie komórkowym kancerogeneza jest procesem złożonym, przebiegającym na wielu poziomach.

Wykazanie, że pola elektromagnetyczne wpływają na którykolwiek z nich miałyby istotne znaczenie dla potwierdzenia tych sugestii.

Skutkiem biologicznym może być jakakolwiek zmiana chemiczna, strukturalna, metaboliczna, fizjologiczna lub morfologiczna, którą stwierdza się na poziomie cząsteczki biologicznej, struktury wewnątrzkomórkowej lub całego żywego organizmu w wyniku ekspozycji na dany czynnik. Zmiany na poziomie molekularnym mogą, lecz nie muszą prowadzić do wymiernych zaburzeń na poziomie subkomórkowym, a te z kolei mogą, lecz nie muszą prowadzić do wymiernych uszkodzeń na poziomie komórkowym. Jeśli wymierne zmiany obserwowane są na poziomie tkankowym oznacza to, iż możemy się spodziewać konsekwencji fizjologicznych danego oddziaływania, które z kolei mogą być zarówno pozytywne, jak i negatywne.

Badania eksperymentalne nad wpływem pól elektromagnetycznych na procesy biologiczne mogą być prowadzone w warunkach *in vitro*, a więc na izolowanych populacjach komórek w hodowli, jak również w warunkach *in vivo*, gdy ekspozycji na pola elektromagnetyczne są poddawane żywe organizmy, najczęściej zwierzęta. Przewagą badań prowadzonych w warunkach *in vitro* jest niewątpliwie możliwość niemal dowolnego zaplanowania, a przede wszystkim precyzyjnego kontrolowania warunków eksperymentalnych. Z drugiej jednak strony, w badaniach tego typu nie jesteśmy w stanie uwzględnić niezmiernie ważnego czynnika, jakim jest ogromna liczba wzajemnych oddziaływań zachodzących nieustannie w żywym organizmie.

Poddając ekspozycji na pola elektromagnetyczne komórki lub tkanki, należy zawsze pamiętać o możliwych termicznych skutkach ich oddziaływania. Związane jest to z faktem, że generowany w tkankach przez pola elektromagnetyczne prąd, a następnie jego rozproszenie prowadzi do absorpcji energii i w konsekwencji wzrostu temperatury. Skutki biologiczne spowodowane temperaturą są dobrze zbadane i związane głównie z ekspresją białek szoku cieplnego (Hsp). Ponieważ skutek ten nie zależy od źródła energii, a więc nie jest specyficzny dla pól elektromagnetycznych, dlatego w badaniach eksperymentalnych stosuje się na ogół poziomy pole, przy których nie stwierdza się przyrostu temperatury w trakcie ekspozycji.

Skutki nietermiczne pól elektromagnetycznych mogą być spowodowane różnicznymi oddziaływaniami między generowanym przez nie prądem a poszczególnymi składnikami materiału biologicznego, na który oddziałują. Szczególne znaczenie wydaje się mieć ewentualny wpływ pól elektromagnetycznych na takie biomolekuły, jak: kwasy nukleinowe, białka, a także składniki lipidowe błon komórkowych. Energia pól elektromagnetycznych stosowanych w eksperymentach jest zbyt mała by powodowała bezpośrednio pękanie nawet najsłabszych wiązań chemicznych w cząsteczkach DNA. Istnieją jednak doniesienia, że ekspozycja na pola elektromagnetyczne może prowadzić do zmian konformacyjnych cząsteczek białka i w konsekwencji zaburzenia ich funkcji, np. aktywności enzymatycznej czy zdolności do interakcji z innymi białkami (*Astumian 2003; Bohr, Bohr 2000*).

Skutki biologiczne ekspozycji na pola elektromagnetyczne w warunkach *in vitro* są stosunkowo niewielkie, co stwarza istotne problemy w ich eksperymentalnej ocenie. Nawet jeśli takie skutki wydają się oczywiste i potwierdzone w licznych pracach to i tak, aby wykazać ich ewentualne wyniki zdrowotne muszą być one uzupełnione badaniami na całych organizmach. Tak więc, oba podejścia, tzn. badania eksperymentalne prowadzone zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* są istotne i wzajemnie się uzupełniają.

BADANIA EKSPERYMENTALNE

Badania w warunkach *in vitro*

Planując panel badań *in vitro*, w celu ustalenia wpływu oddziaływania danego czynnika na procesy biologiczne, w pierwszym etapie ocenia się na ogół jego potencjalną cytotoxycywność, tzn. czy jest w stanie spowodować śmierć komórki. Wynik pozytywny oznacza, że należy się spodziewać poważnych zaburzeń na poziomie tkankowym, a w konsekwencji istotnych klinicznie zaburzeń fizjologicznych, czyli zdrowia.

Badania cytotoxycywności są prowadzone różnymi metodami. Najprostsza z nich pozwala na ocenę efektywności tworzenia kolonii komórek (*colony formation assay*) po ich wysianiu na podłoże, do którego przylegają. Po 1 ÷ 2 tygodniach hodowli ocenia się stosunek liczby powstałych kolonii i/lub liczby komórek w kolonii między grupą kontrolną i grupą eksponowaną, co stanowi tzw. współczynnik przeżycia. Metodę tę stosuje się w badaniach wpływu pól elektromagnetycznych na komórki od ponad 30 lat. W kilku pracach stwierdzono wyraźny (sięgający nawet 50%) negatywny skutek pól elektromagnetycznych na żywotność komórek w hodowli (*Sapareto i in.* 1982). Jednakże kolejne badania tych samych autorów wykazały, że uzyskane wyniki były rezultatem skutków termicznych związanych z warunkami ekspozycji (24 h, 2,45 MHz i SAR 4,4 W/kg).

Przy braku bezpośredniego skutku cytotoxycywnego, kolejnym etapem badań jest na ogół ocena genotoksycywności danego czynnika, tzn. uszkodzeń materiału genetycznego w komórkach, które przeżywają ekspozycję. Wykazanie, że pola elektromagnetyczne uszkadzają DNA mogłoby wskazywać na jego potencjalną rolę jako induktora lub promotora rozwoju procesu nowotworowego.

Bezpośrednią i szybką metodą oceny skutku genotoksycywnego jest badanie mutacji. W większości prac eksperymentalnych nie potwierdzono jednak wzrostu częstotliwości występowania mutacji w wyniku ekspozycji na pola elektromagnetyczne o różnych zakresach częstotliwości. W kilku pracach, gdzie stwierdzono niewielki przyrost ilości mutacji stosowane poziomy pole były na tyle duże, że nie można było wykluczyć ewentualnego skutku termicznego.

Popularnym wyznacznikiem genotoksycywności są aberracje chromosomalne indukowane w komórkach przez różne czynniki, zarówno chemiczne, jak i fizyczne. Ich ocena jest stosunkowo prosta i polega na analizie zmian strukturalnych (rearanżacje) chromosomów w komórce za pomocą mikroskopii świetlnej. Rzeczywiste konsekwencje tego typu uszkodzeń nie są oczywiste. Zakłada się jednak, że mogą być one związane z procesami nowotworowymi, uszkodzeniami płodu czy zwiększoną częstością spontanicznych aborcji.

Jednym z rodzajów aberracji chromosomalnych jest wymiana chromatyd siostrzanych, która polega na przesunięciu dużego fragmentu DNA z jednego obszaru chromosomu do innego i jest skutkiem zaburzeń procesu replikacji uszkodzonego DNA. Proces ten powszechnie jest uważany za wczesny marker uszkodzeń genomu i wykorzystywany powszechnie w testach genotoksycywności. Poza nielicznymi pracami z początku lat 90. nie stwierdzono, aby w szerokim zakresie poziomów i częstotliwości pola elektromagnetyczne indukowały wymianę chromatyd siostrzanych w eksponowanych komórkach (*Khalil i in.* 1993).

W pojedynczych badaniach, eksponując na pola elektromagnetyczne zarówno różne linie komórkowe, jak i limfocyty izolowane z krwi obwodowej ludzi, wykazano wzrost aberracji chromosomalnych różnego typu (*Mashevich i in.* 2003). Wyniki te jed-

nak nie zostały potwierdzone przez innych badaczy, tak więc nadal nie ma jednoznacznej odpowiedzi, czy pola elektromagnetyczne są bezpośrednią przyczyną powstawania uszkodzeń chromosomów (*Maes* i in. 2001; *Vijayalaxmi* i in. 2001a; 2001b).

Inną z metod stosowanych do oceny genotoksyczności jest analiza powstawania „mikrojąder”, tzn. komórek charakteryzujących się wyjątkowo małymi jądrami. Obserwowany rezultat jest najprawdopodobniej konsekwencją pęknięć nici DNA. Oznaczanie częstotliwości tworzenia mikrojąder wydaje się być czułą metodą badania uszkodzeń chromosomów, gdyż kumulują się one, szczególnie w komórkach niepodlegających podziałom. Podobnie jak przy stosowaniu innych metod oceny wpływu pól elektromagnetycznych na organizmy żywe, także i w tym przypadku część autorów wykazała w swoich pracach istotny wzrost liczby mikrojąder po ekspozycji, natomiast inni nie obserwowali żadnego skutku (*Bisht* i in. 2002; *Vijayalaxmi* i in. 2001a; 2001b). Zwiększoną częstotliwość powstawania mikrojąder wykazano w limfocytach ekspozowanych na pola elektromagnetyczne (24 h, 835 MHz oraz 30 lub 60 min, 2,45 lub 7,7 GHz), (*Tice* i in. 2002; *Zotti-Martelli* i in. 2000). W innych badaniach pozytywne rezultaty uzyskano, stosując sygnał modulowany (1,8 GHz), natomiast nie obserwowano żadnego rezultatu, gdy sygnał o podobnej częstotliwości (1,7 GHz) miał charakter ciągły (*D'Ambrosio* i in. 2002). Tak więc, porównując wyniki otrzymywane przez różnych autorów, trudno jest wysnuć jednoznaczną konkluzję, szczególnie, że nawet przy zbliżonych warunkach eksperymentu otrzymane rezultaty są często rozbieżne.

Popularną metodą oceny fizycznych uszkodzeń materiału genetycznego jest, tzw. test kometowy. Polega on na poddawaniu elektroforezie w żelu pojedynczych komórek i jest czułą metodą pozwalającą ocenić uszkodzenia materiału genetycznego w formie pęknięć nici DNA. W trakcie elektroforezy uszkodzony DNA migruje z jądra komórki w kierunku anody, tworząc przed nim smugę w kształcie komety. Po wybarwieniu DNA barwnikami fluorescencyjnymi poddaje się żel analizie komputerowej, która uwzględniając kształt smugi, jej gęstość optyczną i szybkość migracji pozwala dość dokładnie ocenić stopień uszkodzenia DNA. Dotychczasowe badania prowadzone tą metodą wykazały, że ekspozycja na pola elektromagnetyczne częstotliwości radiofalej przy poziomie rzędu 100 W/m^2 i *SAR* do 20 W/kg nie powoduje bezpośrednio uszkodzeń DNA w formie pęknięć łańcucha tej makrocząsteczki.

Na podstawie danych epidemiologicznych przypuszcza się, że długotrwała ekspozycja na pola elektromagnetyczne o częstotliwości przemysłowej większe niż $0,4 \mu\text{T}$ zwiększa w nieznacznym stopniu ryzyko leukemii u dzieci. Badania eksperymentalne w większości potwierdziły, że pola elektromagnetyczne małych częstotliwości ($50 \div 60 \text{ Hz}$) mają działanie genotoksyczne, gdyż indukują pojedyncze i podwójne pęknięcia w nici DNA oraz wzmagają skutek mutagenny promieniowania jonizującego (*Crumpton, Collins* 2004; *Mairs* i in. 2007).

Rozbieżności w wynikach odnośnie do genotoksycznego wpływu pól magnetycznych są zapewne spowodowane różną wrażliwością poszczególnych typów komórek. Stosując test kometowy do badania uszkodzeń DNA spowodowanych ekspozycją, stwierdzono, że ostateczny rezultat zależy od stosowanej linii komórkowej. W ludzkich fibroblastach, melanocytach i szczurzych komórkach ziarnistych rezultat ten był wyraźnie pozytywny, natomiast w ludzkich limfocytach, monocytach i komórkach mięśniowych uszkodzeń nie stwierdzono (*Ivancsits* i in. 2005). Należy o tym pamiętać podczas planowania eksperymentów, a szczególnie, porównując wyniki badań otrzymywane przez różnych autorów. We wcześniejszej pracy ci sami autorzy wykazali, że pęknięcia DNA nie są spowodowane skutkiem termicznym, gdyż powstawały nawet w wyniku

ekspozycji na pola elektromagnetyczne o indukcji 35 μT , a więc znacznie poniżej poziomu ekspozycji dopuszczalnej przez ICNIRP (*Ivancsits* i in. 2003).

Kolejnym etapem badań w warunkach *in vitro* jest ocena potencjału kancerogennego danego czynnika, tzn. czy jest on w stanie spowodować transformację choćby kilku komórek w dużej badanej populacji.

Jak już wspomniano wcześniej, rozwój nowotworu jest procesem wieloetapowym, podczas którego komórki dzielą się niekontrolowanie w stopniu uniemożliwiającym ich skuteczną likwidację przez układ immunologiczny. W tkankach komórki są ze sobą ściśle połączone i ów kontakt jest kluczowym czynnikiem warunkującym blokadę ich dalszych podziałów. Komórki ulegające transformacji w przeciwieństwie do normalnych komórek pokonują ową inhibicję kontaktową, co daje im istotną przewagę i prowadzi do rozwoju nowotworu. Jak dotąd nie ma dowodów świadczących, że pola elektromagnetyczne mają bezpośredni skutek kancerogenny. Nie wyklucza się jednak, że mogą oddziaływać jako czynnik epigenetyczny, tzn. działać synergistycznie z innymi czynnikami o stwierdzonym potencjale mutagennym czy kancerogennym, wzmagając ich skutek. Opublikowano dużą liczbę prac zarówno potwierdzających, jak i negujących (*Roti* i in. 2001) epigenetyczny skutek pól elektromagnetycznych. Przykładowe pole elektromagnetyczne (50 Hz, 1 mT, 5 dni) nie wpływało na apoptozę i nieznacznie wzmagало indeks proliferacyjny komórek neuroblastomy. Przy jednoczesnej ekspozycji na chemiczny czynnik proapoptyczny, kamptotecynę, pola elektromagnetyczne jedynie nieznacznie hamowały apoptozę (*Pirozzoli* i in. 2003). Z kolei, ekspozycja na pole elektromagnetyczne (60 Hz, 0,8 mT, 24 h) zwiększała genotoksyczny skutek benzo(a)pirenu (wzrost ilości mikrojąder oraz aberracji chromosomalnych) przy braku tego skutku w przypadku samej ekspozycji (*Cho, Chung* 2003).

W procesie kancerogenezy oczywistą rolę odgrywają czynniki wzmagające proces proliferacji komórek. Wyniki badań nad bezpośrednim wpływem pól elektromagnetycznych na potencjał proliferacyjny różnych klas komórek nie są jednoznaczne. Stwierdzano zarówno niewielkie zwiększenie liczby podziałów, brak efektu, jak również obniżenie poziomu proliferacji. Przykładowo, analizując szereg parametrów cyklu komórkowego, w tym czas przejścia między fazami G1, G2 i S cyklu komórkowego w mysich fibroblastach C3H 10T $\frac{1}{2}$ oraz komórkach ludzkiego glejaka U87MG ekspozowanych do 100 h na pola elektromagnetyczne o częstotliwości 847 MHz (*SAR* 0,6 W/kg) nie wykazano żadnych zmian w przebiegu cyklu komórkowego w porównaniu z nieekspozowaną grupą kontrolną (*Higashibuko* i in. 2001). Z kolei, ekspozując komórki raka nosogardzieli na pola elektromagnetyczne 42,2 GHz (10 W/m², 4 dni, 30 min dziennie) wykazano zahamowanie proliferacji i wzrost apoptozy komórek (*Wang* i in. 2001). Zahamowanie wzrostu trzech różnych linii komórek nowotworowych obserwowano również w wyniku ekspozycji na pola elektromagnetyczne z zakresu częstotliwości 50 ÷ 80 GHz (*Chidichimo* i in. 2002). Z kolei, w modelu z komórkami HL-60 nie wykazano żadnych zmian w apoptozie, morfologii czy ekspresji genów (1176 genów) po ekspozycji na pola elektromagnetyczne o poziomie 25-krotnie większym niż dopuszczalny przez ICNIRP), (*Port* i in. 2003).

W nielicznych pracach wykazano zmiany w potencjale proliferacyjnym komórek ekspozowanych na pola elektromagnetyczne o częstotliwości przemysłowej. Poddając ekspozycji przez 24 ÷ 72 h (0,5 ÷ 1 mT, 50 Hz) komórki HL-60, fibroblasty Rat-1 oraz WI-38 stwierdzono w każdej z tych linii komórkowych: wzrost proliferacji, więcej komórek w fazie S, a jednocześnie więcej uszkodzeń w DNA w formie modyfikacji zasad azotowych (wzrost ilości 8-OH G). Dodatek antyoksydantów zmniejszał uszko-

dzenia DNA, co sugeruje udział wolnych rodników. Jednocześnie obserwowano modyfikacje w ekspresji czynników zaangażowanych w produkcję wolnych rodników, w tym białek powiązanych z NFkB (p65-p50 i Ikb alfa). Przedstawione wyniki pozwalają przypuszczać, że pola elektromagnetyczne wpływają na proliferację i uszkodzenia DNA zarówno komórek normalnych, jak i nowotworowych za pośrednictwem wolnych rodników (Simko, Mattsson 2004; Wolf i in. 2005). Inni autorzy podają, że ekspozycja limfocytów ludzkich i komórek drożdży na pola elektromagnetyczne (18 h, 50 Hz; 1; 10; 100 μ T) nie indukowała uszkodzeń DNA (test kometowy) ani nie wpływała na profil ekspresji genów badanych metodą mikroarray (odpowiednio 13 tys. i 6 tys. genów), (Luceri i n. 2005).

Szczególnie wrażliwe na różne czynniki chemiczne i fizyczne są pluripotencjalne komórki embrionalne, które mogą różnicować się do różnych klas komórek. Ekspozując komórki embrionalne na pola elektromagnetyczne (50 Hz, 0,1 ÷ 2,3 mT, 6 ÷ 48 h) wykazano znaczny wzrost ekspresji licznych genów regulatorowych (c-jun, p21 i egr-1), aczkolwiek wyłącznie w komórkach z nieaktywnym genem p53 (Czyż i in. 2004).

Wszystkie procesy zachodzące w komórkach wymagają ciągłej syntezy białek, np.: strukturalnych, enzymatycznych i regulatorowych. Matrycą do ich produkcji jest mRNA, który w procesie transkrypcji jest przepisywany z nici DNA będącej fragmentem genu danego białka. Uruchomienie procesu transkrypcji, a więc ekspresja danego genu, jest procesem precyzyjnie regulowanym. W wyniku stymulacji ulegają najpierw aktywacji geny nazywane powszechnie genami wczesnej odpowiedzi komórkowej. Ekspresja tych genów, uważana za czuły marker zmian adaptacyjnych komórek, może być spowodowana zarówno przez czynniki fizjologiczne, jak i potencjalnie szkodliwe związki chemiczne czy oddziaływania fizyczne. W odpowiedzi na stres komórka odpowiada wzmożoną ekspresją białek protekcyjnych, których klasycznym przykładem są białka szoku cieplnego (Hsp). Wykazano, że ekspresja białek z rodziny Hsp wzrasta w wyniku ekspozycji komórek na pola elektromagnetyczne. Zwiększenie ekspresji Hsp-70 (lecz nie Hsp-27) stwierdzono w ludzkich komórkach nabłonkowych owodni eksponowanych przez 20 min na modulowane pulsacyjnie pole elektromagnetyczne 960 MHz (SAR 2,1 mW/kg), (Kwee i in. 2001). Jest mało prawdopodobne, by przy tak małej wartości SAR obserwowany skutek był spowodowany wzrostem temperatury. Wzrost ekspresji Hsp-70 obserwowano także po ekspozycji komórek MO54 w ciągłym polu elektromagnetycznym 2,45 GHz, jednakże tylko wtedy, gdy wartość SAR była większa niż 20 W/kg (Tian i in. 2002). Nie ulega wątpliwości, że w tym przypadku nie uniknięto skutków termicznych, jednakże mimo wszystko poziom ekspresji Hsp-70 w grupie eksponowanej na pola elektromagnetyczne był istotnie większy niż w grupie kontrolnej hodowanej w temperaturze 39 °C. W eksperymencie, w którym ludzkie komórki śródbłonna eksponowano przez 1 h na pulsacyjnie modulowane pola elektromagnetyczne 900 MHz (SAR 2 W/kg), stwierdzono wzrost ekspresji Hsp-27 oraz p38MAPK, a także zmiany w profilu fosforylacji różnych białek (Leszczyński i in. 2002). Opierając się na tych wynikach, autorzy wysnuli wniosek, że pola elektromagnetyczne o częstotliwości 900 MHz może wspomagać rozwój raka mózgu wskutek blokowania mitochondrialnej drogi procesu apoptozy, a jednocześnie zmniejszać szczelność bariery krew-mózg przez stabilizację włókienek białek stresu w komórkach endotelialnych. Ta ciekawa hipoteza nie została jednak potwierdzona jak dotąd wynikami badań. W innej pracy wykazano, że o ile krótkotrwała ekspozycja embrionów kurcząt na pola elektromagnetyczne 915 MHz (SAR 1,7 W/kg) powodowała wzrost ekspresji Hsp-70., to ekspozycja długotrwała (4 dni, 1 h dziennie) prowadziła do obniżenia poziomu tego białka (Di Carlo i in. 2002). W fibro-

blastach ludzkich ekspozowanych na modulowane impulsowo pola elektromagnetyczne 902 MHz (SAR 0,6 W/kg) stwierdzono po 1 h wzrost poziomu ekspresji licznych genów, przy jednoczesnym zahamowaniu wzrostu komórek i syntezy DNA (Pacini i in. 2002). W eksperymencie, w którym ludzkie monocyty ekspozowano na modulowane pulsacyjnie pole elektromagnetyczne 8,2 GHz (SAR 10,8 W/kg) wykazano niemal 4-krotny wzrost aktywności $NF\kappa B$, białka regulatorowego odgrywającego niezwykle istotną rolę w inicjacji procesu transkrypcji, a więc ekspresji licznych genów (Natarajan i in. 2002).

Podobne wyniki uzyskano, ekspozując komórki na pola elektromagnetyczne o częstotliwości przemysłowej. Przykładowo, ekspozycja komórek endotelialnych (24 h, 50 Hz, 680 μT) nie wpływała na poziom transkrypcji bądź translacji HSP70. Niemniej jednak obserwowano wzrost zawartości HSP70 w komórkach, najprawdopodobniej wskutek jego stabilizacji. Pola elektromagnetyczne wzmagały także skutek szoku cieplnego na kumulację i translację mRNA HSP70 (Alfieri i in. 2006).

W podobnie skonstruowanym eksperymencie wykazano wcześniej, że komórki linii limfoblastycznej HL-60 odpowiadają na ekspozycję na pola elektromagnetyczne przez wzrost ekspresji genów HSP, szczególnie HSP70. Także i w tym przypadku ekspozycja zwiększała skutek szoku cieplnego (Tokalov, Gutzeit 2004). Jedno z kluczowych białek sygnałowego związanego z cyklem komórkowym, kinaza MAP/ERK (*mitogen activated protein kinase/extracellular signal regulated kinase*) jest aktywowana w komórkach HL-60 (*human leukemia*), MCF-7 (*human breast cancer*) i 3Y1 (fibroblasty szczura) przez pola elektromagnetyczne (60 Hz, 100 μT) w stopniu podobnym do 0,1 ÷ 0,5 ng/ml TPA (czynnik mitogenny – tetradecanoylphorbol-3-acetate). Najprawdopodobniej, w procesie prowadzącym do aktywacji kinazy MAP w komórkach ekspozowanych na pola elektromagnetyczne istotną rolę odgrywa kinaza białkowa C (PKC), (Nie, Henderson 2003).

Sugeruje się, że skutki biologiczne oddziaływania pól elektromagnetycznych na organizmy żywe są w znacznym stopniu konsekwencją modyfikacji błon komórkowych. Istnieją doniesienia wskazujące, że pole elektromagnetyczne przez oddziaływanie z białkami ułożonymi w błonach może wpływać na przezbłonowy transport jonów. Wykazano np. znaczny wpływ hemoglobiny z erytrocytów ekspozowanych na pola elektromagnetyczne o częstotliwości 2,45 GHz (Sajin i in. 2000). W tej samej pracy wykazano jednak również, że ekspozycja dłuższa niż 10 h miała skutek ochronny przed spontaniczną hemolizą. W eksperymentalnym modelu bariery krew-mózg z wykorzystaniem astrocytów izolowanych ze szczura i komórek endotelialnych naczyń włosowatych mózgu świni wykazano, że ekspozycja (1,8 GHz, SAR 0,3 W/kg) skutkuje istotnym zwiększeniem przepuszczalności bariery dla glukozy (Schirmacher i in. 2000).

Aktywność komórek jest bezpośrednio zależna od otrzymywanych z zewnątrz sygnałów, które przez białka ułożone w błonach są przekazywane dalej za pośrednictwem różnych szlaków sygnałowych. Istotną rolę odgrywa tutaj stężenie wapnia w cytoplazmie. Wewnątrzkomórkowe stężenie wapnia jest precyzyjnie kontrolowane i utrzymywane na poziomie 1000-krotnie mniejszym niż na zewnątrz komórki. Gwałtowny wzrost stężenia wapnia uruchamia w komórce szereg różnorodnych procesów, a ostateczny wynik jest zależny od rodzaju komórek, w których zachodzą. Zastosowanie barwników fluorescencyjnych specyficjnie wiążących jony wapnia pozwala nie tylko precyzyjnie określać jego ilość w komórkach, lecz także badać kinetykę jego przepływu przez błony komórkowe. W większości prac eksperymentalnych nie potwierdzono jednak wcześniejszych sugestii, że pole elektromagnetyczne może zaburzać homeostazę wapnia w komórkach przez zwiększenie jego poziomu w cytoplazmie. Nie wykazano

żadnych istotnych zmian stężenia wapnia w komórkach czy też jego wpływu przez błony do pożywki, eksponując w polu elektromagnetycznym tak różne komórki jak: linia ludzkich białaczkowych limfocytów T (915 MHz, SAR 1,5 W/kg) czy komórki ziarniste mózdzku i miocyty szczura (380 MHz, SAR 0,4 W/kg), (Cranfield i in. 2001; Tattersall i in. 2001).

Pomimo wcześniejszych sugestii nie stwierdzono, aby ekspozycja komórek lub tkanek na pola elektromagnetyczne prowadziła bezpośrednio do istotnych zmian w cząsteczkach białek strukturalnych czy funkcjonalnych. Na podstawie licznych doniesień wskazano jednak, że skutkiem ekspozycji może być zarówno spadek jak i wzrost aktywności różnych białek o funkcji enzymatycznej. Wykazano 26-procentowy spadek aktywności acetylocholinoesterazy (kluczowy enzym gwarantujący właściwe działanie synaps nerwowo-mięśniowych) w eksponowanych (2,45 GHz, 100 W/m²) mięśniach szkieletowych myszy. Obserwowany rezultat był najprawdopodobniej spowodowany modyfikacją przez pola elektromagnetyczne aktywności kinaz białkowych – enzymów regulujących aktywność innych białek (Safronowa i in. 2002). Inni autorzy obserwowali z kolei zwiększoną aktywność takich enzymów zawartych w surowicy krwi, jak fosfataza alkaliczna czy aminotransferaza asparaginianowa po kilkuminutowej ekspozycji odpowiednio na pola elektromagnetyczne 2,4 GHz i 390 MHz (80 mW/m²), (Pashovkina, Akoev 2001). Także aktywność syntazy tlenu azotu, cząsteczki odgrywającej niezwykle ważną rolę regulatorową w komórkach, wzrastała w komórkach makrofagów eksponowanych na pola elektromagnetyczne (600 Hz, SAR 0,106 W/kg). Inhibicję i NOS (zarówno na poziomie mRNA, jak i białka) powodowała także kilkunastogodzinna ekspozycja (50 Hz, 1 mT) ludzkich monocytów. Jednocześnie następował wzrost ekspresji MCP-1, co wskazuje, że pola elektromagnetyczne mogą modulować odpowiedź zapalną (Reale 2006).

Integralną składową wielofunkcyjnych kompleksów spajających ze sobą komórki nabłonkowe są glikoproteiny błonowe wchodzące w skład różnego typu połączeń międzykomórkowych. Złącza ścisłe (*zonula occludens*) i zwierające (*zonula adherens*) zapewniają nie tylko ścisły kontakt, lecz także wymianę informacji między komórkami m.in. za pośrednictwem białek rodziny Wnt. Wykazano, że pole elektromagnetyczne modyfikuje te złącza zarówno funkcjonalnie, jak również na poziomie supramolekularnym, zwiększając ekspresję białek budujących ww. złącza (okludyna, kadheryna, β-katenina) i przyczyniając się do ich stabilizacji (Somozy i in. 2004).

Osteocyty, podstawowe komórki kości, przekazują między sobą informacje za pośrednictwem, tzw. złącz szczelinowych (*gap junctions*). Wykazano, że ekspozycja komórek na impulsowe pola elektromagnetyczne (8 h/dzień, przez 4 dni) zwiększa w tych komórkach ekspresję fosfatazy alkalicznej, prostaglandyny E₂, a także TGF-β przez mechanizm zależny od Cox-1. Tak więc, komórki linii osteoblastycznej w odpowiedzi na pola elektromagnetyczne reagują zmianami w produkcji lokalnych czynników regulacyjnych i zmniejszoną ekspresją Cx43, co może być przyczyną zmniejszenia efektywności przekazywania sygnału za pośrednictwem złącz szczelinowych (Lohmann i in. 2003).

Ze względu na dużą dowolność zaplanowania warunków eksperymentalnych, jak i możliwość ich kontroli badania prowadzone w warunkach *in vitro* są szczególnie przydatne w badaniach mechanizmów oddziaływań różnych czynników, w tym pól elektromagnetycznych, na układy biologiczne. Wiele wysiłku włożono w sprawdzenie hipotezy, że skutki biologiczne ekspozycji na pola elektromagnetyczne są spowodowane zaburzeniami strukturalnymi cząsteczek białka. Pomimo jednak stosowania szero-

kiego zakresu częstotliwości, jak i czasu oddziaływania nie potwierdzono, aby ekspozycja na pola elektromagnetyczne o wartościach nieindukujących skutków termicznych zmieniała strukturę tych biomolekuł. Nie potwierdzono także hipotezy odnośnie do wpływu pól magnetycznych na reakcje biochemiczne przebiegające w komórkach wskutek tworzenia par rodników, jakkolwiek możliwość taka nadal jest brana pod uwagę. Dotychczasowe badania nie dostarczyły także przekonujących dowodów, że pole elektromagnetyczne ma bezpośrednie działanie kancerogenne lub, że istotnie zwiększa efektywność innych czynników o stwierdzonym potencjale kancerogennym. Na podstawie większości badań oceniających różnymi metodami genotoksyczność pól elektromagnetycznych otrzymano wyniki negatywne. Nie wykazano także istotnego wpływu pól na proliferację lub transformację komórek, poziom mutacji czy wymianę chromatyd siostrzanych. Wyniki badań oceniające powstawanie mikrojąder były rozbieżne, jednakże nawet w przypadku wyników pozytywnych ich znaczenie, w przypadku badania izolowanych populacji komórek, wydaje się być mało istotne biologicznie. Wyniki części badań wskazują, że pola elektromagnetyczne mogą modyfikować ekspresję genów w komórkach. Jednakże nie można wykluczyć, że obserwowane skutki spowodowane są raczej skutkami termicznymi, podobnie jak w przypadku wzrostu ekspresji białek szoku cieplnego po ekspozycji na pola elektromagnetyczne. Podobnie, pomimo stosowania bardzo różnych wartości pól i warunków ekspozycji nie potwierdzono, aby pola elektromagnetyczne zwiększały poziom jonów wapnia w komórkach lub jego przesunięcia między poszczególnymi kompartmentami komórkowymi.

Pomimo znacznej liczby opublikowanych prac trudno jest wysnuć jednoznacznie pozytywne lub negatywne wnioski odnośnie do oddziaływania pól elektromagnetycznych na komórki hodowane w warunkach *in vitro*. W chwili obecnej przeważa pogląd, że pola elektromagnetyczne nie mają energii wystarczającej do zerwania wiązań w biomolekułach, co jest powodem, że obserwowane skutki są niewielkie, często na granicy oznaczalności stosowanych metod.

Badania w warunkach *in vivo*

Głównym celem badań przeprowadzonych w warunkach *in vivo* na różnych modelach zwierzęcych jest wykazanie, czy, a jeśli tak, to w jakim stopniu, pola elektromagnetyczne wpływają na podstawowe procesy metaboliczne i fizjologiczne przebiegające w organizmach żywych. W większości badania te koncentrują się na wykazaniu czy ekspozycja na pola elektromagnetyczne o wartościach niegenerujących skutków termicznych zwiększa prawdopodobieństwo rozwoju nowotworów, zaburza proces reprodukcji i właściwego rozwoju lub uszkadza funkcję centralnego układu nerwowego.

W badaniach eksperymentalnych potwierdzenie lub wykluczenie roli pól elektromagnetycznych w rozwoju procesu nowotworowego opiera się na wykazaniu genotoksycznych uszkodzeń w komórkach różnych organów zwierząt poddawanych wcześniejszej ekspozycji. Metody oceny genotoksyczności są analogiczne do stosowanych w badaniach *in vitro* (np. powstawanie mikrojąder, aberracje chromosomalne). Liczne prace prowadzone na szczurach nie wykazały by ekspozycja na pola elektromagnetyczne zwiększała częstość mutacji w komórkach somatycznych, jak również płciowych tych zwierząt (Takahashi i in. 2002). Obserwowano natomiast nieznaczny spadek częstości mutacji spontanicznych u szczurów eksponowanych przez 25 dni na pola elektromagnetyczne 900 MHz (SAR 4 W/kg), (Sykes i in. 2001). Badania częstości powstawania mikrojąder w komórkach szpiku kostnego i krwi obwodowej izolowanych ze

szczurów eksponowanych na pole elektromagnetyczne o wartościach indukcji 2,45 GHz (SAR 12 W/kg) lub 1,6 GHz (SAR 1,6 W/kg) dały wyniki jednoznacznie negatywne (Vijayalaxmi i in. 2001a; 2001b; 2003).

Przeprowadzona w celu identyfikacji komórek zmienionych nowotworowo wskutek długotrwałych ekspozycji analiza histopatologiczna również nie wykazała, aby pola elektromagnetyczne zwiększały prawdopodobieństwo rozwoju nowotworowego. Pozytywny wynik uzyskano jedynie wówczas, gdy ekspozycji na pole elektromagnetyczne 900 MHz poddano samice myszy transgenicznych o zwiększonej podatności na raka (Repacholi i in. 1997). Jednak nawet te pojedyncze pozytywne wyniki nie zostały potwierdzone w późniejszych pracach, gdzie na pola elektromagnetyczne o częstotliwości 898,4 MHz eksponowano duże populacje zwierząt (Utteridge i in. 2003). Żadnego wpływu pól elektromagnetycznych na rozwój procesu nowotworowego nie wykazano również u myszy, u których indukowano nowotwór, naświetlając je promieniowaniem X, a następnie przez cały okres życia (78 tygodni) poddawano ekspozycji na promieniowanie radiofale 900 MHz (SAR 1,5 W/kg).

W innych pracach badano możliwość indukcji guzów mózgu u szczurów eksponowanych na pola elektromagnetyczne o częstotliwości radiofalej. Eksponując zwierzęta przez 24 miesiące na pola elektromagnetyczne o częstotliwości 836,55 lub 860 MHz nie wykazano żadnego wpływu ekspozycji na indukcję, zarówno spontaniczną, jak i indukowaną, guzów mózgu (Adey i in. 2000; La Regina i in. 2003; Zook, Simmens 2001) lub wręcz obserwowano skutek pozytywny przejawiający się niewielką inhibicją procesu rozwoju nowotworu (Adey i in. 1999). Nawet 3-letnia, a więc trwająca niemal całe życie, ekspozycja szczurów szczepu Sprague Dowley (900 MHz, SAR 17,5 ÷ 70 mW/kg), u których chemicznie indukowano raka piersi, nie wpływała w istotny sposób na częstotliwość występowania raka. Co więcej, w grupach zwierząt eksponowanych zmiany nowotworowe pojawiały się później niż w porównywalnych grupach kontrolnych (Bartch i in. 2002).

W badaniach dotyczących stosowania pól elektromagnetycznych do celów wojkowych, w których myszy o zwiększonej wrażliwości na indukcję nowotworów (szczep C3H/HeJ) eksponowano na szerokopasmowe pole elektromagnetyczne również nie wykazano żadnych negatywnych skutków w postaci zwiększonej zapadalności na raka piersi czy inne nowotwory (Jauchem i in. 2001). Podobnie, eksponując myszy SENCAR na promieniowanie o częstotliwości 94 GHz, a więc absorbowane głównie przez skórę, nie wykazano by wpływało ono na indukowany chemicznie (DMBA) rozwój raka skóry (Mason i in. 2001).

Tak więc, podsumowując wyniki większości dotychczasowych prac eksperymentalnych prowadzonych w warunkach *in vivo*, należy stwierdzić, że ekspozycja zwierząt na pola elektromagnetyczne w szerokim zakresie zarówno częstotliwości radiowych, jak i przemysłowych nie prowadzi do efektów genotoksycznych lub mutagennych.

Wiele prac poświęcono sprawdzeniu możliwości wpływu ekspozycji na pola elektromagnetyczne na zaburzenia płodności i ewentualne negatywne skutki na wczesnych etapach rozwoju organizmu. Proces spermatogenezy jest szczególnie wrażliwy na najmniejsze nawet wahania temperatury. Nic więc dziwnego, że jego zaburzenia obserwowano u zwierząt eksponowanych na pola elektromagnetyczne o poziomach generujących skutki termiczne. Jeżeli jednak stosowane warunki ekspozycji były odpowiednio małe, to skutku tego nie obserwowano. W pojedynczych pracach stwierdzano jednak zaburzenia w morfologii kanalików nasiennych jąder, jak również zwiększenie liczby uszkodzonych plemników u szczurów eksponowanych chronicznie na pola elektro-

gnetyczne o częstotliwości 9,45 GHz lub 890 ÷ 915 MHz (Akdag i in. 1999; Desdag i in. 1999). Nasilenie procesu apoptozy komórek szeregu spermatogenezy w kanalikach nasieniowców myszy Balb/c wykazano także w wyniku ciągłej ekspozycji na pola elektromagnetyczne o częstotliwości przemysłowej (60 Hz, 0,1 lub 0,5 mT, 24 h/dzień), (Lee i in. 2004).

Powszechnie wiadomo, że podczas rozwoju płodu etapem najbardziej wrażliwym na czynniki środowiskowe zarówno chemiczne, jak i fizyczne jest proces organogenezy. Także i w tym przypadku zwiększenie częstotliwości różnego typu uszkodzeń płodu obserwowano u zwierząt eksponowanych na pole elektromagnetyczne generujące skutki termiczne. Szczególnie często obserwowano w takich przypadkach zaburzenia rozwoju twarzoczaszki i układu kostnego, a przede wszystkim układu nerwowego (Brown-Woodman i in. 1988; Edwards i in. 2003).

Nawet niewielkie zaburzenia w powstawaniu i właściwej organizacji układu nerwowego, które nie są możliwe do wykrycia za pomocą dostępnych obecnie metod, mogą przekładać się na zaburzenia behawioralne u noworodków. Eksperyment, w którym szczury przez pierwsze 20 dni po urodzeniu eksponowano na pola elektromagnetyczne o częstotliwości 900 MHz, wykazał jednak, że nie miało to żadnego wpływu na żaden z przeprowadzanych testów behawioralnych (Bornhausen Mand Scheingraber 2000). Wykazano jednak, że pola elektromagnetyczne mogą działać synergistycznie ze związkami typu 2-metoksyetanolu w indukowaniu zaburzeń behawioralnych spowodowanych wpływem tych czynników na rozwój układu nerwowego w trakcie rozwoju embrionalnego (Cheever i in. 2001; Nelson i in. 2001).

Szczególnie wszechstronnie badana była możliwość wpływu pól magnetycznych na funkcjonowanie centralnego układu nerwowego, a w rezultacie zaburzeń neurobehawioralnych. Wyniki kilku prac sugerują, że ekspozycja zwierząt na pola elektromagnetyczne o wartościach zbyt małych by indukować skutki termiczne może wpływać na zdolność zwierząt do uczenia się i zapamiętywania (Hossmann, Herman 2003; Lai 2001). Badania dotyczące wpływu pól magnetycznych na pamięć przestrzenną narażonych zwierząt nie dały jednoznacznej odpowiedzi. Początkowe doniesienia o znacznym ograniczeniu zdolności poznawczych u zwierząt eksponowanych na pole 2,45 GHz przy 0,6 ÷ 1,2 W/kg nie zostały potwierdzone w innych badaniach, w tym również prowadzonych na myszach i szczurach eksponowanych na pole 900 MHz odpowiednio przy 0,05 W/kg i 1 ÷ 3 W/kg (Dubreuil i in. 2003; Sienkiewicz i in. 2000; Wang, Lai 2000).

Zaburzenia w funkcjonowaniu układu nerwowego mogą skutkować istotnymi wahaniami ciśnienia krwi, ponieważ jest ono precyzyjnie regulowane za pośrednictwem baroreceptorów zarówno przez centralny, jak i wegetatywny układ nerwowy. Wykazano, że ekspozycja szczurów na promieniowanie RF o szerokim zakresie częstotliwości (0,1 ÷ 1 GHz) skutkowało istotnym, długotrwałym spadkiem ciśnienia tętniczego u tych zwierząt (Lu i in. 1999).

Mechanizmy odpowiedzialne za ewentualne zaburzenia w obszarze centralnego układu nerwowego w wyniku ekspozycji na pola elektromagnetyczne są nieznane. Sugeruje się, że jedną z przyczyn może być wpływ na przepuszczalność bariery krew-mózg. W warunkach fizjologicznych szczelność tej bariery jest gwarantowana przez wyjątkowo silnie rozbudowane obwódki zwierające stanowiące nieprzepuszczalne połączenia między komórkami śródbłonna naczyń, jak również komórkami nabłonka wyścielającego spłoty naczyniowe i komory mózgu. Wcześniejsze doniesienia, że ekspozycja szczurów na pola elektromagnetyczne zwiększa przepuszczalność bariery krew-mózg są ostatnio kwestionowane, gdyż okazało się, że w warunkach przeprowadzonego eksperymentu

nie uniknięto problemu z istotnym wzrostem temperatury ciała w wyniku ekspozycji (Krewski i in. 2001; Zmirou 2001). Większość publikacji, w których przepuszczalność bariery krew-mózg jest najczęściej badana z zastosowaniem metod immunohistochemicznych wskazuje – pomimo stosowania szerokiego zakresu częstotliwości i czasu ekspozycji – na brak istotnego rezultatu (Finnie i in. 2001; 2002; Tsurita i in. 2000). Należy jednak zaznaczyć, że nadal pojawiają się prace, których wyniki wskazują, że pomimo uniknięcia skutku termicznego ekspozycja na pola elektromagnetyczne zmienia przepuszczalność bariery krew-mózg. Przykładowo, u wielu zwierząt eksponowanych na ciągłe lub impulsowe pola elektromagnetyczne o wartościach od 4 do 217 MHz i czasie ekspozycji od 2 min do 16 h stwierdzono istotny wzrost przepuszczalności bariery krew-mózg dla endogennej albuminy. Wykazano także, że nawet 2-godzinna, jednorazowa ekspozycja młodych szczurów na pola elektromagnetyczne o częstotliwości 896 MHz powoduje wzrost przepuszczalności bariery dla albuminy i w konsekwencji potwierdzone analizą histopatologiczną uszkodzenie neuronów w różnych obszarach mózgu (Salford i in. 2003).

Innym z sugerowanych mechanizmów wpływu pól elektromagnetycznych na funkcję układu nerwowego, są zmiany w ekspresji i poziomie różnych neurotransmiterów. Badanie poziomu neurotransmiterów za pomocą komputerowej analizy obrazu skrawków histologicznych barwionych metodą immunohistochemiczną wykazało, że ekspozycja na impulsowe pole 900 MHz prowadzi do istotnego zmniejszenia poziomu GABA w komórkach Purkiniego mózdzku szczurów (Musset, de Seze 2001). Ciekawe wyniki uzyskano, badając uwalnianie acetylocholinę z hipokampa szczurów eksponowanych na pola elektromagnetyczne o różnych parametrach. Zwierzęta eksponowano na ciągłe działanie pól elektromagnetycznych o częstotliwości 2,45 GHz przez 1 h dziennie lub 800 MHz modulowane przy 32 Hz. Uwalnianie acetylocholinę mierzono metodą mikrodializy po wcześniejszym zaimplantowaniu szczurowi półprzepuszczalnej membrany w okolicę CA1 hipokampa. O ile ekspozycja na pole o częstotliwości 2,45 GHz przy 3,26 W/kg nie dawała żadnego rezultatu, to zwiększenie poziomu ekspozycji do 6,25 W/kg skutkowało znacznym spadkiem uwalniania acetylocholinę z hipokampa, nawet kilkanaście godzin po zaprzestaniu ekspozycji. Podobnie, o ile 1-godzinna ekspozycja na pole o częstotliwości 800 MHz przy 0,3 W/kg nie dawała żadnego rezultatu, to wydłużenie czasu ekspozycji do 14 h powodowało istotne zaburzenia w uwalnianiu acetylocholinę (Testylier i in. 2002).

Kolejnym mechanizmem, który próbowano weryfikować w badaniach, był wpływ pól elektromagnetycznych na ekspresję genów w komórkach różnych tkanek i narządów eksponowanych zwierząt. Szczególną uwagę zwracano przy tym na takie geny, tzw. wczesnej odpowiedzi komórkowej, jak: fos, jun lub geny kodujące białka stresu, jak hsp-70. Niewielki wzrost ekspresji tych genów obserwowano jednak jedynie wówczas, gdy parametry ekspozycji powodowały skutki termiczne (Morrissey i in. 1999; Stagg i in. 2001).

System immunologiczny jest jednym z głównych mechanizmów protekcyjnych organizmu, a wchodzące w jego skład komórki NK będące subpopulacją limfocytów potrafiącą rozpoznawać i niszczyć obce lub zmodyfikowane komórki, odpowiadają w dużej mierze za niszczenie powstających komórek nowotworowych. Badania na świnkach morskich wykazały, że ekspozycja zwierząt na pole elektromagnetyczne (50 Hz, 2 mT) hamuje aktywność komórek NK, co może być jednym z mechanizmów wyjaśniających zwiększone ryzyko raka (Canseven i in. 2006).

Wykazano ponadto, że pole elektromagnetyczne (24 h, 50 Hz, 1 mT) stymuluje funkcje fizjologiczne mysich makrofagów, powodując wzrost ich aktywności fagocytarnej, produkcję IL-1b oraz wolnych rodników (*Frahm i in.* 2006).

Podsumowując wyniki badań eksperymentalnych prowadzonych na różnych modelach zwierzęcych, należy stwierdzić, że nie wykazały one jednoznacznie negatywnego wpływu ekspozycji na pola elektromagnetyczne zarówno o częstotliwościach przemysłowych (50/60) Hz), jak i radiofalowych (rzędu MHz – GHz) na większość analizowanych parametrów. Nie wykazano by pola elektromagnetyczne o wartościach niegenerujących skutku termicznego miały bezpośredni potencjał kancerogeny. Nie potwierdzono także by ekspozycja na pola elektromagnetyczne zwiększała skutek znanych chemicznych związków kancerogennych lub wpływała na przyspieszony rozwój nowotworów implantowanych zwierzętom doświadczalnym. Badania przeprowadzone na dużych populacjach zwierząt, głównie myszy i szczurów, wykazały, że pola elektromagnetyczne nie wpływają istotnie na zmniejszenie płodności, jak również nie stanowią istotnego zagrożenia dla rozwijającego się płodu. Wyniki badań eksperymentalnych na zwierzętach wykazały jednak pewien wpływ pól elektromagnetycznych na zachowania behawioralne, a więc związane z funkcjonowaniem układu nerwowego. Wśród możliwych mechanizmów rozważa się, wykazany w kilku pracach, wpływ pól elektromagnetycznych na wydzielanie różnych neurotransmiterów, w tym głównie acetylocholiny.

PODSUMOWANIE

Pytanie o negatywne konsekwencje ekspozycji na pola elektromagnetyczne dla zdrowia ludzi nadal pozostaje bez jednoznacznej odpowiedzi. Dotyczy to zarówno instalacji i urządzeń emitujących w zakresie bardzo niskich częstotliwości, głównie częstotliwości przemysłowej, jak również emisji z urządzeń komunikacyjnych pracujących w zakresie częstotliwości radiowych. Skutki biologiczne ekspozycji na pole elektromagnetyczne są często odnotowywane, aczkolwiek ich realny wpływ na zdrowie ludzi jest ciągle dyskutowany. Głównym problemem wydaje się być brak jednoznacznie określonego mechanizmu oddziaływania pól elektromagnetycznych z żywą materią. Istnieje wiele hipotez, jednak żadna z nich nie została jednoznacznie i ostatecznie potwierdzona w badaniach eksperymentalnych. Problem jest złożony, gdyż w żywej komórce pole elektromagnetyczne może oddziaływać na różne jej składowe, systemy czy przebiegające złożone procesy. Ponieważ jest mało prawdopodobne, że pola elektromagnetyczne mogą bezpośrednio indukować uszkodzenia DNA, dlatego większość badań koncentruje się na wpływie pól elektromagnetycznych na błony komórkowe, ekspresję genów czy szlaki sygnałowe związane z ich aktywacją. Wiele prac dotyczy ponadto takich aspektów, jak: proliferacja i różnicowanie komórek, regulacja cyklu komórkowego, metabolizm czy różne aspekty fizjologicznej odpowiedzi komórek na ekspozycję na pola elektromagnetyczne. Pomimo, że pola elektromagnetyczne nie wywołują bezpośrednio skutku cytotoksycznego, to jednak jest możliwe, że zaburzają inne procesy komórkowe, co pośrednio może prowadzić do skutków genotoksycznych. Kluczową rolę może odgrywać w tym względzie indukowany przez pola elektromagnetyczne wzrost poziomu wolnych rodników w komórce. Wolne rodniki są nieustannie generowane w przebiegu wielu fizjologicznych procesów przebiegających w każdej żywej komórce, np. w metabolizmie mitochondriów. Są one produkowane w znacznej liczbie w komórkach aktywowanych przez stan zapalny, fagocytyujących, jak również metabolizujących ksenobiotyki z

udziałem cytochromu P450. Sugeruje się, że pola elektromagnetyczne mogą być czynnikiem stymulującym aktywność tych komórek, co prowadzi do zwiększonego wyrzutu wolnych rodników i w konsekwencji efektów genotoksycznych w postaci pęknięć nici DNA czy aberracji chromosomalnych. Szczególnie groźna wydaje się być długotrwała ekspozycja na pola elektromagnetyczne, gdyż podniesiony trwale poziom wolnych rodników nie tylko zwiększa prawdopodobieństwo uszkodzeń genomu, lecz także wpływa na utrwalenie tych zmian, a w konsekwencji zwiększa prawdopodobieństwo rozwoju procesu nowotworowego.

Maksymalnie dopuszczalne poziomy ekspozycji i inne działania regulacyjne podejmuje się głównie na podstawie wyników badań epidemiologicznych. Badania laboratoryjne dostarczające ciągle nowych istotnych informacji dotyczących wpływu pól elektromagnetycznych na organizmy żywe często bywają przeoczone. Niemniej jednak coraz więcej prac eksperymentalnych, przeprowadzonych zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* wskazuje, że pola elektromagnetyczne o różnej częstotliwości mogą wpływać na wiele systemów biologicznych, nawet przy stosunkowo niskim poziomie pola oraz czasu jego oddziaływania. Badania nad stresem komórkowym indukowanym przez pole elektromagnetyczne wskazują, że odpowiedź komórkowa na pola elektromagnetyczne jest podobna, niezależnie czy komórki są indukowane przez pola o częstotliwościach przemysłowych czy radiofalowych, a więc o bardzo różnych poziomach energii. Jeśli więc protekcyjna odpowiedź komórki nie jest bezpośrednio zależna od poziomu zaabsorbowanej energii, to standardy bezpieczeństwa przygotowywane na podstawie wyników badań doświadczalnych powinny uwzględniać zarówno zakres poziomu ekspozycji o oddziaływaniach nietermicznych, jak również skutek kumulacji ekspozycji w szerokim spektrum stosowanych częstotliwości.

PIŚMIENNICTWO

Adey W.R. i in. (1999) Spontaneous and nitrosourea-induced primary tumours of the central nervous system in Fischer 344 rats chronically exposed to 836 modulated microwaves. *Radiat. Res.* 152, 293–302.

Adey W.R. i in. (2000) Spontaneous and nitrosourea-induced primary tumours of the central nervous system in Fischer 344 rats chronically exposed to frequency modulated microwave fields. *Cancer Res.* 60, 1857–63.

Akdag M.Z. i in. (1999) Effect of chronic low-intensity microwave radiation on sperm count, sperm morphology, and testicular and epididymal tissue of rats. *Electro. Magnetobiol.* 18(2), 135–45.

Alfieri R.R. i in. (2006) Increased levels of inducible HSP70 in cells expose to electromagnetic fields. *Radiat. Res.* 165, 95–104.

Astumian R.D. (2003) Adiabatic pumping mechanism for iron motive ATPases. *Phys. Rev. Lett.* 91(11), 118102.

Balzano Q. (2002) Proposed test for detection of non-linear responses in biological preparations exposed to RF energy. *Bioelectromagnetics* 23, 278–87.

Bartch H. i in. (2002) Chronic exposure to a GSM-like signal (mobile phone) does not stimulate the development of DMBA induced mammary tumours in rats: results of three consecutive studies. *Radiat Res.* 2002, 157, 183-90.

- Bisht K.S.* i in. (2002) The effect of 835.62 MHz FDMA or 847.74 MHz CDMA modulated radiofrequency radiation on the induction of micronuclei C3H 10T (1/2) cells. *Radiat Res.* 157, 506–515.
- Bohr H., Bohr J.* (2000) Microwave enhanced kinetics observed in ORD studies of a protein. *Bioelectromagnetics* 21, 68–72.
- Bornhausen Mand Scheingraber H.* (2000) Prenatal exposure to 900 MHz, cell-phone electromagnetic fields had no effect on operant behavior performances of adult rats. *Bioelectromagnetics.* 21, 566–74.
- Brown-Woodman P.D.* i in. (1988) Teratogenic effects of exposure to radiofrequency radiation (27,12 MHz) from a shortwave unit. *Industrial Health,* 26, 1–10.
- Canseven A.G.* i in. (2006) Suppression of natural killer cell activity on candida stellatoidea by 50 Hz magnetic field. *Electromagnet. Biol. Med.* 25, 79–85.
- Cheever K.L.* i in. (2001) 2-methoxymethanol metabolism, embryonic distribution, and molecular adduct formation in the rat: the effect of radiofrequency radiation – induced hyperthermia. *Toxicol. Lett.* 122, 53–67.
- Chidichimo G.* i in. (2002) Selective inhibition of tumoral cells growth by low power millimeter waves. *Anticancer Res.* 22, 1681–8.
- Cho Y.H., Chung H.W.* (2003) The effect of extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EMF) on the frequency of micronuclei and sister chromatid exchange in human lymphocytes induced by benzo(a)pyrene. *Toxicol. Lett.* 143, 37–44.
- Cranfield C.G.* i in. (2001) Effects of mobile phone type signals on calcium levels within human leukaemic T-cells (Jurkat cells). *Int. J. Radiat. Biol.* 77, 1207–17.
- Crumpton M.J., Collins A.R.* (2004) Are environmental electromagnetic fields genotoxic?, *DNA Repair,* 3, 1385–1387.
- Czyz J.* i in. (2004) Non-thermal effects of power-line magnetic fields (50 Hz) on gene expression levels of pluripotent embryonic stem cells – the role of tumor suppressor p53. *Mutation Res.* 557, 63–74.
- D'Ambrosio G.* i in. (2002) Cytogenetic damage in human lymphocytes following GSMK phase modulated microwave exposure. *Bioelectromagnetics* 23, 7–13.
- Desdag S.* i in. (1999) Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urol. Res.* 27, 219–23.
- Di Carlo A.* i in. (2002) Chronic electromagnetic field exposure decreases HSP70 levels and lowers cytoprotection. *J. Cell. Biochem.* 84, 447–54.
- Dubreuil D., Jay T.M., Edeline J.M.* (2003) Head-only exposure to GSM-900 MHz electromagnetic fields does not alter rat's memory in spatial and non spatial tasks. *Behav. Brain. Res.* 145, 51–61.
- Edwards M.J., Saunders R.D., Shiota K.* (2003) Effects of heat on embryos and fetuses. *Int. J. Hyperther.* 19(3), 295–324.
- Finnie J.W.* i in. (2001) Effect of global system for mobile communication (GSM)-like radiofrequency fields on vascular permeability in mouse brain. *Pathology.* 33, 338–40.
- Finnie J.W.* i in. (2002) Effect of long-term mobile communication microwave exposure on vascular permeability in mouse brain. *Pathology.* 34(4), 344–7.
- Frahm J.* i in. (2006) Alteration in cellular functions in mouse macrophages after exposure to 50 Hz magnetic fields. *J. Cell. Biochem.* 99, 168–177.

- Higashibuko R.* i in. (2001) Radiofrequency electromagnetic fields do not alter the cell cycle progression of C3H 10T1/2 and U87MG cells. *Radiat. Res.* 156, 786–95.
- Hossman K.A., Hermann D.M.* (2003) Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. *Bioelectromagnetics.* 24, 49–62.
- Ivancsits S.* i in. (2003) Intermittent extremely low frequency electromagnetic fields cause DNA damage in a dose dependent way. *Int. J. Occup. Environ. Health.* 76, 431–436.
- Ivancsits S.* i in. (2005) Cell type specific genotoxic effects of intermittent extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutat. Res.* 583, 184–188.
- Jauchem J.R.* i in. (2001) Repeated exposure of C3H/HeJ mice to ultra-wideband electromagnetic pulses: lack of effects on mammary tumours. *Radiat. Res.* 155, 369–77.
- Khalil A.M., Qassem W.F., Suleiman M.M.* (1993) A preliminary study on the radiofrequency field-induced cytogenetic effects cultured human lymphocytes. *Dirasat,* 20, 121–30.
- Krewski D.* i in. (2001a) Potential health risks of radiofrequency fields from wireless telecommunication devices. *J. Toxicol. Environ Health B. Crit. Rev.* 4, 1–143.
- Kwee S., Raskmark P., Velizarov S.* (2001) Changes in cellular proteins due to environmental non-ionizing radiation. 1. Heat-shock proteins. *Electro-Magnetobiology* 20, 141–52.
- La Regina M.* i in. (2003) The effect of chronic exposure to 835.62 FDMA or 847.74 MHz CDMA radiofrequency radiation on the incidence of spontaneous tumours in rats. *Radiat. Res.* 160, 143–51.
- Lai H.* (2001) Memory and behavior. [W:] *Biological Effects. Health Consequences and Standards for Pulsed Radiofrequency Fields.* Oberschleissheim. ICNIRP 11/2001 193–209.
- Lee J.S.* i in. (2004) Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian. J. Androl.* 6, 29–34.
- Leszczyński D.* i in. (2002) Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer and blood-brain barrier related effects. *Differentiation* 70, 120–29.
- Lohmann C.H.* i in. (2003) Pulsed electromagnetic fields affect phenotype and connexin 43 protein expression in MLO-Y4 osteocyte-like cells. *J. Orthop. Res.* 21, 326–334.
- Lu S.T.* i in. (1999) Ultrawide band electromagnetic pulses induced hypotension in rats. *Physiol Behav.* 65(4/5), 753–61.
- Luceri C.* i in. (2005) Extremely low frequency electromagnetic fields do not affect DNA damage and gene expression profiles of yeast and human lymphocytes. *Radiat. Res.* 164, 277–285.
- Maes A., Collier M., Verchaeve L.* (2001) Cytogenetic effects of 900 MHz(GSM) microwaves on human lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 22, 91–6.
- Mairs R.J.* i in. (2007) Microsatellite analysis for the determination of mutagenicity of extremely low-frequency electromagnetic fields and ionizing radiation in vitro. *Mutat. Res.* 626, 34–41.
- Mashevich M.* i in. (2003) Exposure of human peripheral blood lymphocytes to electromagnetic fields associated with cellular phones leads to chromosomal instability. *Bioelectromagnetics* 24, 82–90.
- Mason P.A.* i in. (2001) Lack of effect of 94 GHz radio frequency radiation exposure in an animal model of skin carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 22(10), 1701–8.
- Morrissey J.J.* i in. (1999) Iridium exposure increases c-fos expression in the mouse brain only at levels which likely result in tissue heating. *Neuroscience.* 92(4), 1539–46.

- Musset A.L., Seze R.* (2001) Montpeyroux Fand Privat A. Effects of radiofrequency exposure on the GABAergic system in the rat cerebellum: clues from semi-quantitative immunohistochemistry. *Brain Res.* 912, 33–46.
- Natarajan M.* i in. (2002) NF-kappa B DNA-binding activity after high peak power pulsed microwave (8.2 GHz) exposure of normal human monocytes., *Bioelectromagnetics* 23, 271–7.
- Nelson B.K., Snyder D.L., Shaw P.B.* (2001) Developmental toxicity interactions of methanol and radiofrequency radiation or 2-methoxymethanol in rats. *Int. J. Toxicol.* 20, 89–100.
- Nie K., Henderson A.* (2003) MAP kinase activation in cells exposed to 60 Hz electromagnetic field. *J. Cell. Biochem.* 90, 1197–1206.
- Pacini S.* i in. (2002) Exposure to global system for mobile communication (GSM) cellular phone radiofrequency alters gene expression proliferation, and morphology of human skin fibroblasts. *Oncol Res.* 13, 19–24.
- Pashovkina M.S., Akoev I.G.* (2001) Effect of low intensity pulse modulated microwaves on blood aspartate aminotransferase enzymatic system. *Radiatsionnaya Biologiya Radioekologiya* 41, 59–61.
- Pirozzoli M.C.* i in. (2003) Effects of 50 Hz electromagnetic field exposure on apoptosis and differentiation in a neuroblastoma cell line. *Bioelectromagnetics* 24, 510–516.
- Port M.* i in. (2006) Influence of high-frequency electromagnetic fields on different modes of cell death and gene expression. *Int. J. Rad. Biol.* 79, 701–708.
- Reale M.* i in. (2006) Modulation of MCP-1 and iNOS by 50-Hz sinusoidal electromagnetic field. *Nitric Oxide* 15(1), 50–57.
- Repacholi M.H.* i in. (1997) Lymphomas in Eu-Pim 1 transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz electromagnetic fields. *Radiat. Res.* 147, 631–40.
- Roti J.L.* i in. (2001) Neoplastic transformation in C3H 10T1/2 cells after exposure to 835.62 MHz FDMA and 847.74 MHz CDMA radiations. *Radiat. Res.* 155, 239–47.
- Safronova V.G., Gabdoulkhakova A.C., Santalov B.F.* (2002) Immuno-modulating action of low intensity millimetre waves on primed neutrophils. *Bioelectromagnetics* 23, 599–606.
- Sajin G., Kovacs E., Moraru R.P.* (2000) Cell membrane permeabilization of human erythrocytes by athermal 2450MHz microwave radiation. *IEEE Trans Microwave Theor Techniques* 48, 2072–5.
- Salford L.G.* i in. (2003) Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones. *Environ Health Persp.* 111, 881–3.
- Sapareto S.A., Li G.C., White K.A.* (1982) Microwave cytotoxicity: lack of in vitro evidence for nonthermal effects at high power levels. *Radiat. Res.* 89, 124–33.
- Schirmacher A.* i in. (2000) Electromagnetic fields (1.8 GHz) increase the permeability to sucrose of the blood-brain barrier in vitro. *Bioelectromagnetics* 21, 338–45.
- Sienkiewicz Z.J.* i in. (2000) Low-level exposure to pulsed 900 MHz microwave radiation does not cause deficits in the performance of a spatial memory task. *Bioelectromagnetics.* 21, 158–9.
- Simko M., Mattsson M.O.* (2004) Extremely low frequency electromagnetic fields as effectors of cellular responses in vitro: possible immune cell activation. *J. Cell. Biochem.* 93, 83–92.
- Somozy Z.* i in. (2004) Alteration of tight and adherens junctions on 50 Hz magnetic field exposure in Madin Darby canine kidney (MDCK) cells. *Scientific World J.* 4(suppl. 2), 75–82.

- Stagg R.B. i in. (2001) Effect of immobilization and concurrent exposure to a pulse-modulated microwave field on core body temperature, plasma ACTH and corticosteroid and brain ornithine decarboxylase. Fos and Jun mRNA. *Radiat. Res.* 155, 584–92.
- Sykes P.J. i in. (2001) Effect of exposure to 900 MHz radiofrequency radiation on intrachromosomal recombination in pKZ1 mice. *Radiat. Res.* 156, 4955–502.
- Takahashi S. i in. (2002) Lack of mutation induction with exposure to 1.5 GHz electromagnetic near fields used for cellular phones in brains of Big Blue mice. *Cancer Res.* 62(7), 1956–60.
- Tattersall J.E.H. i in. (2001) Effects of low intensity radiofrequency electromagnetic fields on electrical activity in rat hippocampal slices. *Brain Res.* 904, 43–3.
- Testylier G. i in. (2002) Effects of exposure to low level radiofrequency fields on acetylcholine release in hippocampus of freely moving rats. *Bioelectromagnetics.* 23, 249–55.
- Tian F. i in. (2002) Exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields induced hsp at a high SAR of more than 20Wkg^{-1} in human glioma MOS4 cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 78, 433–40.
- Tice R.R. i in. (2002) Genotoxicity of radiofrequency signals. I. Investigation of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells. *Bioelectromagnetics* 23, 113–26.
- Tokalov S., Gutzeit H.O. (2004) Weak electromagnetic fields (50 Hz) elicit a stress response in human cells. *Environ. Res.* 94, 145–151.
- Tsurita G. i in. (2000) Biological and morphological effects on the brain after exposure of rats to a 1439 MHz TDMA field. *Bioelectromagnetics.* 21, 364–71.
- Utteridge T.D. i in. (2003) Response to letters sent by (1) Kundi, (2) Goldstein/Keifets/van Deventer/Rapacholi and (3) Lerchel. *Radiat. Res.* 159, 274–8.
- Vijayalaxmi D.Z. i in. (2001a) Chromosome damage and micronucleus formation in human blood lymphocytes exposed in vitro to radiofrequency radiation at a cellular telephone frequency (847.74MHz CDMA). *Radiat. Res.* 156, 430–33.
- Vijayalaxmi D.Z. i in. (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, 113–21.
- Vijayalaxmi D.Z. i in. (2003) Genotoxic potential of a 1.6GHz wireless communication signal: in vivo two year bioassay. *Radiat Res.* 159, 558–64.
- Wang Y.P. i in. (2001) Experimental study of apoptosis and its molecular mechanisms of nasopharyngeal carcinoma cell induced by millimeter wave irradiation. *J. Infrared Millimeter Waves* 20, 283–6.
- Wang Y.P., Lai H. (2000) Acute exposure to pulsed 2450MHz microwaves affects water maze performance of rats. *Bioelectromagnetic.* 21, 52–6.
- Wolf F.J. i in. (2005) 50 Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of redox mechanism. *Biochim. Biophys. Acta* 1743, 120–129.
- Zmirou D. (2001) Mobile phone, their base stations and health. Current state of knowledge and recommendations. Report to the French Health Directorate (Chairman; D Zmirou). Paris, Direction Generale de la Sante.
- Zook B.C., Simmens S.J. (2001) The effects of 860MHz radiofrequency radiation on the induction or promotion of brain tumours and other neoplasms in rats. *Radiat. Res.* 155, 572–83.
- Zotti-Martelli L. i in. (2000) Induction of micronuclei in human lymphocytes exposed in vitro to microwave radiation. *Mutat. Res.* 472, 51–8.

RYSZARD WIADERKIEWICZ

Biological effects of exposure to electromagnetic fields – an experimental study

A b s t r a c t

The paper is a review of experimental studies on the effects of electromagnetic fields on biological processes in living organisms. It presents the methods used and analyses the results obtained with different experimental approaches.