

Schutzeffekt des Waveex Chips gegen Handystrahlung nachgewiesen anhand der Entwicklung des Wachtelembryos

Doktoren Igor Yakymenko¹, Olexandr Tsybulin², Anatoliy Burlaka³

¹ Abteilung für Biochemie und Umweltkontrolle, Nationale Universität für Lebensmitteltechnologien, Kiew, Ukraine;

² Labor für Biophysik, Bila Tserkva Nationale Agrar-Universität, Bila Tserkva, Ukraine;

³ Laboratorium für Biophysik, Institut für Experimentelle Pathologie, Onkologie und Radiobiologie der NAS der Ukraine, Kiew

Juni 2017

Ziel: Die Wirkung des Waveex-Chips auf die biologische Aktivität der Mobiltelefon-Strahlung zu untersuchen.

Materialen und Methoden:

Biologisches Modell: Wachtel Embryonen *in ovo*. Frische Bruteier vom lokalen Produzenten.

Mobiltelefone: Kommerzielle Modelle von Huawei 5YII, neu (GSM 1800 MHz), aus dem lokalen Handy-Shop.

Waveex Chip: Neu, vom Produzenten.

Chemischer Bedarf: Anwendbar für biochemische Tests, meist von Sigma Aldrich.

Inkubatoren: Schaumstoff, automatische Thermoregulation, speziell für die EMF-Tests hergestellt, vorab getestet.

MW-Meter: HF-Feldstärkemessgerät (Alfalab, USA).

Andere Laborgeräte: Spektrophotometer Specol 80 (Deutschland), ESR-Spektrometer RE 1307 (Russland)

Testdesign: Für jeden Test wurden drei analoge Gruppen frischer Bruteier (n = 10-15) gebildet:

1) als unverarbeitetes Testmuster (C); 2) der Strahlung aus dem Mobiltelefon (H) ausgesetzt, Abb. 1; 3) der Strahlung aus dem Mobiltelefon mit angeschlossenem Waveex-Chip ausgesetzt (H + W), Abb. 2, 3.. Die Gruppen H und H + W wurden in dem Zeitraum von 5 Tagen vor der Inkubation und 14 Tage während der Inkubation (Raumtemperatur) der Strahlung ausgesetzt, insgesamt 19 Tage. Die Mobiltelefone wurden 3 cm über dem Brutei platziert, die Rückseite des Telefons zeigte auf die Eier. Die Mobiltelefone wurden mithilfe des automatischen Wahlwiederholungssystems (48 c - Ein; 48 c - Aus) ein- und ausgeschaltet. Vor der Inkubation wurden die Gruppen mindestens 2 m voneinander getrennt gehalten. Die Inkubation wurde in drei verschiedenen Inkubatoren durchgeführt, getrennt für jede Gruppe. Der Abstand zwischen

den Inkubatoren betrug mindestens 2 m. Die Bedingungen der Inkubation und die Aufbewahrung der Eier vor der Inkubation waren für alle drei Gruppen gleich, außer der Strahlenexposition bei den Gruppe H und H + W. Der Parameter der Inkubation war nahezu optimal.

Es gab drei Analysebegriffe: 38 Stunden alte Embryonen, 10 Tage alte Embryonen; und Eintagsküken (nach 17 Tagen Inkubation).

Die Embryonen und Küken wurden getestet auf:

- die Intensität der Somitogenese (38 h Embryonen);
- Niveau der Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBA-RS), Indikator des Lipidperoxidgehalts (38 h Embryonen);
- Antioxidans-Enzymaktivitäten (Katalase, Superoxid-Dismutase /SOD und Ceruloplasmin) (38 h Embryonen);
- Doppelstrangbrüche der DNS (38 h Embryos);
- Superoxid- und Stickoxidproduktion (10 Tage Embryonen, Eintagsküken);
- Niveau von 8-oxo-dG, Marker von oxidativen Schäden an der DNS (Eintagsküken).

Die Analyse der Somitogenese, Tests auf TBA-RS und Antioxidans-Enzym-Aktivitäten wurden wie in [1] beschrieben durchgeführt. Der Ceruloplasmin-Test ist in [2] beschrieben. Das Niveau der DNS-Doppelstrangbrüche im Comet-Assay wurde wie in [3] beurteilt. Die Superoxid- und Stickoxidproduktion wurde anhand der Spin-Traps-ESR-Technik [4] beurteilt. Der Gehalt an 8-oxo-dG wurde wie in [4] beschrieben beurteilt. Die statistische Analyse wurde nach dem Student-t-Test durchgeführt.

Die Intensität der Mikrowellen (MW) aus Mobiltelefonen und dem MW-Hintergrund wurden täglich überprüft.

Ergebnisse:

Die von den Mobiltelefonen ausgehende **MW-Intensität** variierte während der Zeit der Strahlenaussetzung signifikant von 0,05 bis 20 $\mu\text{W} / \text{cm}^2$, korrelierte jedoch zwischen den Mobiltelefonen, was auf äußere Gründe hindeutet, beispielsweise eine Änderung des Betriebszustandes der nächsten Base Transceiver Station. Trotzdem lag die durchschnittliche Intensität der MW aus den Mobiltelefonen von $0,323 \pm 0,054 \mu\text{W} / \text{cm}^2$ weit unter den offiziellen Sicherheitsgrenzen von $450 \mu\text{W} / \text{cm}^2$ für die meisten europäischen Länder. Es wurde kein Unterschied in der Intensität von MW aus Mobiltelefonen ohne und mit Waveex-Chip festgestellt. Der Hintergrund-MW-Wert im Labor betrug etwa $0,001 \mu\text{W} / \text{cm}^2$.

38 Stunden Embryonen:

Die **Intensität der Somitogenese** erhöhte sich unter Mobiltelefon-Strahlenbelastung (Gruppe H) statistisch signifikant. Dies bedeutet, dass die Anzahl differenzierter Somiten-Paare im Vergleich zur Kontrolle um 13,4% höher war (Tabelle 1, Abb. 4-6). Die Benutzung von Waveex normalisierte die Wirkung der Handy-Exposition, die Anzahl der differenzierten Somiten sank wieder auf den Wert der Kontrollebene. Der Unterschied zwischen Gruppe H und Gruppe H + W war statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Die **DNS-Doppelstrangbrüche**, die im alkalischen Comet-Assay nachgewiesen wurden, waren statistisch signifikant (17,5%) höher in embryonalen Zellen, die der Mobiltelefonstrahlung ausgesetzt waren, im Vergleich zur Kontrollgruppe (Tabelle 1, Abb. 7-9). Gleichzeitig waren die DNS-Schäden in Zellen von Embryonen, die der Mobiltelefonstrahlung mit einem Waveex-Chip ausgesetzt waren, auf dem gleichen Niveau wie bei den Kontroll-Embryonen.

Oxidativer Effekt. Die Mobilfunkbelastung zeigte signifikante oxidative Effekte in den Embryozellen (Gruppe H): das Niveau von TBA-RS (Lipidperoxide) war im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant höher, 611%, $p < 0,05$ (Tabelle 1), die Ceruloplasmin-Aktivität in dieser Gruppe war 110% ($p < 0,05$) höher als in der Kontrollgruppe, und die Katalaseaktivität war um 60,2% höher als bei der Kontrollgruppe (wobei der letzte Unterschied nicht statistisch signifikant war).

Wurde der Waveex-Chip am Mobiltelefon angebracht, normalisierte er statistisch signifikant den oxidativen Status von exponierten Embryozellen (Gruppe H + W): das TBA-RS-Niveau, die Aktivitäten von Ceruloplasmin und Katalase waren nahe an der Kontrollgruppe. Somit war das TBA-RS-Niveau und die Aktivität von Ceruloplasmin in der H + W-Gruppe signifikant ($p < 0,05$ - $0,001$) niedriger als in der H-Gruppe (Tabelle 1). Die Aktivitäten von SOD wurden in beiden exponierten Gruppen nicht signifikant verändert und waren somit nahe an der Kontrollgruppe.

Zehn Tage Embryonen:

Die **Superoxid-Radikalerzeugung** war statistisch signifikant, 140 - 210%, erhöht in Zellen des Gehirns, des Herzens und der Leber von 10-tägigen Embryonen, die der Mobiltelefonstrahlung ausgesetzt waren, verglichen mit der Kontrollgruppe (Tabelle 2). Das gleiche Niveau der Die

Superoxydbildung wurde in der Gruppe von 10-tägigen Embryonen, die der Mobiltelefonstrahlung mit Waveex-Chip- ausgesetzt waren, nachgewiesen.

Die **Stickstoffoxidbildung** erhöhte sich ebenfalls statistisch signifikant in Zellen von 10 Tage alten Embryonen nachdem sie Mobilfunkstrahlung ausgesetzt waren, um 18,7 - 84,7%, im Vergleich zu der Kontrollgruppe (Tabelle 2). Ungefähr das gleiche Niveau an Stickoxid-Erzeugung fand statt in Zellen 10-tägiger Embryonen, die der Mobiltelefonemission mit Waveex ausgesetzt waren. Nur die Herz-Zellen dieser Gruppe von Embryonen zeigten eine 33,4% niedrigere Generation von Stickoxid im Vergleich zu der Handy-Gruppe ohne Chip, aber der Unterschied zwischen den Gruppen war nicht statistisch signifikant.

Ein Tag alte Wachtelküken:

Die Schlupfrate (Prozentsatz der aus befruchteten Eiern gewonnenen Küken) war statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedriger in der Gruppe von Eiern / Embryonen, die der Mobilfunkstrahlung ausgesetzt waren, im Vergleich zur Kontrollgruppe (20% gegenüber 57,9%). So führte die Mobilfunkstrahlung zu einer signifikanten Zunahme der Embryosterblichkeit. Die Schlupffähigkeit von Eiern / Embryonen, die der Mobiltelefonstrahlung mit Waveex-Chip ausgesetzt waren, war etwas höher als in der Mobiltelefongruppe ohne Chip (28,6% gegenüber 20%), jedoch noch viel niedriger als in der Kontrollgruppe.

Die Superoxid-Erzeugung war in Zellen des Gehirns, des Herzens und der Leber von Eintagsküken aus Embryonen, die der Mobilfunkstrahlung ausgesetzt waren, signifikant erhöht (Tabelle 3). Gleichzeitig zeigten die Küken aus den Embryonen, die dem Mobiltelefon mit Waveex-Chip ausgesetzt waren, deutlich weniger Aktivierung der Superoxid-Erzeugung, nämlich 48,3-99,6% weniger im Vergleich zur Mobiltelefongruppe ohne Chip. Obwohl die Indizes noch statistisch signifikant höher waren als in der Kontrollgruppe, waren sie viel näher an der Kontrollgruppe als die Indizes der Mobiltelefongruppe ohne Chip.

Das **Stickstoffoxid-Niveau** in Zellen des Gehirns, des Herzens und der Leber von Eintagsküken, die aus Embryonen geschlüpft waren, die Handystrahlung ausgesetzt waren, war 25-87,7% höher als in der Kontrollgruppe. Die Unterschiede zur Kontrollgruppe sind bei allen Organen statistisch signifikant erhöht (Tabelle 3). Auf der anderen Seite führte die Anbringung des Waveex-Chips am Mobiltelefon während der Strahlenexposition zu einer statistisch

signifikanten Abnahme des Stickoxid-Niveaus (14,7-16,9%) im Gehirn und Herzen der Küken im Vergleich zu den Küken aus Mobiltelefon-exponierten Embryonen.

Das **8-oxo-dG-Niveau**, ein Marker von oxidativen Schäden an der DNS, wuchs statistisch signifikant um 63,4-119,4%, im Gehirn, Herzen und Leber von Eintagsküken aus Embryonen, die der Strahlung ausgesetzt waren. Die Anwendung des Waveex-Chips führte zu einer statistisch signifikanten Abnahme des 8-Oxo-dG-Spiegels, 73,9-74,6% im Vergleich zur Mobiltelefongruppe ohne Chip (Tabelle 3).

Diskussion:

Zuerst haben das Versuchsmodell, ein sich entwickelnder Wachtel-Embryo und die Analysemethoden es möglich gemacht, statistisch signifikante nachteilige biologische Effekte der GSM 1800 MHz Strahlung, die vom im Handel erhältlichen Huawei 5YII Smartphone emittiert wird, zu demonstrieren. Es wurden statistisch signifikante Veränderungen in der Intensität der Somitogenese, expressive oxidative Wirkungen und Schäden der DNS-Integrität in Zellen von 38 Stunden-Embryonen unter GSM 1800 MHz Exposition gefunden, die in Intensität drei Größenordnungen unter den offiziellen „Sicherheitsgrenzen“ lag. Die nachteiligen Effekte unter der Strahlenbelastung des Mobiltelefons waren während der gesamten Embryogenese anhaltend und sie beinhaltete die 2-fache Erhöhung der Superoxid-Erzeugung und bis zu 85%-ige Erhöhung der Stickoxid-Erzeugung in Geweben von 10-Tages- Embryonen und Eintagsküken. Auch wurden bei Eintagsküken statistisch signifikante oxidative Schäden an der DNS nachgewiesen. Schließlich führte die Huawei 5YII Emission, mit der die Wachtelembryonen 5 Tage vor der Inkubation und 14 Tage während der Inkubation bestrahlt wurden, zu einer erheblichen, fast zweifachen Erhöhung der Embryo-Mortalität im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

Vor diesem Hintergrund führte die Anwendung des Waveex-Chips zur Modulation der Mobiltelefonstrahlung zu einem statistisch signifikanten Normalisierungseffekt auf den Stoffwechsel in exponierten embryonalen Zellen. Es wurde eine statistisch signifikante Normalisierung der Intensität der Somatogenese, des oxidativen Status der embryonalen Zellen und der Integrität der DNS in 38 Stunden Embryonen gesehen. Auch eine statistisch signifikante Normalisierung bei der Superoxid- und Stickoxidproduktion in Geweben von Eintagsküken fand statt. Es ist wichtig, dass auch eine statistisch signifikante Abnahme der oxidativen Schädigungen der DNS (Pegel von 8-Oxo-dG) in dieser Gruppe von Küken

nachgewiesen wurde im Vergleich zu der Gruppe von Embryonen, die der Mobiltelefonstrahlung ohne Schutz ausgesetzt waren. Obwohl Indizes freier Radikalbildung und oxidativer Schäden an der DNS nach dem Anbringen des Waveex-Chip nicht genau auf das Niveau der Kontrollebene zurückgingen, waren sie viel näher am Kontrollniveau als Indizes der Mobiltelefongruppe ohne Chip. Auch wurde eine leichte Abnahme der Embryosterblichkeit in der Mobiltelefon + Waveex-Gruppe festgestellt im Vergleich zur Gruppe von Embryonen, die der Handystrahlung ohne Chip ausgesetzt waren.

Es ist interessant, dass das Anbringen eines Waveex-Chips am Mobiltelefon nicht zu signifikanten Normalisierungseffekten bei 10-tägigen Embryonen führte, einem Zeitraum von intensivem Embryo-Wachstum und bei einer signifikanten Störung bei der Superoxid- und Stickoxidproduktion aufgrund der Mobiltelefon-Exposition. Aber das entscheidende Ergebnis ist, dass auch unter so starkem oxidativen Stress eine normalisierende Wirkung durch Waveex auf die Handy-Strahlung ein paar Tage später, am Ende der Embryogenese gefunden wurde.

Abschließend gesagt, wurden statistisch signifikante anhaltende oxidative Stress- und mutagene Effekte in embryonalen Zellen sowie eine erhöhte Embryosterblichkeit unter einer so niedrigen GSM 1800 MHz Intensität wie $0,3 \mu\text{W} / \text{cm}^2$ bei den sich entwickelnden Wachtel-Embryonen nachgewiesen. Das Anbringen des Waveex-Chip am Huawei 5YII während der Strahlenexposition führte zu einer Normalisierung /Schutzwirkung hinsichtlich des oxidativen Status und der DNS-Integrität in embryonalen Zellen. Diese Ergebnisse erlauben es, den Waveex-Chip als vielversprechenden Ansatz zur Verringerung der nachteiligen Auswirkungen von Handy-Strahlung für die menschliche Gesundheit zu empfehlen.

Referenzen

1. Tsybulin O., Sidorik E., Kyrylenko S., Yakymenko I. Monochromatic red light of LED protects embryonic cells from oxidative stress caused by radiofrequency radiation. *Oxid Antioxid Med Sci*, 2016. 0(0): Online first.
2. Ten E. [Express test on ceruloplasmin activity in blood serum][Lab delo, 1981(6): 334-335.
3. Tsybulin O., Sidorik E., Brieieva O., et al. GSM 900 MHz cellular phone radiation can either stimulate or depress early embryogenesis in Japanese quails depending on the duration of exposure. *Int J Radiat Biol*, 2013. 89(9): 756-763.

4. Burlaka A., Tsybulin O., Sidorik E., et al. Overproduction of free radical species in embryonic cells exposed to low intensity radiofrequency radiation. Exp Oncol, 2013. 35(3): 219-225.

Tabelle 1. Intensität der Somatogenese, Schädigung der DNS und des oxidativen Zustands lebender Zellen **von 38-h-Wachtel-Embryonen** nach Strahlenbelastung durch das Huawei 5YII Mobiltelefons oder durch das Huawei 5YII + Waveex-Chip (n = 7; M ± m)

Index	Kontrollgruppe	Huawei 5YII Gruppe	Huawei 5YII + Waveex Chip
Differenzierte Somitenpaare, n	10.86 ± 0.34	12.38 ± 0.46*	11.13 ± 0.4 #
DNS Doppelstrangbrüche (% von DNS im Kometenschweif)	14.3 ± 0.71	16.96 ± 1.13*	14.56 ± 0.96
TBA-RS, µmol/g	0.72 ± 0.06	1.16 ± 0.17*	0.78 ± 0.06 #
Katalase, ncat/g	5.88 ± 0.68	9.42 ± 1.66	7.17 ± 1.92
Ceruloplasmin, mg/100 ml	4.52 ± 0.75	9.53 ± 0.75*	4.2 ± 0.58 ###
SOD, rel.un.	0.147 ± 0.03	0.159 ± 0.02	0.162 ± 0.016

Hier und unten:

* - p<0.05 wie im Vergleich zur Kontrollgruppe; ** - p<0.01 wie im Vergleich zur Kontrollgruppe ; *** - p<0.001 wie im Vergleich zur Kontrollgruppe;

- p<0.05 wie im Vergleich zur H-Gruppe; ## - p<0.01 wie im Vergleich zur H-Gruppe;

- p<0.001 wie im Vergleich zur H-Gruppe;

Tabelle 2. Erzeugung von Superoxid und Stickstoffoxid in Zellen von **10-Tage alten Wachtel-Embryonen** nach der Bestrahlung mit Huawei 5YII oder Huawei 5YII + Waveex Chip Emission (n = 7; M ± m))

Index	Kontrollgruppe	Huawei 5YII Gruppe	Huawei 5YII + Waveex Chip
Superoxid (nmol/g):			
- Im Gehirn;	0.24 ± 0.009	0.578 ± 0.1*	0.573 ± 0.082 **
- Im Herzen;	0.24 ± 0.009	0.754 ± 0.078***	0.87 ± 0.114 ***
- In der Leber;	0.22 ± 0.016	0.586 ± 0.049***	0.588 ± 0.101 **
Nitrogenoxid (nmol/g):			
- Im Gehirn;	1.51 ± 0.037	1.796 ± 0.081**	1.798 ± 0.099*
- Im Herzen;	1.50 ± 0.029	2.77 ± 0.174***	2.27 ± 0.128***
- In der Leber	1.48 ± 0.025	2.61 ± 0.173***	2.58 ± 0.133***

Tabelle 3. Erzeugung von Superoxid und Stickstoffoxid und das 8-Oxo-dG Niveau in Zellen von **Eintageswachtelküken** nach der Bestrahlung der Embryonen mit der Huawei 5YII Handystrahlung oder Huawei 5YII + Waveex Chip Handystrahlung (n = 5; M ± m)

Index	Kontrollgruppe	Huawei 5YII Gruppe	Huawei 5YII + Waveex Chip
Superoxid (nmol/g): - Im Gehirn; - Im Herzen; - In der Leber	0.23 ± 0.01 0.29 ± 0.01 0.26 ± 0.01	0.73 ± 0.05*** 0.83 ± 0.05*** 0.73 ± 0.04***	0.50 ± 0.08 ## 0.69 ± 0.05 0.57 ± 0.05 #
Nitrogen oxide ((nmol/g): - Im Gehirn; - Im Herzen; - In der Leber	1.42 ± 0.03 1.48 ± 0.01 1.46 ± 0.02	1.78 ± 0.05** 2.08 ± 0.03*** 2.74 ± 0.05***	1.57 ± 0.04 # 1.83 ± 0.06 ## 2.54 ± 0.08
8-oxo-dG level (nmol/g): - Im Gehirn; - Im Herzen; - In der Leber -	0.41 ± 0.03 1.49 ± 0.02 0.67 ± 0.03	0.67 ± 0.04** 3.2 ± 0.09*** 1.47 ± 0.05***	0.59 ± 0.04 2.1 ± 0.18 ### 0.97 ± 0.05 ###



Abb.1. Wachtelembryonen im Ei, die Huawei 5YII Strahlung ausgesetzt sind.



Abb.2. Wachtelembryonen im Ei, die Huawei 5YII Strahlung + Waveex Chip ausgesetzt sind.



Abb.3. Huawei 5YII mit Waveex Chip.

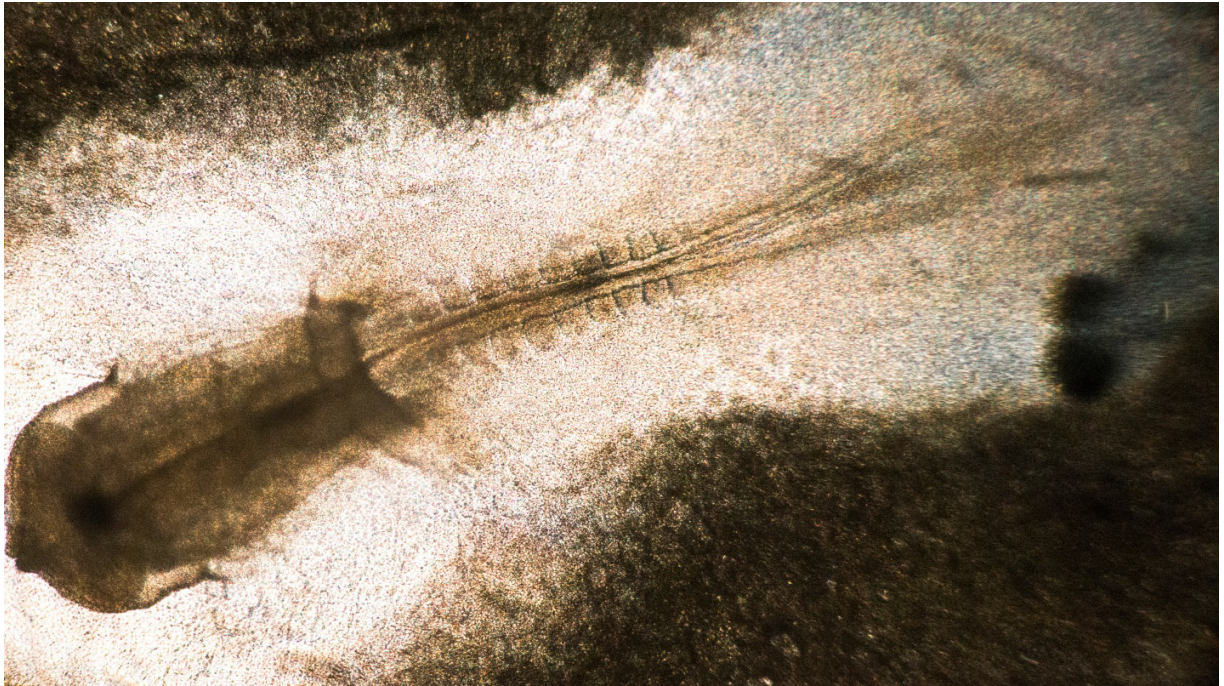


Abb 4. Mikrophoto eines 38-h Wachtzieembryos der Kontrollgruppe (11 Paare von Somiten).



Abb. 5. Mikrophoto eines 38-h Wachtelebryos der Gruppe, die der Huawei 5YII Strahlung ausgesetzt ist (11 Paare von Somiten).

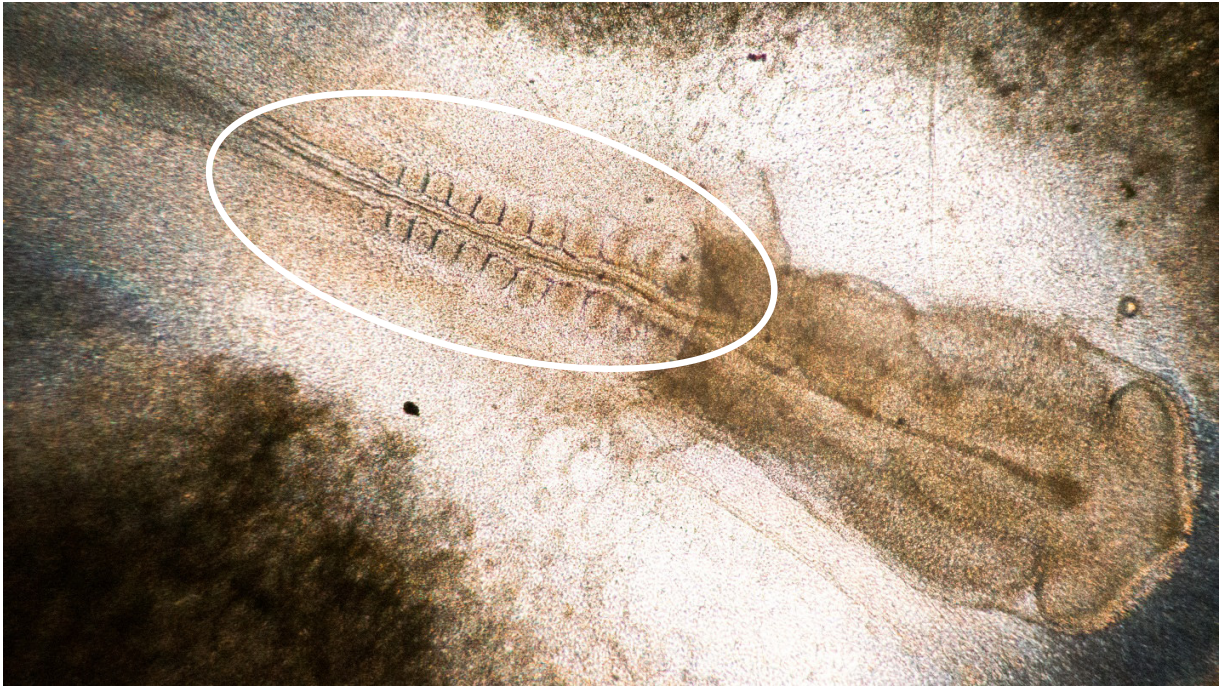


Abb.6. Mikrophoto eines 38-h Wachtelebryos der Gruppe, die der Huawei 5YII Strahlung + Waveex Chip ausgesetzt ist (11 Paare von Somiten).

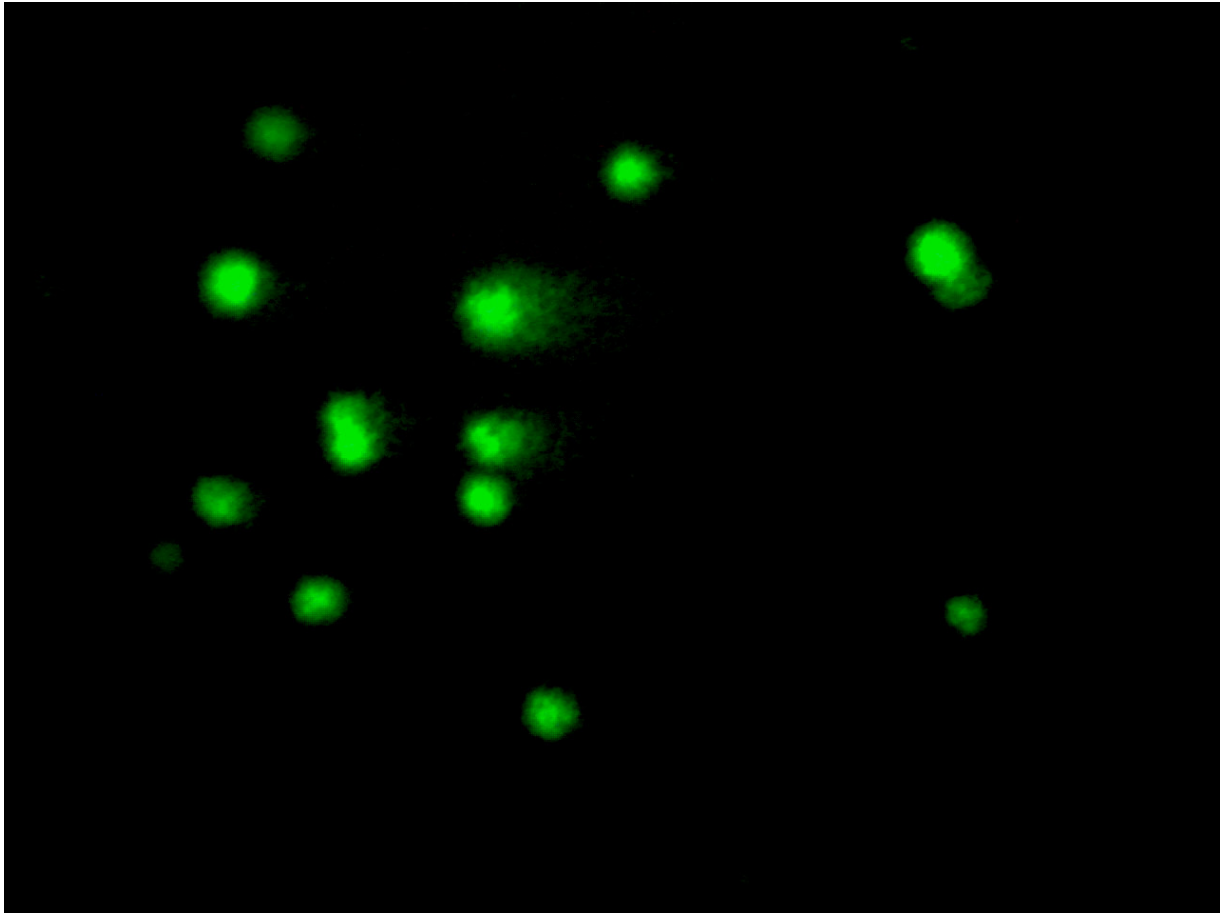


Abb. 7. Mikrophoto von Kometen der 38hWachtelembryozellen (Kontrollgruppe).

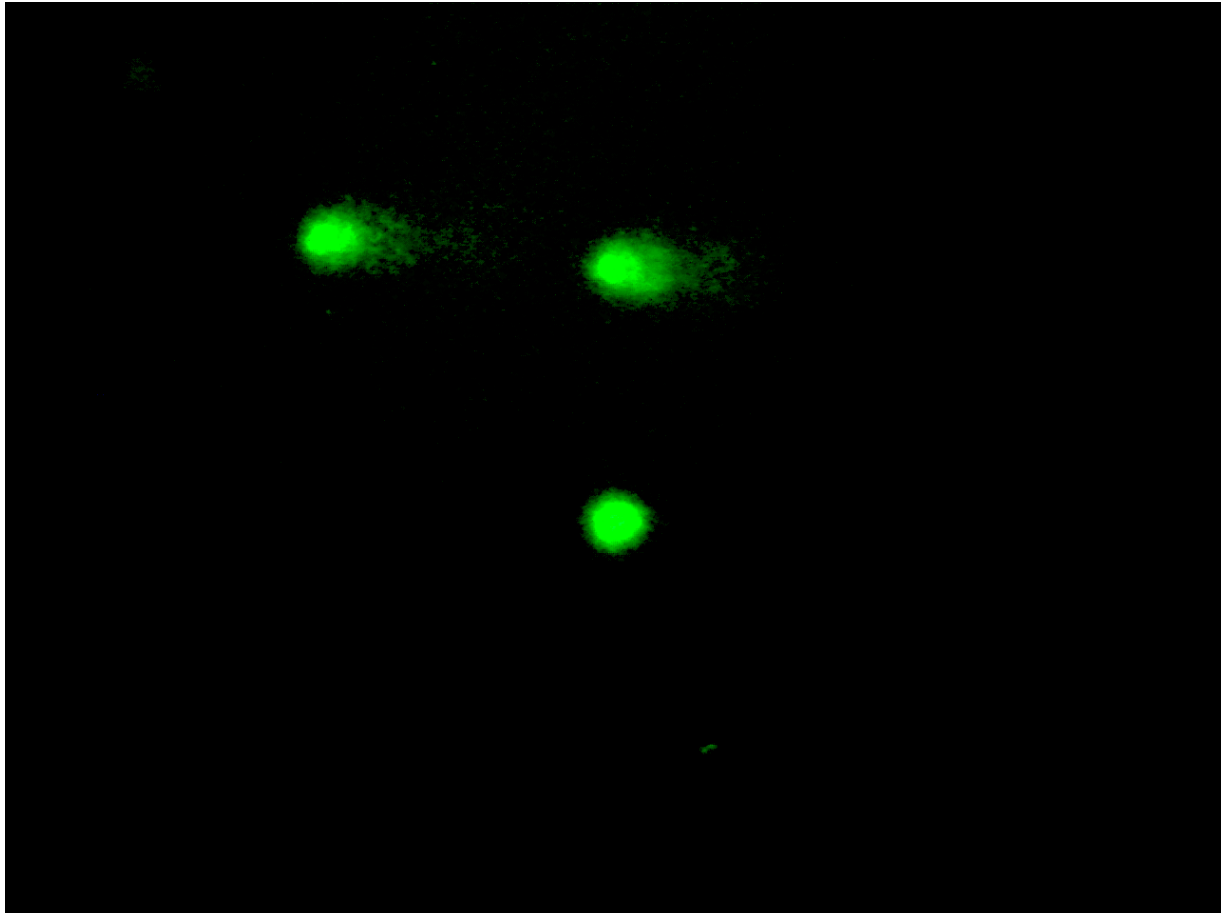


Abb. 8. Mikrophoto von Kometen der 38h-Wachtelebryozellen nachdem sie der Huawei 5YII Strahlung ausgesetzt wurden

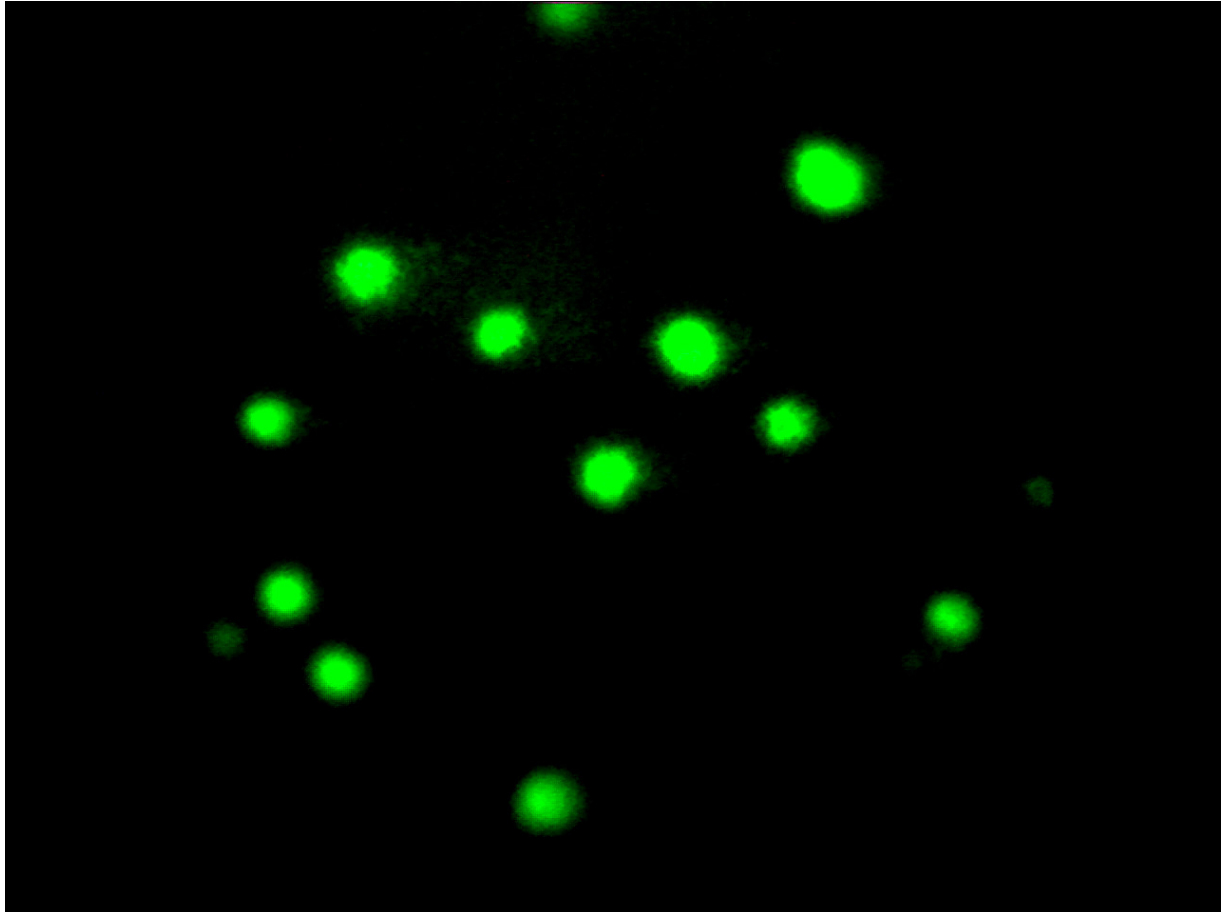


Abb. 9 Mikrophoto von Kometen der 38h-Wachtelembryozellen nachdem sie der Huawei 5YII Strahlung + dem Waveex Chip ausgesetzt wurden