

Rapporteursbericht IMBA-FGF-Workshop „Omics for Assessing Unclear Risks (Omik-Techno- logien zur Einschätzung un- klarer Risiken)“, 26. – 28. Mai 2008

Es war das erklärte und erhoffte Ziel dieses IMBA-FGF-Workshops herauszufinden, ob „Omics“ d.h. „die“ „neuen“ und „hoch“ innovativen Screening-Techniken (den Insidern bekannt unter „High ThroughPut Screening Technology“- HTPST) geeignet sind mit ihrem großen Methodenspektrum Risiken zu ermitteln, insbesondere bezüglich einer möglichen Krebsgefahr durch Exposition mit elektromagnetischen Feldern im Frequenzbereich des Mobilfunks (RF-EMF).

Zunächst ging es um eine Begriffserklärung: Was bedeutet in diesem Zusammenhang: „Risiko“? Als „Risiko“ bezeichnet man die Wahrscheinlichkeit, mit welcher ein möglicher Schaden eintritt. Es handelt sich dabei also um eine statistische Aussage und nicht um eine Notwendigkeit. Die Risikoabschätzung setzt jedoch voraus, dass prinzipiell ein Schaden auftreten kann. Die Risikoabschätzung von **Krebs** beruht bisher im wesentlichen auf den Aussagen epidemiologischer Studien und den Ergebnissen von Tierversuchen.

Zur Bewertung der Schädlichkeit einer neuen Substanz, sowie zur Aufklärung des dabei zugrunde liegenden Wirkungsmechanismus werden vor allem *in-vitro*-Untersuchungen, (Zytogenetik und Toxikologie) herangezogen. Trotz Einsatzes aller bekannten, klassischen Untersuchungsmöglichkeiten war jedoch bisher ein klarer Nachweis eines Risikos durch Exposition von RF-EMF im Rahmen der Grenzwerte nicht möglich. Warum wird trotzdem nach wie vor kontrovers darüber diskutiert? Wenn „kein Risiko“ vorhanden ist, kann man auch keine Risikobewertung vornehmen. Aber wie kann man „kein Risiko“ nachweisen? Sind die vorhandenen Technologien, Nachweisverfahren und Untersuchungsmöglichkeiten also nicht ausreichend, um die Nichtgefährlichkeit eines Stoffes zu dokumentieren? Aus diesem Grund geht man der Frage nach, ob nicht vielleicht die HTPS-Technologien neue Möglichkeiten der Erkenntnisgewinnung anbieten.

Die Omics-Technologien sind in der Lage in kurzer Zeit eine sehr große Anzahl von Datenmengen zu erzeugen und gentoxische, epigenetische oder andere unerwartete molekulare Ereignisse aufzuspüren. Dies geschieht meist mit sogenannten Mi-



Prof. Dr. Myrtil Simkó
Institut für Technikfolgen-Abschätzung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, Wien

croarrays (auch als Biochips bezeichnet, siehe dazu Fußnote¹). Zudem erlauben diese Techniken Aussagen über mögliche molekulare Zusammenhänge und Mechanismen. Deshalb wurde in diesem Workshop darüber diskutiert, ob die Omics-Technologien auf dieser Basis für eine Risikobewertung geeignet sind.

Der Workshop war in vier thematische Bereiche eingeteilt, die folgenden Fragen gewidmet waren:

1. „Was ist bekannt in der Krebsrisikoabschätzung über den Einfluss von RF-EMF?“
2. „Welchen Beitrag können gentoxische Analysen zur Risikoabschätzung liefern?“
3. „Worin besteht der spezielle Beitrag der „Omics“-Analysen zur Risikoabschätzung?“ und
4. „Wie eignen sich „Omics“ für die Identifizierung unklarer Risikofaktoren?“.

Nach der Begrüßung und Einführung zum Zweck und Ziel des Workshops durch die Veranstalter, **Gerd Friedrich** (FGF), **Peter Wiedemann** (Forschungszentrum Jülich) und **Günter Obe** (früher Universität Duisburg-Essen), widmeten sich die Workshop-Teilnehmer zunächst der Frage: „Was ist bekannt in der Krebsrisikoabschätzung von RF-EMF?“. Dazu wurden die klassischen Verfahren zur Risikoabschätzung vorgestellt.

Als erste gab **Karin Müller-Decker** (Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg) einen Überblick über die Krebsentstehung allgemein, insbesondere in Abhängigkeit von Umweltfaktoren. Es wurde betont, dass die Krebsentstehung im menschlichen Organismus ein sogenannter Multistep-Vorgang ist, das heißt einen mehrstufigen Prozess darstellt. Mutationen, hervorgerufen durch Umweltfaktoren, lösen allein noch nicht zwingend Krebs aus. Erst wenn Reparaturmechanismen fehlerhaft ablaufen und so genannte Promotoren die initiierten Zellen aktivieren, kann es zu Kanzerogenese kommen. Dabei spielen viele Faktoren eine wichtige Rolle, wie die Aktivierung bestimmter Gene, den Protoonkogenen (meist steuern sie die Zellteilung) und/oder die Inaktivierung von Supressorgenen (meist inhibieren diese die Zellteilung). In der Praxis existieren bereits einige Tiermodelle zur Untersuchung ganz bestimmter Krebsarten. Es wurde aber hervorgehoben, dass dies

1 Microarray-Technologie (Biochips)

Methode zur Analyse der Gen- bzw. Proteinexpression, also zur Bestimmung der Aktivität der Gene bzw. der Eiweiße einer Zelle, eines Gewebes oder eines Organismus. Hierbei werden zahlreiche Proben bekannter kleiner, einsträngiger DNS-Stücke („Oligonukleotide“), mRNA, oder Proteine auf kleinstem Raum auf einen Glasträger („Chip“) punktgenau in einem festen Raster von Testfeldern („Array“) aufgetragen („Spotting“). Bringt man dann die zu untersuchenden Gen- bzw. Protein-Fragmente, die zuvor mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert wurden, mit dem Chip in Verbindung, dann verbinden sich Chip-Moleküle und Test-Moleküle in dem Maße zu messbar fluoreszierenden Molekülen, wie sie zueinander passen (komplementär sind).

Insgesamt eröffnet die Microarray-Technologie eine detailliertere Sicht auf das Genom/Proteom der Zelle und ist damit ein vielsprechender Schritt in Richtung einer funktionellen Genomanalyse von EMF/HF-exponierten Zellen.

Techniken zur Analyse des gesamten Genoms auf der Basis von Mikroarrays (high-throughput, HTPT) sind vor ungefähr sechs Jahren eingeführt worden.

Insgesamt bis zu 30.000 Gene können in nur einem Gen-Array auf einem Mikroskopträger analysiert werden.

leider nicht für die Untersuchung von Leukämie oder von neuronalen Krebsformen zutrifft. In diesen Fällen muss man sich größtenteils auf die Ergebnisse epidemiologischer Studien stützen.

Es wurde auch betont, dass nicht nur genotoxische Faktoren, wie sie in der Umwelt vorkommen, zur Krebsentstehung führen können, sondern auch zum Beispiel chronische Entzündungen, welche die Bildung freier Radikale aktivieren. Chromosomenaberrationen können einen Hinweis auf die Genotoxizität liefern, sie repräsentieren aber nur einen Schritt in diesem Mehrstufenprozess. Sie sind jedoch ein wichtiger Biomarker für die Kanzerogenese.

Vijayalaxmi (University San Antonio, Texas, USA) fasste die klassischen genotoxischen Nachweisverfahren zusammen: - wie den Nachweis von Doppelstrang- und Einzelstrangbrüchen mit dem Comet assay, - sowie die Entstehung von Mikrokernen, Chromosomenaberrationen und dem sogenannten Sister Chromatid Exchange.

Des Weiteren berichtete sie über das noch laufende Projekt zur Genotoxizität durch RF-EMF des Deutschen Mobilfunk Forschungsprogramms des Bundesamtes für Strahlenschutz. Angesichts des beachtlichen Aufwandes werden große Hoffnungen auf eine abschließende Beantwortung der Frage zur RF-EMF-Genotoxizität in dieses Projekt gesetzt. In der zweiten Hälfte des Vortrages stellte die Referentin eine Metaanalyse zur Genotoxizität durch Mobilfunkfrequenzen vor. In dieser Studie (2008, Rad. Res. 169) wurden an die 70 Publikationen bewertet und analysiert, wobei besonderer Augenmerk der Analyse und Vergleichbarkeit der Expositionskonditionen galt. Die Studie kam zu dem Schluss, dass bisher keine genotoxischen Effekte durch Mobilfunkstrahlung nachweisbar sind. In der nachfolgenden Diskussion wurde kritisch angemerkt, dass es sich bei dieser Untersuchung nicht um eine Metaanalyse, sondern um das „poolen“ von „guten und schlechten“ Daten handelt ohne Berücksichtigung biologischer Besonderheiten (zum Beispiel Zelltyp), was für eine Metaanalyse von Bedeutung wäre.

Der Frage, ob RF-EMF neoplastische Läsionen induzieren oder aber das Wachstum von Tumoren verändern, galt ein sehr groß angelegtes EU-gefördertes Projekt (PERFORM A), welches im Jahr 2007 abgeschlossen wurde. In dieser Studie, wie von **Jochen Buschmann** (Fraunhofer Institut, Hannover) berichtet, legte man besonderen Wert darauf eine genügend große Anzahl von Tieren zu untersuchen, die Experimente verblindet durchzuführen und dabei die Dosisabhängigkeit möglicher Effekte zu erfassen. In den vier verschiedenen Subprojekten wurden vergleichbare Untersuchungen mit gesunden Mäusen, gesunden Ratten, mit DMBA-induzierten Ratten (Tiermodell für Brustkrebs) und *Pim1*-transgenen Mäusen (Tiermodell für Lymphome) durchgeführt. Mit diesen Modellen galt es Daten anderer Forscher zu verifizieren und gegebenenfalls zu reproduzieren. Alle Tiere wurden 24 Monate (lebenslang) je nach Projekt mit GSM- oder DCS-Signalen des drahtlosen Kommunikationssystems mit drei unterschiedlichen SAR-Werten (zwischen 0,4 bis 4 W/kg) für zwei Stunden, fünf Tage die Woche, exponiert.

Drei der vier Studien zeigten keine Evidenz für die Entstehung von Neoplasmen. Ein unklares Resultat ergaben jedoch DMBA-behandelte Ratten. Hier wurden leichte

Tendenzen im Wachstum von Brustkrebsgeschwüren festgestellt. Die verwendeten Expositionen begünstigen das Wachstum einer bestimmten Art von Mammakarzinom. Auch die Veränderung von benignen (gutartigen) zu malignen (bösartigen) Tumoren wurde beobachtet. Buschmann sprach von einer „borderline evidence“ (grenzwertiger Nachweis), betonte jedoch, dass die biologische Relevanz und die Übertragbarkeit dieser Studie auf den Menschen unklar ist und die Studie von einem anderen Labor wiederholt werden sollte. Er stellte auch zur Diskussion, ob das Nichtauffinden von Tumoren tatsächlich die Schlussfolgerung erlaubt, dass es sich um eine unschädliche Exposition handelt. Weiterhin wurde darauf hingewiesen, dass es im Gegensatz zu den Untersuchungen an Chemikalien keine internationalen Richtlinien für die Untersuchungen mit elektromagnetischen Feldern gibt, was die Vergleichbarkeit der durchgeführten Studien erschwert. Daher wären „Omics“ von Vorteil, da hiermit schon eventuelle Frequenz- und Dosisabhängigkeiten getestet werden können, um anschließend aussagekräftige Tierversuche durchzuführen.

Thomas Tillmann (Fraunhofer Institut, Hannover) stellte eine „Ein-Generationen-Studie“ mit pränataler Exposition mit UMTS-Signalen (niedrige Leistungsdichte: 4,8 W/m² oder hohe Leistungsdichte: 48 W/m²) vor. Dabei wurden Mäuse mit dem Mutagen ENU (Ethylnitroso-Harnstoff) behandelt. Das Experiment startete am Tag 6 der Trächtigkeit und wurde mit der F1 Generation vom Tage der Geburt an im Verlaufe von 24 Monaten fortgeführt. Für die Analyse verwendete man die zwei UMTS+ENU-exponierten Gruppen, ENU, Sham und die Käfigkontrollen.

Neoplastische und pre-neoplastische Läsionen wurden bestimmt sowie histopathologische Untersuchungen an Gehirn, Lungen, Leber, Milz, Nieren und an den Lymphknoten durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen einen sehr interessanten Befund: Es stellte sich heraus, dass bezüglich der Tumorentstehung (ohne ENU) in den Zielorganen keine Unterschiede zwischen den Gruppen auftraten. Der Vergleich der Pre-Neoplasien ergab jedoch ein anderes Bild: In der Gruppe mit der hohen UMTS-Leistungsdichte trat eine signifikant erhöhte Zahl an Leberfoci auf im Vergleich zu Sham und Käfigkontrollen. Dramatischer noch waren die Ergebnisse der UMTS+ENU-Gruppen. In der Gruppe mit niedriger UMTS-Leistungsdichte + ENU zeigte sich eine signifikant erhöhte Lebertumor- und Lungentumorrate, wobei die Anzahl der hepatozellulären Adenome sowie die bronchiolo-alveolären Karzinome signifikant angestiegen waren. Auch gab es hier eine Steigerung der Tumorzahlen sowie eine Verdoppelung der Metastasierungsfähigkeit der Lungentumore im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen. Es zeigte sich also, dass in diesem ENU-Mausmodell die niedrige Leistungsdichte (4,8 W/m²) des UMTS-Signals tumorpromovierend wirkt.

Diese Studie ist schwer zu bewerten, da hier ebenfalls die Übertragbarkeit auf den Menschen mit Schwierigkeiten behaftet ist, sowie der Aufbau des Experiments (Muttergeneration und Nachkomme) keine genaue Berechnung der Exposition erlaubt. Dennoch ist es unbedingt wichtig, diese Studie zu verifizieren und zu reproduzieren, aber zuerst auch zu publizieren.

Eine besonders wichtige Rolle für die Risikoabschätzung spielen die epidemiologischen Studien, wie es auch von **Gabriele Berg-Beckhoff** (Universität Bielefeld)

betont wurde. Die Referentin erläuterte zunächst, dass der Anstieg der Krebsinzidenzen in letzter Zeit auch in der erheblichen Verbesserung der medizinischen Diagnostik begründet liegt. Gleichzeitig wurde dargestellt, dass im Rahmen der gültigen Grenzwerte kein Zusammenhang zwischen der RF-EMF Exposition durch den Mobilfunk und erhöhtem Krebsrisiko nachzuweisen ist. Tierexperimente bestätigen dies, wie von Buschmann ausführlich berichtet wurde. Die Tatsache, dass eine Erhöhung der akustischen Neurome und der Meningiome festgestellt wurde, wurde damit erklärt, dass bei diesen Studien der Einfluss von analogen Mobiltelefonen untersucht wurde.

Die bisher veröffentlichten Ergebnisse der Interphone-Studie zeigen, dass die Nutzung digitaler Mobiltelefone von weniger als 10 Jahren Dauer nicht mit der Erhöhung des Gehirntumorrisikos verbunden ist. Manche Ergebnisse verweisen sogar auf einen protektiven Effekt (Risikowerte unter eins). Dieser scheinbar protektive Effekt lässt sich als Fehler, verursacht durch unterschiedliche Teilnahmeraten zwischen Fällen und Kontrollen erklären. Fraglich ist, ob die geringe Zeitdauer für die Kohortenanalysen ausreicht. Generell wurde festgestellt, dass die durchgeführten Studien zu keinen Aussagen bezüglich Gehirntumoren, akustischen Neuomen oder Melanomen im Auge gelangen können, da die Latenzzeit der Tumore meist länger ist als die Expositionszeit beziehungsweise die Untersuchungszeit.

Noch kann nicht mit völliger Sicherheit ausgeschlossen werden, dass nach langjähriger Mobiltelefonnutzung Gehirntumore mit langer Latenzzeit entstehen. Aussagekräftigere Ergebnisse sind von der internationalen Auswertung der Interphone-Studie zu erwarten. Unkritisiert blieb jedoch die Aussage zu den Negativeffekten, obwohl dort die gleichen Methoden Verwendung fanden. Auch die Tatsache, dass eigentlich bei einer Risikoabschätzung Werte unter eins nicht auftreten sollten, was die Unterschätzung des Risikos oder die Anwendung fehlerhafter Methoden bedeuten könnte, wurde nicht diskutiert.

Die erste Hälfte des Tages zur Frage „Was ist bekannt in der Krebsrisikoabschätzung von RF-EMF?“ beschloss der Vortrag von **Emilie van Deventer** (WHO, Genf, Schweiz). Hier wurden die Aktivitäten der WHO in Zusammenarbeit mit IARC (International Agency for Research on Cancer) zur EMF-Risikoabschätzung erläutert. In der Diskussion wurden Zweifel an den Kriterien von IARC zur Frage der Kanzerogenität laut, da die Gruppe 4 des Kriterienkatalogs nicht erfüllt sein kann.

Gruppe 1: Kanzerogen für Menschen

Gruppe 2A: Wahrscheinlich kanzerogen für Menschen

Gruppe 2B: Möglicherweise kanzerogen für Menschen

Gruppe 3: Nicht klassifizierbar als kanzerogen für Menschen

Gruppe 4: Wahrscheinlich nicht kanzerogen für Menschen

In der Tat ist das Nichtvorhandensein eines Effekts bekanntlich nicht nachweisbar; so stellt sich die Frage, welche Substanzen oder Noxen dieser Gruppe zuzurechnen sind.

Als Einleitung zum zweiten Themenbereich: „Beitrag der gentoxischen Analysen zur Risikoabschätzung“ erläuterte **Günter Obe** (früher Universität Duisburg-Essen) Vorteile und Nachteile der klassischen Zytogenetik, Zytologie sowie Gentoxikologie. Er präsentierte die Zuverlässigkeit gentoxischer Studien zur Risikoabschätzung und erläuterte ausführlich alle Techniken die nachweisbare Aussagen zulassen. In seinem Credo wurde deutlich, dass der zuverlässigste Biomarker für die Risikoabschätzung die Analyse der Chromosomenaberrationen ist. Bislang wird diese Technologie hauptsächlich an Lymphozyten durchgeführt und scheint sich bewährt zu haben. Es wurde jedoch diskutiert, ob Lymphozyten die richtigen Zellen für die Risikobewertung nach RF-EMF-Exposition sind. Fest steht, dass eine Batterie von Tests und Methoden durchgeführt werden muss, um mit Hilfe der Zytotoxizität Aussagen zum Krebsrisiko machen zu können.

David Lloyd (Health Protection Agency, UK) widmete sich der Frage, ob die Analyse von Chromosomenaberrationen die richtige Methode für die Risikoabschätzung durch RF-EMF ist. Viele Studien zum Nachweis einer möglichen gentoxischen Kapazität von RF-EMF blieben ohne positives Resultat. Einige wenige Untersuchungen zeigten eine DNA-schädigende Wirkung, deren Reproduzierbarkeit sich aber nach wie vor als fraglich erwies. Sollten gentoxische Effekte auftreten, dann sind diese vermutlich sehr klein. Möglicherweise würden solche Effekte auf anderen Mechanismen basieren als auf den DNA-schädigenden oder DNA-Reparatur-assoziierten Vorgängen, wie sie durch ionisierende Strahlung oder durch Chemikalien ausgelöst werden. Lloyd betonte, dass, wenn solche Effekte durch EMF existieren, sie durch „Omics“ eher aufzuspüren sein sollten. Er empfahl, sich darauf zu konzentrieren und keine weiteren gentoxischen Studien bezüglich RF-EMF durchzuführen.

Marco Durante (GSI, Darmstadt) war leider an der Teilnahme am Workshop verhindert, daher präsentierte **Günter Obe** seinen Vortrag. Dieser bezog sich auf Daten aus der ionisierenden Strahlenforschung als Maß für die Risikoabschätzung. DNA-schädigende Wirkmechanismen durch ionisierende Strahlung sind hinlänglich bekannt. Solche und auch andere umweltbedingte Stressoren induzieren detektierbare molekulare, zelluläre und physiologische Veränderungen, die zum Teil als Bioindikatoren bezeichnet werden. Dabei wird zwischen dosisabhängigen Indikatoren und Risikoindikatoren unterschieden. Als Biodosimeter nannte der Referent Veränderungen im Zahnschmelz nach Reaktorunfällen, wobei die erfolgte Bestrahlung auch noch Jahre später nachgewiesen werden kann.

Chromosomenaberrationen erweisen sich zumindest in der Strahlenforschung als sehr gute Risikoindikatoren. Epidemiologische Studien (Kohortenstudien) zeigen eine sehr gute Korrelation zwischen dem Auftreten von Chromosomenaberrationen und Krebs. Es wurde darauf hingewiesen, dass sie sich als statistische Größe sehr gut eignen, für individuelle Risikoabschätzungen sind sie jedoch nicht geeignet. Auch ist die zeitliche Abfolge der Erfassung von Chromosomenaberrationen von Bedeutung. So wurde gezeigt, dass beispielsweise dizentrische Chromosomen bis zu 3 Monate nach der Exposition auftreten, während Mikrokerne bis zu einem Jahr und Translokationen noch nach drei bis fünf Jahren nachweisbar sind.

Es gibt allerdings keine Daten über die genetische Komponente, das heißt erblich bedingte Veränderungen und Chromosomenaberrationen. Auch ist die Frage offen,

ob das Auftreten von Chromosomenaberrationen nach Bestrahlung mit ionisierender Strahlung und Krebsinzidenz wirklich real ist, da man die synergistische Wirkung von anderen Faktoren wie zum Beispiel Rauchen (confounding factors) nicht kennt.

Jürgen Kiefer (Universität Giessen) führte den Vergleich für die Risikoabschätzung mit ionisierender Strahlung fort. Ein ausführlicher Vortrag über strahleninduzierte Effekte, ihre Relevanz und Dosisabhängigkeit wurde präsentiert, der auch die Zuverlässigkeit der Risikoabschätzung durch diese Studien einschloss. Es wurde betont, dass Kenntnisse zu Wirkmechanismen zwar hilfreich sind; ihr Fehlen jedoch nicht bedeutet, dass es keinen Effekt geben kann. Für qualitativ gute epidemiologische Studien sind dosimetrische Daten unbedingt erforderlich, die leider häufig in den RF-EMF-Studien fehlen. Epidemiologische Untersuchungen zu UV-induziertem Hautkrebs zeigen eine Korrelation zur UV-Strahlung, dabei handelt es sich nur um eine qualitative, nicht um eine quantitative Korrelation, da sie nicht durch eine korrekte Dosimetrie begleitet wurden. Bei den Studien zu RF-EMF-Effekten scheinen allerdings sowohl Dosisabhängigkeit als auch ein plausibler Mechanismus zu fehlen.

In der Diskussion wurde hervorgehoben, dass der Vergleich zwischen ionisierender und nicht-ionisierender Strahlung hinkt, da offenbar unterschiedliche Wirkmechanismen vorlägen. Daher könnte möglicherweise die bisherige Herangehensweise fehlerhaft sein und Untersuchungen auf molekularer Ebene, nämlich durch „Omics“, neue Aspekte beleuchten.

Der **dritte Themenbereich** beinhaltete Aspekte der Omics-Analysen zur Krebsrisikoabschätzung. Im ersten Beitrag zu diesem Thema wurde ein Überblick über epigenetische Veränderungen von **Zdenko Herceg** (IARC, Lyon, Frankreich) gegeben. Viele Krebsarten entstehen durch genetische Veränderungen; es gibt aber auch eine Vielzahl solcher, die durch Epigenese entstehen, wie zum Beispiel durch DNA-Methylierung oder Histon-Modifikationen. Diese Veränderungen sind genetisch nicht manifestiert; trotzdem können sie bestimmte Onkogene aktivieren, die dann Krebs bilden. Obwohl viele experimentelle und auch epidemiologische Studien auf epigenetische Veränderungen hinweisen, sind die Wirkmechanismen der Krebsentstehung unklar.

Interessant ist, dass die sogenannten „Lifestyle-Agenzien“ (durch Tabak, Virus etc.) keine epigenetischen Effekte auszulösen scheinen; zumindest sind solche zurzeit nicht bekannt. Daher ist die neue Technologie des HTP-Screenings sehr vielversprechend, da hier große Mengen an Proben in relativ kurzer Zeit getestet werden können. Durch den hohen Umsatz und durch die Verbesserung der Technologien wird auch die Anzahl falschpositiver Resultate verringert. Es gibt verschiedene Techniken für die Erfassung von veränderten Epigenetics und Epigenomics mit beispiellos hoher Auflösung. So können Gene identifiziert werden, die durch epigenetische Mechanismen beeinflusst wurden. Das sogenannte epigenetische Profiling von gesunden und von Tumorzellen ermöglicht das Aufspüren von molekularen Wirkmechanismen, die letztlich zur Krebsinduktion führen. So wurde zum Beispiel festgestellt, dass ein spezifisches Gen (MTHFR) im Tumorgewebe von Rauchern

hypermethyliert sein kann, nicht jedoch in Blutzellen. Eine Dosisabhängigkeit ließ sich nicht feststellen. Da die Technologie noch nicht komplett ausgereift ist, kann in Zukunft mit einer erheblichen methodischen Verbesserung gerechnet werden, die dann eine Risikoabschätzung, aber zumindest ein besseres Verständnis der biologischen Wirkmechanismen zulässt.

Das Thema Qualität, Validität und Zuverlässigkeit der „Omics“, insbesondere der Transkriptomik, für die Krebsrisikoabschätzung wurde von **Ludger Klein-Hitpass** (Universität Duisburg-Essen) erläutert. Zunächst wies der Referent darauf hin, dass es eine Vielzahl von Techniken und Microarrays zur Analyse des gesamten Genoms gibt, die nur schwer miteinander zu vergleichen sind. Die Problematik besteht darin, dass die Variabilität der Ergebnisse innerhalb der Wiederholungen relativ hoch ist und auch zwischen den verwendeten Techniken muss man mit einer hohen Divergenz rechnen. Aus (noch) Kostengründen werden meist nur 2fache Replikate durchgeführt, was für die statistische Analyse der Daten nicht ausreicht. Leider treten auch noch zu viele falschpositive Resultate auf, die zwar mit mathematischen Methoden bereinigt werden können, wobei aber auch positive Daten verloren gehen.

Auch die Wahl der verwendeten Technik und die Auswahl der zu vergleichenden Proben (zum Beispiel „Qualität der Kontrolle weniger gut“ vs. „Qualitativ hoch gereinigte Probe“) kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen (**Typ I - Fehler**). Deshalb soll die Qualität aller Proben immer angegeben werden. Um Fehler zu minimieren sollen auch genügend große Mengen an unabhängigen Replikaten durchgeführt werden. Als **Typ II - Fehlerquelle** wurde die Auswahl der sogenannten Sensitivitätsschwelle genannt. Damit ist gemeint, dass die Grenze der minimalen Änderung bei „2fach“ liegen sollte; dies kann allerdings auch zu Datenverlusten führen.

Nicht weniger wichtig ist die Wahl der statistischen Analysemethode, denn ein Typ II - Fehler kann auch dadurch auftreten, dass positive Daten eliminiert werden. Eine weitere Herausforderung liegt in der Auswertung der Daten. Auch hierfür wurden verschiedene Möglichkeiten vorgeschlagen. Der Referent bemängelte bezüglich der EMF-Forschung, dass die publizierten Daten auf sehr unterschiedlichen und jeweils einzigartigen experimentellen Bedingungen beruhen. Unterschiedliche Zellen und Zelltypen, Expositionen, Expositionsparameter und -zeiten, aber auch verschiedene Microarrays und statistische Techniken wurden verwendet. Eine Vergleichbarkeit der Studien ist so nicht möglich.

Um eine transparente und nachvollziehbare Evaluierung der Genexpressionsdaten zu ermöglichen, schlug der Referent einen methodischen Leitfaden vor. Dazu gehören 1) die Wahl der Arrays und die Anzahl der unabhängigen Replikate (3-6) sowie die Validierung und eine geeignete Auswahl für die Statistik, 2) die Validierung der Genkandidaten per qRT-PCR (3-6 Replikate) und 3) die Veröffentlichung der Rohdaten in einer wissenschaftlich zugänglichen Datenbank. Verwendet man diesen Leitfaden um die 15 Genomics-Publikationen nach RF-EMF Exposition zu bewerten, so erfüllt keine alle diese Richtlinien. Daher ist es besonders wichtig, falls positiv Befunde beschrieben werden, diese in unabhängigen Labors zu wiederholen und die Rohdaten öffentlich zugänglich zu machen.

Peter Nürnberg (Zentrum für Genomics, Köln) informierte über die neue Generation der Genomics, welche insbesondere in der medizinischen Diagnostik für die individuelle Risikoabschätzung Verwendung finden soll. Die neue Technik soll schon im Jahre 2010 zur Verfügung stehen, ob die Daten bis dahin verständlich sein werden, wurde leider nicht beantwortet.

Eine spektakuläre und noch entwicklungsfähige Technologie innerhalb der Proteomics ist die „Interactomics“. **Ulrich Stelzl** (MPI Berlin) stellte diese neue Technik vor, wobei die Protein-Protein-Interaktionen (PPI), ihre molekularen Wechselwirkungen und Vernetzungen analysiert werden. Ziel dieser Technologie ist es, die Dynamik molekularer Netzwerke, welche mit menschlichen Krankheiten verbunden sind, zu verstehen und gegebenenfalls frühzeitig zu erkennen.

Christopher Portier (NIEHS, USA) stellte ebenfalls eine neue Technologie vor, die auf bereits etablierten Methoden und Daten basiert. Es handelt sich um die sogenannte „Structurally-Enhanced Pathway Enrichment Analysis (SEPEA)“, wobei die bekannten Protein-Signalwege miteinander in Verbindung gebracht werden, um zelluläre Prozesse zu verstehen aber auch in erster Linie um Krankheiten und den sogenannten „Fingerprint“ der Krankheiten zu erkennen. Die SEPEA (leider kein Omics in der Bezeichnung) soll auch Umwelteinflüsse und ihre mögliche toxikologische Wirkung erkennen.

William F. Morgan (Universität Baltimore, USA) erläuterte die erhaltenen Erkenntnisse durch die Omics-Assays in der Strahlenforschung und gab einen Überblick über Vor- und Nachteile beziehungsweise über die zurzeit noch vorhandene Limitierung der Technologie. **Martin L. Meltz** (Kerrville, Texas, USA) berichtete über seine langjährigen Forschungsarbeiten sowohl in der Strahlen- wie auch in der EMF-Forschung. Er machte die Vorteile der Omics-Technologie deutlich, betonte aber auch, dass man die positiven Effekte eines Agens nicht vernachlässigen sollte.

Im letzten Themenbereich „Wie eignen sich Omics für die Identifizierung unklarer Risikofaktoren?“ wurden zwei Beispiele direkt aus der Ergebnisliste nach RF-EMF-Expositionen präsentiert. **Dariusz Leszczynski** (STUK, Helsinki, Finnland) fasste 16 Studien zusammen, davon 12 Transcriptomics-, 2 Proteomicsstudien und zwei Studien, die beide Methoden gemeinsam enthielten, und versuchte diese zu bewerten. Es wurde betont, dass es zurzeit nur sehr wenige Daten auf diesem Sektor gibt und auch nur vier Labore solche Untersuchungen durchführen. Auch wurde erneut die Problematik angesprochen, dass es keine klaren Richtlinien für die Verwendung dieser Methoden gibt. Daher ist eine abschließende oder annähernde Aussage zur Wirkung von RF-EMF derzeit nicht möglich.

Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangte **Helmut Franke** (Universität Münster). Interessanterweise legte er einen großen Wert auf die Tatsache, dass bei der Anwendung von Omics hypothesefrei gearbeitet werden soll, denn schließlich handelt es sich hierbei um eine Screening-Technologie. Da das biologische Verständnis und das Wissen noch nicht ausreichen, um die großen Mengen an Daten zu verstehen, ist wohl diese Technologie noch nicht geeignet für die Risikoabschätzung.

Der letzte Vortrag von **Gary Marchant** (Arizona State University, USA) gab einen sehr interessanten Überblick über die Idee des sogenannten Vorsorgeprinzips. Es wurde klar, dass es sich hierbei um einen sehr weiten Begriff handelt und die Fragen nach dem „Wo anfangen?“ und „Wo aufhören?“ sehr schwierig sind. Besonders betont wurde die Frage wie die Ergebnisse der Omics zu interpretieren seien, wenn die klassischen Biomarker oder Endpunkte nicht mehr gelten. Wie sind diese Werte zu verstehen? Wie sollen die entsprechenden Behörden und Politiker mit solchen Ergebnissen umgehen? Ist es nicht vielmehr so, dass diese Fragen zu früh gestellt worden sind, denn es gibt noch keine durch die „Omics“ erzielten Antworten auf denen man entsprechende Fragen aufbauen könnte?!

Nach dem umfangreichern Programm startete eine recht lebhaft, aber doch einvernehmliche Diskussion über das Pro und Contra der klassischen Verfahren und der „Omics“ für die Risikoabschätzung. Es wurde festgestellt, dass nichts vollkommen ist. Die klassischen Methoden beruhen auf vorher festgelegten Hypothesen; man sucht nach ganz bestimmten Endpunkten in genau definierten Experimenten. Ob die richtigen Methoden gewählt wurden bleibt offen.

Tierversuche sind sehr zuverlässig, aber es gibt nur eine begrenzte Anzahl von Tiermodellen, um die Krebsentstehung zu studieren. *In-vitro*-Untersuchungen sind ebenfalls sehr hilfreich, um gezielte und reproduzierbare zelluläre und molekulare Analysen durchzuführen; die biologische Relevanz und die Extrapolation der Ergebnisse sind allerdings mit Schwierigkeiten behaftet.

Studien zur Gentoxizität sind seit langem etabliert; es ist eine große Menge an Daten vorhanden, um die Ergebnisse zu bewerten und zu vergleichen. Hier werden hauptsächlich direkte DNS-Schädigungen erfasst, die Sichtbarkeit epigenetischer Effekte ist beschränkt und die biologische Relevanz auch nicht immer klar. Fest steht, dass die klassischen Verfahren nicht der Weisheit letzter Schluss sind. Auch dort gibt es jede Menge falsch positive und falsch negative Ergebnisse. Als ein relativ guter Biomarker wurden die Chromosomenaberrationen für das Krebsrisiko bewertet, wobei diese Erfahrungen und Daten auf statistischen Analysen beruhen, eine individuelle Risikoabschätzung ist nicht möglich. Es gibt jede Menge Noxen, die kanzerogen wirken, sie sind aber nicht zwangsläufig mutagen. Daher würden zytogenetische oder gentoxische Studien nicht immer positive Befunde aufzeigen.

Im Gegensatz zu den klassischen Verfahren sind die „Omics“, sofern sie das Gesamte erfassen (zum Beispiel das gesamte Genom), hypothesefrei und erlauben das Screenen auf einem hohen Niveau. Es ist möglich große Mengen an Proben parallel auf den verschiedensten Ebenen (Genom, Proteom, Metabolom, Epigenom etc.) zu analysieren; dabei ist mit unerwarteten Befunden zu rechnen und es ergeben sich Hinweise auf Wirkmechanismen. Somit leisten die Omics-Technologien auch einen Beitrag zur Grundlagenforschung. Es wurde als nachteilig betont, dass die Menge an anfallenden Daten zu komplex und zurzeit noch nicht in allen Einzelheiten verständlich ist. Ein großes Problem liegt in der Reproduzierbarkeit, da sehr unterschiedliche Parameter, Techniken und Evaluierungsmethoden verwendet werden. Auch die biologische Relevanz der Ergebnisse ist noch unklar.

Der Bezug zu RF-EMF kam immer wieder zum Vorschein. Es wurde deutlich (und ist es schon seit sehr langer Zeit), dass der Dosis-Begriff in der RF-EMF-Forschung keine Anwendung findet. (Der SAR-Wert ist als Leistungseintrag pro Masse bzw. als Temperaturerhöhung pro Zeiteinheit definiert; für eine Dosis müsste auch noch die Einwirkungszeit beachtet werden.) Es soll hierbei hervorgehoben werden, dass diese Tatsache leider nicht genügend berücksichtigt wird, wenn es um toxikologische Methoden (welcher Art auch immer) geht. Für die Toxikologie ist die Dosis ein wichtiger Parameter. Wenn wir über RF-EMF sprechen, haben wir keine Dosis-Definition, also stellt sich die Frage ob das richtige Werkzeug für die Untersuchungen verwendet wird. Ist klassische Toxikologie richtig ohne Dosis?

Welche Zellen sollten untersucht werden? Auch diese Frage ist bereits ein Klassiker und die Diskussion zeigte, dass es zwei Lager gibt. Pro und Contra Lymphozyten und Chromosomenaberrationen. Natürlich wären diese Zellen das richtige Ziel, wenn es sich bei RF-EMF um ein klassisches Mutagen handeln würde. Offensichtlich ist der Wirkmechanismus, falls einer vorhanden ist, ein anderer und die Wahl der Targetzellen und der „richtigen“ Methode möglicherweise nicht die richtige Frage.

Das heißt, dass Krebs vermutlich nicht der richtige Endpunkt für die Wirkung von EMF ist, denn es handelt sich um einen sehr schwachen Stimulus. Daher wären HTPST ein guter Einstieg um einen Überblick darüber zu bekommen, was in den Zellen passiert, um dann eine Theorie oder Hypothese abzuleiten und weitere Analysen durchzuführen. Einige der neuen Möglichkeiten wie beispielsweise die Epigenomics oder Interactomics bieten zusätzliche Chancen, um biologische Effekte aufzuspüren und Grundlagen zu verstehen.

Nicht zuletzt ist es wichtig, standardisierte Verfahren zu entwickeln und eventuell Richtlinien festzulegen, um die anfallenden Daten besser reproduzieren und vergleichen zu können. Die Genomics-Technik ist bereits auf einem guten Weg durch den Versuch der Festlegung eines Standards. Wünschenswert ist, entsprechende Richtlinien für alle etablierten Omics-Verfahren zu entwickeln und anzuwenden und so das Prinzip der „Good Laboratory Practice (GLP)“ zu erfüllen. Dann wird „Omics“ mehr als nur eine Screening-Technologie, dann werden die Türen für neue Entdeckungen auch offen stehen und möglicherweise wird diese Technologie ein wichtiger Bestandteil der Risikoabschätzung, selbst wenn nicht alle Omics-Technologien eine „Überlebenschance“ haben.

Möglicherweise wäre es eine gute Entwicklung, solche Untersuchungen in entsprechenden Zentren mit standardisierten Verfahren, mit dem entsprechenden Wissen und Erfahrungen durchführen zu lassen. Zurzeit müssen wir uns damit begnügen, dass die „Omics“ eine weitere Technologie im Arsenal der Methoden ist, welche noch in der Kinderstube steckt, sich aber weiter entwickelt und eines Tages „eine Große“ sein kann.

Zusammenfassend kann der Workshop als sehr interessant und gelungen angesehen werden. Es wurde einstimmig festgestellt, dass keine Technologie allein vollkommen ist und dass eine Batterie von Methoden für eine gute Risikoabschätzung



angewendet werden muss. Dabei sollten auch alle Verfahren einander bestätigen und/oder ergänzen. Das bedeutet, dass die HTPS-Technologie allein für die Risikobewertung allgemein und für RF-EMF noch nicht geeignet ist.

Durch „Omics“ erzielte Positivbefunde sollten durch die etablierten Verfahren verifiziert werden, um Artefakte auszuschließen. Diese Technologie sollte aber mit in die Liste der Nachweisverfahren aufgenommen werden, nicht zu letzt, um etwaige unerwartete Ereignisse, aber auch neue Biomarker, in den Zellen aufzuspüren.