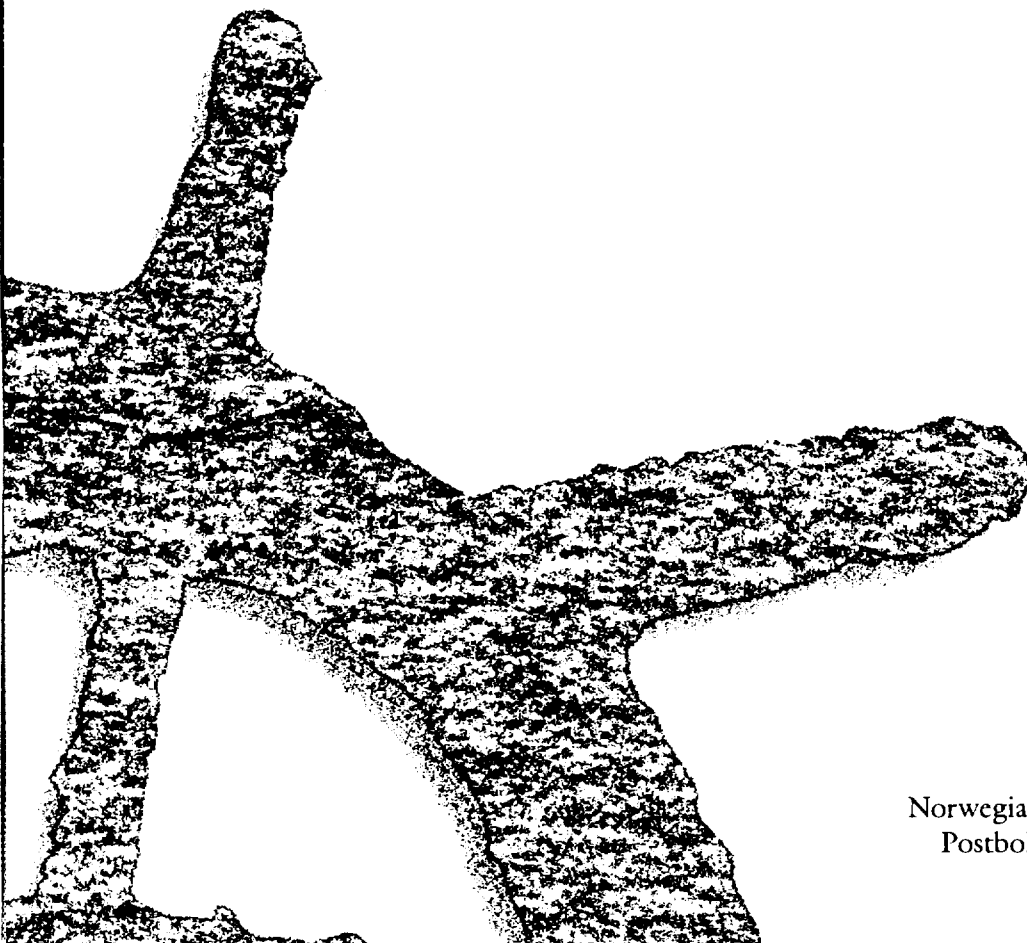




# Cellevekst, intracellulær kalsiumkonsentrasjon og metabolsk kooperasjon hos celler eksponert for 50 Hz magnetfelt

*Kirsten Sanna Skauli*



Statens  
strålevern

Norwegian Radiation Protection Authority  
Postboks 55 · N-1345 Østerås · Norway

# Cellevekst, intracellulær kalsiumkonsentrasjon og metabolsk kooperasjon hos celler eksponert for 50 Hz magnetfelt

*Kirsten Sanna Skauli*

*Referanse:*

Skauli KS, Cellevekst, Intracellulær Kalsiumkonsentrasjon og Metabolsk kooperasjon hos celler eksponert for 50 Hz magnetfelt. StrålevernRapport 1996:4 Østerås: Statens strålevern, 1996.

*Emneord:*

Elektromagnetiske felt. Cellevekst. Intracellulær kalsiumkonsentrasjon. Metabolsk kooperasjon.

*Resymé:*

Kolonidannelse, protein/DNA og protein/celle er målt hos celler eksponert for magnetfelter 0.2 og 1 mT med en frekvens på 50 Hz. Intracellulær kalsiumkonsentrasjon er målt hos celler eksponert for 0.3 og 1 mT med 50 Hz. Metabolsk kooperasjon er målt hos celler eksponert for 1 mT med 50 Hz. Det ble ikke funnet signifikante effekter av magnetfeltene.

*Reference:*

Skauli KS. Cell Growth, Intracellular Calcium Concentration and Metabolic Cooperation measured in cells exposed to 50 Hz electromagnetic fields. StrålevernRapport 1996:4. Østerås: Norwegian Radiation Protection Authority, 1996. Language: Norwegian.

*Key words:*

Electromagnetic fields. Cell growth. Intracellular calcium concentration. Metabolic cooperation.

*Abstract:*

Colony-forming efficiency, DNA/protein and DNA/cell were measured in cells exposed to magnetic fields of 0.2 and 1 mT at a frequency of 50 Hz. Intracellular calcium concentrations were measured in cells exposed to 0.3 and 1 mT at 50 Hz. Metabolic cooperation was measured in cells exposed to 1 mT at 50 Hz. No significant effects of the fields were observed.

*Godkjent:*


Jon B. Reitan, Medical director, Radiation Medicine Department.

17 sider.

Utgitt 1996-08-27.

Opplag 200

Form, omslag: Graf, Oslo.

Trykk: Grüner & Jebsen A/S, Østerås.

*Bestilles fra:*

Statens strålevern, Postboks 55 1345 Østerås.

Telefon 67 16 25 00, telefax 67 14 74 07.

ISSN 0804-4910

## INNHOOLD

1 INNLEDNING .....	2
2 MATERIALER OG METODER .....	3
2.1 MÅLING AV DNA.....	3
2.2 MÅLING AV PROTEIN .....	4
2.3 MÅLING AV METABOLSK KOOPERASJON.....	4
2.4 CELLELINJER .....	4
3 EKSPONERING .....	4
3.1 EKSPONERINGSUTSTYR .....	4
3.2 EKSPONERING AV CELLER I KULTUR.....	6
3.3 BAKGRUNNSFELTER .....	7
4 RESULTATER .....	7
4.1 CELLEVEKST I 50 HZ MAGNETFELT .....	7
4.2 $[Ca^{2+}]_i$ ETTER PÅVIRKNING AV 50 HZ MAGNETFELT .....	9
4.3 $[Ca^{2+}]_i$ UNDER PÅVIRKNING AV 50 HZ MAGNETFELT.....	11
4.4 METABOLSK KOOPERASJON I 50 HZ MAGNETFELT .....	13
5 DISKUSJON .....	14
6 KONKLUSJON.....	15
7 REFERANSER .....	16

## 1 INNLEDNING

Det finnes både eksperimentelle og epidemiologiske data som kan tyde på at lavfrekvente magnetfelt virker inn på reproduksjonsevne og fosterutvikling. På den annen side finnes det også resultater som stiller spørsmåltegn ved slike effekter. Vi kjenner ikke til virkningsmekanismer som eventuelt kan bidra til å forklare eller avkrefte biologiske virkninger av lavfrekvente felt. Vi har her valgt å ta utgangspunkt i funn som allerede er gjort hos celler i kultur, og som kan relateres til vekstprosesser under embryonalutviklingen.

Konsentrasjonen av frie kalsiumioner ( $[Ca^{2+}]_i$ ) er av grunnleggende betydning for å opprettholde normale fysiologiske funksjoner, og er derfor vesentlig fra de tidligste stadiene i embryonalutviklingen. En av de første observerte endringer i en eggcelle etter befruktningen er en bølge av kalsiumfrigjøring gjennom cellen. Det er også kjent at det eksisterer en kalsiumavhengig prosess i segmenteringen (Chernoff og Lash, 1981). Det er derfor relevant å etterprøve publiserte funn som viser endringer i  $[Ca^{2+}]_i$  hos celler eksponert for lavfrekvente magnetfelt (Liburdy et.al. 1992).

Endret proteinsyntese i form av endret proliferasjon eller endret syntesemønster vil påvirke embryonalutviklingen. Det er funnet både økt proliferasjon (Kwee og Raskmark, 1995) økt evne til å danne kolonier (West et.al., 1994) og endret proteinsyntesemønster (Goodman, 1991) hos celler eksponert for lavfrekvente magnetfelt.

Intercellulær kommunikasjon er en forutsetning for differensiering. En viktig del av kommunikasjonen mellom naboceller foregår via gap-junctions tidlig i embryonalutviklingen. Gap-junctions er en kanal mellom to naboceller som tillater ioner og små vannløselige molekyler å passere direkte fra den ene cellens cytoplasma til den andre. Endringer i intercellulær kommunikasjon kan registreres i et modellsystem der det skjer metabolsk kooperasjon (MC) (Yotti et al., 1979).

I dette arbeidet er det målt intracellulært kalsium, cellevekst (protein/celle, protein/DNA og kolonidannelse) og metabolsk kooperasjon hos celler eksponert for lavfrekvente magnetfelter.

## 2 MATERIALER OG METODER

Konsentrasjon av intracellulær kalsium ( $[Ca^{2+}]_i$ ) ble målt ved hjelp av det fluorescerende stoffet fura-2. Metodene for dette er nøyere beskrevet tidligere (Sanna, 1994).

### 2.1 Måling av DNA

For å måle DNA innhold ble det brukt det fluorescerende fargestoffet bisbenzimidazole, Hoechst 33258 (Labarca og Paigen, 1980). Metoden er rask og enkel for kvantitativ bestemmelse av DNA. Måleprinsippet er endring av fluorescens når bisbenzimidazole bindes til DNA. Ved DNA-binding skjer det en betydelig økning av fluorescens,

eksitasjonsmaksimum forblir det samme, men det skjer et skift i emisjonsmaksimum. Fluorescensutbyttet blir da en funksjon av DNA konsentrasjonen. DNA innhold i en ukjent løsning kan finnes ved å sammenligne med en standardkurve. Det ble laget ny standardkurve med kjente konsentrasjoner kalve thymus DNA for hver måleserie.

## **2.2 Måling av protein**

For å måle protein ble det brukt Lowrys metode (Lowry,1951). Folin&Ciocalteus phenol reagens(F-9252,Sigma) og aromatiske aminosyrer i proteinet reagerer i en to trinns reaksjon etter tilsetning av alkalisk kopper og gir en blå farge. Absorbansen for lys med bølgelengde 700nm blir da et kvantitativt mål på proteinkonsentrasjonen i løsningen.

## **2.3 Måling av metabolsk kooperasjon**

MC innebærer at forløpere til nukleinsyrer kan overføres fra en celle til en annen via gap junctions. Vi har brukt et modellsystem med normale og mutante V79-celler ( resistente mot 6-thioguanin). Når normale og resistente celler vokser sammen i kultur fører intercellulær kommunikasjon til at tidligere resistente celler blir sensitive. Tetradecanoylphorbol acetate (TPA) hemmer intercellulær kommunikasjon og brukes til positiv kontroll.

## **2.4 Cellelinjer**

Det ble brukt tre forskjellige neoplastiske cellelinjer; V79 (fibroblastceller fra kinesisk hamster), 308 (epidermale celler fra mus) og TMG-1 (humane glioblastomceller). Cellene ble dyrket ved Institutt for Patologi, RH.

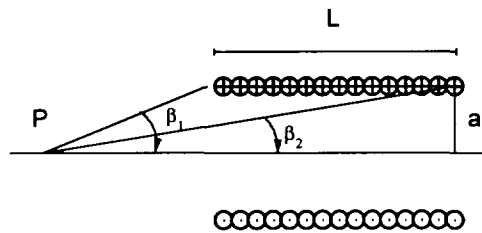
Kolonidannelse ble vurdert ved manuell telling av bromthymolblått fargede kolonier i bunnen av dyrkningsflaskene.

# **3 EKSPONERING**

## **3.1 Eksponeringsutstyr**

Eksponeringsutstyret besto av en signalgenerator (0-5 Mhz) og en stereo audio effektforsterker. Dette gir strøm med ønsket bølgeform og amplitude til spolen innenfor det aktuelle frekvensområdet. Signalet fra signalgeneratoren, forsterkeren og en søkspole kan kontrolleres samtidig med et 4-kanals oscilloskop.

For å eksponere dyrkningsflasker er det laget en solenoide som vist i figur 3.1. Solenoiden har radius  $a=5$  cm, lengde  $L=1$  m og antall vindinger  $N=820$ .



*Figur 3.1 Figuren viser skjematisk spolen som er brukt til eksponering av celledyrkningsflasker og skåler.*

I et punkt P på spoleaksen er sammenhengen mellom strømmen i spolen og magnetfeltet gitt ved:

$$\frac{B}{I} = \mu_0 \frac{N}{2L} (\cos\beta_2 - \cos\beta_1)$$

I midten av spolen er  $\beta_1 \approx \pi$  og  $\beta_2 \approx 0$ . Da er:

$$\frac{B}{I} = \mu_0 \frac{N}{L} \approx 1 \text{ mT/A}$$

Dyrkningsflaskene (skålene) ble plassert parallellt med feltlinjene for å minimalisere induerte strømmer i mediet. Høyden på mediet var < 3 mm. Flaskene ble plassert mest mulig i midten av spolen, og ikke nærmere åpningen enn ca 20 cm. Teoretisk er da magnetfeltet i flaskene konstant innenfor 1 %. Det ble kontrollert med en søkspole at feltet hadde god homogenitet. Søkspolen har tverrsnitt  $A = 5.0 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$  og  $N = 200$  vindinger. Med et 50 Hz sinussignal blir forholdet mellom B-feltet og den induerte spenningen over søkspolen:

$$\frac{U}{B} = NA 2\pi f \approx 3.14 \text{ V/T}$$

For kontrollen ble det laget en blindspole med to parallelle viklinger. Når motsatt rettet likestrøm med samme effektiv verdi som sinussignalet i eksponeringsspolen sendes gjennom de parallelle ledningene, vil kontrollspolen gi samme oppvarmingseffekt som eksponerings-

spolen. Det konstante magnetfeltet i blindspolen blir betydelig mindre enn en spole der viklingene har samme strømretning.

En vifte ble montert til spolene slik at produsert varme ble fjernet raskt. Med vifte ble det ikke på noe tidspunkt registrert temperaturøkning i eksponeringsspolen målt med 0.1° oppløsning når spolene var plassert i inkubatorrommet (37°C). Rommet hadde forholdsvis dårlig luftgjennomstrømning. Uten vifte ble det målt opp til 4° temperaturøkning, og celleveksten ble betydelig redusert. Det ble valgt å ikke la det gå strøm i blindspolen fordi vifta fjernet varmen så effektivt.

For eksponering i fluorometeret ble det brukt en tilnærmet Helmholtz spole som passet rundt kuvetteholderen. Spolen har to solenoider med en avstand  $2d=3.6$  cm. Hver av solenoidene har  $n=19$  vindinger, og radius  $r=4,5$  cm. Prøven ble plassert i midten av spolen.

Magnetfeltet i avstand  $d$  fra en sirkulær strømsløyfe med radius  $r$  er gitt ved:

$$B = \mu_0 \frac{Ir^2}{2(r^2 + d^2)^{3/2}}$$

Med to solenoider hver med avstand  $d$  fra punktet der prøven plasseres, og med  $n$  vindinger i hver solenoide blir magnetfeltet tilnærmet:

$$\frac{B}{I} = \mu_0 \frac{r^2 n}{(r^2 + d^2)^{3/2}}$$

Med innsatte verdier blir  $B/I \approx 0.5$  m T/A

I fluorometeret er det magnetisk materiale som kan påvirke feltet i spolen. Det ble imidlertid målt med søkespolen at feltet i kuvetten hadde god homogenitet og var lik det beregnede feltet innenfor 10 %.

### 3.2 Eksponering av celler i kultur

I cellevekststudiene ble det valgt å gi 7 dagers kontinuerlig eksponering. Eksponeringen var et sinus-signal med en amplitude på 0.2 og 1 mT og med frekvens 50 Hz.

Dyrkningsflaskene ble plassert i inkubatorskap med halvt åpen kork i 2 timer umiddelbart etter utsåing for å få riktig konsentrasjon  $\text{CO}_2$ . Rødorange medium viste at surhetsgraden i mediet var tilfredsstillende. Korkene ble skrudd helt igjen når flaskene ble plassert i magneten i inkubatorrommet.

Ved måling av  $[\text{Ca}^{2+}]$ , etter magnetfelteksponering ble cellene eksponert for et felt med amplitude 1 mT med 50 Hz. Eksponeringen hadde en varighet på 15 til 150 minutter. Cellesuspensjonen (1 mill celler per ml) ble fordelt i skåler før eksponeringen. Etter eksponeringen ble cellesuspensjonen overført til kuvetten i fluorometeret. Målingen startet 5 min etter avsluttet eksponering. Disse målingene var de første som ble gjort, og det var da ikke montert vifter på spolene. Eksponeringene foregikk i romtemperatur, og rommet hadde god luftsirkulasjon..



Ved måling av  $[Ca^{2+}]_i$ , samtidig med eksponeringen ble det gitt amplitude 0.3 mT og 1 mT med 50 Hz. Hver måleserie startet med å måle  $[Ca^{2+}]_i$  kontinuerlig i 15 minutter uten magnetfelteksponering. Så ble  $[Ca^{2+}]_i$  målt kontinuerlig i 15 minutter med ny celleduspensjon. Det ønskede feltet ble satt på etter 7 minutter, og slått av etter 12 minutter (Totalt 5 minutter eksponering). Hver måleserie ble avsluttet med å måle  $[Ca^{2+}]_i$  kontinuerlig i 15 minutter med ny celleduspensjon uten felteksponering. Måleserien ble definert vellykket dersom kontrollmålingene før og etter eksponeringene viste en konstant verdi i 15 minutter. Dette var spesielt viktig fordi det var ofte at den første kontrollen hadde en konstant kurve, og målingene etterhvert hadde en stigende kurve. Å avslutte med en kontroll var viktig for å avgjøre om en eventuelt stigende kurve skyltes magnetfeltet eller hadde en annen årsak, som for eksempel celledød. Temperaturen i prøven ble kontrollert ved gjennomstrømmning av vann fra et termostatstyrt vannbad. Temperaturen i vannbadet var 30°C. Målingene startet når temperaturen i kuvetten var passert 29°C.

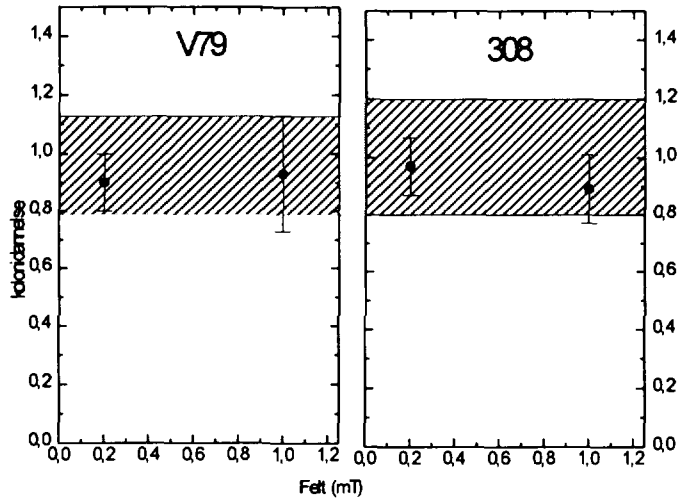
### 3.3 Bakgrunnsfelter

Bakrunnsfeltet (50 Hz) i eksponeringsrommet varierte mellom 0.06 og 0.09  $\mu T$ . I inkubatorskapene som ble benyttet til rutinedyrkning av cellene varierte magnetfeltet fra skap til skap, og fra hylle til hylle i et og samme skap. Det ble målt feltstyrker fra 0.2 til 9  $\mu T$  i disse inkubatorskapene.

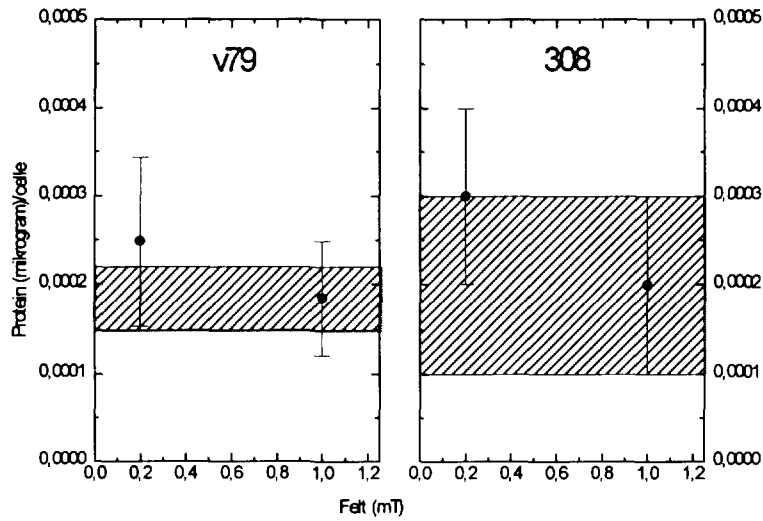
## 4 RESULTATER

### 4.1 Cellevekst i 50 Hz magnetfelt

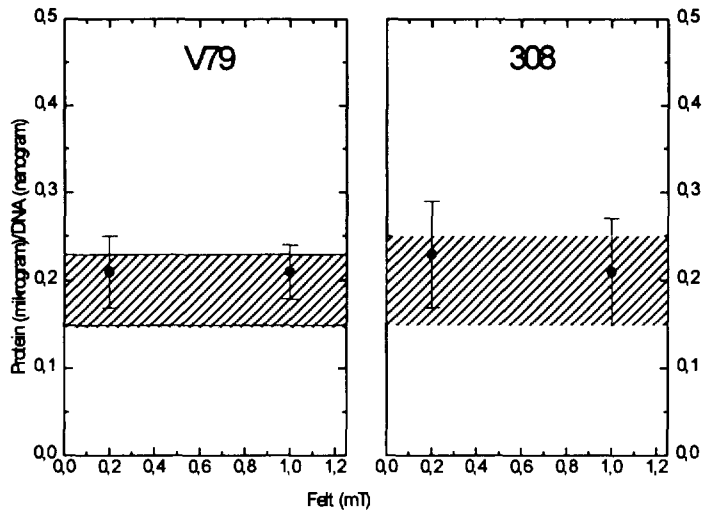
Tre størrelser ble målt for å studere cellevekst; kolonidannelse (# talte kolonier/# celler sådd ut), protein/celle og protein/DNA. Hver enkelt av figurene 4.1.1- 4.1.3 bygger på tre uavhengige forsøk med to paralleller i hvert forsøk. Resultatene tyder ikke på at eksponeringen som er gitt fører til endringer i kolonidannelse (Fig. 4.1.1) eller størrelse (Fig. 4.1.2 og Fig 4.1.3). Antall celler i de eksponerte dyrkningsflaskene var lik antallet i kontrollflaskene innenfor ett standardavvik i alle eksperimentene.



*Figur 4.1.1 Kolonidannelse ved 0.2 og 1 mT, 50 Hz felt for V79 og 308 celler. Skravert område viser kontrollverdiene  $\pm$  ett standardavvik.*



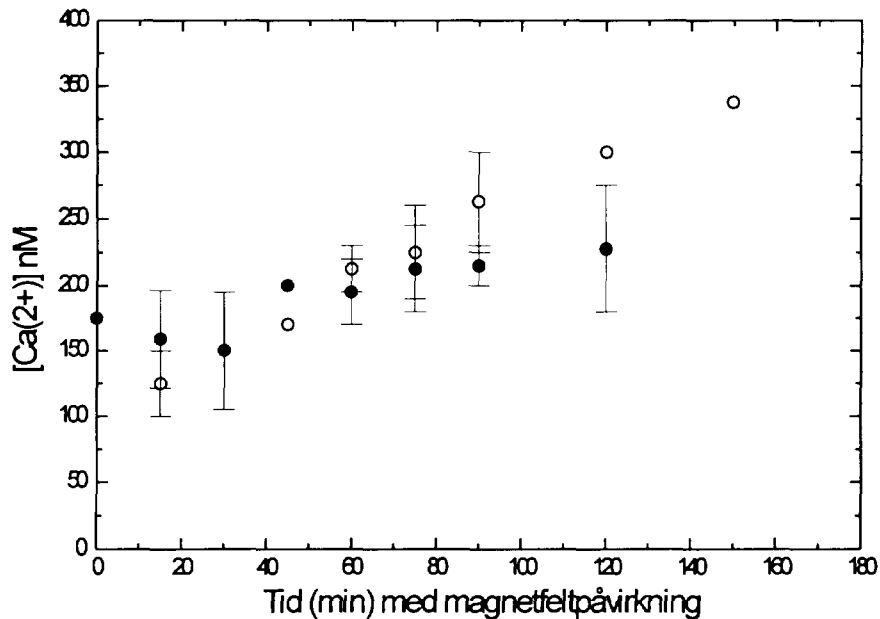
*Figur 4.1.2 Protein (mikrogram/celle) ved 0.2 og 1 mT, 50 Hz felt for V79 og 308 celler. Skravert område viser kontrollverdiene  $\pm$  ett standardavvik.*



*Figur 4.1.3 Protein (mikrogram)/DNA(nanogram) ved 0.2 og 1 mT, 50 Hz felt for V79 og 308 celler. Skravert område viser kontrollverdiene  $\pm$  ett standardavvik.*

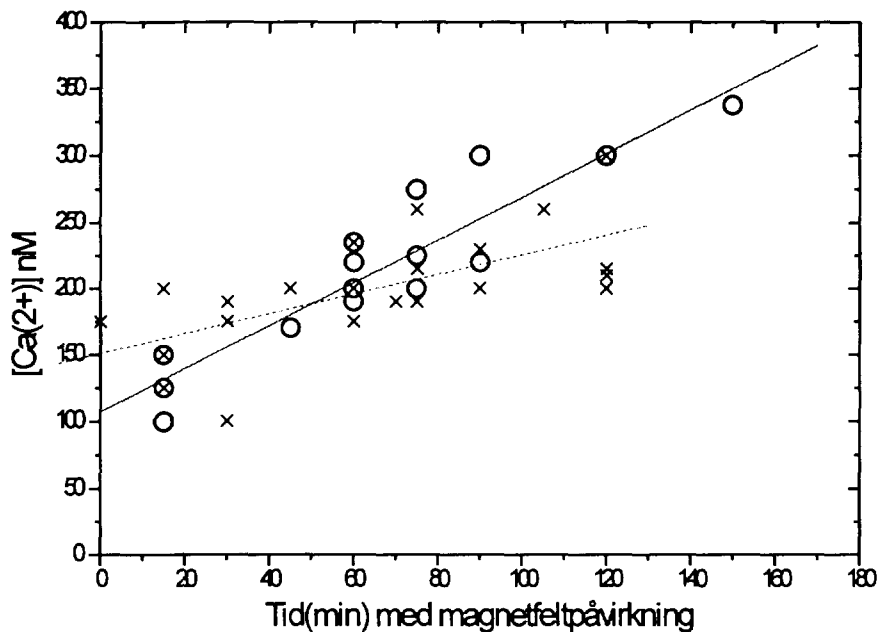
#### 4.2 $[Ca^{2+}]_i$ etter påvirkning av 50 Hz magnetfelt

Intracellulær kalsiumkonsentrasjon hos TMG-1 celler etter magnetfelteksponering er vist i figurene 4.2.1 og 4.2.2.



*Figur 4.2.1  $[Ca^{2+}]_i$  etter økende tid i 1 mT magnetfelt hos TMG-1-celler. Målingene ble tatt 5 minutter etter eksponering. (●) Viser kontrollverdiene, og (○) viser de eksponerte verdiene.*

Figur 4.2.1 og 4.2.2 viser  $[Ca^{2+}]_i$  hos celler i suspensjon etter felteksponering (1mT, 50 Hz) i 15 min til 2 timer og 15 min. Figurene bygger på 42 enkeltmålinger fra 8 uavhengige eksperimenter. Figuren viser økende  $[Ca^{2+}]_i$  for kontrollcellene og de eksponerte cellene. Fura-2 lekker fra cellene til mediet slik at forholdet mellom fura-2 intracellulært og fura-2 i mediet synker over tid. Det er ikke signifikant forskjell på intracellulær kalsiumkonsentrasjon hos kontrollcellene og de eksponerte cellene(Figur 4.2.1), men det er en tendens til at økningen av  $[Ca^{2+}]_i$  er raskere hos de eksponerte cellene enn hos kontrollcellene(Figur 4.2.1 og 4.2.2).



Figur 4.2.2. Figuren viser alle enkeltmålingene av  $[Ca^{2+}]_i$  etter magnetfelteksponering. Åpen sirkel er eksponerte celler (1mT). Kryss er kontrollceller. Linjene er tilpasset målingene ved regresjonsanalyse. Striplet linje er kontrollceller, heltrukken linje er eksponerte celler.

Figur 4.2.2 viser enkeltmålingene for eksponerte celler og kontrollceller. Med en lineær regresjonsmodell, og tilpassning til en rett linje  $y=A+Bx$  blir linjene som vist i figuren med:

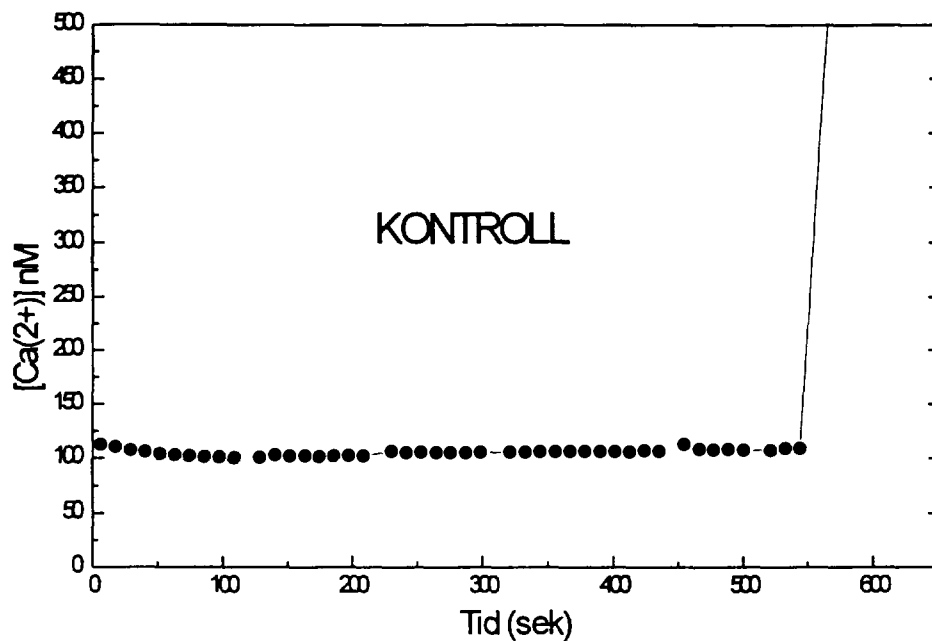
$$\begin{array}{ll}
 A_{\text{kontroll}} = 151.1 \pm 13.2 & A_{\text{eksp}} = 107.1 \pm 14.1 \\
 B_{\text{kontroll}} = 0.75 \pm 0.18 & B_{\text{eksp}} = 1.62 \pm 0.19 \\
 R_{\text{kontroll}} = 0.65 & R_{\text{eksp}} = 0.91
 \end{array}$$

Stigningstallet til de to tilpassede kurvene er signifikant forskjellig. Dette kan være en indikasjon på at magnetfelteksponering kan føre til økt intracellulær kalsiumkonsentrasjon, hos TMG-1 celler, men det kan ikke utelukkes at tendensen til brattere stigning hos

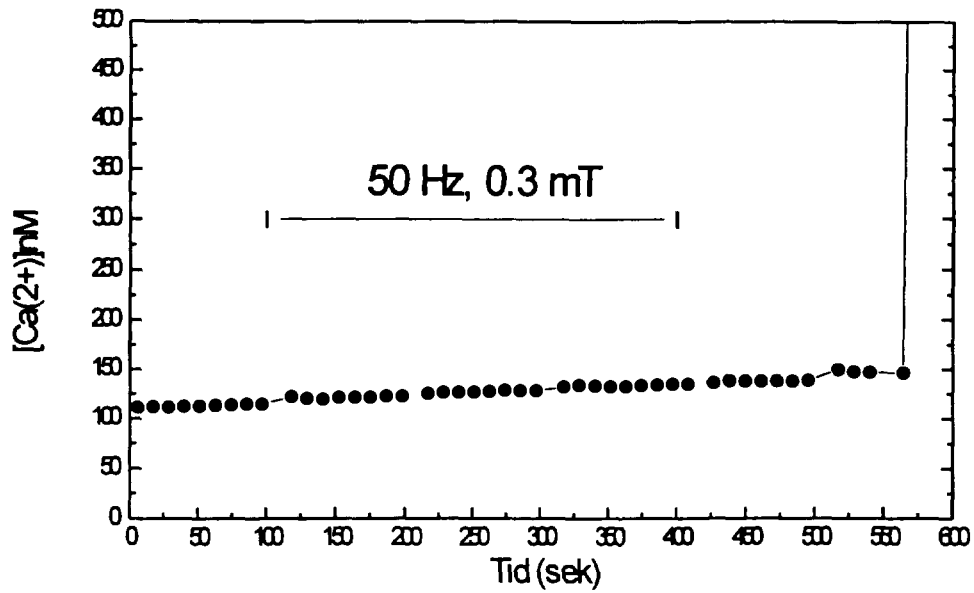
eksponerte celler i hvert fall delvis er en temperatureffekt. Videre eksperimenter vil være nødvendige for å avklare dette.

#### 4.3 $[Ca^{2+}]_i$ under påvirkning av 50 Hz magnetfelt

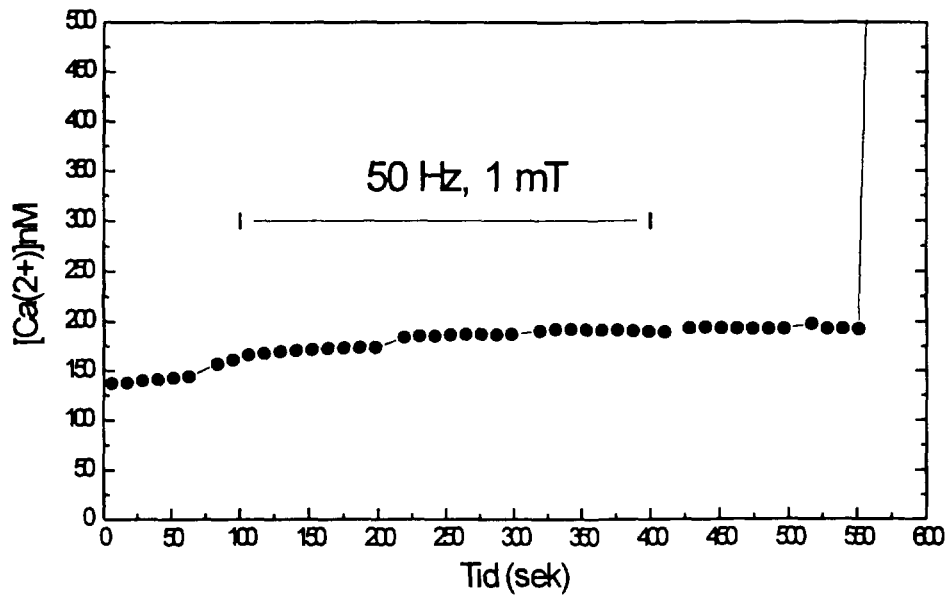
Figur 4.3 a,b og c viser  $[Ca^{2+}]_i$  under felteksponering (1mT og 0.3mT med 50 Hz). Figurene viser resultatene fra ett av totalt 4 måleserier der kontroll kurven holdt seg konstant over en periode på 15 minutter både før og etter eksponeringene. De fire måleseriene ga samme resultat; ingen målbar effekt av magnetfeltet. Hver måling ble avsluttet med å tilsette ionomycin som fører til at cellenes kalsiumkanaler åpnes, og kalsium strømmer inn i cellene. Dette er en kontroll på at metoden responderer på en rask økning av intracellulær kalsiumkonsentrasjon.



Figur 4.3 a.  $[Ca^{2+}]_i$  hos celler i suspensjon (1 mill/ml) målt over en periode på 10 minutter.



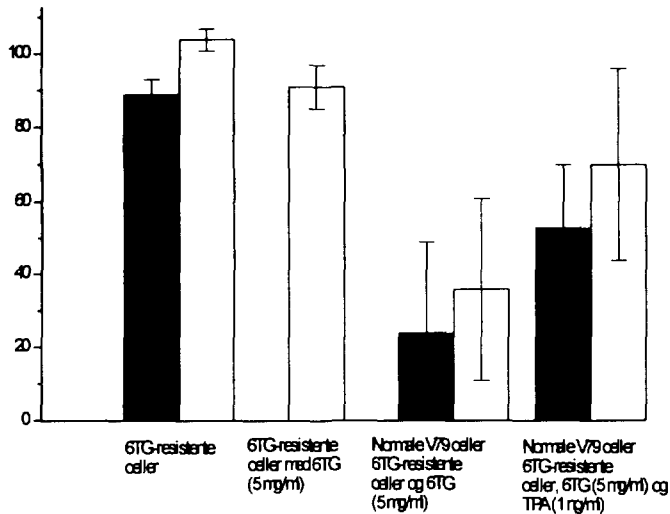
Figur 4.3 b.  $[Ca^{2+}]$ , hos celler i suspensjon (1 mill/ml) målt over en periode på 10 minutter under eksponering for 0.3 mT.



Figur 4.3 c.  $[Ca^{2+}]$ , hos celler i suspensjon (1 mill/ml) målt over en periode på 10 minutter under eksponering for 1 mT.

#### 4.4 Metabolsk kooperasjon i 50 Hz magnetfelt

Figur 4.4 viser middelværdi og standardavvik til tre uavhengige målinger av MC i 1 mT magnetfelt ved 50 Hz. Disse resultatene tyder ikke på at eksponeringen påvirker intercellulær kommunikasjon.



*Figur 4.3.1 Stolpene viser antall talte kolonier i de forskjellige gruppene. Skraverte stolper viser antall kolonier ved felteksponering (1 mT). Åpne stolper viser antall kolonier til kontrollene.*

De to første stolpene viser antall kolonier med 6TG resistente celler i eksponerte flasker og kontrollflasker. Tredje stolpe viser antall kolonier 6TG-resistente celler når mediet er tilsatt 6TG, og gir et mål på grad av resistens. Fjerde og femte stolpe viser antall kolonier 6TG-resistente celler som har vokst sammen med normale celler henholdsvis med og uten magnetfelteksponering. Betydelig færre kolonier enn i 1. og 2. stolpe viser at tidligere resistente celler gjennom metabolsk kooperasjon med normale celler har blitt sensitive. Sjette og sjuende stolpe har høyere kolonitall enn fjerde og femte, og viser at TPA hemmer metabolsk kooperasjon. Disse resultatene gir ingen indikasjon på at magnetfelteksponeringen har effekt på MC.

## 5 DISKUSJON

En rekke studier av cellevekst i magnetfelter er tidligere gjort, og resultatene er varierende, noen finner effekt mens andre ikke finner effekt (Frazier,1985,Phillips,1986,West,1994, Kwee,1995). Disse eksperimentene tyder ikke på endringer i cellevekst som følge av magnetfelteksponering. Lite sammenfallende resultater kan skyldes at ulike cellelinjer responderer forskjellig på lavfrekvente magnetfelt. På grunnlag av de studier som er gjort til nå ser det derfor ut til at lavfrekvente felt kan stimulere cellevekst hos mange cellelinjer, og det er også foreslått at lavfrekvente felt kan ha promosjonsaktivitet (Stuchly et.al. 1992, Mc Lean et.al. 1995).

Goodman(1990) har funnet økt transkripsjon og endret proteinsyntesemønster hos HL-60 celler(blodkreftceller) eksponert for lavfrekvente magnetfelt. Økt transkripsjon ble bare observert for gener som også var aktive i kontrollcellene. Vi kjenner ikke til hvorfor lavfrekvente felt ser ut til å stimulere vekst hos flere typer kreftceller, men en mulig forklaring er økt transkripsjon av muterte gener som koder for proteiner involvert i vekstregulering(gener som allerede er aktive i mange typer kreft).

$[Ca^{2+}]_i$  kan måles i enkeltceller eller i celsuspensjon i kuvette. Målinger i kuvette viser gjennomsnittlig  $[Ca^{2+}]_i$ . Oscillasjoner i  $[Ca^{2+}]_i$  vil ikke registreres med målinger i kuvette. Lindstrøm (1993) observerte at lavfrekvente felt kan forårsake oscillasjoner i kalsiumkonsentrasjon etter ca 2 minutter feltpåvirkning hos Jurkat-celler (blodkreftceller) Carson (1990) fant økt konsentrasjon av frie kalsiumioner hos HL-60 -celler i suspensjon ved eksponering for lavfrekvent magnetfelt i mer enn 20 minutter.

I dette arbeidet er det bare gjort målinger med celler i suspensjon. Når målingene av  $[Ca^{2+}]_i$  ble gjort samtidig med eksponeringen hadde eksponeringen en varighet på 5 minutter. I forhold til studiet til Carson er dette for kort tid til å registrere effekt. I de forsøkene hvor målingene av  $[Ca^{2+}]_i$  er gjort etter eksponeringen er varigheten opp til 2 timer. Det mulig at tendesen til raskere økning av  $[Ca^{2+}]_i$  hos de eksponerte cellene i figur 4.2.1 er samme effekt som Carson har observert i HL-60 celler.

Målingene av intercellulær kommunikasjon viser ingen endring hos celler eksponert for 50 Hz felt. Det er også gjort studier av intercellulær kommunikasjon hos celler eksponert for magnetfelt med en annen teknikk(Lucifer Yellow). Mange eksperimenter med frekvenser fra 12-430 Hz viste ingen signifikante effekter på intercellulær kommunikasjon (Spadinger,1994). Stuchly og Xi(1994) fant imidlertid at induserte strømmer påvirket gap-junctions.

Det er mulig at cellelinjene som som ble benyttet her ikke påvirkes av lavfrekvente magnetfelt, men et er flere andre forklaringer på at det ikke ble observert biologisk effekt av magnetfeltene i dette arbeidet. Eksponeringene som ble gitt var kontinuerlige,og det er mulig at det skjer adaptasjon til det kontinuerlige feltet(Rannug,1994), slik at gjentatte



avbrutte eksponeringer kunne gi effekt. Det er også mulig at en eventuell virkningsmekanisme som ligger til grunn for biologiske effekt av magnetfelt er så spesifikk at cellelinjene som ble benyttet mangler forutsetning for å respondere. En annen forklaring er at metodene som er benyttet ikke er følsomme nok for små effekter, og mer omfattende undersøkelser kunne gi statistisk grunnlag for å påvise en svak effekt.

Et metodologisk punkt er bakgrunnsfeltene i henholdsvis inkubatorrommet og i vanlige CO<sub>2</sub> inkubatorer. Det kan ikke helt utelukkes at rutinedyrkning av celler over lang tid i CO<sub>2</sub> inkubatorer med 0.2-9 µT kan føre til en seleksjon av feltresistente kloner, selv om det ikke foreligger noen holdepunkter for dette. Bakgrunnsfeltet i inkubatorrommet (0.06-0.09 µT) betyr mindre, og affiserer kontroll- og eksponerte (0.2-1 mT) kulturer i samme grad.

## **6 KONKLUSJON**

Konklusjon på dette arbeidet er at 50 Hz magnetfelter 0.2 og 1 mT ikke påvirker cellevekst hos 308 og V79 celler, 0.3 og 1 mT påvirker ikke intracellulær kalsiumkonsentrasjon hos TMG-1 celler og 1 mT påvirker ikke eller intercellulær kommunikasjon hos V79 celler. Flere tidligere studier med tilsvarende eksponering, men andre cellelinjer har rapportert om effekter. Dette kan det bety at virkningsmekanismene som ligger til grunn for biologisk effekt av lavfrekvente magnetfelter ikke involverer de generelle signalveiene som er virksomme i alle typer aktivt syklende celler.

## 7 REFERANSER

- Carson J.J.L., Prato F.S., Drost D.J., Diesbourg L.D., Dixon S.J. Time-varying magnetic fields increase cytosolic free  $Ca^{2+}$  in HL-60 cells. *American Journal of Physiology* 1990;259(4):687-691.
- Chernoff E.A.G., Lash J.V. Calcium dependence and contraction in somite formation. *Tissue and Cell* 1981;14:435-449.
- Epel D. Experimental analysis of the role of intracellular calcium in the activation of the sea urchin egg at fertilization. In S Subtelny, ed., *Cell surface:Mediation of developmental processes*, 38th Symposium of the Society of Developmental Biology. Academic press, Orlando 1980:169-185.
- Frazier M.E. og medarbeidere Cellular and molecular models for measuring effects of 60Hz AC electromagnetic fields Ref i Transmission/distribution Health and Safety Rep March 1986.
- Galvanovskis J., Sandblom J., Bergqvist B., Galt S., Hamnerius Y. The influence of 50-Hz magnetic fields on cytoplasmic  $Ca^{2+}$  oscillations in human leukemia T-cells. *The Science of the Total Environment* 1996;180:19-33.
- Goodman R. Transcription and translation in cells exposed to extremely low frequency electromagnetic fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 1991;25:335-355.
- Kwee S. Raskmark P. Changes in cell proliferation due to environmental electromagnetic fields. *Bioelectrochemistry-and-Bioenergetics* 36 (2) 1995 109-114.
- Labarka C., Paigen K. A simple rapid and sensitive DNA assay procedure. *Anal. Biochem.*1980;102:344-352.
- Liburdy P. Calcium signaling in lymphocytes and ELF fields. *FEBS* 1992;301:53-59.
- Lindstrøm Ewa, Lindstrøm Per, Berglund Andre, Mild Kiell Hansson Lundgren Erik. Intracellular Calcium oscillations in a T-cell line by a weak 50 Hz magnetic field. *Journal of cellular physiology* 1993;156:395-398.
- Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randhall C.H. Protein measurement with the folin phenol reagent *J. Biol. Chem.*1951;193:265-275.

- Mc Lean J.R.N. Thansandote A. Lecuyer D.W. Goddard M. Tryphonas L. Scaiano J.C. Johnson F. A 60 Hz magnetic field increases the incidence of squamous cell carcinomas in mice previously exposed to chemical carcinogens. *Cancer Lett* 1995;92:121-125.
- Phillips J.L. Winters W.D. Rutledge L. In vitro exposure to electromagnetic fields: Changes in tumor cell properties. *Int. J. Radiat. Biol.* 1986;49(3):463-469.
- Rannug A. Holmberg B. Ekstrom T. Mild K.H. Gimenez-Conti I. Slaga T.J. Intermittent 50 Hz magnetic field and skin tumor promotion in SENCAR mice. *Carcinogenesis* 1994;15(2):153-157.
- Sanna K. Christensen T. Bratlid D. Måling av intracellulært kalsium. *StrålevernRapport* 1994;6.
- Stuchly M.A., Xi W. Modelling induced currents in biological cells exposed to low-frequency magnetic fields. *Phys. Med. Biol.* 1994;39:1319-1330.
- Spadinger I. Yin X. Tsang S.S. Measurements of gap junctional intercellular communication in cells exposed to ELF magnetic fields. *The annual review of research on biological effects of electric and magnetic fields from the generation, delivery & use of electricity.* 1994P-10:62.
- West Robert W., Hinson William G., Lyle Daniel B., Swicord Mays L. Enhancement of anchorage-independent growth in JB6 cells exposed to 60 hertz magnetic fields. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics.* 1994;34:39-43.
- Whitaker M.J. and Steinhardt R.A. Ionic signaling in the sea urchin egg at fertilization. In C.B. Metz and Monroy A. eds., *Biology of fertilization*, Vol. 3, Fertilization response of egg. Academic press, Orlando 1985:167-221 and 453-455.
- Yotti L.P., Chang C.C. Trosko J.E. Elimination of metabolic cooperation in Chinese hamster cells by a tumor promoter. *Science* 1979;206(4422):1089-1091.

StrålevernRapport 1996:1  
Handlingsplanen for atomsaker  
Atomsikkerhetsprosjektene 1995

StrålevernRapport 1996:2  
Radiocaesium in grazing sheep

StrålevernRapport 1996:3  
Helsemessige konsekvenser av Tsjernobylulykken

ISSN 0804-4910

