

In vitro studie van de effecten van
elektromagnetische velden op de
celproliferatie en –differentiatie: belang van
fundamenteel onderzoek en therapeutische
effecten



M. Hinsenkamp, J.-F. Collard

Belang van *in vitro* onderzoek

Doel van de studie

Het aantonen van een verband tussen bepaalde karakteristieken van elektromagnetische velden met extreem lage frequenties en lage amplitudes en een cellulaire respons

≠

Hoge frequenties (GSM, microgolven, ...)

Te definiëren parameters

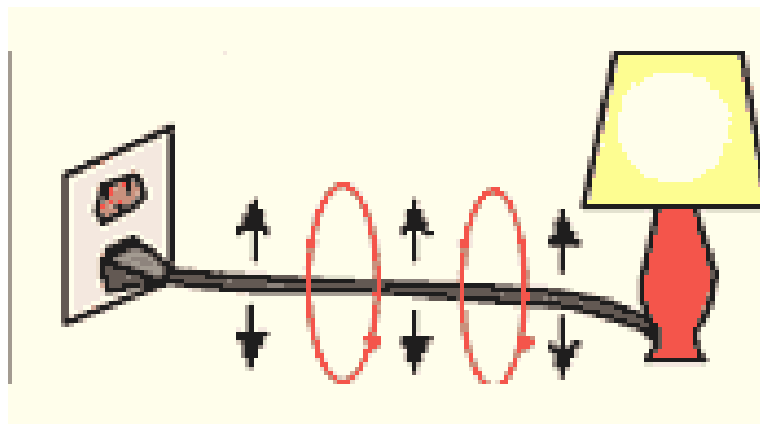
1. De elektromagnetische velden
2. Het milieu
3. Het biologisch substraat
4. De geassocieerde factoren
5. Karakteristieken van de blootstelling

1. De elektromagnetische velden

- De elektrische karakteristieken van statische elektrische en magnetische velden zijn relatief goed gekend
- Tijdsveranderlijke elektromagnetische velden zijn veel moeilijker te definiëren omwille van de vele parameters die dienen gecontroleerd te worden

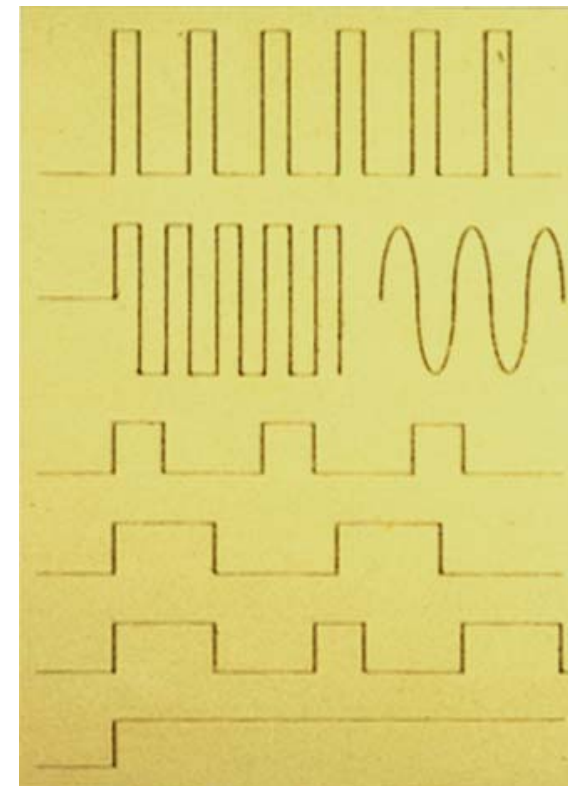
Ter herinnering

Een tijdsveranderlijk elektrisch veld (vb. wisselstroom) in een geleider (elektrische bedrading) genereert een tijdsveranderlijk magnetisch veld hier rond. Dit magnetisch veld, ook magnetische inductie genoemd, genereert op zijn beurt een geïnduceerde elektrische stroom



De karakteristieken van geïnduceerde magnetische en elektrische stromen zijn afhankelijk van de inductiestroom:

- draagfrequentie
- modulatiefrequentie
- type van de impuls
- amplitude
- tijd van stijging en daling
- polarisatie



2. Het milieu :

- elektrische eigenschappen :
geleidbaarheid, permeabiliteit, anisotropie,...
- homogeen : de topografie van de velden hangt in hoofdzaak af van de bron
- heterogeen : soms belangrijke verstoringen van de velden
- interferentie van andere elektrische/magnetische bronnen

3. Het biologisch substraat :

- elektrische eigenschappen :
geleidbaarheid, permeabiliteit, anisotropie
- grootte
- vorm
- oriëntatie
- organisatie : cel, weefsel, organisme
- gevoeligheid : receptor, venstereffect,
metabolisch stadium

4. Geassocieerde factoren

- elektrische : statische stroom, lekstroom, contactstroom, transiënten,...
- chemische : ionisch onevenwicht, geneesmiddel, pollutant, vrije radicalen,...
- thermisch : thermische schok,...
- mechanisch : trauma,...

5. Eigenschappen van de blootstelling

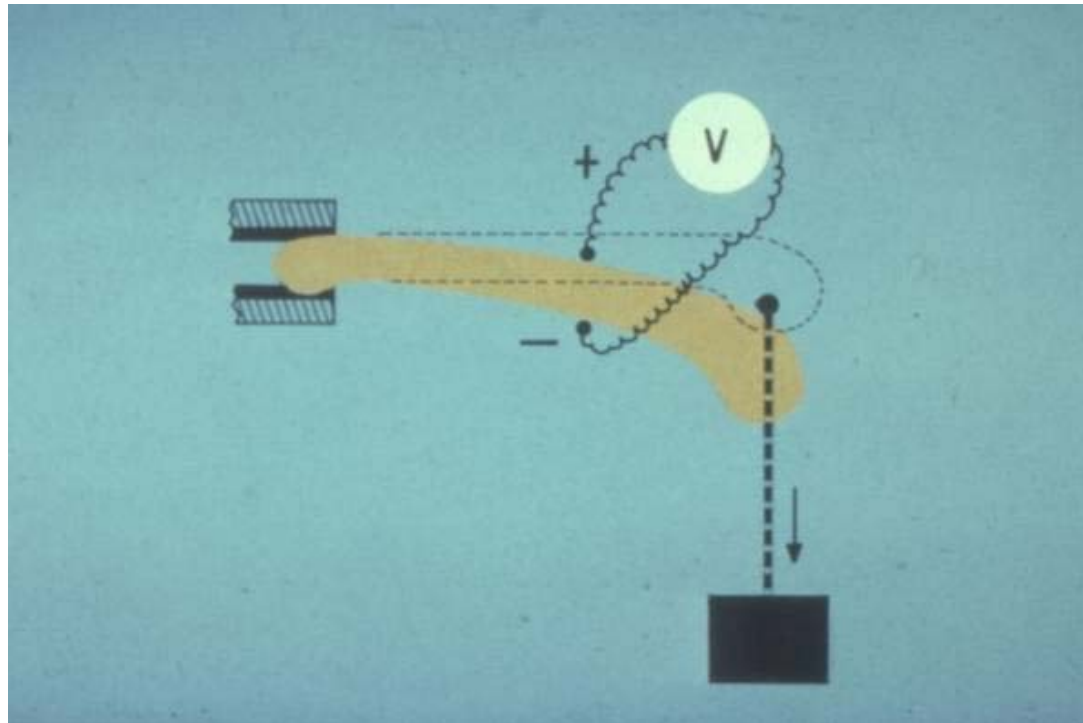
- constant
- periodisch
- aleatorisch
- multiple bronnen

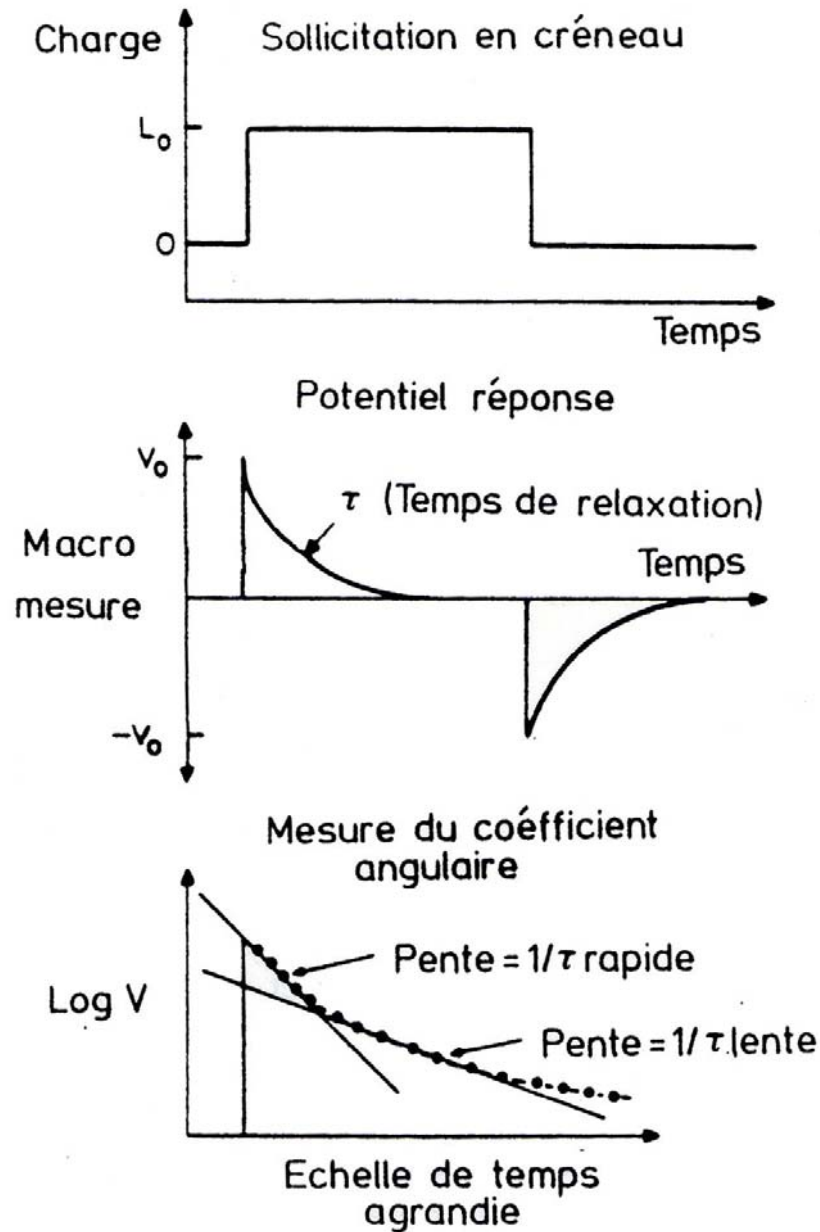
Het is bijzonder moeilijk een causaal verband aan te tonen bij afwezigheid van een belangrijk statistisch significant en geverifieerd effect van één van de elektromagnetische parameters op levende organismen. Het waarnemen van dit effect is weinig waarschijnlijk aangezien het verborgen blijft te midden andere fysische interacties en mechanismen van biologische autoregulatie

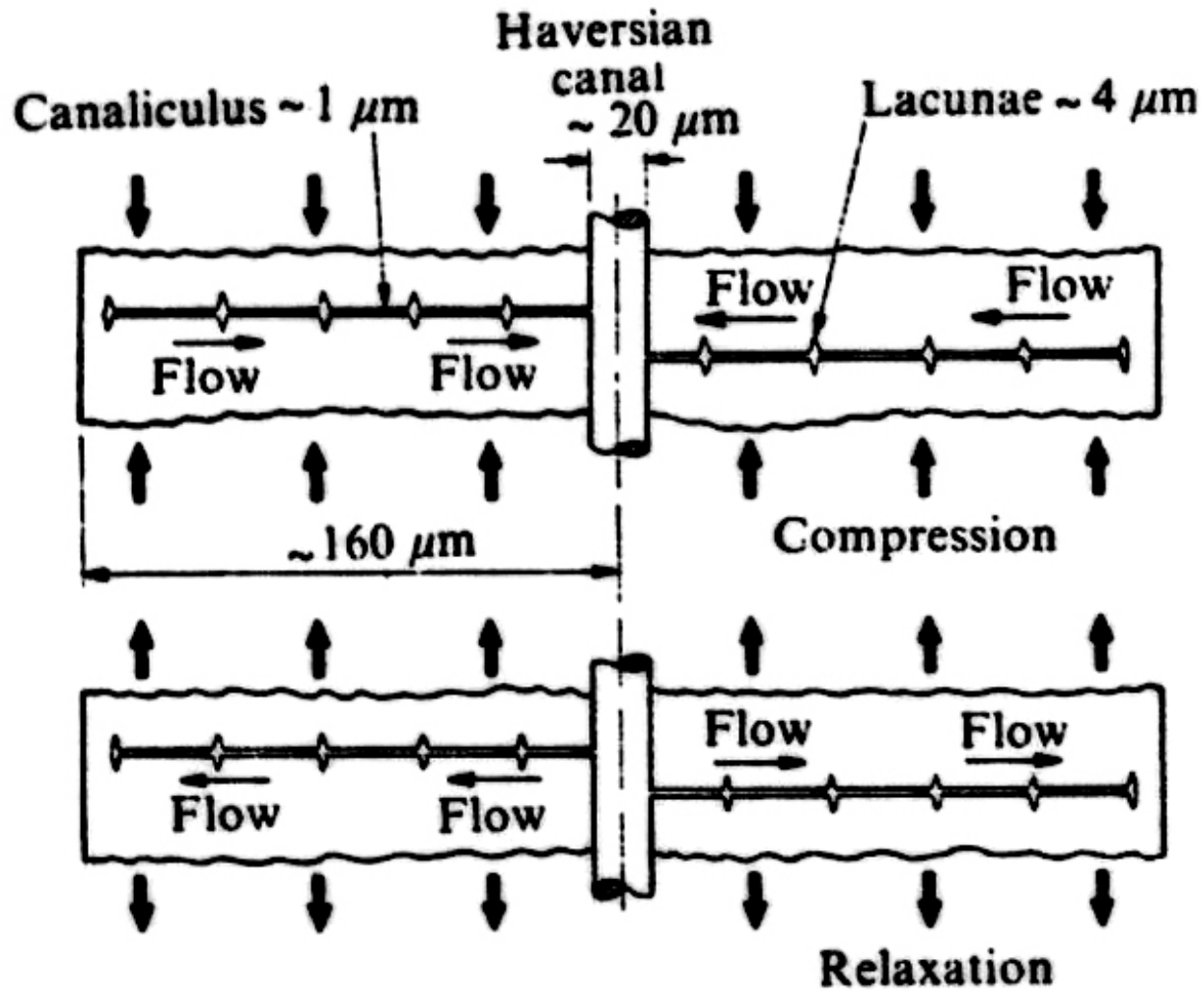
- De wetenschappelijke benadering tracht een oorzakelijk verband aan te tonen
- Het belang van *in vitro* onderzoek bestaat erin experimentele omstandigheden te creëren waarbij het aantal te bestuderen parameters in de hand kunnen gehouden worden en een verband tussen de verandering van één variabel en zijn biologisch effect kan aangetoond worden

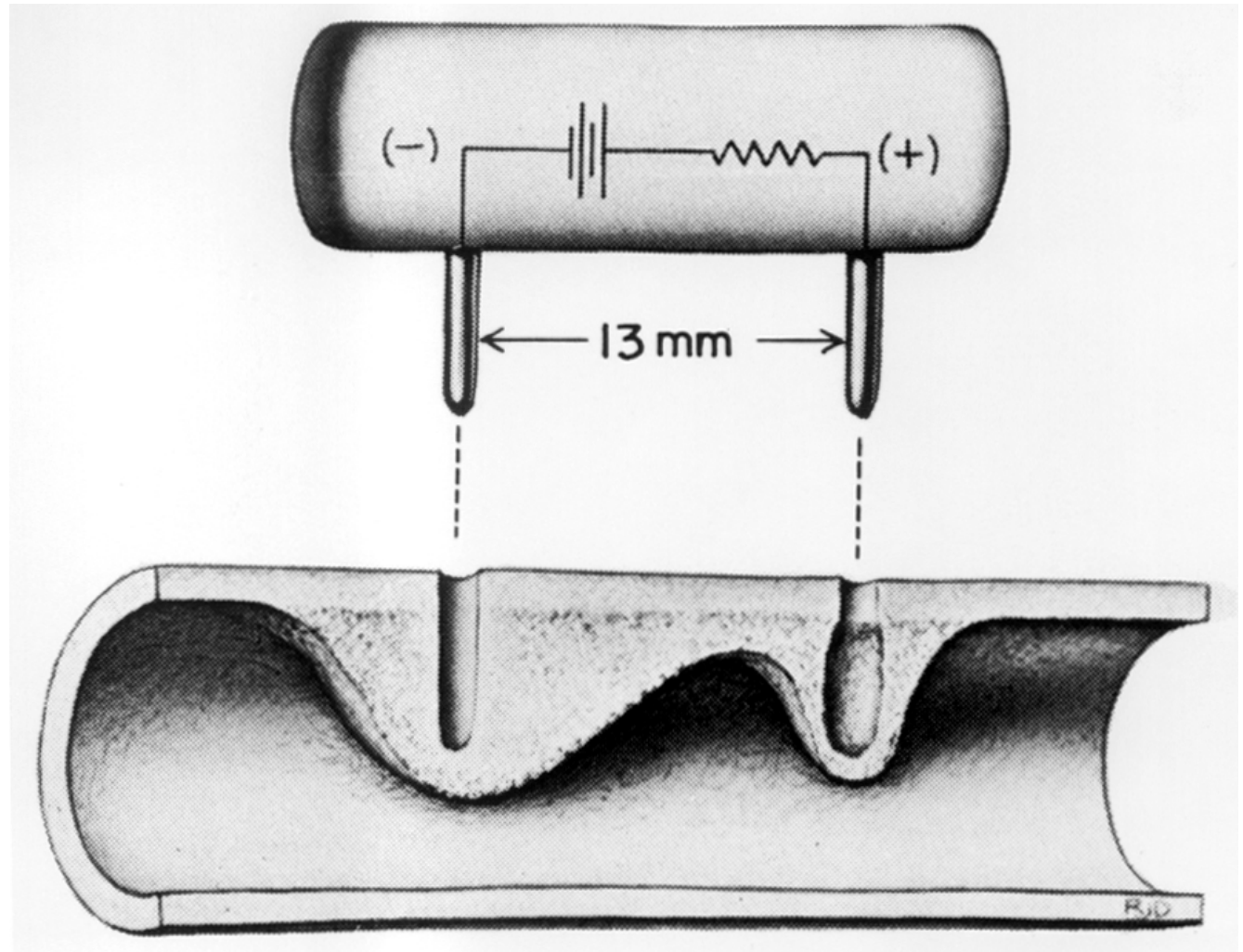
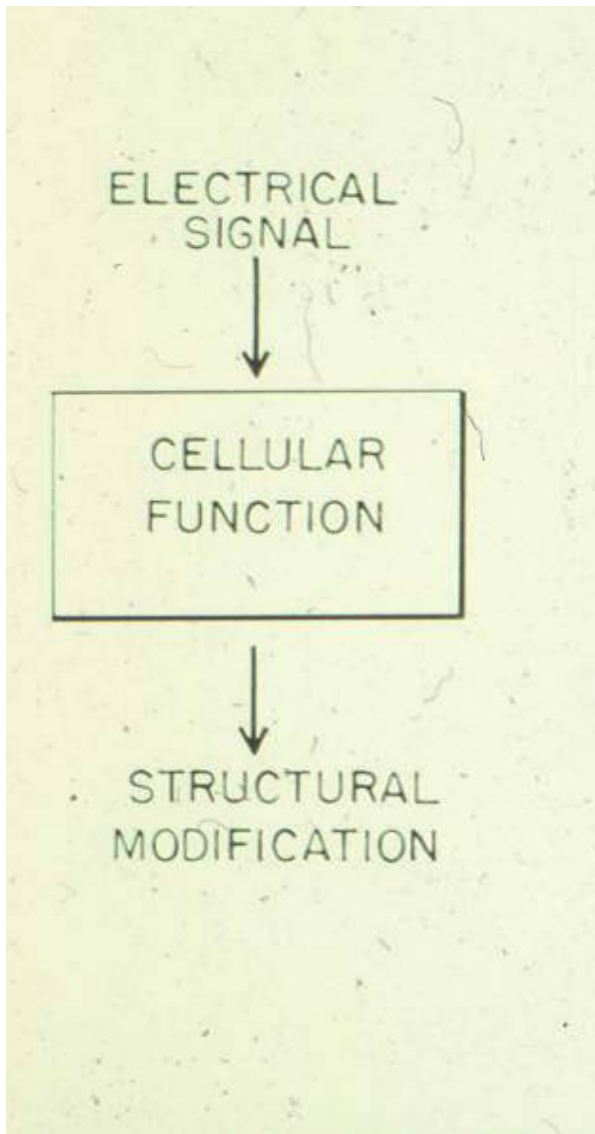
Zijn er specifieke doelwit weefsels?

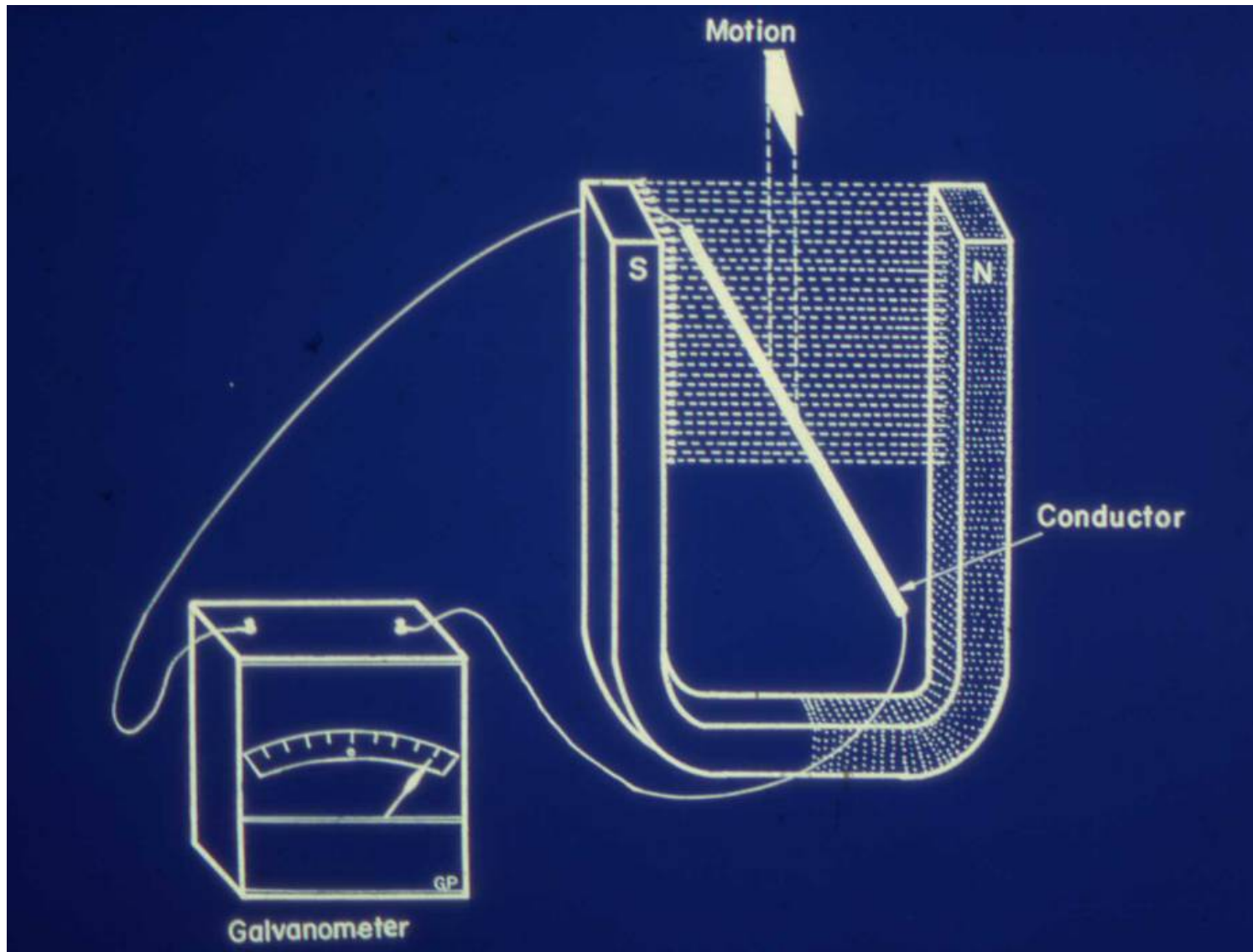
Endogene potentielen van beenweefsel

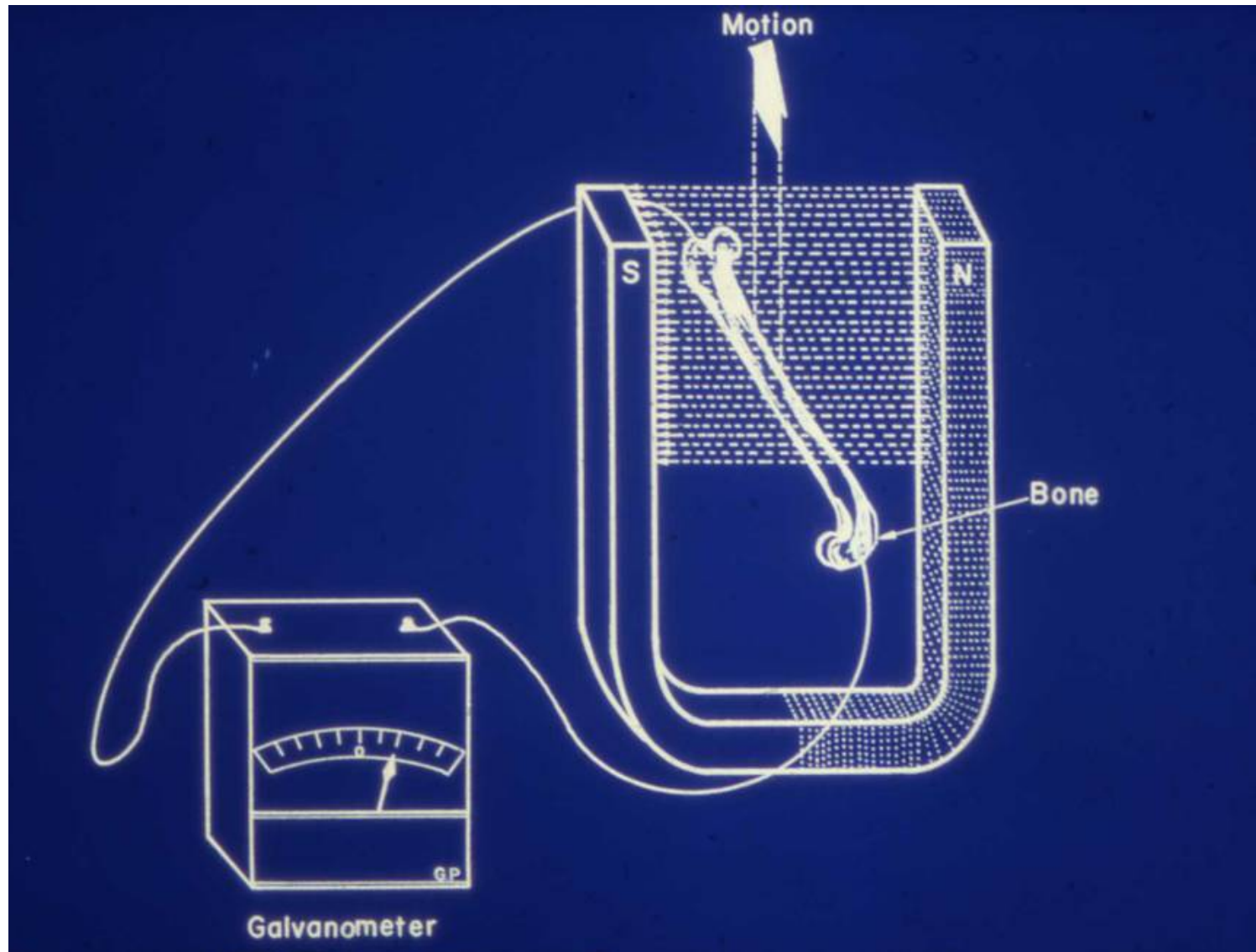


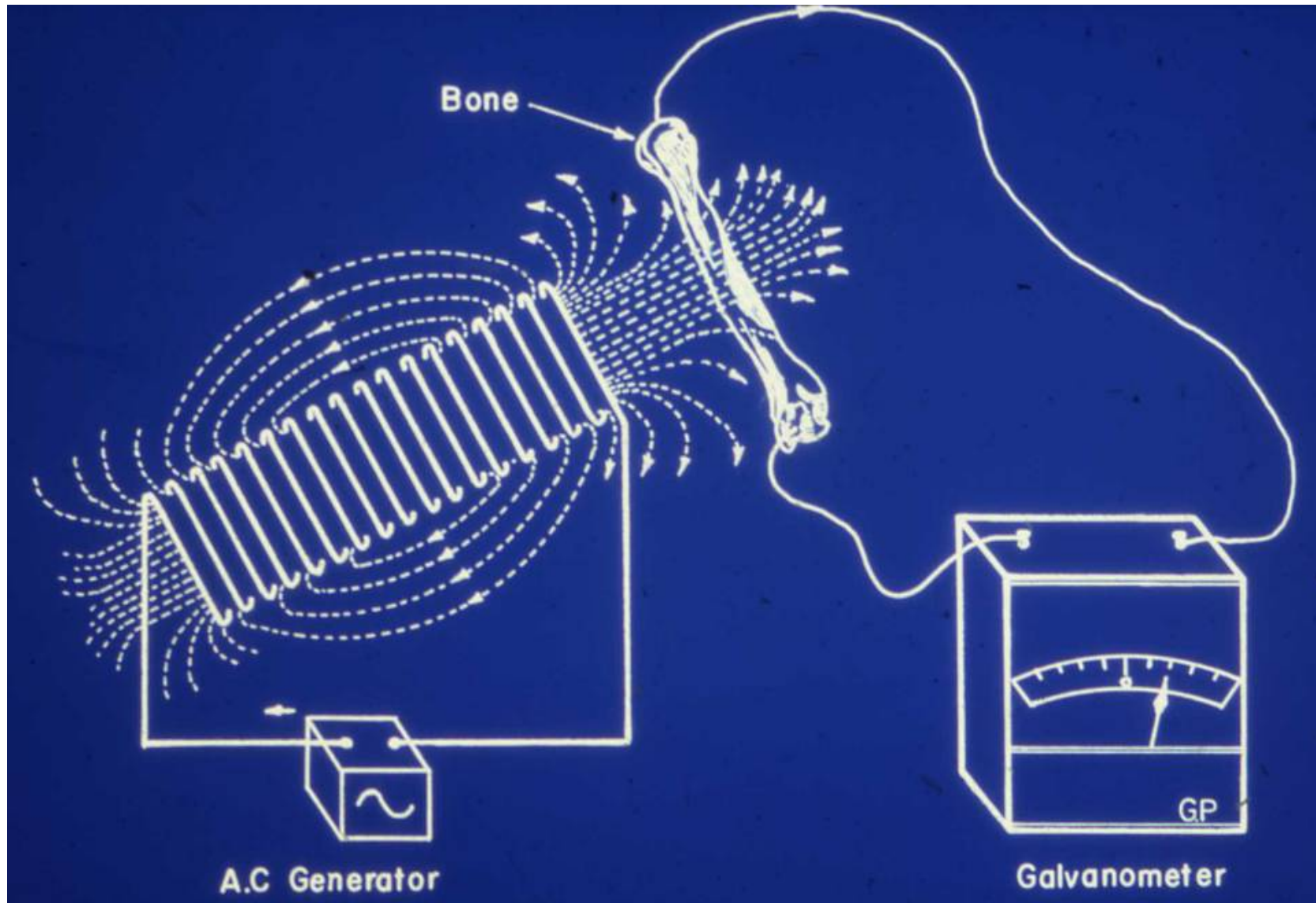




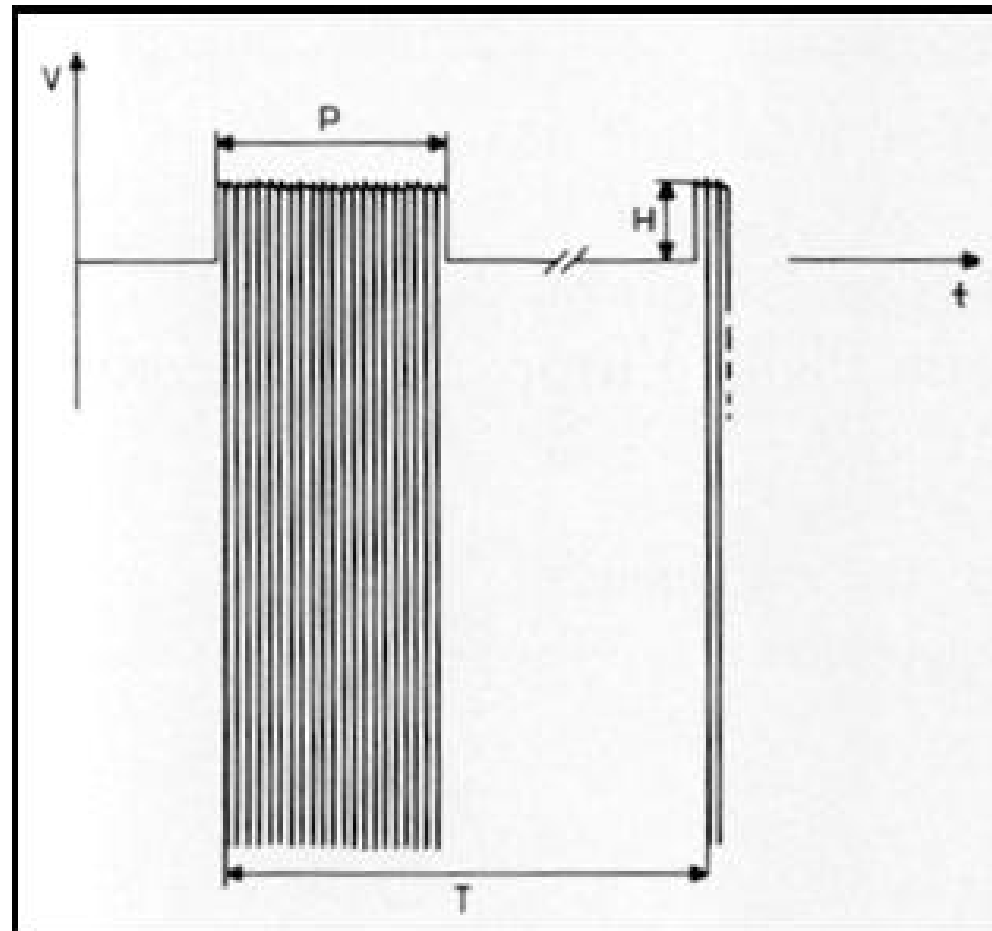






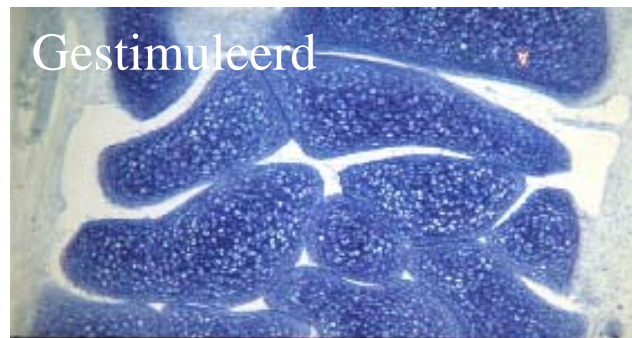
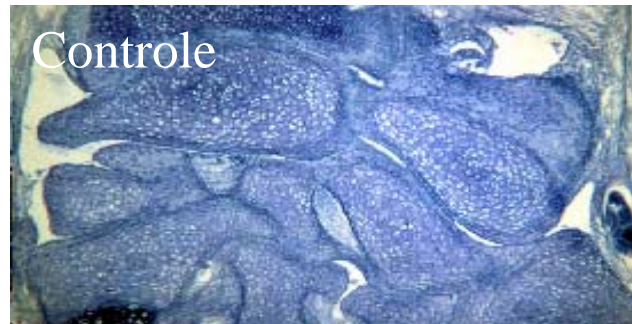


Inductiestroom



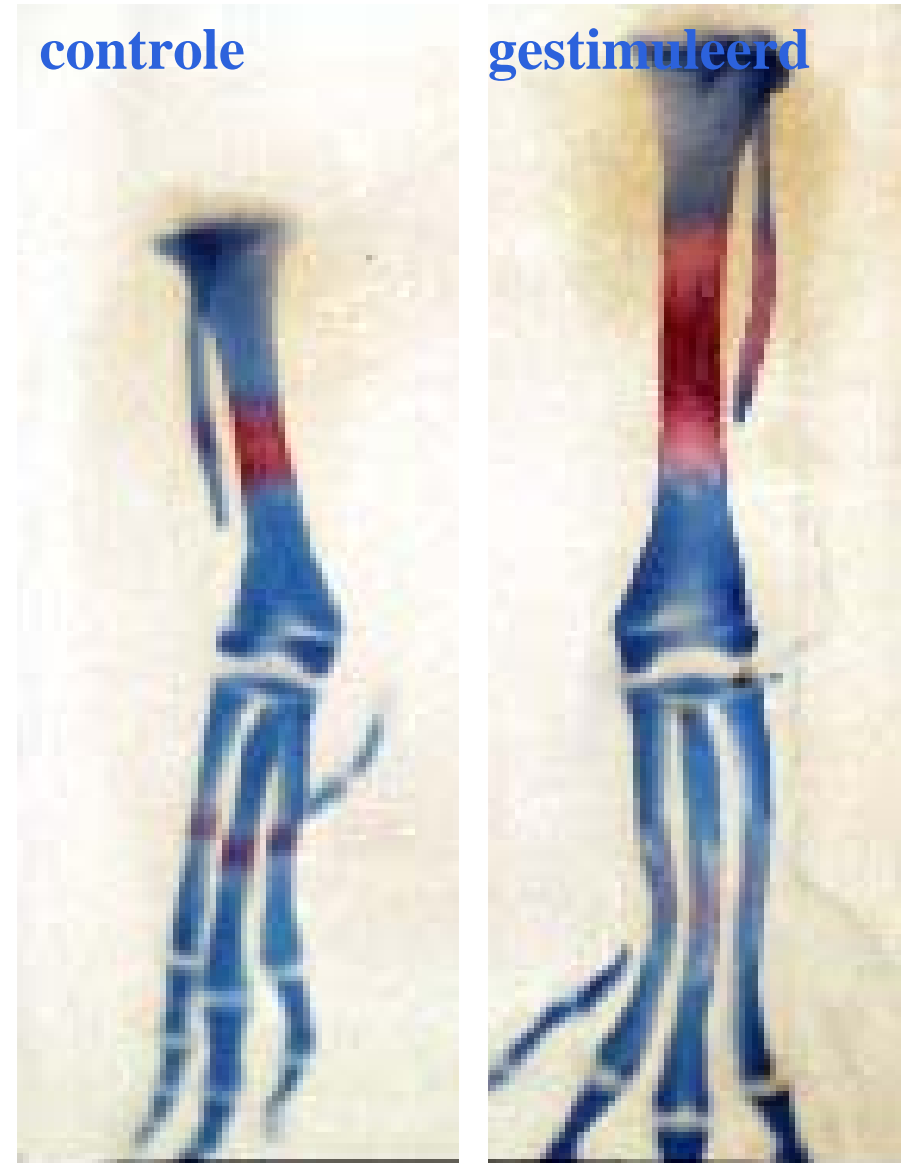
Model : aanleg van embryonale ledematen
van de muis *in vitro*

Resultaat : versnelling van de kraakbeenmaturatie



Model :
kwartel en kippenembryo's
in vivo

Effect :
versnelling van de
ontwikkeling van primaire
ossificatiepunten



Model : fractuur van de tibia bij de rat en de mens

Effect : vroegtijdige toename van de rigiditeit van de callus



Model :
pseudarthrosis bij de mens

Effect :
ossificatie van de fibrocartilagineuse
callus (87,8% versteviging van de
hypertrofische pseudarthrosen)



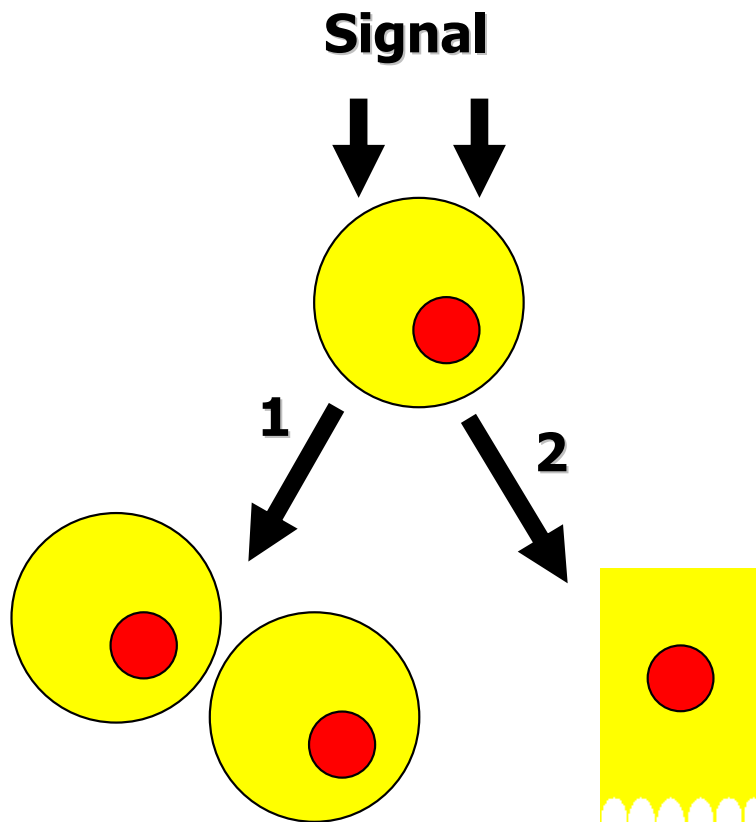
Besluiten van deze vroegere studies:

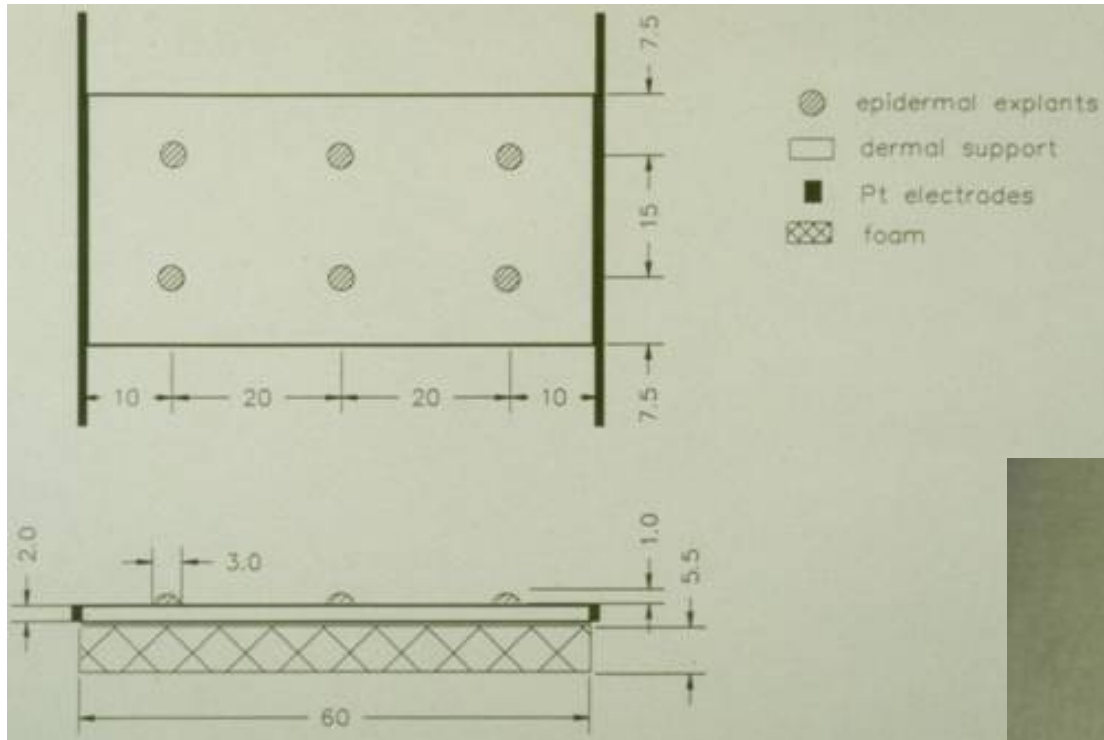
- Alle waarnemingen tonen een toename van de cellulaire differentiatie ten koste van de proliferatie
- Enkel « gesensibiliseerde » cellen (groei, ionisch onevenwicht, fysische agressie, littekenvorming) lijken op ELF te reageren

Besluiten II

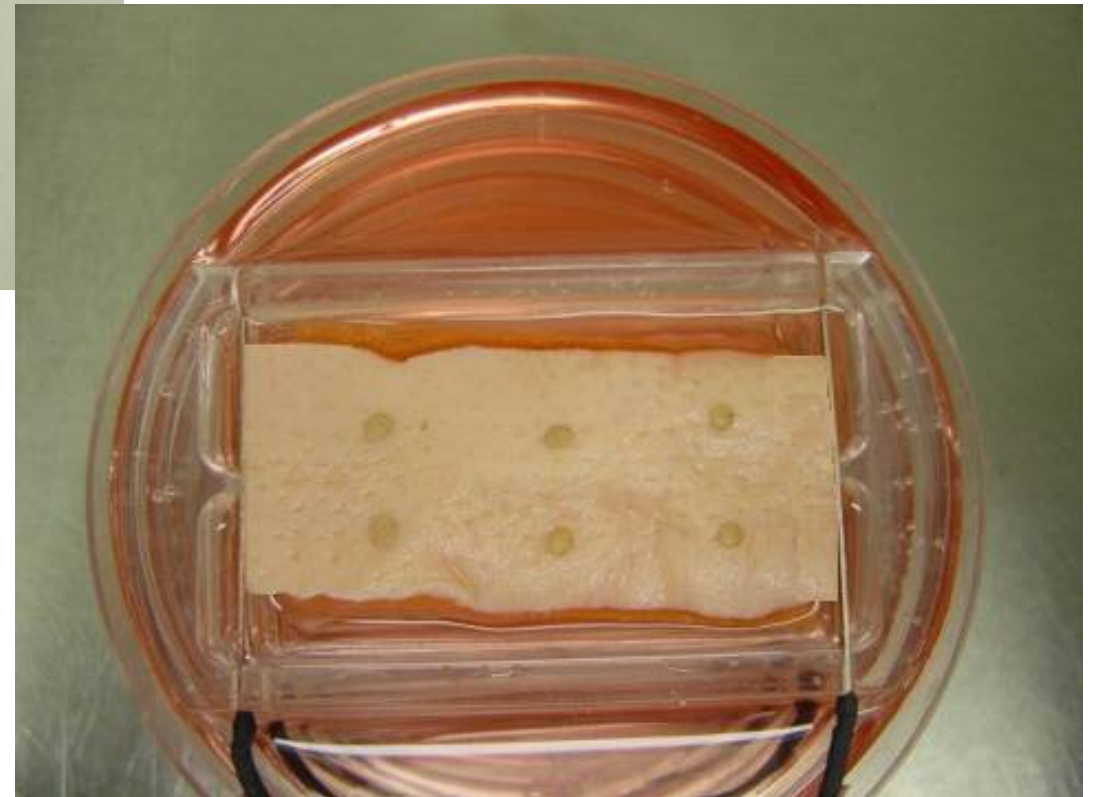
- De waargenomen biologische effecten zijn afhankelijk van het differentiatiestadium van de cel
- Het belangrijkste doel van onze huidige studie is de identificatie van de mechanismen die verantwoordelijk zijn voor de toegenomen cellulaire differentiatie

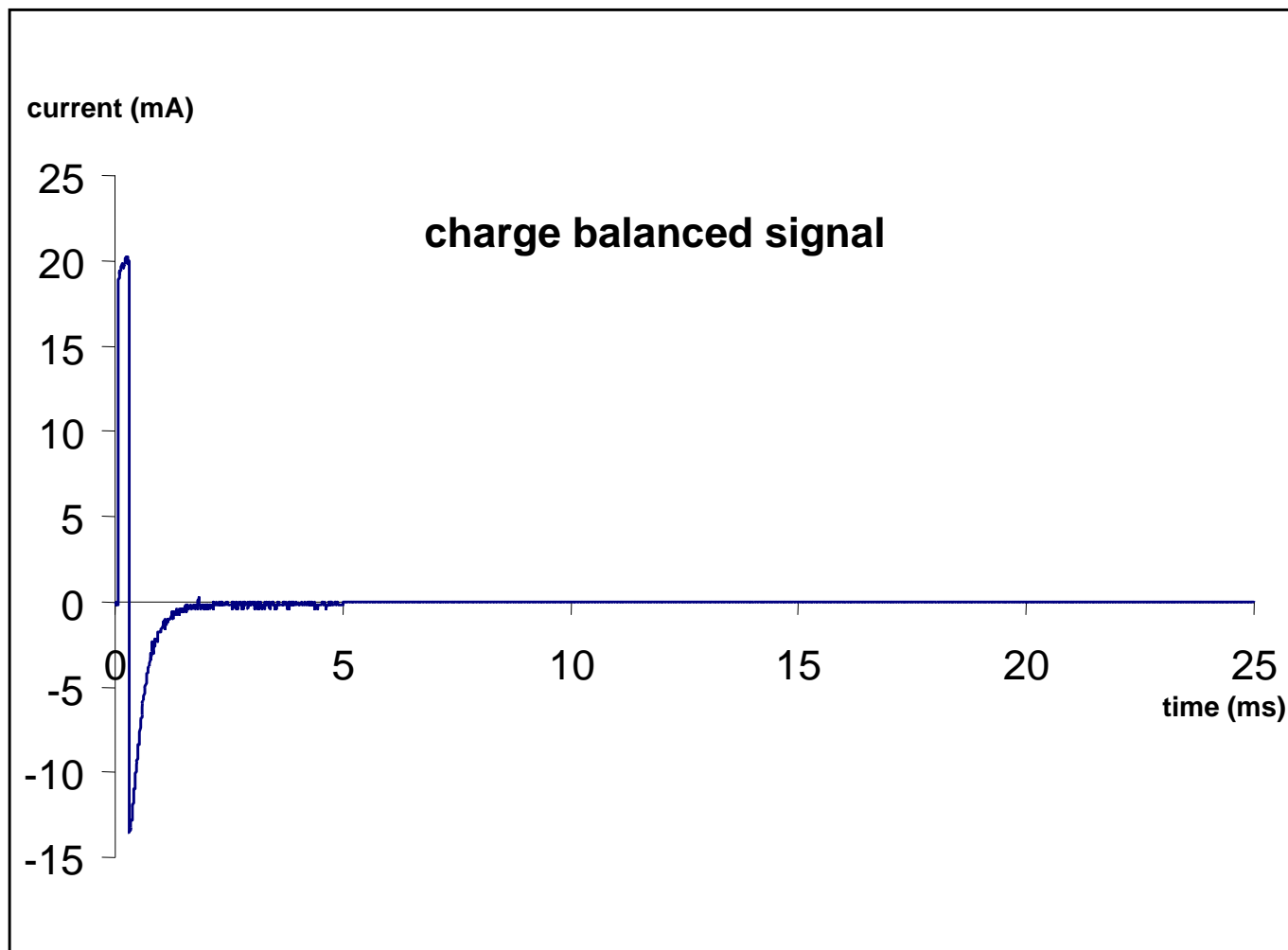
1. Proliferatie:
celdeling (mitose)
2. Differentiatie:
cellulaire specialisatie
(productie van specifieke
proteinen)

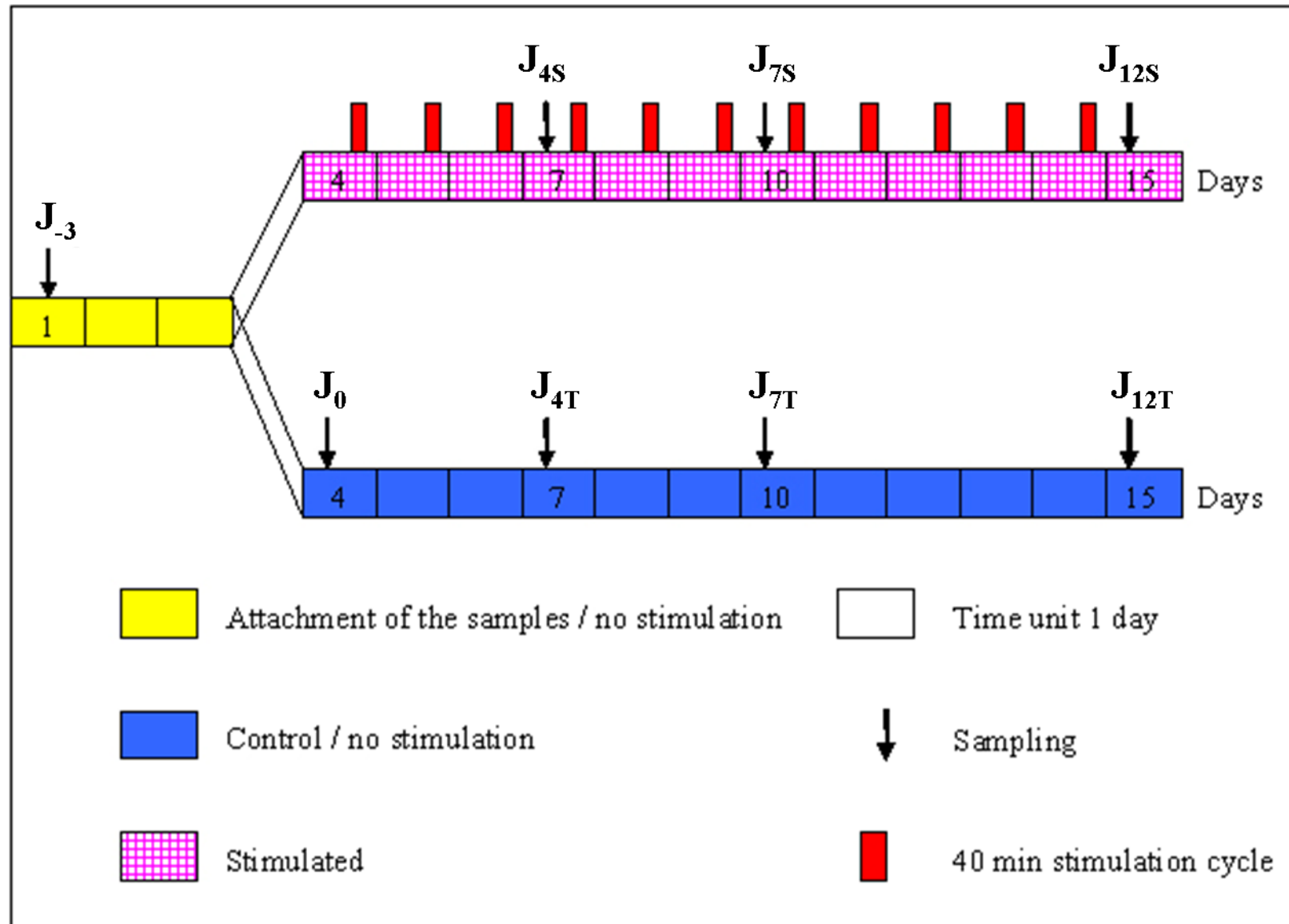




Experimenteel model





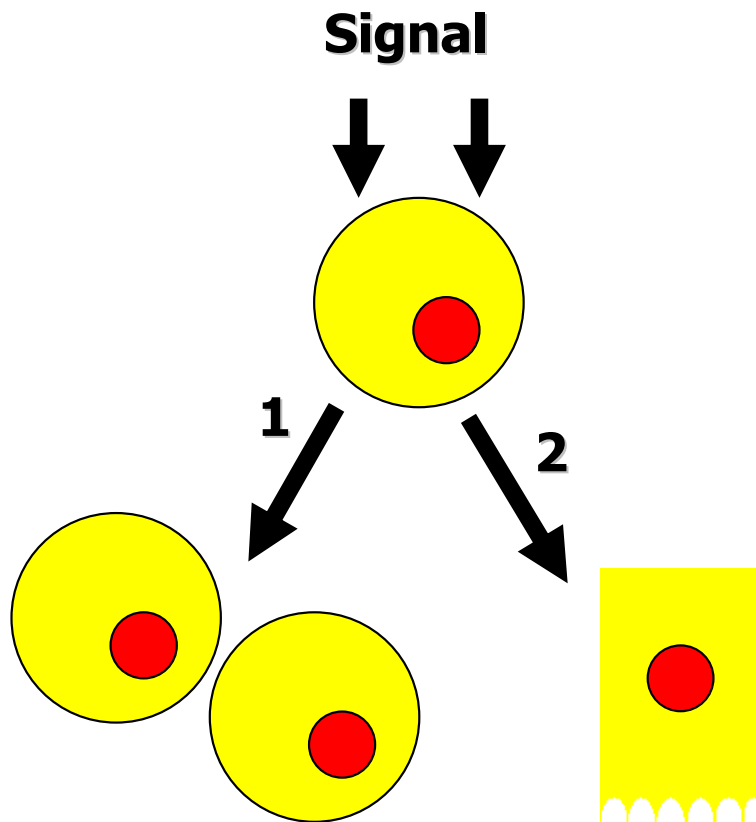


- keratinocytenkulturen :

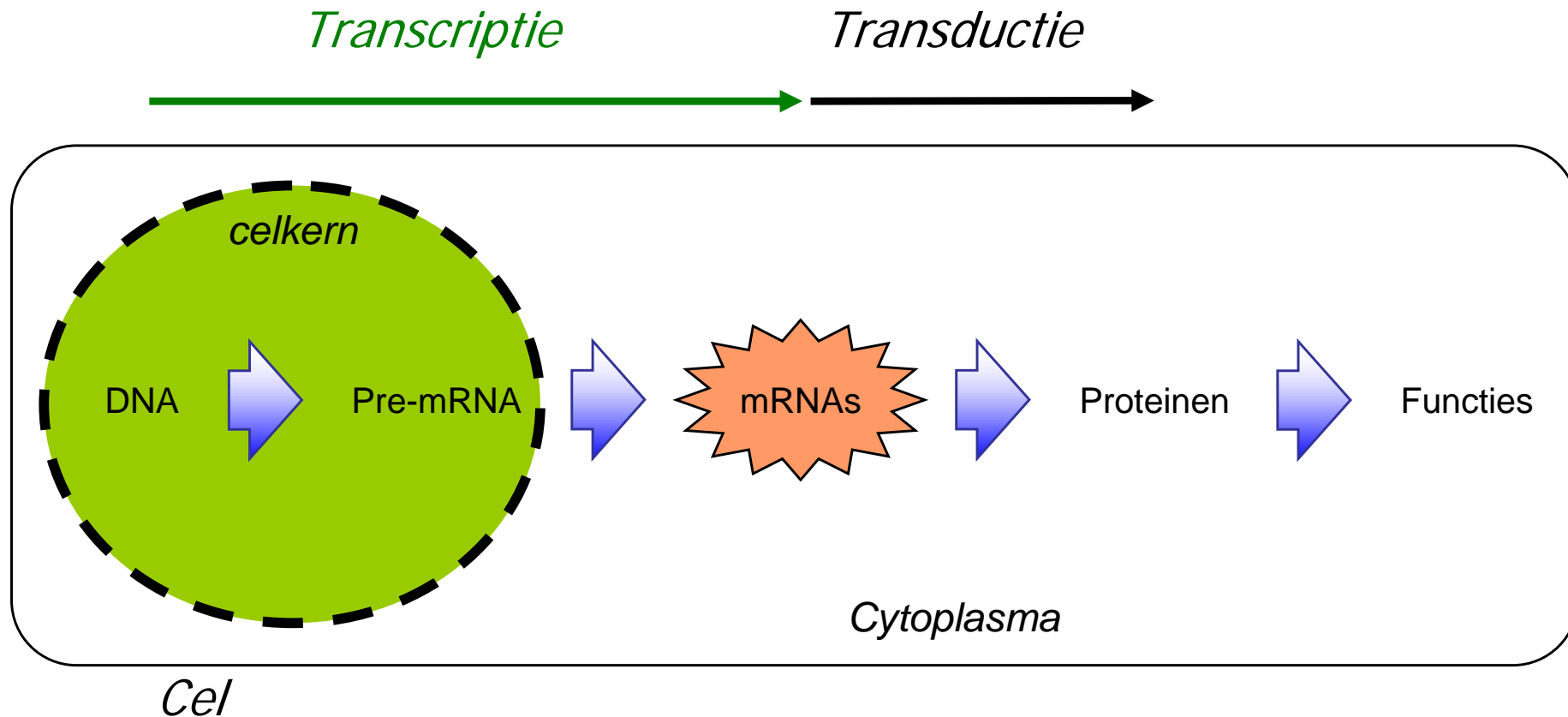


Vermindering van de proliferatie van keratinocyten ten voordele van de differentiatie

1. Proliferatie:
celdeling (mitose)
2. Differentiatie:
cellulaire specialisatie



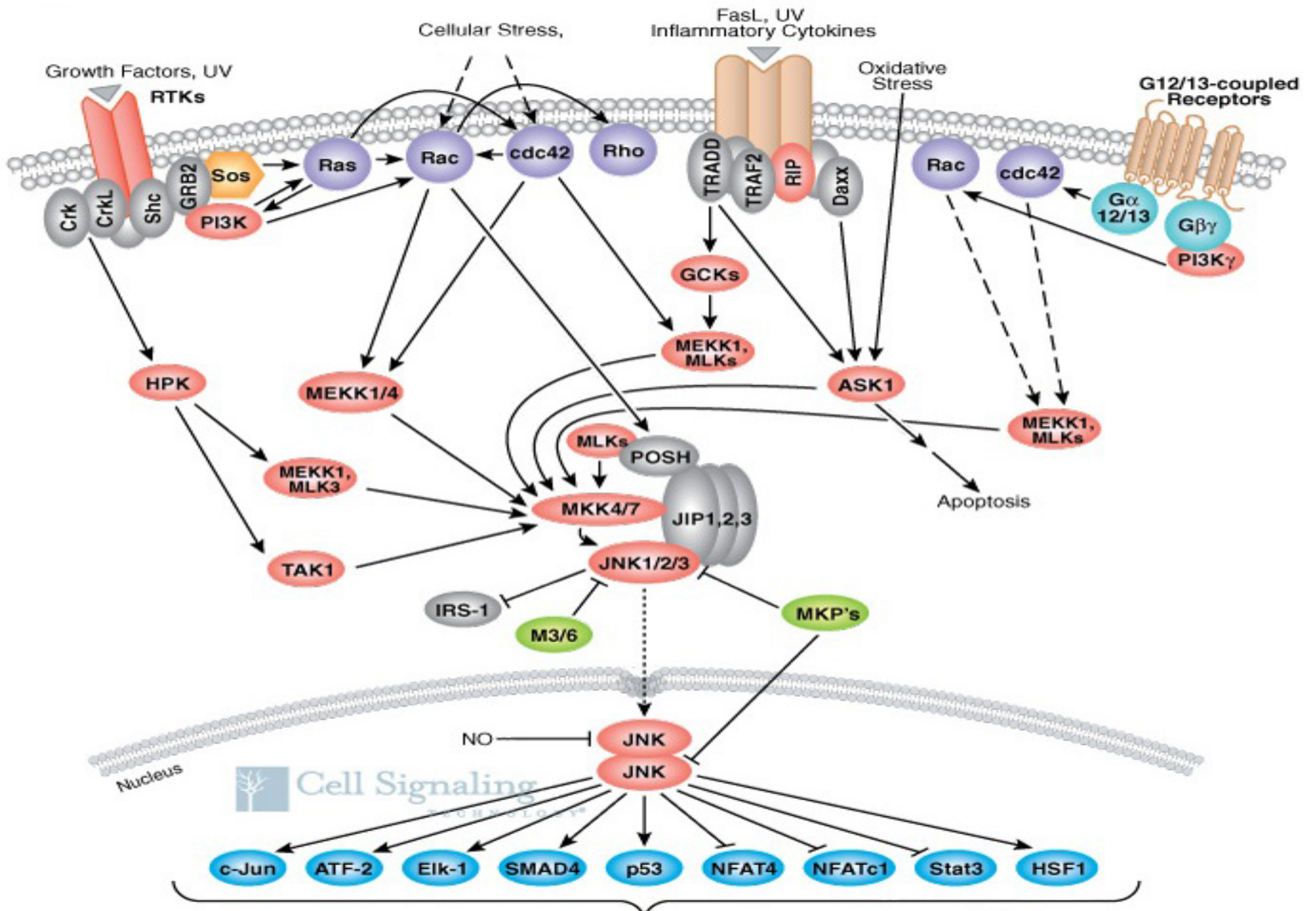
Deze twee types van activiteiten worden gekenmerkt door productie van verschillende proteïnen



Analyse door microarray:
 Studie van mRNA uitgedrukt door 38500 genen

Resultaten: aantal over- en ondergereguleerde genen
t.o.v. de controles P < 0,05 et FC > 2

Vergelijking	<u>Gestimuleerd</u> Controle		
	$\frac{J4}{J4}$	$\frac{J7}{J7}$	$\frac{J12}{J12}$
Up	39	30	237
Down	265	190	259



JNK Signaling Cascades

Transcription

Created January 2002

www.cellsignal.com

Besluit

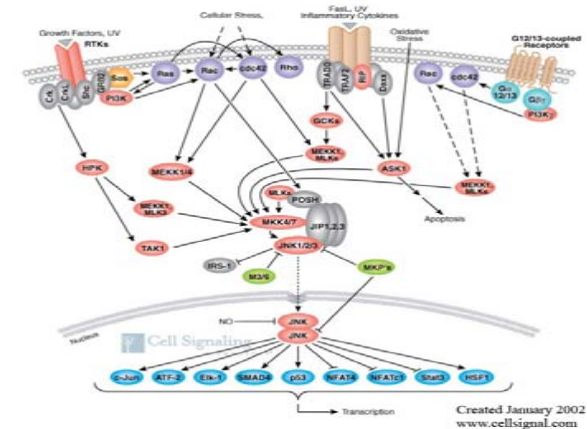
- De kwantitatieve en kwalitatieve verandering van de expressie van sommige genen onder invloed van specifieke (niet sinusoidale) elektromagnetisch velden werd bevestigd maar kon geen pathogeen effect aan het licht brengen
- Gedurende de hele blootstellingstijd kwamen 3 genen tot overexpressie in alle stalen (J_4 , J_7 , J_{12}). De veranderingen bevestigen de verminderde proliferatie en verhoogde differentiatie

Discussie

- Het onzeker samengaan van identieke blootstellingscondities in termen van elektrische eigenschappen, duur en cellulaire gevoeligheid blijft ontzettend moeilijk te realiseren in een « natuurlijk » milieu
- Enkel de vergelijking met hetzelfde biologisch substraat (zelfde oorsprong enz.) in exact dezelfde experimentele omstandigheden zonder blootstelling aan EMV laat toe een reproduceerbaar en statistisch significant biologisch effect vast te stellen

Toekomstige objectieven I

- Identificatie van biologische merkers die specifiek zijn voor een cellulair antwoord na blootstelling aan ELF



- Identificatie van de elektrische parameters van de velden die een biologisch antwoord kunnen opwekken

Toekomstige objectieven II

- Doelgerichte studie van sommige cellulaire mechanismen die een cellulair antwoord lijken te geven dat tegengesteld is aan datgene wat in sommige tumorale pathologieën werd aangetoond
- Therapeutische toepassingen?