

M O N O G R A F I E

Institut zur Erforschung  
elektrischer Unfälle:  
Athermische Wirkungen  
elektromagnetischer  
Felder



---

Herausgeber:  
**Berufsgenossenschaft der Feinmechanik und Elektrotechnik**  
Gustav-Heinemann-Ufer 130, 50968 Köln

Alle Rechte vorbehalten.

2. Auflage 2003

**ATHERMISCHE WIRKUNGEN  
HOCHFREQUENTER ELEKTROMAGNETISCHER  
FELDER AUF BIOLOGISCHE SYSTEME  
– EXPERTENGESPRÄCH**

Hans-Georg Haas  
Jens Jühling

.....

## INHALT

---

1	Geleitwort.....	4	10	Do pulse-modulated or continuous 900 MHz RF fields enhance the carcinogenic effect of ionising radiation in mice? .....	53
2	Hochfrequenz-Expositionsanlagen für Untersuchungen an Zellmembranen, Zellkulturen, Kleintieren und Menschen .....	5	11	Untersuchungen zum Einfluss gepulster hochfrequenter elektromagnetischer Felder während der Trächtigkeit auf die Nachkommen.....	55
3	Minimal Requirements, Design and Optimization of Exposure Setups for Radiofrequency Bio-Experiments .....	9	12	Operant Behavior performance tests in rats after prenatal exposure to high frequency electromagnetic fields .....	59
4	Sind hochfrequente elektromagnetische Felder mutagen?.....	16	13	Schädlichkeit von Funktelefonen? Biologisch-zerebrale Effekte in niederfrequent gepulsten Hochfrequenzfeldern .....	63
5	Der Einfluss hochfrequenter elektromagnetischer Felder auf die Kalziumhomöostase in verschiedenen Zelltypen .....	19	14	„Gleichrichtung elektromagnetischer Felder in der Zellmembran – Untersuchung an Probanden“ .....	65
6	Wirkungen hochfrequenter elektromagnetischer Felder auf planare Lipidmembranen und Zellmembranen lebender Zellen .....	26	15	World Health Organization .....	70
7	Über den Einfluss von magnetischen und elektromagnetischen Feldern auf die Melatoninbildung von Tier und Mensch.....	36	16	Der Einfluss digitaler Funktelefone auf das Elektroenzephalogramm des Menschen .....	73
8	Untersuchungen zur Wirkung hochfrequenter elektromagnetischer Felder auf Dsungarische Hamster ( <i>Phodopus sungurus</i> ) .....	42	17	Autor-Adressverzeichnis .....	80
9	Hochfrequente elektromagnetische Felder (1,8 GHz) erhöhen die <sup>14</sup> C-Saccharose-Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke in vitro .....	47			

## 1 GELEITWORT

---

Der mögliche Einfluss hochfrequenter elektromagnetischer Felder auf den menschlichen Organismus ist ein Thema, das die Öffentlichkeit stark beschäftigt. Durch die stürmische Verbreitung der digitalen Mobilfunktechnik ist das Problem verstärkt in den Blickpunkt geraten. Die Meinungen über mögliche Gesundheitsrisiken durch akute Effekte oder Langzeitwirkungen gehen weit auseinander – nicht nur unter Laien, sondern auch unter Fachleuten. Dabei geht es insbesondere um schwache, sog. athermische Feldwirkungen, also um biologische Effekte, die nicht primär auf eine energetische Einwirkung der Strahlung zu beziehen sind. Die Frage, ob es solche Effekte tatsächlich gibt und welche Bedeutung sie gegebenenfalls haben, richtet sich in erster Linie an die medizinisch-biologische Grundlagenforschung.

Um einen Überblick über den aktuellen Stand der Forschung zum Problem der athermischen Feldwirkungen zu gewinnen, hat die BGFE am 26./27. Mai 1999 in Bad Münstereifel ein Fachgespräch mit Experten aus verschiedenen technischen, naturwissenschaftlichen und medizinischen Disziplinen veranstaltet. Berichtet wurde über experimentelle Untersuchungen, die in den letzten Jahren in verschiedenen in- und ausländischen Instituten durchgeführt wurden.

Zunächst wurden die technischen Aspekte erörtert, die bei einer Feldexposition unter Laborbedingungen zu beachten sind. Dieser Punkt ist wichtig, da nur unter definierten Bedingungen relevante Aussagen möglich sind. Das Spektrum der biologischen Studien reichte von isolierten Zellen und Geweben über Tierversuche bis zu Untersuchungen an Probanden. Die Themen waren aus den Schwerpunkten der internationalen Feldforschung ausgewählt. In der Mehrzahl der Untersuchungen war ein signifikanter athermischer Feldeffekt auf die Organfunktion nicht festzustellen. Insbesondere ergab sich kein Anhalt für einen möglichen carcinogenen Effekt.

Eine Stellungnahme der Weltgesundheitsorganisation berichtet über ein internationales Projekt, das im Jahr 1996 gestartet wurde und neben einer umfassenden Sichtung der Literatur zu den Risiken einer Feldexposition eine finanzielle Förderung entsprechender Forschungsvorhaben vorsieht.

Der vorliegende Tagungsband präsentiert die Ergebnisse des Expertengesprächs in einer von den Referenten autorisierten Darstellung. Die BGFE hofft, dass diese Präsentation dazu beiträgt, die öffentliche Diskussion in rationale Bahnen zu lenken.

Hans-Georg Haas  
Jens Jühling

## 2 HOCHFREQUENZ-EXPOSITIONSANLAGEN FÜR UNTERSUCHUNGEN AN ZELLMEMBRANEN, ZELLKULTUREN, KLEINTIEREN UND MENSCHEN

V. Hansen, Lehrstuhl für Theoretische Elektrotechnik, Bergische Universität – Gesamthochschule Wuppertal

### Einleitung

Es wurde über Konzipierung und Aufbau verschiedener Expositionsanlagen für den Mobilfunk-Frequenzbereich (300 – 2000 MHz) berichtet, wobei die technischen, nicht die biologischen Aspekte im Vordergrund standen.

Je nach zu untersuchendem biologischen System wurden Rechteckhohlleitungen, radiale Parallelplattenleitungen oder abgeschirmte Absorberräume als Expositionseinrichtungen verwendet.

Hohlleitungen bieten – im Grundwellenmodus betrieben – sehr stabile Feldverhältnisse, allerdings bedingt die sinusförmige Querschnittsverteilung des elektrischen Feldes eine Platzierung der Proben nahe der Leitungsachse.

Radialwellenleitungen propagieren TEM-Wellen, die vom Zentrum nach außen laufen, und gestatten bei sorgfältiger Konstruktion einer symmetrischen Anregung und eines reflexionsarmen Absorbers sehr gleichmäßige Expositionen vieler Proben.

Absorberräume sind demgegenüber keine Wellenleitungen und können – abhängig von der verwendeten Feldquelle – sehr unterschiedliche Feldverteilungen liefern. Bei großen Objekten mit Abmessungen, die deutlich über einer halben Wellenlänge liegen, stellen sie aber die einzige Expositionsmöglichkeit dar.

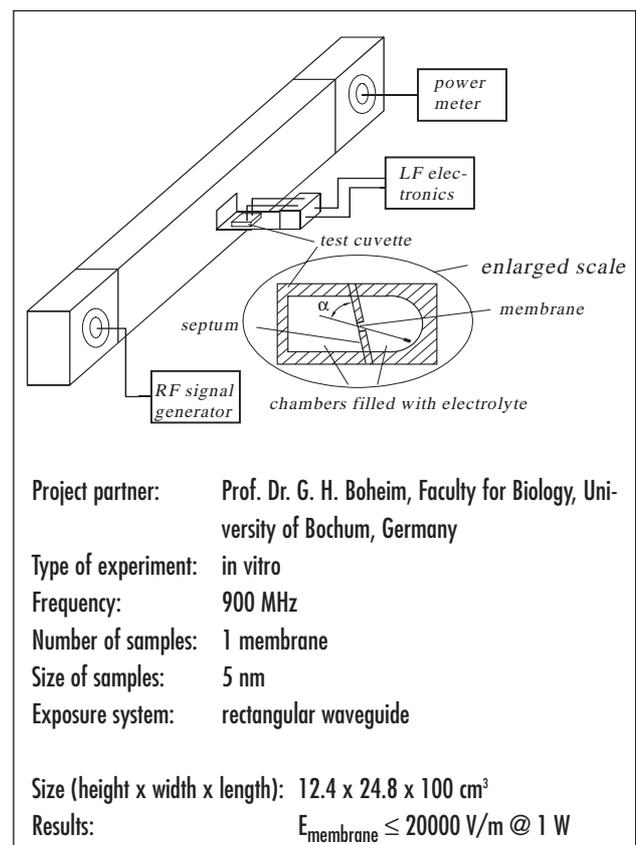
Ungeachtet dieser verschiedenen Bauformen der Anlagen zur Feldapplikation sieht die grundsätzliche Vorgehensweise bei der Konzipierung immer zunächst die Optimierung der leeren Anlage vor – mit Hilfe von analytischen und numerischen Berechnungsmethoden der Feldtheorie und abgestützt durch Feldmessungen – und danach die Analyse der Felder in der mit den biologischen Objekten belasteten Expositionsvorrichtung, im Wesentlichen mit Hilfe von numerischen Verfahren. Ziel dieser Optimierungsschritte ist die Gewährleistung eines eindeutig definierten elektromagnetischen Feldes am Probenort und möglichst gleichmäßig verteilter spezifischer Absorptionsraten im Fall der simultanen Exposition mehrerer Proben.

Die Umgebung der biologischen Objekte, wie Probenhalter, Wärmetauscher, Versorgungs- und Messleitungen etc. müssen bereits bei der Modellbildung zur Feldanalyse unbedingt berücksichtigt werden.

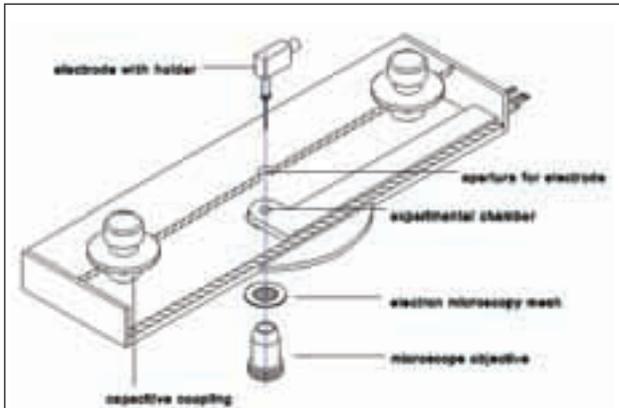
### Fallbeispiele

Zur Demonstration dieses Konzepts wurden detaillierte Beispiele für realisierte Experimente im Rahmen von Verbundprojekten mit Partnern aus medizinischen und biologischen Instituten vorgestellt, die im Folgenden jeweils anhand einer Kurzdarstellung charakterisiert werden.

#### 1. Exposition künstlicher Lipidmembranen von ca. 5 nm Dicke in einer Standard-Rechteckhohlleitung bei 900 MHz.



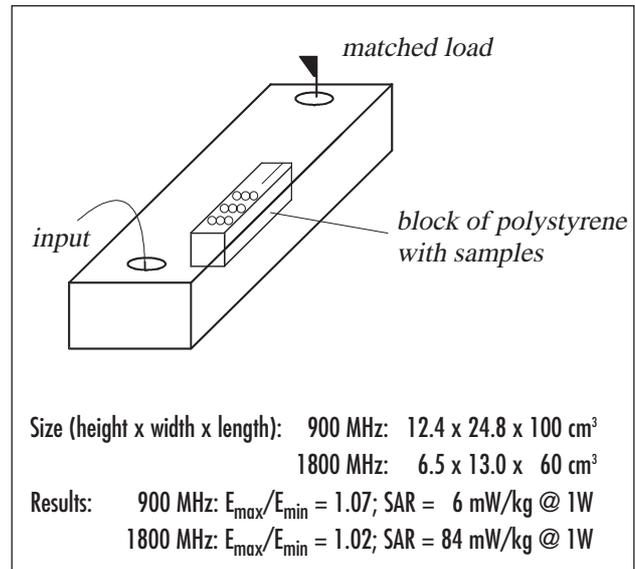
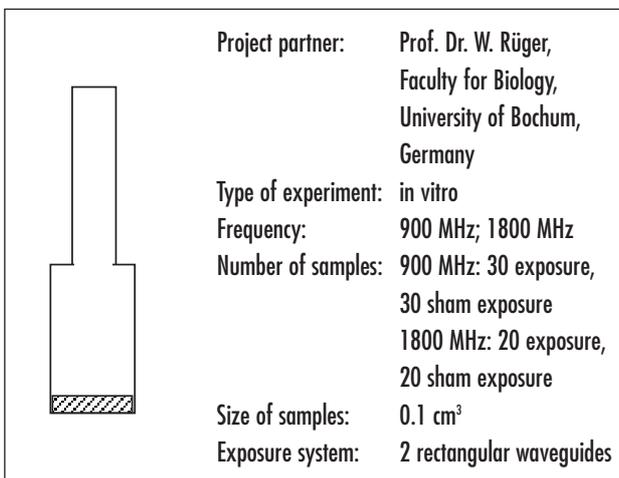
## 2. 'Patch clamp'-Experimente zum $\text{Ca}^{2+}$ -Membranstrom an Herzmuskelzellen unter Exposition bei 900 und 1800 MHz in Flach-Rechteckhohlleitungen



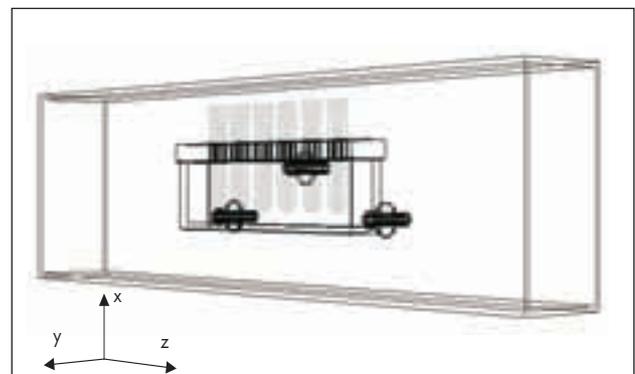
Project partner: PD Dr. R. Meyer, Institute of Physiology, University of Bonn, Germany  
 Type of experiment: in vitro  
 Frequency: 900 MHz; 1800 MHz  
 Number of samples: 1 (single cell)  
 Size of samples: 40  $\mu\text{m}$   
 Exposure system: 2 rectangular flat waveguides with openings for patch clamp electrode

Size (height x width x length): 900 MHz: 3 x 21 x 50  $\text{cm}^3$   
 1800 MHz: 3 x 12 x 50  $\text{cm}^3$   
 Results: 900 MHz: SAR = 1.6 W/kg @ 1W (CW)  
 1800 MHz: SAR = 3.2 W/kg @ 1W (CW)

## 3. Gleichzeitige Exposition von bis zu 30 Ampullen à 0,1 $\text{cm}^3$ DNA-Lösung in Rechteckhohlleitungen bei 900 und 1800 MHz.

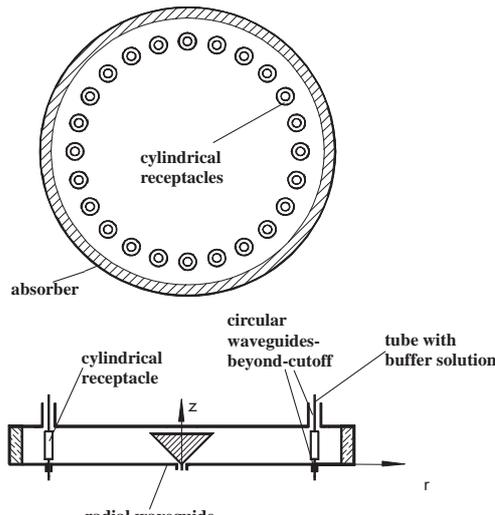


## 4. Exposition von 6 Blutproben mit je 5 $\text{cm}^3$ Volumen in Rechteckhohlleitungen bei 900 und 1800 MHz zur Untersuchung von Zellwachstums-Veränderungen



Project partner: Prof. Dr. G. Obe, Department of Genetics, University of Essen, Germany  
 Type of experiment: in vitro  
 Frequency: 900 MHz; 1800 MHz  
 Number of samples: 6 exposure, 6 sham exposure  
 Size of samples: 5  $\text{cm}^3$  with nutrient solution and blood cells  
 Exposure system: 2 rectangular waveguides with a temperature bath  
 Size (height x width x length): 900 MHz: 12.9 x 25.9 x 130  $\text{cm}^3$   
 1800 MHz: 7.9 x 15.8 x 130  $\text{cm}^3$   
 Results: 900 MHz: SAR<sub>max</sub>/SAR<sub>min</sub> = 1.05; SAR = 0.3 W/kg @ 1W  
 1800 MHz: SAR<sub>max</sub>/SAR<sub>min</sub> = 1.81; SAR = 16 W/kg @ 1W

5. Untersuchung der Melatoninsynthese nach Exposition von Pinealorganen in einem Radialwellenleiter mit 1 m Durchmesser bei 900 und 1800 MHz; realisiert für 24 Proben (180 Proben möglich). Zugriff auf die Proben durch offene, aber nicht abstrahlende „Dämpfungskamine“



**Project partner:** PD Dr. A. Lerchl, Institute of Reproductive Medicine, University of Münster, Germany

**Type of experiment:** in vitro

**Frequency:** 900 MHz; 1800 MHz

**Number of samples:** 24 exposure (180 possible), 24 sham exposure

**Size of samples:** 0.3 cm<sup>3</sup> with flowing nutrient solution and pineal glands

**Exposure system:** 2 radial waveguides in an incubator

**Size (height x diameter):** 7 cm x 110 cm

**Results:** 900 MHz: SAR = 800 mW/kg @ 2.35 W  
1800 MHz: in progress

6. Exposition von 120 freilaufenden Hamstern in einem Radialwellenleiter mit 4,5 m Durchmesser bei 383, 900 und 1800 MHz zur Untersuchung von Gewicht, Melatonin und testikulärer Zellkomposition



**Project partner:** PD Dr. A. Lerchl, Institute of Reproductive Medicine, University of Münster, Germany

**Type of experiment:** in vivo

**Frequency:** 383 MHz, 900 MHz, 1800 MHz

**Number of samples:** 120 exposure, 120 sham exposure

**Size of samples:** freely moving hamsters, 50 cm<sup>3</sup>

**Photograph:** A. Lerchl

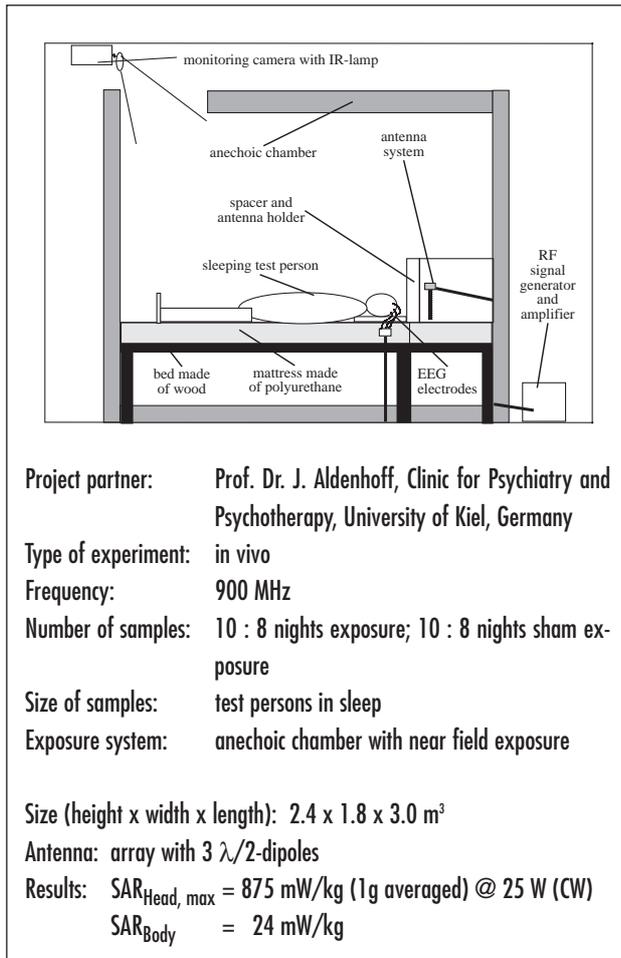
**Exposure system:** 2 radial waveguides

**Size (height x diameter):** 14 cm x 450 cm

**Results:** 383 MHz: SAR = 80 mW/kg ± 20 % @ 46 W (CW)  
900 MHz: SAR = 80 mW/kg ± 30 % @ 2.9 W (CW)  
1800 MHz: SAR = 80 mW/kg ± 30 % @ 3.3 W (CW)

**Shielding factor:** better than 75 dB

7. EEG-Experimente an wachen und schlafenden Testpersonen unter Einfluss eines 900 MHz – Mobilfunksignals zur Durchführung kognitiver Tests und Untersuchung der Schlafqualität. Exposition durch speziell konfigurierte Antennenanlagen in Absorberkammern



### 3 MINIMAL REQUIREMENTS, DESIGN AND OPTIMIZATION OF EXPOSURE SETUPS FOR RADIOFREQUENCY BIO-EXPERIMENTS.....

**Michael Burkhardt and Niels Kuster**, *Laboratory for EMF and Microwave Electronics*  
Swiss Federal Institute of Technology (ETH) Zurich,  
Switzerland

#### Abstract

The evidence available so far on potential health effects from electromagnetic field (EMF) exposure has been largely judged as being too tentative and inadequate to meet criteria for assessing health risks. Some of the main reasons for these shortcomings lie in the incomplete description of the exposure and poorly characterized dosimetry. Well-defined exposure conditions, however, are essential to obtain reproducible and scientifically meaningful results. To facilitate the development of optimized setups for specific bio-experiments, this paper lists basic requirements and provides development guidelines for evaluation, optimization, construction and verification of exposure. In addition, definitions of the minimum requirements for setups used for health risk assessments of wireless communications applications are suggested.

#### 1. Introduction

The importance of well defined exposure conditions for biological experiments has long been underestimated but has acquired increasing importance in all research programs addressing the health effects of radiofrequency (RF) exposures (e.g., WHO [1], WTR [2], COST244 [3], etc.). The most obvious reason is that well-defined exposure conditions are an indispensable prerequisite for the repeatability of studies. However, the realization of soundly-designed setups is an engineering and scientific challenge requiring profound knowledge of numerical simulation methods and their application, near-field measurement techniques, open and closed transmission systems, anatomy, dosimetry, material science and more.

The basic requirements for exposure setups have already been described in other sources (e.g., [3]–[6]). Section 2 summarizes these discussions in a list of requirements under the headings 'Biological Requirements', 'Electromagnetic Requirements' and 'Other Re-

quirements'. This list can serve as a checklist for all the parameters that should be considered in the evaluation of a particular setup. However, these basic requirements are of a rather general nature and thus of limited utility as a guideline for the design, optimization, construction and verification of setups that meet all the strict requirements for sound biological experiments. In addition, the outline of minimum quantitative requirements would not only benefit the setup designers but also reviewers and evaluation bodies. Since the main focus of studies being conducted in the coming years will be in the context of the safety assessments of wireless communications systems, an attempt is made to define minimum quantitative requirements for such studies at the end of this paper.

#### 2. General Considerations

A hypothesis should always stand at the beginning of any study. This hypothesis could be formulated in the following manner: 'electromagnetic fields with the characteristics of the mobile communications system X cause the response Y in the biological system Z'. Although plausible interaction mechanisms have not been established before, the research participants should carefully examine and justify the rationale of any hypothesis, particularly with regard to its significance to the overall objective. For example, the value of studies which fail to provide the statistical power to detect even slightly increased risk factors is in the context of health risk assessments very dubious. These should not be conducted without the benefit of a strong argument. One major difficulty inherent in the risk assessment of weak, „non-thermal“ RF exposures is that the experiments cannot be conducted at high doses with the objective of scaling the results to reflect the relevant exposures after the dose/effect relationship has been established. A dose which is greater than the strongest fields to which the public is exposed, results in significant tissue heating effects which effectively mask any possible non-thermal effects.

This also implies that only the most sensitive experiments can provide the level of statistical significance needed to resolve the public's concern about possible adverse health effects. Such sensitive biological experiments require adherence to strict standard protocols.

These protocols have evolved over a long period of time from studies and experience studying the particular 'response Y of the biological system Z'. Any deviations from this protocol entail the danger of introducing additional artifacts and changes in sensitivity. Therefore any departures from the standard biological protocol should be minimal. On the other hand, all the electromagnetic requirements must be met and this often means that very elaborate systems are necessary to create the required fields at the location of the biological system. For example, uniform whole-body exposures are preferably used for toxicological studies but are not possible for RF exposures. This illustrates that fundamental conflicts may exist between the exposure setup and the requirements imposed by the biological experiment. A feasible compromise must therefore be found for each design. Although there are some basic designs for exposure setups, the setup has to be adapted and optimized to comply as well as possible with the particular biological protocol and the selected exposure conditions, i.e., the design and use of standard exposure setups is not feasible and would only impair the relevance of the experiment.

The path from a hypothesis to the realization of an exposure setup suitable for the particular study design can be quite tedious. A procedure which has been successfully applied in several cases is discussed in Section 4. However, even following such a step-by-step approach does not mean that the realization of an EMF exposure setup for a biological experiment is a straight forward procedure. Compromise and agreement are key aspects of the cooperation between biological and engineering groups needed to resolve any conflicting requirements. This means that a great deal of interdisciplinary consultation is required to realize a setup that is optimized with respect to the overall objectives.

### 3. Basic Requirements

#### 3.1 Biological Requirements

- *Minimal Deviation from Standard Protocol:* The design of the setup should involve a minimum of departures from the standard biological protocol.
- *Environment:* All environmental requirements for the specific experiment must be strictly adhered to. These usually include sterility, stabilized temperature, low stress levels, atmospheric control, accessibility, etc.
- *Statistical Power:* The setup must allow for exposure of a sufficient number of samples or animals in order to achieve the required statistical significance within a reasonable time.

#### 3.2 Electromagnetic Requirements

- *Signal Source:* The signal source must be precisely defined. This includes frequency, modulation scheme, power stability, noise level, etc.
- *Electric and Magnetic Field Amplitude:* The electric and magnetic field strengths must be well defined at the site of the cell culture (*in vitro*) or in specific tissues of the animals (*in vivo*), respectively.
- *Field Distribution:*
  - in vitro:* The field distribution should be homogeneous, i.e., the deviation from homogeneity should be as small as possible and not greater than the variations of the biological response.
  - in vivo:* Although a homogeneous whole-body exposure cannot be achieved in most cases, the exposure should be well characterized for all tissues and, in general, should provide the least possible deviation from homogeneity. If the responses of specific organs/tissues are being investigated, partial body exposures can provide much more homogeneous exposures of the target organ/tissue. Another suitable approach is to generate exposures which provide similar field distributions in the tissues as in human exposures.
- *EMI:* All controlling and monitoring devices should be rigorously checked for electromagnetic interference (EMI) under worst-case considerations. Otherwise interference may cause failures or malfunctions of system components (e.g., of the temperature controlling circuit, which would result in disastrous deviations from the non-disturbed behavior of the system).

### 3 Minimal Requirements, Design and Optimization of Exposure Setups for Radiofrequency Bio-Experiments

Procedure and Tools for Evaluation, Optimization, Construction and Validation of Exposure Setups.....

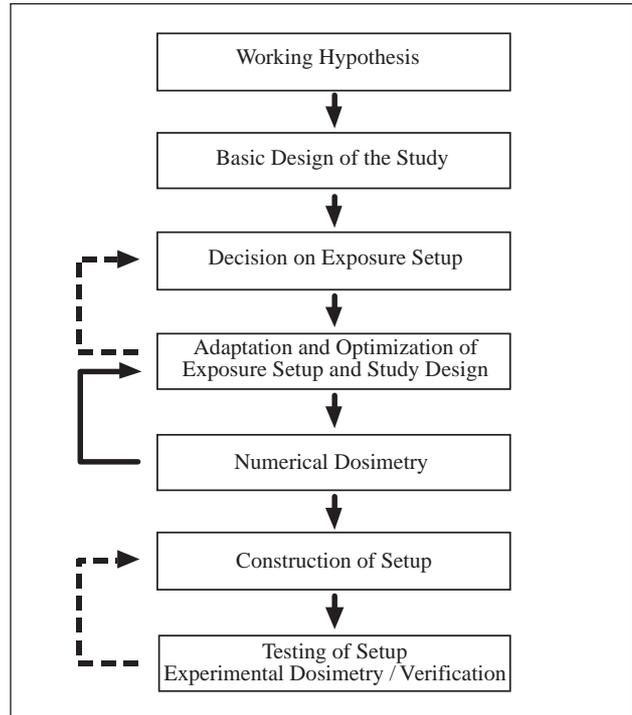
- *EMC*: The fields radiated by the system beyond the confines of the laboratory should be electromagnetically compatible (EMC) with commercial wireless services.
- *Human Safety*: The exposure setup should not subject personnel to exposures exceeding the safety standards.

#### 3.3 Other Requirements

- *ELF Field*: RF exposure setups may also produce ELF fields. These unwanted fields must be characterized and kept as small as possible.
- *Monitoring*: The setup should enable monitoring of all relevant technical and biological parameters during the course of the experiment.
- *Manageable by Non-Engineering Personnel*: The setup should be sufficiently failure tolerant to be handled by non-engineering personnel.
- *Blind Study Design*: The design should allow for blind or double blind studies.
- *Cost*: The cost of the setup should be reasonable.

## 4. Procedure and Tools for Evaluation, Optimization, Construction and Validation of Exposure Setups

The step-by-step approach presented in this section has evolved from our experience in developing exposure setups for biological experiments in the RF and ELF frequency ranges. The basic requirements listed above should be kept in mind throughout all stages of the realization of an exposure setup. However, some requirements become more central during certain stages and are therefore listed explicitly. Figure 1 illustrates the concept which is described in the following.



**Figure 1: Stages of development of an exposure setup. The dashed arrows mean that a step back may sometimes be necessary. Solid arrows indicate that several iterations are usually necessary.**

#### 4.1 Working Hypothesis

The working hypothesis of the study should first be precisely formulated. The rationale on which the hypothesis is based should be carefully examined and its significance with respect to the overall objective (e.g., health risk, therapeutic applications, etc.) evaluated. This includes implications for the exposure (e.g., minimal number of samples required to achieve the needed statistical significance, induced field strengths, duration, modulation, etc.).

#### 4.2 Basic Design of the Study

It is important to describe the basic design of the study in detail before any decision on the exposure setup is made. The following points are of special importance for the design of the exposure setup. Further points depend on the particular study.

#### Biological Design:

- Environmental requirements: The environmental requirements generally impose the greatest requirements and constraints on the exposure setup.
- The overall duration of the experiment influences the choice of design and materials for the setup.
- The anticipated extent of the effect and the variation of the biological response are important bases to determine the required homogeneity of the EMF exposure.
- Number of samples or animals necessary for statistical significance
- Handling and accessibility during the experiment
- Single or double blind study design
- *In vivo*: detailed characterization of the management of the animals' needs
- *In vitro*: dimensions and material of flasks; parameters of the medium; location of cell cultures within the flasks

#### Exposure Parameters:

- Frequency
- Precise definition of the modulation schemes (e.g., GSM, speech modulation, subframes, DTX, rise time of pulses, etc.). The modulation must be relevant with regard to the overall objective of the study.
- Polarization of the induced electromagnetic field with respect to the biological system, e.g., orthogonal or parallel to the cell layer.
- *In vivo* experiments: The target tissue must be defined, and it must be stated whether whole body, partial body or local exposure is required.
- The required SAR levels and field amplitudes at the location of the cell culture or inside the animal tissue must be defined. The SAR levels and field amplitudes must be relevant with regard to the overall objective.
- Definition of the envisaged field distribution at the site of interest, e.g., maximum tolerable deviation from homogeneous field distribution or the degree of correspondence with the actual exposure in human subjects.
- On and off times of exposure

#### Other Requirements:

- Budget
- Largest acceptable size of the setup

It is important is that these points are ranked according to their priority, since the optimization procedure will most likely reveal that some of the requirements stand in conflict to others.

#### 4.3 Evaluation of Different Designs and Choice of Exposure Setup

A considerable body of knowledge on the advantages and disadvantages of various setups has been built up in the recent past. For example, various setups have been proposed and used for *in vitro* experiments: waveguides [6], [7], radial transmission lines [8], Crawford TEM cells [9], [10] and RF chambers [11]. An advanced level of expertise on electromagnetic fields and the performance and characteristics of various exposure setups is necessary to evaluate the different designs. If a new exposure setup design should be used, it is advisable to perform a preliminary feasibility study.

The designs under consideration must be evaluated with respect to the criteria listed in section 4.2. In most cases the most important criteria is that of minimum departure from the biological standard protocol. The initial preference for a particular design might need revision if the detailed adaptation and optimization of the setup described in the next stage reveals shortcomings in the first design.

#### 4.4 Adaptation and Optimization of Exposure Setup and Study Design

The adaptation and optimization of the exposure setup with respect to the parameters ranked according to their priorities (see 4.2) requires an efficient and powerful analysis tool. In most cases, a high-end simulation software package based on the finite-difference time-domain (FDTD) technique is the most suitable tool. For some special cases, other packages based on other simulation techniques might also be applicable. Close cooperation between the biological and medical experts who conduct the study and the engineering experts designing the setup must be established in order to achieve a feasible compromise in the midst of many conflicting requirements.

#### 4.5 Performance of the Setup and Numerical Dosimetry

After the details of the setup have been fixed, a detailed study must be performed to characterize the electrodynamic performance of the setup. This should include dosimetry. A detailed numerical representation of the setup including any metallic and plastic material, neighboring samples or animals, etc. must be generated. Special attention must be paid to the modeling of the animals in *in vivo* studies. The results of the numerical dosimetry must include a detailed description of induced E- and H-fields and the SAR distribution. A thorough uncertainty analysis of the evaluation is of great importance.

In addition, the evaluation must also include a sensitivity analysis on any parameters that might vary during the experiments, e.g., size, posture and movements of animals or location variations of the Petri dishes.

Based on the results of the performance of the setup, some changes in the details of the design involving a return to the adaptation and optimization stage of the setup might be necessary. Several such cycles may be necessary until the final design of the setup has been fixed.

#### 4.6 Construction of the Setup

- Signal Source: Evaluation of the RF equipment (generator, amplifier, couplers, etc.) which meets the requirements (e.g., frequency, modulation scheme, power, noise level, etc.) at reasonable cost. Basic information should already be available during the optimization process.
- Monitoring and Controlling: Implementation of the hardware/software that enables monitoring of all relevant technical and biological parameters during the course of the experiment.
- Sham Exposure: The construction must guarantee that the presence or absence of the specified electromagnetic fields constitutes the only difference between exposed and sham exposed samples/animals. Special attention must be paid to the temperature rise and to vibrations caused by the coils in ELF setups.

- Manageable by Non-Engineering Personnel: The setup should have minimal likelihood of failure when handled by non-engineering personal. This requires a user-friendly interface for the control software.
- Materials: The materials used must be non toxic and withstand the prevailing environmental conditions (e.g., high humidity, periodical sterilization) for the duration of the experiment.
- Costs: The cost of the setup should be reasonable. Commercially available parts (off-the-shelf) should be used if available.

#### 4.7 Testing of Setup and Experimental Dosimetry and Validation

None of the setups should be used before the numerical results have been subject to thorough experimental validation. This includes verification of the incident as well as induced fields at specific locations. Tools suitable for such experimental evaluations have been described in the literature (e.g., [12]). The locations chosen for validation should be relevant for the performance of the particular setup. The correspondence should be well within the assessed uncertainty of the combined numerical and experimental assessments.

Other checks and evaluation to be performed are:

- Long term reliability test;
- Check of controlling and monitoring components for interference under worst case considerations;
- Check of the environmental requirements under worst-case conditions (e.g., temperature rise inside the samples/animals);
- Assessment of the exposure of the samples to ELF;
- Assessment of the RF leakage.

In addition, one of the first biological experiments should be devoted to confirmation that there are no differences between the exposed group and control group apart from the electromagnetic exposure, e.g., by a sham-sham experiment. Furthermore, the performance of some standard tests should allow determination of whether the setup introduces any artifacts.

## 5. Minimum RF Performance Requirements

The objective of several research programs to be conducted in upcoming years is to address the concern about possible adverse health effects from wireless communications. This ambitious goal can only be met if (1) the experiments address the most urgent questions, (2) the results can be appropriately interpreted, and (3) the descriptions allow for easy replication of the studies. An indispensable prerequisite for the last two conditions is that the exposure setup meets certain minimum requirements. In order to provide some guidelines for developers and reviewers, minimum performance requirements are suggested in the following. Deviations from these might be justified for some of the experiments but the implications of any such deviations should be carefully examined and documented in the report.

### 5.1 Signal Characteristics

Since the amplitude modulation of RF signals can be relevant for possible low-level biological effects, the signal should properly reflect the spectrum of amplitude modulation to which an actual user of the investigated wireless system is exposed. For example, an experiment conducted with a simulated GSM exposure only containing the 217 Hz component is, in general, not sufficient.

### 5.2 Maximum Possible Exposure

The setup should enable an exposure of the tissue or cell culture to induced field strengths that are at least equal to the maximum values locally induced in the user's tissue. Although this value largely depends on several parameters (device, tissue, etc.), the maximum local exposure (averaged over a small volume, e.g., a few thousand cells) can be considerably larger than the values for the spatial peak SAR ( $< 6$  mW/g) for most wireless cellular systems in use today.

### 5.3 Ambient RF fields and Noise Level

The noise level and exposure to the ambient field should be at least 30 dB below the lowest exposure being tested. The same requirements apply for the sham exposure.

### 5.4 Duration of Exposure

The duration of exposure should reasonably reflect the maximum daily exposure. A growing proportion of previous wire phone traffic is now taking place on cellular systems. This trend will continue with improvements in battery life and lowering of service costs. Accumulated usage of several hours daily shall become the norm for a small but substantial minority of people. On the other hand, long-term exposure in the vicinity of base stations is also an issue of concern raised by the public. The exposure due to base stations, however, is generally considerably weaker than exposure from handsets.

### 5.5a Field Distribution for in Vitro Experiments

The induced field distribution of *in vitro* experiments should be as homogeneous as possible. Although the geometry of the cell culture is simple (e.g., monolayer of cells in a Petri-dish), excellent homogeneity is quite difficult to achieve. Our experience shows that an overall standard deviation from homogeneity of less than 30% is reasonable and should be aimed at.

### 5.5b Field Distribution for in Vivo Experiments

In general, reasonably homogeneous field distributions are not achievable in *in vivo* experiments. However, the setup should enable an accurate description of the distribution and magnitude of the induced fields inside the different tissues and organs (see 5.6).

## 5.6 Uncertainty

The uncertainty of the absolute assessment of the induced field strength and distribution in particular organs and cell cultures can be large. The evaluation of the uncertainty should be well documented. The value to be aimed at is  $<1.5$  dB (confidence level 95 %).

## 5.7 Experimental Variations of the Exposure

The uncertainty of 5.6 shall only include the uncertainty of the dosimetric evaluation for the specific situation. In addition, the dependence of the induced field strength and distribution can significantly depend on the location (i. e., movements), posture and size of the animal, amount and shape of medium liquid, etc. The variation should be small and not exceed 1 dB (standard deviation). This variation can be kept much smaller in the case of *in vitro* experiments, i. e.,  $<0.5$  dB.

## 6. Conclusions

The wide variety of biological protocols and the strict requirements for an EMF exposure setup make it impossible to develop standardized exposure setups. Close cooperation between biological and medical scientists and engineers is necessary to establish setups which are both well adapted to the biological protocol and also meet all requirements for a well characterized EMF exposure. The step-by-step approach and adherence to the minimum requirements with regard to RF performance as presented in this paper provide a guideline for setup development and a basis for reviewers and agencies whose duty it is to evaluate the significance of proposed or published studies.

## References

- [1] Repacholi M.H. „Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs“. *Bioelectromagnetics* 19: 1–19 (1998).
- [2] Chou C.K., Wong J., McDougall J.A., Kwok W.C. „Quantification of cellular telephone radio frequency dosimetry“. Final Report supported by Wireless Technology Research, L.L.C., 1711 N Street NW, Washington DC 20036, USA, (1998).
- [3] COST 244bis, Proceedings of the „Workshop on exposure setups and their dosimetry“, Zürich (1999).
- [4] Kuster N. „Dosimetric needs for laboratory and epidemiological research“. In: Bernhardt et al. „Nonthermal effects of RF electromagnetic fields“. München: ICNIRP (1997).
- [5] Valberg P.A. „Designing EMF experiments: What is necessary to characterize EMF exposure?“. *Bioelectromagnetics* 16: 396–401 (1995).
- [6] Schönborn F., Pokovic K., Wobus A.M., Kuster N. „Design, optimization, realization and analysis of an *in vitro* setup for the exposure of embryonal stem cells at 1.71 GHz“. *Bioelectromagnetics* 20: submitted (1999).
- [7] Joyner K.H., Davis C.D., Elson E.C., Czerska E.M., Czerski P. „An automated dosimetry system for microwave and thermal exposure of biological samples *in vitro*“, *Health Physics* 56: 303–307 (1989).
- [8] Moros E.G., Straube W.L., Pickard W.F. „The radial transmission line as a broad-band shielded exposure system for microwave irradiation of large number of culture flasks“. *Bioelectromagnetics* 20: 65–80 (1999).
- [9] Burkhardt M., Pokovic K., Gnos M., Schmid T., Kuster N. „Numerical and experimental dosimetry of Petri dish exposure setups“. *Bioelectromagnetics* 17: 483–493 (1996).
- [10] Guy A.W., Chou C.K and McDougall J.A. „A quarter century of *in vitro* research: A new look on exposure methods“. *Bioelectromagnetics Special issue honoring the retirement of C. Durney* (1999).
- [11] Gos P., Eicher B., Kohli J., Heyer W.-D. „Extremely high frequency electromagnetic fields at low power density do not affect the division of exponential phase *Saccharomyces Cerevisiae* cells“ *Bioelectromagnetics* 18:142–155 (1997).
- [12] N. Kuster, Q. Balzano and J.C. Lin, Eds. *Mobile Communications Safety*. Chapman & Hall, London (1997).

## 4 SIND HOCHFREQUENTE ELEKTROMAGNETISCHE FELDER MUTAGEN?

**Prof. Dr. Günter Obe**, Universität-GH Essen, FB 9 Genetik, Universitätsstraße 5, 45117 Essen

Analysen zur möglichen mutagen Wirkung von niederfrequenten elektromagnetischen Feldern waren überwiegend negativ. Es kann somit nicht erwartet werden, dass derartige Felder krebsinitierend sind [1 – 8]. Die Frage ist, ob hochfrequente Felder, wie sie etwa in der Kommunikationstechnik (Radioübertragungen, Radar, Mobilkommunikation), in der Industrie (Schweißen, Hitzeproduktion) in der Medizin (Hitzebehandlung von Krebs), im Haushalt (Mikrowellenöfen, Telekommunikation) Verwendung finden mutagen sind.

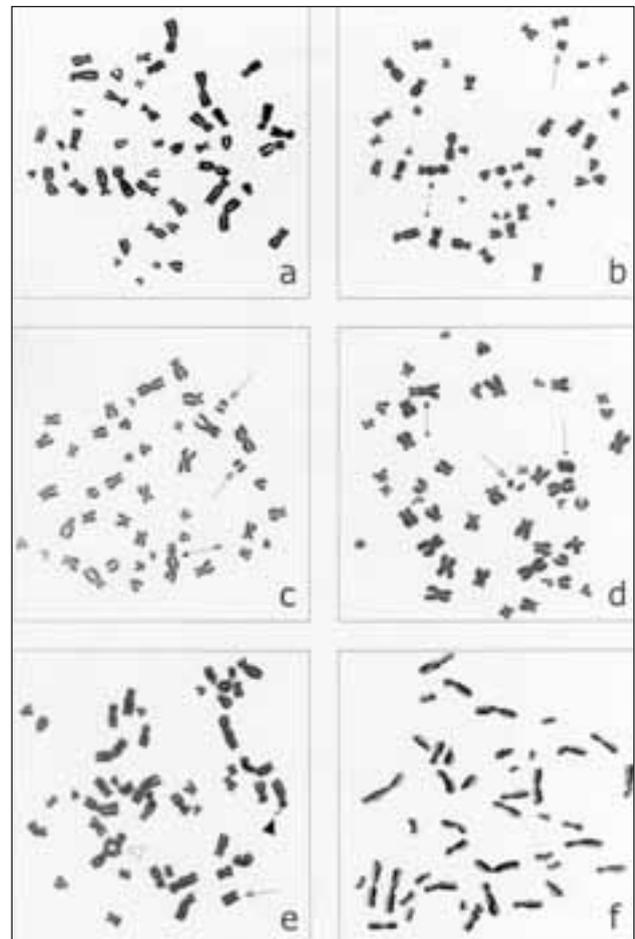
Diese Felder sind nicht ionisierend und es kann nicht erwartet werden, dass sie eine direkte Schädigung des Erbmaterials, der Desoxyribonucleinsäure in den Chromosomen höherer Zellen induzieren können [9], [10 – 13]. Ionisierende Strahlen, wie Röntgenstrahlen oder kosmische Strahlen, induzieren unterschiedliche chemische Veränderungen in zellulärer DNS und sind somit mutagen und karzinogen [14 – 16].

Werden Zellen, wie etwa menschliche Lymphozyten in Kultur ionisierenden Strahlen ausgesetzt, kommt es zu Brüchen in der DNS, die in Chromosomenveränderungen resultieren. Es handelt sich hierbei um Chromosomenmutationen, die im Lichtmikroskop analysiert werden (Abb. 1 a – e). Die Häufigkeit, mit der dieser Mutationstyp auftritt, ist positiv mit der eingestrahlten Dosis korreliert. Wenn sich Zellen mit Chromosomenaberrationen teilen, können Chromosomenbruchstücke oder auch ganze Chromosomen bei der Anaphase der Kernteilung im Zytoplasma zurückbleiben und dort einen eigenen Kern ausbilden. Dieser ist deutlich kleiner als der Hauptkern und wird deshalb Mikrokern genannt.

Das gehäufte Auftreten von Mikrokernen zeigt somit an, dass ein Chromosomenschaden vorgelegen hat. In menschlichen Lymphozyten in Kultur werden nach Einwirkung von 2450 MHz Feldern weder die Frequenzen von Chromosomenaberrationen noch von Mikrokernen erhöht [13]. Chronische Exposition von Mäusen mit 2450 MHz Feldern führte zu einer schwachen biologisch aber eher nicht relevanten Zunahme

von Mikrokernen im peripheren Blut und im Knochenmark [10]. Andere Mutagenitätstests, die an Bakterien, Schimmelpilzen, Fliegen, Mäusen, Haustieren, verschiedenen Zelllinien, Pflanzen und an Lymphozyten exponierter Menschen durchgeführt wurden, waren überwiegend negativ [9], [12].

Ausführliche Analysen wurden auch mit Schwesterchromatidenaustauschen (SCE) durchgeführt, einer chromosomalen Veränderung, die auf dem Austausch zwischen DNS-Molekülen der Schwesterchromatiden beruht. SCE können nach differentieller Substitution des Thymins mit 5-Bromdesoxyuridin in der chromosomalen DNS sichtbar gemacht werden (Abb. 1 f). Eine Erhöhung der SCE-Frequenzen nach Einwirkung hochfrequenter Felder wurde weder *in vitro* (Zellen in Kultur) noch *in vivo* (Knochenmark exponierter Mäuse) gefunden [9]. In eigenen Untersuchungen mit menschlichen Lymphozyten in Kultur konnten wir nach Exposition mit Feldern von 380, 900 und 1800 MHz keine Zunahme der SCE-Frequenzen nachweisen [17].



#### 4 Sind hochfrequente elektromagnetische Felder mutagen?

##### Literatur

Positive Befunde zu chemischen Veränderungen in der DNS von Zellen nach Exposition von Ratten und Mäusen mit hochfrequenten Feldern sind bisher in ihrer Bedeutung unklar. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige dieser Ergebnisse experimentell bedingt sind [9], [10], [12]. Bei Untersuchungen mit hochfrequenten Feldern muss ganz besonders darauf geachtet werden, dass die Ergebnisse nicht auf Wärmeproduktion beruhen oder davon beeinflusst werden. Generell kommen die Autoren von Übersichtsarbeiten zur Frage der mutagenen Wirkung hochfrequenter Felder zu dem Schluss, dass hochfrequente Felder eher kein genotoxisches Risiko beinhalten, also nicht mutagen sind [9], [10]. Allerdings mahnen die wenigen positiven Befunde zur Vorsicht [12].

Um hier endgültige Klarheit zu bekommen sollten Ringversuche initiiert werden, bei denen in mehreren Laboratorien Mutagenitätstests mit hochfrequenten Feldern durchgeführt werden. Ein anschließender Vergleich der Ergebnisse sollte eine Entscheidung darüber ermöglichen, ob mutagene Wirkungen tatsächlich ausgeschlossen werden können. Ein solches Unterfangen wäre nicht eben billig, würde aber manche Diskussion versachlichen und Ängste abbauen.

##### Literatur

- [1] Antonopoulos A, Yang B, Stamm A, Heller W-D, Obe G (1995): Cytological effects of 50 Hz electromagnetic fields on human lymphocytes *in vitro*. *Mutation Res* 346:151–157.
- [2] Lacy-Hulbert A, Metcalfe JC, Hesketh R (1998) Biological responses to electromagnetic fields. *FASEB* 12: 395–420.
- [3] McCann J, Dietrich F, Rafferty C, Martin AO (1993) A critical review of the genotoxic potential of electric and magnetic fields. *Mutation Res* 297: 61–95.
- [4] McCann J, Kavet R, Rafferty CN (1997) Testing electromagnetic fields for potential carcinogenic activity: a critical review of animal models. *Env Health Perspectives* 105: 81–103.
- [5] McCann J, Dietrich F, Rafferty C (1998) The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. *Mutation Res* 411: 45–86.
- [6] Moulder JE, Foster KR (1995) Biological effects of power-frequency fields as they relate to carcinogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med* 209: 309–324.
- [7] Rosenthal M, Obe G (1989) Effects of 50-Hertz electromagnetic fields on proliferation and on chromosome alterations in human peripheral lymphocytes untreated or pretreated with chemical mutagens. *Mutation Res* 210: 329–335.
- [8] Valberg PA, Kavet R, Rafferty CN (1997) Review: Can low-level 50/60 electric and magnetic fields cause biological effects? *Radiation Res* 148: 2–21.
- [9] Brusick D, Albertini R, McRee D, Peterson D, Williams G, Hanawalt P, Preston J (1998) Genotoxicity of radiofrequency radiation. *Env Molec Mutagen* 31: 1–16.
- [10] Moulder JE, Erdreich LS, Malyapa RS, Merritt J, Pickard WF, Vijayalaxmi (1999) Cell phones and cancer: what is the evidence for a connection? *Radiation Res* 151: 513–531.
- [11] Murphy JC, Kaden JW, Sivak A (1993) Power frequency electric and magnetic fields: A review of genetic toxicology. *Mutation Res* 296: 221–240.
- [12] Verschaeve L, Maes A (1998) Genetic, carcinogenic and teratogenic effects of radiofrequency fields. *Mutation Res* 410: 141–165.
- [13] Vijayalaxmi, Mohan N, Meltz ML, Wittler MA (1997) Proliferation and cytogenetic studies in human blood lymphocytes exposed *in vitro* to 2450 MHz radiofrequency radiation. *Int J Radiat Biol* 72: 751–757.
- [14] Obe G, Johannes C, Schulte-Frohlinde D (1992) DNA-double strand breaks induced by sparsely ionizing radiation and endonucleases as critical lesions for cell death, chromosomal aberrations, mutations and oncogenic transformation. *Mutagenesis* 7: 3–12.
- [15] Obe G, Johannes I, Johannes C, Hallmann K, Reitz G, Facius R (1997) Chromosomal aberrations in blood lymphocytes of astronauts after long-term space flights. *Int J Radiat Biol* 72: 727–734.
- [16] Obe G, Müller W.-U. (1999) Zytogenetik in der genetischen Toxikologie und Strahlenbiologie. *Medizinische Gen.* 3: 373–377.

- [17] Antonopoulos A, Eisenbrandt H, Obe G (1997) Effects of high frequency electromagnetic fields on human lymphocytes in vitro. *Mutation Res* 395: 209–214.

### Legende zu Abb. 1 a – f

Chromosomen aus Metaphasen menschlicher Lymphozyten in Kultur ohne chromosomale Aberrationen (a), mit strahleninduzierten Aberrationen (b–e) und mit Schwesterchromatidenaustauschen (SCE) (f). a: normale Metaphase aus den Lymphozyten eines männlichen Blutspenders; b: dizentrisches Chromosom (zweifach gefiederter Pfeil) mit zugehörigem Fragment (Pfeil); c: trizentrisches Chromosomen (dreifach gefiederter Pfeil) mit zwei dazugehörigen Fragmenten (Pfeile); d: dizentrisches Chromosomen (zweifach gefiederter Pfeil) mit dazugehörigem Fragment (Pfeil mit offenen Pfeilkopf) und Ringchromosom (einfacher Pfeil); e: Chromatidenaustausch (offener Pfeilkopf), ein kleines Fragment (geschlossener Pfeilkopf) und ein großes Fragment (Pfeil). Die in b bis e dargestellten Mitosen stammen aus bestrahlten Blutkulturen (Röntgenstrahlen); f: Metaphase in der die Chromatiden der einzelnen Chromosomen differentiell (hell und dunkel) gefärbt sind. SCE sind als Austausch zwischen dunkel und hell gefärbten Chromatiden erkennbar. (Die Abbildungen wurden von Herrn Dr. C. Schunck zusammengestellt).

## 5 DER EINFLUSS HOCHFREQUENTER ELEKTROMAGNETISCHER FELDER AUF DIE KALZIUMHOMÖOSTASE IN VERSCHIEDENEN ZELLTYPEN

**F. Gollnick\***, **A. Lerchl\*\***, **R. Meyer\***, \*Physiologisches Institut der Universität Bonn, \*\*Institut für Reproduktionsmedizin der Universität, Münster

Als Beispiele für die in Bonn durchgeführten Calciumuntersuchungen an Einzelzellen unter Einwirkung eines Hochfrequenzfeldes (HF-Feldes) wurden drei verschiedene Zelltypen vorgestellt:

- *Humane T-Lymphocyten der Zelllinie Jurkat* (Klon E6-1)
- *Pinealocyten des Hamsters* (isoliert aus Pinealorganen Dsungarischer Hamster und in Primärkultur gehalten)
- *Humane Retinoblastoma Zellen der Zelllinie Y79* (im differenzierten und nicht differenzierten Zustand gemessen)

Jurkat T-Lymphocyten standen lange im Verdacht, in ihrem natürlichen Calciumstoffwechsel durch experimentell angelegte schwache 50 Hz-Wechselfelder beeinflussbar zu sein. Diese Befunde einer schwedischen Arbeitsgruppe [1] konnten bis heute allerdings nicht von anderen Arbeitsgruppen (incl. unserer Bonner Arbeitsgruppe) reproduziert werden. Künstlich von außen hervorgerufene Variationen der intrazellulären freien Calciumionenkonzentration,  $[Ca^{2+}]_i$ , hätten bei Lymphocyten unter Umständen schwerwiegende Auswirkungen auf ihre Aktivierung (Signaltransduktionsweg der T-Zellrezeptor-Aktivierungsreaktion) und ihr Teilungsverhalten – nicht nur im Experiment, sondern auch im menschlichen Körper (Lymphocyten aus Ratten, die mehrere Wochen einem schwachen 50 Hz-Wechselfeld ausgesetzt waren, zeigten nach [2] eine stark veränderte Immunreaktion. So lag es nahe, auch unter experimentell angewendeten *hochfrequenten* Feldern mit Frequenzen aus dem Mobilfunkbereich nach möglichen induzierten Variationen der  $[Ca^{2+}]_i$  in Lymphocyten zu forschen).

Pinealocyten und Retinoblastomazellen sind Melatonin produzierende Zellen, wobei die entsprechenden Signaltransduktionswege zur Freisetzung dieses Hormons in beiden Zelltypen durch eine natürlicherweise gezielt vorkommende Modulation der intrazellulären

freien Calciumionenkonzentration beeinflusst werden. In Tierversuchen an Ratten wurde nachgewiesen, dass die nachts normalerweise auf dem Höhepunkt befindliche natürliche Melatoninproduktion durch schwache 50 Hz-Wechselfelder teilweise unterdrückt werden kann [3], [4]. Dies hatte negative Auswirkungen in Bezug auf das Brustkrebsrisiko der Tiere. Melatonin gilt heute auch als wichtiger natürlicher Radikalfänger im Stoffwechselgeschehen und somit als vermindernder Faktor für das Brustkrebsrisiko (Übersicht: [5]). Sollte es unter Anwendung hochfrequenter elektromagnetischer Felder zu einer unphysiologischen Beeinflussung des Calciumstoffwechsels in den Melatonin produzierenden Pinealocyten und Retinoblastomazellen kommen, dann wäre ein entsprechendes Gefahrenpotential über den Weg einer dadurch möglicherweise künstlich verminderten Melatoninproduktion im Körper auch für die Frequenzen aus dem Mobilfunkbereich nicht auszuschließen.

In den hier besprochenen Untersuchungen wurden die Zellen auf kurzfristige unnormale Veränderungen ihrer  $[Ca^{2+}]_i$  unter Einwirkung eines gepulsten 900 MHz und/oder 1800 MHz Feldes hin untersucht. Die standardisierte Dauer der Testläufe betrug 25 Minuten, wovon ein Drittel auf die Expositionsphase entfiel.

Für die T-Lymphocyten wurde ein relativ schwaches 900 MHz (D-Netz) oder 1800 MHz (E-Netz) Mobilfunk-Testsignal in einer an ein Fluoreszenz-Umkehrmikroskop angepassten Transversal-Elektromagnetischen-Zelle (TEM-Zelle) während der Calciummessungen simuliert. In Annäherung an den GSM-Standard wurde das Testsignal mit 217 Hz gepulst (Tastverhältnis 1:8). Dabei lagen in den Lymphocyten errechnete SAR-Werte von 15,4 mW/kg (900 MHz) bzw. 8,6 mW/kg (1800 MHz) vor.

Die Pinealocyten und die Retinoblastomazellen wurden während der Calciummessungen in einer ebenfalls an das Fluoreszenz-Umkehrmikroskop angepassten Hohlleitungs-Messzelle einem simulierten 900 MHz D-Netz Mobilfunksignal ausgesetzt. Durch einen nach Vorgaben der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. entwickelten, externen Bitmuster-generator wurde das HF-Signal mit einem neuen standardisierten Modulationsmuster gepulst. Der Generator simuliert ein Modulationssignal nach dem GSM-Standard mit einem Tast-

verhältnis von 7:8. Neben den typischen Downlink-Frequenzen 1733 Hz und 217 Hz werden auch die 2 Hz- und 8,3 Hz-Komponenten eines GSM-Handgerätes berücksichtigt, das im DTX-Modus betrieben wird. Die zunächst getestete maximal mögliche Expositionsfeldstärke ergab errechnete SAR-Werte in den Zellen von 14 W/kg. Entsprechende Messungen an Pinealocyten und Retinoblastomazellen bei 1800 MHz Feldexposition sowie mit beiden Frequenzen bei niedrigeren Feldstärken (SAR = 80 mW/kg) sind in Vorbereitung bzw. finden gegenwärtig statt.

Zur Messung der freien Calciumkonzentration wurde in allen Fällen der fluoreszierende Indikatorfarbstoff Fura-2/AM [6] in Verbindung mit einem digitalen Calcium Imaging System auf der Basis eines invertierten Fluoreszenz-Videomikroskops [7] eingesetzt (Abb. 1).

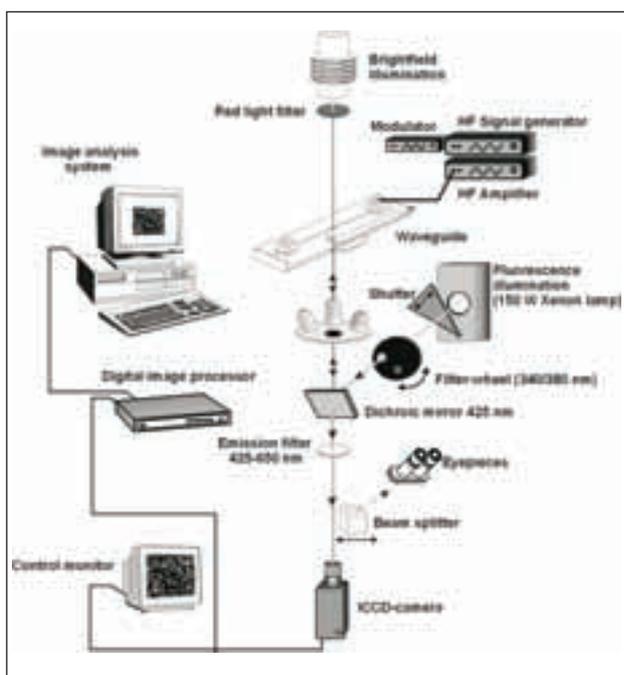


Abb. 1: Versuchsanordnung (hier für den Einsatz eines Hohlleiters) mit Auflichtfluoreszenzmikroskop (Mitte), UV-Beleuchtungseinrichtung mit Schrittmotorgesteuerter Lichtklappe und Filterrad für die Fluoreszenzanregung (Mitte rechts), restlichtverstärkender CCD-Kamera (unter dem Mikroskop), digitalem Bildaufnahme- und Analysesystem (links) sowie Helfeldbeleuchtungseinrichtung (oben), Hohlleiter (obere Mitte, auf den Objektisch des Mikroskops montiert) und HF-Signalquelle (oben rechts).

Die an den Mikroskopisch zur Beobachtung von unten angepasste TEM-Zelle (Abb. 2) und die Hohlleiter (Abb. 3) sind zur HF-Abdichtung und zur Glättung der Feldverteilung im Bereich der Zellen in der Bodenöffnung mit einem feinmaschigen Metallnetz versehen, durch welches hindurch die mikroskopische Beobachtung mit einem speziellen Long-Distance-Objektiv (Zeiss F-LD 32/0.4 Ph1) erfolgen kann. Die obere Wand aller Expositions-kammern wie auch das Septum der TEM-Zelle weisen mittige Bohrungen zur Helfeldbeleuchtung (bei der Auswahl zu messender Zellen) und zum Einführen einer Elektrode (vgl. MEYER et al., in diesem Band) auf. Die angepassten Plexiglas-Objektkammern mit Glasboden und Silikon-schlauchanschlüssen zur Temperierung (Wasserdurchfluss  $36,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) und zur Messpuffer-Perfusion sind zentral auf dem Boden der Expositions-kammern unmittelbar über dem Metallnetz platziert.

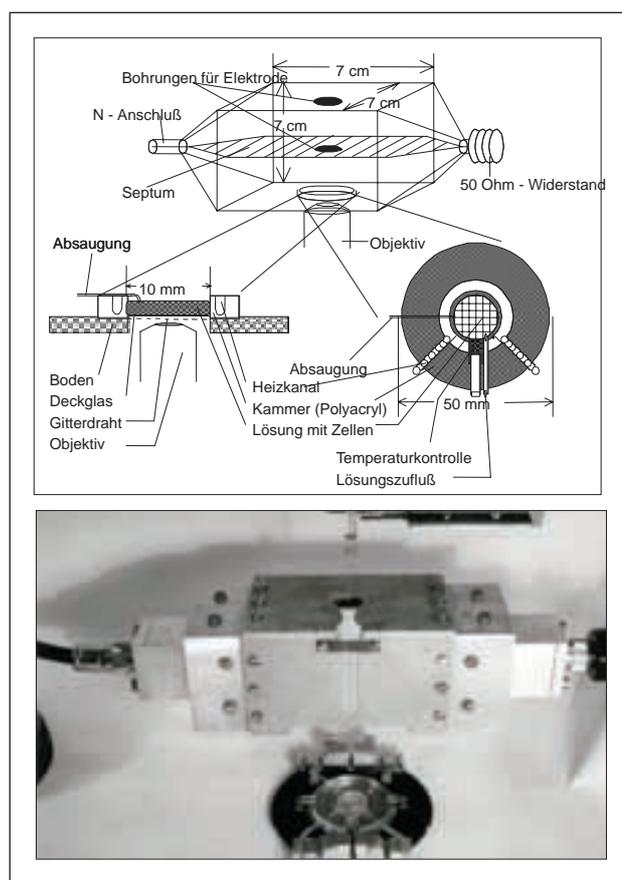
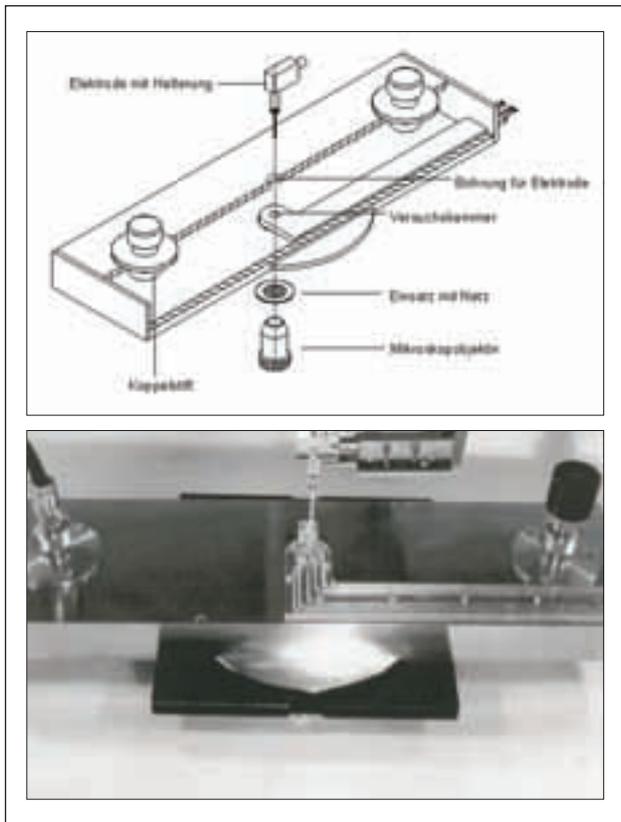
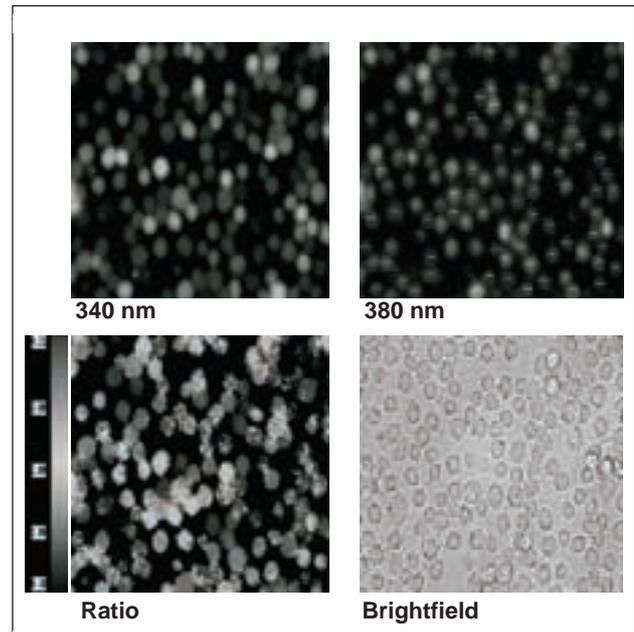


Abb. 2: TEM-Zelle zur Exposition von Zellen im Mikroskop. Schemazeichnung mit Detailzeichnung der innenliegenden Zellkammer (oben). Foto, auf dem der Boden der TEM-Zelle mit darauf montierter Zellkammer abgenommen ist (unten).



**Abb. 3:** Hohlleiter zur Exposition von Zellen bei 1800 MHz im Mikroskop. Schemazeichnung mit Aufriss zur Demonstration der innenliegenden, L-förmigen Versuchskammer mit Lösungs- zu- und ableitungen (oben). Foto, auf dem zur Demonstration die Plexiglas-Objekt-kammer auf den Hohlleiter gelegt wurde (unten).

Die Fura-2 Ratio-Imaging-Methode (Abb. 4) nutzt aus, dass sich der Indikatorfarbstoff bei zwei verschiedenen schmalbandigen Fenstern von Anregungswellenlängen im UV-Bereich in Bezug auf seine Emissionseigenschaften gegensätzlich verhält, wenn eine Anregungswellenlänge kurzwelliger und die andere langwelliger als 360 nm ist (z. B. 340 nm und 380 nm, jeweils ( $\pm 5$  nm)). Steigende intrazelluläre Calciumkonzentrationen führen zur *Zunahme* der Emissionsintensität bei Anregung mit 340 nm und zur *Abnahme* der Emissionsintensität bei Anregung mit 380 nm. So lassen sich digitalisierte Verhältnis-Videobilder 340 nm/380 nm („Ratio-Images“) bilden, die fehlfarbcodiert die gegenwärtige  $[Ca^{2+}]_i$ -Verteilung in den Zellen zeigen, und zwar korrigiert um die Ungleichverteilungen des Farbstoffs und die Dickenunterschiede der Zellen.



**Abb. 4:** Entstehung eines Ratio-Bildes der Calciumverteilung in den Zellen mit der Fura-2 Ratio-Imaging-Methode. Original-Graustufenbilder der Fluoreszenz von 120 T-Lymphocyten bei zwei verschiedenen Anregungswellenlängen (oben) sowie eines digital verrechneten Ratio-Bildes 340 nm/380 nm (unten links; schwarz, unteres Skalenende = niedrige  $[Ca^{2+}]_i$ , dunkelgrau, oberes Skalenende = hohe  $[Ca^{2+}]_i$ ). Unten rechts das entsprechende Hellfeldbild der Zellen. Im Bild oben rechts sind außerdem auf jeder Zelle die digitalen Messfenster zur Ermittlung der  $[Ca^{2+}]_i$ -Änderungen über die Zeit zu erkennen.

Alle Experimente wurden nach einem dreigeteilten Ablaufschema ausgeführt (Abb. 5). Jeder Testlauf bestand aus drei Zeitintervallen von je 500 Sekunden Dauer, einem Vorlaufintervall zu Beginn (Aufnahme einer Grundlinie ohne Beeinflussung der Zellen), einem Testintervall in der Mitte (Feld- oder Scheinexposition) und einem Kontrollintervall ohne Feldexposition am Ende (Positivkontrolle durch Stimulation einer  $[Ca^{2+}]_i$ -Erhöhung mit einer geeigneten Substanz, die Calcium freisetzt). Die Zeitauflösung betrug 0,1 Hz, d. h. ein digitaler Doppelbildeinzug bei 340 nm und 380 nm Fluoreszenzanregung je 10 Sekunden, wobei die Zellen nur für je 0,5 Sekunden pro Bildeinzug belichtet werden mussten. Die Berechnung der Ratio-Bilder und die digitale Auswertung fanden offline statt. Dabei wird auf jede auswertbare Zelle ein digitales Messfenster gelegt und die Veränderungen der  $[Ca^{2+}]_i$  über die Zeit für jede Zelle separat aufgezeichnet. Durch die Mittelung der Auswertungen vieler Zellen aus

gleichartigen Experimenten ergeben sich Mittelwertdarstellungen mit Standardabweichungen für jeden Messzeitpunkt (normiert auf die Werte im Vorlaufintervall), die das Verhalten einer Stichprobe von bis zu mehreren hundert Einzelzellen widerspiegeln. In diesen Darstellungen (s.u.) weisen Veränderungen der Mittelwertlinie und/oder der Größe der Standardabweichung experimentelle Einflüsse auf den Calciumgehalt der Zellen empfindlich nach, wie die Reaktionen auf die gezielten chemischen Stimulationen im dritten Intervall regelmäßig zeigen. Im Falle der Lymphocyten und der undifferenzierten Retinoblastomazellen waren mit spezieller Software bis zu 120 Zellen pro Experiment auswertbar, im Falle der Pinealocyten und der differenzierten Retinoblastomazellen wegen der geringeren Zelldichte bis zu 20 Zellen pro Experiment.

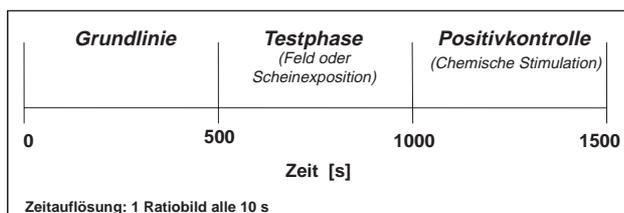


Abb. 5: Ablaufschema der Experimente.

Die zusammenfassende Auswertung mehrerer Experimente an Jurkat **T-Lymphocyten** bei 900 MHz Feldexposition (Abb. 6) ergab – nach einer Einschwingphase auf eine stabile Grundlinie – einen leichten transienten Anstieg der Mittelwertlinie etwa 1–2 Minuten nach dem Beginn der Feldexposition und einen sehr deutlichen Anstieg der  $[Ca^{2+}]_i$  nach der Stimulation mit Anti-CD3 Antikörper. Dargestellt ist nur die Fraktion der auf die Antikörper-Stimulation positiv reagierenden Zellen, die demnach also mit Sicherheit in der Lage sind, auf einen Stimulus mit einer Calciumantwort zu reagieren. In den Kontrolleexperimenten mit Scheinexpositionen in dem mittleren Intervall zeigte sich der leichte Anstieg nicht, sehr wohl jedoch wiederum der deutliche Anstieg nach der Stimulation mit Antikörper. Auch die jeweils für das erste und das zweite Intervall errechneten Regressionsgeraden zeigten hier nicht die leichte Verschiebung wie im Falle der exponierten Zellen.

Ähnliche Ergebnisse erbrachten die Experimente an Lymphocyten bei 1800 MHz Feldexposition (Abb. 7):

Wiederum ein leichter Anstieg der  $[Ca^{2+}]_i$  ca. 2 Minuten nach dem Beginn der Exposition, der sich in den Kontrolleexperimenten nicht zeigte, während die Antikörper-Stimulation deutliche Anstiege verursachte. Kleinere Stichproben und unausgewogenere Zahlenverhältnisse ergaben hier leichte Unterschiede in der Größe der Standardabweichungen zwischen Test- und Kontrolleexperimenten.

Der beobachtete leichte Effekt der Feldexposition konnte bei denselben 900 MHz- und 1800 MHz-Experimenten allerdings nicht bestätigt werden, wenn einzelne kurze  $[Ca^{2+}]_i$ -Anstiege („Spikes“) von Hand ausgezählt und statistisch zwischen den jeweiligen Test- und den Kontrollläufen verglichen wurden. Bei beiden Frequenzen wurde in den Test- und Kontrolleexperimenten im mittleren Intervall eine höhere Anzahl von Calciumereignissen gezählt.

Weitere Experimente zur Reproduktion der Befunde an Lymphocyten konnten bislang leider nicht ausgeführt werden.

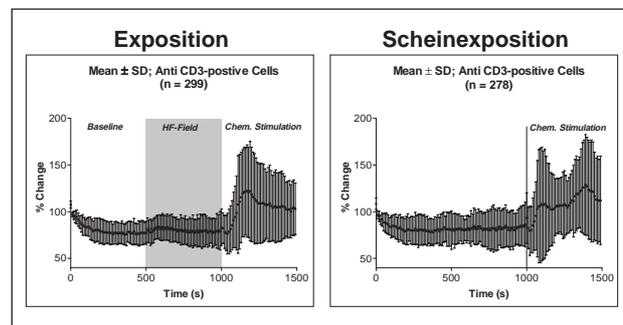


Abb. 6: Gesamtauswertung der Versuche an Jurkat T-Lymphocyten bei 900 MHz in der TEM-Zelle, 217 Hz Pulsmodulation, SAR = 15,4 mW/kg.

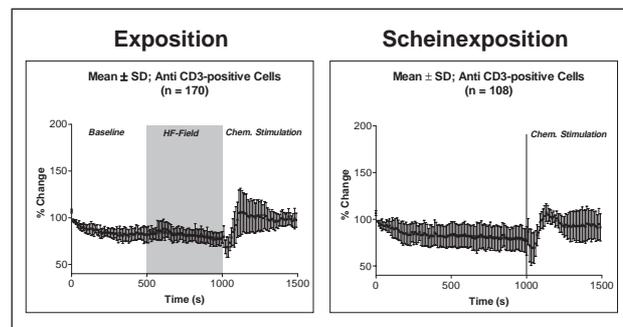
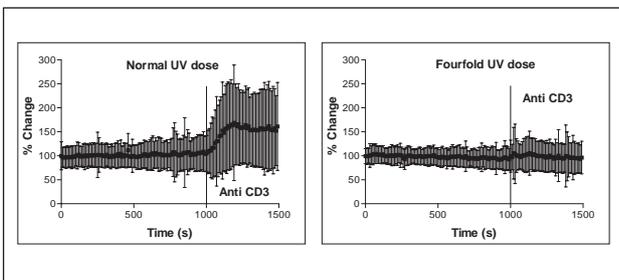


Abb. 7: Gesamtauswertung der Versuche an Jurkat T-Lymphocyten bei 1800 MHz in der TEM-Zelle, 217 Hz Pulsmodulation, SAR = 8,6 mW/kg.

Um den Einfluss des für die Calciummessungen zur Fluoreszenzanregung notwendigen **UV-Lichts** auf die Reaktivität der Lymphocyten abzuwägen, wurden in einer separaten Versuchsreihe (ohne Feldexposition) Messungen an jeweils mehreren hundert Zellen bei normaler UV-Dosis und bei vierfach erhöhter UV-Dosis verglichen (Abb. 8). „Normale“ UV-Dosis heißt dabei die bei allen hier dargestellten Messungen übliche Belichtungszeit von ca. 1 Sekunde je 10 Sekunden Versuchsdauer (s. o.), die sich für ein 25-minütiges Experiment demnach auf ca. 2,5 Minuten Gesamtbelichtungszeit aufsummiert. Bei den Experimenten mit erhöhter UV-Dosis wurde der Lichtverschluss bei jedem Doppelbildeinzug vierfach länger geöffnet, also für insgesamt 10 Minuten Gesamtbelichtungszeit innerhalb von 25 Minuten. Es wurde deutlich, dass die längere Belichtungszeit sowohl zu einer Dämpfung der üblicherweise vorhandenen spontanen Calciumaktivität der Zellen (erkennbar an den kleineren Standardabweichungen) als auch zu einer fast vollkommenen Unterdrückung der Reaktion auf die Anti-CD3-Antikörperstimulation führt. Viele kurzfristige  $[Ca^{2+}]_i$ -Erhöhungen („Transienten“) in einzelnen Zellen summieren sich in der Mittelwertdarstellung zu einem mehr oder weniger breiten Band der Standardabweichungen für die einzelnen Zeitpunkte auf.

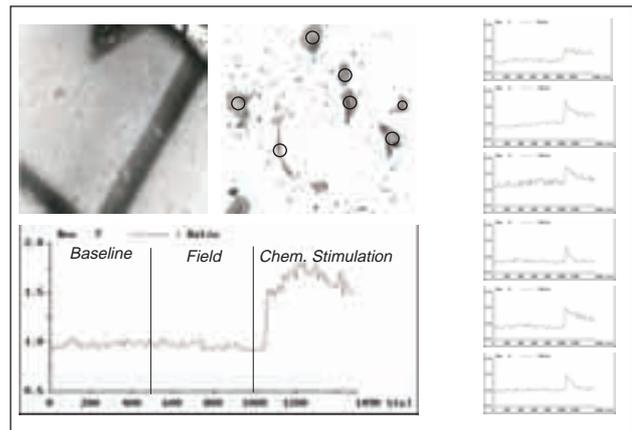


**Abb. 8:** Gesamttauswertungen zur Untersuchung des Effektes verschiedener UV-Dosen während der Kalzium-Messung an Jurkat T-Lymphocyten. Es wurden 546 Zellen bei normaler UV-Dosis und 268 Zellen bei vierfach erhöhter UV-Dosis untersucht.

Diese Kontrollexperimente gaben Hinweise darauf, dass die gewählte normale UV-Dosis die Reaktivität der Zellen in den HF-Experimenten nicht übermäßig beeinträchtigte. Auch zeigte dies, dass Vergleiche mit Resultaten anderer Arbeitsgruppen, die die gleiche Nachweismethode anwenden, nicht ohne Kenntnis der dort eingesetzten UV-Dosen möglich sind. Positiv-

kontrollen am Ende jedes Experiments erscheinen un-  
abdingbar.

Die noch laufenden Untersuchungen an isolierten **Pinealocyten** Dsugarischer Hamster aus Primärkulturen ergaben bislang bei starker 900 MHz Feldexposition (SAR = 14 W/kg) keine Hinweise auf unnormale  $[Ca^{2+}]_i$ -Veränderungen durch die Feldbehandlung. Abb. 9 stellt ein repräsentatives Experiment mit sieben auswertbaren Zellen dar, die sämtlich während der Feldexposition keine über das Grundrauschen hinausgehenden Abweichungen ihrer  $[Ca^{2+}]_i$  zeigen. Die Stimulation einer Calciumantwort im dritten Intervall durch die  $\alpha/\beta$ -adrenerge Substanz Norepinephrin (1  $\mu$ mol/l) ergab hier in allen Fällen einen deutlichen Effekt. Insgesamt reagierten in den bisherigen Experimenten ca. 75 % der Zellen auf die Norepinephrin-Stimulation.

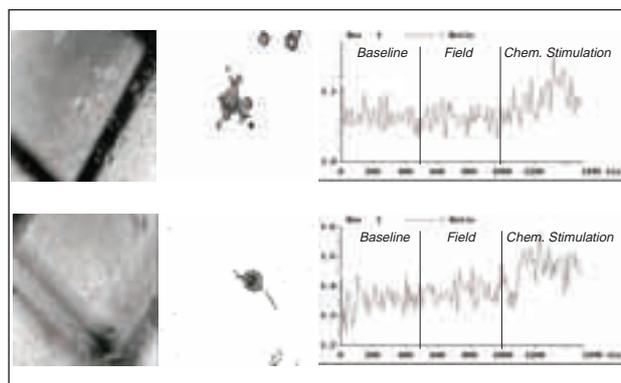


**Abb. 9:** Experiment mit HF-Exposition an 7 Hamster-Pinealocyten (nach 11 Tagen in Primärkultur) bei 900 MHz, Pulsmodulation mit gemischtem Frequenzmuster, SAR = 14 W/kg. Hellfeldbild (oben links; Stege des Metallnetzes sind erkennbar), Ratio-Bild (oben Mitte; digitale runde Messfenster auf den auswertbaren Zellen sind zu erkennen; vergl. Abb. 4) sowie 7 Originalauswertungen der relativen  $[Ca^{2+}]_i$ -Änderungen in den Zellen (unten und rechts) sind dargestellt.

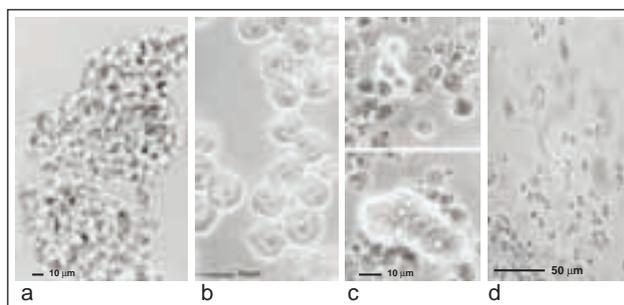
Untersuchungen an differenzierten und undifferenzierten Y79 **Retinoblastomazellen** aus Zellkulturen dauern ebenfalls noch an. Die runden undifferenzierten Zellen werden aus vielzelligen Clustern vereinzelt und dann gemessen oder in einem weiteren aufwendigen Verfahren mit speziellen Kulturbedingungen und -medien zur Differenzierung veranlasst [8] und in diesem Zustand gemessen. Abb.10 fasst den Prozess der Vereinzlung und Ausdifferenzierung zusammen.

Abb. 11 zeigt beispielhaft zwei Experimente an differenzierten Retinoblastomazellen unter starker HF-Feldexposition (900 MHz, SAR = 14 W/kg). In der oberen Darstellung sind am oberen Rand des Ratio-Bildes auch undifferenzierte Zellen zu erkennen, die nebenstehende Auswertung betrifft aber nur die einzeln liegende differenzierte Zelle in der Mitte.

Wie im Falle der Pinealocyten wurden bislang keine Einflüsse der Feldbehandlung auf den Calciumgehalt der Retinoblastomazellen festgestellt. Das Grundrauschen ist bei diesen Messungen wegen der hier notwendigen hohen Restlichtverstärkung und der relativ schwachen Antworten auf die chemische Stimulation nicht unerheblich. An Verbesserungen wird gegenwärtig gearbeitet. Trotzdem konnten keine Signale gefunden werden, die auf einen Einfluss der Exposition hinweisen. Die Calciumreaktionen, die in den Intervallen der Positivkontrolle mit dem Adenylatcyclase-Aktivator Forskolin (10 µmol/l) hervorgerufen wurden, heben sich deutlich vom Grundrauschen ab und demonstrieren die grundsätzliche Aktivierbarkeit der Zellen.



**Abb. 11:** Zwei Experimente mit HF-Exposition an differenzierten Y79 Retinoblastomazellen bei 900 MHz, Pulsmodulation mit gemischtem Frequenzmuster, SAR = 14 W/kg. Hellfeldbilder (links; Stege des Metallnetzes sind erkennbar), Ratio-Bilder (oben und unten Mitte; vergrößert dargestellt; vergl. Abb. 4) sowie die beiden Originalauswertungen der relativen  $[Ca^{2+}]_i$ -Änderungen in den Zellen (rechts) sind dargestellt.



**Abb. 10:** Vereinzeln der Zellen und Differenzierung bei Y79 Retinoblastomazellen. Die Zellen werden aus den Clustern in der Suspensionskultur (a) vereinzelt und auf Poly-D-Lysin- und Fibronectin-beschichteten sterilen Deckgläsern ausplattiert (b). Mit Differenzierungsmedium behandelt, fusionieren einige Zellen zu größeren Zellgebilden (c), diese bilden ab dem 12. Tag der Differenzierung neuronale Fortsätze aus (d) und werden in diesem Zustand als differenzierte Retinoblastomazellen gemessen. Undifferenzierte Zellen werden in dem Zustand wie in (b) gezeigt gemessen.

Insgesamt hat sich bei den bislang durchgeführten Untersuchungen zum Einfluss von HF-Feldern auf die Calciumhomöostase gezeigt, dass es erste Hinweise auf eine leichte Beeinflussung der  $[Ca^{2+}]_i$  in Jurkat T-Lymphocyten durch schwache 900 MHz und 1800 MHz Felder gab, die jedoch einer internen Überprüfung mit statistischen Methoden nicht standhielten. Der Bedarf einer weiteren Überprüfung dieser Hinweise ist offensichtlich, es konnten jedoch bislang keine weiteren Versuche in dieser Richtung unternommen werden. In Hamster Pinealocyten und humanen Retinoblastomazellen wurden unter relativ starker Feldexposition bisher keine derartigen Hinweise gefunden. Hier dauern die Versuche noch an und werden erst in Zukunft gesicherte Erkenntnisse liefern, wenn die geplante größere Versuchsreihe, auch unter schwächerer Exposition im Feld im Belastungsbereich der Ganzkörper-Grenzwerte, abgeschlossen und ausgewertet ist.

Die dargestellten Forschungsprojekte wurden von der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. (FGF) und vom Ministerium für Schule und Weiterbildung, Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen gefördert.

### Literatur:

- [1] Lindström, E., P. Lindström, A. Berglund, K.H. Mild, E. Lundgren: Intracellular calcium oscillations induced in a T-cell line by a weak 50 Hz magnetic field. *J. Cell. Physiol.* 156, 395–398 (1993).
- [2] Mevissen M., M. Häussler, M. Szamel, A. Emendörffer, S. Thun-Battersby, W. Löscher: Complex effects of long-term 50 Hz magnetic field exposure in vivo on immune functions in female sprague-dawley rats depend on duration of exposure. *Bioelectromagnetics* 19, 259–270 (1998).
- [3] Löscher, W., U. Wahnschaffe, M. Mevissen, A. Lerchl, A. Stamm: Effects of weak alternating magnetic fields on nocturnal melatonin production and mammary carcinogenesis in rats. *Oncology* 51, 288–295 (1994).
- [4] Mevissen M., A. Lerchl, W. Löscher: Study of pineal function and DMBA induced breast cancer formation in rats during exposure to a 100-mG, 50-Hz magnetic field. *J. Toxicol. Environ. Health* 48, 169–185 (1996).
- [5] The Melatonin Hypothesis: Breast Cancer and Use of Electric Power. Stevens, Wilson (eds.), Battelle (1997).
- [6] Grynkiewicz G., M. Poenie, R.Y. Tsien: A new generation of  $\text{Ca}^{2+}$ -indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.* 260, 3440–3450 (1985).
- [7] Tsien, R.Y., A.T. Harootunian: Practical design criteria for a dynamic ratio imaging system. *Cell Calcium* 11, 93–110 (1990).
- [8] Kyritsis A., M. Tsokos, T. Triche, G. Chader: Retinoblastoma: Origin from a primitive neuroectodermal cell? *Nature* 307, 471–473 (1984).

### Englische Zusammenfassung:

#### The influence of radio frequency electromagnetic fields on the calcium homeostasis of different cell types.

**Human T-lymphocytes** of the cancer cell line Jurkat were exposed in a TEM-cell to 217 Hz pulsed 900 MHz and 1800 MHz fields (SAR = 15.4 mW/kg and 8.6 mW/kg, respectively).

**Hamster pinealocytes** of a primary culture and **human retinoblastoma cells** from the cancer cell line Y79 were exposed to much stronger pulsed 900 MHz fields in a rectangular waveguide (SAR = 14 W/kg).

The Fura-2 ratio imaging method was used to measure actual calcium changes in the cells during field application. All experiments had a duration of 25 minutes with 8.3 minutes of field or sham exposure in the middle and a chemical stimulation for positive control at the end.

In case of T-lymphocytes, shortly after switching on the field we detected slight rises of the mean value curves of many averaged single cell registrations under the field influence of both frequencies. These findings could not be confirmed when we counted single calcium spikes in the same experiments and compared between exposure and control experiments. In both cases the second experimental interval gave a higher number of calcium events. So far there was no chance to reproduce these experiments.

In case of Hamster pinealocytes and differentiated as well as not differentiated retinoblastoma cells so far we could not detect any effects of a 900 MHz field at the high SAR-value used as yet. Experiments at 1.8 GHz and also at lower SAR-values are in progress. In the waveguides there was used a new generic GSM modulation signal consisting of a "cocktail" of four modulation frequencies.

## 6 WIRKUNGEN HOCHFREQUENTER ELEKTROMAGNETISCHER FELDER AUF PLANARE LIPIDMEMBRANEN UND ZELLMEMBRANEN LEBENDER ZELLEN

**Rainer Meyer, Klaus Linz, Friedhelm Achenbach**, *Physiologisches Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn*

### 1. Einleitung

Hochfrequente elektromagnetische Felder (HF-Felder) können bei ausreichender Feldstärke wasserhaltige Strukturen wie biologisches Gewebe erwärmen. Um Menschen vor unbeabsichtigter Erwärmung durch diese Felder zu schützen, sind Grenzwerte eingeführt worden (Übersichtsartikel: [1]). Die Grenzwerte beruhen auf der thermischen Wirkung der HF-Felder, da diese sich auf grundlegende physikalische Mechanismen zurückführen lässt. Neben der thermischen Wirkung sind auch immer wieder Einflüsse von HF-Feldern auf biologische Strukturen beschrieben worden, die ohne merkliche Erwärmung auftraten. Daraus ist die Vorstellung abgeleitet worden, dass HF-Felder biologische Organismen auch ohne Erwärmung beeinflussen können. Man spricht hier von „nicht-thermischen“ Wirkungen. Für diese nicht-thermischen Wirkungen ist bisher kein schlüssiger Mechanismus bewiesen worden.

Eine Reihe von Versuchsergebnissen zur nicht-thermischen Wirkung von HF-Feldern deuten jedoch darauf hin, dass die Zellmembran einen möglichen Interaktionsort zwischen HF-Feldern und Zellen darstellt. In der Zeit von 1975 bis 1991 wurden an Nervenzellen [2], [3], [4] und Herzzellen [5] sogenannte Kalzium-Effluxmessungen durchgeführt. Dabei werden Zellen vor dem eigentlichen Experiment mit radioaktivem Kalzium,  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ , beladen und anschließend wird die Abgabe der Radioaktivität verfolgt. Die Abgabe von  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  ließ sich nach diesen Untersuchungen durch HF-Felder beeinflussen, die mit 16 Hz amplitudenmoduliert waren (147 MHz: [2]; 50 MHz: [6]; 900 MHz: [3], [4]). Die Ergebnisse wurden so interpretiert, dass die Bindung von Kalzium an die Außenseite der Zelle durch die Wirkung der HF-Felder beeinflusst wird [7]. Allerdings ist die Methodik des Kalzium-Effluxes nicht sehr präzise und kleine Unterschiede lassen sich damit nicht sicher nachweisen. Außerdem lässt sich die Frage, ob das gemessene  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  von der Außenseite der Zellen stammt oder aus ihrem inneren, nicht schlüssig beantworten. Daher wurden schon früh elek-

trophysiologische Messungen an Zellmembranen durchgeführt. Bei diesen Messungen lässt sich sicher zwischen innen und außen unterscheiden, und man kann auch die beteiligten Stromsysteme gut identifizieren. Eine Serie von Membranpotentialmessungen wurde an Schneckenneuronen vorgenommen. In diesen Messungen zeigte sich unter einem Feld von 2400 MHz mit SAR-Werten (spezifische Absorptionsrate) von mehr als 5 W/kg eine Veränderung des Membranwiderstandes [8] und in der Frequenz der Aktionspotentiale [9]. Die Veränderungen in den Membraneigenschaften sollen von Kalziumfreisetzungen aus intrazellulären Speichern abhängen [10]. Eine Hyperpolarisation von Schneckenneuronen hat auch Kullnick [11] beobachtet, jedoch unter einem Feld von 150 MHz bei einem ganz niedrigen SAR-Wert. In einer Studie aus 1993 von Field, Ginsberg und Lin [12] wurden die älteren Ergebnisse von Arber und Lin jedoch angezweifelt, da sie möglicherweise wegen der hohen SAR-Werte durch eine Temperaturerhöhung zu erklären wären. Dieser Verdacht wurde durch Ergebnisse von Alekseev [13] verstärkt, die zeigen konnten, dass bereits eine Temperaturveränderung von 0,0025 °C/s einer vorübergehenden Veränderung der Aktionspotentialfrequenz in Schneckenneuronen führen kann.

Weitere elektrophysiologische Untersuchungen wurden mit der Spannungsklemmtechnik an Skelettmuskelzellen [14], [15] und an Herzmuskelzellen [16], [17] durchgeführt. In den Arbeiten über Skelettmuskelzellen wurde in Einzelkanalableitungen eine Veränderung in der Offenzeit des Azetylcholinakanals unter der Einwirkung eines HF-Feldes von 10,75 GHz und einer Leistungsflussdichte von wenigen  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  gefunden. Bei den Messungen an Herzmuskelzellen wurden isolierte Zellen aus dem Ventrikel des Meerschweinchens eingesetzt, an denen der Kalziumstrom verfolgt wurde. In der Untersuchung von v. Klitzing und Janz wurde bei einem Feld von 150 MHz, einer Modulation von 8,3 Hz und einer Leistungsflussdichte von 1 mW/m<sup>2</sup> eine Vergrößerung des Kalziumeinstromes beobachtet, bei anderen Modulationen jedoch nicht. Die Ergebnisse aus der Untersuchung von Linz [17] werden im weiteren dargestellt.

Die elektrischen Eigenschaften von Zellmembranen lassen sich auch an isolierten Membranmodellen, so-

genannten planaren Lipid-Bilayermembranen, untersuchen. Derartige Untersuchungen wurden von der Arbeitsgruppe von Prof. Boheim aus Bochum und der von Prof. Hansen aus Wuppertal in der Anwesenheit von HF-Feldern durchgeführt [18], [19]. Sie haben festgestellt, dass unter der Einwirkung eines 900 MHz elektromagnetischen Feldes, welches entsprechend der GSM-Norm gepulst ist, in Bilayermembranen transient Ströme fließen. Bedingung für diesen Stromfluss ist, dass gleichzeitig über der Bilayermembran eine Gleichspannung anliegt. Die Autoren haben von „Überschussströmen“ gesprochen. Die Amplitude der Überschussströme ist eine Funktion der Feldstärke. Darüber hinaus beobachteten die beiden Arbeitsgruppen eine Beeinflussung der Ströme durch Transportmoleküle und Kanäle, die in die Bilayermembran eingesetzt waren.

Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Frage, ob hochfrequente elektromagnetische Felder, die entsprechend der Norm des GSM-Mobilfunkes gepulst wurden, eine Wirkung auf Zellmembranen ausüben. Dabei dienten einerseits Bilayer als Membranmodell, und die beschriebenen Ergebnisse von Boheim [18], [19] sollten reproduziert werden. Die Ergebnisse sollten mit denen aus Messungen an den Membranen lebender Zellen verglichen werden.

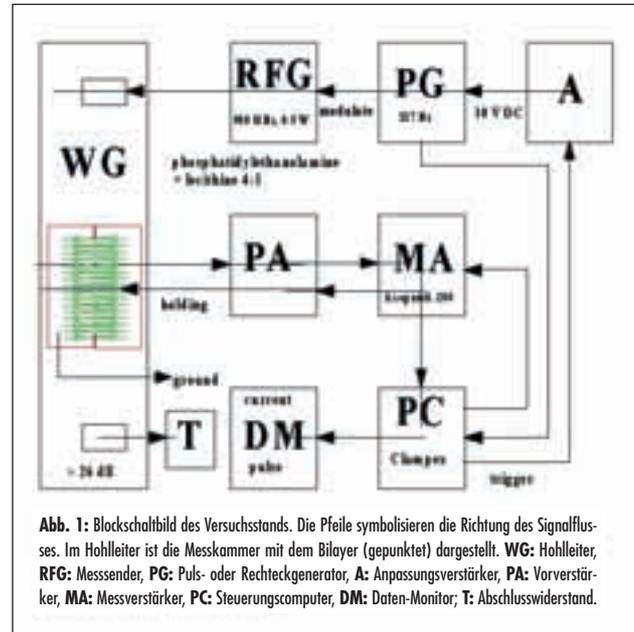
## 2. Material und Methoden

An den planaren Lipidmembranen wurden Messungen bei 900 MHz vorgenommen und an den isolierten Herzmuskelzellen bei 900 und 1800 MHz. Die zwei verschiedenen elektrophysiologischen Techniken sollen hier einzeln vorgestellt werden:

### 2.1 Die Technik der Messung an planaren Lipidmembranen

Der Versuchsstand zur Messung elektrischer Membranströme wurde so konzipiert, dass er prinzipiell die gleichen Möglichkeiten bietet wie der von Boheim [18] verwendete, dessen Einzelheiten bei Eibert [20] beschrieben sind. Trotzdem handelt es sich nicht um eine identische Kopie seines Versuchsstandes, sondern um eine Neuentwicklung. Der Versuchsstand be-

steht aus drei Baugruppen (Zusammenschaltung vgl. Abb. 1):



1. **Einem schwingungsgedämpften Tisch**, mit einer Verschiebeeinrichtung für die Messkammer (beides Konstruktionen der mechanischen Werkstatt des Institutes) und einem Stereomikroskop, welches dazu dient die Ausbildung der künstlichen Membran zu beobachten
2. **Die Komponenten zur Erzeugung der HF-Felder:** Ein Mess-Sender, SME06 (Rohde & Schwarz, München), mit nachgeschaltetem Verstärker, PA 910 (SSG Electronic GmbH, Iserlohn), ein Hochfrequenzkabel, RG 213 U (Huber & Suhner, München), ein Hohlleiter und ein Abschlusswiderstand (15 Watt DC-12 GHz, Typ 6515.17.A, Huber & Suhner). Der Hohlleiter wurde in unserer Werkstatt konstruiert und hergestellt. Er besteht aus 5 mm dickem Messingblech und hat die Innenmaße von 128 cm Länge, 12,38 cm Breite und 24,76 cm Höhe; der Abstand zwischen dem Ein- und dem Auskoppelstift beträgt 110,00 cm. Er leitet die Welle im  $H_{10}$ -Mode fort. Es konnte unter den erforderlichen Bedingungen eine Leistung von bis zu 7,7 W eingekoppelt werden. Zur ständigen Kontrolle der eingespeisten HF Leistung diente ein Richtkoppler (765D) mit einer Diode (crystal detector 423A, beide Hewlett Packard Co., Palo Alto, USA).

3. **Die Komponenten für die elektrophysiologischen Messungen:** Eine Messkammer aus Plexiglas, deren Lumen durch ein Septum aus Plexiglas in zwei elektrisch isolierte Kompartimente unterteilt wird. In das Septum ist eine Bohrung (Durchmesser 200  $\mu\text{m}$ ) zum Aufbringen des Phospholipid-Bilayers eingearbeitet. Die beiden Kompartimente der Versuchskammer sind über Agarbrücken und Silber/Silberchlorid Elektroden mit der Vorverstärkereinheit des Messverstärkers verbunden. Als Messverstärker diente ein Voltage-Clamp Verstärker, Axopatch 200 B, in Kombination mit einer Digitalisierungseinheit, Digidata 1200, und einem Steuerungscomputer mit dem Programmpaket pClamp6 (Axon Instruments Inc., Foster City, USA).

Für die Präparation der Bilayer wurde ein Gemisch aus den Phospholipiden 1-Palmitoyl-2-Oleoyl-sn-Glycero-3-Phosphoethanolamin und 1-Palmitoyl-2-Oleoyl-sn-Glycero-3-Phosphocholin im Verhältnis 4:1 gelöst in n-Decan verwendet (Avanti Polar Lipids Inc., Alabaster, USA). Nach Befüllen der Messkammer mit Elektrolytlösung (1 mM KCl) und Montage der Agarbrücken wurde unter mikroskopischer Beobachtung mit einer Teflon-Öse eine sehr geringe Menge der Lipidlösung auf die Apertur aufgetragen. Beim Bestreichen der Öffnung bildet sich zunächst ein „dicker“ Lipidfilm (erkennbar an den Interferenzfarben im reflektierten Licht). Innerhalb weniger Sekunden wird der Film sehr dünn, d.h. die Interferenzfarben verschwinden und der Eindruck eines „schwarzen Lochs“ (black film) entsteht; dann wird die Messkammer in den Hohlleiter geschoben.

Zur Beurteilung der elektrischen Eigenschaften des Bilayers wurde mit einer schnellen Spannungsrampe (10 V/s) die Kapazität bestimmt. Ein echter Bilayer (schwarze Membran) ist durch eine hohe Kapazität und einen hohen Widerstand ( $>1\text{ G}\Omega$ ) charakterisiert.

Als Messgrößen zur Bestimmung des Feldeinflusses wurden die Amplituden des Stroms in Abhängigkeit folgender Einflüsse bestimmt:

- Gleichspannungsfeld (zur Bestimmung der Strom/ Spannungsbeziehung)
- Ausgangsleistung des Senders

Nach Filterung der Signale mit 10 kHz wurden in der Regel jeweils 500–1000 Messungen gemittelt. Die Digitalisierung erfolgte mit einer Abtastrate von 50 kHz.

Die Sender wurde auf eine Frequenz von 900 MHz abgestimmt und im Verhältnis 1:8 rechteckig gepulst entsprechend der Norm der digitalen Mobiltelefone (GSM), d.h. eine Abfolge von Einschaltpulsen von 0,624 ms Dauer unterbrochen von 4,38 ms Ausschaltzeit (217 Hz).

## 2.2 Die Technik der Messung an Zellmembranen lebender Zellen

Der Versuchsstand zur Durchführung der patch-clamp Messungen an isolierten Herzmuskelzellen war prinzipiell ähnlich aufgebaut wie der zur Messung an planaren Lipidmembranen. Eine detaillierte Beschreibung des Versuchsaufbaus findet sich in [17].

1. **Ein schwingungsgedämpfter Tisch**, mit einem inversen Mikroskop, IM35 (Zeiss, Oberkochen) und mit Einrichtungen zur Perfusion und Heizung der Versuchskammer.
2. **Die Komponenten zur Erzeugung der HF-Felder:** Ein Mess-Sender, SLRD BN 41004/50 (Rohde & Schwarz), mit einer Einrichtung zur externen Amplitudenmodulation, ein Hochfrequenzkabel, ein Hohlleiter und ein  $50\Omega$  Abschlusswiderstand. Der Hohlleiter für 900 MHz hat die Innenmaße von 50 cm Länge, 21 cm Breite und 3 cm Höhe (vgl. Abb. 3 in Gollnick et al. in diesem Band). Der Hohlleiter für 1800 MHz hat die Innenmaße von 50 cm Länge, 12 cm Breite und 3 cm Höhe. Beide Hohlleiter wurden in unserer Werkstatt hergestellt und leiten die Welle im  $H_{10}$ -Mode fort.
3. **Die Komponenten für die elektrophysiologischen Messungen:** Eine beheizbare Messkammer aus Plexiglas mit einem Deckglas als Boden (vgl. Abb. 3 in Gollnick et al. in diesem Band). Als Messverstärker diente ein Voltage-Clamp Verstärker, EPC7 (List Medical Electronic, Darmstadt), in Kombination mit einer Digitalisierungseinheit, Digidata 1200, und einem Steuerungscomputer mit dem Programmpaket pClamp6 (Axon Instruments Inc.).

Die Herzmuskelzellen wurden enzymatisch aus dem Ventrikel von Meerschweinchen isoliert wie unter [21] beschrieben. Die „patch clamp“ Elektroden (2–5 M $\Omega$ ) wurden mit einer Lösung aus 130 mM KCl, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA und 10 mM HEPES gefüllt. Als extrazelluläre Lösung diente Tyrode-Lösung (in mM: 135 NaCl, 4 KCl, 1,8 CaCl<sub>2</sub>, 1 MgCl<sub>2</sub>, 11 Glukose, 2 HEPES, 1 g/l BSA „bovine serum albumin“). Es sollten Membran- und Aktionspotentiale, sowie Kalzium- und Kaliumströme abgeleitet werden. Die Aktionspotentiale wurden durch Spannungspulse aus der „patch clamp“-Elektrode mit einer Frequenz von 0,5 Hz ausgelöst. Kalzium- und Kaliumströme wurden mit Hilfe verschiedener Spannungsklemm-Muster abgeleitet. Zwischen den Spannungsklemm-Pulsen wurden die Zellen immer auf einem Potential von –80 mV gehalten. Die Kalziumströme wurden mit einem rechteckigen Spannungsklemm-Muster gemessen, bei dem die Natrium-Ströme durch eine Vorklemme auf –40 mV für 200 ms inaktiviert worden waren. An die Vorklemme schloss sich direkt ein Testklemm-Puls an, der ein variables Potential zwischen –40 und 60 mV gestuft in 5 mV hatte. Die Klemm-Pulse wurden mit einer Frequenz von 0,2 Hz angewendet. Kalium-Ströme wurden durch eine rampenförmige Verschiebung der Spannung von –100 mV bis 50 mV (Steilheit 15 mV/s) ausgelöst. Die Messungen wurden bei 36 °C vorgenommen. Eine detaillierte Beschreibung der Versuchsbedingungen findet sich in [17].

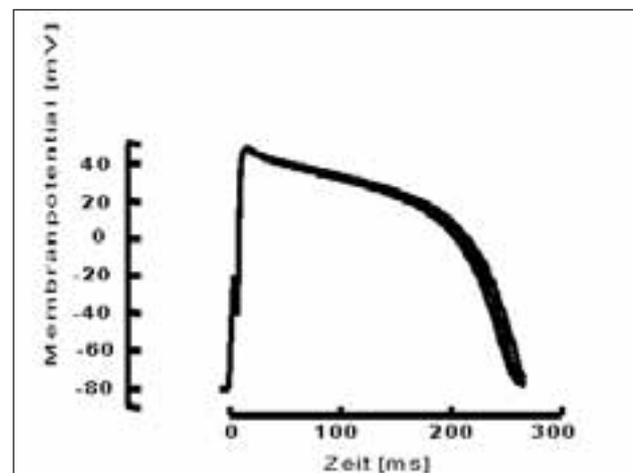
Die Experimente liefen in sechs Phasen ab: In der ersten Phase wurden die elektrophysiologischen Messungen unter Kontrollbedingungen aufgenommen, in der zweiten Phase wurden die Messungen in Anwesenheit des Feldes durchgeführt, in der dritten Phase wieder unter Kontrollbedingungen, in der vierten Phase ebenfalls unter Kontrollbedingungen, in der fünften Phase unter Scheinexposition und in der sechsten Phase wieder unter Kontrollbedingungen. Exposition und Scheinexposition wurden regelmäßig vertauscht. Kontrollbedingungen und Scheinexposition sind identisch und bedeuten Messung bei ausgeschaltetem Sender. Das auf den ersten Blick etwas komplexe Muster gestattet die genaue Unterscheidung zwischen spontanen Veränderungen der elektrischen Parameter und solchen, die auf den Einfluss des Feldes zurückgeführt werden können. Die angewendeten Felder mit einer Trägerfrequenz von 900 MHz und 1800 MHz wur-

den entsprechend der GSM-Norm gepulst wie unter 2.1 beschrieben. Die SAR-Werte, die hier für diese Versuche angegeben werden, wurden von der Arbeitsgruppe von Prof. Hansen aus Wuppertal ermittelt (vgl. Beitrag dieser Arbeitsgruppe in diesem Band).

### 3. Ergebnisse

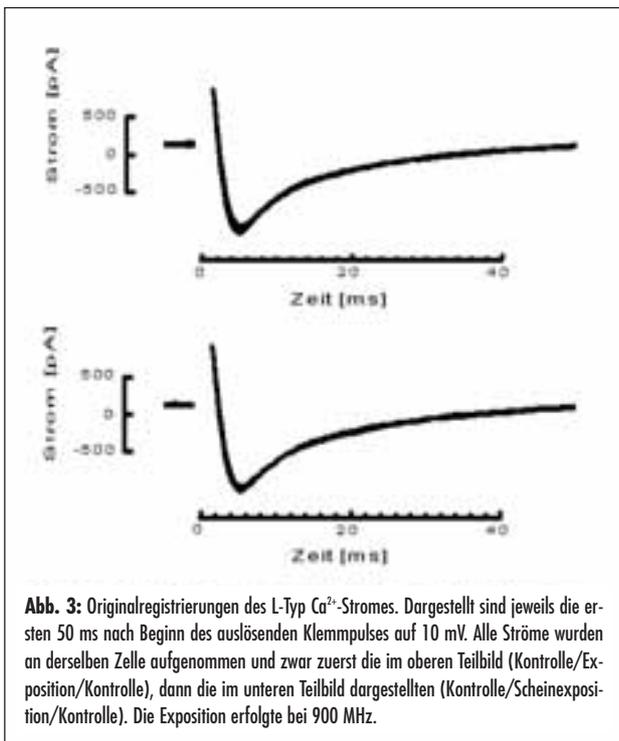
#### 3.1 Isolierte Herzmuskelzellen

In den Messungen an isolierten Herzmuskelzellen zeigte sich eine kontinuierliche Verkürzung der AP-Dauer. Diese Verkürzung der AP-Dauer ist auf eine spontane Abnahme des Kalzium-Einstromes und eine Zunahme der Kaliumausstromamplitude zurückzuführen (vgl. Abb. 2). In dem gezeigten Beispiel sind die Phasen Kontrolle/Exposition/Kontrolle gezeigt, jedoch war die Abnahme der Aktionspotentialdauer bei Scheinexposition identisch. Aktionspotentialmessungen wurden bei 900 MHz unter einer spezifischen Absorptionsrate von 250 mW/kg an sechs Zellen und unter 1800 MHz bei 480 mW/kg an 13 Zellen vorgenommen. Es wurde der Einfluss des Feldes auf das Membranpotential sowie die Dauer und die Anstiegsteilheit des Aktionspotentials getestet. In keinem der Parameter konnte ein signifikanter Einfluss des Feldes nachgewiesen werden.



**Abb. 2:** Aktionspotentialregistrierungen einer Meerschweinchenherzelle. Die Aufstrichphase wird durch einen Na<sup>+</sup>-Einstrom in die Zelle getragen. Die flache Plateauphase ist durch den Einstrom von Kalzium in die Zelle und eine geringe Kaliumleitfähigkeit bestimmt. Die Repolarisation erfolgt durch einen Kaliumausstrom. Die Potentiale wurden vor (längstes), während (mittleres) und nach der Exposition (kürzestes) in einem 1800 Mhz Feld aufgenommen. Die Verkürzung des APs ist nicht auf den Einfluss des HF-Feldes zurückzuführen, sondern geschieht in gleicher Weise auch spontan.

Wie im Abschnitt „Material und Methoden“ erwähnt wurden die Kalziumeinstrome bei unterschiedlichen Testpotentialen gemessen ( $-40$  mV bis  $60$  mV, in  $5$  mV gestuft). Auf diese Weise konnte die vollständige Strom/Spannungsbeziehung ermittelt werden. In Abbildung 3 sind übereinander geschriebene Originalregistrierungen des Stromes während eines Klemmspannungspulses auf ein Potential von  $10$  mV dargestellt. Der Strom ist als Einstrom in negativer Richtung aufgetragen, er nimmt zunächst in seiner Größe zu (er aktiviert). Nach ca.  $4$ – $5$  ms erreicht er den negativsten Wert, das Einstrommaximum. Dann klingt er wieder ab (er inaktiviert) und ist nach ca.  $100$  ms weitgehend beendet. Dieser generelle Verlauf des Stromes wird durch die Anwesenheit des HF-Feldes nicht beeinträchtigt. Wie bei den Aktionspotentialen kommt es während der Messung des Kalziumeinstromes zu einer spontanen Veränderung, der Strom verkleinert sich im Verlauf der Messung etwas (vgl. Abb. 3).



Diese Verkleinerung ist unabhängig von der Anwesenheit des Feldes. Es wurden die folgenden Feldkonfigurationen überprüft:  $900$  MHz, SAR  $250$  mW/kg an acht Zellen;  $1800$  MHz, SAR  $80$  mW/kg an sechs Zellen, SAR  $480$  mW/kg an  $14$  Zellen, SAR  $720$  mW/kg an sechs Zellen. Es wurde der Einfluss auf die Amplitude des Kalziumeinstromes verfolgt. Bei keinem

der untersuchten Potentiale konnte ein Einfluss des HF-Feldes festgestellt werden (weitere Parameter finden sich in [17]). Außerdem sieht man an den in Abbildung 3 gezeigten Originalregistrierungen, dass die Pulsung des Feldes, also das Ein- und Ausschalten mit einer Frequenz von  $217$  Hz, sich in den aufgezeichneten Stromspuren nicht widerspiegelt.

Auch bei den Experimenten zur Untersuchung der Kaliumströme konnte kein Einfluss des HF-Feldes auf die Spannungsabhängigkeit des Stromes festgestellt werden. Da bei den Kaliumströmen während des Messzeitraumes keine merkliche Veränderung eintrat, konnten die Kurven einfach aufeinander projiziert werden. Sie waren in den untersuchten Beispielen,  $900$  MHz, SAR  $250$  mW/kg an acht Zellen,  $1800$  MHz, SAR  $480$  mW/kg an  $14$  Zellen, praktisch deckungsgleich.

### 3.2 Planare Lipidmembranen

Die beiden Kompartimente der Versuchskammer sind nur durch die Apertur im Septum verbunden. Wird die Apertur durch eine Lipidmembran verschlossen, existiert zwischen beiden Kompartimenten keine hydrophile Verbindung mehr. Wird eine Gleichspannung zwischen beiden Kompartimenten angelegt, dann fließt wegen des sehr hohen elektrischen Widerstandes nur ein kleiner, konstanter Strom. Schaltet man in dieser Situation das HF-Feld ein, dann fließt zwischen den beiden Kompartimenten ein erheblich größerer Strom, der im folgenden als Überschussstrom bezeichnet wird. Abb. 4 zeigt eine charakteristische Originalregistrierung des Überschussstroms bei Anlegen eines Gleichspannungsfeldes von  $-90$  mV (links),  $0$  mV (Mitte),  $+90$  mV (rechts). Beim Einschalten des Senders erfolgt ein schneller Anstieg auf ca.  $-15$  pA bzw.  $+12$  pA gefolgt von einem exponentiellen, langsamen Abfall bis zum Ausschalten des Senders. Das Ausschalten des Senders erzeugt einen entgegengesetzt verlaufenden schnellen Anstieg auf  $+$  bzw.  $-7$  pA und einen langsamen Abfall bis in die Nähe der Nulllinie. Der Überschussstrom ist nur bei einem angelegten Gleichspannungsfeld zu beobachten. Die Stromrichtung dreht sich beim Umkehren der Polarität des Gleichspannungsfeldes um. Das Verhalten der Lipidmembran ähnelt einer kapazitiven Umladung.

Die Höhe des Überschussstroms,  $I_{exc}$ , steigt mit dem angelegten Gleichspannungsfeld. Die Abhängigkeit ist nicht linear sondern zeigt einen hyperbolischen Verlauf. Weiterhin ist  $I_{exc}$  von der Ausgangsleistung des Senders abhängig. Wegen einer möglichen Ungenauigkeit bei der Bestimmung des  $I_{exc}$ -Spitzenstroms haben wir bei dieser Betrachtung das Integral des  $I_{exc}$  also die geflossene Ladung zugrunde gelegt. Die Höhe der Ladungsverschiebung folgt steigender Ausgangsleistung linear. Im Beispiel in Abb. 5 wurde die Sendeleistung in Stufen von 0,5 W variiert. Der Zusammenhang zwischen der Ladungsverschiebung und der Ausgangsleistung des Senders ist vom angelegten Gleichspannungsfeld unabhängig.

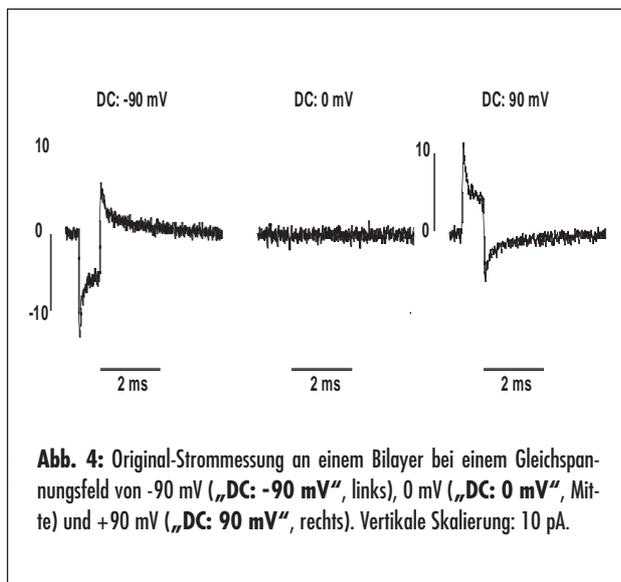


Abb. 4: Original-Strommessung an einem Bilayer bei einem Gleichspannungsfeld von -90 mV („DC: -90 mV“, links), 0 mV („DC: 0 mV“, Mitte) und +90 mV („DC: 90 mV“, rechts). Vertikale Skalierung: 10 pA.

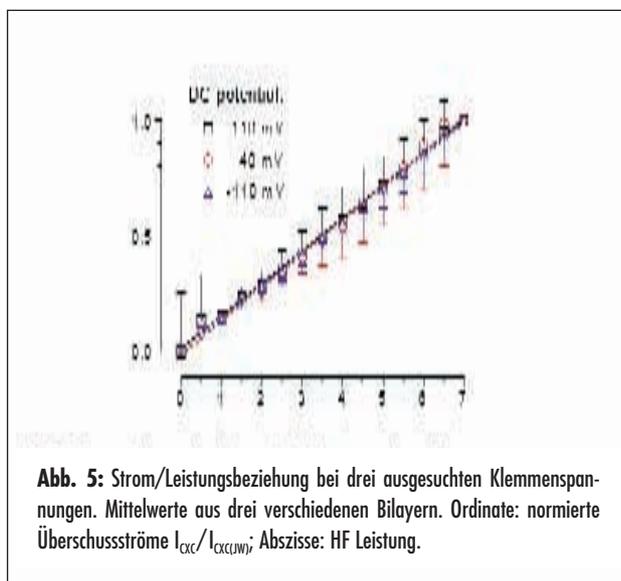


Abb. 5: Strom/Leistungsbeziehung bei drei ausgesuchten Klemmspannungen. Mittelwerte aus drei verschiedenen Bilayern. Ordinate: normierte Überschussströme  $I_{exc}/I_{exc(W)}$ ; Abszisse: HF Leistung.

#### 4. Diskussion

Bei einem Vergleich der beiden unterschiedlichen methodischen Ansätze, die letztendlich beide eine Untersuchung des Einflusses von HF-Feldern auf die Zellmembran zum Ziel haben, fällt auf, dass die Ergebnisse ganz deutlich auseinander weichen. Bei der Untersuchung an den intakten isolierten Herzmuskelzellen ließ sich kein Einfluss auf die elektrophysiologischen Membranparameter nachweisen, dagegen scheinen die planaren Lipidmembranen, die als Modell der Zellmembran dienen, wesentlich empfindlicher zu reagieren. Wenn ein derartiger Unterschied zwischen diesen beiden Versuchsansätzen besteht und die HF-Felder einen so starken Einfluss auf planare Lipidmembranen haben, dann ergeben sich eine Reihe von Fragen:

1. Handelt es sich um einen wirklichen Einfluss auf die Lipidmembran und nicht um ein Artefakt?
2. Wie groß ist die Feldstärke in der direkten Nähe der planaren Lipidmembran?
3. Wie kann man sich vorstellen, dass es unter der Einwirkung des hochfrequenten Feldes zur Entstehung des Überschussstromes in der planaren Lipidmembran kommt?
4. Wieso sieht man keinen Überschussstrom, wenn man intakte Zellen untersucht?

Zu 1. Handelt es sich um einen wirklichen Einfluss auf die Lipidmembran und nicht um ein Artefakt?

Der Befund, dass das Einschalten des HF-Feldes jeweils einen  $I_{exc}$  auslöst ist erstmals 1997 von Boheim und Mitarbeitern vorgestellt worden. Bereits diese Arbeitsgruppe hat sehr umfangreiche Vorkehrungen getroffen, um sicherzustellen, daß der  $I_{exc}$  kein Artefakt darstellt. Die unabhängige Reproduktion dieser Ergebnisse mit einem neuen in vielen Teilen unterschiedlichen Aufbau unterstreicht die Beobachtung, dass es sich nicht um ein Artefakt z. B. einer Einstreuung in die Messapparatur handelt. Man kann nach dem jetzigen Erkenntnisstand und nach den zahlreichen Kontrollversuchen, die von dieser Arbeitsgruppe und auch von der Bochumer Arbeitsgruppe durchgeführt wurden, annehmen, dass der  $I_{exc}$  tatsächlich auf eine Interaktion des HF-Feldes mit der Membran in der Apertur zurückzuführen ist. Die Kontrollversuche sind

im Einzelnen hier nicht aufgelistet, jedoch unter [22] und [23] z.T. nachzulesen.

Zu 2. Wie groß ist die Feldstärke in der direkten Nähe der planaren Lipidmembran?

Im Fall der Experimente an den intakten Zellen wurden in dieser Arbeit SAR-Werte angegeben. Diese SAR Werte beruhen auf Kalkulationen nach der Methode der FDTD, „finite difference time domain method“ (vgl. Beitrag der Arbeitsgruppe von Prof. Hansen in diesem Band bzw. [17]). Diese Methode lässt sich jedoch im Fall der Messungen an den planaren Lipidmembranen nicht uneingeschränkt anwenden. Wendet man die Methode an, dann kann man erkennen, dass es im Bereich der Apertur zwischen den beiden Kompartimenten der Versuchskammer zu einer sehr starken Feldüberhöhung kommt. Dies resultiert daraus, dass in der Messkammer für die Messungen an den planaren Lipidmembranen zwei Volumina gefüllt mit einer Lösung hoher Leitfähigkeit (1 M KCl) durch ein Septum, welches eine niedrige Leitfähigkeit aufweist, getrennt werden. In diesem Septum befindet sich die Apertur als einzige Verbindung mit hoher Leitfähigkeit zwischen den beiden Kompartimenten. Das räumliche Auflösungsvermögen der FDTD-Methodik reicht jedoch nicht aus, um das Feld in der direkten Umgebung der nur wenige Nanaometer dicken Membran zu errechnen. Daher hat die Arbeitsgruppe von Prof. Hansen ein spezielles Hybridverfahren entwickelt [20]. Wird dieses Verfahren angewendet so ergeben sich elektrische Feldstärken von mehreren tausend V/m für das hochfrequente Feld in der direkten Umgebung der Membran. Diese Werte für die Feldstärke an der Membran wurden von der Arbeitsgruppe von Prof. Detlefsen aus München auch für die exakten Verhältnisse in unserer Messkammer errechnet [24]. Dies ist völlig unvergleichbar mit der Situation an der intakten Zelle. Hier sind die elektrischen Feldstärken an der Zelle um zwei Größenordnungen kleiner also unter 100 V/m. Daraus ergibt sich, dass ein Überschussstrom wie an der planaren Lipidmembran an der intakten Zelle nicht zu erwarten ist.

Zu 3. Wie kann man sich vorstellen, dass es unter der Einwirkung des hochfrequenten Feldes zur Entstehung des Überschussstromes in der planaren Lipidmembran kommt?

Es sind eine Reihe von Möglichkeiten denkbar:

- a) Das Einschalten des HF-Feldes führt zu geometrischen Veränderungen der planaren Lipidmembran in der Apertur. Die von uns eingesetzten Lipide waren in Dekan gelöst. Solche lösungsmittelhaltigen Membranen bestehen nicht nur aus einem bimolekularen Lipidfilm, sondern sie bilden am Rand, wo sie in Kontakt zum Material des Septums stehen, eine Wulst aus, den sogenannten Torus. Dieser Torus enthält ein Gemisch aus Lösungsmittel und Lipiden. Eine Vergrößerung der Fläche des bimolekularen Lipidfilms und eine Verkleinerung der Fläche des Torus hätte eine Vergrößerung der Kapazität zur Folge. Dies würde unter unseren Messbedingungen einen Ladestrom verursachen, der ganz ähnlich wie der beobachtete Strom aussehen könnte. Allerdings lassen nach Beobachtungen von Boheim und Mitarbeitern auch Überschussströme in Bilayer-Membranen ohne Torus auslösen. Die Experimente an diesen Lösungsmittel freien Membranen lassen eine solche Interpretation nicht mehr zu. Also scheint zumindest der wesentliche Anteil des  $I_{\text{exc}}$  auf Veränderungen innerhalb des Bilayers zurückzuführen zu sein.
- b) Eine andere Möglichkeit bestünde darin, dass es sich um eine Elektroporation handelt, also um den Effekt, dass man mit hohen elektrischen Feldern hydrophile Öffnungen in Membranen schlagen kann (Übersichtsartikel: [25]). Dies wäre denkbar, wenn man die großen elektrischen Feldstärken in der Nähe der Membran berücksichtigt. Reine Bilayermembranen zeigen einen elektrischen „Zusammenbruch“ (Durchschlag), wenn Spannungen von 150–500 mV für eine Dauer von Mikrosekunden bis Millisekunden darüber angelegt werden. Dieser Wert lässt sich unter Zugrundelegung einer Bilayerdicke von 5 nm in ein Feld von 300–1000 kV/cm umrechnen. Die errechneten Feldstärken im Bereich des Bilayers in unserer Versuchskammer sind ähnlich denen, die bei Elektroporation eingesetzt werden. Üblicherweise werden DC-Pulse und nicht oszillierende Signale zur

Elektroporation eingesetzt. Jedoch können auch oszillierende Felder diese Wirkung haben, wie Chang [26] mit Feldern zwischen wenigen kHz bis 1 MHz zeigte. Die notwendigen Feldstärken lagen im Bereich von 0,5 bis 5 kV/cm. Es gab eine klare Abhängigkeit in der Effizienz der Elektroporation von der Frequenz des eingesetzten Feldes. Frequenzen im Bereich von 10 kHz waren nicht effektiv bei 100 kHz gab es ein Frequenzoptimum und bei 1 MHz war die Effektivität wieder bei null. Bei den hohen Frequenzen nimmt das innerhalb der Membran induzierte Feld ab, dies könnte die von Chang [26] beobachtete Abnahme der Effektivität erklären. Die in unserer Studie eingesetzte Frequenz lag bei 900 MHz, also fast drei Zehnerpotenzen höher, weit oberhalb des von Chang [26] beschriebenen wirksamen Frequenzbereiches. Daher erscheint eine partielle Elektroporation unter unseren Bedingungen eher unwahrscheinlich.

- c) Es wäre denkbar, dass die eingestrahlte Energie zu einer lokalen Erwärmung der Bilayer-Membran führt. Eine solche Erwärmung könnte die beobachteten Effekte erklären. Um dieser Frage nachzugehen haben Eibert und Mitarbeiter entsprechende Berechnungen angestellt [20]. Nach diesen Berechnungen liegen die möglichen Temperaturveränderungen im Bereich von hundertstel von Grad Celsius. Dies ist viel zu wenig, um die beobachteten Einflüsse zu erklären.
- d) Eine wirkliche Klärung der Ursache für den  $I_{exc}$  ist an Hand der vorliegenden experimentellen Befunde und theoretischen Grundlagen noch nicht möglich. Die von der Arbeitsgruppe von Prof. Boheim favorisierte Hypothese besagt, dass ein Teil der Energie in den hydrophilen Kopfgruppen der Membranzmoleküle absorbiert wird, und dies zu einer erhöhten Molekülbeweglichkeit in diesem Bereich führen kann (Boheim 1999; persönl. Mitteilung). Unsere Experimente lassen diese Deutung zu, jedoch weisen sie nicht zwingend in diese Richtung.

Zu 4. Wieso sieht man keinen Überschussstrom, wenn man intakte Zellen untersucht?

Die Klärung dieser Frage ist relativ einfach. Man sieht keine Veränderung bei der Messung an intakten Zellen, weil die Feldstärke, die auf die Zellen in unseren Experimenten einwirkte viel geringer war als im Fall der Messungen an planaren Membranen. Die hohen Feldstärken an den planaren Membranen wurden nur durch den speziellen Aufbau, in der Messkammer erzielt – die Trennung zweier Kompartimente mit hoher Leitfähigkeit durch ein Septum mit niedriger Leitfähigkeit und einer Apertur in diesem Septum. Dies ist bei isolierten Zellen in Lösung nicht gegeben, und auch bei Zellen im Gewebe eher unwahrscheinlich. Daher ist eine Übertragung der Ergebnisse an den planaren Lipidmembranen auf die Situation im intakten Organismus nicht einfach gegeben.

Frühere Messungen der intrazellulären Kalziumkonzentration in Herzmuskelzellen unter schwächeren HF-Feldern bestätigen die Ergebnisse der Strommessungen; denn auch in diesen Untersuchungen wurde kein Einfluss der Felder auf die Herzmuskelzellen gefunden [27].

Die hier vorgestellten Untersuchungen wurden mit finanzieller Unterstützung der Forschungsgemeinschaft Funk, Bonn durchgeführt.

### Literatur

- [1] Bernhardt JH (1999): Gesundheitliche Aspekte des Mobilfunks. Dt Ärztebl 96, B648–B653.
- [2] Bawin SM, Kaczmarek LK, Adey WR (1975): Effects of modulated VHF fields on the central nervous system. Ann NY Acad Sci 247, 74–81.
- [3] Dutta SK, Subramoniam A, Ghosh B, Parshad R (1984): Microwave radiation-induced calcium ion efflux from human neuroblastoma cells in culture. Bioelectromagnetics 5, 71–78.
- [4] Dutta SK, Ghosh B, Blackman CF (1989): Radiofrequency radiation-induced calcium ion flux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture. Bioelectromagnetics 10, 197–202.

- [5] Schwartz JL, House DE, Mealing GAR (1990): Exposure of frog hearts to CW or amplitude modulated VHF fields: selective efflux of calcium ions at 16 Hz. *Bioelectromagnetics* 11, 349–358.
- [6] Blackman CF, Benane SG, Joines WT, Hollis MA, House DE (1980): Calcium-ion efflux from brain tissue: power-density vs. internal field-intensity dependencies at 50-MHz RF radiation. *Bioelectromagnetics* 1, 277–283.
- [7] Adey WR (1990): Electromagnetic fields and the essence of living systems. In Andersen JB (ed): „Modern Radio Science“. Oxford: Oxford University Press, 1–36.
- [8] Arber SL, Lin JC (1983): Microwave enhancement of membrane conductance in snail neurons: role of temperature. *Physiol Chem Phys Med NMR* 15, 259–260.
- [9] Lin, JC, Arber, SL (1983): Noise-modulated-microwave-induced response in snail neurons. *Physiol Chem Phys Med NMR* 15, 261–263.
- [10] Arber SL, Lin JC (1984): Microwave enhancement of membrane conductance: effects of EDTA, caffeine and tetracaine. *Physiol Chem Phys Med NMR* 16, 469–475.
- [11] Kullnick U (1992): Influence of weak non-thermic highfrequency electromagnetic fields on the resting potential of nerve cells. *Bioelectrochem Bioenerg* 27, 293–304.
- [12] Field, A.S., Ginsburg, K., Lin J.C. (1993): The effect of pulsed microwaves on passive electrical properties and interspike intervals of snail neurons. *Bioelectromagnetics* 14, 503–520.
- [13] Alekseev, SI, Ziskin, MC, Kochetkova, NV, Bolshakov, MA (1997): Millimeter waves thermally alter the firing rate of the *Lymnaea* pacemaker neuron. *Bioelectromagnetics* 18, 89–98.
- [14] Bernardi P, D’Inzeo G, Eusebi F, Tamburelli CC (1989): The patch-clamp technique in the study of electromagnetic field effects on biological structures. *Alta Frequenza* 58, 355–360.
- [15] Tarricone L, Cito C, D’Inzeo G (1993): ACh receptor channel’s interaction with MW fields. *Bioelectrochem Bioenergetics* 30, 275–285.
- [16] Klitzing v L, Janz N (1996): Wirkung gepulster Magnetfelder auf den  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom in Zellen. Tagungsband Med. Physik, Graz, 111–112. (Abstract)
- [17] Linz KW, Westphalen C v, Streckert J, Hansen V, Meyer R (1999): Membrane potential and membrane currents of isolated heart muscle cells exposed to pulsed high-frequency electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 20, 497–511.
- [18] Boheim GH, Meder S, Wienand A, Wrobel G, Hansen VW, Kammerer H, Wilczewski F (1997): High frequency electromagnetic fields can effect ion transport through lipid bilayer membranes. Abstract Book Second World Congress for Electricity and Magnetism in Biology and Medicine, Bologna, 30.
- [19] Boheim GH, Meder S, Wienand A, Wrobel G, Hansen VW (1998): Displacement current and permeation current effects of high frequency electromagnetic fields in planar lipid bilayer membranes. Abstract Book 20th Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, St. Pete Beach, 191.
- [20] Eibert TF, Alaydrus M, Wilczewski F, Hansen VW (1999): Electromagnetic and thermal analysis for lipid bilayer membranes exposed to RF fields. *IEEE Trans Biomed Engen* 46, 1013–1021
- [21] Stegemann M, Meyer R, Haas H-G, Robert-Nicoud M (1990): The cell surface of isolated cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*, 22, 787–803.
- [22] Achenbach F, Linz K, Detlefsen J, Helminger J, Meyer R (1998) The conductivity of lipid bilayer membranes can be modulated by pulsed radiofrequency fields. Abstract Book 20th BEMS-Meeting, St. Pete Beach, 132.
- [23] Linz KW, Achenbach F, Detlefsen J, Helminger J, Meyer R (1998) Changes in electrical characteristics of lipid bilayer membranes induced by pulsed radiofrequency fields. Abstract Book, 4th EBEA-Congress, Zagreb, 77.
- [24] Helminger J, Detlefsen J (1999) Wirkung von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf die elektrischen Eigenschaften von künstlichen Membranen mit und ohne eingelagerte Carrier und Kanäle. Abschlussbericht an die Forschungsgemeinschaft Funk.
- [25] Tsong TY (1991) Electroporation of cell membranes. *Biophys J*, 297–306.
- [26] Chang DC (1989) Cell poration and cell fusion using an oscillating electric field. *Biophys J* 56, 641–652.

- [27] Wolke S, Neibig U, Elsner R, Gollnick F, Meyer R (1996): Calcium homeostasis of isolated heart muscle cells exposed to pulsed high-frequency electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 17, 144–153.

# 7 ÜBER DEN EINFLUSS VON MAGNETISCHEN UND ELEKTRO-MAGNETISCHEN FELDERN AUF DIE MELATONINBILDUNG VON TIER UND MENSCH

**Lutz Vollrath**, Anatomisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

## Einleitung

Bei Untersuchungen, die sich mit athermischen Wirkungen hochfrequenter elektromagnetischer Felder auf biologische Systeme befassen, spielt die Zirbeldrüse mit dem von ihr produzierten Hormon Melatonin (MEL) eine zentrale Rolle. Vor etwa zwei Dezenen wurde nämlich gezeigt, dass die MEL-Bildung bei Labortieren durch magnetische und elektromagnetische Felder gehemmt werden kann (s. u.) und dass Patienten mit bestimmten Krebsarten erniedrigte MEL-Spiegel aufweisen [1], [2]. Aus diesen Befunden wurde geschlossen, dass zwischen einem erniedrigten MEL-Spiegel und Krebs ein Zusammenhang bestehen und Elektromog ein Verursacher von Krebs sein könnte. Das Ziel des vorliegenden Beitrags ist es nicht, das Problem von MEL und Krebs zu behandeln. Vielmehr soll gezeigt werden, welche Daten zur Frage des Einflusses von magnetischen sowie von niederfrequenten und hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf die Zirbeldrüse und die MEL-Bildung existieren.

## 1. Die Zirbeldrüse und ihre Funktion [3], [4], [5]

Die Zirbeldrüse liegt beim Menschen in der Mitte des Gehirns. Das von ihr gebildete Hormon wurde Melatonin genannt, weil es Melanin-Körnchen aggregiert und damit zu einer Aufhellung der Haut führt. Dieser bei niedrigeren Wirbeltieren nachweisbare Effekt existiert bei Säugern einschließlich Mensch jedoch nicht. Die MEL-Bildung ist nicht konstant. Tagsüber ist sie äußerst gering, nachts steigt sie stark an. Dieser Tag/Nacht-Rhythmus kommt dadurch zustande, dass die Zirbeldrüse über Nerven mit einer im Zwischenhirn gelegenen biologischen Uhr, einem circadianen (circa diem = ca. 1 Tag lang) Oszillator, in Verbindung steht und die Nerven unter dem Einfluss der Uhr tagsüber wenig, nachts dagegen viel Noradrenalin freisetzen. Noradrenalin setzt dann über einen komplizierten Mechanismus die Machinerie für die MEL-Synthese in Gang. Wichtig ist, dass die biologische Uhr – und damit auch die Zirbeldrüse – unter dem Einfluss der lichtempfindlichen Netzhaut des Au-

ges und damit des Hell/Dunkelrhythmus der Umwelt stehen. Vereinfachend kann gesagt werden, dass, je kürzer die Hellphasen sind, um so länger wird nachts MEL gebildet, und umgekehrt. Während kurzfristige Dunkelheit am Tage die MEL-Synthese nicht steigert, unterdrückt nachts gegebenes Licht die MEL-Bildung fast vollständig. Damit Licht in der Nacht die Melatoninbildung hemmen kann, muss bei Säugetieren die Verbindung von der Netzhaut zur Zirbeldrüse intakt sein.

Die funktionelle Bedeutung der rhythmischen MEL-Bildung ist nur teilweise klar. Für photoperiodische Tierpezies, d. h. solchen Tierarten, bei denen wichtige Lebensprozesse wie Fortpflanzung und Fellfärbung jahreszeitabhängig sind, gilt als eindeutig gesichert, dass die Zirbeldrüse diese Vorgänge über die Länge der nächtlichen MEL-Bildung steuert. Je nach Tierart kann MEL die Fortpflanzung hemmen bzw. in Gang setzen. Wichtig ist ferner, daß MEL auf die biologische Uhr im Gehirn zurückwirkt und damit die Biorhythmik des Organismus beeinflusst. Das vom Muttertier ausgehende MEL-Signal kann auch die Biorhythmik des Fetus (über die Plazenta) und des Neugeborenen (über die Muttermilch) regulieren. Auch beim Menschen wirkt MEL auf die biologische Uhr zurück und beeinflusst damit die circadiane Rhythmik des Körpers. Dies erklärt, warum Melatonin u. a. nach Transkontinentalflügen zur Milderung der Jetlag-Symptome eingesetzt wird. Ferner ist zweifelsfrei nachgewiesen worden, dass MEL ein Beruhigungsmittel ist, schlaffördernd wirkt und die Körpertemperatur senkt. Bei Blinden mit Schlafstörungen kann MEL den Schlaf/Wach-Rhythmus normalisieren.

## 2. Die Wirkung von magnetischen und elektromagnetischen Feldern auf die Zirbeldrüse

Erste Hinweise, dass die Säugerzirbeldrüse durch künstlich erzeugte Magnetfelder (MF) von Erdmagnetfeldstärke beeinflusst werden kann, ergaben sich in unserem Labor aus elektrophysiologischen Einzelzellableitungen. In Zirbeldrüsen von Meerschweinchen [6] und Ratten [7] konnten Zellen nachgewiesen werden, deren elektrische Aktivität durch die MF-Reize beeinflussbar war. Weiterhin wurde gezeigt, dass kurzfristige MF-Exposition bei Ratten und anderen Labortieren

## 7 Über den Einfluss von magnetischen und elektromagnetischen Feldern auf die Melatoninbildung von Tier und Mensch

### 3. Über den Einfluss von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf die Melatoninsynthese.....

mit Ausnahme von Goldhamstern und pigmentierten Rennmäusen die nächtliche MEL-Bildung unterdrückt [8], [9], [10], [11], [12]. Bei Ratten wurde die MEL-Bildung sogar unterdrückt, wenn die Horizontalkomponente des künstlich erzeugten MF lediglich um 5° verändert wurde [8]. Wichtig ist, dass das von uns verwendete Modell auch von anderen Arbeitsgruppen erfolgreich verwendet wurde [13], [14], [15], [16], [17], [18], [19], [29] und es bisher das einzige ist, mit dem sich MF-Einflüsse mit großer Regelmäßigkeit nachweisen lassen. Künstlich erzeugte Null-Magnetfelder führen zu keiner Änderung der MEL-Bildung [21]. Heute wissen wir, dass der primäre Angriffsort der Magnetfelder bei Säugern nicht die Zirbeldrüse selbst ist, sondern die Netzhaut des Auges [9], [22], [23]. Auch bei Wachteln ist eine Mitbeteiligung der Netzhaut nachgewiesen worden [13]. Allerdings gibt es auch einige Hinweise aus Reagenzglas-Untersuchungen, dass pulsierende MF die chemisch gesteigerte MEL-Synthese der Zirbeldrüse selbst hemmen [24], [25], [26]. Eine *direkte* MF-Empfindlichkeit ist für die Taubenzirbeldrüse nachgewiesen worden [15], bei der die MEL-Synthese ebenfalls gehemmt wird [27].

Unklar ist noch, wie die MF-Wirkung in vivo zustande kommt. Während zunächst diskutiert wurde, dass sie ausschließlich auf eddy currents beruht, die durch den plötzlichen Aufbau des Magnetfeldes im Gewebe entstehen [18], wurde später angenommen, dass eddy currents **und** MF-Änderungen erforderlich sind, um die MEL-Bildung zu hemmen [19].

Im Gegensatz zu den meist verwendeten schwachen statischen Magnetfeldern beeinflussen die bei Kernspinuntersuchungen verwendeten starken statischen Magnetfelder die Melatoninsekretion weder bei Tier [28] noch Mensch [29].

Während der Einfluss schwacher statischer Magnetfelder auf die Melatoninsekretion gesichert ist, sind die Ergebnisse nach Applikation von **pulsierenden** 50/60 Hz magnetischen und elektromagnetischen Feldern nicht einheitlich. Sehr häufig wurde über eine *Hemmung* der MEL-Sekretion berichtet [30], [31], [32], [33], [34], [35], [36], [37], [38], [39], [40]. Eine beträchtliche Anzahl von Studien konnte *keinen Effekt* nachweisen [41], [42], [43], [44], [45], [46].

*Variable Ergebnisse* innerhalb einer Studie gab es ebenfalls [47], [48], [49], [50]. Wenn jedoch ein Effekt zutage trat, war er immer hemmender Natur. Eine *Steigerung* der MEL-Synthese wurde tags bei Ratte [51] und nachts bei Bachforelle nachgewiesen [52]. Ein Anstieg des Noradrenalinpiegels in der Zirbeldrüse wurde von [53] beschrieben.

Unklar ist, warum die Ergebnisse bei der Anwendung von relativ langsam pulsierenden Feldern so unterschiedlich ausfallen. Dies mag auf die unterschiedliche Art der Befeldung, die verwendeten Tierspezies, geophysikalische Besonderheiten vor Ort, etc. zurückzuführen sein. Aber auch innerhalb eines Labors, in dem die Versuchsbedingungen relativ einheitlich waren, ließ sich ein hemmender Effekt auf MEL nur in 11 von 15 Versuchen nachweisen [50]. Immerhin zeigen aber diese und die obigen Ergebnisse, dass die Zirbeldrüse und die ihr vorgeschalteten Systeme prinzipiell auch auf 50/60 Hz-gepulste MF ansprechen können, dass aber die Feinheiten des Systems noch nicht klar erfasst sind. Insgesamt scheint ein schneller Aufbau des MF wirksamer zu sein als ein langsamer [18], [45], [39].

### 3. Über den Einfluss von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf die Melatoninsynthese

Im Hinblick auf die obigen Ergebnisse lag die Frage nahe, ob die MEL-Synthese der Zirbeldrüse durch hochfrequente elektromagnetische Felder, wie sie z. B. im Mobilfunk verwendet werden, beeinflusst werden kann. Unsere zu dieser Problematik an Labortieren durchgeführten Untersuchungen sind detailliert beschrieben worden [54]. In insgesamt 26 durchgeführten Einzelversuchen, bei denen un gepulste oder mit 217 Hz gepulste 900 MHz elektromagnetische Felder von 0,1–0,6 mW/cm<sup>2</sup> (was einer spezifischen Absorptionsrate von 0,06 bis 0,36 W/kg entspricht) über einen Zeitraum von 15 min bis 6 h appliziert wurden, fanden sich bei Versuchsende keine signifikanten Veränderungen der MEL-Sekretion.

Unsere Untersuchungen an Menschen weisen in dieselbe Richtung. In einer detaillierten Doppelblind-Studie an acht 20–30-jährigen männlichen Probanden,

die in jeweils 20 Sitzungen, gleichmäßig verteilt auf Tag und Nacht, jeweils 4 h in einer gegen von außen kommende elektromagnetische Wellen weitestgehend abgeschirmten Versuchskammer kontinuierlich befeldet (900 MHz, 217 Hz, 1 W/m<sup>2</sup>) oder scheinbefeldet wurden, fanden sich unmittelbar nach Versuchsende bzw. 24 h später keine Hinweise auf Veränderungen der MEL-, Cortisol-, Neopterin- und Immunglobulin A-Spiegel [55]. Gegenwärtig sind wir dabei, die Ergebnisse einer weiteren Studie auszuwerten, bei der männliche und weibliche Probanden unterschiedlicher Altersgruppen kontinuierlich bzw. diskontinuierlich befeldet wurden, um zu klären, ob ggf. das Alter und das Geschlecht der Versuchspersonen eine Rolle spielen.

Aufgrund der bisher von uns erzielten Ergebnisse sind wir der Meinung, dass die von uns verwendeten Befeldungsparameter keinen kurz- oder mittelfristigen Einfluss auf die MEL-Bildung und andere biologische Messgrößen haben.

Zu ähnlichen Ergebnissen sind auch Mann et al. [56] gekommen, die weder bei MEL noch bei Wachstums- und Luteinisierungshormon Veränderungen nachweisen konnten, mit Ausnahme von Cortisol, das 1 h nach Befeldungsbeginn leicht erhöht war.

## Diskussion und Zusammenfassung

Insgesamt sind wir der Meinung, dass es die bisher erzielten Ergebnisse rechtfertigen, anhand der Zirbeldrüse und des von ihr produzierten Hormons Melatonin nach Einflüssen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf den tierischen und menschlichen Organismus zu fahnden. Bei dieser Schlussfolgerung ist jedoch ein Trend zu berücksichtigen, den die hier dargestellten Ergebnisse andeuten: Während nicht-pulsierende oder intermittierende Magnetfelder regelmäßig einen suppressiven Effekt auf die Melatonsynthese haben, sind die Ergebnisse bei 50/60 Hz Feldern variabel und schwanken zwischen Hemmung und keinem Effekt. Demgegenüber konnten hochfrequente elektromagnetische Felder die Zirbeldrüse nicht beeinflussen. Möglicherweise existiert ein Fenster-Effekt für das breite elektromagnetische Spektrum, so dass die Zirbeldrüse und das ihr vorgeschaltete Sy-

stem eher für den Nachweis von Einflüssen niederfrequenter als hochfrequenter elektromagnetischer Felder geeignet sind.

Erschwerend wirkt sich bei der Interpretation der einschlägigen Ergebnisse aus, dass sie ein noch relativ junges und – verglichen mit anderen Disziplinen – sehr unterentwickeltes und noch nicht ausreichend fokussiertes Forschungsgebiet betreffen, auf dem relativ wenige Arbeitsgruppen tätig sind. Die geringe Fokussierung hängt damit zusammen, dass es ein äußerst breites Spektrum von magnetischen und elektromagnetischen Feldern gibt, die es auf ihre biologische Wirkungen hin zu untersuchen gilt, und systematische Untersuchungen rar sind. Weiterhin wirkt sich erschwerend aus, dass es noch kein allgemein anerkanntes wissenschaftliches Konzept für die Wirkung von magnetischen und elektromagnetischen Feldern auf zellulärer Ebene gibt und sich bisher noch kein biologisches in vivo oder in vitro Modell als Untersuchungssystem der Wahl durchgesetzt hat. Bei der Vielfalt der Felder und der Unterschiedlichkeit der biologischen Modelle ist dies aber möglicherweise auch noch nicht zu erwarten.

## Zitierte Literatur

- [1] Bartsch C, Bartsch H, Jain AK, Laumas KR, Wetterberg L (1981) Urinary melatonin levels in human breast cancer patients. *J Neural Transm* 52: 281–294.
- [2] Tamarkin L, Danforth D, Lichter A, DeMoss E, Cohen M, Chabner B, Lippman M (1982) Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science* 216: 1003–1005.
- [3] Vollrath L (1981) *The Pineal Organ*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- [4] Arendt J (1995) *Melatonin and the Mammalian Pineal Gland*, Chapman & Hall, London.
- [5] Korf HW, Schomerus C, Stehle JH (1998) The pineal organ, its hormone melatonin, and the photoneuroendocrine system. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 146: 1–100.
- [6] Semm P, Schneider T, Vollrath L (1980) Effects of an earth-strength magnetic field on electrical activity of pineal cells. *Nature* 288: 607–608.

- [7] Reuss S, Semm P, Vollrath L (1983) Different types of magnetically sensitive cells in the rat pineal gland. *Neurosci Lett* 40: 23–26.
- [8] Welker HA, Semm P, Willig RP, Commentz JC, Wiltshko W, Vollrath L (1983) Effects of an artificial magnetic field on serotonin N-acetyltransferase activity and melatonin content of the rat pineal gland. *Exp Brain Res* 50: 426–432.
- [9] Olcese J, Reuss S, Vollrath L (1985) Evidence for the involvement of the visual system in mediating magnetic field effects on pineal melatonin synthesis in the rat. *Brain Res* 333: 382–384.
- [10] Olcese J, Reuss S (1986) Magnetic field effects on pineal gland melatonin synthesis: comparative studies on albino and pigmented rodents. *Brain Res* 369: 365–368.
- [11] Reuss S, Olcese J (1986) Magnetic field effects on the rat pineal gland: role of retinal activation by light. *Neurosci Lett* 64: 97–101.
- [12] Stehle J, Reuss S, Schröder H, Henschel M, Vollrath L (1988) Magnetic field effects on pineal N-acetyltransferase activity and melatonin content in the gerbil – role of pigmentation and sex. *Physiol Behav* 44: 91–94.
- [13] Cremer Bartels G, Krause K, Küchle HJ (1983) Influence of low magnetic-field-strength variations on the retina and pineal gland of quail and humans. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 220: 248–252.
- [14] Cremer Bartels G, Krause K, Mitoskas G, Brodersen D (1984) Magnetic field of the earth as additional zeitgeber for endogenous rhythms? *Naturwissenschaften* 71: 567–574.
- [15] Demaine C, Semm P (1985) The avian pineal gland as an independent magnetic sensor. *Neurosci Lett* 62: 119–122.
- [16] Rudolph K, Wirz Justice A, Krauchi K, Feer H (1988) Static magnetic fields decrease nocturnal pineal cAMP in the rat. *Brain Res* 446: 159–160.
- [17] Lerchl A, Nonaka KO, Stokkan KA, Reiter RJ (1990) Marked rapid alterations in nocturnal pineal serotonin metabolism in mice and rats exposed to weak intermittent magnetic fields. *Biochem Biophys Res Commun* 169: 102–108.
- [18] Lerchl A, Nonaka KO, Reiter RJ (1991) Pineal gland „magnetosensitivity“ to static magnetic fields is a consequence of induced electric currents (eddy currents). *J Pineal Res* 10: 109–116.
- [19] Richardson BA, Yaga K, Reiter RJ, Hoover P (1993) Suppression of nocturnal pineal N-acetyltransferase activity and melatonin content by inverted magnetic fields and induced eddy currents. *Int J Neurosci* 69: 149–155.
- [20] Schneider T, Thalau HP, Semm P (1994) Effects of light or different earth-strength magnetic fields on the nocturnal melatonin concentration in a migratory bird. *Neurosci Lett* 168: 73–75.
- [21] Khoory R (1987) Compensation of the natural magnetic field does not alter N-acetyltransferase activity and melatonin content of rat pineal gland. *Neurosci Lett* 76: 215–220.
- [22] Olcese J, Reuss S, Stehle J, Steinlechner S, Vollrath L (1988) Responses of the mammalian retina to experimental alteration of the ambient magnetic field. *Brain Res* 448: 325–330.
- [23] Olcese J, Hurlbut E (1989) Comparative studies on the retinal dopamine response to altered magnetic fields in rodents. *Brain Res* 498: 145–148.
- [24] Lerchl A, Reiter RJ, Howes KA, Nonaka KO, Stokkan KA (1991) Evidence that extremely low frequency  $Ca^{2+}$ -cyclotron resonance depresses pineal melatonin synthesis in vitro. *Neurosci Lett* 124: 213–215.
- [25] Richardson BA, Yaga K, Reiter RJ, Morton DJ (1992) Pulsed static magnetic field effects on in vitro pineal indoleamine metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1137: 59–64.
- [26] Rosen LA, Barber I, Lyle DB (1998) A 0.5 G, 60 Hz magnetic field suppresses melatonin production in pinealocytes. *Bioelectromagnetics* 19: 123–127.
- [27] Reuss S, Semm P (1987) Effects of an earth-strength magnetic field on pineal melatonin synthesis in pigeons. *Naturwissenschaften* 74: 38–39.
- [28] Reuss S, Olcese J, Vollrath L, Skalej M, Meves M (1985) Lack of effect of NMRI-strength magnetic fields on rat pineal melatonin synthesis. *IRCS Med Sci* 13: 471.
- [29] Schiffman JS, Lasch HM, Rollag MD, Flanders AE, Brainard GC, Burk DL, Jr. (1994) Effect of MR imaging on the normal human pineal body: measurement of plasma melatonin levels. *J Magn Reson Imaging* 4: 7–11.

- [30] Wilson BW, Anderson LE, Hilton DI, Phillips RD (1981) Chronic exposure to 60-Hz electric fields: effects on pineal function in the rat. *Bioelectromagnetics* 2: 371–380.
- [31] Wilson BW, Chess EK, Anderson LE (1986) 60-Hz electric-field effects on pineal melatonin rhythms: time course for onset and recovery. *Bioelectromagnetics* 7: 239–242.
- [32] Kato M, Honma K, Shigemitsu T, Shiga Y (1993) Effects of exposure to a circularly polarized 50-Hz magnetic field on plasma and pineal melatonin levels in rats. *Bioelectromagnetics* 14: 97–106.
- [33] Grota LJ, Reiter RJ, Keng P, Michaelson S (1994) Electric field exposure alters serum melatonin but not pineal melatonin synthesis in male rats. *Bioelectromagnetics* 15: 427–437.
- [34] Löscher W, Wahnschaffe U, Mevissen M, Lerchl A, Stamm A (1994) Effects of weak alternating magnetic fields on nocturnal melatonin production and mammary carcinogenesis in rats. *Oncology* 51: 288–295.
- [35] Yellon SM (1994) Acute 60 Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. *J Pineal Res* 16: 136–144.
- [36] Kato M, Honma K, Shigemitsu T, Shiga Y (1994) Circularly polarized 50-Hz magnetic field exposure reduces pineal gland and blood melatonin concentrations of Long-Evans rats. *Neurosci Lett* 166: 59–62.
- [37] Kato M, Honma K, Shigemitsu T, Shiga Y (1994) Recovery of nocturnal melatonin concentration takes place within one week following cessation of 50 Hz circularly polarized magnetic field exposure for six weeks. *Bioelectromagnetics* 15: 489–492.
- [38] Selmaoui B, Touitou Y (1995) Sinusoidal 50-Hz magnetic fields depress rat pineal NAT activity and serum melatonin. Role of duration and intensity of exposure. *Life Sci* 57: 1351–1358.
- [39] Rogers WR, Reiter RJ, Smith HD, Barlow Walden L (1995) Rapid-onset/offset, variably scheduled 60 Hz electric and magnetic field exposure reduces nocturnal serum melatonin concentration in nonhuman primates. *Bioelectromagnetics Suppl* 3: 119–122.
- [40] Mevissen M, Lerchl A, Szamel M, Loscher W (1996) Exposure of DMBA-treated female rats in a 50-Hz, 50 microTesla magnetic field: effects on mammary tumor growth, melatonin levels, and T lymphocyte activation. *Carcinogenesis* 17: 903–910.
- [41] Lee JM, Jr., Stormshak F, Thompson JM, Thinesen P, Painter LJ, Olenchek EG, Hess DL, Forbes R, Foster DL (1993) Melatonin secretion and puberty in female lambs exposed to environmental electric and magnetic fields. *Biol Reprod* 49: 857–864.
- [42] Kato M, Honma K, Shigemitsu T, Shiga Y (1994) Horizontal or vertical 50-Hz, 1-microT magnetic fields have no effect on pineal gland or plasma melatonin concentration of albino rats. *Neurosci Lett* 168: 205–208.
- [43] Bakos J, Nagy N, Thuroczky G, Szabo LD (1995) Sinusoidal 50 Hz, 500 microT magnetic field has no acute effect on urinary 6-sulphatoxymelatonin in Wistar rats. *Bioelectromagnetics* 16: 377–380.
- [44] Lee JM, Jr., Stormshak F, Thompson JM, Hess DL, Foster DL (1995) Melatonin and puberty in female lambs exposed to EMF: a replicate study. *Bioelectromagnetics* 16: 119–123.
- [45] Rogers WR, Reiter RJ, Barlow Walden L, Smith HD, Orr JL (1995) Regularly scheduled, daytime, slow-onset 60 Hz electric and magnetic field exposure does not depress serum melatonin concentration in nonhuman primates. *Bioelectromagnetics Suppl* 3: 111–118.
- [46] Truong H, Yellon SM (1997) Effect of various acute 60 Hz magnetic field exposures on the nocturnal melatonin rise in the adult Djungarian hamster. *J Pineal Res* 22: 177–183.
- [47] Wilson BW, Wright CW, Morris JE, Buschbom RL, Brown DP, Miller DL, Sommers Flannigan R, Anderson LE (1990) Evidence for an effect of ELF electromagnetic fields on human pineal gland function. *J Pineal Res* 9: 259–269.
- [48] John TM, Liu GY, Brown GM (1998) 60 Hz magnetic field exposure and urinary 6-sulphatoxymelatonin levels in the rat. *Bioelectromagnetics* 19: 172–180.
- [49] Löscher W, Mevissen M, Lerchl A (1998) Exposure of female rats to a 100-microT 50 Hz magnetic field does not induce consistent changes in

- nocturnal levels of melatonin. *Radiat Res* 150: 557–567.
- [50] Reiter RJ, Tan DX, Poeggeler B, Kavet R (1998) Inconsistent suppression of nocturnal pineal melatonin synthesis and serum melatonin levels in rats exposed to pulsed DC magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 19: 318–329.
- [51] Jentsch A, Lehmann M, Schone E, Thoss F, Zimmermann G (1993) Weak magnetic fields change extinction of a conditioned reaction and daytime melatonin levels in the rat. *Neurosci Lett* 157: 79–82.
- [52] Lerchl A, Zachmann A, Ali MA, Reiter RJ (1998) The effects of pulsing magnetic fields on pineal melatonin synthesis in a teleost fish (brook trout, *Salvelinus fontinalis*). *Neurosci Lett* 256: 171–173.
- [53] Zecca L, Mantegazza C, Margonato V, Cerretelli P, Caniatti M, Piva F, Dondi D, Hagino N (1998) Biological effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats: III. 50 Hz electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 19: 57–66.
- [54] Vollrath L, Spessert R, Kratzsch T, Keiner M, Hollmann H (1997) No short-term effects of high-frequency electromagnetic fields on the mammalian pineal gland. *Bioelectromagnetics* 18: 376–387.
- [55] Radon K, Parera D, Rose D-M, Jung D, Vollrath L (1999) No effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on melatonin, cortisol and selected markers of the immune system in man. *Bioelectromagnetics*, submitted.
- [56] Mann K, Wagner P, Brunn G, Hassan F, Hiemke C, Röschke J (1998) Effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on the neuroendocrine system. *Neuroendocrinology* 67: 139–144.

## 8 UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNG HOCHFREQUENTER ELEKTROMAGNETISCHER FELDER AUF DSUNGARISCHE HAMSTER (PHODOPUS SUNGORUS)

**A. Lerchl<sup>1,3</sup>, H. Brendel<sup>1</sup>, J. Streckert<sup>2</sup>, A. Bitz<sup>2</sup>, V. Hansen<sup>2</sup>,** <sup>1</sup>Institut für Reproduktionsmedizin, Universität Münster, <sup>2</sup>Lehrstuhl für Theoretische Elektrotechnik, Universität Wuppertal, <sup>3</sup>Korrespondenzanschrift: Universität Karlsruhe, Institut für Zoologie II, Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe

### Einleitung

Der stetig anwachsende Gebrauch von Mobiltelefonen und anderer Erzeuger hochfrequenter elektromagnetischer Felder hat dazu geführt, dass in der Bevölkerung vermehrt Ängste über die Gefährlichkeit bzw. Ungefährlichkeit dieser Systeme aufgetreten sind. Abgesehen von der generellen Tendenz zur Technikfeindlichkeit in der Gesellschaft werden diese Ängste durch Studien geschürt, nach denen hochfrequente elektromagnetische Felder [1] bzw. niederfrequente Felder, z. B. 50 Hz [2], mit einer Erhöhung von Krankheitsrisiken einhergehen.

Ein generelles Problem insbesondere bei Studien zu hochfrequenten elektromagnetischen Feldern besteht darin, dass die absorbierte Energie entweder nicht genau berechnet werden kann, grob abgeschätzt wird, oder die exponierten Organismen mit einer sehr großen Variabilität exponiert werden. Die Abweichungen von einem gegebenen Mittelwert können z. B. dazu führen, dass in einem Tierexperiment einzelne Individuen sehr hohen spezifischen Absorptionsraten (SAR) ausgesetzt sind, während andere wiederum sehr geringe SAR-Werte aufweisen. Außerdem können sich unter besonders ungünstigen Umständen sogenannte „hot spots“ entwickeln, die zu thermischen Effekten führen [3].

Aus den genannten Gründen ist es daher geboten, die Expositionsparameter bzw. die SAR-Werte so konstant wie möglich zu halten. Diese Voraussetzung kann prinzipiell auf zwei Wegen erreicht werden: Entweder werden die Tiere räumlich fixiert („restraint animals“) oder es muss ein Expositionssystem zur Anwendung gebracht werden, das von vornherein eine größere Abweichung von dem angestrebten Mittelwert der SAR-Werte vermeidet. Eine Fixierung der Tiere wurde hier wegen der damit verbundenen Notwendigkeit, die Exposition auf kurze Zeiträume zu beschränken,

und um Stresseinflüsse zu vermeiden, verworfen. Mittels eines neu entwickelten Expositionssystems und eines gut etablierten Tiermodells, dem Dsungarischen Hamster, wurde in diesem Experiment untersucht, welche Auswirkungen hochfrequente elektromagnetische Felder der Frequenz 900 MHz bei Langzeit-Expositionen auf Körperfunktionen und die Synthese des Hormons Melatonin haben.

### Material und Methoden

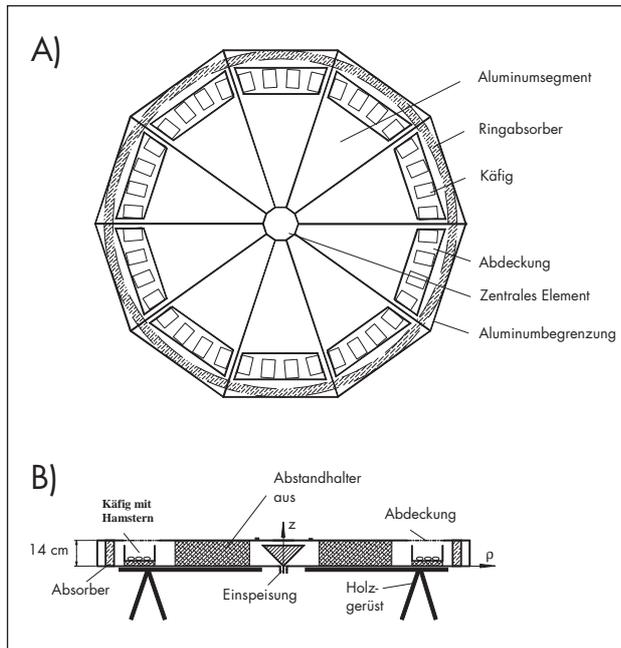
Das hier durchgeführte Experiment wurde von der entsprechenden Tierschutzkommission der Stadt Münster genehmigt. Erwachsene männliche Hamster aus unserer eigenen Zuchtkolonie [4] wurden randomisiert 2 Gruppen zugeordnet (jeweils 120 Tiere). Das durchschnittliche Gewicht bei Versuchsbeginn betrug ca. 50 g.

Die Exposition wurde in einem radialen Wellenleiter durchgeführt. Dieses System bot einerseits exzellente Expositionsbedingungen und andererseits eine einfache Versorgung und Zugang zu den Versuchstieren. Das Expositionssignal hatte eine Trägerfrequenz von 900 MHz mit einer typischen GSM-Modulation bei 2,1 Hz, 8,3 Hz, 217 Hz und 1733 Hz. Als mittlerer SAR-Wert wurde 80 mW/kg gewählt, während lokale SAR-Spitzen 2 W/kg nicht überschreiten sollten. Diese Maßgaben richteten sich nach den ICNIRP-Richtlinien [5].

Der scheibenförmige Wellenleiter hatte einen Durchmesser von 4,5 m und eine innere Höhe von 14 cm (Abb. 1). Zwei identische Anlagen wurden gebaut und verwendet. Dadurch wurde eine echte Scheinexponierung sichergestellt. In jede Anlage wurden 40 Makrolonkäfige mit jeweils 3 Hamstern gebracht. Die Hamster erhielten normales Standardfutter und Apfelstückchen als Wasserquelle. Diese Art der Versorgung mit Wasser ist für Dsungarische Hamster eine Standardmethode, die bereits in früheren Publikationen Erwähnung fand. Jedes der 10 Segmente eines Wellenleiters war durch eine Klappe zugänglich, die einerseits den Austausch von Atemgasen und den Durchtritt von Licht gewährleisteten, während der Austritt von elektromagnetischen Feldern sicher verhindert wurde. Am äußeren Rand der Wellenleiter befanden sich jeweils Absorber.

## 8 Untersuchungen zur Wirkung hochfrequenter elektromagnetischer Felder auf Dsungarische Hamster (*Phodopus sungorus*)

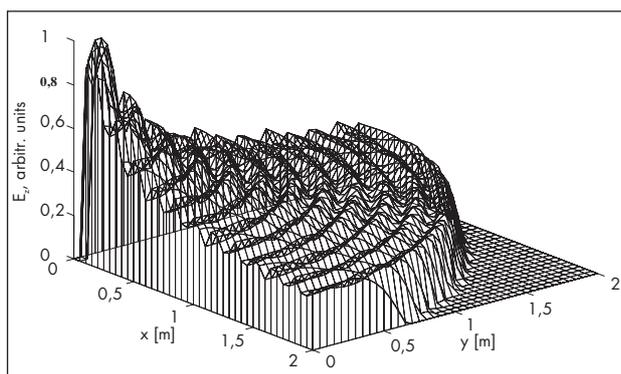
Material und Methoden



**Abb. 1: Aufbau des radialen Wellenleiters.**

**A) Aufsicht, B) Seitenansicht.**

Die elektrische Feldverteilung für einen 90°-Sektor eines leeren Wellenleiters ist in Abb. 2 gezeigt. Der Abfall der elektrischen Feldstärke folgt dem erwarteten Verlauf, während die Reflexionen durch die Absorber einen geringen Stehwellenanteil verursachen. Außer der fundamentalen TEM-Welle entstanden keine weiteren Wellen höherer Ordnung.



**Abb. 2: Verteilung der elektrischen Feldstärke in einem 90°-Segment eines leeren Wellenleiters.**

Zur Berechnung der SAR-Werte wurden verschiedene Methoden angewandt: Zur Berechnung der globalen Absorptionswerte innerhalb des Wellenleiters wurden Ellipsoide der Länge 7 cm und des Durchmessers 4 cm gewählt, die in etwa der Geometrie eines Hamsters entsprechen. Für die Berechnungen der SAR-Verteilun-

gen innerhalb eines Hamsters wurde ein wesentlich detaillierteres Modell verwendet. Ein 50 g schwerer Hamster wurde sofort nach der Applikation einer Überdosis  $\text{CO}_2$  einem NMR-Scan mit einer Schichtdicke von 1 mm unterzogen. Aus diesen Serienaufnahmen wurden manuell verschiedene Gewebetypen identifiziert und letztlich in einem räumlichen Verteilungsmuster berechnet. Dieses hatte eine räumliche Auflösung von  $1 \text{ mm}^3$ .

Wie in der Einleitung ausgeführt wurde, sollte eine Fixierung der Versuchstiere aus verschiedenen Gründen nicht erfolgen. Dieses freie Bewegen der Tiere hatte jedoch den Nachteil, dass sie gegenüber ihren Käfignachbarn verschiedene Positionen einnehmen konnten, die unterschiedliche Absorptionen des Hochfrequenz-Feldes nach sich ziehen. Um die Auswirkungen dieser verschiedenen Anordnungen abschätzen zu können, wurden die zu erwartenden SAR-Werte für verschiedene Szenarien berechnet. Unter Berücksichtigung aller Feldvariationen ergibt sich eine relativ geringe Abweichung vom mittleren SAR-Wert  $80 \text{ mW/kg}$  von etwa 30%. Dabei betrug die insgesamt eingestrahelte Leistung ca. 3 W (40 Käfige).

Für die genaue Verteilung der SAR-Werte innerhalb eines Hamsters wurde das detaillierte Modell herangezogen. Der maximal berechnete SAR-Wert beträgt bei der oben genannten Leistung, gemittelt über 1 g bzw. 10 g Körpermasse ca.  $181 \text{ mW/kg}$  bzw.  $105 \text{ mW/kg}$ . Damit sind diese Werte deutlich unter den ICNIRP-Richtlinien.

Der Versuch wurde in einem Hochbunker der Stadt Münster durchgeführt. Dieser Hochbunker wurde 1943 gebaut und hat 3 m dicke Betonwände. Diese Wände haben den großen Vorteil, dass weder innen erzeugte elektromagnetische Felder aus dem Bunker herausdringen noch Felder in den Bunker einstrahlen können. Tatsächlich ergaben Messungen, dass innerhalb des Bunkers keine relevanten magnetischen oder elektromagnetischen Felder gemessen werden konnten. Die Versorgung der Tiere mit Luft wurde durch das tägliche Durchspülen des Bunkers mit Außenluft sichergestellt. Die Temperatur betrug zwischen  $20^\circ\text{C}$  bei Beginn und  $24^\circ\text{C}$  beim Ende des Experiments. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug ca. 90%. Der Person, die das Experiment durchführte, war nicht bekannt, in

welcher der beiden Kammern die Exposition stattfand. Die gegenseitige Abschirmung der Kammern war besser als 75 dB, d. h. besser als 1:6000.

Die Tiere wurden 60 Tage und 24 Stunden am Tag exponiert. Alle 2 bis 3 Tage wurde das Körpergewicht aller Hamster bestimmt. Alle 10 Tage wurden 20 Tiere aus jeder Gruppe hemikastriert (Entfernung eines Hodens), um die Zellzahlen aus den Hoden zu bestimmen. Nach Ende der Exposition wurden die Tiere innerhalb einer Nacht getötet. Um zu verhindern, dass sie während dieser Zeit Licht ausgesetzt wurden, was zu einer Hemmung der Melatoninsynthese geführt hätte, wurde eine Nachtsichtbrille verwendet, die ausschließlich mit Infrarotstrahlen arbeitet. Die Tiere wurden in alternierender Reihenfolge getötet und das Blut gesammelt, während die Pinealorgane entfernt und sofort bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren wurden. Von den verbliebenen Hoden wurden kleine Gewebestückchen entnommen, um aus diesen wiederum den Gehalt an Zelltypen zu bestimmen.

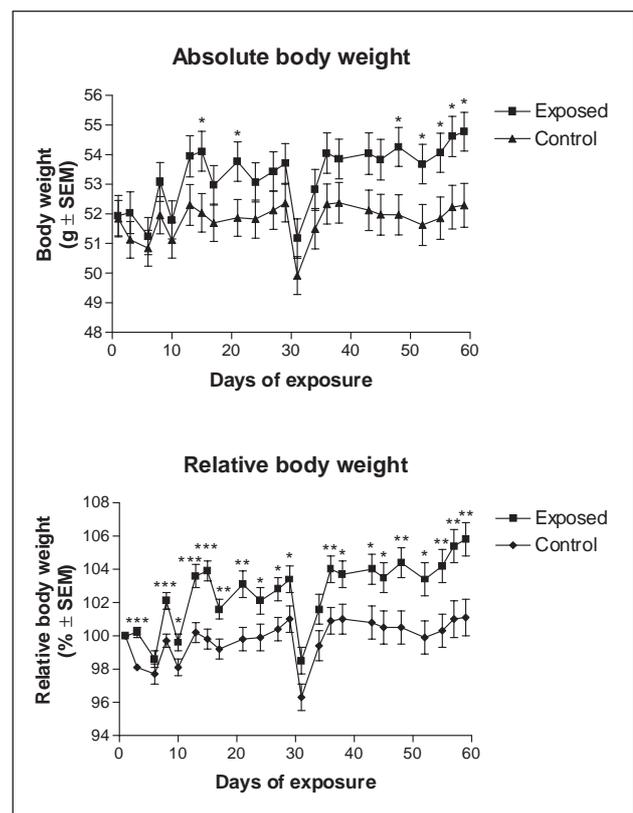
Die Bestimmung der Zelltypen erfolgte durch eine standardisierte flow-cytometrische Analyse [6]. Nach einer Färbung der DNA der Zellen durch einen spezifischen Farbstoff wurden diese einzeln in einem Flow-Cytometer auf ihre Fluoreszenz hin untersucht. Die Intensität der Fluoreszenz ist dem Gehalt an DNA proportional. Damit können die Zelltypen 2C (diploid), 4C (tetraploid), 1C (haploid) sowie 1CC (kondensiert haploid) identifiziert werden. Ausgehend von diesen Daten wurden außerdem die Verhältnisse 4C:2C und 1C:4C berechnet, um aus diesen einen Teilungsindex zu berechnen [7].

Melatonin wurde aus den Pinealorganen und den Seren der Versuchstiere durch einen etablierten Radioimmunoassay bestimmt [8]. Die Intraassayvariation war 12 %, während die Interassayvariationen 9 % (20 pg/ml), 4,5 % (60 pg/ml) und 6,5 % (100 pg/ml) betragen.

Die statistische Auswertung erfolgte durch varianzanalytische Verfahren. Die Melatoninkonzentrationen und die Organgewichte wurden durch zweiseitige t-Tests miteinander verglichen.

## Ergebnisse

Von anfänglich 120 Tieren pro Gruppe überlebten 103 exponierte und 100 scheinexponierte Hamster ( $\chi^2$ -Test:  $p > 0,05$ ). Die Entwicklung des Körpergewichts ist in Abb. 3 gezeigt. Nach einem anfänglichen Absinken des Körpergewichts um etwa 2 % verblieben die Körpergewichte der scheinexponierten Tiere in etwa bei dem Ausgangswert, während die exponierten Tiere eine signifikante Zunahme des Körpergewichts um etwa 6 % zeigten ( $p < 0,001$ ). Der Abfall des Körpergewichts am Versuchstag 31 ist vermutlich auf die an diesem Tag gleichzeitig stattfindende Reinigung der Käfige, Füttern sowie die Hemikastration und den damit verbundenen Stress zurückzuführen.



**Abb. 3: Entwicklung des Körpergewichts exponierter und scheinexponierter Hamster. \***  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . Insgesamt unterscheiden sich die Gruppen hochsignifikant (ANOVA:  $p < 0,001$ ).

Die Zunahme des Körpergewichts kann möglicherweise durch eine Verschiebung der Energieumsetzung bei den Tieren erklärt werden: Die Dsungarischen Hamster verbrauchen etwa 300 mW/Tier für die Wärmeproduktion (9). Da der mittlere SAR-Wert in un-

serem Experiment bei ca. 80 mW/kg lag, entspricht dies etwa 4 mW/Tier, also ca. 1,5 % der Energie, die normalerweise für die Wärmeproduktion aufgewandt werden muss. Bei Aufrechterhaltung einer konstanten Temperatur kann daher die aufgenommene Energie im Futter anders ausgenutzt werden, z.B. durch Anlegen von Fettpolstern bzw. Muskelmasse. Unterstützt wird diese Annahme durch eine neuere Publikation, die einen Zusammenhang zwischen der Energieumsetzung, der Körpertemperatur und dem Körpergewicht bei transgenen Mäusen aufgezeigt hat [10]. Alternativ können die Effekte, die in unserem Experiment beobachtet wurden, auf zentralnervöse Primäreffekte zurückzuführen sein.

Die Verteilung der Zelltypen innerhalb der Hoden über die Versuchsdauer ist in Abb. 4 dargestellt. Obwohl bei allen Zelltypen an einem oder mehreren Versuchstagen Unterschiede festgestellt wurden, ist insgesamt für keinen der Zelltypen ein signifikanter Trend zu beobachten. Ein anderes Bild ergibt sich bei Betrachtung des 4C:2C-Verhältnisses: Hier ist, bis auf Tag 20, an jedem Versuchstag eine erhöhte Zellteilungsrate festzustellen (ANOVA:  $p < 0,001$ ).

Die Melatoninkonzentrationen unterschieden sich zwischen exponierten und nicht exponierten Tieren nicht, weder im Pinealorgan noch im Serum. Weiterhin wurden keine Unterschiede hinsichtlich der Gewichte der folgenden Organe festgestellt: Niere, Gehirn, Leber, Hoden.

Der Anstieg der Proliferationsrate in den Hoden zeigt eine interessante Parallele zu den beobachteten höheren Wachstumsraten von Krebszellen *in vivo* [11]. Auch hier wird argumentiert, dass ein vermehrtes Wachstum von entartetem Gewebe durch eine erhöhte Proliferationsrate verursacht wird. Da Hoden eine extrem hohe Proliferationsrate aufweisen, ist dieses Organ möglicherweise gut geeignet, um weitere Studien zur Beeinflussung der Zellteilung durchzuführen.

Auswirkungen der Exposition zu hochfrequenten elektromagnetischen Feldern haben in unserem Experiment keine Auswirkung auf die Synthese von Melatonin gezeigt. Dieser Befund ist in guter Übereinstimmung mit früheren Studien an Hamstern und Menschen [12] trotz einiger experimenteller Abweichungen. In dem von uns durchgeführten Experiment konnte allerdings zum ersten Mal gezeigt werden, dass

auch die zirkulierenden Werte von Melatonin nicht beeinflusst werden. Da diese Melatonin-Konzentrationen wichtiger sind als die Pineal-Konzentrationen [13], ist dieser Befund von besonderer Relevanz.

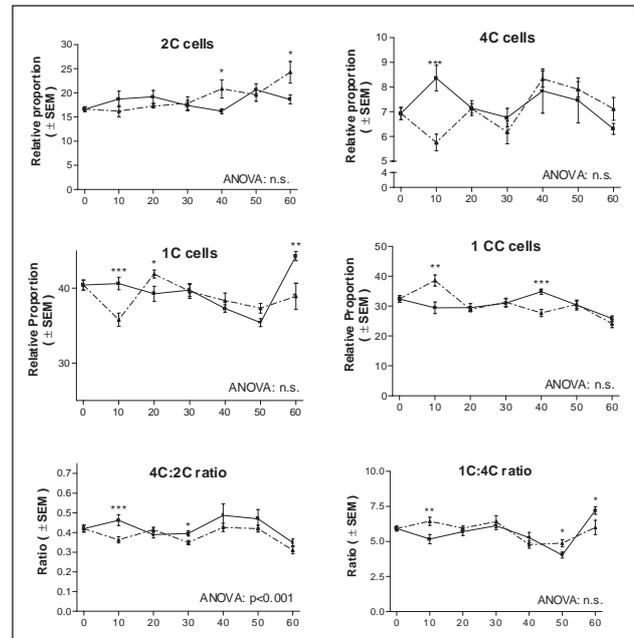


Abb. 4: Verlauf der Zellzahlen in den Hoden exponierter und scheinexponierter Tiere. (gestrichelte Linie: Kontrolle; durchgezogene Linie: Exponiert).

## Diskussion

Das Expositions-System gestattet eine homogene Exposition einer hohen Zahl kleiner Versuchstiere. Diese Tiere können sich innerhalb ihrer Käfige frei bewegen. Dieses System ist einer räumlichen Fixierung von Versuchstieren vorzuziehen.

Das verwendete Tiermodell des Dsungarischen Hamsters hat ebenfalls Vorzüge: Diese Tiere sind an ein semi-arides Klima adaptiert, sodass die Körpergröße, die Behaarung usw. diesem extremen Klima angepasst wurden. Daher erklärt sich auch das Fehlen des Schwanzes. Weiterhin ist die Versorgung der Tiere mit Apfelstückchen eine Besonderheit, die im Gegensatz zum Einbringen von Wasserflaschen etc. keine zusätzliche Feldstörung bewirkt.

## Danksagungen

Die Studie wurde durch die Forschungsgemeinschaft Funk, Bonn, unterstützt. Wir danken Prof. Dr. med. Nieschlag, Direktor des Instituts für Reproduktionsmedizin, Münster. Weiterhin bedanken wir uns bei Prof. Dr. rer. nat. G. Heldmaier, Universität Marburg, für wertvolle Diskussionen, sowie Elke Kösser und Tanja Plagemann für die technische Unterstützung.

## Literatur

- [1] M. H. Repacholi, A. Basten, V. Gebiski, D. Nonan, J. Finnie and A. W. Harris, Lymphomas in  $\mu$ -Pim1 transgenic mice exposed to pulsed 900 Mhz electromagnetic fields. *Radiat. Res.* 147, 631–640 (1997).
- [2] M. Mevissen, M. Häussler, A. Lerchl and W. Löscher, Acceleration of mammary tumorigenesis by exposure of 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-treated female rats in a 50 Hz, 100  $\mu$ T magnetic field: replication study. *J. Toxicol. Environ. Health* 53, 401–418 (1998).
- [3] C. K. Chou, H. Bassen, J. Osepchuk, Q. Balzano, R. Petersen, M. Meltz, R. Cleveland, J. C. Lin and L. Heynick, Radio frequency electromagnetic exposure: tutorial review on experimental dosimetry. *Bioelectromagnetics* 17, 195–208 (1996).
- [4] A. Lerchl, Breeding of Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*): influence of parity and litter size on weaning success and offspring sex ratio. *Lab. Anim.* 29, 172–176 (1995).
- [5] ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection), Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). *Health. Phys.* 74, 494–522 (1998).
- [6] A. Lerchl, S. Sotiriadou, H. M. Behre, J. Pierce, G. F. Weinbauer, S. Kliesch and E. Nieschlag, Restoration of spermatogenesis by follicle-stimulating hormone despite low intratesticular testosterone in photoinhibited hypogonadotropic Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Biol. Reprod.* 49, 1108–1116 (1993).
- [7] H. Krishnamurthy, G. C. Jagetia and P. Jyothi, Radioprotective effect of zinc aspartate on mouse spermatogenesis: a flow cytometric evaluation. *Mutat. Res.* 401, 111–120 (1998).
- [8] A. Lerchl and S. Schlatt, Serotonin content and melatonin production in the pineal gland of the male Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *J. Pineal Res.* 12, 128–134 (1992).
- [9] G. Heldmaier and S. Steinlechner, Seasonal control of energy requirements for thermoregulation in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*), living in natural photoperiod. *J. Comp. Physiol. B.* 142, 429–437 (1981).
- [10] S. Klaus, H. Munzberg, C. Truloff and G. Heldmaier, Physiology of transgenic mice with brown fat ablation: obesity is due to lowered body temperature. *Am. J. Physiol.* 274, R287–293 (1998).
- [11] W. Löscher, M. Mevissen and A. Lerchl, Exposure of female rats to a 100  $\mu$ T 50 Hz magnetic field does not induce consistent changes in nocturnal levels of melatonin. *Radiat. Res.* 150, 557–567 (1998).
- [12] L. Vollrath, R. Spessert, T. Kratzsch, M. Keiner and H. Hollmann, No short-term effects of high-frequency electromagnetic fields on the mammalian pineal gland. *Bioelectromagnetics* 18, 376–387 (1997).
- [13] B. Poeggeler, S. Saarela, R. J. Reiter, D. X. Tan, L. D. Chen, L. C. Manchester and L. R. Barlow-Walden, Melatonin – a highly potent endogenous radical scavenger and electron donor: new aspects of the oxidation chemistry of this indole accessed in vitro. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 738, 419–420 (1994).

## 9 HOCHFREQUENTE ELEKTROMAGNETISCHE FELDER (1,8 GHZ) ERHÖHEN DIE <sup>14</sup>C-SACCHAROSE-PERMEABILITÄT DER BLUT-HIRNSCHRANKE IN VITRO

**Florian Stögbauer, Johannes Goeke\*, Stefan Fischer\* und Silke Winters, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universität Münster\* Fachbereich Versorgungstechnik, Fachhochschule Köln, Germany**

### Einleitung

In den vergangenen Jahren sind potentiell schädigende Effekte elektromagnetischer Felder (EMF) unterschiedlicher Frequenz und Leistung auf biologische Systeme kontrovers diskutiert worden [1], [2], [3], [4]. Es wurden zahlreiche Studien über den Einfluss von niederfrequenten und auch hochfrequenten EMF mit dem Schwerpunkt auf in vivo-Experimenten durchgeführt [5], [6], [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13]. Diese haben in der Regel zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt, die darin begründet sind, dass (i) in vivo Experimente nur schwer reproduzierbar und unter exakt definierten Bedingungen durchzuführen sind [14], [15], (ii) Ergebnisse von in vivo-Untersuchungen schwer zu interpretieren sind, weil Effekte wie Dosisabhängigkeit nicht leicht abgedeckt werden können [16], [11], [17], und (iii) in vivo-Experimente keine Analyse der pathophysiologischen Mechanismen auf grundlegender zellulärer Ebene gewährleisten. Tatsächlich weisen die Ergebnisse von in vivo-Studien mit Ratten darauf hin, dass hochfrequente Mikrowellen sich auf die Permeabilität des Gehirngewebes auswirken [5] und den Zustrom von Albumin durch die Bluthirnschranke (BBB) erhöhen [9]. Andererseits fanden Williams et al. [6] keine Änderung der Permeabilität für hydrophile Moleküle in vivo.

Wir haben aus diesen Gründen ein Zellkulturmodell der BBB etabliert. Eines der zentralen Merkmale der BBB ist die Aufrechterhaltung der Homöostase, z. B. der Schutz des Gehirns vor wechselnder Zusammensetzung des Blutes und ein definierter, gerichteter Transport der gelösten Stoffe vom Blut zum Gehirn und umgekehrt [18]. Die BBB wird im wesentlichen von spezialisierten Endothelzellen der Gehirnkapillaren (BCEC), die komplexe *tight junctions* untereinander bilden und ein hochspezifiziertes Transportsystem aufweisen, gebildet. Das enge ununterbrochene Netz von Kapillarendothelzellen verhindert einen parazellulären Flux hydrophiler Substanzen und kontrolliert somit die passive Diffusion vom Blut zur neuronalen

Umgebung [19]. Die Induktion und Aufrechterhaltung des BBB-Phänotyps wird durch Astrozyten [20], [21] und die neuroectodermale Umgebung während der Gefäßbildung im Gehirn beeinflusst [18]. Die Astrozyten befinden sich außerhalb der Kapillaren angesiedelt dem Gehirn zugewandt und haben direkten Kontakt zu den BCEC. Sie bedecken die Kapillaren mit ihren Endfüßchen und bilden die *membrana glia limitans perivascularis*. Diese Interaktion ist vermutlich eine Grundvoraussetzung für die Differenzierung von BCEC zum spezialisierten BBB-Phänotyp. Ziel unserer Untersuchung war es, die Wirkung von hochfrequenten EMF auf die Permeabilität der BBB in einem Zellkulturmodell zu evaluieren. Wir wählten Mikrowellen aus, die nach dem GSM1800-Standard moduliert waren, der auch in Mobiltelefonen Verwendung findet.

### Methoden

#### Zellkulturen

Astrozyten wurden aus neonatalem Rattengehirn mittels der von McCarthy und De Vellis (1980) [22] beschriebenen und davon nur leicht modifizierten Methode isoliert. Kapillarendothelzellen (BCEC) wurden adulten Schweinegroßhirnrinden nach der Methode von Tewes et al. (1996) [23] entnommen. Die Astrozyten (50.000 Zellen/cm<sup>2</sup>) wurden auf der oberen Seite einer kollagenbeschichteten Polycarbonatmembran bis zur Konfluenz kultiviert. Nach drei Wochen wurden die Endothelzellen (500.000 Zellen/cm<sup>2</sup>) auf die gegenüberliegende Seite der Membran ausgesetzt. Die Kokultur wurde vor Beginn der Expositionsexperimente 10 Tage lang kultiviert.

#### Immunzytochemie und Rasterelektronenmikroskopie

Die immunzytochemischen Färbungen sowie die Rasterelektronenmikroskopie wurden nach Standardmethoden durchgeführt. Als Markerantikörper für Endothelzellen dienten anti-ZO-1 (*zona occludens*) und anti-v. Willebrand Faktor VIII, für Astrozyten anti-Connexin 43 und anti-GFAP (saures Gliafibrillenprotein; *glial fibrillary acid protein*).

#### Permeabilitätsmessungen

Der Fluss von Sucrose durch die Polycarbonatmembran wurde durch die Gabe von <sup>14</sup>C-markierter Sucro-

se an der endothelialen Seite der Kokulturen und Messung der durch die Membran getretenen Menge an Radioaktivität quantifiziert. Wir benutzten einen Szintillationszähler, um die Höhe der Radioaktivität ( $N_i$ ) zu messen, die sich an der Astrozytenseite der Membran nach einer festgesetzten Zeit  $t$  akkumuliert hatte. Bezogen auf die Fläche  $F$  ( $0,47 \text{ cm}^2$ ) der Membran und die initiale Konzentration  $N_0/V$  der Radioaktivität auf der endothelialen Seite entspricht dies der Formel

$$N_i = P \frac{N_0}{V} Ft$$

Die Werte wurden durch die Berechnung des effektiven Permeabilitäts-Koeffizienten  $P$  ausgedrückt, um Vergleiche mit anderen Studien [19] zu erlauben. Der Permeabilitäts-Koeffizient charakterisiert die Kokultur und ist unabhängig von der Wahl der Parameter wie  $F$  oder  $N_0$  [19]. Somit kann  $P$  ausgedrückt werden als

$$P = \frac{N_i}{N_0} \frac{V}{Ft}$$

Um die Gradientenkonzentration über die Membran konstant zu halten, mußte  $t$  klein genug gewählt werden um sicherzugehen, dass nur eine kleine Fraktion der Tracermoleküle die Membran passieren konnte. Für jede Kultur wurden 6 Messungen des  $N_i$ -Wertes durchgeführt, indem die Inserts in Intervallen von 5 Min. von einer Vertiefung zur nächsten transferiert wurden. Die Permeabilität der Kokulturen wurde nach 0, 2 und 4 Tagen Exposition bestimmt. Die Unterscheidung zwischen Probe und Kontrollgruppe ist somit auf den Tag 0 festgesetzt worden.

### EMF-Exposition

Die Proben wurden elektromagnetischen Feldern mit einer rechtwinkligen Wellenführung RG22 ausgesetzt, die in den Inkubator eingebaut wurde (Abb. 1). Die Frequenz und die Modulation der Mikrowellen wurde in Übereinstimmung mit dem GSM1800-Standard gewählt. Die Dauer des Pulses betrug  $0,577 \text{ msec}$ . Als Bestrahlungsquelle diente ein HP8614 Wellengenerator. Acht Proben wurden jeweils an einer genau definierten Stelle innerhalb der Wellenführung platziert. Die spezifische Absorptionsrate (SAR) dieser Proben erhielten wir durch eine numerische Berechnung der Feldverteilung basierend auf der Finite Difference Time Domain Methode (FDTD) [24]. Die Berechnungen wurden durch den Vergleich der entsprechenden

Reflektions- und Transmissionswerte der Wellenführung mit den gemessenen Werten verifiziert. Sie wurden dazu benutzt, die Beziehung zwischen der Feldverteilung innerhalb der Wellenführung und der Mikrowellenleistung, die durch dieses Feld hindurchtrat zu bestimmen. Somit konnten die SAR-Werte durch die Messung der durchgetretenen Mikrowellenleistung bestimmt werden. Die Betriebsbedingungen wurden so gewählt, dass die SAR-Werte im Mittel  $0,3 \text{ W/kg}$  betragen mit einem absoluten Höchstwert von  $0,46 \text{ W/kg}$ . Als Kontrolle wurden nicht exponierte Proben in einer zweiten Expositionsanlage in einem anderen Inkubator platziert. Die Proben wurden über vier Tage exponiert. Die SAR-Werte von  $0,3 \text{ W/kg}$  liegen innerhalb des ANSI C95.1 spezifizierten Bereichs und des DIN VDE848 Standards, sodass die Strahlungsbedingungen als nichtthermisch angesehen werden können. Um diese Annahme verifizieren zu können, haben wir wiederholt die Temperatur der individuellen Proben mit und ohne Mikrowellenbestrahlung gemessen. Es konnte keine signifikante Temperaturerhöhung bei einer Messempfindlichkeit von  $0,1^\circ\text{C}$  festgestellt werden.

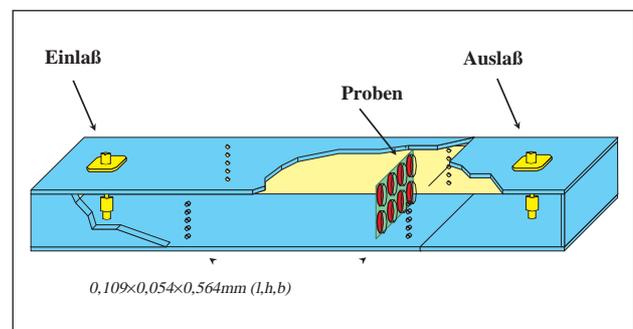


Abb. 1: Schema der Expositionsapparatur und Position der zu untersuchenden Proben.

## Ergebnisse

### Morphologische Eigenschaften

Die oben beschriebene BCEC Isolierung führte initial zu einer Suspension von Mikrokapillarfragmenten. Nach einem Tag in Kultur konnte beobachtet werden, dass BCEC aus den Kapillaren herauswuchsen und kleine Inseln bildeten. Diese Kolonien wuchsen innerhalb von drei Tagen in Kultur zu konfluenten Einzelschichten. Die Färbung mit anti-v. Willebrand Faktor VIII zeigte die Reinheit der BCEC (Abb. 2 A). Die Aus-

bildung von *tight junctions* wurde durch Anfärbung von *Zona occludens* Protein ZO-1 an den Zellgrenzen nachgewiesen (Abb. 2B). Die Astrozyten wurden durch den Nachweis der Expression von GFAP, einem für Astrozyten spezifischen intermediären Filamentprotein charakterisiert. Die Anwesenheit kontaminierender, neuronaler Zellen wurde durch die GFAP-Färbung ausgeschlossen (Abb. 2C). *Gap junctions* zwischen benachbarten Astrozyten wurden durch Connexin 43-Antikörper identifiziert (Abb. 2D).

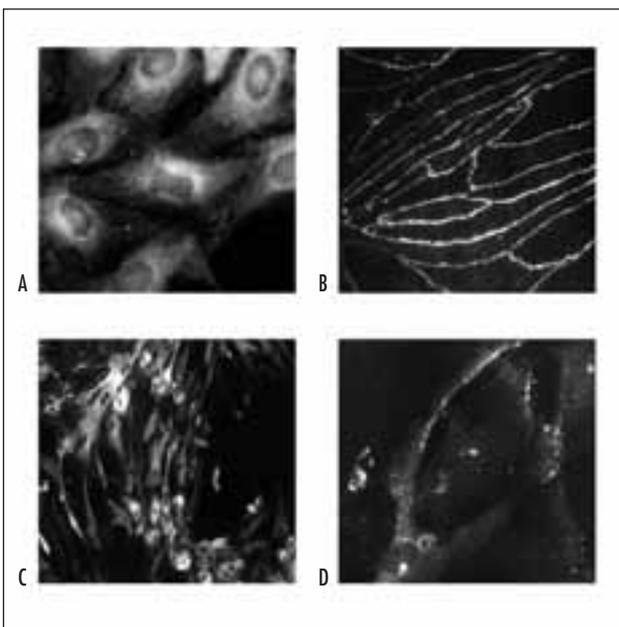


Abb. 2: Primärkulturen von Astrozyten und BVEC.

Die Rasterelektronenmikroskopie der Kokulturen zeigten, dass sowohl Astrozyten als auch BVEC in der Kokultur den typischen BBB-Phänotyp ausbildeten. Typische Merkmale der Astrozyten waren die Ausbildung von Multilayern und Zellfortsätzen (Abb. 3A und 3B). Die BVEC wuchsen in kontinuierlichen und dichten Monolayern (Abb. 3C und 3D).

### Permeabilitätsmessungen

Da die BBB keinen spezifischen Transportmechanismus für Saccharose besitzt, kann ein passiver Flux als Grund für transendotheliale Durchlässigkeit angenommen werden [25]. Abb. 4 zeigt die Ergebnisse von <sup>14</sup>C-Saccharose Permeabilitätsmessungen über 5 Tage an 16 bestrahlten Proben und 9 unbestrahlten Kontrollen. Die erreichten Permeabilitätsfaktoren stimmten gut mit den Referenzwerten zwischen  $1,4 \cdot 10^{-5}$  cm/sek und  $4,2 \cdot 10^{-5}$  cm/sek überein [25]. Vier Tage später

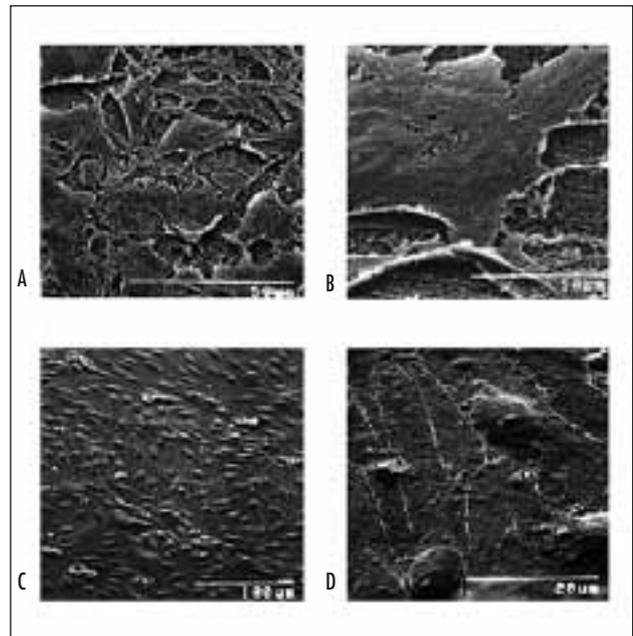


Abb. 3: Rasterelektronenmikroskopie der Kokulturen.

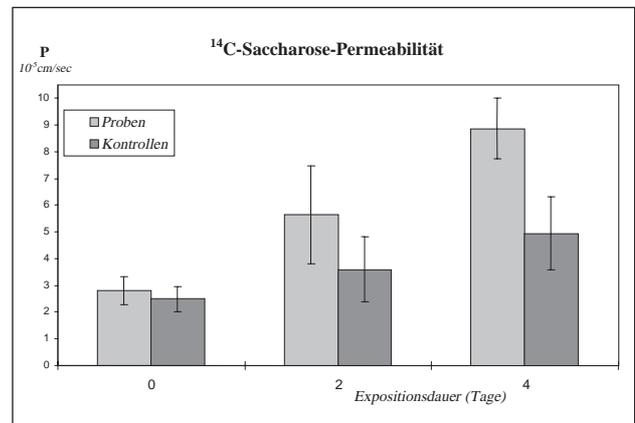


Abb. 4: Permeabilität der Kokulturen für <sup>14</sup>C-Saccharose.

war die Permeabilität von bestrahlten Proben etwa doppelt so hoch wie die der Kontrollen. Die Permeabilität von bestrahlten Proben stieg während der Beobachtungszeit schneller an. Die in Abb. 4 gezeigten Werte repräsentieren Durchschnittswerte der rohen Daten. Die Fehlerbalken indizieren die empirische Standardabweichung. Für die statistische Analyse wurde der nichtparametrische Mann-Whitney U-Test angewandt. Er zeigte, dass signifikante oder hochsignifikante Unterschiede zwischen Proben und Kontrollen nach 2 Tagen Bestrahlung ( $p=0,002$ ) und nach 4 Tagen Bestrahlung ( $p<0,001$ ) bestanden, jedoch nicht vor der Bestrahlung ( $p=0,36$ ).

## Diskussion

Die jüngsten Studien über den Einfluss von EMF auf biologische Systeme konzentrierten sich auf in vivo Untersuchungen. Um Probleme zu umgehen, die spezifisch für diese Studien waren, entwickelten wir ein in vitro Zellkulturmodell der Bluthirnschranke aus Endothelzellen von Schweinehirnkapillaren und Astrozyten von neugeborenen Ratten. Da Astrozyten offensichtlich die Bildung von *tight junction* Formationen in Endothelzellen induzieren und für deren Aufrechterhaltung verantwortlich sind [20], [26], [21], [27], verwendeten wir diese Zellen, um die Barriereeigenschaft in kultivierten BCEC zu erhalten. Für diesen Zweck wurde auch der Einsatz eines Astroglia-konditionierten Mediums in einem BCEC Monokultur-Modell vorgeschlagen [28], [29]. Wir haben jedoch Kokulturen bevorzugt, da die Beschaffenheit der Zell-Zell Interaktion bis heute nicht ganz geklärt ist [21]. BCEC-Kulturen in serum-freiem Medium könnten eine mögliche Alternative für zukünftige Arbeiten sein [30].

Wir zeigten zunächst die physiologische Relevanz und Gültigkeit unseres Modells, indem wir es morphologisch, immunozytochemisch und physiologisch charakterisierten. Dabei konnten wir zeigen, dass es die entscheidenden Eigenschaften der BBB in allen Bereichen reflektierte. Die Homogenität der Zelltypen, der enge Kontakt der Zellen sowie die Präsenz von typischen Zellmarkerproteinen zusammen mit der Ausbildung von *tight junctions* belegten den BBB Phänotyp unseres Modells. Die Fähigkeit, Homöostase aufrecht zu erhalten, entspricht der niedrigen Permeabilität für hydrophile Moleküle. Insbesondere stimmt die Permeabilität unserer Kokulturen gut mit akzeptierten Literaturdaten überein [19], [25], [15].

Wir folgern somit, dass das etablierte Zellkulturmodell geeignet ist, den Einfluss von EMF auf die BBB zu untersuchen. Da kein spezifischer Transportmechanismus für Saccharose bekannt ist, das Molekül hydrophil ist und ein niedriges Molekulargewicht besitzt, kann die Durchlässigkeit auf einen parazellulären Flux zurückgeführt werden [25], [15]. Deswegen sehen wir die Saccharose-Permeabilität als sensitiven Indikator für die Intaktheit von *tight junction* Formationen oder zelluläre Beschädigung an. Unsere Ergebnisse zeigten einen signifikanten Anstieg der Permeabilität

unter EMF-Bestrahlung. Innerhalb von 4 Tagen erhöhte sich die Permeabilität der bestrahlten Proben um den Faktor 3, wobei die Kontrollwerte nur leicht anstiegen. Wir schließen thermische Effekte als Mechanismus der beobachteten Veränderungen aus, da die Bestrahlungsbedingungen nichtthermisch sind.

Schlussfolgernd berichten wir erstmalig über einen definitiven und reproduzierbaren Effekt von Mikrowellenbestrahlung auf die physiologischen Eigenschaften der BBB in vitro. Diese Daten sind in Übereinstimmung mit Ergebnissen aus in-vivo Experimenten von Salfort et al. (1993) [9]. Zukünftige Experimente werden sich auf die grundlegenden zellulären Mechanismen der beobachteten Effekte konzentrieren. Wir wenden momentan Methoden an, um den transendothelien elektrischen Widerstand (TER) zu messen, um unser Modell weitergehend physiologisch zu charakterisieren [31], [32]. Solche Messungen können wesentlich schneller ausgeführt werden als die Permeabilitätsmessungen und sollten uns ermöglichen, die Dynamik der Interaktion von EMF und BBB physiologisch zu untersuchen.

## Literatur

- [1] Kaiser J (1996): Panel finds EMFs pose no threat. *Science* 274:910.
- [2] Dulce HJ (1997): Discussion of Test Results, Risks and Compatibility of High-Frequency Electromagnetic Fields from a Medical Point of View. In: Brinkmann K, Friedrich G (eds.): „Electromagnetic Compatibility of Biological Systems“. Berlin: VDE Verlag, pp. 245–253.
- [3] Meyer R, Wolke S, Gollnik F, von Westphalen C, Linz KW (1997): The Influence of High-Frequency Electromagnetic Fields of Mobile Communication on the Calcium-Homeostasis of Excitable and Non-Excitable Cells. In Brinkmann K, Friedrich G (eds.): „Electromagnetic Compatibility of Biological Systems“. Berlin: VDE-Verlag, pp. 205–243.
- [4] Braune S, Wrocklage C, Raczek J, Gailus T, Lücking CH (1998): Resting blood pressure increase during exposure to a radio-frequency electromagnetic field. *Lancet* 351:1857–1858.

- [5] Oscar KJ, Hawkins TD (1977): Microwave alteration of the blood brain barrier system of rats. *Brain Res* 126:281–293.
- [6] Williams WM, Platner J, Michaelson SM (1984): Effect of 2450 MHz microwave energy on the blood-brain barrier to hydrophilic molecules. C. effect on the permeability to [<sup>14</sup>C]sucrose. *Brain Res Reviews*, 7:183–190.
- [7] Lerchl A, Nonaka KO, Stokkan KA, Reiter RJ (1990): Marked rapid alterations in nocturnal pineal serotonin metabolism in mice and rats exposed to weak intermittent magnetic fields. *Biochem Biophys Res Comm* 169:102–108.
- [8] Löscher W, Mevissen M, Lehmacher W, Stamm A (1993): Tumor promotion in a breast cancer model by exposure to a weak alternating magnetic field. *Cancer Lett* 71:75–81.
- [9] Salford LG, Brun A, Stureson K, Eberhardt JL, Persson BRR (1994): Permeability of the blood-brain barrier induced by 915 MHz electromagnetic radiation, continuous wave and modulated at 8, 16, 50 and 200 Hz. *Microsc Res Tech.* 27:535–42.
- [10] Mevissen M, Löscher W, Lerchl A, Stamm A (1994): Cancer promotion in a breast cancer model by exposure to a (10 µT, 50 Hz)-magnetic field. Abstracts of the 16<sup>th</sup> BEMS meeting, Copenhagen 1994.
- [11] Hermann DH and Hossmann KA (1997): Neurological effects of microwave exposure related to mobile communication. *J. Neurol. Sci.* 152: 1–14.
- [12] Persson RR, Salford LG, Brun A (1997): Blood-brain barrier permeability in rats exposed to electromagnetic fields used in wireless communication. *Wireless Networks* 3: 465–470.
- [13] Repacholi MH, Basten A, Gebiski V, Noonan D, Finnie J, Harris AW (1997): Lymphomas in E $\mu$ -Pim1 transgenic mice exposed to 900 MHz electromagnetic fields. *Radiat Res* 147:631–640.
- [14] Saija A, Princi P, D’Amico N, De Pasquale R, Costa G (1990): Aging and sex influence the permeability of the blood-brain barrier in the rat. *Life Sciences* 47: 2261–2267.
- [15] Franke H, Galla HJ, Beuckmann CT (1999): An improved low-permeability in vitro-model of the blood-brain barrier: transport studies on retinoids, sucrose, haloperidol, caffeine and manitol. *Brain Res* 818: 65–71.
- [16] Dutta SK, Das K; Ghosh B, Blackman CF (1992): Dose dependence of acetylcholinesterase activity in neuroblastoma cells exposed to modulated radio-frequency electromagnetic radiation. *Bioelectromagnetics* 13: 317–322.
- [17] Fritze K, Sommer C, Schmitz B, Mies G, Hossman KA, Kiessling M, Wiessner C (1997a): Effect of global system for mobile communication (GSM) microwave exposure on blood-brain barrier permeability in rat. *Acta Neuropathol* 94: 465–470.
- [18] Galla HJ, Rauh J, Meyer J, Holsten B, Hein M (1993): Mimicry of the blood-brain-barrier: in vitro cell culture systems and formation of tight junction. In: Felgenhauer K, Holzgraefe M, Prange HW (eds): „CNS barriers and modern CSF diagnostics“. Berlin, Springer Verlag, pp. 79–88.
- [19] Raub TJ, Kuentzel SL, Sawada GA (1992): Permeability of bovine brain microvessel endothelial cells in vitro: barrier tightening by a factor released from astroglial cells. *Exp Cell Res* 199:330–340.
- [20] Tao Cheng JH, Nagy Z and Brightman MW (1987): Tight junctions of brain endothelium in vitro are enhanced by astroglia. *J Neurosci* 7:3293–3299.
- [21] Beuckmann CT, Dernbach K, Hakvoort A, Galla HJ (1997): A new astrocytic cell line which is able to induce a blood brain barrier property in cultured brain capillary endothelial cells. *Cyto-technology* 24:11–17.
- [22] McCarthy K, De Vellis J (1980): Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue. *J Cell Biol* 85:890–902.
- [23] Tewes B, Franke H, Hellwig S, Hoheisel D, Decker S, Griesche D, Tilling T, Wegener J, Galla H-J (1996): Preparation of endothelial cells in primary cultures obtained from the brains of 6-month-old pigs. In De Boer, W Sutano (eds): „Drug Transport across the blood-brain-barrier (BBB): In-vivo and in-vitro techniques“. Amsterdam: Harwood Academic Publisher, pp. 91–97.
- [24] Yee KS (1966): Numerical solution of initial boundary value problems involving Maxwell’s equations in isotropic media. *IEEE Trans Antennas Propagat* AP-14: 302–307.

- [25] Eddy EP, Maleff BE, Hart TK, Smith PL (1997): In vitro models to predict blood-brain barrier permeability. *Adv Drug Delivery Rev* 23: 185–198.
- [26] Dehouck MP, Meresse S, Delorme P, Fruchart JC, Cechelli R (1990): An easier, reproducible, and mass-production method to study the blood-brain barrier in vitro. *J Neurochem* 54:1798–1801.
- [27] Cecchelli R, Dehouck B, Descamps L, Fenart L, Bueé-Scherrer V, Duhem C, Lundquist S, Rentfel M, Tropier G, Dehouck MP (1999): In vitro model for evaluating drug transport across the blood-brain barrier. *Adv Drug Delivery Rev*:165–178.
- [28] Rubin LL, Hall DE, Porter S, Barbu K, Cannon C, Horner HC, Janatpour M, Liaw CW, Manning K, Marales J, Tanner LI., Tomaselli KJ, Bard F (1991): A cell culture model of the blood-brain barrier. *J Cell Biol* 115:1725–1735.
- [29] Rist RJ, Romero IA, Chan MWK, Couraud PO, Roux F, Abbott NJ (1997): F-Actin cytoskeleton and sucrose permeability of immortalised rat brain microvascular endothelial cell monolayers: effects of cyclic AMP and astrocytic factors. *Brain Res* 768:10–18.
- [30] Hoheisel D, Nitz T, Franke H, Wegener J, Hakvoort A, Tilling T, Galla HJ (1998): Hydrocortisone reinforces the blood-brain barrier properties in a serum free cell culture system. *Biochem Biophys Res Comm* 244: 312–316.
- [31] Steinem C, Janshoff A, Wegener J, Ulrich WP, Willenbrink W, Sieber M, Galla HJ (1997): Impedance and shear wave resonance analysis of ligand-receptor interactions at functionalized surfaces and of cell monolayers. *Biosens Bioelectron* 12 (8): 787–808.
- [32] Wegener J, Zink S, Rösen P, Galla HJ (1999): Use of electrochemical impedance measurements to monitor  $\beta$ -adrenergic stimulation of bovine aortic endothelial cells. *Eur J Physiol* (in press).

## Danksagung

Wir danken Dr. U. Kullnick vom Institut für Mobil- und Satellitenfunktechnik (IMST), Kamp-Lintfort für die Zusammenarbeit in Bezug auf die Expositionsapparaturen. Das Projekt wurde unterstützt durch eine Förderung des Ministeriums für Schule und Weiterbildung, Wissenschaft und Förderung des Landes NRW sowie ein Stipendium der Kommission Innovative Medizinische Forschung der Universität Münster für S.W.

# 10 DO PULSE-MODULATED OR CONTINUOUS 900 MHZ RF FIELDS ENHANCE THE CARCINOGENIC EFFECT OF IONISING RADIATION IN MICE?

*J. Juutilainen, Department of Environmental Sciences, University of Kuopio, Finland*

## Introduction

The rapidly increasing use of wireless telecommunication devices has led to increased human exposure to radiofrequency (RF) electromagnetic fields. Public concern over the potential adverse health effects often focuses on issues related to cancer.

The photon energy of RF electromagnetic fields is too low to cause direct DNA damage. Also the majority of the experimental data available suggest that RF radiation can not directly injure DNA. Carcinogenesis, however, is a complex process including many steps. A chemical or physical agent does not need to be directly genotoxic in order to be carcinogenic. Several substances are known to be cocarcinogenic when given together with a genotoxic agent. According to a popular (although simplifying) model of carcinogenesis, cancer development is divided into three steps: initiation, promotion and progression. Cancer is initiated by a mutation (altered DNA base sequence) in a critical gene. Promotion of the initiated cells towards a tumour can be caused by non-genotoxic agents. Several review papers related to RF radiation and cancer promotion were recently published in a journal supplement [1].

This study aimed at evaluating whether amplitude-modulated or continuous RF electromagnetic fields (902 MHz) promote carcinogenesis initiated by ionising radiation in CBA/S mice. This strain has a high incidence of lymphoma after exposure to ionising radiation. The study hypotheses included the effects of RF on 1) incidence of lymphoma and 2) on incidence of overall primary malignancies. The effects of RF on the other neoplastic and non-neoplastic changes were also evaluated.

## Methods

Female CBA/S mice were randomised into 4 groups (Table 1). The animals were 3 to 5 weeks old when they entered the study. Mice in all groups, except the

'cage-control' group, were exposed to ionising radiation in the beginning of the experiment. The total whole body dose was 4 Gy delivered as three sub-doses at one-week intervals. In the RF groups (sham RF, continuous RF, pulsed RF) mice were kept in restrainers in a rectangular (24.8 cm x 20 cm x 190 cm) wave guide exposure chamber. The mice were exposed to continuous RF radiation at a specific absorption rate (SAR) of 1.5 W/kg or to pulsed GSM-type RF-radiation at a time-average SAR 0.35 W/kg, for 1.5 hours per day, 5 days a week. The mice in the 'sham RF' group were kept in a waveguide with no RF-power connected to it. The animals were exposed for 78 weeks. The signal sources consisted of GSM and NMT phones and amplifiers. The estimated uncertainty of the whole-body average SAR was  $\pm 15\%$ .

**Table 1. Animal groups and exposures**

Group	Number of animals	Ionising radiation	RF
Cage control	50	–	–
Sham RF	50	+	–
Continuous RF	50	+	902,5 MHz continuous
Pulsed RF	50	+	902,4 MHz pulsed

The animals were observed daily. Once a week they were examined in detail and palpated. Every animal was weighed and the use of feed and water was measured every other week. The study was conducted at the facilities of the National Public Health Institute. The laboratory has passed national Good Laboratory Practice (GLP) inspection.

When an animal was sacrificed, blood samples from heart were taken for haematological analyses. Tissue samples from about 40 tissues were taken for histopathological, biochemical and molecular biological analyses. The histopathological analysis was performed in a blind manner, and was peer-reviewed.

## Results

### Food and water consumption:

The RF exposures did not affect the consumption of feed or water. The animals kept in restrainers (groups exposed or sham-exposed to RF radiation) consumed less food than the cage control animals.

### Growth and organ weights:

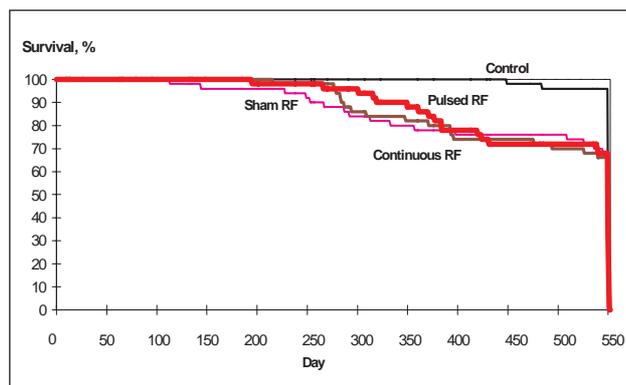
The RF exposures did not significantly affect the growth or organ weights of the animals. The weight gain of animals kept in restrainers was lower and they remained nearly 20% smaller than the cage controls.

### Haematology:

Haematological examination revealed no statistically significant differences between the RF exposed and the sham-exposed groups.

### Survival:

In the cage-control group, which was not exposed to ionising radiation in the beginning of the experiment, only two animals died during the study. The effect of ionising radiation was obvious: the final survival was about 70% in all groups exposed to ionising radiation (Fig. 1). There were no differences between the RF exposed and the sham-exposed groups.



**Fig. 1.** Survival of mice exposed to ionising radiation and radiofrequency electromagnetic fields.

### Carcinogenesis

The carcinogenic effect of ionising radiation was clear, as expected. No lymphomas were observed in the cage-control group. There were several lymphomas in all the three groups exposed to ionising radiation, but the RF exposures did not cause any differences between these three groups. The number of animals with primary lymphoma was 12 in the sham RF group, 12 in the continuous RF group and 10 in the pulse-modulated RF group. The RF exposures used did not increase statistically significantly the incidence of any other neoplastic or preneoplastic change or the total incidence of all primary malignant neoplasms.

### Conclusions

The results of this study suggest that the RF electromagnetic fields used in this study do not promote cancer induced by ionising radiation in female CBA mice. The results do not support cocarcinogenic effects of electromagnetic fields from mobile phones. However, the animal model used may address only some aspects of cocarcinogenesis. Because of this limitation, the results should be interpreted together with evidence from studies using other models.

### Acknowledgements

This work was supported by Technology Development Centre Finland, Forschungsgemeinschaft Funk, Finnish Work Environment Fund, Nokia, Benefon, Sonera and Helsinki Telephone Company

### References

- [1] Tumor Promotion Panel: Assessment and review of the relevance of radiofrequency radiation to tumor promotion in humans. *Int J Toxicol* 17: Suppl. 3, 1998.

# 11 UNTERSUCHUNGEN ZUM EINFLUSS GEPULSTER HOCHFREQUENTER ELEKTROMAGNETISCHER FELDER WÄHREND DER TRÄCHTIGKEIT AUF DIE NACHKOMMEN

**Jochen Buschmann**, Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover

**Tabelle 1: Toxikologische Untersuchungen entsprechend Chemikaliengesetz**

## 1. Einführung

Die Nutzung von Mobilfunktelefonen ist in den letzten Jahren sprunghaft gestiegen, der beginnende Einsatz von Satelliten-Telefonen wird diesen Trend noch weiter verstärken. Die Frage ob, und wenn ja, in welcher Intensität, Modulation und Frequenz diese Felder gesundheitsschädlich sind, ist dabei bisher weitgehend offen.

Dies ist nicht zuletzt deshalb so, weil nur sehr wenige gut fundierte experimentelle Daten zum Einfluss hochfrequenter EMF auf den Gesamtorganismus vorliegen. Es gibt jedoch Hinweise zum Einfluss auf einzelne Regelkreise (z. B. Melatoninsekretion). Aus der Literatur sind für andere Frequenzbereiche sowohl im Tierversuch als auch in epidemiologischen Untersuchungen gesicherte, teilweise aber auch sich widersprechende Effekte beschrieben (Übersichten bei [1], [2], [3]).

Damit ist zur weiterführenden Untersuchung die Anwendung solcher Studien, wie sie in der tierexperimentellen Toxikologie üblich sind, sinnvoll. Die dabei genutzten Tiermodelle sind als prädiktiv für den Menschen akzeptiert. Mit derartigen Untersuchungen soll die Belastung von Menschen im Fern- (z. B. Anwohner im Gebiet von Sendetürmen) oder auch im Nahfeld modelliert und es sollen Schlussfolgerungen zu potentiellen Gesundheitsrisiken durch hochfrequente EMF für den Menschen gezogen werden.

Als Beispiel für derartige Untersuchungen sollen hier diejenigen als Grundlage dienen, wie sie für die Zulassung von Chemikalien entsprechend Chemikaliengesetz gefordert sind. Dabei hängt der Untersuchungsumfang im Wesentlichen von der jährlich produzierten Menge ab (Tabelle 1). Die einzelnen durchzuführenden Untersuchungen werden in Richtlinien, z. B. EU-Richtlinien, beschrieben.

Menge Stoff pro Jahr	geforderte Untersuchungen
10 kg ... < 100 kg	Akute (orale) Toxizität
100 kg ... < 1 t	zusätzlich: Hautreizung Augenreizung Hautsensibilisierung Mutagenität bakteriell
1 t ... < 100 t	zusätzlich: Akute dermale Toxizität Subakute Toxizität (28 Tage) Mutagenität nicht bakteriell (in vitro) Toxikokinetisches Verhalten (Fortpflanzungsschädigung)
100 t ... < 1000 t	zusätzlich: Fruchtbarkeitsuntersuchung Teratogenität Subchronische Toxizität (90 Tage) Mutagenese oder Karzinogenese Toxikokinetische Grundinformationen
> 1000 t	zusätzlich: Zweigenerationstest Organ-/Systemtox Biotransformation Chronische Toxizität Karzinogenese Peri- und postnatale Wirkung Verhaltensstörende Wirkung

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Der Zweck der Untersuchung bestand in der Feststellung einer möglichen fruchtschädigenden Wirkung eines gepulsten hochfrequenten EMF nach Exposition während der Embryogenese bei Ratten. Die Versuchsdurchführung erfolgte in Anlehnung an die Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP, Chemikaliengesetz § 19a, Anhang 1, S. 1724–1732, BGBl. I vom

29.7.94) und in Anlehnung an die OECD-Guideline 414 „Teratogenicity“ sowie die Richtlinie 67/548/EWG in Verbindung mit der Richtlinie 88/302/EWG „Prüfung auf Teratogenität“ (Amtsblatt der EG, L133, S. 24, v. 30.5.88).

Es wurden Wistar-Ratten, Crl:(WI)BR, von Charles River Wiga, Sulzfeld, eingesetzt. Weibliche virginelle Tiere (bei Lieferung 6–7 Wochen alt) wurden mit Männchen (bei Lieferung mindestens 10 Wochen alt) verpaart.

Die Haltung der verpaarten Weibchen erfolgte individuell in Makrolon Käfigen Typ III mit Weichholzfaser 3/4 (Altromin, Lage) als Einstreu. Die Tiere erhielten pelletiertes Futter 1314 N, spezialbehandelt, der Fa. Altromin, Lage, und Trinkwasser ad libitum. Die Temperatur in den Tierräumen betrug  $22 \pm 2$  °C, die relative Luftfeuchtigkeit  $55 \pm 15$  %. Der Luftwechsel erfolgte 10–15fach pro Stunde. Die Beleuchtung der Tierräume erfolgte in einem 12-stündigen hell/dunkel-Rhythmus.

Die Tiere wurden über 3 Wochen jeweils über Nacht 2:1 verpaart. Danach wurden jeweils 24 spermienpositive Tiere randomisiert einer der beiden Behandlungs- bzw. Kontrollgruppe zugeteilt.

## 2.2 Exposition

An den Tagen der Exposition wurden die Weibchen individuell in speziellen Makrolon Käfigen Typ III mit Kunststoffdeckel und Glas-Tränknippel in Plastikregalen gehalten. Die Käfige wurden in den Gestellen täglich nach einem festgelegten Schema weitergerückt, um ähnliche Expositionsbedingungen für alle Tiere zu gewährleisten. Die Expositionsdauer betrug täglich 20 Stunden (ca. 11.00 Uhr – 7.00 Uhr). Die Tiere wurden während der gesamten Embryogenese und bis zum Tag vor der Sektion, d.h. von Tag 6 bis 19 post conceptionem (p.c.), täglich exponiert, wobei das Auffinden von Spermien im Vaginalabstrich als Tag 0 p.c. galt. Die Tiere wurden einen Tag vor der erwarteten Geburt, d.h. am 20. Tag p.c., getötet.

Die zu exponierenden Ratten wurden in das Fernfeld einer Sendeantenne mit 900 MHz, mit 217 Hz ge-

pulst, gebracht. Feldtyp, Pulsung, Modulationsfrequenz und Antennenart wurden so gewählt, um die Feldverhältnisse im Fernfeld einer Mobilfunk-Basisstationsanlage (D-Netz) nachzubilden. Bezüglich der Intensität der Exposition wurde ein Mittelwert der elektrischen Leistungsflussdichte von  $4,5 \text{ W/m}^2$  im Bereich der Käfige bei Abwesenheit der Tiere angestrebt. Dieser Wert ist der Grenzwert einschlägiger Normen und Gesetze zur Sicherheit in elektromagnetischen Feldern (z.B. DIN VDE 0848 Teil 2 / Oktober 1991, 26. Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes – 26. BImSchV / Dezember 1996).

Die beiden Teilräume für die exponierte Gruppe und die Kontrollgruppe waren bezüglich elektromagnetischer Felder vollständig abgeschirmt. Damit wurden elektromagnetische Störungen von außen (z.B. durch Rundfunksendeanlagen) ferngehalten und eine Beeinflussung der Kontrollgruppe durch die elektromagnetische Bestrahlung der exponierten Gruppe im benachbarten Teilraum ausgeschlossen. Als Abschirmmaterial wurde eine Kupfervliesfolie, Typ Electron, der Firma EMC-Technik & Consulting GmbH, Stuttgart verwendet. Bezüglich der Exposition wurde damit eine elektromagnetische Entkopplung von Kontrollgruppe und exponierter Gruppe von mind. 60 dB (Abschirmfaktor 1:1 Million bezüglich der Leistungsflussdichte) am Ort der Tierkäfige erreicht.

Die Intensität der Exposition in Abhängigkeit von der Zeit wurde mit einem Rechner überwacht und protokolliert. Eine Überwachung fand auch bezüglich niederfrequenter magnetischer Felder statt.

Die Kontrollgruppe war im selben Tierversuchsraum untergebracht wie die exponierte Gruppe und von ihr nur durch eine Holzwand mit elektromagnetischer Abschirmfolie getrennt. Die beiden Teilräume (exponierte und Kontrollgruppe) waren bezüglich Größe, Aufstellung der Käfige, Position von Antennen und Kabel sowie Anbindung der Klimatisierung völlig äquivalent aufgebaut. Damit wurde die Untersuchung als Doppelblindversuch durchgeführt.

Aufbau und Durchführung der Exposition erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Mobil- und Satellitenfunktechnik Kamp-Lintfort, der verantwortliche Expositionstechniker war Dr. Christian Bornkessel.

### 2.3 Untersuchungsparameter

Alle Tiere wurden täglich mindestens einmal durchgesehen.

Die Körpergewichte der Tiere wurden am Tag 0, 6, 10, 15 und 20 p.c. individuell ermittelt.

Für die Sektion wurden alle Tiere am 20. Tag p.c. mit einer Überdosis CO<sub>2</sub> betäubt und anschließend entblutet. Während der Sektion wurden folgende, eine mögliche reproduktionstoxische Beeinflussung kennzeichnende Parameter ermittelt:

- Uterusgewicht
- Anzahl Gelbkörper
- Anzahl Implantationen (bei Uteri ohne makroskopisch nachweisbare Implantate nach Anfärbung in Ammoniumsulfidlösung)
- Anzahl und Position früher und später Resorptionen
- Anzahl und Position lebender und toter Feten
- Gewicht, Geschlecht und Position der lebenden Feten (individuelle Wägung)
- Placentengewicht (individuelle Wägung)

Bei der Präparation der Feten wurden diese individuell markiert und auf äußere Missbildungen untersucht. Zur weiteren Untersuchung wurden die Feten jeden Wurfs alternierend aufgeteilt.

Die eine Hälfte der Feten wurde nach Fixierung in 70% Ethanol und nachfolgender Knochen-Färbung mit Alizarinrot S nach DAWSON auf Skelettmissbildungen, Ossifikationsstörungen und mögliche Indikatoren einer Entwicklungsretardierung untersucht. Die übrigen 50% der Feten wurden auf viscerale Missbildungen entsprechend der WILSON-Technik nach Fixierung in BOUINscher Lösung und anschließender Lagerung in 70% Ethanol untersucht.

### 2.4 Statistische Methoden

Es wurden Mittelwert und Standardabweichung bzw. Inzidenzen für alle Gruppen errechnet.

Unterschiede zwischen den Gruppen wurden bei  $p < 0.05$  als statistisch signifikant angesehen. Gewichtsdaten, Anzahl von Implantationen, Resorptionen und lebenden Feten wurden mit der Varianzanalyse

verglichen. Wenn die Mittelwerte der Gruppe bei den Varianzanalysen signifikante Unterschiede aufwiesen, wurden die Mittelwerte der Kontrollgruppe mit den Mittelwerten der Behandlungsgruppe mit Hilfe der Dunnett-Test Statistik verglichen. Häufigkeitsdaten wurden mit dem doppelseitigen Fisher-Test bzw. mit dem Chi-Quadrat Test verglichen. Als Grundeinheit galt der Wurf bzw. das Muttertier. Bei der Bewertung von Inzidenzen wurde zusätzlich ein Vergleich mit den Einzelfeten als Grundeinheit durchgeführt.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

Die Muttertiere wiesen keinerlei klinische Befunde auf. Die Körpergewichtsentwicklung war unbeeinflusst (Abb. 1).

Uterusgewicht, Anzahl Gelbkörper, Implantationen sowie lebender Feten (Abb. 2), Feten- und Placentengewicht (Abb. 3) waren gleichfalls unbeeinflusst von der Exposition.

Maternale Gewichtszunahme, g

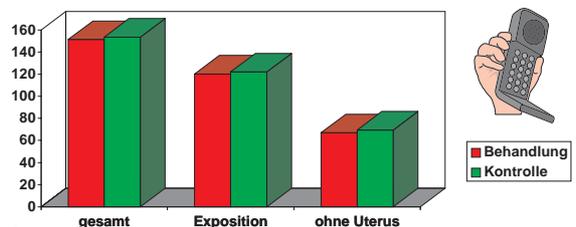


Abb. 1

Wurfdaten

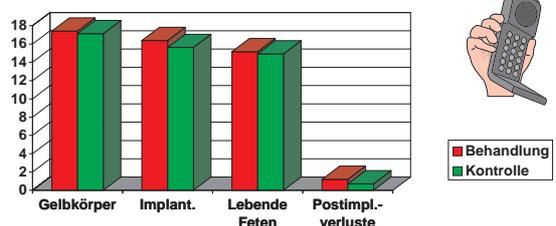


Abb. 2

Feten- und Placentengewichte, g

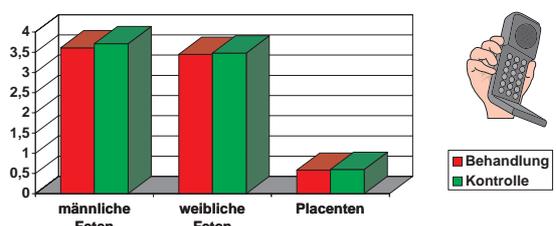


Abb. 3

Bei der Untersuchung der Feten auf äußere, viscerale und Skelettanomalien wurde gleichfalls kein Einfluss der Exposition beobachtet. Vielmehr traten in beiden Gruppen die für den untersuchten Rattenstamm typischen Variationen in vergleichbarer Häufigkeit auf. Gleiche Befunde wurden auch für den Ossifikationsstatus erhoben.

Folglich beeinträchtigte eine Exposition trächtiger Wistar-Ratten [CrI:(WI)BR] gegenüber einem Fernfeld von 900 MHz, 217 Hz gepulst (D-Netz) bei einer Leistungsflussdichte von 4.5 W/m<sup>2</sup> keinen der untersuchten maternalen und fetalen Parameter (Tab. 2). Es wurden keine teratogenen, fruchtötenden oder entwicklungsretardierenden Effekte nachgewiesen. Die Studie sollte jedoch mit einer höheren Leistungsflussdichte wiederholt werden, um die in der Toxikologie üblichen Sicherheitsfaktoren bei der Extrapolation auf den Menschen anwenden zu können.

**Tabelle 2: Zusammenfassung der Ergebnisse**

Parameter	Exposition: 4.5 W/m <sup>2</sup>
Maternale Gewichtszunahme	0
Klinische Symptome	0
Makropathologie	0
Anzahl lebender Feten	0
Prä-/Postimplantationsverlust	0
Feten-/Placentengewichte	0
Externe Anomalien	0
Viscerale Anomalien	0
Skelettanomalien	0
Ossifikationsstatus	0

0: kein Effekt im Vergleich zur Kontrolle



Die Studie wurde von der Forschungsgemeinschaft Funk gefördert.

#### 4. Literatur

- [1] Brent, R.L., W.E. Gordon, W.R. Bennet, D.A. Beckman (1993): Reproductive and teratologic Effects of electromagnetic fields. *Reproductive Toxicology* 7, 535–580.
- [2] Chernoff, N., J.M. Rogers, R. Kavet (1992): A review of the literature on potential reproductive and developmental toxicity of electric and magnetic fields. *Toxicology* 74, 91–126.
- [3] Knave, B. (1994): Electric and magnetic fields and health outcomes – an overview. *Scand. J. Work Environ. Health* 20 (Special issue), 78–89.

EU (1988): Richtlinie 87/302/EWG der Kommission vom 18. November 1987 zur neunten Anpassung der Richtlinie 67/548/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe an den technischen Fortschritt. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* L 133 vom 30. Mai 1988.

Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen (Chemikaliengesetz) in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Juli 1994 (BGBl. I S. 1703), zuletzt geändert durch Artikel 6 des Gesetzes vom 27. September 1994 (BGBl. I S. 2705).

## 12 OPERANT BEHAVIOR PERFORMANCE TESTS IN RATS AFTER PRENATAL EXPOSURE TO HIGH FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELDS

**Michael Bornhausen**, *GSF-Forschungszentrum München*  
**Herbert Scheingraber**, *Max-Planck-Institut für extraterrestrische Physik, München*

### Abstract

To assess an eventual risk of high-frequency electromagnetic fields (EMFs) to the particularly sensitive prenatal development, a group of 12 pregnant Wistar rats was continuously exposed during 20 days to an EMF of 900 MHz, 217 Hz pulse modulation, and 0.1 mW/cm<sup>2</sup>. The energy flux density corresponds to that of base antennas of the European digital GSM standard of hand held mobile telecommunication devices. Another group of 12 rats was simultaneously sham-exposed. The coded male and female offspring of both groups were automatically trained when adult to lever press for food reinforcement by a DRO schedule and then tested at night in a battery of 10 simultaneously operated lever chambers. The rats were challenged by a sequence of 9 different contingencies of Differential Reinforcement of High resp. Low Rate [1] with increasing performance requirements. A systematic analysis of results obtained in a total of 80 rats focusing on (1) ratios of reinforcements vs. lever presses and (2) microstructures of operant performance did not reveal any changes of performance or of microstructures relative to controls.

### Introduction

Functions of the central nervous system are particularly vulnerable during development. In teratology, conventional screening procedures – besides checking for structural anomalies – assess changes in fertility, growth, and the timely development of morphological signs and reflexes. Results are summarized as „developmental landmarks“ [2]. Obviously, many pups have to be handled and examined to collect statistically relevant data.

A computer-controlled operant behavior test system was designed to overcome some of these personal bias-prone methodological difficulties. It features 10 standardized test cages („Skinner boxes“) in which 10 rats can be tested simultaneously. Tests are run automatically during night.

Earlier studies demonstrated that this system reliably detects the neurotoxic consequences of a prenatal exposure (0.01 mg/kg bodyweight/day, days 6–9 post conception) to very low doses of methylmercury chloride in rats [3]. In fish, the WHO-defined tolerance limit of that well known human teratogen is 0.5–1.0 ppm.

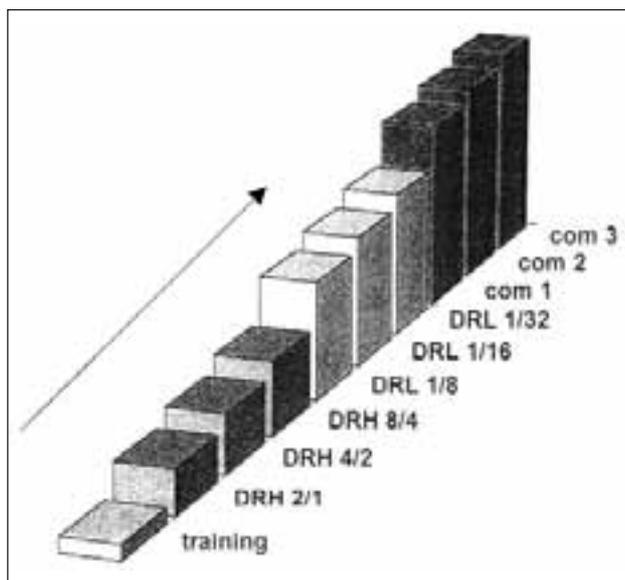
Therefore, an eventual risk of high-frequency EMFs to the developing central nervous system was aimed to be assessed by measuring cognitive functions in the offspring of exposed dams.

### Material and Methods

12 pregnant Wistar rats were continuously exposed during 20 days under far-field conditions in exposure chambers provided by the Deutsche Telekom AG. Another group of 12 pregnant rats was simultaneously sham-exposed. Specific absorption rate (SAR) for the unrestrained, pregnant animals was measured in models to range between 17.5 and 75 mW/kg. The offspring of exposed and sham-exposed rats were coded and tested when adult in groups of 10 subjects each. Each group was made of 5 exposed and 5 sham-exposed and coded rats. A total of 40 male and 40 female animals were trained automatically to press a lever for food reinforcement by a Differential Reinforcement of Zero Rate (DRO) schedule. All subjects reached the criterion of successful training.

Subsequently, all 8 groups were tested by a sequence of 3 sets of the contingency Differential Reinforcement of High resp. Low Rate [1] with increasing performance requirements (Fig. 1):

1. DRH 2/1, DRH 4/2, DRH 8/4 where 2, 4, or 8 lever presses were required within a time lapse of 1, 2, or 4 sec;
2. DRL 1/8, DRL 1/16, DRL 1/32 where a blocking interval of 8, 16, or 32 sec had to be respected after each reinforcement. In the third and final test set, the previous 6 DRH- and DRL-contingencies were combined in ON-periods of 45 min with alternating test requirements: DRH 2/1-DRL 1/8, DRH 4/2-DRL 1/16, DRH 8/4-DRL 1/32 (COM).



**Fig. 1 Test sequence**

*After a DRO-training session, 8 groups of 10 coded animals each were challenged with a sequence of 9 different operant behavior test sessions with increasing requirements (see Material and Methods).*

The schedules of reinforcement and their sequence were chosen to differentiate between eventual cognitive and motor deficiencies and to challenge the animals while preserving their lever pressing activity. Nocturnal test sessions lasted 15 hours (16:00–07:00). To minimize early satiation of the animals, sessions were subdivided into 30 min ON- and 60 min OFF-periods. Reinforcements (food pellets à 45 mg) were available during ON-periods only.

Operant test performance scores of the offspring was validated by a correlation analysis of the inter-response intervals between consecutive lever presses. The analysis revealed time pattern changes which were characteristic for „learners“ and „non-learners“ in the DRH and DRL tests.

The following parameters of operant behavior test performance were measured in all subjects during the 9 consecutive test sessions: (1) Activity (number of lever presses in ON-periods), (2) Performance (number of reinforcements in ON-periods), and (3) Relative Performance (number of reinforcements in ON-periods relative to specific test requirements).

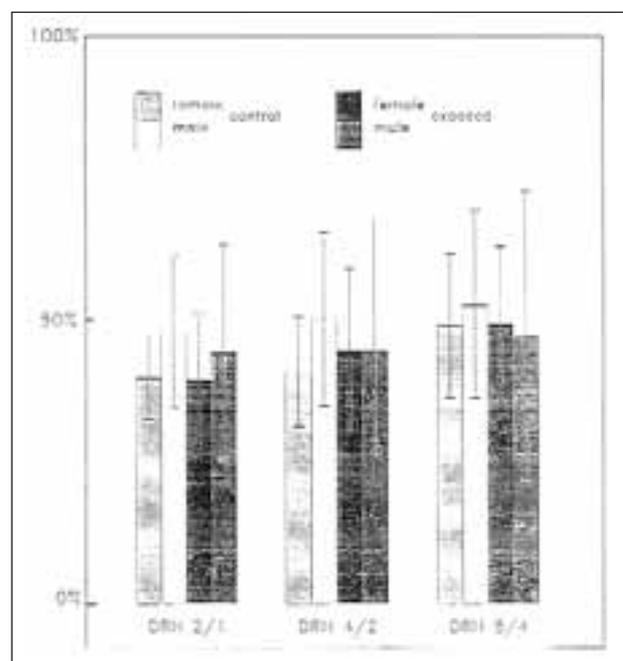
Individual scores of activity, performance, and relative performance were normalized with respect to group means and then mutually correlated in order to detect exposure-induced changes that might have been obscured by rather important inter-individual variability within groups.

## Results and Discussion

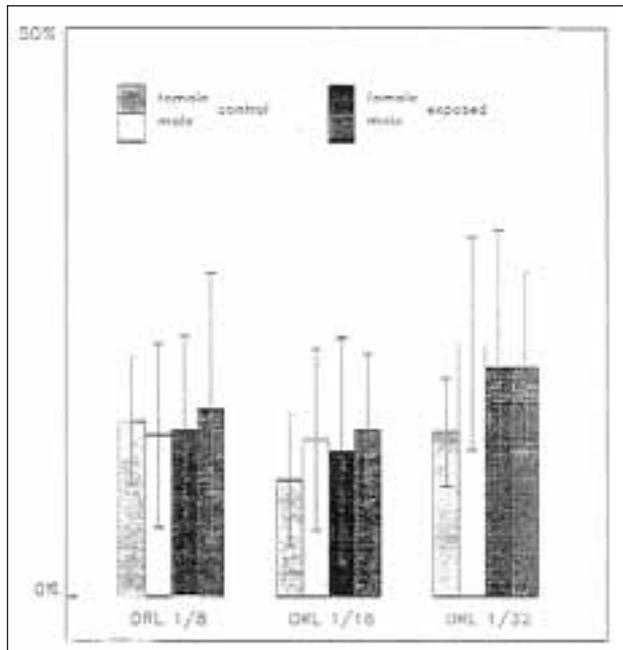
Operant behavior performance of 80 coded animals in 9 nocturnal test sessions was measured and analyzed by two different systems:

- (1) ratios of reinforcements vs. lever presses (Fig. 2–4), and
- (2) microstructures of operant behavior [4], i.e. inter-response interval patterns (Fig. 5).

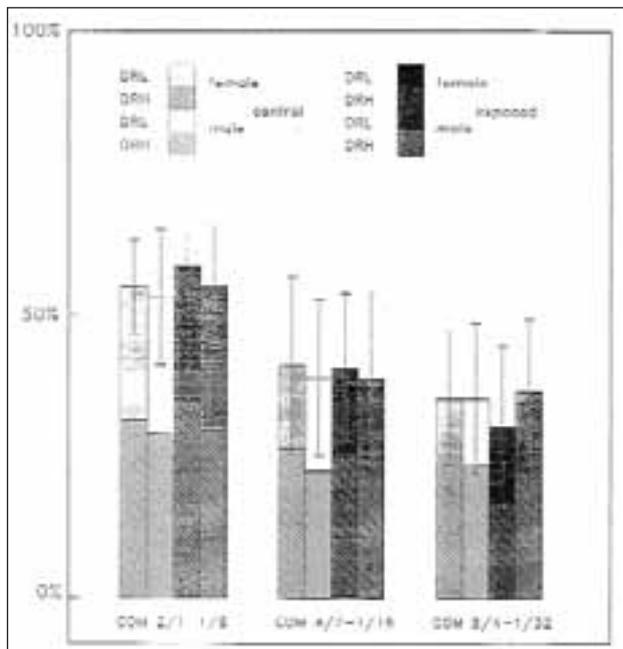
Results of the first analysis are summarized in Fig. 2–4.



**Fig. 2 DRH test performance**  
*Performance of male and female offspring is shown in percent of possible performance during the 3 steps of the DRH test. Vertical brackets indicate standard deviations.*

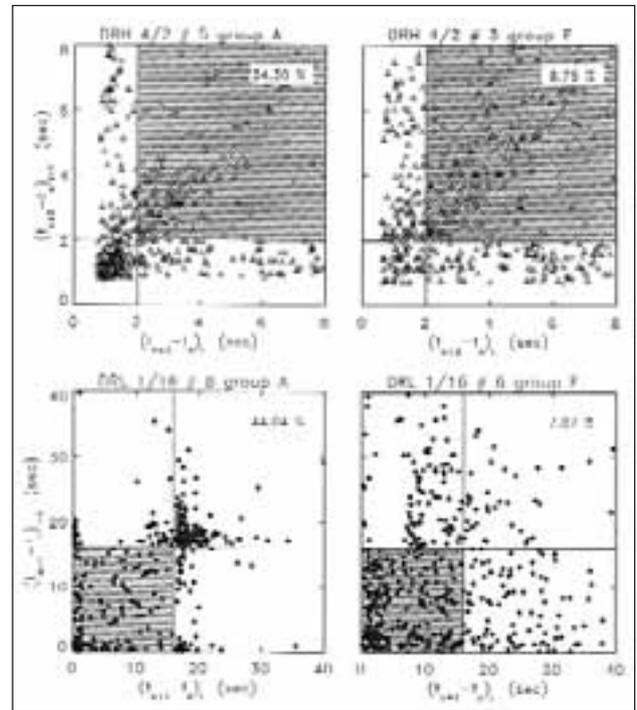


**Fig. 3 DRL test performance**  
Performance of male and female offspring is shown in percent of possible performance during the 3 steps of the DRL test. Vertical brackets indicate standard deviations.



**Fig. 4 COM test performance**  
Performance of male and female offspring is shown in percent of possible DRH- and DRL-performance during the 3 steps of the COM test with alternating DRH- and DRL-requirements (see Material and Methods). Vertical brackets indicate standard deviations.

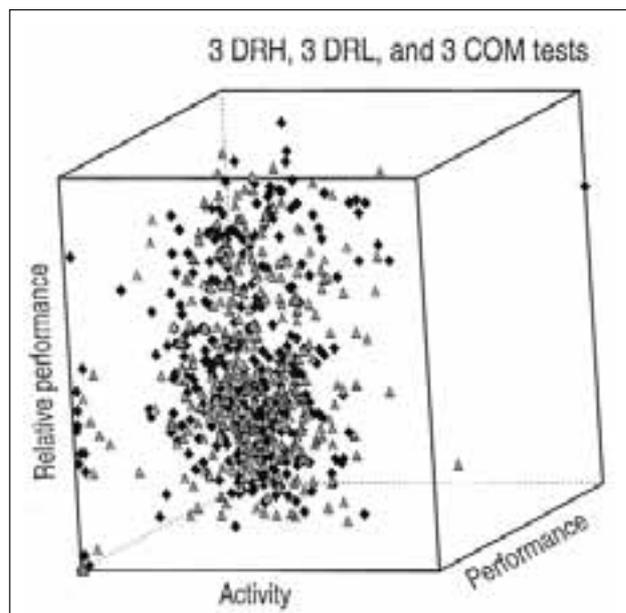
Examples of the second analysis are given in Fig. 5.



**Fig. 5 Inter-response interval occurrences**  
Examples of the correlation analysis of inter-response interval occurrences are given for „non-learners“ (right) and „learners“ (left) in the test steps DRH 4/2 (above) and DRL 1/16 (below). The „forbidden“ areas of the 2 different tests are shaded. Note that subjects # 3 and # 6 of groups E and F, respectively, have not acquired the specific test requirement. To the contrary, subject # 5 of group A has obviously learned the DRH 4/2 requirement. 34.30 % of all inter-response intervals are situated beyond the shaded area. Subject # 8 of group A is another example of a typical „learner“ in the DRL 1/16 test. Here, 44.04 % of inter-response intervals are situated beyond the blocking interval of 16 sec (shaded area).

EMF-induced changes of the incidence of „learners“ vs. „non-learners“ relative to controls were not observed.

The analysis of the results of both systems concurred: Prenatal exposure of Wistar rats to low-level, high-frequency EMFs did not produce deficient operant behavior (Fig. 6) and did not induce overt microstructural changes of that behavior.



**Fig. 6 Activity vs. Performance vs. Rel. Performance**  
*The 3-dimensional cube correlates and summarizes the levels of activity vs. performance vs. rel. performance of 80 subjects as revealed by inter-response interval occurrences during 9 test sessions. Note that there is no separation between the accumulated dots of exposed (diamonds) and sham-exposed (triangles) subjects.*

These negative findings were validated by the absence of observable changes of developmental landmarks in litter mates of the operant behavior test subjects.

## Conclusion

Neither male nor female rats that had been exposed prenatally to EMFs typical of the European GSM telecommunication system demonstrated any operant behavior performance deficits relative to controls. The incidence of specific inter-response patterns between experimental and control subjects was compared and confirmed the results obtained by conventional analysis of performance scores.

Our automated operant behavior test system proved to be a powerful tool for the assessment of neurotoxic risks in rats, especially after prenatal exposure. It requires only a relatively small number of test subjects. Furthermore, it offers perspectives for routine neurotoxicity tests in epidemiological surveys also of human subjects without the help of specialized personnel.

## Acknowledgement

Part of this work has been supported by contract no. 4160/55102 with the Deutsche Telekom AG.

## References

- [1] Ferster C. B. and Skinner B. F.: Schedules of Reinforcement. Appleton-Century-Crofts, New York, 1957
- [2] Jensch R. P.: Behavioral Testing Procedures: A Review. In: Johnson E. M. and Kochhar D. M. (eds.): „Handbook of Experimental Pharmacology“, Vol 65. Teratogenesis and Reproductive Toxicology. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1983
- [3] Bornhausen M., Müsch H. R., Greim H.: Operant behavior performance changes in rats after prenatal methylmercury exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56:305–310, 1980
- [4] Weiss B., Zirix J. M., Christopher Newland M.: Serial properties of behavior and their chemical modification. *Animal Learning & Behavior* 17 (1):83–93, 1989

# 13 SCHÄDLICHKEIT VON FUNKTELEFONEN? BIOLOGISCH-ZEREBRALE EFFEKTE IN NIEDERFREQUENT GEPULSTEN HOCHFREQUENZFELDERN [1]

*J. F. Spittler, P. Calabrese, W. Gehlen, Neurologische Universitätsklinik-Knappschafts-Krankenhaus, Ruhr-Universität Bochum*

*V. Hansen, Th. Eibert, Lehrstuhl für Theoretische Elektrotechnik, Universität Wuppertal*

## Einleitung

Über eine Beeinflussung der Gehirnfunktion durch elektromagnetische Wechselfelder, die dem Sendefeld von Funktelefonen entsprechen, ist in der Literatur berichtet worden. Als wesentliche Prüfgröße diente in den meisten Fällen das EEG. Nicht immer war an den veröffentlichten Ergebnissen nachzuvollziehen, ob bioelektromagnetische Effekte auf das Gehirn gefunden wurden oder nicht [2]. In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss des elektromagnetischen Wechselfeldes eines handelsüblichen D-Netz-Mobiltelefons auf das menschliche Gehirn untersucht.

## Probanden und Methoden

Wir untersuchten 52 Probanden im Alter von 20 – 38 Jahren mit EEG und neuropsychologischen Tests.

Die Untersuchungen erfolgten nach den Spezifikationen des Projektes „HF-Design eines Messplatzes zur Untersuchung möglicher biologisch-cerebraler Effekte im niederfrequent gepulsten Hochfrequenzfeld“ in einem mit HF-Absorbern ausgekleideten Raum, der bezüglich von außen einstrahlender Frequenzen von 5 Hz bis 3 GHz vermessen war [3]. Die Sendeleistung des Funktelefons betrug 8 Watt bei einer Frequenz von 914,2 MHz (GSM-Test-Modus); die Antenne war 45 cm über dem Kopf des Probanden angeordnet; im Bereich des Kopfes betrug die Feldstärke ca. 40 V/m (annähernd dem Grenzwert gemäß DIN VDE 0848 entsprechend).

## EEG-Auswertung

Im 1. Teil wurde der Einfluss des Sendefeldes auf das EEG geprüft. Die EEG-Ableitung erfolgte mit Übergangswiderständen  $<10\text{ k}\Omega$ . Die Untersuchung (30 Minuten) erfolgte als unvollständig doppelblinde, ran-

domisierte, intraindividuelle und interindividuelle Vergleichsgruppenuntersuchung: Die eine Probandengruppe wurde vollständig ohne Befeldung untersucht, die andere mit zeitweiser Befeldung. Den Probanden war unbekannt, ob das Sendefeld eingeschaltet war oder nicht. Dem Untersucher war bei visueller Betrachtung der EEG-Kurven unbekannt, ob das EEG mit oder ohne zeitweise Befeldung abgeleitet war (Die mathematische Auswertung ließ keine Eingriffsmöglichkeit des Untersuchers zu.). 25 Probanden wurden dem Sendefeld ausgesetzt, 27 nicht. Bei den exponierten Probanden erfolgte die Untersuchung in drei 10 Minuten-Abschnitten (ohne/mit/ohne Exposition). Zur Kontrolle der Wachheit hatten die Probanden fortlaufend stumm bis 10 zu zählen und dann jeweils eine Taste zu drücken.

Die Rohdaten wurden einer mathematischen Artefaktbeseitigung mit Elimination aller Messwerte außerhalb Mittelwert  $\pm 2x$  unterzogen. Ein Aliasing von der Modulationsfrequenz des Mobiltelefons mit 217 Hz konnte durch eine Abtastfrequenz von 500 kHz vermieden werden. Innerhalb der konventionell gewählten Frequenzbänder wurde die mittlere EEG-Leistung getrennt für jede Messphase errechnet. Die mittleren 10 der EEG-Ableitungen wurden zwischen den beiden Probandengruppen mit/ohne Funk-Feld-Exposition verglichen: a) nach Frequenzbändern mit tabellarischer/graphischer Darstellung, b) mittels univariater Varianzanalyse für Elektrodenpositionen/Frequenzbänder, c) mittels Varianzanalyse mit Messwiederholung, d) mittels multivariater Varianzanalyse.

## Kognitive Leistungen

Im 2. Teil wurde die kognitive Leistungsfähigkeit unter dem Sendefeld mit neuropsychologischen Tests in einer einfach blinden, intraindividuellen Vergleichsuntersuchung geprüft. Während der Tests war dem Untersucher bekannt, ob das Wechselfeld eingeschaltet war oder nicht; die Untersuchung erfolgte mit Paralleltests an aufeinanderfolgenden Tagen zufallsverteilt entweder ohne/mit bzw. mit/ohne Exposition.

Zur Prüfung der Aufmerksamkeit sowie des Arbeitsgedächtnisses wurden aus der „TAP-Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung“ von [4], einem computerunter-

stützten Verfahren zur Erfassung der Reaktionszeiten, ausgewählt: 1. Alertness: Fähigkeit, das Aufmerksamkeitsniveau anzupassen, 2. Vigilanz: Fähigkeit, zur langfristigen Aufrechterhaltung der Aufmerksamkeit unter monotonen Reizbedingungen, 3. Go/NoGo: Die Fähigkeit zur Unterdrückung falscher Reaktionen, 4. Arbeitsgedächtnis: Kontinuierliche Kontrolle des Informationsflusses durch das Kurzzeitgedächtnis.

Zur weiteren Prüfung wurde der „Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest“ (VLMT) durchgeführt. Das aus dem Amerikanischen (Rey-Auditory-Verbal-Learning-Test) übersetzte und deutschsprachig standardisierte Testverfahren [5] besteht aus zwei Listen mit je 15 Substantiven, die in wechselseitig störender Folge vorgelesen und in bestimmter Folge abgefragt werden.

### Ergebnis: Elektroenzephalogramm

In einer visuellen Auswertung farbkodierter Frequenz-Zeitdiagramme der spektralen Leistung ließen sich weder im intraindividuellen Vergleich vor/während/nach der Feldexposition, noch im interindividuellen Vergleich der exponierten/nicht exponierten mittleren 10-Minuten-EEG-Abschnitte Unterschiede auffinden. In einer univariaten Varianzanalyse für Elektrodenpositionen bzw. Frequenzbänder zeigten die Gruppen keine signifikanten Unterschiede. In der Varianzanalyse mit Messwiederholung war der Zeitfaktor unabhängig von der Bedingung Exposition/Nicht-Exposition signifikant. In der multivariaten Varianzanalyse zeigten die Mittelwerte der nach Frequenzbändern getrennt berechneten mittleren Leistungen keine signifikanten Unterschiede ( $F=1.78576$ ;  $df=42$ ;  $p=0.178$ ).

### Ergebnis: Kognitive Leistungen

Weder bezüglich der Aufmerksamkeit, noch bezüglich des Arbeitsgedächtnisses, noch bezüglich des Gedächtnis-Lernverhaltens zeigte die neuropsychologische Untersuchung signifikante Leistungsunterschiede zwischen den Testphasen mit bzw. ohne Feldexposition.

### Schlussfolgerung

Unter einer praxisnahen Exposition gegenüber dem Sendefeld eines handelsüblichen Mobiltelefons ließen sich in der gewählten Versuchsanordnung weder im EEG noch mittels neuropsychologischer Testverfahren Auswirkungen nachweisen.

### Literatur

- [1] Gehlen, W., J. F. Spittler, P. Calabrese (1996) „Biologisch-zerebrale Effekte in niederfrequent gepulsten Hochfrequenzfeldern“, Edition Wissenschaft 12, Bonn
- [2] Jahre, K., K. Matkey, H.-J. Meckelburg (1996) „Der Einfluß von gepulsten elektromagnetischen Feldern auf das Elektroenzephalogramm von Menschen“, Edition Wissenschaft 9, Bonn
- [3] Hansen, V., Th. Eibert, H. Kammerer, Th. Vaupel (1996) „HF-Design eines Meßplatzes zur Untersuchung biologisch-zerebraler Effekte in niederfrequent gepulsten Hochfrequenzfeldern“, Edition Wissenschaft 12, Bonn
- [4] Zimmermann, P., B. Fimm (1993) „Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP)“, Psytest: Psychologische Testsysteme Vera Fimm, Würselen
- [5] Heubrock, D. (1992) „Der Auditiv-Verbale Lern-test (AVLT) in der klinischen und experimentellen Neuropsychologie“, Zeitschrift für differentielle und diagnostische Psychologie 13: 161–174

## 14 GLEICHRICHTUNG ELEKTROMAGNETISCHER FELDER IN DER ZELLMEMBRAN - UNTERSUCHUNG AN PROBANDEN

*J. Silny, Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (femu) an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen*

### Zusammenfassung

Die Gleichrichtung elektromagnetischer Felder in der Zellmembran von Neuronen, peripheren Nerven und Muskeln wurde in in vivo-Untersuchungen überprüft. Resultate zeigen eine klare Gleichrichtung niederfrequenter sinusförmiger Ströme mit einer Frequenz von bis zu einigen MHz, die nicht nur zur Herabsetzung der Stimulationsschwelle, sondern sogar zur Einleitung einer überschwelligeren Erregung führen können. Im Gegensatz dazu konnte für pulsmodierte Mikrowellen, wie sie z.B. bei digitalen Mobilfunkanlagen im E-Netz Verwendung finden, kein Gleichrichtereffekt festgestellt werden. Diese Ergebnisse bestätigen nicht die Meinung, dass die niederfrequente Umhüllende von Mikrowellen im Organismus wirksam werden kann.

### Abstract

The rectification of the electromagnetic fields in the cell membran of motor neurons, peripheral nerves and sceleton muscles is investigated in normal subjects. Results show a clear rectification for sine current with a frequency up to several MHz. This effect can decrease the stimulation threshold or even introduces a depolarisation in the cells. Contrary to this, there is no detectable rectification for the pulse modulated microwaves as used in the cellular phone systems of the E-Net. These results do not confirm the opinion that the low frequency envelope of the microwaves could cause effects in the human organism.

### 1. Problematik

Die möglichen Wirkungen hochfrequenter Felder und Mikrowellen auf den menschlichen Organismus werden nach wie vor kontrovers diskutiert. Als gesichert und allgemein akzeptiert gelten thermische Wirkungen starker elektromagnetischer Felder. In der Literatur werden auch mehrfach experimentelle Befunde

schwacher hochfrequenter elektromagnetischer Felder beschrieben, die wegen der niedrigen applizierten Leistungsdichten auf jeden Fall als athermisch bezeichnet werden müssen. Die Problematik dieser Studien liegt darin, dass ihre Ergebnisse bisher nicht reproduziert werden konnten.

Bereits in den 70er Jahren hat die Gruppe um Adey [1] eine Verringerung des Kalziumausflusses aus neonatalem Gehirngewebe bei der Applikation von hochfrequenten Feldern, die mit 16 Hz amplitudenmodelliert waren, beobachtet. In diesem Zusammenhang entstand der Begriff des sog. „Window-Effekts“, der darauf hindeutet, dass Mikrowellen nur dann wirksam sind, wenn sie eine bestimmte Modulationsfrequenz aufweisen.

In Deutschland verbreitet insbesondere von Klitzing [2], [3] die Hypothese, dass sehr schwache pulsmodierte hochfrequente Felder mit Leistungsdichten im Bereich von wenigen  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  die Informationsverarbeitung des Gehirns beeinträchtigen können. Diese Hypothese leitet er von unspezifischen EEG-Veränderungen ab, die er bei eigenen Untersuchungen an Probanden im hochfrequenten Feld beobachtet hatte. Nicht nur von ihm, sondern auch von einer Reihe anderer Autoren wird behauptet, dass die mutmaßlichen athermischen Wirkungen nicht durch die hochfrequenten Signale, sondern durch ihre niederfrequente Umhüllende (Modulationsfrequenz) bewirkt werden. Insbesondere den niederfrequent pulsmodulierten Mikrowellen, wie sie bei den digitalen Mobilfunksystemen der D- und E-Netze verwendet werden, wird auf diese Weise eine besondere Wirksamkeit zugesprochen. Diese Behauptung ist allerdings nicht ohne weiteres nachvollziehbar.

Zuerst muss die Frage gestellt und beantwortet werden, inwieweit ein Körpergewebe sich nichtlinear für die Ausbreitung von elektromagnetischen Feldern verhält. Aus der Elektrophysiologie ist bekannt, dass sich die Zellmembrane der Neuronen, der Nerven sowie der Muskelzellen im niederfrequenten Bereich nichtlinear verhalten, indem sie den beiden Halbwellen des Stromes unterschiedlichen Widerstand entgegenstellen Casaleggio et al. [4]. In den im Folgenden beschriebenen in vivo-Untersuchungen wurde der Frage nachgegangen, inwieweit diese

Gleichrichtereigenschaften der Zellmembrane auch für die impulsmodulierten Mikrowellen wirksam sind.

## 2. Frequenzspektrum der digitalen Mobilfunksysteme im D- und E-Netz

Die digitalen Mobilfunksysteme arbeiten nach dem Time Division Multiple Access- (TDMA-) Verfahren. Für die Anwendung in Europa und einer Reihe von anderen Ländern wurde das Global System For Mobile Communications (GSM) zunächst für die Anwendung in D-Netzen entwickelt. Heute existieren ähnliche Systeme auch für die E-Netze (PCS). Durch diese Systeme erfolgt die Kommunikation zwischen dem Handy und der Basisstation mittels Schwingungspaketen mit einer Frequenz von ca. 900 MHz (D-Netze) oder 1800 MHz (E-Netze), deren zeitlicher Abstand variiert. Zwischen dem Handy und den Basisstationen werden auf diesem Wege auch Kontroll- und Steuerungssignale ausgetauscht. Die von einer Mobilfunkstation gesendete Impulsfolge hängt maßgeblich von der aktuellen Sprechsituation ab, wobei zwei grundsätzlich unterschiedliche (langsame oder schnellere) Impulsmuster auftreten können. Während einer Sprechpause, z. B. während des Zuhörens, sendet die Mobilfunkanlage alle 120 ms einen Synchronisations-Burst in einem Zeitschlitz von 0,57 ms aus. Synchron mit diesem Impulsmuster wird alle 480 ms eine Impulsfolge mit 8 Bursts innerhalb von 37 ms des Low Associated Control Channels gesendet. Während der Sprechphase dominiert eine 217 Hz-Burst-Folge mit einem 1:8 Schwingungspaket-Pause-Verhältnis (Abb. 1 links).

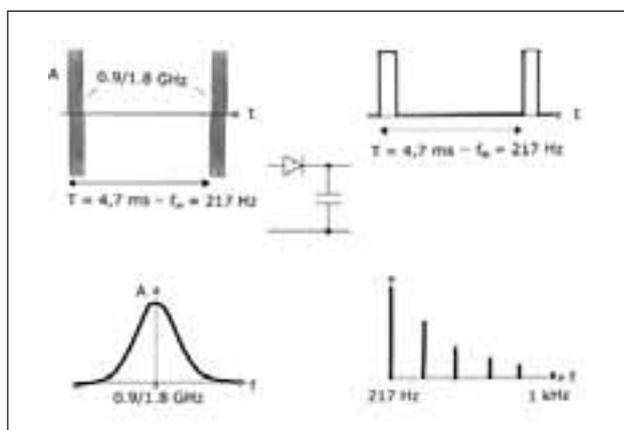


Abb. 1: Spektrum eines GSM-Signals vor und nach einer Gleichrichtung.

Das Spektrum dieses niederfrequent impulsmodulierten hochfrequenten Signals erstreckt sich nur knapp um die Trägerfrequenzen von 0,9 bzw. 1,8 GHz; die Signale der Mobilfunksysteme weisen primär keine niederfrequente Komponente auf (Abb. 1 links). Erst durch eine Gleichrichtung und Tiefpassfilterung kann aus den Mikrowellen-Schwingungen die Umhüllende (Abb. 1 rechts) gewonnen werden. Im Gegensatz zu dem ursprünglichen hochfrequenten Spektrum weist das Spektrum nach der Gleichrichtung nur eine Reihe von niederfrequenten Komponenten auf.

Aus diesem Vergleich lässt sich ableiten, dass der menschliche Körper Gewebestrukturen aufweisen müsste, die die Mikrowellen gleichrichten können, damit hier die Umhüllende wirksam werden könnte.

Aus elektrophysiologischen Untersuchungen ist bekannt, dass die Zellmembran der Neuronen peripherer Nerven und Muskeln für niederfrequente Ströme sich wie ein Gleichrichter schlechter Qualität verhält. Es stellt sich die Frage, inwieweit diese Eigenschaft auch im Mikrowellenbereich wirksam ist.

## 3. Material und Methode

Zur Überprüfung der Gleichrichtung elektrischer sinusförmiger Ströme in der Zellmembran von Neuronen, peripheren Nerven und Muskeln wurden in vivo-Untersuchungen mit 5 Probanden im Alter zwischen 20 und 52 Jahren durchgeführt. Dabei wurden alternativ definierte Punkte des neuromuskulären Systems (motorischer Kortex, periphere Nerven und Skelettmuskeln) mit verschiedenartigen elektrischen Reizen überschwellig stimuliert. Der Erfolg und die Stärke der Stimulation wurde aus der elektrischen Aktivität des innervierten Muskels mittels der Aufnahme des Elektromyogramms (EMG) und des Mechanogramms als mechanische Antwort des versorgten Muskels abgeleitet (Abb. 2). Bei der Bewertung wurde jeweils ein Mittelwert aus 10 EMG- bzw. Mechanogramm-Antworten auf den gleichen Reiz herangezogen.

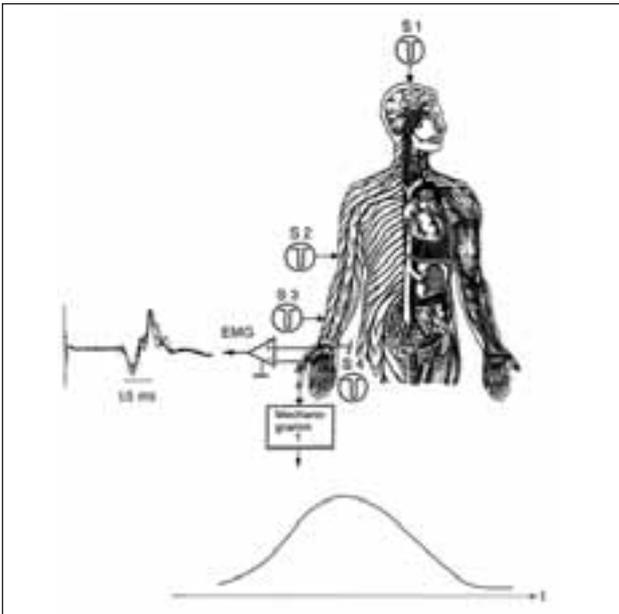


Abb. 2: Alternative Stimulationspunkte des motorischen Kortex (F3/C3 oder F4/C4), des N. medianus oder des M. abductor pollicis brevis mittels der Aufnahme vom EMG und des Mechanogramms.

Zur Applikation verschiedenartiger elektrischer Reize durch die Haut oberhalb der gereizten Nerven- bzw. Muskelfasern wurde eine Koaxialelektrode verwendet (Abb. 3).

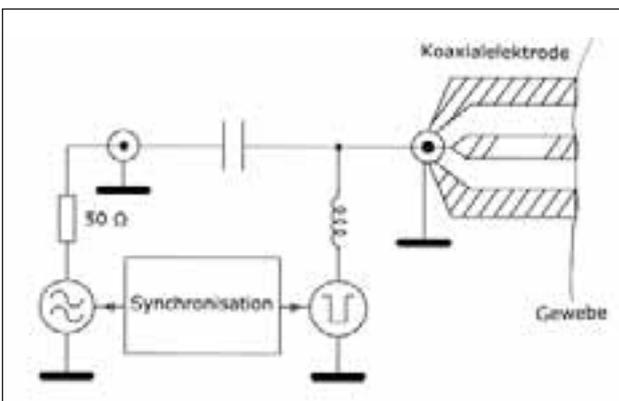


Abb. 3: Koaxialelektrode zur Applikation der Reize von der Körperoberfläche.

Die Beschaltung dieser Koaxialelektrode erlaubte die Applikation von rein sinusförmigen Reizen mit einer Frequenz zwischen 10 Hz und 1800 MHz. Alternativ wurden auch zusammengesetzte Reize, bestehend aus einem sinusförmigen niederfrequenten oder hochfrequenten Konditionierungspaket mit anschließendem rechteckigem Impuls (Abb. 4) verwendet.

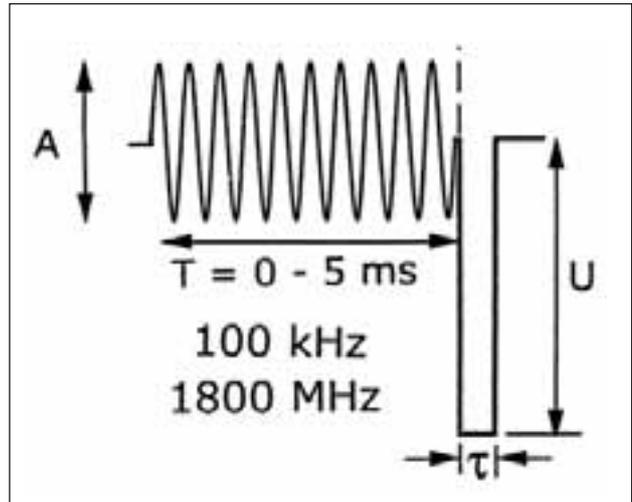


Abb. 4: Zusammengesetzter Stimulus, bestehend aus einem Konditionierungs-Schwingungspaket und einem kathodischen Reiz.

Die jeweiligen Parameter der Reize sind:

- sinusförmige Ströme: Frequenz, Amplitude und Dauer des Paketes
- zusammengesetzte Reize: Frequenz, Amplitude und Dauer der konditionierenden Sinusschwingung sowie Pulsbreite und Amplitude des rechteckigen Impulses.

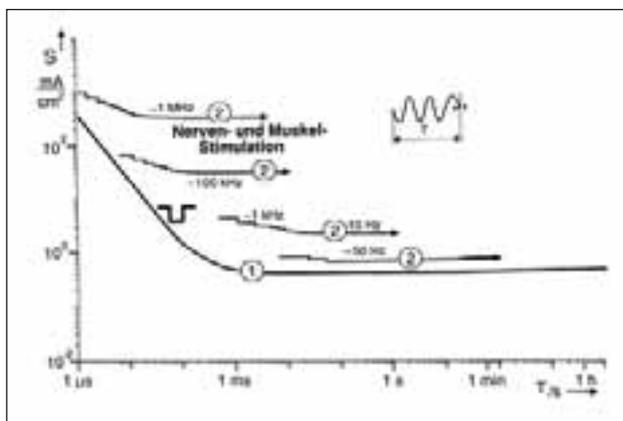
Bei der Applikation eines zusammengesetzten Reizes wurde folgender Versuchsablauf, unter Anwendung einer 100 KHz- und 1800 MHz-Schwingung eingehalten:

1.  $U = 0$   
 $T = 5 \text{ ms}, A = A_S$   
**kein Stimulus**  
 $A_S$  Schwelle für eine erste Stimulation bzw. Wahrnehmung  
 $A_W = 0.9 A_S$   $A_W$  sinusförmiger Strom bewirkt keine Stimulation oder Wahrnehmung
2.  $A = 0$   
 $U = U_{100}$   
 $U_{80}$   
**keine Konditionierung**  
 $U_{100}$  Amplitude für eine supramaximale Antwort  
 $U_{80}$  Amplitude für 80% der supramaximalen Antwort
3. Zusammengesetzter Stimulus für das Erzielen einer Antwort mit 80% der supramaximalen Amplitude  $A_W + (U_{80} \pm \Delta U)$  bei  $T = 0.1 \text{ ms}$ , wobei  $\Delta U$  die gesuchte Größe ist.
4. Die Untersuchung wird für  $T = 0.5, 1, 2$  und  $5 \text{ ms}$  wiederholt.

## 4. Ergebnisse

Die Abb. 5 zeigt beispielhaft die Stimulationsschwelle sinusförmiger Schwingungen bzw. eines kathodischen rechteckigen Reizes bei der Stimulation des Nervus medianus in Abhängigkeit von der Frequenz und Dauer der sinusförmigen Schwingung bzw. des Rechteckimpulses.

Die Stromdichte wurde aus dem eingepprägten Strom und der Elektrodenfläche ermittelt. Bei der Anwendung eines sinusförmigen Reizes steigt die Stimulationsschwelle mit der Frequenz etwa logarithmisch an. Weiterhin ist ersichtlich, dass die Reizschwelle mit der Anzahl der Halbperioden abnimmt. Dieser Effekt ist eindeutig auf die Gleichrichterwirkung in der Zellmembran zurückzuführen. Die Gleichrichterwirkung steigt mit der Frequenz an, im MHz-Frequenzbereich nimmt die Schwelle mit der Dauer der Schwingung sogar um mehr als 50% ab. Alle Schwellen für sinusförmige Schwingungen liegen oberhalb einer Umhüllenden (1), die durch die Stimulationsschwelle entsprechender kathodische Reize gegeben ist.

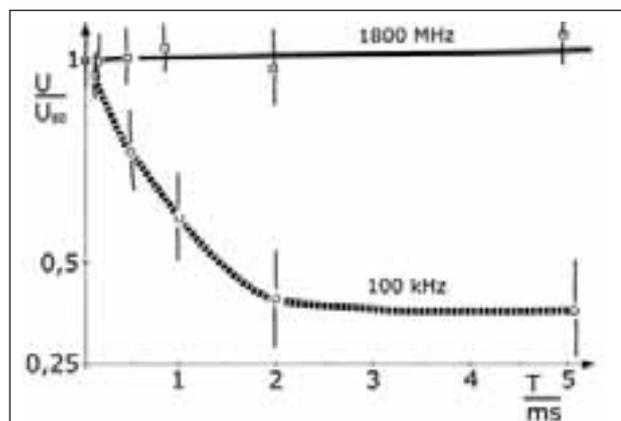


**Abb. 5:** Reizschwelle des sinusförmigen Strompaketes unterschiedlicher Frequenz und Dauer sowie eines kathodischen Rechteckimpulses verschiedener Breite im N. medianus.

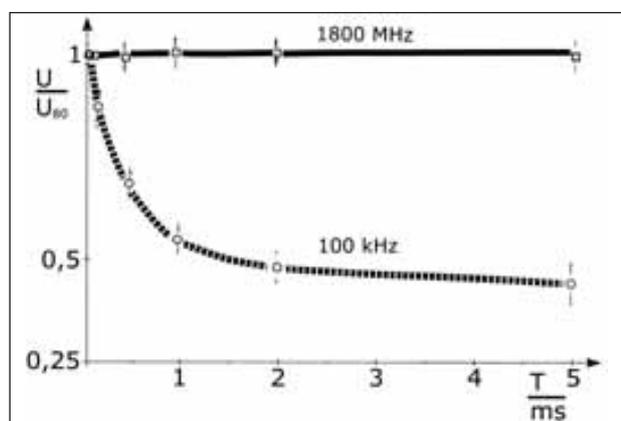
Sinusförmige Schwingungen oberhalb von 5 MHz führen zuerst zu einer Wärme- oder Schmerzempfindung, bevor ein Stimulationserfolg erzielt wird. Bei der Applikation von Mikrowellen mit einer Frequenz von 900 bzw. 1800 MHz wurde nur Wärme- bzw. Schmerzempfindung beobachtet.

Zur Überprüfung einer Gleichrichterwirkung von Mikrowellen wurden deshalb Konditionierungspakete

mit alternativ 100 KHz bzw. 1800 MHz vorgeschaltet. Die Ergebnisse der transkraniellen Stimulation des motorischen Kortex bzw. des Nervus medianus sind in den Abbildungen 6 und 7 zusammengetragen.



**Abb. 6:** Reizung des Motorkortex (F3/C3 oder F4/C4) mit einem zusammengesetzten Reiz bei Konditionierung mit 100 KHz und 1800 MHz, abgeleitet aus der EMG-Ableitung des Muskels abductor pollicis brevis.



**Abb. 7:** Stimulation des Nervus medianus mit zusammengesetztem Reiz und Konditionierung mit alternativ 100 KHz bzw. 1800 MHz. Die Ergebnisse wurden aus der EMG-Ableitung des Muskels abductor pollicis brevis abgeleitet.

Aus beiden Beispielen ist ersichtlich, dass sinusförmige Schwingungen von 100 KHz mit der Dauer des Paketes eine allmähliche Herabsetzung der Stimulationsschwelle zur Folge haben. Dieser Effekt konnte bei der Anwendung von 1800 MHz als Konditionierungsschwingung nicht erzielt werden.

## 5. Diskussion

Die durchgeführten in vivo-Untersuchungen [5, 6] zeigen, dass niederfrequente Ströme in der Zellmembran gleichgerichtet werden und diese damit die Schwelle herabsetzen oder sogar die überschwellige fortgeleitete Erregung direkt einleiten können. Die für die überschwellige Reizung erforderliche Stromdichte steigt mit der Frequenz an; bei Frequenzen oberhalb von 5 MHz tritt zuerst eine Wärme- oder sogar Schmerz-wahrnehmung auf, bevor die darunter liegenden Nerven oder Muskeln erregt werden. Dieses Verhalten der Zellmembran von Neuronen, Nerven und Muskeln ist elektrophysiologisch nachvollziehbar und lässt erwarten, dass bei noch wesentlich höheren Frequenzen nur Wärme, jedoch keine Stimulationseffekte bewirkt werden können.

Die vorgenommenen in vivo-Untersuchungen belegen diese Hypothese; eine Konditionierung der Stimulationschwelle mit 1800 MHz Sinusschwingung ist nicht erkennbar. Unter Berücksichtigung der elektrischen und physiologischen Eigenschaften der Zellmembrane muss davon ausgegangen werden, dass weder einzelne Schwingungspakete noch eine Dauerwelle von Mikrowellen imstande sind, die Reizschwelle in Neuronen, Nerven und Muskeln zu senken oder sogar eine fortgeleitete Erregung einzuleiten. Es muss davon ausgegangen werden, dass die aus den Mobilfunkanlagen im E-Netz in den Körper eingedrungenen hochfrequenten elektromagnetischen Felder in den Zellmembranen nicht gleichgerichtet werden; es entsteht keine niederfrequente Umhüllende, die wirksam werden könnte. Die primär belegte Wirksamkeit der pulsmodulierten Mikrowellen im menschlichen Körper bleibt nach wie vor ihre Wärmeproduktion.

Diese Untersuchungen wurden unterstützt von E-Plus Mobilfunk, Düsseldorf.

## 6. Literatur

- [1] Adey W.R. (1981): Frequency and power windowing in tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields. Proc. IEEE, 58:119.
- [2] v. Klitzing L. (1993): „Elektrosmog“ durch Mobiltelefone – besteht hier eine gesundheitliche Gefährdung? Stadt und Gemeinde 10/1993.
- [3] v. Klitzing L. (1995): Gutachten zu möglichen Gesundheitsgefährdungen im Zusammenhang mit dem Betrieb einer D-Netz-Feststation. Auftraggeber: Gemeinde 52538 Selfkant; Der Gemeindedirektor, Lübeck.
- [4] Casaleggio A., Marconi L., Morgavi G., Ridella S., Rolando C. (1984): Evaluation of ionic fluxes in a cell with nonlinear membrane, stimulated by an electric field. I. of Bioelectricity 3 (182):305.
- [5] Silny J. (1999): Rectification of RF sine wave packages in excitable cells, tested in in vivo-investigations. Proc. IEEE, 15.1:211.
- [6] Silny J. (1999): Gleichrichtung elektromagnetischer Felder an den Zellmembranen. Forschungsbericht, Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (femu) – RWTH Aachen.

## 15 WORLD HEALTH ORGANIZATION

*Dr. MH. Repacholi, Geneva, Switzerland*

### Abstract

With growing concern being expressed that exposure to electromagnetic fields (EMF) may cause various health effects and that everyone in the world, both in developed and developing countries, is now subjected to EMF from manmade sources, WHO established the International EMF Project in 1996 to move towards a resolution to this issue.

Briefly the International EMF Project provides: a co-ordinated international response to the concerns about possible health effects of exposure to EMF; assesses the scientific literature and make status reports on health effects; identifies gaps in knowledge needing further research to make better health risk assessments; encourages a high quality, focused research programme to fill important gaps in knowledge; incorporates research results into WHO Environmental Health Criteria monographs, in which formal health risk assessments of exposure to EMF will be made; provides information on risk perception, risk communication and risk management as they apply to EMF; provides advice and publications to national authorities on EMF issues; and facilitates the development of internationally acceptable standards for EMF exposure. The presentation provides an update of activities and outputs for the International EMF Project.

### Introduction

The World Health Organization (WHO) takes seriously the concerns raised by reports about possible health effects from exposure to electromagnetic fields (EMF), Cancer, changes in behaviour, memory loss, Parkinson and Alzheimer's diseases, and many other diseases have been suggested as resulting from exposure to EMF. Everyone in the world is now exposed to a complex mix of EMF frequencies in the range 0–300 GHz. EMF has become one of the most pervasive environmental influences and exposure levels at many frequencies are increasing significantly as the technological revolution continues unabated and new applications using different parts of the spectrum are

found. Major sources of EMF exposure include: electric power generation, distribution and use; transportation systems; telecommunications facilities and associated devices such as mobile telephones; medical, commercial and industrial equipment; radars; and radio and television broadcast antennas.

### International EMF Project

WHO established the International EMF Project to assess health and environmental effects of exposure to static and time varying electric and magnetic fields in the frequency range 0-300 GHz. The Project commenced at WHO in 1996 and is scheduled for completion in 2005. It has been designed to follow a logical progression of activities and produce a series of outputs to allow improved health risk assessments to be made and to identify any environmental impacts of EMF exposure. The ultimate objectives of the Project are to provide sound advice to national authorities on how best to manage the EMF issues, and to complete health risk assessments that will lead to the development of an international consensus on exposure guidelines. details on the EMF Project are available on the home page at: <http://www.who.ch/emf/>. An overview of the complete EMF Project is shown in figure 1.

WHO, through its International EMF Project, has recently conducted in-depth international reviews of the scientific literature on the biological and health effects of exposure to radiofrequency (RF), and static and extremely low frequency (ELF) fields. These reviews were conducted with the purpose of identifying;

1. health effects that can be substantiated from the literature, and
2. biological effects that are suggestive of possible health effects, but require further research to determine if exposure to EMF at the low levels of exposure normally encountered in the living and working environment has any impact on health.

The results of these reviews have been published (Repacholi, 1998; Repacholi & Greenebaum, 1999). Research still needed to fill these gaps in knowledge form the WHO EMF Research Agenda that is available on the EMF Project home page or from WHO.

Having completed the initial international scientific reviews, WHO is now urging EMF funding agencies world wide to give priority to this research, if it is their intention to obtain results that will assist both WHO and the International Agency for Research on Cancer (IARC) to make better health risk assessments.

Both WHO and IARC have already established a timetable for assessing health effects of EMF fields. In 2001 IARC will conduct a meeting to formally identify and evaluate the evidence for carcinogenesis from exposure to static and extremely low frequency (ELF) fields. IARC will publish the results of this meeting in the IARC Monograph Series. The International EMF Project will accept the IARC conclusions on carcinogenesis and incorporate them into the results of a WHO evaluation of non-cancer health risk assessment of exposure to static and ELF fields in 2002. The results and conclusions will be published in the Environmental Health Criteria series. It is anticipated that sufficient results will be available for IARC to conduct a similar evaluation of evidence for carcinogenicity of RF fields in 2003. WHO would then complete an overall health risk assessment of exposure to RF fields in 2004.

### EMF risk perception, communication and management

International seminars were held in Vienna (October 1997) and Ottawa (September 1998) to discuss application of the principles of risk perception and risk management to EMF fields. The seminars were followed by working group meetings to progress draft report on this topic. The proceedings of the Vienna seminar have already been published by ICNIRP (1998) and the Ottawa meeting proceedings will be published by WHO in 1999. Further publications coming to press concerning this issue will be a WHO monograph and a Handbook. Terms of reference for the monograph are as follows:

Intended for use by governmental and non-governmental authorities, as well as by individuals seeking further information about this topic.  
To foster a better understanding of governmental, non-

governmental, and individual views on EMF issues, how they can be better communicated, and how fruitful resolution of disagreements can be fostered.

Provide an easily readable overview of the characteristics and underlying assumptions of peoples' perceptions of EMF risk, differences between scientific, governmental and popular views, and why these occur. Theoretical concepts of risk perception and risk communication will be presented and explained as necessary to provide context and understanding.

Be practical and provide sufficient information for agencies and organizations to examine their current approaches to EMF and to design better and more effective information and risk management programmes. Information provided should be „use friendly“ and „menu-driven“ (e.g. through extensive indexing) where possible.

This information will be useful to individuals and capable of helping them better understand the process of scientifically-based risk assessment, the approaches and assumptions involved, and their reliability. The Handbook will be a user-friendly, how-to publication with some 40 frequently asked questions answered within a format that is easily read and practical for EMF programme managers who need basic information on EMF risk perception, communication and management.

Both the Monograph and the Handbook should be published in 2000 and will be available through the EMF Project at WHO.

### Further Reading

Repacholi, MH (1998): Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: Health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 19: 1–19, 1998.

Repacholi MH & Greenebaum B (1998): Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: Health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 20: 133–160.

## Fact Sheets

The following WHO Fact Sheets concerning EMF have been published or are being drafted:

Electromagnetic Fields and public Health: The International EMF Project. WHO Fact Sheet #181 Oct. 1997, reviewed May 1998. (Available in English, French, Spanish, German and Russian)

Electromagnetic Fields and public Health: Physical Properties and Effects on Biological Systems. WHO Fact Sheet #182 Oct. 1997, reviewed May 1998. (Available in English, French, Spanish, Italian, German and Russian)

Electromagnetic Fields and public Health: Health Effects of Radiofrequency Fields. WHO Fact Sheet #183 Oct. 1997, reviewed May 1998. (Available in English, French, Spanish, Italian, German and Russian)

Electromagnetic Fields and Public Health: Public Perception of EMF Risks. WHO Fact Sheet #184 Oct. 1997, reviewed May 1998. (Available in English, French, Spanish, Italian, German and Russian)

Electromagnetic Fields and Public Health: Mobile Telephones and their Base Stations. WHO Fact Sheet #193 May 1998. (Available in English, French, Spanish, Italian and Russian)

Video Display Units (VDUs) and Human Health. WHO Fact Sheet #201 July 1998. (Available in English, French, Italian and Spanish)

Electromagnetic Fields and Public Health: Extremely Low Frequency (ELF) Electromagnetic Fields. WHO Fact Sheet #205 November 1998. (Available in English, French, Spanish)

Most published Fact Sheet are now available in English, French, Italian, German, Russian and Spanish. Translation into Japanese, Dutch and Arabic is currently in progress. Translation into other languages would be considered if national authorities could assist. WHO fact sheets are available on the Project home page.

## Press Releases

The following press releases have been published by WHO on the Project:

WHO Launches New International Project to Assess Health Effects of Electric and Magnetic Fields. Press release WHO/42, 4 June 1996.

Electromagnetic fields: Experts met in Vienna to Assess Public Perceptions of Risks. Press release WHO/75, 23 October, 1997.

Health Effects of Electromagnetic Fields: WHO Recommends Research Priorities. Press release WHO/95, 19 December 1997.

Scientists Meet in Moscow to Discuss Adverse Effects of Electromagnetic Fields. Press release WHO/38, 20 May 1998.

WHO launches an initiative to harmonize EMF standards worldwide. Press release WHO/88, 17 November 1998.

All press releases are available in English and French, and some are available in other languages, particularly the language of the city in which the release was issued. Further details can be obtained from the Programme Manager, Health Communications and Public Relations, WHO, Geneva, Tel: +41 22 791 2532, Fax +41 22 791 4858. All WHO press releases can be obtained on the Internet on the WHO Home Page <http://www.sho.ch/>.

## 16 DER EINFLUSS DIGITALER FUNKTELEFONE AUF DAS ELEKTROENZEPHALOGRAMM DES MENSCHEN

*J. Röschke, K. Mann, P. Wagner, Psychiatrische Klinik der Universität Mainz*

### 1. Einleitung

Im Zusammenhang mit der zunehmenden Verbreitung mobiler digitaler Funktelefone ist die Diskussion über eventuelle Gesundheitseffekte der hiervon ausgehenden elektromagnetischen Felder auf den menschlichen Organismus entstanden. Diese neuartigen Kommunikationssysteme arbeiten auf der Basis gepulster hochfrequenter elektromagnetischer Felder im niedrigen Mikrowellenbereich. Die Leistung der handelsüblichen Geräte ist in der Regel viel zu klein, um bei kurzzeitigem Gebrauch thermische Effekte hervorzurufen. Deswegen wird auch seit vielen Jahren versucht, in wissenschaftlichen Untersuchungen einen athermischen Zusammenhang zwischen diesen Wellen und biologischen Systemen herzustellen. Reliabel reproduziert und damit wissenschaftlich nachgewiesen, sind bisher noch keine Effekte. Alle Ergebnisse sind letztendlich sehr heterogen und ein Vergleich miteinander wird dadurch erschwert, dass die experimentellen Bedingungen sowohl in physikalischer als auch in biologischer Hinsicht sehr stark variieren [1], [2], [3], [4], [5]. Gerade Untersuchungen, die an Zellkulturen oder Laborieren durchgeführt werden, sind extrem schwierig auf den Menschen zu übertragen und ein Schluss auf potentielle Gesundheitsgefahren beim Menschen ist nur schwer möglich.

Prinzipiell muss man zwischen thermischen Effekten unterscheiden, die durch Erwärmung des Gewebes infolge der Absorption der abgestrahlten Energie entsteht, und nichtthermischen Effekten unterscheiden. Bezüglich der thermischen Effekte der elektromagnetischen Felder ist der wissenschaftliche Erkenntnisgewinn recht gut. Sie können quantitativ gut abgeschätzt werden und durch entsprechenden Sicherheitsabstand gut kontrolliert werden. Zunehmendes Interesse besteht bei der Erforschung nichtthermischer Effekte schwacher nichtionisierender Strahlung. Hier gibt es ein großes Manko von verfügbaren Daten, speziell beim Menschen und der fundamentale Mechanismus der Interaktion zwischen biologischen Systemen und diesen elektromagnetischen Feldern ist bisher nicht verstanden.

Wir haben Mitte der 90er Jahre eine erste Untersuchung zum Einfluss digitaler Funktelefone, die nach GSM-Standard arbeiten, an gesunden Probanden durchgeführt. Hierbei wurde über einen Expositionszeitraum von 3.5 Minuten die Beeinflussung des Elektroenzephalogramms durch die gepulsten elektromagnetischen Felder gemessen. Solche Experimente müssen immer berücksichtigen, dass das EEG im Laufe einer Untersuchung durch Vigilanzschwankungen der Probanden beeinflusst wird. Berücksichtigt man diese physiologische Veränderung bzw. kontrolliert man die Vigilanz während des Experimentes, kann man mit hoher Reliabilität eine Aussage zum Einfluss der jeweiligen Untersuchungsbedingungen auf das EEG des wachen Menschen machen. In den von uns durchgeführten Untersuchungen ergab sich keinerlei Hinweis dafür, dass die Hirnströme des Menschen unter den genannten experimentellen Bedingungen durch die elektromagnetischen Felder des GSM-Telefons beeinflusst werden.

Ein weiterer Untersuchungsaspekt bezieht sich auf den Schlaf bzw. das Schlaf-EEG gesunder Probanden. Der Schlaf ist prinzipiell ein geeigneter physiologischer Vorgang, um subtile Einflüsse äußerer Beeinflussungen zu erfassen. Einerseits ist der Schlaf ein außerordentlich komplexer rhythmischer biologischer Vorgang, der der Kontrolle des zentralen Nervensystems unterliegt und sehr sensitiv auf äußere Störungen reagiert. Andererseits ist der Schlaf eine besonders gut definierte experimentelle biologische Bedingung, während dessen der Informationsfluss zum zentralen Nervensystem und innerhalb des ZNS deutlich reduziert und der Einfluss von Störfaktoren minimiert ist. Veränderungen in der Schlafarchitektur und in der Schlafeffizienz reagieren sehr empfindlich auf pathologische Prozesse, Medikamente, psychosoziale Stressoren und viele andere Einflussgrößen. Aus diesem Grunde wurden Untersuchungen an Probanden, die über einen Zeitraum von 8 Stunden dem Einfluss eines elektromagnetischen Feldes ausgesetzt waren, das von einem handelsüblichen GSM-Funktelefon erzeugt wurde, durchgeführt. In einer explorativen einfach blinden Studie konnte festgestellt werden, dass der Einfluss des gepulsten elektromagnetischen Feldes auf den Schlaf im Sinne eines hypnotischen und REM-supprimierenden Effektes anzusehen sein könnte. Da wir

vor dieser Untersuchung keinerlei Hypothese formulieren konnten, muss das Ergebnis dieser Untersuchung aus wissenschaftlicher Sicht ein vorläufiges bleiben. Erst wenn in einer weiteren unabhängigen Untersuchung die oben formulierte Hypothese experimentell bestätigt wird, sind die erwähnten Effekte nachgewiesen. Solange dies nicht geschehen ist, kann und darf man keine weitreichenden Schlüsse aus diesen Ergebnissen ziehen.

Es liegt in der Natur der Sache, dass die experimentellen Bedingungen, insbesondere bezüglich der Homogenität eines elektromagnetischen Feldes aus wissenschaftlicher Sicht reproduzierbar sein sollten. Deshalb haben wir in zwei weiteren Untersuchungen zum Einfluss eines GSM-Systems auf den Schlaf eine eigens konstruierte abgeschirmte Ableitkammer benutzt. Diese erfüllte die oben genannten Anforderungen weitgehend. Untersuchungen an gesunden Probanden haben im Prinzip ebenfalls einen Hinweis dafür ergeben, dass unter dem Einfluss des genannten EMF ein REM-supprimierender Effekt zu beobachten ist. Allerdings waren die aufgetretenen Veränderungen statistisch nicht signifikant. Gleichzeitig durchgeführte Untersuchungen der nächtlichen Hormonsekretion (Wachstumshormon, Cortisol, Melatonin) ergaben einen Anstieg der Hormone unter Einfluss des Feldes. Allerdings waren auch hier die Ergebnisse statistisch nicht signifikant. Nur bei einem Teilkollektiv, das mit einem reduzierten Cortisol-Anstieg zu Beginn der Nacht reagierte (reduzierte Stressreaktion), konnte ein statistisch signifikanter REM-suppressiver Effekt zugunsten eines anderen Schlafstadiums nachgewiesen werden.

Um eine Dosis-Wirkungsbeziehung herstellen zu können, wurden Untersuchungen mit submaximaler Feldstärke angeschlossen. Auch hier wurde die bereits erwähnte Ableitkammer herangezogen und die Untersuchungen allerdings ohne Messung der nächtlichen Hormonsekretion bei deutlich erhöhter Feldstärke wiederholt. Zu unserer Überraschung ließ sich unter diesen Umständen überhaupt kein Einfluss des EMF auf Schlafarchitektur und Schlafeffizienz oder Schlaf-EEG nachweisen. Daher kann man einen linearen Zusammenhang zwischen Leistungsflussdichte eines äußeren elektromagnetischen Feldes und Beeinträchtigungen physiologischer Schlafparameter auch nicht herstellen.

## 2. Akute Effekte digitaler Mobiltelefone auf das Wach-EEG des Menschen

### 2.1 Probanden

34 gesunde männliche Probanden zwischen 21 und 35 Jahren (Mittelwert = 27 Jahre, SD = 4 Jahre) nahmen an der Studie teil. Alle Probanden wurden vor der Untersuchung einer detaillierten internistischen und neurologischen sowie psychiatrischen Untersuchung unterworfen. Darüber hinaus wurden EKG, EEG und Routinelaborparameter erhoben. Alle Subjekte waren bezüglich der genannten Parameter unauffällig, waren Nichtraucher und nahmen keinerlei Drogen ein. Der Genuss von Alkohol und Coffein war während der letzten 4 Tage vor der EEG-Untersuchung verboten.

### 2.2 Methode

Die experimentelle Untersuchung wurde in einem schallisolierten, elektrophysiologischen Labor in der Psychiatrischen Klinik der Universität Mainz durchgeführt. In allen Fällen wurde morgens zwischen 9.00h und 12.00h untersucht. Bei jedem Probanden wurden zwei aufeinanderfolgende EEG-Registrierungen über einen Zeitraum von 10 min. durchgeführt. Diese wurden unterbrochen durch kurze Pausen von etwa 30 min., währenddessen die Probanden aufgefordert wurden, umherzulaufen. Letztlich wurde jede EEG-Registrierung in drei Teile geteilt, jede dieser Teile bestand aus 80 aufeinanderfolgende Sweeps von 2.5 s Dauer. Das erste und letzte Drittel jeder Untersuchung diente als Kontrolle der Vigilanz. Während dieser Zeit war das elektromagnetische Feld stets ausgeschaltet. Für die Registrierung der EEG-Aktivität im mittleren Drittel wurde das Telefon jeweils aktiviert, in der anderen Kontrolluntersuchung blieb es auch während dieser Zeit inaktiv. Die Reihenfolge der Verum- bzw. Placebo-Befeldung war randomisiert und für die Probanden nicht erkennbar (einfach blindes Studiendesign).

Das elektromagnetische Feld wurde von einem handelsüblichen digitalen Funktelefon (GSM-System), das in einem Abstand von 40 cm vom Vertex der Probanden positioniert war, abgestrahlt. Es war ein 900

MHz-Feld, gepulst mit einer Frequenz von 217 Hz und einer Pulsbreite von 580 ms. Die abgestrahlte Maximalleistung war 8 W, die hieraus errechnete Leistungsdichte war 0.05 mW/cm<sup>2</sup> im Abstand von 40 cm. Das Telefon wurde aus einem angrenzenden Raum ein- bzw. ausgeschaltet, so dass die Probanden nicht über die experimentellen Bedingungen informiert waren. Die experimentellen Bedingungen wurden mit einer Antenne und einem Oszilloskopen kontrolliert.

Die EEG-Ableitung erfolgte in einer sitzenden Position bei geschlossenen Augen. Die monopolaren EEG-Ableitungen wurden mit Ag/AgCl-Elektroden gemessen, die an den Positionen C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> und am ipsilateralen Mastoid befestigt waren. Die Impedanzen waren in jedem Fall < 5 KOhm, die Erdelektrode befand sich auf der Stirn.

Nach Vorverstärkung wurden die EEG-Signale mit einem Nihon-Kohden-EEG-Gerät (50 Hz Tiefpassfilter, Timekonstante 0.3 s) aufgezeichnet. Jeder EEG-Kanal wurde kontinuierlich auf Papier aufgezeichnet. Für die weitere Computeranalyse wurde nach 45 Hz Tiefpassfilterung (Antialiasing) das Signal mit einer Frequenz von 100 Hz abgetastet und mit einem 12-Bit-AD-Wandler konvertiert. Die Daten wurden auf der Platte eines Rechners gespeichert und in aufeinanderfolgenden Abschnitten jeder aus 256 Datenpunkten bestehend, aufgezeichnet. Die ersten 80 Sweeps einer Untersuchung wurden kontinuierlich aufgezeichnet, danach gab es eine Pause von etwa 15 s, je nachdem ob Verum- oder Placebobedingungen avisiert wurden, wurde danach das Feld ein- bzw. ausgeschaltet und wiederum 80 konsekutive Sweeps aufgenommen. Danach wiederum gab es eine Pause und die letzten 80 Sweeps (letztes Drittel) wurden wieder ohne den Einfluss eines Feldes aufgezeichnet.

Die weitere Computeranalyse wurde off-line durchgeführt, für jeden Sweep wurde die spektrale Leistungsdichte mittels Fourier-Transformation berechnet und hiernach die Spektren aller 80 Sweeps im Frequenzbereich gemittelt. Somit war für jedes Subjekt das erste, mittlere und letzte Drittel durch ein gemittelttes Spektrum repräsentiert. Für die quantitative Beurteilung dieser Spektren wurde die mittlere Leistungsdichte in den Frequenzbändern Delta 1–3.5 Hz, Theta 3.5–7.5 Hz, Alpha 7.5–12.5 Hz, Beta 12.5–18 Hz

durchgeführt. Die weitere statistische Analyse erfolgte durch paarweisen Vergleich der beiden experimentellen Bedingungen unter Anwendung des Wilcoxon-Tests. Statistisch signifikante Differenzen wurden ab einem P-Wert p<0.05 ermittelt.

### 2.3 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Auswertung der mittleren spektralen Leistung in den zuvor beschriebenen Frequenzbändern für das mittlere Segment der Datenaufzeichnung sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Hier sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der gemittelten spektralen Leistungsdichte in dB (0 dB entspricht 1 µV<sup>2</sup>/Hz) für die 34 Probanden dargestellt.

Frequency range	C3/A1		C4/A2	
	Feld aus	Feld an	Feld aus	Feld an
Delta (1–3.5 Hz)	3.89 ± 1.5	3.79 ± 1.56	3.61 ± 1.73	3.42 ± 1.73
Theta (3.5–7.5 Hz)	0.70 ± 1.97	0.62 ± 1.82	0.70 ± 1.86	0.36 ± 1.82
Alpha (7.5–12.5 Hz)	0.94 ± 3.06	1.04 ± 2.73	0.97 ± 3.06	0.86 ± 3.12
Beta (12.5–18 Hz)	-5.12 ± 2.72	-4.99 ± 2.11	-4.47 ± 2.49	-5.64 ± 2.16

**Tab. 1. Mittlere spektrale Leistungsdichte in verschiedenen Frequenzbändern für Feld an/Feld aus-Bedingungen. (mean±standard deviation, n=34, links: C<sub>3</sub>/A<sub>1</sub>, rechts C<sub>4</sub>/A<sub>2</sub>). Keine statistisch signifikanten Differenzen konnten entdeckt werden.**

Der paarweise statistische Vergleich der Daten unter bzw. ohne Feldexposition ergab keinerlei statistisch signifikante Differenzen, weder für die Frequenzbänder, noch für die EEG-Ableitungen. Keine Unterschiede zwischen der rechten und linken Hemisphäre ließen sich eruieren, weder unter Verum- noch unter Placebobedingungen. Darüber hinaus soll darauf hingewiesen werden, dass die gemittelten Spektren im ersten, zweiten und letzten Drittel der EEG-Aufzeichnungen sehr stabil waren. Dies bedeutet, dass wir keinerlei Hinweis für eine Veränderung der Vigilanz beobachten konnten [6], [7].

### 2.4 Diskussion

Die Untersuchung der Effekte gepulster hochfrequenter elektromagnetischer Felder, die von der Antenne eines

digitalen Funktelefons abgestrahlt werden, auf das Wach-EEG des Menschen, ergab keinerlei statistisch signifikante Differenz, weder in den untersuchten Frequenzbändern, noch zwischen den experimentellen Bedingungen [8]. Darüber hinaus fand sich auch kein Hinweis auf eine bimodale Bezeichnung der EEG-Veränderungen, wie sie im Falle einer Differenzierung zwischen elektromagnetisch sensitiven und insensitiven Individuen zu erwarten gewesen wäre.

Zusammengefasst ergab sich also überhaupt gar keine Veränderung der spontanen elektrischen Aktivität während der Aufzeichnungsdauer von 3.5 min. Trotzdem können diese Ergebnisse letztendlich nicht ausschließlich, dass es einen möglichen Effekt der elektromagnetischen Felder auf die Hirnfunktion gibt. Auf der zellulären Ebene sind einige Effekte beschrieben. Hierzu gehören die Störung der Diffusion von Kalzium-Ionen [1], [9], [10], als auch Hinweise für beeinträchtigte Informationsverarbeitung des Zentralnervensystems [2], [4]. Hierbei gilt es zu bedenken, dass das EEG nur ein kleiner Aspekt zur Abbildung zerebraler Funktionen darstellt, mögliche Beeinträchtigung der Hirnfunktionen sind deswegen auch nur teilweise im EEG repräsentiert, so dass wir zwar keine Effekte gefunden haben, aber aus den Ergebnissen der Untersuchungen nicht zweifelsfrei herzuleiten ist, dass es sicher keine Effekte gibt.

### 3. Effekte gepulster hochfrequenter elektromagnetischer Felder auf den Schlaf

#### 3.1 Einleitung

In diesen Studien untersuchten wir den Effekt elektromagnetischer Felder, wie sie von digitalen mobilen Funktelefonen abgestrahlt werden, auf den Schlaf gesunder Probanden. In unserem Studiendesign war die Intensität der Strahlung sehr schwach, d.h. thermische Effekte konnten ausgeschlossen werden. Der Schlaf ist prinzipiell ein geeigneter Prozess, um solche Untersuchungen anzustellen. Auf der einen Seite ist der Schlaf ein sehr komplexer biologischer Prozess, kontrolliert vom zentralen Nervensystem, sehr sensitiv äußeren Einflüssen unterworfen. Obwohl die exakten biologischen Mechanismen der Schlafregulation im letzten Detail nicht bekannt sind, ist die Fol-

ge von Wach- und Schlafzustand ebenso wie die physiologische Feinstruktur des Schlafes notwendige Voraussetzung zur korrekten Informationsverarbeitung des zentralen Nervensystems [11]. Auf der anderen Seite ist der Schlaf eine sehr gut definierte biologische Bedingung, währenddessen viele externe Einflüsse und Stressoren vernachlässigbar sind.

#### 3.2 Methode

14 gesunde Probanden im Alter von 21–34 Jahren (Mittleres Alter  $27.3 \pm 4-2$ ) nahmen an der Studie teil. Jeder Proband verbrachte drei aufeinanderfolgende Nächte im Schlaflabor. Nach einer sogenannten Adaptationsnacht wurden zwei Polysomnographien durchgeführt. Die EEG-Signale wurden mit Ag/AgCl durchgeführt. Die EEG-Signale wurden mit Ag/AgCl gemessen und von den Positionen  $F_z$ ,  $C_z$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ ,  $P_4$ ,  $P_z$  abgeleitet. Alle Elektrodenimpedanzen waren  $<5k\Omega$ . Unipolare EEG-Ableitungen gegen das Mastoid sowie EOG, EMG und das EKG wurden aufgezeichnet.

Ein digitales Funktelefon (Motorola GSM-System) wurde etwa 40 cm vom Vertex der Probanden positioniert. Der Apparat wurde aus einem angrenzenden Raum gesteuert, die abgestrahlte Frequenz betrug 900 MHz, das Feld wurde mit 217 Hz gepulst, die Pulsbreite betrug 580s. Die Leistung betrug 8W, dies entsprach einer geschätzten mittleren Leistungsdichte von  $0.5 \text{ mW/cm}^2$  im Abstand von 40 cm [12].

Die Probanden schliefen um 23.00h, wenn das Licht gelöscht wurde, ein. Die Polysomnographien wurden über 8 Std. aufgezeichnet, zwischen 23.00h und 7.00h. In einer Nacht wurde ein elektromagnetisches Feld appliziert, in der anderen Nacht war das Telefon ausgeschaltet. Die Reihenfolge der Applikation war randomisiert und für die Probanden nicht erfassbar. Neben den physiologischen Parametern wurden Ratingskalen untersucht, um die Qualität des Schlafes und das Befinden am darauf folgenden Tag beurteilen zu können.

Alle Signale wurde mit einer Nihon-Kohden-EEG-Maschine aufgezeichnet (0.3 s Zeit-Konstante, 50 Hz Tiefpassfilter). Die Schlaf-EEGs wurden visuell verblin-

det ausgewertet. Die Schlafstadieneinteilung erfolgte entsprechend den Kriterien nach Rechtschaffen und Kales [13].

Weiterhin wurden die EEG-Signale von der Position C<sub>z</sub>, die mit einer Samplingrate von 100 Hz (12 BIT-ADC) digitalisiert wurden, einer Spektralanalyse unterworfen. Alle Spektren, die zu einem wohldefinierten Schlafstadium gehörten, wurden gemittelt.

Die statistische Analyse der konventionellen Schlaf-EEG-Parameter (Tabelle 2) und der subjektiven Selbstbeurteilungsbögen wurde mittels Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben ausgewertet. Zur Beurteilung der Leistungsdichtespektren wurden die Mittelwerte der spektralen Leistungsdichte in verschiedenen Frequenzbändern analysiert. Für die statistische Auswertung wurde eine ANOVA mit den Schlafstadien und der Feldexposition als Faktoren berechnet. Zuvor wurde die Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnoff-Test nachgewiesen. Differenzen wurden als statistisch signifikant erachtet, wenn ein p-Wert <0.05 erreicht wurde.

**3.3 Ergebnisse**

Die Ergebnisse der konventionellen Schlaf-EEG-Analyse nach Rechtschaffen und Kales sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Der Schlafeffizienzindex war in beiden Untersuchungsbedingungen identisch. Die Einschlaflatenz war signifikant reduziert unter der Exposition des elektromagnetischen Feldes (p<0.005). Die REM-Latenz erschien verlängert, jedoch erreichte diese Veränderung keine statistische Signifikanz. Bezüglich der Schlafarchitektur wurde in den Nächten unter Befeldung eine signifikante Abnahme des prozentualen Anteils an REM-Schlaf beobachtet (p<0.05), während alle anderen Schlafstadien nicht signifikant verändert waren.

	Feld aus	Feld an
Sleep onset latency, min	12.25 ± 5.96	9.50** ± 4.44
Total sleep time, min	470.04 ± 14.11	473.38 ± 12.80
Sleep efficiency index,%	0.95 ± 0.03	0.95 ± 0.03
Number of awakenings	5.17 ± 5.51	4.58 ± 2.61
Awake, %SPT	2.99 ± 3.45	2.95 ± 2.71
Stage I, %SPT	22 ± 2.20	10.22 ± 3.06
Stage II, %SPT	52.98 ± 5.33	54.14 ± 7.03
Slow wave sleep, %SPT	15.70 ± 3.30	16.69 ± 5.86
REM, %SPT	17.07 ± 3.23	13.91* ± 2.88
REM latency, min	84.96 ± 22.69	93.17 ± 27.87

SPT = Sleep period time. \*p<0.05; \*\*p<0.005.

**Tab. 2. Klassische Schlaf-EEG-Parameter (mean ± standard deviation von 12 Probanden)**

Um die spektrale Leistungsdichte des EEG beurteilen zu können, wurde der gesamte Frequenzbereich von 1–20 Hz in Betracht gezogen. Tabelle 3 zeigt die mittlere Leistungsdichte der gemittelten Spektren für jedes Schlafstadium. Die ANOVA-Analyse (Tabelle 4) zeigt einen signifikanten Effekt für die Faktoren Schlafstadien (p<0.001), eine signifikante Interaktion zwischen Schlafstadien und Feldexposition (p<0.05). Der paarweise Vergleich der experimentellen Bedingungen mit und ohne Feld erbrachte in den einzelnen Schlafstadien eine Zunahme der Leistungsdichte während des REM-Schlafes (p<0.05), wohingegen eine abnehmende Tendenz der mittleren Leistungsdichte in allen anderen Schlafstadien und des Stadiums Wach beobachtet wurde. Für eine detaillierte Analyse wurden schmälere Frequenzbänder definiert (Delta 1–3.5 Hz, Theta 3.5–7.5 Hz, Alpha1 7.5–12.5 Hz, Alpha2 12.5–15 Hz, Beta 15–20 Hz). Während des REM-Schlafes konnte ein Anstieg der Leistungsdichte unter Feldexposition in allen Frequenzbändern beobachtet werden, während alle anderen Schlafstadien eine abnehmende Tendenz zeigten.

	Feld aus	Feld an
Awake	-5.846±1.809	-6.563±1.524
Stage I	-8.109±1.323	-8.717±1.121
Stage II	-6.909±1.574	-7.134±1.438
Slow wave sleep	-6.703±1.828	-7.131±1.827
REM	-10.133±1.431	-9.595*±1.606

0 dB entspricht 1 (µV)<sup>2</sup>/Hz. \*p<0.05

**Tab. 3. Mittlere Leistungsdichte der gemittelten Spektren verschiedener Schlafstadien im Frequenzband 1 bis 20 Hz (mean ± standard deviation von 12 Probanden).**

	Sleep stage	Feld	Sleep stage x Feld
Total	37.99***	1.76	3.58*
Delta	162.43***	0.41	1.35
Theta	71.83***	0.43	1.83
Alpha <sub>1</sub>	37.35***	2.40	3.80**
Alpha <sub>2</sub>	36.69***	4.29	4.34**
Beta	83.91***	1.71	1.50

\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

**Tab. 4. F-Werte der ANOVA mit Schlafstadium und Befeldung als „within-subject factors“.**

Keiner der Probanden berichtete über irgendwelche Nebeneffekte während der Untersuchungs Nächte, noch am darauf folgenden Tag. Bezüglich der subjektiv beurteilten Schlafqualität und der Erholung am Morgen konnten keine signifikanten Effekte beobachtet werden. Am Tag nach der Befeldung fühlten sich die Probanden signifikant ruhiger und berichteten über einen höheren Antrieb, verglichen mit den Nächten ohne Befeldung.

In einer Folgestudie wurde die experimentelle Bedingung besser kontrolliert. Mittels eines eigens konstruierten Ableitkanals wurde durch eine Ringantenne unter den Kopfhörern eine Leistungsflussdichte von 0.02 mW/cm<sup>2</sup> realisiert (zirkulär polarisierter EMF). Unter dieser experimentellen Anordnung gab es keinerlei statistisch signifikante Änderungen der Schlafarchitektur. Gleichzeitig wurden Hormonbestimmungen für GH (Wachstumshormon), Melatonin und Cortisol (Stresshormon) durchgeführt. Tendenziell waren die Melatonin- und Wachstumshormonwerte unter Befeldung erhöht, jedoch waren diese Veränderungen sta-

tistisch nicht signifikant. Nur beim Cortisol zeigten sich innerhalb der ersten 90 Minuten unter dem Einfluss des Feldes erhöhte Werte, die sich im Verlauf der Nacht jedoch normalisierten [14].

Schließlich wurde mit der gleichen Vorrichtung submaximale Feldstärke appliziert. Hierunter kam es zu keinerlei Veränderungen der Schlafarchitektur bzw. Schlafeffizienz [15].

## Diskussion

Wir untersuchten den Einfluss elektromagnetischer Felder, die von digitalen Funktelefonen (nach GSM-Standard) abgestrahlt wurden, auf das EEG des Menschen. Im Fall der Wach-EEG konnten wir keinerlei Hinweise dafür finden, dass das Elektroenzephalogramm beeinflusst wäre. Auch konnten wir kein Indiz dafür finden, dass es in dem von uns untersuchten Kollektiv „EMF-sensible“ Probanden gab.

Für das Schlaf-EEG ergab die erste explorative Studie unter naturalistischen Versuchsbedingungen einen Hinweis dafür, dass das EMF einen REM-supprimierenden und Schlaf-induzierenden Effekt haben könnte. In den beiden Folgeuntersuchungen ließen sich die Ergebnisse jedoch nicht replizieren. Nun sind die experimentellen Bedingungen auch nicht völlig identisch, so dass letztendlich eine Replikationsstudie noch aussteht.

Allerdings sollte an dieser Stelle erwähnt werden, dass aus den bisherigen Ergebnissen kein Argument dafür herzuleiten ist, dass diese EMF zu einer Gesundheitsgefährdung führen. Selbst wenn man annimmt, dass sich die o.g. Effekte replizieren lassen, wüsste man immer noch nicht, ob bei chronischer Befeldung ein kumulativer Effekt auftritt. Hierzu wären Untersuchungen zu Langzeiteffekten notwendig. Auch kann man diese Ergebnisse nicht auf die Situation von Basisstationen extrapolieren.

Zusammengefasst liegen also bisher keine Erkenntnisse über ernste gesundheitliche Schäden durch GSM-Systeme vor. Allerdings ist die Grundlagenforschung bisher nicht ausreichend vorangetrieben worden. Dringlichst notwendig sind Untersuchungen zur „elektromagnetischen Hypersensitivität“.

## Literatur

- [1] Badwin, S.M., Kaczmarek, L.K., Adey, W.R.: Effects of modulated VHF fields on the central nervous system. *Ann. NY Acad. Sci.* 1975; 247: 74–81.
- [2] Arber, S.L., Lin, J.C.: Microwave induced changes in nerve cells: effects of modulation and temperature. *Bioelectromagnetics* 1985; 6: 257–270.
- [3] Adey, W.R.: Joint actions of environmental non-ionizing electromagnetic fields and chemical pollution in cancer promotion. *Environ Health. Perspect.* 1990; 86: 297–305.
- [4] Kullnick, U.: Influence of weak nonthermic high-frequency electromagnetic fields on the membrane potential of nerve cells. *Bioelectrochem. Bioenerg.* 1992; 27: 293–304.
- [5] Reite, M., Higgs, L., Lebet, J.P., Barbault, A., Rosset, C., Kuster, N., Dafni, U., Amato, D., Paschek, B.: Sleep inducing effect of low energy emission therapy. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 67–65.
- [6] Coella, W.P.: A modern neurobiological concept of vigilance. *Experientia* 1982; 38: 1426–1437.
- [7] Kugler, J.: Vigilanz – ihre Bestimmung im EEG. *Z. EEG-EMG* 1984; 15: 168–172.
- [8] Röschke, J., Mann, K.: No short-term effects of digital mobile radio telephone on the awake human electroencephalogram. *Bioelectromagnetics* 1997; 18:172–176.
- [9] 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. *Am. J. Physiol.* 1990; 259: C687–C692.
- [10] Dutta, S.K., Gosh, B., Blackman, C.F.: Radiofrequency radiation-induced calcium ion efflux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture. *Bioelectromagnetics* 1989; 10: 197–202.
- [11] Hobson, J.A.: Sleep and dreaming. *J. Neurosci.* 1990; 10: 371–382.
- [12] Mann, K., Röschke, J.: Effects of high-frequency electromagnetic fields on human sleep. *Neuropsychobiology* 1996;33:41–47
- [13] Rechtschaffen, A., Kales, A.: A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Washington, Public Health Service, US Government Printing Office, 1968.
- [14] Mann, K., Wagner, P., Brunn, G., Hassan, F., Hiemke, C., Röschke, J.: Effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on the neuroendocrine system. *Neuroendocrinology.* 1998;67: 139–144.
- [15] Wagner, P., Röschke, J., Hiller, W., Frank, C.: Human sleep EEG under the influence of pulsed radio-frequency electromagnetic fields: Results from polysomnographies using submaximal high power flux densities. *Neuropsychobiology.* 2000; in press.

## AUTOR-ADRESSVERZEICHNIS

---

Prof. Dr. V. Hansen, Bergische Universität/GSH Wuppertal, Fuhlrottstr. 10, 42097 Wuppertal

Dr. M. Burkhardt, Institut für Feldtheorie und Höchstfrequenztechnik, ETH, CH-8092 Zürich

Prof. Dr. G. Obe, Universität Gesamthochschule Essen, Postfach 103 764, 45037 Essen

Dr. F. Gollnick, Physiologisches Institut der Universität Bonn, Wilhelmstr. 31, 53111 Bonn

Dr. R. Meyer, Physiologisches Institut der Universität Bonn, Wilhelmstr. 31, 53111 Bonn

Prof. Dr. L. Vollrath, Anatomisches Institut der Universität, Becherweg 13, 55128 Mainz

Dr. A. Lerchl, Institut für Reproduktionsmedizin der Westfälischen Wilhelms-Universität, Steinfurterstr. 107, 48149 Münster

Dr. F. Stögbauer, Klinik und Poliklinik der Neurologie, Universität Münster i.W., Albert-Schweitzer-Str. 33, 48129 Münster

Prof. Dr. J. Juutilainen, Department of Environmental Sciences, University of Kuopio, P.O. BOX 1627, FIN-70211 Kuopio

Dr. J. Buschmann, Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, Nikolai-Fuchs-Str. 1, 30625 Hannover

Dr. M. Bornhausen, Seestr. 36, 82211 Breitbrunn

Dr. J. F. Spittler, Universitätsklinik/Knappschaftskrankenhaus, In der Schornau 23-25, 44892 Bochum

Prof. Dr. Dr. J. Röschke, Psychiatrische Klinik und Poliklinik, Untere Zahlbacher Str. 8, 55131 Mainz

Prof. Dr. J. Silny, Helmholtz-Institut für Biomedizinische Technik an der RWTH Aachen, Pauwelsstr. 20, 52074 Aachen

Dr. M. H. Repacholi, World Health Organization, CH-1211 Geneva 27

**Bestell-Nr. M 2**

2 · 2[2] · 05 · 03 · 4

Alle Rechte beim Herausgeber

Gedruckt auf umweltfreundlichem, chlorfreiem Papier