

Aus dem Institut für  
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. M. Stangassinger

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. M. Stangassinger

**Einfluss chronischer elektromagnetischer Befeldung mit  
Mobilfunkstrahlen (GSM und UMTS) auf die Integrität der  
Blut-Hirn-Schranke von Ratten.**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Nina Hettenbach  
aus Heilbronn

München 2008

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. M. Stangassinger

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Knospe  
Univ.-Prof. Dr. Dr. Sinowatz  
Univ.-Prof. Dr. Schmahl  
Univ.-Prof. Dr. Peters

Tag der Promotion: 8. Februar 2008

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATUR.....</b>	<b>3</b>
2.1	Aufbau und Blutversorgung des Gehirns .....	3
2.2	Aufbau und Funktion der Blut-Hirn-Schranke.....	7
2.3	Bisherige Untersuchungen zum Einfluss elektromagnetischer Felder auf die Blut-Hirn-Schranke .....	10
2.3.1	In-vitro Untersuchungen nach Bestrahlung der BHS.....	10
2.3.2	In-vivo Untersuchungen nach Bestrahlung der BHS.....	11
2.4	Öffnung der BHS.....	13
2.4.1	Methoden zur Öffnung der BHS .....	13
2.4.2	Messung der Öffnung der BHS in vivo .....	16
2.5	Physikalische Grundlagen elektromagnetischer Felder .....	20
2.6	Biologische Wirkung elektromagnetischer Felder .....	23
2.6.1	Wirkungen niederfrequenter elektrischer und magnetischer Felder .....	23
2.6.2	Wirkungen hochfrequenter elektromagnetischer Felder.....	24
2.7	Grenzwerte.....	26
2.8	Fragestellung .....	27
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>28</b>
3.1	Versuchstiere .....	28
3.2	Allgemeine Haltungsbedingungen.....	28
3.2.1	Haltungsbedingungen der Versuchstiere .....	28
3.2.2	Haltungsbedingungen der Vorversuchstiere .....	30
3.3	Aufbau der Expositionskammern .....	31
3.4	Übersicht über das gesamte Projekt .....	33

3.5	Messung der Integrität der BHS als unidirektionale Influxkonstante .....	34
3.6	Operationsablauf .....	35
3.6.1	Operationsvorbereitungen .....	35
3.6.2	Narkoseeinleitung und Präparation des Versuchstieres .....	36
3.6.3	Injektion von Arabinose als Challenge und Applikation der radioaktiven Marker .....	37
3.6.4	Ex-vivo Untersuchung .....	38
3.7	Statistische Berechnung und Dokumentation .....	40
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>41</b>
4.1	Messung des vaskulären Raumes des Gehirns .....	41
4.1.1	Bestimmung des regionalen Plasmavolumens mit <sup>3</sup> H-Inulin und <sup>14</sup> C-Saccharose .....	41
4.1.2	Erste Messungen des Plasma-Verteilungsvolumens von <sup>3</sup> H-Inulin nach einer Minute .....	42
4.1.3	Verteilungsvolumen von <sup>3</sup> H-Inulin und <sup>14</sup> C-Saccharose .....	43
4.2	Labilisierung der BHS mittels Challenge-Bedingungen .....	47
4.3	Integrität der BHS der bestrahlten Tiere .....	51
4.3.1	K <sub>in</sub> der F0-Generation Gruppe1 nach viermonatiger Exposition .....	51
4.3.2	K <sub>in</sub> F0-Generation, Gruppe2 nach elfmonatiger Exposition .....	54
4.3.3	K <sub>in</sub> der Generation F2 nach viermonatiger Exposition .....	56
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>60</b>
5.1	Diskussion der eigenen Methoden .....	60
5.1.1	Bestimmung des vaskulären Raumes .....	60
5.1.2	Challenge-Methode .....	63
5.2	Vergleichende Betrachtung der publizierten Untersuchungen über die Einflüsse der elektromagnetischen Befeldung auf die BHS .....	67

5.3	Methodisch bedingte Änderung der Permeabilität der BHS .....	69
5.4	Mögliche Interaktion der EMFs mit der BHS .....	73
5.5	Pathophysiologische Konsequenzen einer Öffnung der BHS .....	77
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>79</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>81</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>83</b>
<b>9</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>96</b>
<b>10</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>99</b>
<b>11</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>102</b>
<b>12</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>105</b>

## **1 Einleitung**

Innerhalb der letzten sechs Jahre ist die Anzahl der Mobilfunkteilnehmer in Deutschland von 48 Mio. im Jahr 2000 auf 91 Mio. im Jahr 2007 (Bundesnetzagentur, 2007) gestiegen und hat sich damit innerhalb weniger Jahre fast verdoppelt. Dies verdeutlicht das enorme Wachstum dieses Telekommunikationsmediums. Der Wunsch, überall und jederzeit erreichbar zu sein und größere Datenmengen übertragen zu können, stellt die Netzbetreiber vor immer größere Herausforderungen. Bessere Netzabdeckung durch mehr Antennen und höhere Sendeleistungen sind die Konsequenz. Die damit für den Nutzer verbundenen Belastungen mit elektromagnetischen Strahlen einerseits direkt am Kopf durch das Mobiltelefon und andererseits am ganzen Körper durch die Basisstationen sorgen für Bedenken in der Öffentlichkeit und Uneinigkeit in der Wissenschaft. Nach jahrzehntelanger Forschung wird weiterhin diskutiert, ob und inwiefern die elektromagnetischen Felder mit den in der Mobilfunkindustrie gebräuchlichen Leistungsflussdichten zu Effekten überhaupt und daraus resultierenden gesundheitlichen Schäden führen können. Als sicher gilt, dass elektromagnetische Strahlen mit hohen Energien mittels thermischer Effekte die Gesundheit schädigen können (ICNIRP 1998, D'Andrea 2003).

Das Bundesumweltministerium und das Bundesamt für Strahlenschutz (BfS) führen seit 2002 das Deutsche Mobilfunk Forschungsprogramm (DMF) zum Thema Mobilfunk durch. Inhalte dieses Forschungsvorhabens sind die Bereiche „Biologie“, „Dosimetrie“, „Epidemiologie“ und „Risikokommunikation“. Ziel dieses Programms ist es, grundsätzliche biologische Wirkungen und Mechanismen wissenschaftlich belastbar nachzuweisen und unter Einbeziehung internationaler Forschungsergebnisse deren gesundheitliche Relevanz abzuschätzen. (Bundesamt für Strahlenschutz, 2007). Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurde diese Arbeit durchgeführt, deren Ziel es ist, die Langzeitwirkung der in der Mobilfunktechnologie genutzten hochfrequenten elektromagnetischen Felder auf die Integrität der Blut-Hirn-Schranke (BHS) im Rattenmodell zu untersuchen. Hierbei wurden GSM- (Global System for Mobile Telecommunication) und UMTS-Frequenzen (Universal Mobile Telecommunication System) im Versuchsaufbau mit einer so hohen Feldstärke

gewählt, dass im Körper der Versuchstiere Ganzkörper SAR-Werte (Spezifische Absorptionsrate) von 0,4 W/kg erreicht wurden. Dies entspricht dem maximal zulässigen Grenzwert für beruflich strahlenexponierte Menschen, empfohlen von der ICNIRP (International Commission of Non-Ionizing Radiation Protection). Um auch potentielle teratogene Effekte der elektromagnetischen Felder auf die BHS zu erfassen, wurde die Befeldung über mehrere Generationen durchgeführt.

Das zentrale Nervensystem (ZNS) reagiert in biologischer Hinsicht äußerst sensibel auf pathologische Reize und hat aus diesem Grund eine äußerst wirksame Schutzbarriere, die Blut-Hirn-Schranke, entwickelt. Deren Funktion ist es, das Gehirn vor toxischen Substanzen abzuschirmen und ein konstantes Mikromilieu für die Neuronen aufrecht zu erhalten. In bisherigen Untersuchungen zur Permeabilität der BHS nach Bestrahlung mit EMF wurden sehr kontroverse Ergebnisse veröffentlicht. Von diesen unterscheidet sich unsere Untersuchungsmethode durch die Kombination einer quantitativen Messmethode für die Integrität der BHS mit den sogenannten Challenge-Bedingungen, einer Methode zur Labilisierung der BHS. Um eine geringfügige Öffnung der BHS, die physiologisch sein könnte, von strahlenbedingten relevanten Beeinträchtigungen zu unterscheiden, wird eine quantitative Methode, die Messung der unidirektionalen Influxkonstante ( $K_{in}$ ) verwendet. Die Challenge-Bedingungen sollen die Nachweisempfindlichkeit für Strahleneffekte auf die BHS erhöhen. Durch die Kombination der Strahlenbelastung und der Vorbelastung der BHS durch die Challenge-Bedingungen soll die Messmethode sensitiviert und die Aussagekraft der Ergebnisse erhöht werden.

## **2 Literatur**

Im folgenden Kapitel werden die für ein besseres Verständnis der später angewandten Untersuchungsmethoden wichtigen grundlegenden anatomischen und physiologischen Kenntnisse des Gehirns und der Blut-Hirn-Schranke genauer beschrieben.

### **2.1 Aufbau und Blutversorgung des Gehirns**

Das Gehirn, Encephalon, der Säugetiere bildet zusammen mit dem Rückenmark, Medulla spinalis, das Zentralnervensystem (ZNS). Das Gehirn liegt umschlossen von den Hirnhäuten, Meningen, in die Schädelhöhle, Cavum cranii. Es wird unterteilt in das Großhirn, Cerebrum, das Kleinhirn, Cerebellum und den Hirnstamm, Truncus encephali. Im Bereich des Foramen magnum geht der Hirnstamm in das Rückenmark über. Das komplette ZNS wird von Liquor cerebrospinalis umgeben. Der anatomische Aufbau und die Funktion des ZNS sind bei allen Säugetieren vergleichbar und werden im Folgenden hinsichtlich der Ontogenese der einzelnen Hirnabschnitte aus dem Neuralrohr von caudal nach rostral beschrieben.

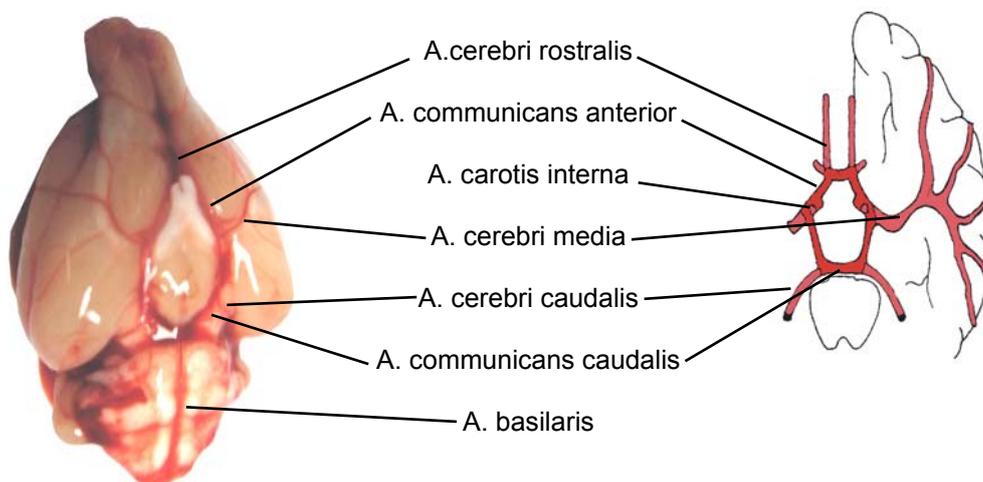
Der Hirnstamm stellt die rostrale Fortsetzung des Rückenmarkes dar. Aus ihm entspringen acht Gehirnnerven, außerdem befinden sich hier wichtige auf- und absteigende Bahnsysteme und die Steuerung zahlreicher vitaler Lebensvorgänge, wie Kreislauf- und Atemregulation. Sein caudalster Abschnitt bildet das gegenüber dem Rückenmark deutlich verbreiterte Mark, Medulla oblongata. An die Medulla oblongata schließt sich rostral die Brücke, Pons an, an die dorsal das Kleinhirn, Cerebellum gekoppelt ist. Das Cerebellum ist mit dem Hirnstamm über die vorderen Kleinhirnstiele und das vordere Marksegel, die mittleren Kleinhirnstiele, sowie über die hinteren Kleinhirnstiele und das hintere Marksegel verbunden. Seine Funktion ist vor allem die Regelung des Gleichgewichtes und der Gesamtmotorik. Vor der Brücke schließt sich das Mittelhirn, Mesencephalon, an. Dieses dient bei den Säugetieren hauptsächlich als Bindeglied zwischen Rauten- und Vorderhirn, als Schaltstelle der Hör- und Sehbahn zu Zwischen- und Endhirn, sowie als Koordinationsorgan der Motorik, dessen Tätigkeit aber von übergeordneten Zentren weitgehend gesteuert

wird. Das rostrale Ende des Hirnstammes und damit das Bindeglied zum Endhirn, Telencephalon, bildet das Zwischenhirn, Diencephalon. Hierzu gehören der Hypothalamus, Subthalamus und das Thalamoencephalon. Das Thalamoencephalon stellt die zentrale Sammelstelle dar, die mit wenigen Ausnahmen alle afferenten Erregungen durchlaufen, bevor sie an die Großhirnrinde übermittelt werden. Es wird in Thalamus, Epithalamus und Metathalamus unterteilt. Das Endhirn, Telencephalon besteht aus den zwei Hemisphären und einem unpaaren Mittelstück, dem Telencephalon medium. Dieses verbindet die beiden Hemisphären, beziehungsweise deren Binnenräume, die Seitenventrikel untereinander und mit dem Zwischenhirn. Zusätzlich werden die Hemisphären über den Hirnbalken, den Corpus callosum miteinander verbunden. Jede Hemisphäre setzt sich aus dem außen gelegenen Hirnmantel, Pallium, und den innen gelegenen Ganglienhügel mit dem Corpus striatum zusammen. Der Hirnmantel besteht aus zwei phylogenetisch alten Anteilen, dem Paleopallium und dem Archipallium und einem jüngeren Mantelabschnitt, dem Neopallium. Erstere verkörpern das ursprüngliche Riechhirn, Rhinencephalon, zu welchem auch die so genannten Riechkolben, Bulbi olfactorii zählen. Ursprünglich war die Funktion des Großhirns hauptsächlich auf das Riechen ausgerichtet, im Laufe der Evolution der Wirbeltiere wurden ihm in zunehmendem Maße weitere Aufgaben, wie das Speichern und Modulieren von Sinneseindrücken, die bewusste Wahrnehmung und die Gedächtnisfunktion, übertragen (Nickel et al., 1991).

### **Blutversorgung des Gehirns**

Die Hauptgefäße zur arteriellen Versorgung des Gehirns sind die Aa. carotis internae und die Aa. vertebrales. Diese beiden Arterienpaare bilden an der Hirnbasis durch Anastomosen einen Arterienring, den Circulus arteriosus cerebri oder auch Circulus willisii genannt siehe Abbildung 1. Diese anatomische Besonderheit ermöglicht bis zu einem gewissen Grad eine kontinuierliche Blutversorgung des Gehirns auch im Falle pathologischer arterieller Minderdurchblutung, zum Beispiel durch Thromben oder Embolien verursacht, wenn diese vor dem Zirkulus willis auftreten. Die A. carotis interna entsteht aus der Teilung der A. carotis communis, in die A. carotis interna und externa. Sie gelangt durch den Canalis caroticus in die Schädelhöhle und gibt hier ein Gefäß zum Auge ab, die A. ophthalmica. Die A. carotis interna teilt sich in die A. cerebri media und rostralis. Erstere versorgt die lateralen Anteile und letztere die

medialen Anteile der Hemisphären, mit Ausnahme gewisser Anteile des Temporal- und Occipitallappens. Diese werden von den Aa. vertebrales dextra et sinistra versorgt, welche von caudal durch das Foramen magnum in die Schädelhöhle gelangen. Dort vereinigen sie sich zu der A. basilaris. Diese entsendet Äste zum Hirnstamm, A. cerebelli inferior posterior u. anterior und dem Kleinhirn, A. cerebelli superior. Dann teilt sich die A. basilaris in die Aa. cerebri posteriores und diese in die Aa. occipitales mediales und laterales auf und versorgt somit die caudalen Bereiche des Großhirns und bestimmte Bereiche des Zwischenhirns. Die blutabführenden Venolen und Venen, liegen unabhängig von den Arteriolen und Arterien und werden durch ein ventrales und ein dorsales Venensystem, d.h. durch die ventralen und dorsalen Blutleiter, die Sinus durae matris ventralis et dorsalis abgeleitet. In die Blutleiter münden die Vv. cerebri, die Vv. cerebelli, die Vv. ophtalmicae internae, die Vv. meningae und die Vv. dipolicae. Dorsales und ventrales Sinussystem stehen intrakranial durch den Sinus sigmoideus miteinander in Verbindung. Über die Drosselgruben, Venae jugulares, sowie über kleinere Venusplexus gelangt das Blut zurück zum Herzen (Nickel et al., 1991).

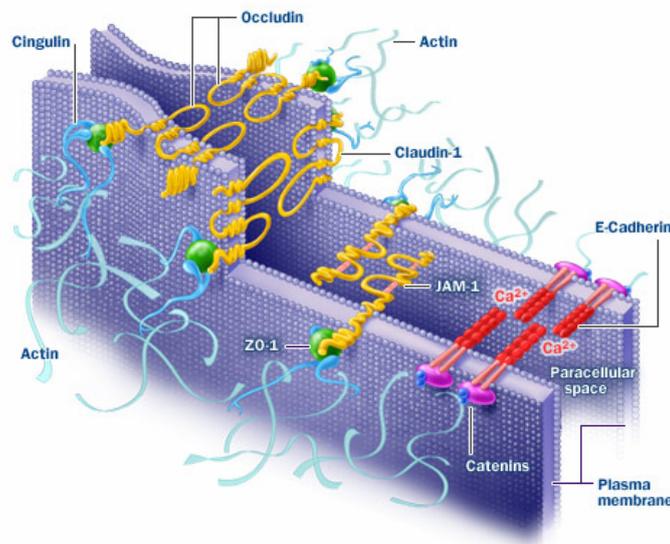


**Abbildung 1: Schematische Darstellung der Blutversorgung des Gehirns. Anastomosen der A. carotis interna mit der A. vertebralis bilden den so genannten Ciculus arteriosus willisii. (re. Abb. modifiziert nach <http://www.ims.uni-stuttgart.de/phonetik/joerg/sgtutorial/blutversorgung.html>)**

Obwohl das Gewicht des Gehirns nur etwa 2 % des Gesamtorganismus beträgt, liegt der Energiebedarf des Gehirns bei ungefähr 15 % des Gesamtbedarfs. Dieser hohe Ruheumsatz muss durch eine besondere Blutversorgung unabhängig vom systemischen Blutkreislauf gewährleistet sein. Schon geringe Durchblutungsstörungen können große pathologische Konsequenzen haben. Die Durchblutung des Gehirns liegt durchschnittlich bei ca. 50 ml/100 g Hirngewebe pro Minute, der Sauerstoffverbrauch bei 3 ml/100 g/min und der cerebrale Perfusionsdruck (CPP) bei circa 100 mmHg. Dieser errechnet sich aus dem mittleren arteriellen Druck (MAP), der bei der Ratte physiologisch um die 100-120 mmHg beträgt, minus des intrakraniellen Drucks (ICP), der im Normbereich unter 10 mmHg liegt. Blutdruckänderungen des MAP von 60-130 mmHg können allein von der zerebralen Autoregulation durch die großen Arterien des Gehirns kompensiert werden. Darüber und darunter vermag diese allerdings nicht mehr den cerebralen Blutfluss konstant zu halten. Das bedeutet, dass bei einem Blutdruckabfall des MAP von unter 60 mmHg eine cerebrale Perfusion nicht mehr stattfindet. (Klinke und Silbernagel, 2000).

## 2.2 Aufbau und Funktion der Blut-Hirn-Schranke

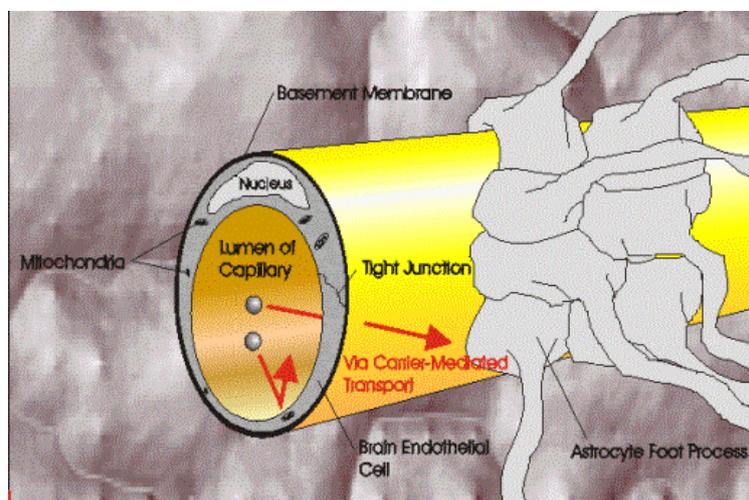
Die Grenze zwischen Blutkreislauf und ZNS wird von zwei Systemen gebildet, der Blut-Hirn-Schranke (BHS) und der Blut-Liquor-Schranke (BLS). Die BHS wird von den Endothelzellen der Hirnkapillaren gebildet, die durch so genannte tight junctions miteinander verbunden sind (Reese und Karnovsky, 1967; Brightman und Reese, 1969). Die tight junctions bestehen aus einem Netzwerk dreier transmembraner Proteine (Claudine, Occludine, Junction adhesion molecules (JAM)) und einer Reihe zyttoplasmatischer Proteine (zum Beispiel ZO-1, ZO-2, ZO-3, Zingulin), die mit einem Aktin-Cytoskelett miteinander verbunden sind. Ein Modell ist in Abbildung 2 abgebildet. Der genaue Aufbau der tight junctions ist noch nicht vollständig geklärt (Kniesel und Wolburg, 2000).



**Abbildung 2: schematische Darstellung der an der Bildung von tight junctions beteiligten Proteine. (Abb. von [http://www.nastech.com/nastech/junctions\\_biology](http://www.nastech.com/nastech/junctions_biology))**

Die Endothelzellen sind auf der abluminalen Seite zu 99 % von den Ausläufern der Astrozyten umgeben siehe Abbildung 3. Dies führte zu der Annahme, dass die Astrozyten für die Barrierefunktion der BHS verantwortlich sind. Sie tragen zwar maßgeblich dazu bei, ihre eigentliche Aufgabe besteht jedoch in der Versorgung der

Neuronen mit Nährstoffen und in der Regulation der extrazellulären Ionenkonzentrationen (Abott, 2002). Außerdem wurde durch in-vitro Studien gezeigt, dass die Astrozyten die Beschaffenheit der BHS beeinflussen können. Die Astrozyten sezernieren bestimmte Faktoren, die in einer anderen Phänotypausprägung der Endothelzellen resultieren. In Cokulturen aus Astrozyten und Endothelzellen wurde so eine höhere Dichtigkeit der BHS gemessen, als in Endothelmonokulturen (Raub et al., 1992). Zusätzlich zu den Astrozyten befinden sich an der abluminalen Seite der Endothelmembran Perizyten. Sims (2000) beschreibt, dass sie auf Grund ihres Kontraktionsvermögens an der Regulation des Blutflusses beteiligt sein könnten. Außerdem stabilisieren sie die Blutgefäße und deren Barriereigenschaften und sind Vorreiter der Angiogenese (Sims, 2000).



**Abbildung 3: Schematische Darstellung der BHS. Endothelzellen der Blutkapillaren bilden untereinander tight junctions aus. (<http://users.ahsc.arizona.edu/davis/bbb.htm>)**

Die hohe Barriere-Funktion der BHS wird durch die nicht vorhandene Fenestration der Endothelzellen und einen Mangel an Pinozytotischen Vesikeln erreicht. Hieraus erfolgt ein außergewöhnlich hoher transendothelialer elektrischer Widerstand des Kapillarendothels des Gehirns. Dieser beträgt bei der Ratte ca.  $1500\text{-}2000\ \Omega/\text{cm}^2$ . Im Vergleich dazu beträgt der Widerstand der Muskelkapillaren nur circa  $30\ \Omega/\text{cm}^2$  (Butt et. al., 1990). So können nur lipophile Stoffe wie zum Beispiel Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ), Kohlenstoffdioxid ( $\text{CO}_2$ ), fettlösliche Vitamine, Diazepam, Nikotin, Heroin transzellulär über die BHS diffundieren. Die Fähigkeit eines Moleküls, die BHS zu überschreiten, ist von dessen Größe, Gewicht, Ladung und Dissoziationsgrad abhängig. Die

passive Permeabilität für eine Substanz über die BHS kann mit deren Oktanol/Wasser-Koeffizienten beschrieben werden, solange für sie kein spezifischer Transporter besteht (Ohno et al., 1978). Die Aufnahme wichtiger Substanzen wie Glucose und bestimmter Aminosäuren aus dem Blut ins Gehirn wird durch spezielle Transportsysteme gewährleistet.

Die BHS schützt die Neuronen gegen neurotoxische Stoffe im Blut. Außerdem sorgt sie für eine kontinuierliche Zufuhr von lebensnotwendigen Stoffen wie Sauerstoff, Glucose und bestimmten Aminosäuren. Sie ermöglicht dem Gehirn ein eigenes unabhängiges Mikroklima innerhalb des Gesamtorganismus. Eine Fehlfunktion der BHS führt zum Verlust der Homeostase und damit zur Fehlfunktion und möglichen Degeneration der Neuronen. Da die Regenerationsfähigkeit des Nervengewebes bei Säugetieren, im Gegensatz zu niederen Tieren relativ gering ist, können zerstörte Neuronen nicht mehr ersetzt werden, was gleichzeitig einen Funktionsverlust bedeutet. Im Verlauf verschiedener Krankheiten wie Alzheimer, HIV1, multiple Sklerose, cerebrale Malaria und bakterielle Enzephalitis kann eine Öffnung der BHS beobachtet werden (Hau et al., 2004).

Einige wenige Bereiche des Gehirns, deren Funktion davon abhängt, dass ein freier Austausch von neuroendokrinen Stoffen ins Blut möglich ist (unter anderem Corpus pineale, Eminentia mediana, Neurohypophyse, Area postrema, Organum vasculosum laminae terminalis, Subfornikalorgan), besitzen keine BHS (Duvernoy und Risold, 2007).

Die andere Grenze zwischen Blut und ZNS ist die Blut-Liquor Schranke. Diese besteht aus zwei zusammenarbeitenden Systemen, den tight junctions des Plexus choroideus, die im Gegensatz zur BHS nicht von den Endothel- sondern den Epithelzellen gebildet werden und den tight junctions der Arachnoidea (Rapoport, 1976).

## **2.3 Bisherige Untersuchungen zum Einfluss elektromagnetischer Felder auf die Blut-Hirn-Schranke**

Seit dem Beginn Mobilfunktechnik vor über 50 Jahren, und der Einführung des C-Netzes in Deutschland 1984 und der damit verbundenen rasanten Ausbreitung der Mobiltelefone werden mögliche Auswirkungen elektromagnetischer Felder in nichtthermischen Dosen auf die BHS untersucht. Noch immer ist nicht bewiesen, ob es tatsächlich Effekte gibt und wie sie entstehen. Eine viel untersuchte und gleichzeitig umstrittene Frage ist, ob die Bestrahlung des Gehirns zu einer Änderung der Integrität der BHS führt und dadurch eine Gefahr für den Organismus besteht. Sowohl mit Hilfe von in-vitro als auch von in-vivo Versuchen wird intensiv an diesem Thema geforscht.

### **2.3.1 In-vitro Untersuchungen nach Bestrahlung der BHS**

Das Ziel ist es mit Hilfe von in-vitro Untersuchungen ein möglichst authentisches Zellmodell der BHS zu entwickeln und dieses zu untersuchen. So soll die Wirkungsweise der Strahlen aus dem biologischen Gesamtorganismus herausgelöst verstanden werden. Die bisherigen Ergebnisse unterschiedlicher Untersuchungen kommen zu keinem einheitlichen Ergebnis. Schirmacher (Schirmacher et al., 2000) konnte einen Strahleneffekt auf die Integrität der BHS nachweisen. Nach einer kontinuierlichen GSM Befeldung über vier Tage mit einer Frequenz von 1,8 GHz, gepulst, und einer SAR von durchschnittlich 0,3 W/kg stieg die Saccharose-Permeabilität in der exponierten Gruppe um das Zweifache im Vergleich zur Kontrollgruppe an. Als Zellkulturmodell diente hierfür eine Kombination aus Rattenendothelzellen und porcinen Astrozyten. In einer anderen Studie wurden Strahleneffekte auf Zellen gemessen, welche laut Autor auch bei einer Bestrahlung der BHS möglich seien (Leszczynski et al., 2002). Nach einer Befeldung von Endothelzellen mit GSM 900 MHz Strahlen, gepulst und einer SAR von 2 W/kg über 60 min, konnte eine Änderung des Phosphorylierungs-Zustandes einer Anzahl größtenteils nicht identifizierter Proteine nachgewiesen werden. Eines dieser Proteine war das Hitzeschock-Protein 27 (Hsp27), dessen Phosphorylierung und

Grad der Expression nach der Mobilfunk-Exposition vorübergehend stiegen. Franke et al. (2005) versuchten in einer weiteren in-vitro Studie die Ergebnisse Schirmachers zu reproduzieren und konnten unter Verwendung eines verbesserten BHS-Modells mit einer erhöhten Grunddichtigkeit gegenüber Saccharose keine Effekte der Bestrahlung auf die Permeabilität der BHS nachweisen.

### **2.3.2 In-vivo Untersuchungen nach Bestrahlung der BHS**

Auch mit Hilfe von in-vivo Versuchen konnte bislang keine einheitliche Meinung zur Auswirkung der Strahlen auf die Integrität der BHS gefunden werden. So gibt es zahlreiche Arbeiten, die Strahleneffekte nachweisen konnten (Frey et al., 1975; Oscar und Hawkins, 1977; Sutton und Carrol, 1979; Albert und Kerns, 1981; Lin und Lin, 1980; Lin und Lin, 1982; Goldman et al., 1984; Williams et al., 1984; Neilly und Lin, 1986; Neubauer et al., 1990; Moriyama et al., 1991; Persson et al., 1992; Salford et al., 1994; Ohmoto et al., 1996; Salford et al., 2003) und eine Vielzahl von Arbeiten, in denen keine Effekte gemessen wurden (Merritt et al., 1978; Preston et al., 1979; Preston und Prefontain, 1980; Chang et al., 1982; Gruenau et al., 1982; Ward et al., 1982; Williams et al., 1984; Ward und Ali, 1985; Fritze et al., 1997; Tsurita et al., 2000; Finnie et al., 2001; Finnie et al., 2002; Finnie 2005, Cosquer et al., 2005; Finnie et al., 2006; Masuda et al., 2007).

Bei der Mehrheit derjenigen Arbeiten, in denen ein Effekt gemessen werden konnte, kann auf Grund der gewählten Expositionsparameter nachträglich davon ausgegangen werden, dass es als Folge der elektromagnetischen Befeldung zu einer Erwärmung des bestrahlten Gewebes und dadurch zu einer Öffnung der BHS kam (Sutton und Carrol, 1979; Lin und Lin, 1980; Lin und Lin, 1982; Goldman et al., 1984; Williams et al., 1984; Neilly und Lin, 1986; Moriyama et al., 1991; Ohmoto et al., 1996). In einigen Versuchen wurde zusätzlich zur Bestrahlung die Auswirkung einer steigenden Körpertemperatur der Tiere auf die BHS gemessen und festgestellt, dass eine Öffnung der BHS häufig ab einer Körpertemperatur von 42,5 bis 43,5°C auftritt (Lin und Lin, 1982). Dieser Temperaturanstieg kann durch erhöhte SAR-Werte erreicht werden. Anfangs kann das Tier durch eine gesteigerte Wärmeabgabe den Temperaturanstieg durch Bestrahlung ausgleichen und es treten keine Effekte auf, wird die Bestrahlung länger durchgeführt oder mit einer höheren Leistung, so ist eine

höhere Wärmeabgabe nicht möglich und es können Effekte gemessen werden (Lin und Lin, 1980, Lin und Lin, 1982; Williams et al., 1984).

Hinzu kommt, dass auch Unterschiede in der Messmethode zu Effekten führen können. So kann allein Stress bei der Untersuchung der Tiere eine Beeinflussung der BHS bewirken und als Strahleneffekt gedeutet werden (Frey et al., 1975; Oscar und Hawkins, 1977). Weiter räumte Oscar (Oscar et al., 1981) ein, dass die von ihm gewählte Methode zur Untersuchung der Permeabilität der BHS vom cerebralen Blutfluss abhängig ist und daher zu positiven Ergebnissen in seinem Versuchsaufbau geführt haben könnte.

Untersuchungen von Lin und Lin (1982) ergaben, dass Strahleneffekte bis zu einem gewissen Grad reversibel sind. So konnten sie direkt im Anschluss an eine 20minütige Bestrahlung mit 2450 MHz und  $3 \text{ W/cm}^2$  eine erhöhte Permeabilität der BHS messen, allerdings nur wenn die Gewebetemperatur im Gehirn auf bis zu  $44 \text{ }^\circ\text{C}$  gestiegen war. Wurde vor der Euthanasie eine 20minütige Erholungsphase eingehalten, so trat dieser Effekt nicht auf. Sie vermuten, dass die neuropathologische Relevanz einer solchen kurzzeitigen Öffnung der Blut-Hirn-Schranke wahrscheinlich gering sei.

## **2.4 Öffnung der BHS**

Die Integrität der BHS kann durch bestimmte Krankheiten beeinträchtigt werden. Zu diesen gehören zum Beispiel Morbus Alzheimer, Multiple Sklerose, HIV-induzierte Demenz, Meningitis, Traumata und bestimmte Hirntumore. Die Dichtigkeit der BHS kann auch mit zunehmendem Alter sinken (Preston, 2001). An einer gezielten Öffnung der BHS wird in der Medizin zur effizienteren Therapie von Krankheiten des Gehirns geforscht. Hier gelingt es kaum via systemischer Applikation hydrophile Wirkstoffe in therapeutischen Dosen im Gehirn anzureichern. Daher wird seit langem intensiv an Methoden geforscht, die eine Umgehung oder selektive Öffnung der BHS möglich machen. Dies gelingt bisher auf wenigen, sehr destruktiven Wegen, z.B. durch Hypertension, extreme Kälte oder Hitze, Hypoxie und Ischämie und ist daher für die therapeutische Nutzung ungeeignet. Eine weniger invasive Methode ist die osmotische Öffnung der BHS. Diese Methode wird daher seit einigen Jahren auch erfolgreich in der Tumortherapie am Menschen verwendet (Neuwelt et al., 1991; Rapoport, 2000).

### **2.4.1 Methoden zur Öffnung der BHS**

#### **2.4.1.1 Osmotisch**

Die osmotische Öffnung der BHS ist eine physikalische Methode und wurde zuerst von Rapoport (Rapoport et al., 1980) beschrieben. Hierbei werden hyperosmolare Lösungen, wie z.B. Harnstoff, Mannitol oder Arabinose über die A. carotis interna in das Gehirn infundiert. Mit der Entdeckung der tight junctions als Verbindung der Endothelzellen der Gehirnkapillaren untereinander vermutete man daher, dass eine osmotische Schrumpfung der Endothelzellen und dem dadurch auf die tight junctions wirkenden Zug diese weiten würde und dadurch die BHS geöffnet werden könne (Rapoport 1970, Rapoport et al., 1972). Mittels Elektronenmikroskopie wurde schließlich nachgewiesen, dass elektronendichte Marker tatsächlich durch die tight junctions ins Gehirn diffundieren (Dorovini-Zis et. al., 1984). Heute wird daher als Wirkungsmechanismus für die osmotische Öffnung der BHS angenommen, dass es

zu einer Schrumpfung der Endothelzellen und infolgedessen zu einer partiellen Öffnung der tight junctions kommt.

Zu Beginn der Injektion einer hyperosmolaren Lösung wird den Gehirnzellen Wasser osmotisch entzogen. Bei einer ausreichenden Infusionsdauer und Konzentration der Infusionslösung wird die BHS schließlich geöffnet. Daraufhin fließt das Wasser mit hoher Geschwindigkeit und in größerer Menge als zuvor ausgetreten auf Grund des hohen Druckgradienten zwischen intravasalem und interstitiellem Raum aus dem Plasma ins Gehirn zurück. Dies wird als der so genannte „bulk flow“ bezeichnet. In Verbindung mit der Flüssigkeit werden große und kleine Moleküle ins Gehirn eingeschwemmt und es entsteht ein vasogenes Ödem (Rapoport et al., 1980; Neuwelt et al., 1980b; Zilyan et al., 1984; Robinson und Rapoport, 1987; Robinson und Rapoport, 1990). Die Öffnung der tight junctions beträgt ca. 200 Å (Robinson und Rapoport, 1987). Im Einklang damit können Substanzen mit einem hydrodynamischen Radius von 100 Å in das Gehirn diffundieren (Neuwelt et al., 1994a). Die Untersuchung der BHS hat ergeben, dass die osmotische Öffnung reversibel ist, jedoch findet man unterschiedliche Zeitangaben, wann die Integrität der BHS wieder vollständig hergestellt ist. Rapoport (Rapoport, 1996) gibt an, dass die BHS nach nur zehn Minuten post infusionem größtenteils und nach zwei Stunden wieder vollständig intakt ist.

Konzentration, Volumen, Infusionsdauer und Temperatur der infundierten Lösung sind wichtig für den Grad der Öffnung der BHS und die Reproduzierbarkeit der Methode. Bei sonst konstanten Versuchsbedingungen lässt sich der Grad der Öffnung über die Konzentration variieren. Rapoport (Rapoport et al., 1980) gibt als „threshold“ (Grenzwert für die Öffnung der BHS, bei dem bei 50 % der Ratten das Gehirn mit Evansblue angefärbt ist) 1,6 mol/l Arabinose an. Bei höheren Konzentrationen wurde in seinen Untersuchungen die BHS geöffnet, bei Konzentrationen unter 1,4 mol/l blieb sie geschlossen. Diese Angaben treffen nur für bestimmte Parameter, nämlich einem Infusionsvolumen von 3,6 ml, einer Infusionsdauer von 30 s und einer Temperatur der Infusionslösung von 37 °C zu. Mit steigender Infusionsdauer erniedrigt sich die Konzentration der Lösung, die nötig ist, um die BHS zu öffnen. So genügt bei einer zweiminütigen Infusion eine 1,0 mol/l Arabinoselösung. In Tierversuchen wird meist Arabinose oder Mannitol zur Herstellung der hyperosmolaren Lösung verwendet. Arabinose besitzt im Vergleich

zu Mannitol eine höhere Löslichkeit und birgt daher eine geringere Gefahr der Bildung von Mikrokristallen (Tomiwa et al., 1982; Salahuddin et al., 1988; Rapoport et al., 1980). Während des Versuches ist streng darauf zu achten, dass der mittlere arterielle Blutdruck MAP nicht über 160 mmHg steigt, da dann eine Regulation des kranialen Blutdrucks nicht mehr möglich ist und eine Öffnung der BHS durch Hypertension auftreten kann (Rapoport, 1976). Die Öffnung der BHS ist in den Versorgungsgebieten der A. carotis interna am ausgeprägtesten, die Versorgungsgebiete der A. vertebralis (Medulla, Pons) werden meist weniger stark geöffnet. Durch die einseitige Infusion der hyperosmolaren Lösung werden größtenteils nur die Areale der Infusionsseite geöffnet. Die Ausnahme bilden zentral gelegene Areale wie zum Beispiel das Cerebellum, die gelegentlich beidseits geöffnet werden. Das Ausmaß des so genannten crossovers, das heißt des Übertritts und der Wirkung der Infusionslösung auf die contralaterale Infusionsseite sind abhängig vom systemischen Blutdruck des Tieres, des Infusionsdrucks und der Infusionsrate abhängig (Jeppsson und Olin, 1960). Daher ist die Reproduzierbarkeit der Methode für die Versuchsergebnisse entscheidend. Die Öffnung der BHS mittels dieser Methode ist nicht selektiv und kann somit zum Eindringen potentiell schädlicher Substanzen aus dem Blut ins Gehirn führen.

### 2.4.1.2 Weitere Methoden zur Öffnung der BHS

Eine weitere Methode der Öffnung der BHS ist die Applikation von Bradikinin. Dieses bindet an den B2-Rezeptoren der luminalen Seite des Endotheliums. Es wird vermutet, dass als Folge die freie intrazelluläre Calcium (Ca)-Konzentration steigt, der Aktin/Myosin-Komplex in der Zelle aktiviert wird, welcher mit den transmembranen Proteinen Occludin und Claudin verbunden ist, und somit die tight junctions geöffnet werden (Begley, 2004).

Weitere Substanzen, die die BHS vorübergehend öffnen können, sind Alkylglycerole (Lee et al., 2002; Erdlenbruch et al., 2003). Neuere Versuche beschäftigen sich mit der Modulation der BHS mittels thermischer Strahleneffekte und Ultraschall. Die Vorteile hierbei sind die schnelle Öffnung der BHS, die hochgradige Reversibilität, sowie die Möglichkeit den Fokus nur auf die zu behandelnden Hirnareale zu richten (Begley, 2004). Hitze- und Kälte-Traumata des Hirngewebes führen zu einer Öffnung der BHS, eine Methode die häufig als Referenzmöglichkeit für die Positivkontrolle in

Versuchen verwendet wird. Außerdem gibt es viele biologisch aktive Substanzen, die bei bestimmten Krankheitsbildern freigesetzt werden und zu einer Labilisierung der BHS führen können, wie zum Beispiel Histamin, Serotonin, SubstanzP, Adenosin Nukleotide, Arachidonsäure und ihre Metabolite, freie Sauerstoffradikale, Calziumblocker, Cytokine, Tumornekrose Faktor alpha und Platelet activating Faktor.

## 2.4.2 Messung der Öffnung der BHS in vivo

Paul Ehrlich entdeckte 1885 die BHS durch die Injektion verschiedener Farbstoffe in den Kreislauf von Tieren. Dabei stellte er in den anschließenden histologischen Untersuchungen fest, dass einige dieser Farbstoffe zwar in fast allen Organen, jedoch nicht im Gehirn zu sehen waren. Auch heutzutage ist die Messung der Integrität der BHS über die Injektion von Markern und der Bestimmung ihrer Extravasation eine gängige Methode. Als Marker werden radioaktiv markierte Substanzen (Saccharose, Mannitol, Inulin), Farbstoffe (Evansblau, Trypanblau, Fluoreszin) oder Enzyme (Meerrettichperoxidase) verwendet. Man unterscheidet qualitative und quantitative Methoden.

### 2.4.2.1 Quantitative Messmethoden der Permeabilität der BHS

Bei der intravenösen Applikation von Markern unterscheidet man die so genannten single pass- und die continuous-uptake Methoden. Pharmakokinetisch muss bei beiden unterschieden werden, ob der Marker unidirektional in das Gehirn aufgenommen wird, also nur vom Plasma ins Gehirn übertritt, oder ein bidirektionaler Fluss des Markers auftritt. Letzteres tritt ab einer gewissen Dauer des Versuches immer auf. Bei der single pass Methode wird ein Marker in die A. carotis interna injiziert und nach nur einer Passage des Markers durch das cerebrale Kapillarbett (5-15s) dessen Übertritt in das Gehirn untersucht.

Ein single pass Verfahren ist die **Indikator Diffusions Methode** (Chinard et al., 1955), die zuerst von Crone auf das Gehirn angewendet wurde (Crone, 1963; Crone, 1965a). Hierbei werden gleichzeitig ein Marker und eine nicht gehirngängige Referenzsubstanz ( $^{22}\text{Na}$ , Evansblau-Albumin) injiziert. Nach nur einer Passage durch

das Gehirn wird die Menge des übergetretenen Markers mittels der folgenden Gleichung bestimmt:

$$E = \frac{C_{ref} - C_{test}}{C_{ref}}$$

$E$  = Extraktionskoeffizient des in das Gehirn übergetretenen Markers

$C_{ref}$  = Konzentration der Referenzsubstanz in der Injektion

$C_{test}$  = Konzentration des Markers im venösen Blut

Da die Konzentration des Markers im venösen Blut des gesamten Gehirns bestimmt wird, eignet sich diese Methode nicht zur Untersuchung unterschiedlicher Gehirnareale (Oldendorf, 1970).

Eine weitere Methode ist die **Brain Uptake Index (BUI)** Technik (Oldendorf, 1970). Sie funktioniert nach dem gleichen Prinzip wie die Indikator Diffusions Methode, mit dem Unterschied, dass hierbei eine Referenzsubstanz verwendet wird, welche uneingeschränkt über die BHS diffundieren kann (zum Beispiel  $^3\text{H}_2\text{O}$ ,  $^3\text{H}$ -Ethanol). Marker und Referenzsubstanz werden als Bolus injiziert und nach 5-15 s wird der Versuch mittels Dekapitation beendet. Die Konzentrationen des Marker und der Referenzsubstanz im Gehirn und in der Injektionsflüssigkeit werden miteinander verglichen und daraus der BUI errechnet, somit ist mit Hilfe dieser Methode auch die Untersuchung verschiedener Gehirnareale möglich.

$$\text{BUI} = 100 \times \frac{C_{test(\text{brain})} / C_{ref(\text{brain})}}{C_{test(\text{inj.})} / C_{ref(\text{inj.})}}$$

$C_{test}$  = Markerkonzentration im Hirngewebe (brain)/ in der Injektion (inj.)

$C_{ref}$  = Referenzkonzentration im Hirngewebe (brain)/ in der Injektion (inj.)

Nachteil beider Methoden ist, dass die Bestimmung des cerebralen Blutflusses nötig ist. Hinzu kommt, dass die single pass Methoden wenig sensitiv in der Bestimmung gering permeabler Substanzen wie L-Glucose, Saccharose und Inulin sind (Ohno et al., 1978). Dieses Problem wird durch Anwendung der continuous-uptake Methoden behoben. Hierbei passiert der Marker mehrmals den Blutkreislauf, erst dann wird die Konzentration der Testsubstanz im Gehirn bestimmt.

Ohno et al., 1978 führten die **unidirektionale Influxkonstante**  $K_{in}$  ein, die vom cerebralen Blutfluss weitgehend unabhängig ist. Ein radioaktiv markierter Marker wird in die A. carotis interna injiziert und dessen Konzentration im Plasma vom Zeitpunkt 0 bis zum Zeitpunkt T (Euthanasie) gemessen. Hieraus erfolgt die Berechnung des Intergrals der Plasmakonzentration von 0-T. Da für die Berechnung die Konzentration des Markers nur im Hirngewebe benötigt wird, muss die Konzentration des noch im vaskulären Raum des Gehirns befindlichen Markers abgezogen werden, hierfür gibt es verschiedene Methoden. Das Gefäßsystem kann mit reichlich Kochsalzlösung gespült und dadurch der Marker aus dem vaskulären Raum geschwemmt werden, oder ein zweiter Marker wird zur Bestimmung des vaskulären Raumes hinzugenommen. Die Berechnung der  $K_{in}$  erfolgt mit Hilfe der folgenden Formel:

$$K_{in} = \frac{C_{br} - C_i}{\int_0^T C_{pl}(t) dt}$$

$C_{br}$  = Marker-Radioaktivität pro Einheit Gehirnmasse

$C_i$  = Marker-Radioaktivität im vaskulären Raum pro Einheit Gehirnmasse

$C_{pl}$  = Marker-Radioaktivität pro Einheit Plasmavolumen

Der Testmarker sollte so gewählt werden, dass er im Organismus nicht abgebaut oder ausgeschieden wird und für ihn kein spezieller Transporter über die BHS existiert. Um einen parazellulären Transport des Markers über die BHS zu gewährleisten, muss er ein möglichst geringes Molekulargewicht besitzen und hydrophil sein,  $^{14}\text{C}$ -Saccharose erfüllt alle diese Anforderungen. Der Zeitpunkt T muss so gewählt werden, dass einerseits genügend Marker durch die BHS diffundieren kann und andererseits kein Reflux auftritt. Einziger Nachteil dieser Methode ist der hohe Aufwand zur Bestimmung des vaskulären Raumes. Bei der **Multiple-Time Regression Analysis** (Patlak et al., 1983; Blasberg et al., 1983) wird auf die Bestimmung des cerebralen Plasmaraumes verzichtet. Die  $K_{in}$  wird grafisch zu verschiedenen Zeitpunkten abgetragen. Ein Nachteil dieser Methode ist, dass eine größere Anzahl an Tieren benötigt wird (Begley, 1999).

Bei der **In situ Brain Perfusion Methode** (Takasato et al., 1984) wird die systemische Durchblutung des Gehirns einseitig oder beidseitig durch kontinuierliche Infusion einer Lösung, die den Marker enthält, ersetzt. Die Aufnahme des Markers ist hierdurch unabhängig von Änderungen des Blutflusses und Blutdrucks. Die Analyse erfolgt nach Dekapitation des Versuchstiers.

$$K_{in} = \frac{C_{br} - C_i}{C_{pl}(T)}$$

$C_{br}$  = Marker-Radioaktivität pro Einheit Gehirnmasse

$C_{pl}$  = Marker-Radioaktivität pro Einheit Perfusionslösung

$C_i$  = Marker-Radioaktivität im Gefäßbett der untersuchten Hirnprobe

T = Dauer der Perfusion

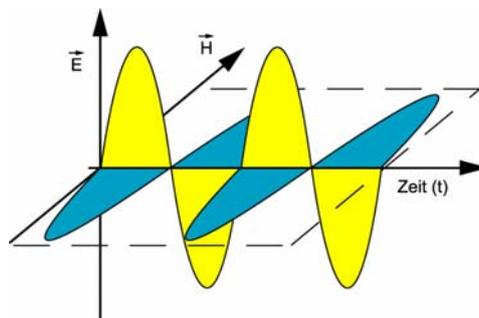
Wie bei der Berechnung der  $K_{in}$  kann durch viele Versuche mit unterschiedlicher Dauer die Bestimmung des vaskulären Raumes mittels Extrapolation erfolgen. Die Methode ist technisch sehr aufwändig, aber sehr genau, wobei die Übertragbarkeit der hiermit gemessenen Ergebnisse auf natürliche physiologische Bedingungen fraglich ist.

Eine weniger invasive Methode ist die **single injection external registration** Methode nach Raichle, 1976. Hierbei wird die Konzentration von  $\gamma$ - oder Positronen emittierenden Radionukliden mit einem externen Detektor gemessen (Raichle et al., 1976).

## 2.5 Physikalische Grundlagen elektromagnetischer Felder

Elektromagnetische Felder (EMFs) oder elektromagnetische Wellen (EMWs) können sowohl natürlichen als auch künstlichen Ursprungs sein. Sie bestehen aus einer elektrischen und einer magnetischen Komponente. Je nach Frequenz unterscheidet man niederfrequente Felder  $<30$  kHz und hochfrequente Felder  $>30$  kHz. Letztere werden weiter unterteilt in Radiowellen  $<300$  MHz, Mikrowellen  $<300$  GHz, Infrarotstrahlung  $<300$  THz, Licht  $<800$  THz, UV-Strahlung  $<30$  PHz und ionisierende Strahlung. Die Mobilfunkstrahlen gehören zu den Mikrowellen mit Frequenzen zwischen 900 und 2100 MHz.

EMWs transportieren Energie. Das Maß für die Stärke der Hochfrequenzstrahlung ist die Leistungsflussdichte  $S$  in Watt pro Quadratmeter [ $W/m^2$ ]. Sie ist das Produkt aus der elektrischen Feldstärke  $E$  [ $V/m$ ] und der magnetischen Feldstärke  $H$  [ $A/m$ ]. Für eine punktförmige Strahlenquelle gilt, dass  $E$  und  $H$  bei ungestörter Ausbreitung mit dem Abstand  $r$  zu der Quelle um den Faktor  $1/r$  abnehmen. Die Leistungsflussdichte des EMF nimmt dementsprechend mit zunehmender Entfernung um den Faktor  $1/r^2$  ab. Die EMW benötigt kein Trägermedium und breitet sich mit Lichtgeschwindigkeit im Raum aus. In Abhängigkeit von der Entfernung zur Strahlenquelle spricht man von Nahfeld oder Fernfeld. Im Fernfeld stehen der elektrische und magnetische Feldvektor senkrecht aufeinander und sind phasengleich.  $S$ ,  $E$  und  $H$  stehen in einem festen Verhältnis zueinander, siehe Abbildung 4.



**Abbildung 4** Zeitlicher Verlauf des elektrischen und magnetischen Feldstärkevektors im Modell der linearen Welle (Abb. Grundlagen EMF <http://www.emf-portal.de/ifu.php?l=g>)

Die Zusammenhänge von E und H im Nahfeldbereich sind weitaus komplexer, weil ihre Maxima und Minima, anders als im Fernfeld, nicht zeitgleich an denselben Orten in Ausbreitungsrichtung auftreten. Im Nahfeld kann die Struktur des EMF sehr inhomogen sein, das heißt, es können in manchen Bereichen fast reine E-Felder, in anderen fast reine H-Felder auftreten. Für die Strahlenbelastung durch Basisstationen des Mobilfunks ist nur das Fernfeld relevant. Dieses beginnt je nach Dimension der Antenne und Fokussierung der Strahlen im Abstand von einigen Metern. Der Nahfeldbereich der Antenne ist für Personen nicht zugänglich. Bei der Strahlenbelastung durch Mobiltelefone herrschen jedoch Nahfeldbedingungen.

### **Übertragung von Informationen durch Mobilfunk**

Jede EMW wird charakterisiert durch ihre Frequenz, Amplitude und ihren Phasenzustand. Demzufolge kann man digitale Daten mit Hilfe der Frequenz- (FM), Amplituden- (AM) oder Phasenmodulation auf die Trägerwelle übertragen. Die Modulation kann kontinuierlich (Radio) und gepulst, nur in bestimmten Zeitfenstern, auftreten.

In der mobilen Telekommunikation werden Daten nur zwischen Mobiltelefon und der nächstgelegenen Basisstation über Radiowellen übertragen. Von der Basisstation werden diese Daten via Leitungen oder Richtfunk zum Vermittlungs- oder Zentralrechner übertragen. Jede Basisstation versorgt ein definiertes Areal, die so genannte Zelle. Je nach Bedarf ist diese kleiner (in der Stadt) oder größer (in ländlichen Gegenden). Das Mobiltelefon hält kontinuierlich Kontakt zu der nächstgelegenen Basisstation. Je näher sich diese befindet, desto niedriger ist die Sendeleistung des Mobiltelefons und damit die Strahlenbelastung für den Benutzer. Die Basisstation strahlt in einem bestimmten Winkel in vertikaler Richtung ab. Das bodennahe Umfeld wird also weniger belastet als die Umgebung in einigen Metern Entfernung. Die Leistungsflussdichte des EMF ist abhängig von der elektrischen Sendeleistung und der Abstrahlcharakteristik der Antenne.

Die heute in Europa gebräuchlichen Mobilfunkübertragungssysteme sind GSM (Global System for Mobile Communication) und UMTS (Universal Mobile Telecommunication System). GSM sendet auf Frequenzen von 900 und 1800 MHz im Frequenz- oder Zeitmultiplexverfahren. Bei ersterem senden Mobilfunkgeräte und

Basisstation auf unterschiedlichen Frequenzen, beim Zeitmultiplexverfahren senden die Mobilfunkteilnehmer in bestimmten Zeitfenstern. Das heute übliche Verfahren TDMA (Time Division Multiple Access) unterteilt eine Sekunde in 217 Informationsperioden, so genannte Frames. Diese wiederum werden in acht Timeslots unterteilt, wobei der erste immer der Regulation und Kontrolle für den Mobilfunkbetreiber dient und die übrigen sieben der Übertragung der Gesprächsinformationen. Der Mobilfunkteilnehmer sendet immer ein gepulstes Feld, da nur jedes achte Zeitfenster alle 4,7 ms mit seinen Informationen belegt ist. Je nach Bedarf kann eine Basisstation mit einer unterschiedlichen Anzahl von Kanälen mit Frequenzbändern von 200 kHz ausgestattet werden. Einer dieser Kanäle dient der Kontrolle und ist kontinuierlich in allen Zeitfenstern belegt, die Basisstation sendet somit kontinuierlich. Die durchschnittliche Sendeleistung einer GSM Basisstation beträgt 30-50 W.

UMTS sendet auf Frequenzen zwischen 1900-2170 MHz. Ein Frequenzband besteht aus 5 MHz, dadurch wird eine weitaus höhere Datenübertragungsrate ermöglicht. Bei UMTS werden die Daten aller Mobilfunkteilnehmer codiert und können so kontinuierlich und gleichzeitig übermittelt werden. Die UMTS Basisstation sendet mit einer durchschnittlichen Sendeleistung von 10-30 W (Bayerisches Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz, 2007).

## 2.6 Biologische Wirkung elektromagnetischer Felder

In biologischen Organismen gibt es eine Vielzahl von elektrischen und elektrochemischen Vorgängen, welche prinzipiell durch elektrische und magnetische Felder beeinflusst werden können. Je nach Frequenz, Intensität und Modulation der Strahlung kann es zu unterschiedlichen biologischen Effekten kommen. Außerdem spielen Eigenschaften wie Körperform, Größe und Wassergehalt eine wichtige Rolle.

### 2.6.1 Wirkungen niederfrequenter elektrischer und magnetischer Felder

Niederfrequente Felder bewirken eine Verschiebung von Ladungsträgern. Übersteigt die Stromdichte die für ein Aktionspotential nötige Reizschwelle einer Zelle, so führt dies zu einer Erregung oder Stimulation der Zelle. Die Reizauslösung ist abhängig von Verlauf, Dauer und Frequenz des einwirkenden Feldes, die Minima der Reizschwelle liegen zwischen 10 und 500 Hz. Unterhalb von einer Stromdichte von 10 mA/m<sup>2</sup> sind keine wissenschaftlich abgesicherten, biologischen Wirkungen bekannt. Akute Gefahren für die Gesundheit durch Erregung der Nerven-, Muskelbeziehungsweise Herzfunktion treten bei örtlichen Körperstromdichten von mehr als 100 mA/m<sup>2</sup> auf. Verschiedene biologische Effekte sind in Tabelle 1 beschrieben.

**Tabelle 1: Wirkung niedrig frequenter elektrischer Felder im menschlichen Körper (Tab. Grundlagen EMF <http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g>)**

Wirkungen	Körperstromdichte am Wirkungsort in mA/m <sup>2</sup>
<b>deutliche Gesundheitsgefahren</b> , Störung des Herzrhythmus, Herzkammerflimmern, Überschreiten der Loslassschwelle	> 1.000
<b>Gesundheitsgefahren möglich</b> , Veränderungen in der Erregbarkeit der Zellen, Reizschwellen	> 100
Belästigung und Beeinträchtigung des Wohlbefindens durch wiederholte Sinneswahrnehmung (optisch, Schmerz etc.)	> 10 – 100
Keine gesicherten Effekte beim Menschen	< 10
Natürliche Stromdichte in Organen und umgebenden Geweben wie z.B. Herz, Skelettmuskel und Gehirn	< 1.000

Niederfrequente magnetische Felder induzieren im Körper elektrische Wirbelströme, die zu unterschiedlichen Stromdichten im Körper führen. Die Stärke der induzierten Ströme hängt ab von der Frequenz, der magnetischen Flussdichte und der Ausdehnung des Feldes sowie der Fläche des durchdrungenen Körperquerschnitts. Schwellen belegter biologischer Wirkung niederfrequenter Magnetfelder sind die Wahrnehmung von Flicker-Effekten an der Peripherie des Seefeldes. Mit einer erstzunehmenden Gefährdung der Gesundheit ist zum Beispiel durch Reizung des Herzmuskels bei 500.000  $\mu\text{T}$  im magnetischen 50 Hz-Feld zu rechnen (EMF-Portal, 2007).

### **2.6.2 Wirkungen hochfrequenter elektromagnetischer Felder**

Hochfrequente EMFs werden in biologischen Geweben absorbiert. Die Energieübertragung erfolgt dabei frequenzabhängig über Polarisierung, Schwingungen permanenter Dipole, Rotationsschwingungen von Molekülen und Verschiebung freier Ladungsträger. In Folge von Reibungsverlusten entsteht Wärme, die zu einer Temperaturerhöhung einzelner Körperteile oder des ganzen Körpers führen kann. Die SAR [W/kg] ist die pro Zeiteinheit im Gewebe absorbierte Energie und damit die Basisgröße zur Beurteilung thermischer Wirkung von Hochfrequenzstrahlung. Wird die absorbierte Leistung über den Körper gemittelt, ergibt sich die GK-SAR, für eine Teilexposition ergibt sich die lokale bzw. TK-SAR (EMF-Portal, 2007).

#### **2.6.2.1 Absorption in Abhängigkeit der Frequenz**

Die Absorption von Hochfrequenzstrahlung ist abhängig von der Geometrie und Anatomie des Körpers, den elektrischen und dielektrischen Eigenschaften einzelner Körpergewebe, aber auch von der Frequenz und Polarisierung der Wellen sowie der Feldart. Im Bereich bis etwa 30 MHz ist die Wellenlänge (ca. 10 m) viel größer als der menschliche Körper, hier ist das Absorptionsvermögen gering und die Eindringtiefe der Strahlen groß. Im Frequenzbereich von 30-300 MHz entspricht die Wellenlänge (10-1 m) in etwa der Größe des menschlichen Körpers, hier wird die maximale Energiemenge absorbiert, man spricht von der so genannten Resonanzfrequenz. Im Frequenzbereich von 300 MHz bis 300 GHz liegt die

Wellenlänge im Bereich von 1000-1 mm. Da die Eindringtiefe der Strahlung mit steigender Frequenz abnimmt, dominiert in diesem Frequenzbereich die Teilkörpererwärmung an der Oberfläche. Bei der Übertragung von Ergebnissen aus Tierversuchen auf den Menschen muss beachtet werden, dass die Resonanzfrequenz der hochfrequenten Strahlung beim Menschen zwischen 70-200 MHz, bei der Maus hingegen bei ungefähr 2,45 GHz liegt (ICNIRP, 1998). Im Bereich von 400-3000 MHz kann es durch Strahlenreflexion an Organ- und Gewebeschichten zu lokalen Erwärmungen im Körper kommen, den so genannten hot spots. Erst bei Frequenzen über 1,2 PHz, entspricht einer Wellenlänge von 250 nm, enthält das EMF eine so hohe elementare Energie, dass es Bindungen zwischen Atomen und Molekülen lösen, freie Ladungsträger verschieben und Atome polarisieren kann. Man spricht auch von ionisierender Strahlung, hierzu gehören UV-, Röntgen- und Gamma-Strahlen (Landesanstalt für Umweltschutz, 2007; EMF-Portal, 2007).

### 2.6.2.2 Langzeitwirkungen elektromagnetischer Felder

Im Zusammenhang mit der Langzeitwirkung von EMFs wird das Auftreten bestimmter Krebsarten und anderer Krankheiten diskutiert. Die dabei betrachteten Feldstärken und Leistungsflussdichten liegen weit unterhalb der Schwellenwerte für das Auftreten akuter oder gesicherter thermischer Wirkungen. Ein wichtiger Aspekt ist die Auswirkung hochfrequenter Felder auf Implantate (Herzschrittmacher, Insulinpumpen, Hörgeräte, Nervenstimulatoren) und die damit verbundene Beeinträchtigung der Patienten. Im Regelfall bleiben diese kurzzeitigen Beeinträchtigungen ohne Folgen, in Ausnahmen können diese jedoch lebensbedrohlich werden. Außerdem werden so genannte athermische Effekte diskutiert, die nach Langzeitexposition im nieder- und hochfrequenten Bereich an Bedeutung gewinnen. Einige unbestimmte Krankheitssymptome wie Kopfschmerzen, Übererregung und Müdigkeit werden unter dem Begriff der Elektrosensibilität zusammengefasst (WHO, 2005). Eine mögliche Wirkungsweise wäre der unilaterale Effekt von EMF auf das Vestibularorgan (Hocking, 1998). Als weitere mögliche Mechanismen für athermische Effekte werden die Anregung zellulären Wachstums, Modulation biochemischer Reaktionen, Einfluss auf den Calciumhaushalt der Zellen, Beeinflussung des Hormons Melatonin und der Zirbeldrüse und Signaländerungen bei EEG und EKG diskutiert (Hossmann und Hermann, 2003).

## 2.7 Grenzwerte

In Deutschland wurde zum Schutz der Bevölkerung die "Verordnung über elektromagnetische Felder - 26. BImSchV" erlassen. Diese legt Grenzwerte für den Gesundheitsschutz fest, die auf den international anerkannten Empfehlungen der International Commission of Non Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) und der Strahlenschutzkommission (SSK) basieren. Die in der Verordnung festgelegten Grenzwerte gelten für die Exposition mit elektromagnetischen Feldern feststehender Strahlenquellen im Frequenzbereich zwischen 100 kHz und 10 GHz, das heißt nur für Basisstationen. Die Grenzwerte werden von der Strahlenschutzkommission durch regelmäßige Neubewertung der Literatur überprüft. Hintergrund der aktuellen Grenzwertfestlegung sind Studien, in denen keine Schäden festgestellt werden konnten, solange die Bestrahlung so dosiert war, dass die dauerhafte Körpererwärmung unter einem Grad Celsius blieb (Hossmann und Hermann, 2003). Die vom Körper aufgenommene Energie bezogen auf das Körpergewicht wird mit Hilfe der Spezifischen Absorptionsrate SAR in [W/kg] angegeben, siehe Kapitel 2.6.2. Eine Temperaturerhöhung von einem Grad Celsius wird bei Dosierungen von SAR 4 W/kg bei 30minütiger Befeldung erreicht (ICNIRP, 1998). Die derzeit gültigen Grenzwerte ergeben sich aus diesem Wert, der für beruflich exponierte Personen mit einem Sicherheitsfaktor von 10 und für die Allgemeinbevölkerung mit einem Sicherheitsfaktor von 50 versehen wurde. Man unterscheidet Ganzkörper- und Teilkörper- bzw. lokale Grenzwerte siehe Tabelle 2.

**Tabelle 2: Grenzwerte für die Ganzkörper- und lokale SAR für die berufliche Exposition und die Exposition der Bevölkerung**

Art der Exposition	Frequenzbereich	Durchschnittliche Ganzkörper SAR [Wkg <sup>-1</sup> ]	Lokale SAR (Kopf und Rumpf) [Wkg <sup>-1</sup> ]	Lokale SAR (Gliedermaßen) [Wkg <sup>-1</sup> ]
<b>Berufliche Exposition</b>	100 kHz-10 GHz	0,4	10	20
<b>Exposition der Bevölkerung</b>	100 kHz-10 GHz	0,08	2	4

## 2.8 Fragestellung

Es soll die Langzeitwirkung von den in der Mobilfunktechnologie (GSM, UMTS) genutzten hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf die Blut-Hirn Schranke untersucht werden. Die Bestrahlung erfolgt hierfür in speziell entwickelten Kammern, in denen eine große Anzahl Tiere für die Dauer von drei Tiergenerationen gehalten wird. Die Tiere werden, analog zur Bestrahlung des Menschen durch Mobilfunkstrahlung, kontinuierlich 24 Stunden am Tag, sieben Tage pro Woche auch in sensiblen Entwicklungsphasen (Anpaarung, fötaler- und postpartaler Entwicklung) bestrahlt. Die Feldstärken werden hierbei so gewählt, dass Ganzkörper SAR-Werte von 0,4 W/kg erreicht werden. Dies entspricht dem Grenzwert, den die ICNIRP für beruflich strahlenexponierte Menschen festgelegt hat.

In bisherigen Untersuchungen war nur eine semiquantitative Aussage über die Extravasation externer Marker oder interner Serumbestandteile möglich. Mit Hilfe der unidirektionalen Influxkonstante ( $K_{in}$ ) soll in diesem Versuch die Permeabilität der BHS quantitativ gemessen werden. Dadurch können geringfügige Öffnungen der BHS, die physiologisch sein können, von strahlenbedingten relevanten Beeinträchtigungen der BHS unterschieden werden. Mit Hilfe von Challenge-Bedingungen soll außerdem die Nachweisempfindlichkeit von Einflüssen auf die Funktion der BHS deutlich erhöht und dadurch auch eine sehr geringe Öffnung der Blut-Hirn-Schranke nachweisbar werden.

### **3 Material und Methoden**

Der Tierversuchsantrag wurde gemäß §8 des deutschen Tierschutzgesetzes von der Regierung von Oberbayern mit dem Aktenzeichen 55.2-1-54-2531-91-04 genehmigt.

#### **3.1 Versuchstiere**

Für den Versuch wurden 120 (60 weibliche und 60 männliche) albinotische Wistar-Ratten (Stamm: Rj:HAN, Züchter: Robert Janvier, F-53940 Le Genest-St-Isle) im Alter von neun Wochen erworben. Diese wurden über vier Nächte in Skinnerboxen mittels operanter Konditionierungsversuche geprüft und von beiden Geschlechtern die besten und schlechtesten Tiere ausselektiert, um die Streuung der Folgeversuche möglichst gering zu halten. Die nach der Selektion verbleibenden 94 Tiere (47 weibliche und 47 männliche), die so genannte F<sub>-1</sub>-Generation, wurden randomisiert auf die drei Versuchskammern aufgeteilt und die F<sub>0</sub>-Generation gezüchtet. Ausselektierte männliche Tiere wurden für die Vorversuche zur BHS-Challenge verwendet.

#### **3.2 Allgemeine Haltungsbedingungen**

##### **3.2.1 Haltungsbedingungen der Versuchstiere**

Die Haltung der Versuchstiere befand sich in der ehemaligen chirurgischen Klinik für Wiederkäuer, Oberwiesenfeld, München in drei speziellen Hochfrequenz-Expositionskammern. Sie erfolgte unter personenlimitierter Zutrittskontrolle mit speziellen hygienischen Schutzmaßnahmen (Tragen von Kittel, Mundschutz, Haube und Handschuhen, sowie Schuhwechsel und Desinfektion). Die Pflege der Tiere erfolgte durch ausgebildete Versuchstierpfleger. Die Belüftung der Kammern erfolgte mit Hilfe einer Klimaanlage unter konstanter Luftzufuhr. In jeder Kammer wurde ein konstantes Raumklima von 20±2 °C und eine Luftfeuchtigkeit von 60±15 % angestrebt und durch Thermometer und Hygrographen überwacht. Das Lichtregime hatte einen Hell-Dunkel-Rhythmus von 12:12 h, wobei die Lichtphase um 7 Uhr

begann und um 19 Uhr endete. Die Lichtintensität betrug abhängig von der Position des Tierkäfigs  $65 \pm 15$  Lux. Durch wöchentliche Rotation der Käfigstellplätze in den Kammern konnte eine gleichmäßige Lichtexposition der Tiere erreicht werden. Die Ratten wurden in Gruppen zu je drei weiblichen und zwei männlichen Tieren in metallfreien Makrolon-Käfigen Typ III H (Käfigmaße 42,5 cm x 26,6 cm x 24,0 cm, Bodenfläche 810 cm<sup>2</sup>, Firma Tecniplast, Hohenpeißenberg) gehalten. Zur Verbesserung des Innenklimas wurden die Stirnseiten mit jeweils neun zusätzlichen Löchern versehen. Als Einstreu diente entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin<sup>®</sup> GmbH, Lage-Lippe). Zusätzlich wurden den Versuchstieren spezielle Nagehölzer (Espenholzblöcke 10 mm x 16 mm x 40 mm, Firma ABEDD<sup>®</sup> LAB & VET Service GmbH, Wien, Österreich), eine autoklavierte Papprolle und einige Streifen ungebleichten Zellstoffes (WDT, Garbsen) zur Beschäftigung angeboten. Spezielles Futter für Nagetiere (Haltung: Standard 1324, Zucht: Standard 1314, Altromin<sup>®</sup> GmbH, Lage-Lippe) in pelletierter Form und frisches Trinkwasser aus Kunststoffflaschen mit Gummistopfen und gläsernem Tränkenippel stand ad libitum zur Verfügung. Die Käfige wurden jeden zweiten Tag gereinigt und mit Futter und Wasser versorgt. Eine visuelle Gesundheitskontrolle erfolgte täglich und wöchentlich wurde das Körpergewicht der Versuchstiere bestimmt.

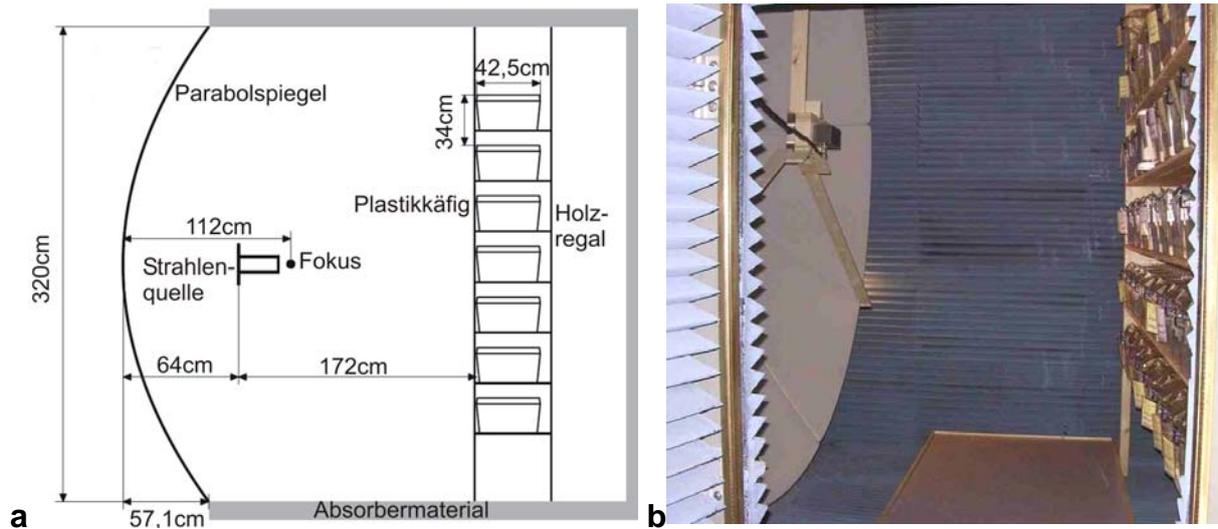
Zur Reproduktion wurden die Ratten über einen Zeitraum von sieben Tagen paarweise in den oben beschriebenen Käfigen in den Kammern gehalten. Pro Kammer wurden hierfür mindestens sieben Paare zufällig gebildet. Die Käfige wurden täglich auf Vaginalplaques überprüft und nach einer Woche die Weibchen einzeln, die Männchen in ihre ursprünglichen Käfige gesetzt. Muttertiere und ihr Wurf wurden bis zum Absetztermin am 21.Tag in oben beschriebenen Käfigen gehalten. Während der Aufzucht wurde diesen Tieren spezielles Zuchtfutter (Standard 1314 Ratte/Maus Zuchtdiät, Firma Altromin<sup>®</sup> GmbH, Lage-Lippe) gefüttert. Zur individuellen Kennzeichnung der Jungtiere wurden diese am Fußrücken tätowiert und sub cutan mit einem Transponder im Nackenbereich versehen (ALVIC<sup>®</sup>-Transponder, Alvetra GmbH, Neumünster).

### **3.2.2 Haltungsbedingungen der Vorversuchstiere**

Die mittels der Skinnerboxen-Versuche ausselektierten Ratten und überzähligen Jungtiere wurden im Tierstall des Instituts für Tierphysiologie der LMU München untergebracht. Hierbei handelt es sich um einen klimatisierten Raum mit Temperaturen von 19 bis 25 °C, einer Luftfeuchtigkeit von 50-60 % und einem konstanten Luftumsatz. Der Tag-Nacht-Rhythmus (12h:12 h) wird automatisch geregelt mit einer maximalen Lichtintensität von 60±15 Lux, je nach Standort des Käfigs im Raum. Die Tiere wurden paarweise (zwei Männchen) in Makrolon-Käfigen Typ III (Firma Tecniplast, Hohenpeißenberg) gehalten. Als Einstreu diente entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin<sup>®</sup> GmbH, Lage-Lippe), welches nach Bedarf, jedoch mindestens zweimal wöchentlich gewechselt wurde. Den Tieren stand Futter (Haltung: Standard 1324, Zucht: Standard 1314, Altromin<sup>®</sup> GmbH, Lage-Lippe) und Leitungswasser aus Flaschentränken ad libitum zur Verfügung

### 3.3 Aufbau der Expositionskammern

Grundsätzlich besteht eine Hochfrequenzexpositionsanlage aus einem Hochfrequenzsignalgenerator, einem Leistungsverstärker, der Expositionseinrichtung und einem reflektierenden oder absorbierenden Abschluss. Die Anforderungen unseres Konzeptes beinhalteten eine kontinuierliche Exposition von über 120 Ratten pro Kammer über 20 Monate, 24 Stunden am Tag, mit GSM 900 MHz und UMTS 1966 MHz und einer GK-SAR 0,4 W/kg. Neben der Homogenität des Feldes (linear polarisierte Welle) musste eine tierartgerechte Haltung unter kontrollierten klimatischen Bedingungen und die Tierpflege gewährleistet sein. Zu diesem Zweck wurden drei spezielle Hochfrequenz-Expositionskammern (EMC- Technik & Consulting, Stuttgart) für die GSM-, UMTS-, und Scheinexposition für den Versuch aufgestellt. Alle drei Kammern waren in Konstruktion und Aussehen identisch siehe Abbildung 5. Die Kammermaße betragen 370 cm x 370 cm x 370 cm. Die Wand bestand auf der Innenseite aus 2 cm dicken Pressspanplatten und an der Außenseite aus 1 mm dickem verzinktem Stahlblech. Das Metall diente als Abschirmmaßnahme gegen externe Feldeinflüsse. Um unkontrollierbare Interferenzeffekte infolge von Mehrfachreflexionen und Superpositionen der in der Kammer generierten Strahlen zu verhindern, waren diese auf der Innenseite komplett mit Hochfrequenzabsorbermaterial (verlustbehafteter Schaumstoff aus Kohlenstoff) ausgekleidet. Je nach Bestrahlungsart erzeugte ein GSM-Messsender mit GSM-Modulation (Rohde & Schwarz GmbH & Co. KG, München) bzw. ein Generator für UMTS-Strahlen (Generischer UMTS-Generator, Gesellschaft für Medizin und Technik, Uni Wuppertal) das mit einem typischen Mobilfunksignal modulierte Hochfrequenzsignal bei einer Trägerfrequenz im Bereich des nachzubildenden Funksystems (GSM: 900 MHz alle acht timeslots belegt, UMTS: 1966 MHz). GSM-Messsender und der Generator für UMTS-Strahlen befanden sich außerhalb der Kammern und waren mit jeweils einem Leistungsverstärker (BONN Elektronik GmbH, Ottobrunn) versehen, welcher das Signal auf den im Experiment benötigten Leistungspegel an hob. An die Kontrollkammer war kein Generator angeschlossen.



**Abbildung 5a: Schematische Seitenansicht und b: Foto der Befeldungsanlage und des Aufbaus einer Expositionskammer am Beispiel der GSM- Kammer. (Abb. modifiziert nach Schelkshorn et al., 2007)**

In jeder der drei Kammern befand sich ein Parabolspiegel mit einem Durchmesser von 3,2 m und einer Brennweite von 1,12 m. In der GSM- und der UMTS-Kammer strahlte der Primärstrahler auf den Parabolspiegel und das Feld wurde als quasi planes Feld auf die Tierkäfige geworfen. Diese waren auf der gegenüberliegenden Seite auf einem 3 m hohen Holzregal, 50 cm von der Längsseite der Kammer entfernt, untergebracht. Das Regal bestand aus sieben Etagen und bot Platz für 8 Käfige pro Regalboden. Die Befeldung war während der kompletten Dauer des Versuches eingeschaltet, mit Ausnahme während der Pflügetätigkeiten innerhalb der Kammer. So ergab sich eine Bestrahlungsdauer von 95-98 % pro Tag. Die Befeldung der Versuchstiere erfolgte mit Leistungen, die Ganzkörper-SAR-Werte von 0,4 W/kg (entsprechend dem Grenzwert für die berufliche Exposition des Menschen, 26. BImSchV) verursachten. Die dafür benötigte Sendeleistung wurde im Vorfeld mittels Computersimulation und numerischer Berechnungen ermittelt.

### 3.4 Übersicht über das gesamte Projekt

Im Juli 2005 wurde die F<sub>1</sub>-Generation (60 weibliche und 60 männliche Ratten) in die Expositions-kammern eingesetzt. Nach einer Eingewöhnungsphase von einer Woche wurde mit der Selektion der jeweils 47 weiblichen und männlichen Tiere begonnen. Tiere, die nicht für die Bestrahlung verwendet wurden, wurden für die Vorversuche zur Etablierung der Challenge-Methoden eingesetzt und im Tierstall des Instituts für Tierphysiologie, LMU untergebracht. Im Anschluss an die Selektion wurde die F<sub>1</sub>-Generation in eine Gruppe1 und eine Gruppe2 unterteilt und mit der Bestrahlung der begonnen. Die beiden Gruppen wurden im Abstand von vier Wochen angepaart und abgesetzt. Diese Einteilung blieb in allen drei Folgegenerationen bestehen. Die F<sub>0</sub>-Generation, die 1. Versuchstiergeneration, diente zur Anpaarung der F<sub>1</sub>-Generation, deren Nachkommen die F<sub>2</sub>-Generation bildeten und somit die 3. Versuchsgeneration. Für die Untersuchung der BHS standen die F<sub>0</sub>- und die F<sub>2</sub>-Generation zur Verfügung, siehe Abbildung 6.

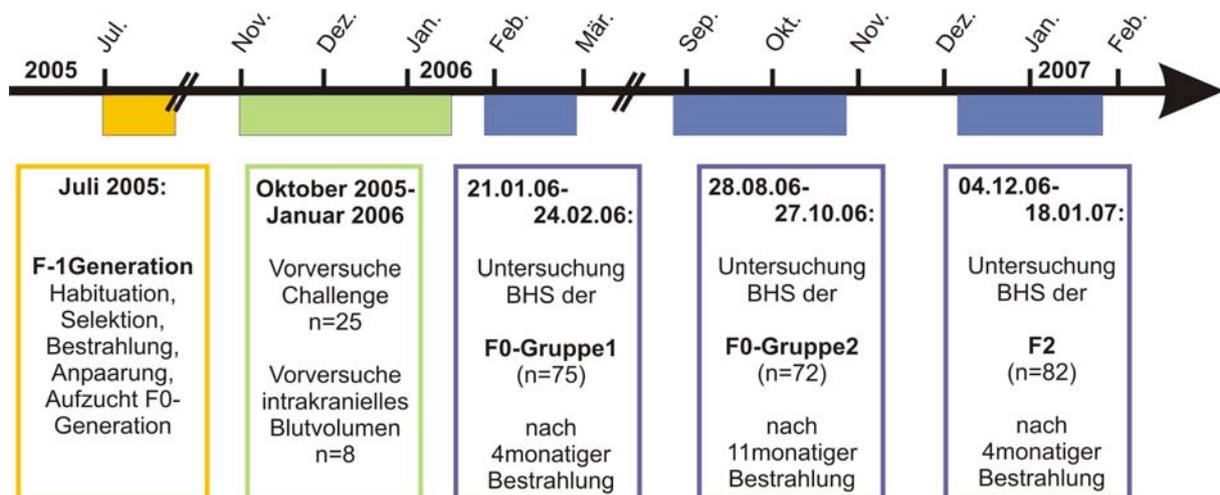


Abbildung 6: Ablauf der Untersuchung der BHS von Juli 2005 bis Februar 2007

### 3.5 Messung der Integrität der BHS als unidirektionale Influxkonstante

Die Messung der unidirektionalen Influxkonstante  $K_{in}$  (Begley, 1999) erfolgte mit Hilfe von  $^{14}\text{C}$ -Saccharose als Marker.  $^{14}\text{C}$ -Saccharose wurde aus verschiedenen Gründen ausgewählt. Saccharose wird bei intravasaler Injektion nicht metabolisiert, da sich das einzige hierfür existierende Enzym, die Saccharase, in den Darmepithelzellen befindet und nur die enteral resorbierte Saccharose spaltet. Außerdem existiert für Saccharose im Blutplasma weder ein aktiver noch ein passiver Transportmechanismus, es kann die BHS nur mittels Diffusion überwinden.

$$K_{in} = \frac{C_{br} - C_i}{\int_0^T C_{pl}(t) dt}$$

$C_{br}$  = Aktivität des Markers pro Gewebeprobe [dpm/g]

$C_i$  = Aktivität des Markers im vaskulären Raum pro Gewebeprobe [dpm/g]

$C_{pl}$  = Radioaktivität des Markers im vaskulären Raum in [dpm/ $\mu\text{l}$ ]

Die  $K_{in}$  ( $\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) beschreibt die Durchlässigkeit der BHS, das heißt die während der Messzeit (hier 10 min) vom vaskulären Raum in den interstitiellen Raum übergetretene Flüssigkeitsmenge.  $^{14}\text{C}$ -Saccharose wird durch die V. femoralis in das Blut injiziert und zu unterschiedlichen Zeitpunkten (in diesem Versuch nach 0,5; 1; 2; 5; 7,5 und 10 min) aus der A. coccygea Blutproben entnommen. Mit Hilfe der Blutproben wird die Konzentration des Markers im Plasma bestimmt ( $C_{pl}$ ). Die Messung des zeitlichen Verlaufs der Aktivität des Markers im Plasma ermöglicht die Berechnung der unidirektionalen Influxkonstante ( $K_{in}$ ). Unmittelbar nach der letzten Blutprobe werden die Tiere in tiefer Narkose durch Injektion von Magnesiumchlorid ( $\text{MgCl}_2$ ) getötet, das Gehirn entnommen und in jeder Hemisphäre in definierten Arealen die Aktivität von  $^{14}\text{C}$ -Saccharose ( $C_{br}$ ) bestimmt. Zur Bestimmung des vaskulären Raumes der einzelnen Hirnproben wurde in diesem Versuch  $^3\text{H}$ -Inulin 0,5 min vor der Tötung injiziert und die Aktivität des Markers im Plasma und in der zu untersuchenden Hirnprobe gemessen. Daraus lässt sich die  $^{14}\text{C}$ -Saccharose-Radioaktivität im Gefäßbett in der untersuchten Hirnprobe ( $C_i$ ) bestimmen. Diese wird von der gemessenen Aktivität der Hirnprobe ( $C_{br}$ ) abgezogen und das Ergebnis durch das Integral der Plasmakonzentration über die Zeit dividiert.

### 3.6 Operationsablauf

Die Tiere wurden mit dem Auto von der Expositionseinrichtung Oberwiesenfeld zum Institutsgelände transportiert. Die Operationen fanden auf Grund der Verwendung radioaktiver Marker unter besonderen Schutzmaßnahmen im Isotopenlabor des Institutes für Tierphysiologie der LMU München statt. Nach Ankunft der Tiere wurden diese einer Allgemeinuntersuchung unterzogen und nur diejenigen mit ungestörtem Allgemeinbefinden für die Versuchszwecke verwendet. Der Ablauf der Operation bestand aus der Operations-Vorbereitung, der Narkoseeinleitung, der Präparation des Versuchstieres, der Arabinose- und Markerinjektion und schließlich der Ex-vivo Untersuchung. Der schematische Ablauf wird im Folgenden detailliert beschrieben.

#### 3.6.1 Operationsvorbereitungen

Um sofort nach Ankunft der Tiere mit der Operation beginnen zu können, wurden die folgenden Vorbereitungen im Vorfeld getroffen.

Beschriftung der Polyvials für Hirngewebeproben A-N: Vials (Zinsser Polyvials V20ml, Zinsser Analytic GmbH, 60489 Frankfurt) mit Versuchsnummer und dem jeweiligen Hirnareal (A-N) beschriften, Bestimmung des Leergewichts.

Herstellung der Arabinoselösung (0,5mol/l): 0,75 g Arabinose (L(+)-Arabinose, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 82024 Taufkirchen) in einen 10 ml Messkolben abwiegen, mit Aqua dest. auffüllen, in das 38 °C warme Wasserbad stellen;

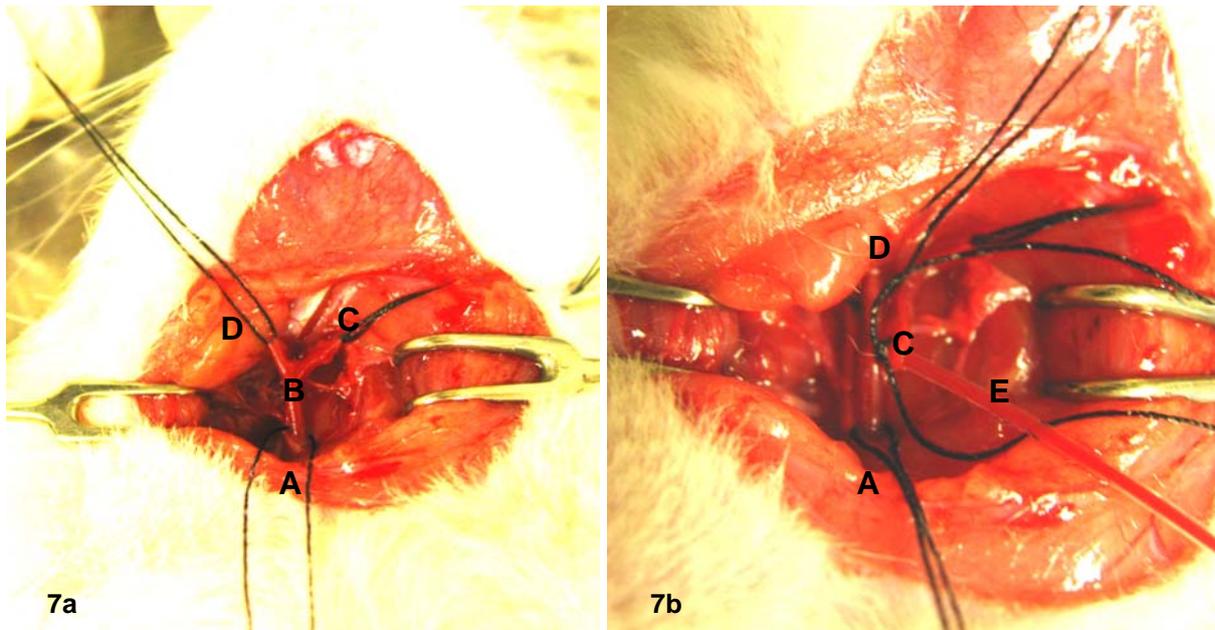
Herstellung der <sup>14</sup>C-Saccharoselösung: 10 µl <sup>14</sup>C-Saccharose (Saccharose Sigmaultra 0,1 mCi/ml, Sigma-Aldrich Logistik GmbH, 91625 Schnelldorf) in 1000 µl NaCl lösen, im Gefrierschrank aufbewahren; bei Bedarf auftauen, schütteln und 10 µl in das bereits vorbereitete <sup>14</sup>C-Saccharose Vial geben, restliche Lösung in einer Spritze aufziehen, 1000 µl Lösung = 5 µCi;

Herstellung der <sup>3</sup>H-Inulinlösung: Aus <sup>3</sup>H-Inulin-Stammlösung (Inulin methoxy 102 mCi/g, Biotrend Chemikalien GmbH, 50933 Köln) 10 µl in 1000 µl NaCl lösen und 10 µl dieser Lösung in das bereits vorbereitete <sup>3</sup>H-Inulin Vial pipettieren, restliche Lösung in einer Spritze aufziehen, 1000 µl Lösung = 1 µCi;

### 3.6.2 Narkoseeinleitung und Präparation des Versuchstieres

Zur Einleitung der Anästhesie wurde das Versuchstier in eine Narkosekammer gesetzt und mit einem in Isofluran (Isofloran Curamed, ReboPharm Arzneimittelvertriebsgesellschaft mbH, 46395 Bocholt) getränkten Zellstoff betäubt. Das Tier wurde gewogen, in Rückenlage auf eine 38 °C warme Wärmeplatte gelegt und an die Atemmaske des Narkosegeräts angeschlossen. Das Narkosesystem war geschlossen und im Respirationsschenkel mit einer Absaugpumpe ausgestattet, die eine gleichmäßige Versorgung des Tiers mit Anästhetikum ermöglichte. Die Narkose wurde mit einem Frischgasfluss von 50-100 ml/min reinem Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und einer Erhaltungsdosis von 1,5-2 % Isofluran weitergeführt.

Die Präparation des Tiers dauerte ca. 45 Minuten. Der rechte Inguinal- und der komplette Halsbereich des Tieres wurden ausrasiert. In die A. femoralis der rechten Hintergliedmasse wurde median ein Polyethylenkatheter (Portex PE-Schläuche, Smith Medical Deutschland GmbH, 85614 Kirchseeon) eingeführt und fixiert. Dieser wurde mit einem elektronischen Blutdruckmessgerät verbunden und ermöglichte es die Daten auf einem angeschlossenen Computer zu speichern und den Blutdruck des Tieres während der gesamten Operation zu kontrollieren. Für die Applikation des radioaktiven Markers wurde die V. femoralis mit einem Polyethylenkatheter kanüliert. Ein weiterer Katheter auf der Ventralseite des Schwanzes in der A. coccygea diente zur arteriellen Blutprobenentnahme. Paramedian der rechten ventralen Halsseite wurde ein Hautschnitt gemacht und stumpf die zwischen der Trachea und dem M. longus colli gelegene A. carotis communis präpariert und mit einem Faden unterlegt. An der Bifurcatio carotidis teilt sich die A. carotis communis in die A. carotis interna und externa. Die A. carotis externa wurde 1 cm distal der Bifurkation mit einem Faden ligiert und anschließend die zwischen Ligatur und Bifurkation abgehende A. occipitalis und A. laryngea cranialis mit einem Elektrokauter verschlossen und durchtrennt. Die A. carotis interna wurde nach cranial so weit wie möglich frei präpariert und ebenfalls mit einem Faden unterlegt, siehe Abbildung 7a.



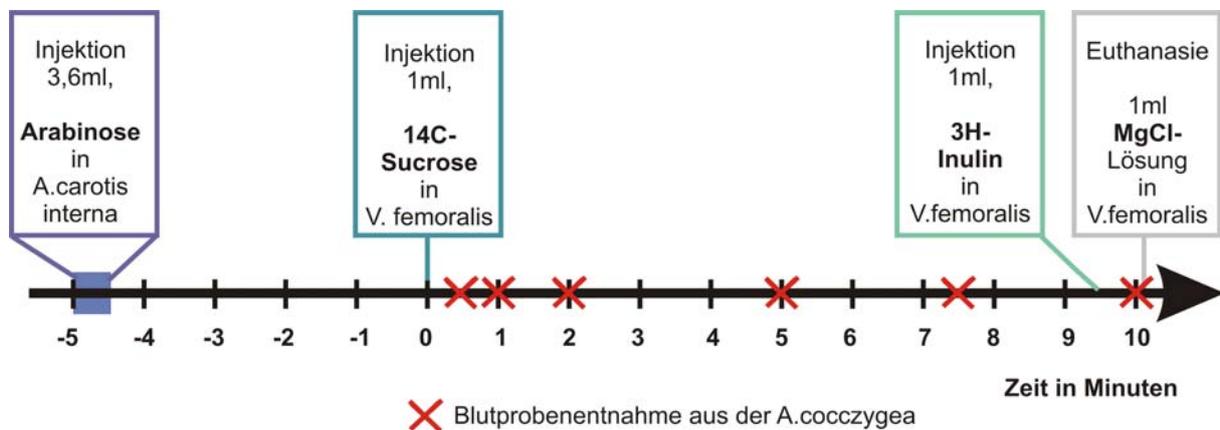
**Abbildung 7 a:** *Bifurcatio carotidis mit ligierter A. carotis externa. b:* *Lage des durch die A. carotis externa eingeführten Katheters 2 mm distal der Bifurkation. A: A. carotis communis, B: Bifurcatio carotidis, C: A. carotis externa, D: A. carotis interna, E : Katheter*

Die Fäden an der A. carotis communis und der A. carotis interna wurden angezogen und somit die Blutzufuhr kurzzeitig gestoppt. Ein weiterer Katheter wurde vor der Ligatur in die A. carotis externa eingeführt und so befestigt, dass die Katheterspitze 2 mm distal der Bifurkation in die A. carotis interna reichte, siehe Abbildung 7b. Die Unterbrechung der Blutzufuhr wurde kurzzeitig aufgehoben und mikroskopisch kontrolliert, dass der Katheter die systemische Blutzufuhr von der A. carotis communis in die A. carotis interna nicht beeinträchtigt und erst nach dieser Kontrolle die Blutzufuhr wieder uneingeschränkt zugelassen.

### **3.6.3 Injektion von Arabinose als Challenge und Applikation der radioaktiven Marker**

Blutdruck und Körpertemperatur der Ratte wurden kontrolliert und erst bei einem konstanten Blutdruck von mehr als 90 mmHg und einer Körpertemperatur von 37 °C der Versuch fortgesetzt. Ein Überblick über den zeitlichen Verlauf ist in Abbildung 8 dargestellt. In die A. carotis interna wurde 3,6 ml 37 °C warme Arabinoselösung (Hauptversuche: 0,5 mol/l, Vorversuche sinkende Konzentrationen von 1,6 mol/l, 1,0

mol/l, 0,5 mol/l und NaCl) über 30 s mit konstantem Druck injiziert. Fünf Minuten nach Beginn der Injektion wurde in die V. femoralis 1 ml  $^{14}\text{C}$ -Saccharoselösung (5  $\mu\text{Cu/ml}$ ) injiziert. Im Abstand von 0,5; 1; 2; 5; 7,5; und 10 Minuten post Saccharose-Injektion wurden aus der A. coccygea drei Tropfen Blut in heparinisierte Eppendorf Tubes entnommen. 9,5 Minuten post Saccharosegabe wurde in die V. femoralis 1 ml  $^3\text{H}$ -Inulin injiziert. Direkt im Anschluss an die letzte Blutprobenentnahme wurde die Blutzirkulation der Ratte durch die Injektion von 1 ml gesättigter  $\text{MgCl}_2$ -Lösung (Magnesiumchloridhexahydrat, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 82024 Taufkirchen) in die V. femoralis gestoppt und das Tier dekapitiert.



**Abbildung 8: Schematischer Ablauf der letzten 15 Minuten der Operation inklusive Injektion der Arabinoselösung, der radioaktiven Marker, der  $\text{MgCl}_2$ -Lösung und Blutprobenentnahme**

### 3.6.4 Ex-vivo Untersuchung

Das Gehirn wurde entnommen und in jeweils Bulbus olfactorius, Cortex, Diencephalon, Mesencephalon, Pons, Medulla oblongata und Cerebellum der linken und rechten Hemisphäre unterteilt. Die verschiedenen Gehirnareale wurden in vorher beschriftete und gewogene Vials gelegt, nochmals gewogen und so das Gewicht des jeweiligen Areals bestimmt. In Abhängigkeit des Gewichts (pro 130  $\mu\text{g}$  Gewebe/1 ml Lösungsmittel) wurden die Vials mit Gewebelöser (Solvable<sup>TM</sup>, PerkinElmer LAS B.V., N-9723 Groningen) befüllt und über Nacht in ein 55 °C warmes Schüttelwasserbad gestellt. Um nach der Entblindung nochmals die

Kammerzugehörigkeit der Tiere kontrollieren zu können, wurden die Transponder entnommen und aufbewahrt. Die heparinisierten Blutproben wurden zentrifugiert (Eppendorf-Zentrifuge, 5 Minuten, 3500 U/min) und anschließend 15 µl Plasma abpipettiert und in ein beschriftetes Vial gefüllt. Das Plasma wurde mit 1 ml Aqua dest. verdünnt und anschließend 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Quickzint 501, Zinnser Analytic GmbH, 60489 Frankfurt) hinzugegeben. Das Hirngewebe wurde, sobald es sich vollständig gelöst hatte, in zusätzliche Vials so umpipettiert, dass sich in jedem Vial nur ein ml der Solvable-Gewebelösung befand. Anschließend wurden 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Aquasafe 300 Plus, Zinnser Analytic GmbH, 60489 Frankfurt) hinzugegeben. Um Chemielumineszenz zu verhindern, konnten die Proben erst nach weiteren 24 Stunden in einem  $\beta$ -Zähler (Beckmann-Coulter LSC 1800) ausgewertet werden.

### 3.7 Statistische Berechnung und Dokumentation

Die untersuchten Parameter werden als arithmetische Mittelwerte (MW)  $\pm$  Standardabweichung (STABW) in Tabellen oder in grafischer Form angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte unter Anleitung des statistischen Beratungslabors (Stablab) der LMU München.

In den Vorversuchen wurde die  $K_{in}$  nach Injektion unterschiedlicher Arabinosekonzentrationen mittels Levene-Test auf die Homogenität ihrer Varianzen ( $p = 0,05$ ) untersucht. Je nach Homogenität der Varianzen wurde anschließend der MW der  $K_{in}$  nach Gabe von 0,5 molarer Arabinoselösung mit dem MW nach Gabe der NaCl-Lösung (= 0,0 mol/l), der 1,0 molaren und der 1,6 molaren Arabinoselösung mit Hilfe eines T-Tests für ungepaarte Stichproben auf signifikante Unterschiede  $p = 0,017$  geprüft (korrigiert nach Bonferroni  $p = 0,05/3$ ). Der Seitenvergleich zwischen linker und rechter Hemisphäre wurde mittels eines T-Tests für gepaarte Stichproben ausgewertet (Signifikanzniveau  $p = 0,05$ ). Im Vergleich der bestrahlten Kammern wurde wiederum zuerst die Homogenität der Varianzen der  $K_{in}$  mit Hilfe des Levene-Tests ( $p = 0,05$ ) überprüft. Anschließend wurden die Mittelwerte der  $K_{in}$  mit einer oneway Anova überprüft, wobei das Signifikanzniveau auf  $p = 0,05$  festgelegt wurde. Innerhalb der Kammern wurden die beiden Hemisphären eines Versuchstieres mittels eines gepaarten T-Tests auf signifikante Unterschiede für  $p = 0,05$  untersucht.

In Tabelle 10-12 im Tabellenanhang sind die unteren und oberen Grenzwerte des Konfidenzintervalls des jeweiligen oneway Anova Vergleichs von bestrahlter Gruppe mit der Kontrollgruppe angegeben. Dieser Wert entspricht dem minimalen Effekt, der unter den durchgeführten Versuchsbedingungen nachweisbar ist.

## **4 Ergebnisse**

In die Auswertung des Versuchs sind 232 Tiere eingegangen. Zehn Tiere konnten wegen Krankheit nicht in den Versuch aufgenommen werden. Bei 13 Tieren musste die Operation abgebrochen werden, weil die vorgegebenen physiologischen Parameter, wie zum Beispiel der Blutdruck, nicht eingehalten werden konnten. Sechs Tiere mussten aus der Auswertung ausgeschlossen werden, weil entweder deren Probenmaterial beschädigt wurde oder technische Probleme bei der Messung (Ausfall  $\beta$ -Zähler) auftraten.

### **4.1 Messung des vaskulären Raumes des Gehirns**

#### **4.1.1 Bestimmung des regionalen Plasmavolumens mit $^3\text{H}$ -Inulin und $^{14}\text{C}$ -Saccharose**

Um die Integrität der BHS messen zu können, sollte die  $K_{in}$  mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose als Marker für sieben verschiedene Hirnregionen berechnet werden. Voraussetzung dafür ist die Bestimmung des regionalen Blutvolumens der verschiedenen Areale. Zur Messung des Blutplasmavolumens im Gehirn werden in der Regel große Kohlenhydrate oder Proteine mit Radioisotopen markiert, in den Blutkreislauf injiziert und anschließend deren Verteilungsvolumen bestimmt. Die Molekülgröße wird so gewählt, dass der Marker (z.B.  $^3\text{H}$ -Inulin, 5000 Da, Radius 1,5 nm) die BHS nicht überschreitet und nicht von Erythrozyten aufgenommen wird. Wichtig ist, dass der verwendete Marker im Organismus nur langsam abgebaut oder ausgeschieden wird. Sind diese Bedingungen erfüllt, geht man von einer homogenen Verteilung des Markers im Plasma aus. Die Verwendung zweier unterschiedlicher Marker ermöglicht dann in den Hauptversuchen gleichzeitig das Plasmavolumen eines Areals mit  $^3\text{H}$ -Inulin und dessen  $K_{in}$  mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose zu messen. In ersten Messungen wurde zunächst das Plasma-Verteilungsvolumen von  $^3\text{H}$ -Inulin nach einer Verteilungszeit von einer Minute bestimmt.

#### 4.1.2 Erste Messungen des Plasma-Verteilungsvolumens von <sup>3</sup>H-Inulin nach einer Minute

<sup>3</sup>H-Inulin wurde eine Minute vor Dekapitation der Versuchstiere in die A. carotis interna injiziert und anschließend das Verteilungsvolumen (dpm/g Hirn)/(dpm/μl Plasma) im Plasma sieben verschiedener Hirnregionen bestimmt. Eine Verteilungszeit von einer Minute sollte eine homogene Ausbreitung des Markers im Blutkreislauf gewährleisten siehe Tabelle 3.

**Tabelle 3: Vergleich des Plasmavolumens, ermittelt aus dem Verteilungsvolumen von <sup>3</sup>H-Inulin (dpm/gHirn)/(dpm/mlPlasma) nach einer Minute. Angaben für sieben Hirnareale als arithmetischer Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (STABW)**

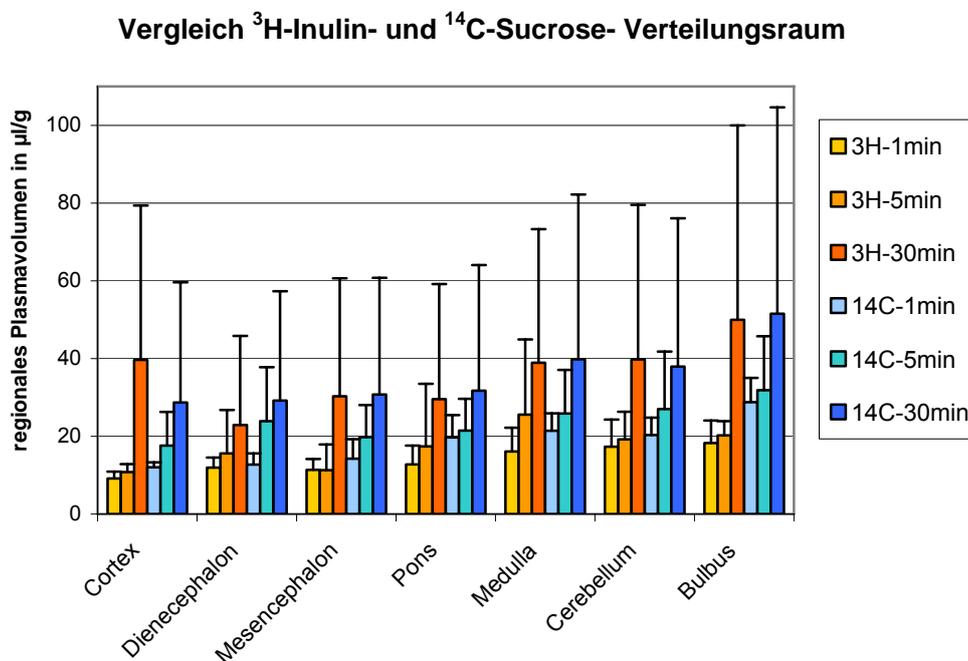
Hirnregion	Verteilungsvolumen <sup>3</sup> H-Inulin 1 min (n = 68) MW ± STABW [μl/g]
Cortex	13,8 ± 18,0
Diencephalon	16,3 ± 16,0
Mesencephalon	16,5 ± 12,0
Pons	16,5 ± 12,0
Medulla oblongata	19,6 ± 10,8
Cerebellum	21,0 ± 10,4
Bulbus olfactorius	24,3 ± 10,6

Die in den Versuchen ermittelten Plasmavolumina sind sehr groß. Trotz hoher Tierzahlen (n = 68) ist die STABW teilweise größer als der MW. In einigen Versuchen wurden extrem kleine Plasmavolumina in anderen Versuchen extrem große Werte gemessen. Bei Verwendung dieser Werte zur Berechnung der  $K_{in}$  der entsprechenden Hirnareale, ergaben sich zum Teil negative Werte, was unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen nicht möglich ist. Daher musste die Methode modifiziert werden. Eine weitere Möglichkeit ist die Bestimmung des Plasmavolumens mittels Extrapolation. Hierbei wird das Verteilungsvolumen eines Markers zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen und anschließend das Volumen im Zeitpunkt 0 extrapoliert.

### 4.1.3 Verteilungsvolumen von $^3\text{H}$ -Inulin und $^{14}\text{C}$ -Saccharose

$^3\text{H}$ -Inulin und  $^{14}\text{C}$ -Saccharose (342 Da, Radius 0,47 nm) wurden gleichzeitig in die A. carotis interna injiziert und deren Verteilungsvolumina zu drei verschiedenen Zeitpunkten (1, 5 und 30 min) in sieben verschiedenen Hirnarealen bestimmt. Um den Einfluss der Verteilungszeit und der Markergröße auf das Plasmavolumen zu messen, wurden in diesem Versuch sowohl  $^3\text{H}$ -Inulin als auch  $^{14}\text{C}$ -Saccharose verwendet. Mit dem ermittelten Verteilungsvolumen ließ sich anschließend das Plasmavolumen extrapolieren.

In der Abbildung 9 wird der zeitabhängige Anstieg der Plasmavolumina beider Marker in den verschiedenen Hirnregionen gezeigt. Mit zunehmender Verteilungszeit der beiden Marker nimmt das berechnete Plasmavolumen des jeweiligen Areals zu. Außerdem ist zu sehen, dass das mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose ermittelte Volumen nach ein- und fünfminütiger Verteilungszeit größer ist als das mit  $^3\text{H}$ -Inulin gemessene Volumen. Nach einer Verteilungszeit von 30 Minuten gleichen sich die Werte an. Die drei Verteilungszeiten wurden an jeweils vier Tieren untersucht (gesamt n = 12).



**Abbildung 9: Vergleich des regionalen Plasma-Verteilungsvolumina von  $^3\text{H}$ -Inulin und  $^{14}\text{C}$ -Saccharose, gemessen zu drei Zeitpunkten (1, 5 und 30 min post injectionem) in sieben Hirnarealen.**

4.1.3.1 Extrapolation des Plasma-Verteilungsvolumens von  $^3\text{H}$ -Inulin und  $^{14}\text{C}$ -Saccharose

Mit Hilfe der Verteilungsvolumina ( $V$ ) zu drei verschiedenen Zeitpunkten ( $t$ ) konnte der vaskuläre Raum zum Zeitpunkt 0 extrapoliert werden. Die Werte  $V(t)$  nach 1, 5 und 30 min wurden über der über die Zeit integrierten Plasmakonzentration ( $\int C_p dt$ ) dividiert durch die Plasmakonzentration im Zeitpunkt des Todes ( $C_{pT}$ ) aufgetragen. Der konstante Term der Trendlinienfunktion entspricht dem Verteilungsvolumen zum Zeitpunkt  $t = 0$ . Die Abbildung 10 zeigt das Verhältnis zwischen  $V(T)$  und  $\int C_p dt / C_{pT}$  am Beispiel des Cortex einmal mit  $^3\text{H}$ -Inulin und einmal mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose gemessen. Jeder Punkt repräsentiert ein Versuchstier ( $n = 12$ ). In diesem Fall ergab  $V(0)$  gemessen mit  $^3\text{H}$ -Inulin  $7,6 \mu\text{l}$  und  $V(0)$  gemessen mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose  $12,4 \mu\text{l}$ . Die Abbildungen der übrigen sechs Areale sind dem Abbildungsverzeichnis zu entnehmen.

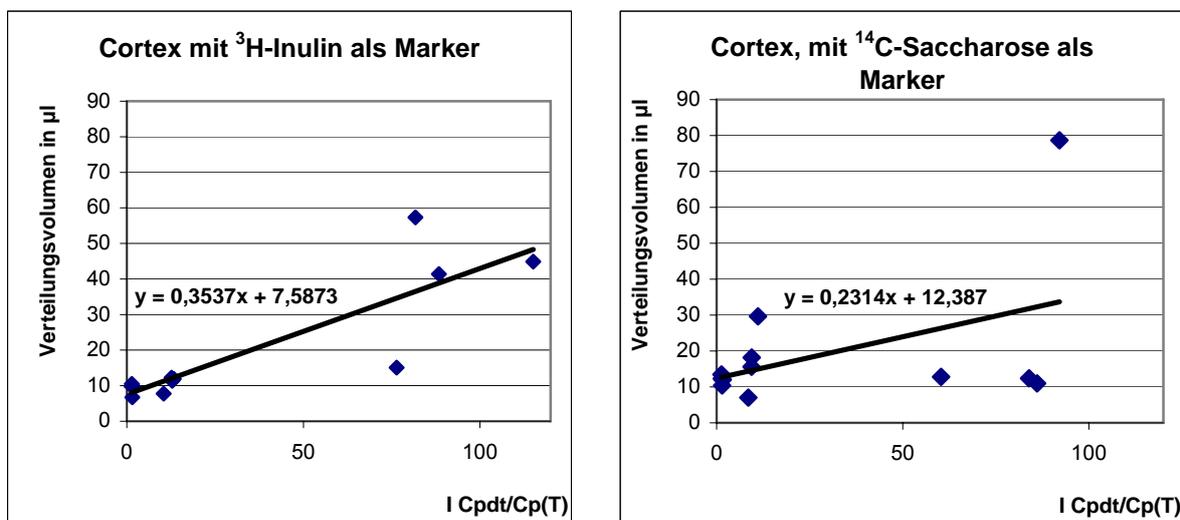


Abbildung 10: Das Plasma-Verteilungsvolumen für  $^3\text{H}$ -Inulin und  $^{14}\text{C}$ -Saccharose des Cortex wird als eine Funktion  $V(T) = \int C_p dt / C_{pT}$  dargestellt. Aus der Funktion der Trendlinie lässt sich  $V(0)$  ablesen indem  $x = 0$  gesetzt wird. Jeder Punkt im Diagramm repräsentiert ein Versuchstier ( $n = 12$ ).

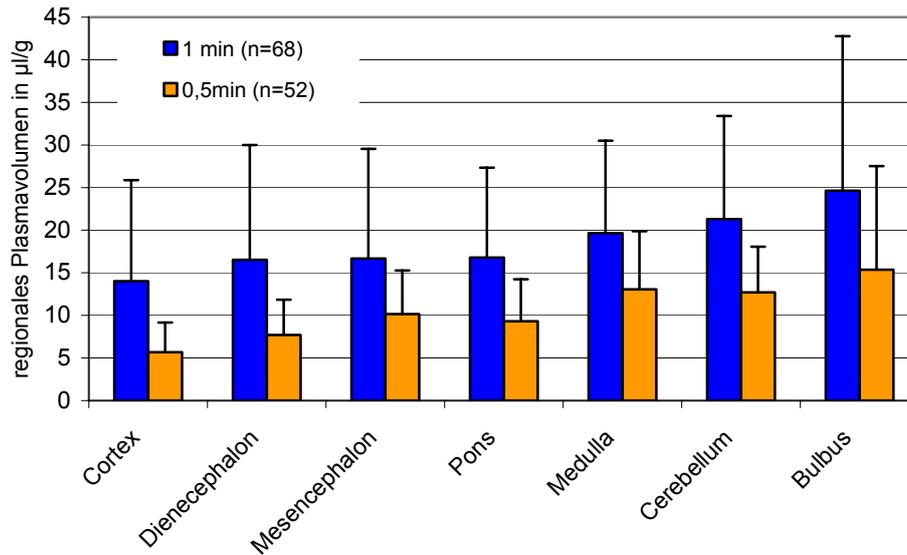
**Tabelle 4: Extrapolierte Plasmavolumina in  $\mu\text{l/g}$  Hirn. Die Werte wurden wie oben beschrieben mit Hilfe der Trendlinienfunktion für jedes Hirnareal mit jeweils  $^3\text{H}$ -Inulin und  $^{14}\text{C}$ -Saccharose bestimmt.**

Extrapoliertes Plasmavolumen [ $\mu\text{l/g}$ ]		
Hirnregion	$^3\text{H}$ -Inulin	$^{14}\text{C}$ -Saccharose
Cortex	7,6	12,4
Diencephalon	12,1	16,1
Mesencephalon	7,9	14,7
Pons	12,8	18,5
Medulla	16,8	20,7
Cerebellum	14,2	21,0
Bulbus	13,6	26,9

Die Tabelle 4 fasst die mit Hilfe der Plasma-Verteilungsvolumina von  $^3\text{H}$ -Inulin und  $^{14}\text{C}$ -Saccharose ermittelten extrapolierten Werte zusammen. Die extrapolierten  $^3\text{H}$ -Inulin-Werte sind deutlich niedriger als die  $^{14}\text{C}$ -Saccharose-Werte und ebenfalls niedriger als die Verteilungswerte von  $^3\text{H}$ -Inulin nach einer Minute gemessen (Tabelle 3). Nachteil dieser Methode ist, dass die Messung nicht routinemäßig für jedes einzelne Versuchstier durchgeführt werden kann. Daher wurde ein erneuter Versuch mit  $^3\text{H}$ -Inulin, aber mit verkürzter Verteilungszeit, durchgeführt.

#### 4.1.3.2 Plasma-Verteilungsvolumen von $^3\text{H}$ -Inulin nach einer Verkürzung der Verteilungszeit auf 0,5 min

$^3\text{H}$ -Inulin wurde den Versuchstieren 0,5 min vor Dekapitation in die A. carotis interna injiziert und das Plasma-Verteilungsvolumen bestimmt. Abbildung 11 stellt die Unterschiede zwischen einer 0,5 und 1minütigen Verteilungszeit dar. Das Plasma-Verteilungsvolumen nach 0,5 min ist deutlich niedriger, hinzu kommt dass die STABW abnimmt. Es treten keine negativen Werte auf, somit kann die  $K_{in}$  problemlos berechnet werden.



**Abbildung 11: Plasma-Verteilungsvolumen von <sup>3</sup>H-Inulin nach 1 min (blau n = 68) und 0,5 min (rot n = 52) in sieben Arealen gemessen. Angaben als arithmetischer MW + STABW.**

Vergleicht man die in Tabelle 5 aufgeführten extrapolierten <sup>3</sup>H-Inulin-Werte mit den Plasma-Verteilungsvolumina nach 0,5 min so fällt auf, dass diese (mit Ausnahme des Bulbus olfactorius) deutlich höher liegen. Das Plasmavolumen wurde dementsprechend zukünftig für jedes Versuchstier über das Verteilungsvolumen von <sup>3</sup>H-Inulin nach 0,5 min bestimmt.

**Tabelle 5: Vergleich des extrapolierten Plasmavolumens mit dem -Verteilungsvolumen nach 0,5 min, gemessen mit <sup>3</sup>H-Inulin. Angabe der Werte als arithmetischer Mittelwert ± STABW, bei den extrapolierten Volumina ist keine Angabe der STABW möglich.**

Hirnregion	Extrapoliertes Volumen [µl/g]	Verteilungsvolumen nach 0,5 min [µl/g]
Cortex	7,6	5,7 ± 3,5
Diencephalon	12,1	7,7 ± 4,2
Mesencephalon	7,9	10,1 ± 5,1
Pons	12,8	9,3 ± 4,9
Medulla	16,8	13,1 ± 6,8
Cerebellum	14,2	12,7 ± 5,4
Bulbus	13,6	15,4 ± 12,2

## 4.2 Labilisierung der BHS mittels Challenge-Bedingungen

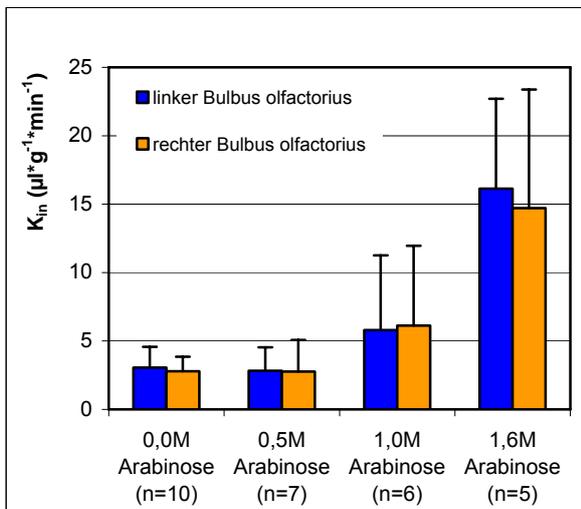
Mit Hilfe von Challenge-Bedingungen sollte die Nachweisempfindlichkeit des Einflusses der Bestrahlung auf die Integrität der BHS verbessert werden. Da bei einer chronischen Strahlenexposition mit einer SAR von 0,4 W/kg nur eine minimale eventuell reversible Schädigung der BHS erwartet wird, musste die Untersuchungsmethode möglichst sensitiv gewählt werden. Ziel der Challenge-Bedingungen war es daher, die BHS reproduzierbar latent zu schwächen oder aber nur geringfügig zu öffnen.

Die Messung der Integrität der BHS erfolgte mit Hilfe des Markers  $^{14}\text{C}$ -Saccharose, dessen unidirektionale Influxkonstante,  $K_{in}$  bestimmt wurde. Die  $K_{in}$  ( $\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) beschreibt die während der Messzeit vom vaskulären Raum in den interstitiellen Raum übergetretene Flüssigkeitsmenge. Somit wird eine quantitative Aussage über die Öffnung der BHS möglich. Eine physikalische Methode zur Öffnung der BHS, ist die Infusion hyperosmolarer Lösungen (z.B. Arabinose, Mannitol). Als Grenzwert für die minimale Konzentration, welche nötig ist, um die BHS gerade noch zu öffnen, ist in der Literatur (Literaturangabe) 1,6 mol/l Arabinoselösung angegeben. Sind Temperatur und Infusionsgeschwindigkeit der Lösung konstant, lässt sich der Grad der Öffnung über die Konzentration variieren. Ziel war es, die BHS zwar zu labilisieren, aber noch nicht zu öffnen, so dass eine später gemessene Öffnung der BHS auf die Strahlenexposition zurückzuführen ist.

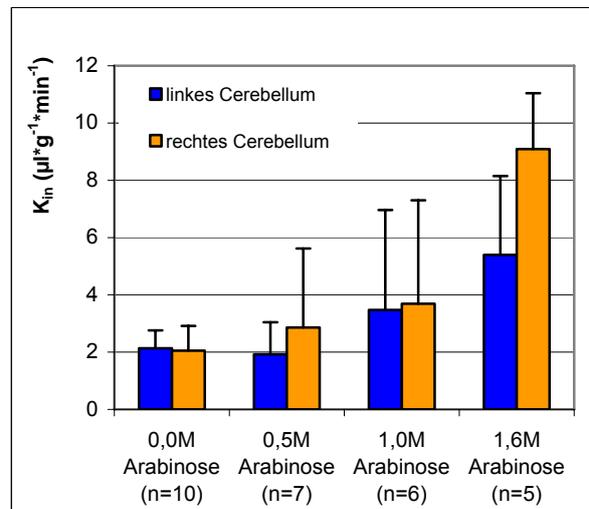
Ausgehend vom Grenzwert (Literatur) wurden sinkende Konzentrationen (1,6 mol/l; 1,0 mol/l; 0,5 mol/l und NaCl) der Arabinoselösung injiziert und in sieben verschiedenen Hirnregionen (Bulbus olfactorius, Cerebellum, Medulla oblongata, Pons, Mesencephalon, Diencephalon und Cortex) die  $K_{in}$  der jeweils linken und rechten Hemisphäre gemessen. Die Infusion der Arabinoselösung erfolgte streng standardisiert in die rechte A. carotis interna, dies führte bei einer über 1,6 molaren Lösung zu einer einseitigen Öffnung der BHS.

Die Abbildung 12 zeigt die  $K_{in}$  in Abhängigkeit der Arabinosekonzentrationen in verschiedenen Hirnregionen. Bei abnehmender Konzentration sinkt die  $K_{in}$ . Bei einer 1,6 mol/l Arabinosekonzentration wird die BHS geöffnet. Die Öffnung der BHS ist auf der Infusionsseite deutlich ausgeprägter als auf der contralateralen Seite. Nachdem

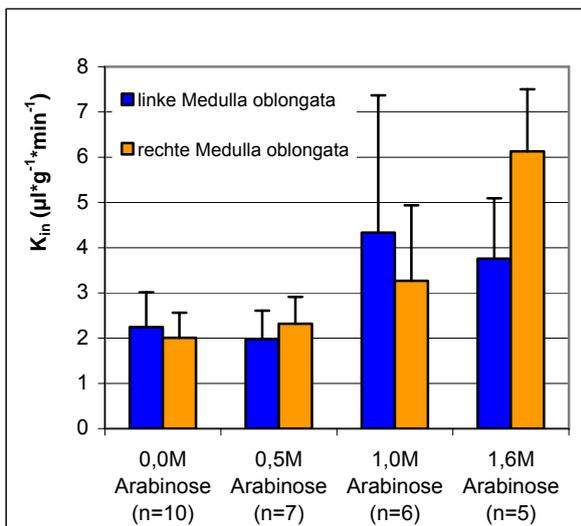
auch bei einer Konzentration von 1,0 mol/l Arabinose noch eine deutliche Öffnung nachzuweisen war, wurde die Konzentration auf 0,5 mol/l gesenkt. Die  $K_{in}$  der 0,5 mol/l Lösung entspricht in der linken Hemisphäre der von Kochsalzlösung. Auf der Injektionsseite sind die  $K_{in}$ -Werte teilweise erhöht. Hier kann es zu einer geringfügigen Öffnung der BHS kommen (vergleiche Abbildung 12 B, E, F, G), die besonders deutlich in den Hirnarealen ausgeprägt ist, die überwiegend von der A. cerebri media versorgt werden.



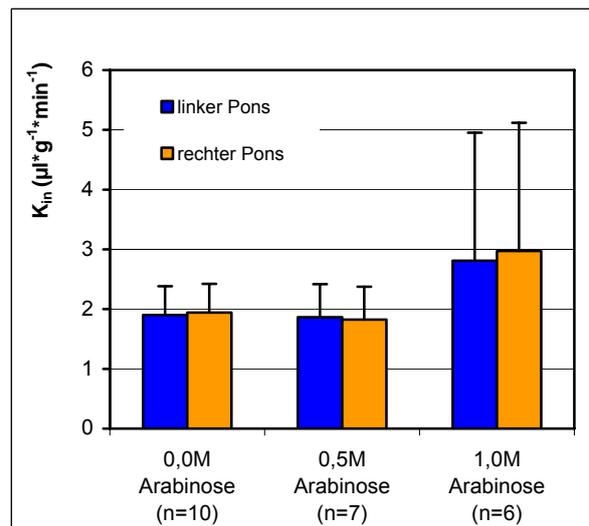
A



B

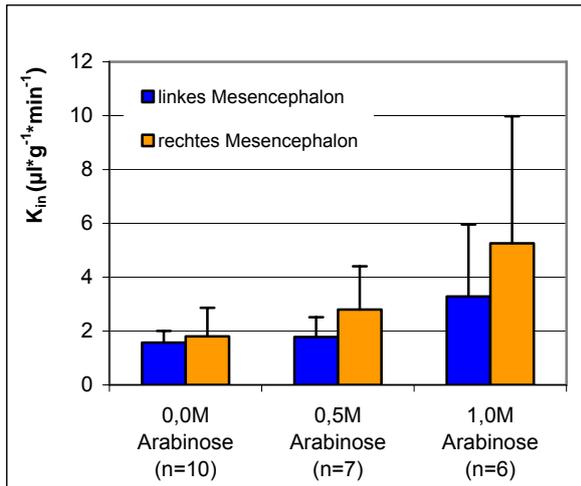


C

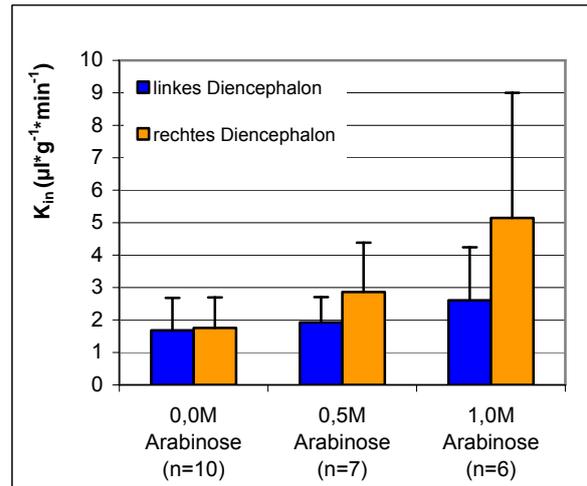


D

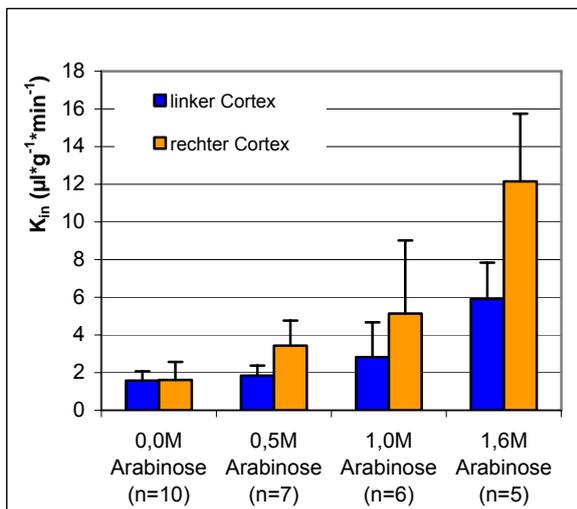
## ERGEBNISSE



**E**



**F**



**G**

**Abbildung 12:** A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D = Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Dargestellt ist die unidirektionale Influxkonstante ( $K_{in}$ ) in Abhängigkeit von steigenden Arabinosekonzentrationen.  $K_{in}$  wird als arithmetischer MW  $\pm$  STABW angegeben.

Vergleicht man die  $K_{in}$  nach der Gabe von 0,5 mol/l mit der nach 1,6 mol/l Arabinoselösung, so sind die Unterschiede in allen untersuchten Arealen signifikant für  $p = 0,017$ : Bulbus olfactorius links  $p = 0,009$  und rechts  $p = 0,005$ ; Cerebellum links  $p = 0,012$  und rechts  $p = 0,002$ ; Medulla oblongata links  $p = 0,011$  und rechts  $p = 0,002$ ; Cortex links  $p = 0,008$  und rechts  $p = 0,000$ . Wohingegen zwischen 0,5 mol/l Arabinose- und Kochsalzlösung sowie auch zwischen 0,5 mol/l und 1,0 mol/l

Arabinoselösung keine signifikanten Unterschiede bestehen. Innerhalb der Kammern tritt häufig ein Unterschied zwischen der linken und der rechten (Infusionsseite) Hemisphäre auf. Untersucht man diesen statistisch, so ergibt sich für folgende Arabinosekonzentrationen und Hirnregionen ein signifikanter Unterschied:

1,6 molare Arabinoselösung: Medulla oblongata  $p = 0,007$ ; Cortex  $p = 0,010$

0,5 molare Arabinoselösung: Mesencephalon  $p = 0,046$ ; Cortex  $p = 0,010$

### 4.3 Integrität der BHS der bestrahlten Tiere

Drei Tiergenerationen wurden ganztägig bestrahlt. Die Bestrahlung wurde nur während der Pfllegetätigkeiten in den Kammern unterbrochen (max. 2 % der Gesamtbestrahlungszeit). Für die Untersuchung der BHS standen Tiere der ersten (F0) und der dritten (F2) Generation zur Verfügung. Die F0-Generation wurde in eine viermonatig bestrahlte Gruppe1 und eine elfmonatig bestrahlte Gruppe2 unterteilt. Hierdurch sollte die Auswirkung der Bestrahlungsdauer auf die BHS untersucht werden. Die dritte Generation wurde wie die F0-Gruppe1 ebenfalls vier Monate bestrahlt, um im Vergleich untereinander evtl. Einflüsse der Strahlen auf die prä- und postpartalen Entwicklungsphasen der Tiere untersuchen zu können.

#### 4.3.1 $K_{in}$ der F0-Generation Gruppe1 nach viermonatiger Exposition

Die Gruppe1 der ersten Tiergeneration F0 wurde vier Monate bestrahlt. In Abbildung 13 werden die  $K_{in}$  der GSM-, UMTS- und Kontrollgruppe der verschiedenen Hirnregionen (A-G, Bulbus olfactorius, Cerebellum, Medulla oblongata, Pons, Mesencephalon, Diencephalon, Cortex) dargestellt. Zwischen den Kontrolltieren und bestrahlten Versuchstieren gibt es keine signifikanten Unterschiede.

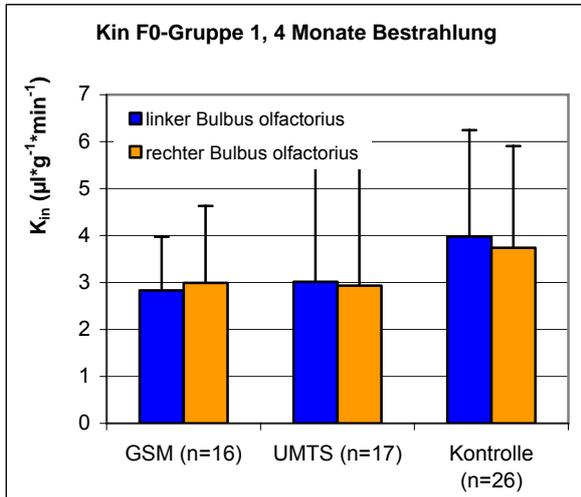
Wie in den Vorversuchen bereits beobachtet und beschrieben, treten in jeder Gruppe Unterschiede zwischen der linken und rechten (Infusions-) Seite auf, die im Mesencephalon, Diencephalon und Cortex und zum Teil auch im Cerebellum statistisch signifikant sind. Untersucht wurde mittels eines gepaarten T-Test für  $p \leq 0,05$ :

GSM: Diencephalon  $p = 0,001$ ; Cortex  $p = 0,016$

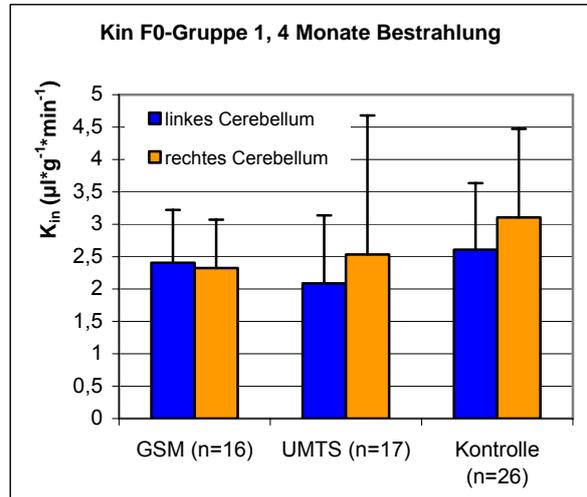
UMTS: Diencephalon  $p = 0,033$ ; Cortex  $p = 0,014$

Kontrolle: Diencephalon  $p < 0,001$ ; Cortex  $p = 0,001$ ; Cerebellum  $p = 0,016$ ;  
Mesencephalon  $p = 0,002$

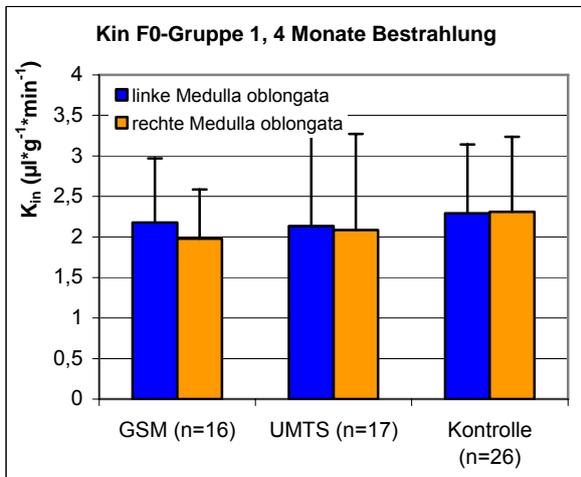
Die in der Kontrollgruppe in zwei weiteren Hirnarealen statistisch signifikant nachweisbaren Unterschiede zwischen den beiden Hirnseiten sind auf die größere Tierzahl in dieser Gruppe zurückzuführen.



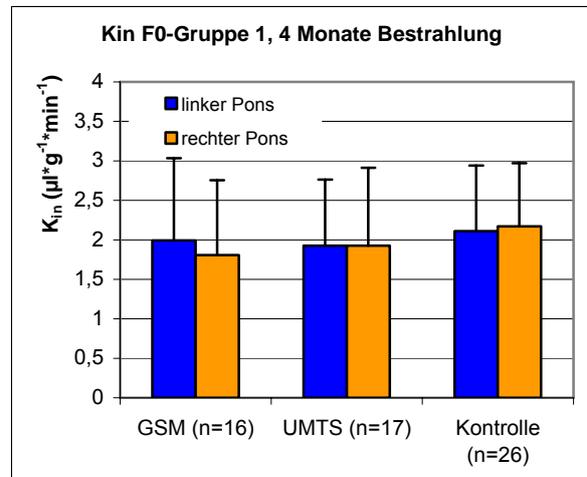
A



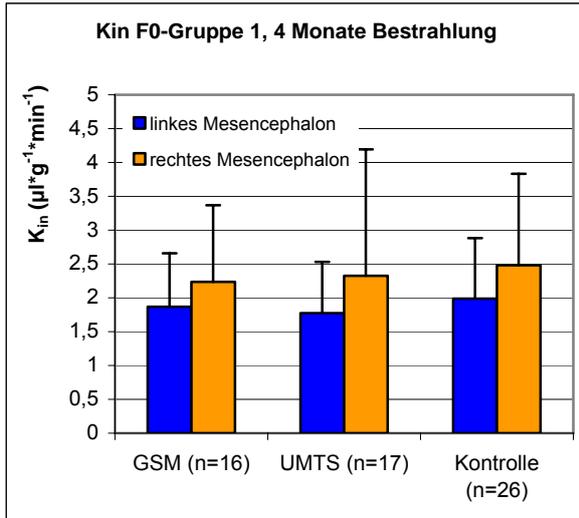
B



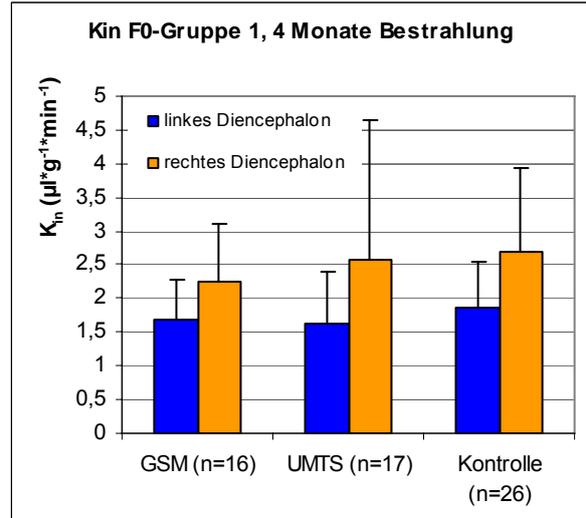
C



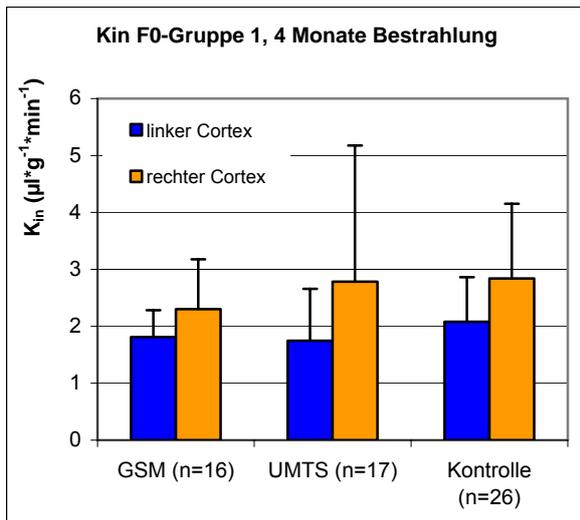
D



E



F



G

**Abbildung 13:** A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D= Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Vergleich der  $K_{in}$  der Tiere aus GSM-, UMTS- und Kontrollkammer der F0-Generation, Gruppe 1, nach viermonatiger Bestrahlung. Die  $K_{in}$  wird als arithmetischer MW  $\pm$  STABW angegeben.

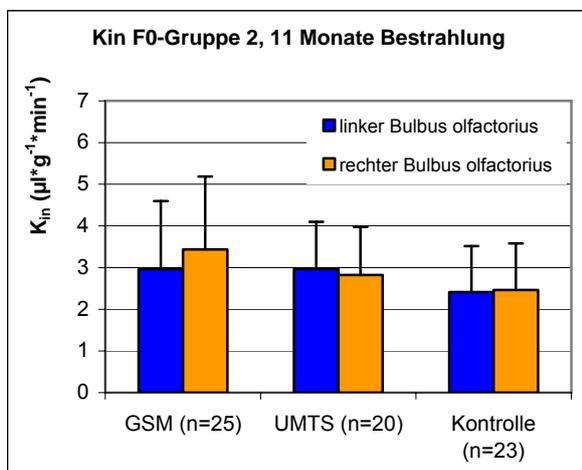
### 4.3.2 $K_{in}$ F0-Generation, Gruppe2 nach elfmonatiger Exposition

Die Gruppe2 der F0-Generation wurde elf Monate bestrahlt. Wie auch in Gruppe1 werden die  $K_{in}$  der GSM-, UMTS- und Kontrollgruppe in den verschiedenen Hirnregionen dargestellt (siehe Abbildung 14 A-G). Es treten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf. Innerhalb der drei Gruppen ist wiederum die höhere  $K_{in}$  auf der Infusionsseite in Mesencephalon, Diencephalon und Cortex zu sehen, dabei ergeben sich nach einem gepaarten T-Test folgende  $p \leq 0,05$  folgende Signifikanzen:

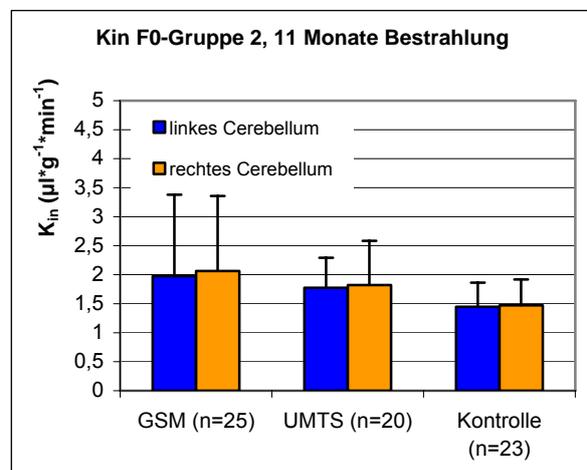
GSM: Mesencephalon  $p = 0,009$ ; Diencephalon  $p = 0,002$ ; Cortex  $p < 0,001$

UMTS: Pons  $p = 0,023$ ; Mesencephalon  $p = 0,002$ ; Diencephalon  $p = 0,002$ ; Cortex  $p = 0,005$

Kontrolle: Mesencephalon  $p = 0,070$ ; Diencephalon  $p = 0,024$ ; Cortex  $p = 0,003$

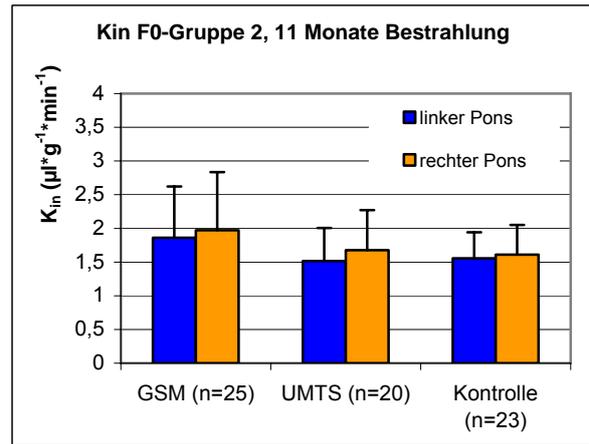
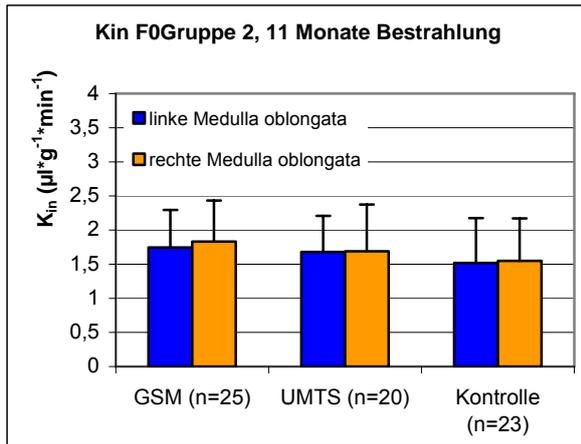


A



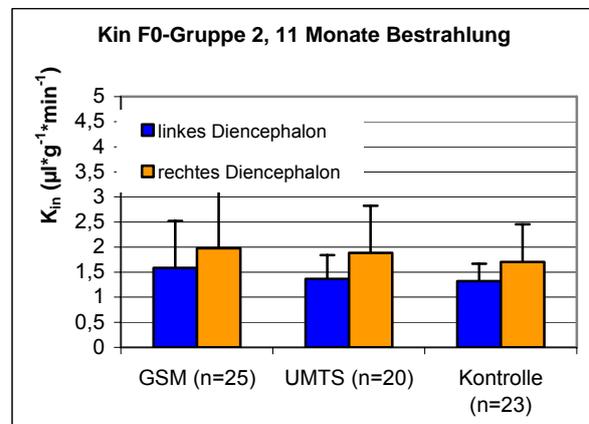
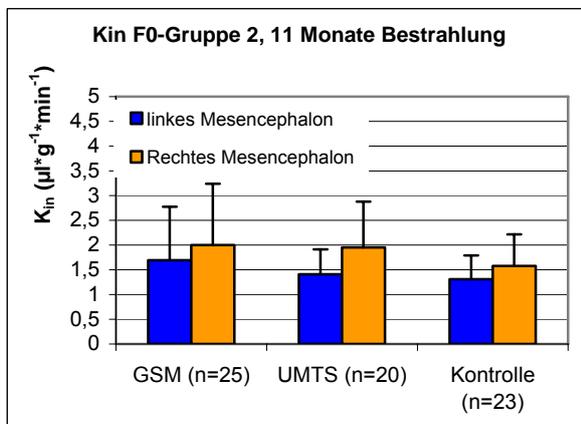
B

## ERGEBNISSE



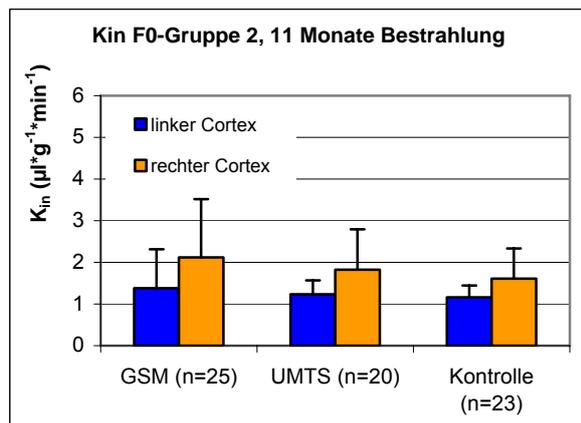
**C**

**D**



**E**

**F**



**G**

**Abbildung 14:** A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D= Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Vergleich der  $K_{in}$  der Tiere aus GSM-, UMTS- und Kontrollkammer der F0-Generation, Gruppe 2, nach elfmonatiger Bestrahlung. Die  $K_{in}$  wird als arithmetischer MW  $\pm$  STABW angegeben.

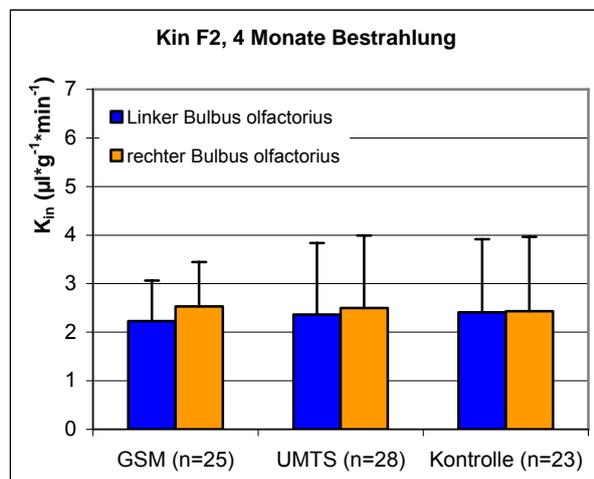
### 4.3.3 $K_{in}$ der Generation F2 nach viermonatiger Exposition

Die Tiere der F2-Generation wurden ebenso wie die F0-Gruppe1 insgesamt vier Monate bestrahlt. Die Abbildung 15 stellt die  $K_{in}$  der GSM-, UMTS- und Kontrollgruppe in den unterschiedlichen Hirnregionen (A-G) und deren linker und rechter (Infusions-) Seite dar. Die  $K_{in}$  der drei Kammern unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Wiederum ist der Unterschied der  $K_{in}$  der rechten Seite verglichen mit der linken Seite in Mesencephalon, Diencephalon und Cortex (E, F, G) zu sehen. Untersucht man diesen statistisch mit einem gepaarten T-Test  $p \leq 0,05$ , so ergeben sich für die drei Regionen folgende Signifikanzen:

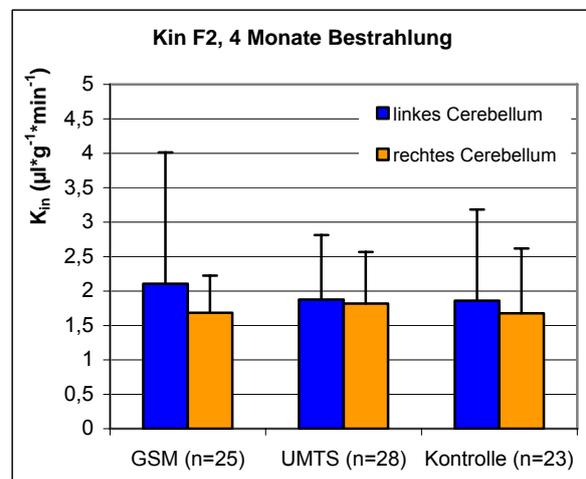
GSM: Mesencephalon  $p = 0,014$ ; Diencephalon  $p = 0,002$ ; Cortex  $p = 0,001$

UMTS : Mesencephalon  $p < 0,001$ ; Diencephalon  $p < 0,001$ ; Cortex  $p < 0,001$

Kontrolle : Mesencephalon  $p = 0,009$ ; Diencephalon  $p < 0,001$ ; Cortex  $p < 0,001$

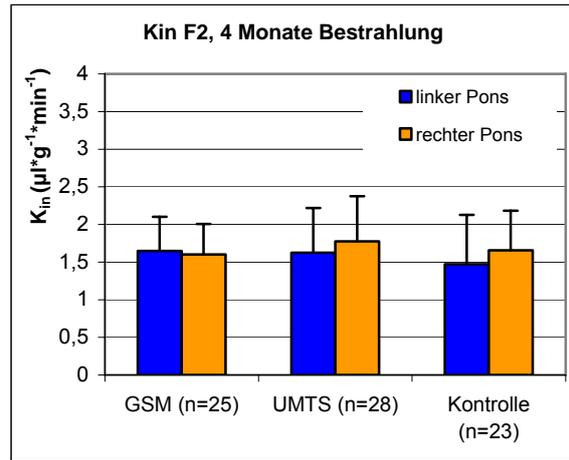
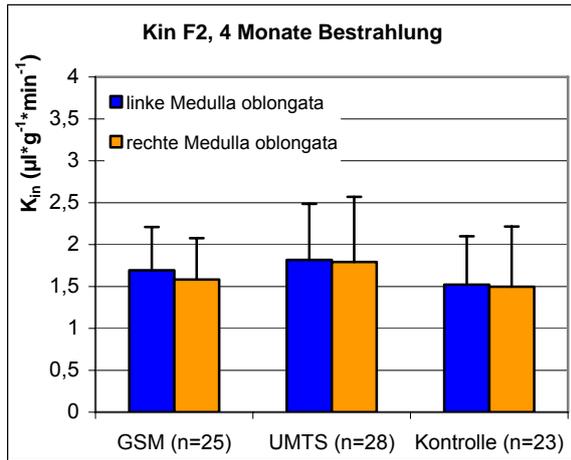


A



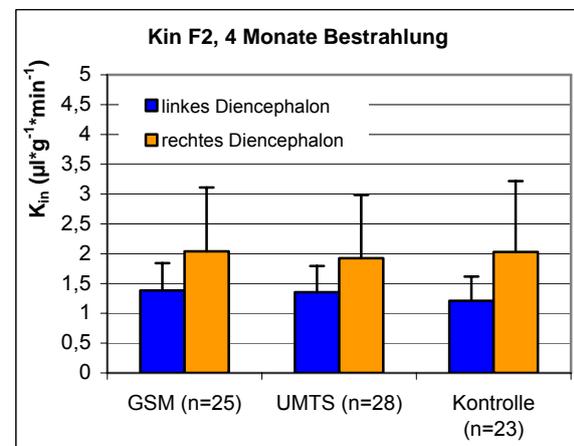
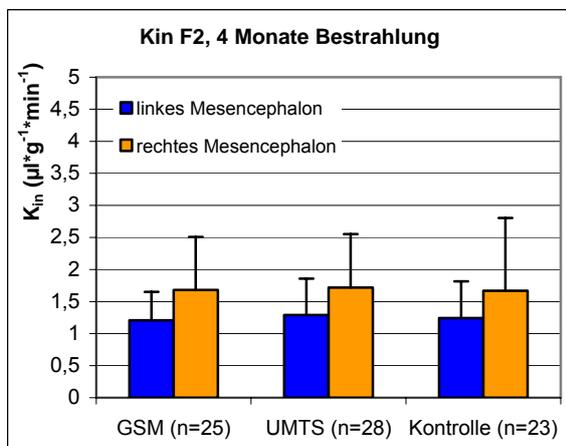
B

## ERGEBNISSE



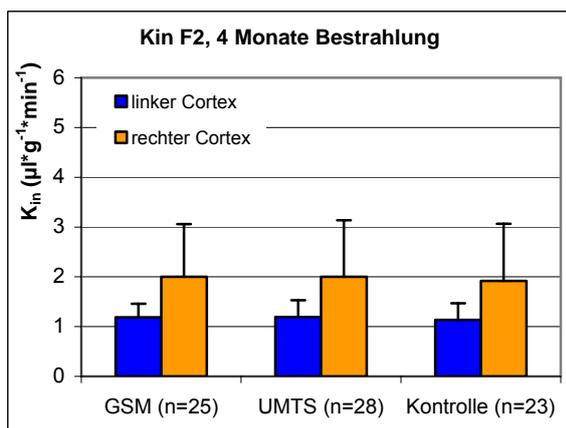
**C**

**D**



**E**

**F**



**G**

**Abbildung 15:** A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D= Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Vergleich der  $K_{in}$  der Tiere aus GSM-, UMTS- und Kontrollkammer der F2-Generation, nach viermonatiger Bestrahlung. Die  $K_{in}$  wird als arithmetischer MW  $\pm$  STABW angegeben.

In der Tabelle 6 werden die  $K_{in}$  aller Generationen zusammengefasst. Zusätzlich werden die  $K_{in}$  der Vorversuche mit 0,5 mol/l Arabinoselösung angegeben, die als optimale Challenge-Bedingungen festgelegt wurden. Die unterschiedliche Bestrahlungsdauer von vier oder elf Monaten hatte keinen Einfluss auf die Integrität der BHS (Vergleich F01 und F02). Auch die kontinuierliche Bestrahlung über mehrere Generationen wirkte sich nicht auf die BHS aus (Vergleich F01 mit F2).

ERGEBNISSE

Tabelle 6: Übersicht aller unidirektionaler Influxkonstanten  $K_{in}$  in  $[\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}]$ . Von den Vorversuchen wird nur die Challenge-Konzentration 0,5 mol/l Arabinose angegeben. Alle Angaben als  $MW \pm STABW$ .

Generation, Bestrahlungsdauer			F0-1, 4 Monate	F0-2, 11 Monate	F2, 4 Monate	Vorversuche 0,5M
Bulbus	li	GSM	2,8 ± 1,1	3,0 ± 1,6	2,2 ± 0,8	
		UMTS	3,0 ± 2,5	3,0 ± 1,1	2,4 ± 1,5	
		Kontrolle	4,0 ± 2,3	2,4 ± 1,1	2,4 ± 1,5	2,8 ± 1,7
	re	GSM	3,0 ± 1,6	3,4 ± 1,7	2,5 ± 0,9	
		UMTS	2,9 ± 2,6	2,8 ± 1,2	2,5 ± 1,5	
		Kontrolle	3,7 ± 2,2	2,5 ± 1,1	2,4 ± 1,5	2,8 ± 2,3
Cerebellum	li	GSM	2,4 ± 0,8	2,0 ± 1,4	2,1 ± 1,9	
		UMTS	2,1 ± 1,1	1,8 ± 0,5	1,9 ± 0,9	
		Kontrolle	2,6 ± 1,0	1,4 ± 0,4	1,9 ± 1,3	1,9 ± 1,1
	re	GSM	2,3 ± 0,7	2,1 ± 1,3	1,7 ± 0,5	
		UMTS	2,5 ± 2,1	1,8 ± 0,8	1,8 ± 0,7	
		Kontrolle	3,1 ± 1,4	1,5 ± 0,4	1,7 ± 0,9	2,9 ± 2,8
Medulla	li	GSM	2,2 ± 0,8	1,7 ± 0,5	1,7 ± 0,5	
		UMTS	2,1 ± 1,2	1,7 ± 0,5	1,8 ± 0,7	
		Kontrolle	2,3 ± 0,8	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,6	2,0 ± 0,6
	re	GSM	2,0 ± 0,6	1,8 ± 0,6	1,6 ± 0,5	
		UMTS	2,1 ± 1,2	1,7 ± 0,7	1,8 ± 0,8	
		Kontrolle	2,3 ± 0,9	1,5 ± 0,6	1,5 ± 0,7	2,3 ± 0,6
Pons	li	GSM	2,0 ± 1,0	1,9 ± 0,8	1,7 ± 0,5	
		UMTS	1,9 ± 0,8	1,5 ± 0,5	1,6 ± 0,6	
		Kontrolle	2,1 ± 0,8	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,7	1,9 ± 0,6
	re	GSM	1,8 ± 0,9	2,0 ± 0,9	1,6 ± 0,4	
		UMTS	1,9 ± 1,0	1,7 ± 0,6	1,8 ± 0,6	
		Kontrolle	2,2 ± 0,8	1,6 ± 0,4	1,7 ± 0,5	1,8 ± 0,6
Mesencephalon	li	GSM	1,9 ± 0,8	1,7 ± 1,1	1,2 ± 0,4	
		UMTS	1,8 ± 0,8	1,4 ± 0,5	1,3 ± 0,6	
		Kontrolle	2,0 ± 0,9	1,3 ± 0,5	1,2 ± 0,6	1,8 ± 0,7
	re	GSM	2,2 ± 1,1	2,0 ± 1,2	1,7 ± 0,8	
		UMTS	2,3 ± 1,9	2,0 ± 0,9	1,7 ± 0,8	
		Kontrolle	2,5 ± 1,4	1,6 ± 0,6	1,7 ± 1,1	2,8 ± 1,6
Diencephalon	li	GSM	1,7 ± 0,6	1,6 ± 0,9	1,4 ± 0,5	
		UMTS	1,6 ± 0,8	1,4 ± 0,5	1,4 ± 0,4	
		Kontrolle	1,9 ± 0,7	1,3 ± 0,3	1,2 ± 0,4	1,9 ± 0,8
	re	GSM	2,3 ± 0,8	2,0 ± 1,2	2,0 ± 1,1	
		UMTS	2,6 ± 2,1	1,9 ± 0,9	1,9 ± 1,1	
		Kontrolle	2,7 ± 1,3	1,7 ± 0,7	2,0 ± 1,2	2,9 ± 1,6
Cortex	li	GSM	1,8 ± 0,5	1,4 ± 0,9	1,2 ± 0,3	
		UMTS	1,7 ± 0,9	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,3	
		Kontrolle	2,1 ± 0,8	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,3	1,8 ± 0,5
	re	GSM	2,3 ± 0,9	2,1 ± 1,4	2,0 ± 1,1	
		UMTS	2,8 ± 2,4	1,8 ± 1,0	2,0 ± 1,1	
		Kontrolle	2,8 ± 1,3	1,6 ± 0,7	1,9 ± 1,1	3,4 ± 1,3

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der eigenen Methoden

#### 5.1.1 Bestimmung des vaskulären Raumes

Die Bestimmung des vaskulären Raums in der Gehirnprobe ist Voraussetzung zur Berechnung der  $K_{in}$ . Sie kann zwar mittels Anwendung der Multiple-Time Regression Analysis (siehe Kapitel 2.4.2.1) vermieden werden, diese ist aber mit hohen Tierzahlen und großem methodischem Aufwand verbunden und ergibt eine  $K_{in}$  für die gesamte untersuchte Tiergruppe und nicht für das Einzeltier. Die Genauigkeit der  $K_{in}$  wird maßgeblich durch die Genauigkeit der Methode zur Bestimmung des Blutvolumens bestimmt. In der Literatur finden sich nur wenige Angaben über Methoden zur Bestimmung des vaskulären Raumes und kaum konkrete Werte der Blutvolumina einzelner Hirnregionen.

Zur Beurteilung der Permeabilität der BHS unter Berechnung der  $K_{in}$  werden unterschiedliche Methoden zur Bestimmung des vaskulären Raumes genutzt. Eine Berechnung des vaskulären Raumes lässt sich durch gründliche Spülung des cerebralen Raumes mit Hilfe von Kochsalzlösung vermeiden (Begley, 1999). So wird der Marker aus dem Gefäßvolumen entfernt und bei der anschließenden Messung der Markerkonzentration im Hirngewebe nur die tatsächliche Gewebekonzentration bestimmt. Hierbei ist zweifelhaft, wie effektiv eine Spülung des Hirngewebes sämtliche Rückstände des Markers aus dem Kapillarbett des Gehirns entfernen kann. Außerdem verteilt sich infundierte NaCl-Lösung sehr schnell auf den intravasalen und interstitiellen Raum auf. Dies führt zu einer Zunahme des Gewichts der untersuchten Areale und verändert das Ergebnis der  $K_{in}$  in  $[\mu\text{l}\cdot\text{g}\cdot\text{min}]$ . Ein weiterer Nachteil dieser Methode ist, dass die Perfusion radioaktiv kontaminierter Tiere mit einer hohen Kontaminationsgefahr für die umgebende Arbeitsfläche, Materialien und damit das Personal verbunden ist und nur unter besonderen Schutzmaßnahmen durchgeführt werden kann.

Um den vaskulären Raum genau zu bestimmen, kann ein nicht BHS-gängiger zweiter Marker verwendet werden. Die Genauigkeit der Methode ist abhängig von

der Wahl des Markers und dessen Zirkulationsdauer im Blutkreislauf. So besteht in unseren Vorversuchen ein enger Zusammenhang zwischen der Zirkulationszeit des Markers und den gemessenen vaskulären Räumen. Die ermittelten Werte nach einer Minute waren teilweise doppelt so groß wie die nach einer halben Minute gemessenen. Dies führte bei der Berechnung der unidirektionalen Influxkonstante  $K_{in}$  zu widersprüchlichen Ergebnissen. So wurden teilweise negative  $K_{in}$  Werte berechnet, was unter diesen Versuchsbedingungen nicht realistisch ist. Eine Verkürzung der Verteilungszeit von einer Minute auf eine halbe Minute führte zu deutlich niedrigeren Werten und Streuungen.

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass der Marker bei längerer Verteilungszeit doch aus dem Blut ins Gehirn diffundieren konnte und sich dort angereichert hat. Dadurch würden sich eine geringe Plasma- und eine hohe Gewebeaktivität ergeben und insgesamt hohe Blutvolumina. Dagegen spricht, dass Inulin gerade wegen seiner Eigenschaft, nicht die BHS zu überqueren (Crone, 1963; Ohno et al., 1978) und nicht im Stoffwechsel der Ratte metabolisiert zu werden (Schanker und Hogben, 1961), als intravaskulärer Marker eingesetzt wird. Prinzipiell kann sich durch Umlagerung von Tritium von der  $^3\text{H}$ -Inulin Lösung auf Wasser  $^3\text{H}$ -Wasser in der Probe bilden, welches schneller durch die BHS diffundieren kann. Dass eine Umlagerung in der in diesem Versuch verwendeten Lösung aufgetreten ist, wurde durch Messung der Aktivität nach Eindampfen mehrerer Injektionslösungen ausgeschlossen. Gegen eine Anreicherung von  $^3\text{H}$ -Inulin in der Gewebeprobe der Versuche spricht auch, dass in den Vorversuchen nach 30minütiger Zirkulation eine wesentlich geringere Gewebeaktivität gemessen wurde (MW aus vier Versuchen 2505 dpm/g Gehirn) als nach fünf Minuten (4264 dpm/g Gehirn) und einer Minute (MW aus vier Versuchen 13308 dpm/g Gehirn). Daher ist es unwahrscheinlich, dass die hohen Plasmawerte auf eine Anreicherung des  $^3\text{H}$ -Inulins im Hirngewebe zurückzuführen sind.

Die  $^3\text{H}$ -Inulin- Konzentration im Plasma sinkt innerhalb der ersten Minute exponentiell auf Grund verschiedener Verteilungsvorgänge (zum Beispiel Ausscheidung über Niere und Leber). Zusätzlich zu diesen Vorgängen könnte zu Beginn der Injektion eine Anlagerung eines Teils des  $^3\text{H}$ -Inulins an den Gefäßwänden zu sinkenden Plasmakonzentrationen geführt haben. Nach einer halben und einer Minute Verteilungszeit wäre die Gewebeaktivität immer noch gleich groß, jedoch die

Plasmaaktivität deutlich gesunken und würde somit die Zunahme der berechneten vaskulären Räume erklären. Allerdings müsste sich das  $^3\text{H}$ -Inulin nach einer deutlich längeren Verteilungszeit (30 min) von der Endothelwand lösen, um die deutlich niedrigeren Gewebeaktivitäten nach 30 Minuten erklären zu können.

Neben der Verteilungsdauer spielt die Größe des verwendeten Markers eine wichtige Rolle. Da große Moleküle langsamer diffundieren, nimmt mit zunehmender Molekülgröße das gemessene Plasmavolumen ab (vergleiche Ergebnisse Verteilungsvolumen von Saccharose 342 Da, 0,47 nm und Inulin 4000 Da, 1,5 nm). Je länger die Verteilungszeit der beiden Marker, desto mehr gleichen sich die Werte an. Diese Ergebnisse werden in einer Studie von Smith (Smith et al., 1988) bestätigt, der mit Hilfe unterschiedlich großer Marker die Bestimmung des vaskulären Raumes durchführte. Er fand heraus, dass bei Markern mit einem MW von  $>40000$  das Verteilungsvolumen bei einer Zirkulationszeit von 1-30 min konstant bleibt, wohingegen es bei kleineren Markern ( $<20000$  Da) mit zunehmender Verteilungszeit ansteigt und nach 30 min 60-90 % größer als das mit großen Markern gemessene Volumen ist. Smith vermutet, dass entweder die kleinen Marker aus dem Plasma diffundieren oder sich die großen Marker nicht homogen im cerebralen Plasmaraum verteilen.

Um diesen Größeneffekt auszugleichen, ist es wichtig den Marker zur Bestimmung des Plasmavolumens so zu wählen, dass dessen Verteilungseigenschaften in etwa denen des Markers entsprechen, der zur Bestimmung der  $K_{in}$  verwendet wird. Smith gibt als Grenze für kleine Marker einen Radius von  $<3$  nm an, somit gehören sowohl  $^{14}\text{C}$ -Saccharose als Marker für die Messung der Integrität der BHS und  $^3\text{H}$ -Inulin als Marker zur Messung des cerebralen Plasmaraums zu den kleinen Markern. Beide werden im Stoffwechsel der Ratte nicht metabolisiert, über die Leber und die Niere ausgeschieden und diffundieren kaum über die BHS.

Um realistische Werte zu berechnen, wurde der vaskuläre Raum zusätzlich mittels Extrapolation bestimmt. Zu verschiedenen Messzeitpunkten wurde sowohl das Blutvolumen mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose und  $^3\text{H}$ -Inulin gemessen, und dann das Blutvolumen im Zeitpunkt Null extrapoliert. Die hierbei erhobenen Ergebnisse wurden mit den Blutvolumina beider Verteilungszeiten verglichen und entsprachen weitgehend den Werten, die nach 30 s mit Hilfe von  $^3\text{H}$ -Inulin gemessen wurden. Die Bestimmung der Blutvolumina mittels Extrapolation ist zwar richtiger, kann jedoch

nicht routinemäßig an allen Versuchstieren durchgeführt werden. Da die Ergebnisse bei einer Verteilungszeit von 30 s denen der Extrapolation entsprachen, wurde in den Hauptversuchen die Messung des cerebralen vaskulären Raums mit Hilfe der  $^3\text{H}$ -Inulin Aktivität nach einer halben Minute gemessen. Für eine möglichst kurze Verteilungszeit spricht auch die Tatsache, dass bei einer eventuellen Öffnung der tight junctions der BHS nach Befeldung der Tiere Inulin mit einer Größe von 1,5 nm ins Hirngewebe diffundieren würde. Daher muss die Verteilungszeit so kurz wie möglich gewählt werden, je kürzer die Zirkulationszeit desto geringer der osmotische Ausgleich zwischen dem vaskulären und interstitiellen Raum. Sollte jedoch die Infusion der hyperosmolaren Lösung zu einer geringfügigen Öffnung der BHS führen, so müsste durch die Wartezeit von 14,5 Minuten vor Gabe des Inulins gewährleistet sein, dass die BHS zum größten Teil wieder geschlossen ist (Rapoport, 1996).

### 5.1.2 Challenge-Methode

Da in bisherigen Untersuchungen über die Permeabilität der BHS nach Exposition mit Mobilfunkstrahlen widersprüchliche Ergebnisse gemessen wurden, war das Ziel in Vorversuchen eine Challenge-Methode zu etablieren, mit deren Hilfe eine höhere Sensitivität der Messmethode erreicht werden kann. Eine geringe Labilisierung der BHS während der Messung der Permeabilität soll in Verbindung mit der monatelangen Bestrahlung durch GSM und UMTS Felder einen eventuell vorhandenen Strahleneffekt verstärken und ihn mittels quantitativer Messung der BHS-Integrität im Vergleich zur unbestrahlten Kontrollgruppe messbar machen.

Dass eine Öffnung der BHS mittels hyperosmolarer Lösungen möglich ist, wurde Anfang der 70iger Jahre von Rapoport gemutmaßt (Rapoport, 1970; Rapoport et al., 1972) und 1980 beschrieben (Rapoport et al., 1980). Die osmotische Öffnung der BHS ist eine physikalische Methode und reversibel. Je nach Konzentration, Volumen, Dauer und Temperatur der infundierten Lösung misst Rapoport einen Anstieg der Permeabilität der BHS. Dies ist der Ansatzpunkt für die von uns gesuchten Challenge-Bedingungen. Im Gegensatz zu Rapoport, der in seinen Versuchen einen Grenzwert festlegte, bei dem in mindestens 50 % der Versuche die BHS geöffnet wurde (1,6 mol/l Arabinose), möchten wir diese gerade noch nicht öffnen. Daher wurden ausgehend von 1,6 mol/l Arabinoselösung sinkende Konzentrationen

infundiert und die Integrität der BHS mittels der Bestimmung der unidirektionalen Influxkonstante  $K_{in}$  untersucht. Bei Rapoport ergibt sich nach 1,8 mol/l Arabinose Gabe ein Anstieg der  $K_{in}$  in einigen Arealen um das 20fache im Vergleich zur Infusion von Kochsalzlösung. In Versuchen mit Evansblue als Marker wurde nach Infusion von isotoner Kochsalzlösung keine Öffnung der BHS beobachtet (Rapoport et al., 1980). In unseren Versuchen sind die  $K_{in}$ -Werte nach Infusion 1,6 mol/l Arabinoselösung um das 2 bis 6fache höher als nach Gabe isotoner Kochsalzlösung. Dieser Größenunterschied erniedrigt sich auf das 1-2,5fache nach Gabe 1,0 mol/l Arabinoselösung und ist nach Infusion von 0,5 mol/l Lösung nur noch in vier Arealen (Mesencephalon, Diencephalon, Cortex und Cerebellum) auf der Infusionsseite in geringem Ausmaß zu sehen. Die linke Seite entspricht in allen Arealen den Ergebnissen nach Infusion von Kochsalzlösung. Eine Erklärung für die erhöhte  $K_{in}$  der jeweiligen Areale ist deren gemeinsame Blutversorgung durch die A. carotis interna. Die Arabinoselösung wird in die rechte A. carotis interna injiziert und verteilt sich daher hauptsächlich in der A. cerebri media, die wiederum das Diencephalon, Mesencephalon und der Cortex versorgt (Vergleiche Abbildung 1). Daher wirkt hier die hyperosmolare Lösung stärker als in den übrigen Hirnarealen. Im Cerebellum, das von kaudal versorgt wird, sind die höheren Werte durch die besondere Blutversorgung des Gehirns, den Circulus willisii, zu erklären. In diesem Fall wird die in die rechte A. carotis interna infundierte hyperosmolare Lösung über den Zirkulus in die Versorgungsgebiete der contralateralen Seite und der kaudalen Hirnarterien transportiert und kann dort die BHS der zentralen Areale beider Hemisphären öffnen. Das so genannte crossover der hyperosmolaren Lösung tritt in Abhängigkeit des systemischen Blutdrucks, des cerebralen Blutflusses und der Infusionsparameter auf (Rapoport, 1976). Daher ist es besonders wichtig, eine reproduzierbare Methode anzuwenden und auf standardisierte Versuchs- und insbesondere Infusionsbedingungen zu achten.

Ebenso wie in anderen Arbeiten, die auch die unidirektionale Influxkonstante zur Beschreibung der Integrität der BHS nutzen (Ohno et al., 1978; Preston and Prefontaine 1980; Williams et al., 1984), stellt sich die Frage ab welchen  $K_{in}$ -Werten von einer Öffnung der BHS ausgegangen werden kann und welche Werte Basalwerten einer geschlossenen BHS entsprechen. Ein direkter Vergleich der Werte

ist kaum möglich, da die meisten Arbeiten mit unterschiedlichen Markern und Verteilungszeiten durchgeführt wurden. Da wir unseren Versuchsaufbau und die Untersuchungsparameter so durchgeführt haben wie bei Rapoport (Rapoport et al., 1980) beschrieben, ist es möglich die dort angegebenen Ergebnisse, soweit die Areale übereinstimmen, zu vergleichen siehe Tabelle 7.

**Tabelle 7: Vergleich der  $K_{in}$ -Werte in  $[\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}]$  von Rapoport et al., 1980 mit eigenen Ergebnissen nach Infusion 0,9 %iger Kochsalzlösung und 1,6 molarer Arabinoselösung. Die Werte mussten auf eine gemeinsame Einheit umgerechnet werden und sind gerundet. Rapoport gibt in der 1,6 molaren Arabinose-Gruppe nur die  $K_{in}$ -Werte der rechten Hemisphäre an. Angaben in MW  $\pm$  STABW; (\*) eigene Cortexwerte werden der grauen Substanz gleichgesetzt**

Hirnregionen		eigene Werte	Rapoport et al., 1980	eigene Werte	Rapoport et al., 1980
		n = 10	n = 7	n = 5	n = 5
		0,9% NaCl		1,6mol/l Arabinose	
<b>Bulbus</b>	li	3,06 $\pm$ 1,51	1,42 $\pm$ 0,23	16,13 $\pm$ 6,57	
	re	2,79 $\pm$ 1,06	1,53 $\pm$ 0,14	14,71 $\pm$ 8,67	8,52 $\pm$ 2,40
<b>Cerebellum</b>	li	2,14 $\pm$ 0,62	0,57 $\pm$ 0,09	5,40 $\pm$ 3,61	
	re	2,05 $\pm$ 0,87	0,68 $\pm$ 0,12	9,09 $\pm$ 2,75	6,60 $\pm$ 1,80
<b>Medulla</b>	li	2,24 $\pm$ 0,77	0,51 $\pm$ 0,09	3,76 $\pm$ 1,67	
	re	2,01 $\pm$ 0,55	0,44 $\pm$ 0,06	6,13 $\pm$ 1,37	0,61 $\pm$ 2,00
<b>Pons</b>	li	1,90 $\pm$ 0,48	0,62 $\pm$ 0,12		
	re	1,94 $\pm$ 0,60	0,45 $\pm$ 0,05		1,40 $\pm$ 4,70
<b>Mesencephalon</b>	li	1,57 $\pm$ 0,43	0,55 $\pm$ 0,11		
	re	1,80 $\pm$ 1,06	0,46 $\pm$ 0,16		9,60 $\pm$ 8,60
<b>Diencephalon</b>	li	1,68 $\pm$ 1,00			
	re	1,75 $\pm$ 0,94			
<b>graue Substanz</b>	li	1,58 $\pm$ 0,49 *	0,64 $\pm$ 0,10	5,91 $\pm$ 1,93*	
	re	1,61 $\pm$ 0,96 *	1,18 $\pm$ 0,34	12,15 $\pm$ 3,59*	13,20 $\pm$ 1,56
<b>weiße Substanz</b>	li		0,48 $\pm$ 0,20		
	re		0,66 $\pm$ 0,35		9,30 $\pm$ 1,50

Hierbei fällt auf, dass die eigenen  $K_{in}$ -Werte nach NaCl-Gabe um den Faktor 2 bis 4 größer sind, sich aber nach 1,6 mol/l Arabinose-Infusion angleichen. Außerdem ist die Standardabweichung unserer Ergebnisse deutlich größer, obwohl die Tierzahlen mindestens gleich oder sogar größer sind. Da die Werte, die für den vaskulären Raum abgezogen wurden einander fast gleichen, muss dieser Unterschied eine andere Ursache haben. Eine mögliche Erklärung ist die Vorselektion Rapoports, er

berechnete die  $K_{in}$  der mit Arabinose infundierten Tiere nur dann, wenn deren Gehirne eine Verfärbung durch Evansblue-Albumin zeigten. Somit ergibt sich eine geringe Streuung der Versuche.

Eine andere Erklärung, an die man bei erhöhten  $K_{in}$ -Werten denken müsste, ist eine Verunreinigung der Markerlösung. Preston et al. (1998) untersuchten die Auswirkung radiochemischer Unreinheiten von  $^{14}\text{C}$ -Saccharose auf Messungen und Transferkonstanten der BHS von Ratten und konnte einen 3,5fachen Anstieg der  $K_{in}$  feststellen, wenn statt frischem vier Jahre alter Marker verwendet wurde (Preston et al., 1998). Allerdings ist das in unserem Versuch unwahrscheinlich, da ein neuer Marker erworben und verwendet wurde. Als weitere mögliche Gründe kämen Unterschiede durch Verwendung verschiedener Rattenstämme in Frage (Cragg und Phillips, 1981) sowie Effekte, die sich auf die Fluidität der Zellmembran auswirken könnten (Preston et al., 1998), wie zum Beispiel unterschiedliche Haltungsbedingungen, Hormonhaushalt, Ernährung und Gesundheitszustand der Tiere.

Eine Aussage über  $K_{in}$ -Basalwerte bei geschlossener BHS zu treffen ist schwierig. Bei Rapoport trat nach Infusion von NaCl keine Verfärbung auf, daher ist die BHS intakt. Da in unseren Versuchen die gleichen Versuchsparmeter verwendet wurden, würde eine  $K_{in}$  von 1,5 bis 2 nach Infusion von NaCl dementsprechend den Basalwert einer intakten BHS wiedergeben. Auf Grund der 5fach höheren Werte und statistischen Signifikanz nach Infusion von 1,6 mol/l Arabinose gehen wir davon aus, dass in diesem Fall die BHS geöffnet wurde. Als optimale Challenge hat sich nach den Vorversuchen eine Infusion von 0,5 mol/l Arabinose kristallisiert. Mit Ausnahme von vier Arealen, bei denen eine minimale Öffnung der BHS nicht ausgeschlossen werden kann, entsprechen die übrigen Areale den Ergebnissen nach Infusion von Kochsalzlösung. Daher wurde diese Konzentration als die für diese Studie optimale Challenge-Konzentration festgelegt und den Ratten des Hauptversuches fünf Minuten vor Untersuchung der BHS injiziert.

## **5.2 Vergleichende Betrachtung der publizierten Untersuchungen über die Einflüsse der elektromagnetischen Befeldung auf die BHS**

Die Messung der Integrität der BHS zur Untersuchung möglicher Strahleneffekte von Mobilfunkstrahlen wird schon seit Jahrzehnten durchgeführt und dennoch sind die Ergebnisse heutzutage noch widersprüchlich. Die bisherigen Untersuchungen lassen sich entsprechend ihrer Ergebnisse in drei Gruppen zusammenfassen: Eine Gruppe von Arbeiten, bei der die Integrität der BHS erhalten bleibt, eine zweite Gruppe, die Effekte nach Strahlenleistungen im thermischen Bereich gemessen hat und eine dritte Gruppe, die Strahleneffekte im athermischen Bereich messen konnte. Die Tabelle 8 bietet eine Übersicht der Arbeiten, die die Auswirkung von EMF auf die BHS untersucht haben in Abhängigkeit zur den in den Studien gemessenen Temperaturen. Hierbei wird deutlich, dass in fast allen Studien zum Einfluss der elektromagnetischen Befeldung auf die BHS bei niedriger Spezifischer Absorptionsrate (SAR) die Hirntemperatur im Normalbereich (normotherm) und die Integrität der BHS erhalten (+) bleibt oder aber durch einen Temperaturanstieg zu erklären ist. Bei höheren Absorptionsraten (SAR über 7,5 bis 13 W/kg) kommt es zu einer bedeutsamen Erwärmung des Hirngewebes (hypertherm, > 42 bis 43 °C) und zur Störung der Integrität der BHS (-). Daher ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass allein eine Erwärmung des Hirngewebes auf ca. 43 °C die Öffnung der BHS verursacht.

In einigen Studien ist beschrieben, dass auch geringe Spezifische Absorptionsraten im nicht-thermischen Bereich die BHS öffnen können. Dazu zählen eine in-vitro Studie (Schirmacher et al., 2000) und einige Arbeiten aus der Arbeitsgruppe von L.G. Salford und B.R.R. Persson. Diese Arbeiten sind jedoch methodisch angreifbar und konnten von anderen Arbeitsgruppen nicht reproduziert werden (Franke et al., 2005).

DISKUSSION

**Tabelle 8 Übersicht über bisherige Untersuchungen der BHS nach Bestrahlung mit Mobilfunkstrahlen mit den jeweiligen Ergebnissen der Integrität und den dabei gemessenen Temperaturen im Gehirn**

<b>BHS Integrität bleibt erhalten</b>	<b>normotherm = N hypertherm = H</b>	<b>Autor</b>
+	N	Masuda et al. 2007
+	N	Finnie et al. 2006
+	N	Cosquer et al. 2005
+	N	Franke et al. 2005
+	N	Finnie et al. 2002
+	N	Finnie et al. 2001
+	N	Tsurita et al. 2000
+	N	Ward und Ali. 1985
+	N	Chang et al. 1982
+	N	Gruenau et al. 1982
+	N	Ward et al. 1982
+	kein Effekt bis 41 °C, auch nach hoher SAR (80 W/kg)	Lin und Lin 1980
+	N	Preston et al. 1979
+ / -	kein Effekt nach Bestrahlung, nur bei hohen Umgebungstemperaturen	Merritt et al. 1978
+ / -	Effekte bei SAR > 7,5 W/kg	Fritze et al. 1997
+ / -	Effekte nur bei T> 43 °C	Ohmoto et al. 1996
+ / -	Effekte bei T = 42,5 °C 60 min und T = 44,3 °C 30 min	Moriyama et al. 1991
+ / -	> 43 °C Anstieg der Öffnung	Neilly und Lin 1986
+ / -	zunehmende Effekte > 43 °C nach 5 min	Goldman et al. 1984
+ / -	H	Sutton und Carroll 1979
+ / -	Effekte bei 42±2 °C 90 min ohne Bestrahlung, > 41,5 °C 30/90 min, SAR 13 W/kg	Williams et al. 1984
+ / -	Effekte nur bei T> 43 °C	Lin und Lin 1982
+ / -	Effekte nur bei T> 42 °C nach 15 min	Sutton et al. 1973
-	N	Salford et al. 2003
-	N	Schirmacher et al 2000
-	N	Salford et al. 1994
-	N	Persson et al. 1992
-	N	Albert und Kerns 1981
-	N	Neubauer et al. 1990

### 5.3 Methodisch bedingte Änderung der Permeabilität der BHS

In den letzten Jahrzehnten musste immer wieder festgestellt werden, dass eine gemessene Öffnung der BHS nicht auf athermische Effekte der Bestrahlung zurückzuführen war, sondern auf methodische Fehler, bzw. falsch ausgelegte Expositionsparameter und dadurch thermische Effekte durch Bestrahlung auftraten. So konnte nachgewiesen werden, dass durch die Untersuchung verursachter Stress bei der Exposition der Tiere zu einer erhöhten Permeabilität der BHS führen kann (Frey et al., 1975; Oscar und Hawkins, 1977). Steigt der Blutdruck von nicht an die Fixierung gewöhnten Tieren über circa 160 mmHg, so ist eine Öffnung der BHS auf Grund von Hypertension möglich (Rapoport, 1976). So könnte auch ein stressbedingter Blutdruckanstieg von weniger als 160 mmHg in einer Öffnung der BHS resultieren, wenn sich der gestiegene BD und eine erhöhte cerebrale Durchblutung als Folge der Bestrahlung addieren (Fritze et al., 1997). In Ratten, die vor Versuchsbeginn an die Fixation in Untersuchungsröhren gewöhnt wurden, wurden trotz der Habituation fast zehnfach höhere Plasma ACTH- und Corticosterol-Werte gemessen als in den Kontrolltieren. Bei nicht habituierten Tieren war dieser Effekt nochmals um das Drei- bis Zehnfache höher (Stagg und al., 2001). Ein Vorteil unserer Expositions-einrichtung ist die Möglichkeit der stressfreien Bestrahlung der Tiere. Diese müssen für die Exposition weder umgesetzt noch fixiert werden, somit sind stressbedingte Einflüsse eliminiert.

Ein weiterer Vorteil der Expositions-kammern und des relativ großen homogenen Feldes ist die Möglichkeit, die Versuchstiere kontinuierlich über Monate hinweg zu bestrahlen. Es gibt bisher keine vergleichbaren Versuche, die eine so große Tierzahl (120 pro Kammer) gleichzeitig und kontinuierlich während sensibler Entwicklungsphasen (Anpaarung, Aufzucht) und der kompletten Haltung bestrahlen und untersuchen konnten. In anderen Langzeitversuchen werden die Tiere meist einige Stunden pro Tag in Röhreneinrichtungen bestrahlt und anschließend in ihre normalen Haltungskäfige zurückgesetzt. Finnie et al. (2002) bestrahlten Mäuse täglich für eine Stunde, fünf Tage die Woche über 104 Wochen. Daraus ergibt sich eine effektive Bestrahlungsdauer von insgesamt 520 Stunden. In unserem Versuch wurden die Tiere über vier beziehungsweise elf Monate mindestens 20 h/d bestrahlt,

daraus ergibt sich eine effektive Bestrahlungszeit von 2400 beziehungsweise 6160 Stunden. Eine kontinuierliche Bestrahlung über 24 h/d entspricht in etwa der Belastung, der Personen in der Umwelt durch Basisstationen tatsächlich ausgesetzt sind, damit bildet unser Versuchsaufbau die reale Belastung durch Basisstrahlen besser ab.

Eine Anforderung an unsere Expositionseinrichtung war die gleichmäßige Exposition aller Tiere trotz der freien Beweglichkeit innerhalb der Käfige. Dies wurde durch die Bestrahlung der Tiere mit Hilfe eines homogenen Feldes erreicht. Innerhalb einer Käfigbreite ist in jedem Punkt die Strahlenbelastung nahezu identisch. Daher ist es wichtig, eine möglichst homogene Tiergruppe zu untersuchen, so dass eventuelle Unterschiede in der Größe der Tiere nicht zu großen Unterschieden in der erreichten SAR führen. Dies gilt insbesondere für Untersuchungen, die mit Teilkörperleistungen arbeiten. So könnten die von Salford et al. (2003) gemessenen Effekte auf die Integrität der BHS nach Teilkörperbestrahlung auf die Inhomogenität der Tiergruppen zurückzuführen sein, da Ratten im Alter von drei bis acht Monaten untersucht wurden, was zu hohen Größenunterschieden und damit auch unterschiedlichen SAR-Werten führt. Hinzu kommt, dass die von ihm untersuchte Hauptzielgröße, die „dark neurons“, erst 50 Tage nach der Exposition nachgewiesen wurden und in ihrer biologischen Bedeutung völlig ungeklärt sind. Diese könnten altersabhängig (Vohra et al., 2002) oder als Artefakte nach der Anfärbung der Gewebeschnitte auftreten, die zudem auch zeitlich unabhängig von der Bestrahlung der Tiere entstanden sind, und scheinen daher nur wenig geeignet zur Bestimmung von Strahleneffekten zu sein.

Eine häufig aufgetretene Problematik bei der Untersuchung der Integrität der BHS ist die mangelhafte Darstellung der Expositionsparameter und die Schwierigkeit, diese zu überprüfen. So wurden häufig thermische für athermische Effekte gehalten, da die tatsächliche SAR der Strahlen nur schwer messbar ist. Dies gilt insbesondere für die Frequenz von 2,45 GHz, welcher gerade wegen ihrer Eigenschaft, Wasser-Moleküle zum Schwingen anzuregen und damit Wärme im Gewebe zu produzieren, in der Mikrowellentechnik genutzt wird. Einige frühere Arbeiten berichten von gesichert athermischen elektromagnetischen Effekten, welche aber unter den gleichen Versuchsbedingungen von anderen Arbeitsgruppen nicht reproduziert werden konnten (Oscar und Hawkins, 1977; Merritt et al., 1978). Im Gegensatz dazu konnten thermische Effekte immer wieder reproduziert werden (siehe Tabelle 8).

Arbeiten, die sich mit thermischen Effekten nach Bestrahlung mit Mobilfunkstrahlen beschäftigen, geben eine Grenztemperatur von 42-43 °C an, ab der eine Öffnung der BHS regelmäßig auftritt (Ohmoto et al., 1996; Moriyama et al., 1991; Neilly und Lin 1986; Williams et al., 1984; Lin und Lin, 1982). Bis zu einer gewissen Temperatur und Bestrahlungsdauer kann der Körper den Temperaturanstieg durch erhöhte Wärmeabgabe regulieren, so trat nach low dose Bestrahlung von 20 mW/cm<sup>2</sup> über 90-180 min keine Öffnung der BHS auf, jedoch nach höheren Dosen mit 65 mW/cm<sup>2</sup> schon nach 30-90minütiger Bestrahlung (Rektaltemperatur hier 43,3 °C) (Williams et al., 1984). Eine Öffnung der BHS wird auch durch andere Formen von thermalem Stress erreicht, wie zum Beispiel pyrogen induziertem Fieber oder Hitze- und Kälteschock. Daher ist es wichtig, die tatsächliche Strahlendosis im Versuch zu kontrollieren, um die Beeinflussung durch thermische Effekte zu verhindern.

Neben der Expositionseinrichtung und der Tierwahl spielt auch die Wahl der Untersuchungsmethode und deren Parameter eine entscheidende Rolle. So konnten Oscar und Hawkins (1977) Effekte auf die Integrität der BHS mit Hilfe des Brain Uptake Index messen. Der Versuch von Merritt et al. (1978) diese Ergebnisse zu reproduzieren, gelang jedoch nicht. Erstere Arbeitsgruppe stellte schließlich fest, dass die BUI Methode auf Grund ihrer Abhängigkeit vom cerebralen Blutfluss zu den von ihnen gemessenen Effekten geführt haben könnte (Oscar et al., 1981).

In diesem Zusammenhang ist auch die Wahl des geeigneten Markers wichtig, siehe auch Punkt 5.1. Da die BHS keine völlig geschlossene Barriere darstellt, kann ein Marker, der physiologisch im Blutkreislauf des Tieres vorkommt (zum Beispiel Albumin) in geringen Mengen im Gehirn nachzuweisen sein. Die Entscheidung, ob die im Gehirn gemessene Albumin-Konzentration physiologisch oder pathologisch ist, wird insbesondere dann erschwert, wenn geringste Spuren mit Hilfe der Nachweismethode extrem verstärkt dargestellt werden. Die Verwendung von Markern, die nicht physiologisch im Gehirn vorkommen, verhindert diese Problematik und erleichtert somit die Bestimmung der Integrität der BHS. Williams et al. (1984) vermuten, dass es bei sehr schnell diffundierenden Markern, wie zum Beispiel Natrium-Fluoreszin, zur Aufnahme des Markers in Areale ohne BHS kommt und von dort aus zur Diffusion des Markers in angrenzende Areale. Ein erhöhter cerebraler Blutfluss während der Bestrahlung würde diesen Effekt noch verstärken. Seine Vermutung beruht auf Versuchen, bei denen auch in den nicht bestrahlten

Kontrolltieren eine erhöhte Konzentration des Markers in den Nachbargebieten der Areale ohne BHS nachweisbar war.

Die Untersuchung der BHS in in-vitro Versuchen ermöglicht einerseits die Erforschung eventueller Mechanismen der Strahlenwirkung auf die BHS, andererseits ist deren Übertragbarkeit auf Tier und Mensch kompliziert und fragwürdig. Die Problematik mit der Untersuchung der Integrität der BHS in in-vitro Studien ist, dass noch keine Modelle der BHS existieren, welche der in-vivo Qualität entsprechen. So ist die Permeabilität der BHS gegenüber Saccharose in in-vitro Versuchen dreifach höher als in-vivo (Franke et al., 2005). Es gibt zwar Modelle, die annähernd die in-vivo Dichtigkeit der BHS aufweisen, jedoch reagieren diese sehr anfällig auf Licht-, Temperatur- und pH-Wert Schwankungen. In der Arbeit von Schirmacher wurde eine Zellkultur unter suboptimalen Bedingungen, aus der geringen Dichtigkeit ableitbar, etabliert und bestrahlt. Es handelt sich außerdem um ein einmaliges Experiment mit nur einem Zellkulturansatz, das nicht reproduziert wurde. Andere Mitarbeiter aus derselben Arbeitsgruppe konnten in mehrfachen Wiederholungen mit verbesserten Kulturbedingungen die Ergebnisse nicht reproduzieren (Franke, persönliche Mitteilung, Franke et al., 2005). Hinzu kommt, dass die Qualität des Zellmaterials oft schon nach Tagen abnimmt und somit momentan keine Langzeituntersuchungen möglich sind. Außerdem zeigen unterschiedliche Zelllinien teilweise unterschiedliche Permeabilitäten für die zu messenden Marker. Vorteile der in-vitro Untersuchungen sind die einfachere homogene Bestrahlung und die Vermeidung von Faktoren, die die Permeabilität der BHS per se beeinflussen können, wie die Autoregulation des BD und der Körpertemperatur sowie methodischer Stress für die Versuchstiere.

#### 5.4 Mögliche Interaktion der EMFs mit der BHS

Der Organismus besitzt eine große Kapazität, von außen auf ihn einwirkende Umwelteinflüsse wie zum Beispiel EMFs auszugleichen. Daher sind eventuell auftretende Effekte nicht zwangsläufig gleichbedeutend mit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung oder Gefährdung. Es ist sicher, dass hochfrequente Strahlen in hohen SAR über 4 W/kg über thermische Effekte eine gesundheitsgefährdende Wirkung besitzen. Als Konsequenz daraus wurden Grenzwerte festgelegt. Die Grenzwerte im Mobilfunkbereich beruhen auf den SAR-Werten, bei denen thermische Effekte gemessen werden konnten. Diese wurden mit einem Sicherheitsfaktor versehen, so dass thermische Effekte ausgeschlossen werden können.

Ob und inwiefern athermische Effekte auf biologisches Gewebe auftreten können, ist bis heute nicht experimentell bewiesen. Dazu kommt, dass auch theoretisch nur schwer vorstellbar ist, welche Mechanismen im nicht thermischen Bereich zu einer Gefährdung biologischen Gewebes führen können. Sollte ein Gewebe durch eine es durchdringende Welle verändert werden, müsste diese genug Energie abgeben, um chemische Strukturen zu verändern. Jedes Molekül innerhalb eines Körpers hat eine bestimmte kinetische Energie, ausgedrückt in  $k \times T$  ( $k$  = Boltzmannkonstante,  $T$  = Körpertemperatur des Gewebes). Bei Raumtemperatur beträgt diese Energie ca.  $4,3 \times 10^{-21}$  J. Vereinfacht ausgedrückt kollidieren Moleküle physiologisch untereinander innerhalb des Körpers mit dieser Energie. Um chemische Bindungen zu lösen, benötigt man eine bestimmte Energiemenge, diese liegt bei 390-463 kJ/mol oder in der Größenordnung eines Elektronenvolts ( $1,6 \times 10^{-19}$  J). Die Energie eines elektromagnetischen Photons ist charakterisiert als  $h \times f$  ( $h$  = Planck Konstante  $6,625 \times 10^{-34}$  J/s,  $f$  die Frequenz in Hz), im Bereich des Mobilfunkes (300-3000 MHz) beträgt die Energie eines Photons also  $< 2 \times 10^{-24}$  J. Damit ist die Energie des elektromagnetischen Photons im Bereich der Mobilfunkstrahlung um ein Vielfaches kleiner als die kinetische Energie der Gewebemoleküle und als sämtliche chemische Bindungsenergien (Moulder et al., 1999). Anders verhält es sich mit ionisierender Strahlung, hier beträgt die Energie eines Photons circa  $8 \times 10^{-19}$  J und ist damit in der Lage, chemische Bindungen zu lösen und Moleküle zu ionisieren. Um die BHS mit

Hilfe von Mobilfunkstrahlen öffnen oder schädigen zu können, müssten andere Mechanismen wirken.

Thermische Effekte im Bereich der Mobilfunkfrequenzen werden für unwahrscheinlich gehalten, da die im Mobilfunk genutzten Leistungsflussdichten gesetzlich reguliert werden. Der höchste zugelassene GK-SAR Wert (0,4 W/kg) gilt für Personen, die kurzzeitig beruflich exponiert werden und ist daher um den Faktor fünf größer als der für die Bevölkerung festgelegte GK-SAR Wert (0,08 W/kg) und ist nicht als Dauerbelastung zu verstehen. Bestrahlt man einen Liter Wasser (spezifische Wärmekapazität: 4,19 kJ/kgK) mit 0,4 W/kg, erwärmt sich das Wasser nach 200 min unter adiabaten Bedingungen (kein Wärmeaustausch mit der Umgebung) um ein Kelvin. Der Erhaltungsbedarf einer Ratte liegt bei ungefähr 470 kJ pro Tag und Kilogramm Körpergewicht, während Wachstum und Laktation steigt der Bedarf um das 2-3fache an (Gesellschaft für Versuchstierkunde). Dies entspricht einer Leistung von 5,4 W. Die in diesem Versuch bestrahlten Tiere müssen also weniger als ein Zehntel der von ihnen selbst produzierten Wärme zusätzlich abgeben, um ihre Körpertemperatur zu regulieren. Die Exposition mit 0,4 W/kg entspricht der gleichen Belastung, der die Tiere ausgesetzt wären, wenn die Haltungstemperatur um 1,2 K erhöht würde (Körpertemperatur Ratte 38 °C, Haltungstemperatur 22 °C), eine Belastung, von der niemand annehmen wird, dass sie in einer Öffnung der BHS resultiert. Auf der anderen Seite verdeutlicht diese Berechnung, dass durch Bestrahlung von Tieren in kleinen Röhren, in denen eine Wärmeabgabe an die Umgebung nur schlecht möglich ist, eine niedrige SAR von 0,4 W/kg schon nach 200 min zu einer Erhöhung der Körpertemperatur um ein Grad führt. Hinzu käme die tiereigene Wärmeproduktion, die stressbedingt sicher höher ist als normalerweise im Ruhezustand. Die Vermutung, dass eine Öffnung der BHS auch nach niedrigen SAR-Werten ein rein thermischer Effekt ist, liegt nahe.

Es existieren verschiedene Hypothesen, wie eine Bestrahlung im Frequenzbereich des Mobilfunks über athermische Effekte mit biologischem Gewebe interagieren könnte. Niederfrequent modulierte Hochfrequenzfelder könnten im biologischen Gewebe demoduliert werden. So wird zur Datenübertragung der Trägerwelle eine Frequenz aufmoduliert, diese Signalanteile könnten nach Demodulation auf Grund ihrer niedrigen Frequenz Prozesse des Nervensystems beeinträchtigen, die im Bereich bis 150 Hz ablaufen (Challis, 2005). Bisher gibt es dafür jedoch keinerlei

Hinweise und die Wirkungsweise speziell auf die BHS und deren Öffnen ist somit nicht zu erklären.

In zwei Arbeiten wurde das Vorhandensein von Magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) in Zellen des menschlichen Gehirns nachgewiesen (Kirschvink et al., 1992, Dunn et al. 1995). Diese Magnetite kommen zu einem besonders hohen Anteil in den Meningen, also in den durch Mobilfunkgeräte besonders exponierten äußeren Bereichen des Kopfes vor. Die Konzentration dieser Kristalle beträgt allerdings nur einen Anteil von 5-100 ppb. Kirschvink (1996) beschreibt, dass Magnetite gerade im Frequenzbereich von 0,5-10 GHz die magnetische Komponente der Strahlung gut absorbieren und es dadurch zu Kristallgittervibrationen kommen kann. Über Oxidation des Fe(II) des Magnetits könnten seiner Meinung nach Hydroxyl-Radikale entstehen und diese könnten zur Schädigung von Molekülen führen.

Eine weitere Hypothese beschreibt die Auswirkungen der EMFS auf die Zirbeldrüse und den Melatoninhaushalt. Melatonin inhibiert ACTH und Cortisol, hat stimulierende Wirkung auf das Immunsystem, die Thermoregulation und Änderung des Tag-Nacht Rhythmus. Die Melatoninsekretion könnte durch den Einfluss der EMFs vermindert werden und sinkende Konzentrationen könnten in erhöhtem Tumorwachstum resultieren, da Melatonin ein Onkostatikum und Fänger von freien Radikalen ist. So vermutet Stevens (1987), dass es zu einer gesteigerten Produktion von Östrogenen und Prolaktin und dadurch zu einer erhöhten Zellteilungsrate im Brustgewebe komme, wobei die Zellen verändert auf Karzinogene reagieren würden.

Eine genotoxische Wirkung der Mobilfunkstrahlung über die direkte Schädigung der DNA ist unwahrscheinlich, da Mobilfunkstrahlen zu wenig Energie besitzen, um Moleküle zu ionisieren. Eine genotoxische Wirkung erklärt man sich eher mit einem Promotionseffekt der Bestrahlung auf bereits geschädigten Zellen (Blettner und Schlehofer, 1999). Eventuell reagieren Mobilfunkstrahlen über bestimmte Metaboliten wie zum Beispiel das Oxidase-Antioxidase-Verhältnis (Hennies et al., 2000; French et al., 2001; Repacholi 1998). Außerdem wurde beobachtet, dass Mikrowellen unter nicht-thermischen Bedingungen zu einer vermehrten Expression von Hitzeschockproteinen führen (French et al., 2001). Diese wiederum können eine Vasodilatation verursachen und könnten dadurch einen Einfluss auf physiologische Funktionen des Gehirns ausüben (Preece et al., 1999).

Weitere mögliche Mechanismen der EMF sind: Veränderungen der ODC Enzym Aktivität (Byus et al, 1987, 1988; Mullins et al., 1999) und Stimulation von RNA-, DNA- und Proteinsynthese Aktivität. Als mögliche Ansatzpunkte auf die BHS werden Veränderung der Proteinaktivität und –konformation (Challis, 2005), Effekte auf K<sup>+</sup>- und Ca<sup>2+</sup>- Kanäle und eine Unterbrechung chemischer Reaktionen und Signalketten diskutiert. Adey (1982) beschreibt Veränderungen zellulärer Ca<sup>2+</sup> Regulation nach Bestrahlung von Hirngewebe. Sowohl in in-vitro als auch in in-vivo Versuchen kam es nach Bestrahlung zu einem verstärkten Ca<sup>2+</sup> Efflux. Veränderungen im Ca<sup>2+</sup> Haushalt führen zu veränderter Axon Erregbarkeit und synaptischer Transmission, was wiederum Verhaltensveränderungen nach Bestrahlung erklären könnte.

## 5.5 Pathophysiologische Konsequenzen einer Öffnung der BHS

Die BHS zeigt zwar eine hohe Toleranz gegenüber intravenös injizierten hypertonen Flüssigkeitsmengen. In Abhängigkeit der Konzentration, Temperatur und Menge der Lösung können diese die BHS jedoch kurzzeitig öffnen. Erste Konsequenz einer Öffnung der BHS ist das Eindringen proteinreicher vasogener Flüssigkeit in den Extrazellulärraum des Gehirns und damit das Entstehen eines vasogenen Ödems. Nach osmotischer Öffnung der BHS werden eben solche Ödeme beobachtet. Auf Grund der Reversibilität der Öffnung der BHS sind diese Ödeme nicht von langer Dauer und nur mit geringgradigen und reversiblen Verhaltensstörungen bei den Versuchstieren verbunden und bleiben somit ohne pathologische Konsequenzen (Rapoport, 1996). Allerdings würde die langfristige Öffnung der BHS von einigen Stunden über Tage zu strukturellen und hydrodynamischen Veränderungen im Gehirn führen. So garantiert die Integrität der BHS die Aufrechterhaltung eines normalen Hirnvolumens und der cerebralen Homeostase. Letztere sorgt für eine konstante Versorgung der Nervenzellen mit Sauerstoff und Glucose und eine kontinuierliche Entsorgung der Abfallprodukte wie Ammoniak und überschüssiger Gehirnflüssigkeit. Auf Grund der räumlichen Einschränkung des Gehirns in der knöchernen Schädelhöhle wird ein Anstieg des Hirnvolumens automatisch mit einer Senkung des cerebralen Blutflusses, verminderter Liquorproduktion oder der Kompression der intrakraniellen Liquorräume begrenzt. Ab einem gewissen ICP ist dies nicht mehr möglich und der Druck steigt exponentiell an. Je nach Ausmaß des Druckanstieges wird er begleitet von klinischen Symptomen wie verstärkten Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, so genannter Druckunruhe gefolgt von verminderter Vigilanz und im akuten Fall kann es zur Bewusstlosigkeit, eingeschränkter Herz-Kreislauffunktion, Atemstörungen und dem Tod führen.

Die Kompression und Minderdurchblutung des Gewebes können wiederum in Ischämie und einem zytotoxischem Ödem, einer Translokation von Flüssigkeit aus dem Extra- in den Intrazellulärraum der Zelle resultieren. Als Folge der Unterbrechung der Blutzufuhr werden exzitatorische Transmitter, vor allem Glutamat, freigesetzt. Glutamat bewirkt rezeptorvermittelt einen Natriuminflux, gefolgt von Wasser, in die Nervenzelle und führt damit zur osmotischen Schwellung der Dendriten und

letztendlich zur Depolarisation. Dadurch werden Kalziumkanäle geöffnet und  $\text{Ca}^+$  strömt ein. Über dessen Funktion als second messenger kommt es über eine Reaktionskette zu der Aktivierung von Proteinkinasen, Phospholipasen und Proteasen und zur Bildung freier Radikale, Freisetzung freier Fettsäuren und Initiierung von Apoptosemechanismen (Grau und Pittelkow, 2004; Unterberg et al., 2004). Gleichzeitig wird die pH-Regulation beeinträchtigt, woraus eine Azidose resultiert. Ein chronisches Ödem führt somit langfristig zum Neuronenuntergang.

Eine weitere Konsequenz einer erhöhten BHS Permeabilität wäre die Anreicherung neurotoxischer Stoffe, Aminosäuren und polarer Moleküle aus dem systemischen Blutkreislauf im Gehirn. Bestimmte Aminosäuren übernehmen im Gehirn Transmitterfunktion und deren Konzentration in der Umgebung der Neuronen darf unter physiologischen Bedingungen keinen Schwankungen unterliegen. Ebenso muss die Exkretion bestimmter Abfallstoffe aus dem Gehirn gewährleistet sein, eine Aufgabe, die von bestimmten Transportproteinen der BHS ausgeführt wird. Die Anreicherung auf Grund der unbehinderten Diffusion aus dem Blutkreislauf sowie wegen mangelnder Exkretion in den Blutkreislauf würde zu schweren Beeinträchtigungen der neuronalen Funktion sowie zur Degeneration der Neuronen führen.

## 6 Zusammenfassung

**Nina Hettenbach:**

**Einfluss chronischer elektromagnetischer Befeldung mit Mobilfunkstrahlen (GSM und UMTS) auf die Integrität der Blut-Hirn-Schranke von Ratten.**

**Einleitung:** Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss chronischer elektromagnetischer Befeldung mit Mobilfunkstrahlen (GSM, UMTS) auf die Integrität der BHS von Ratten untersucht. Zusätzlich zur quantitativen Messung der Integrität der BHS mit Hilfe der unidirektionalen Influxkonstante  $K_{in}$  mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose wurde eine Challenge-Methode zur Labilisierung der BHS entwickelt, mit deren Hilfe eine Steigerung der Nachweisempfindlichkeit von Strahleneffekten gegenüber bisherigen Untersuchungsmethoden erreicht werden soll.

**Methode:** In drei Hochfrequenzexpositions-kammern (GSM 900 MHz, UMTS 1966 MHz, Kontrolle) wurden drei Rattengenerationen kontinuierlich (24 h/d) unter Fernfeldbedingungen bestrahlt. Die Feldstärken wurden so eingestellt, dass in den Versuchstieren eine GK-SAR von 0,4 W/kg erreicht wurde. Dies entspricht der höchsten GK-SAR, die nach der BImSchV in Deutschland für die berufliche Exposition von Personen durch feststehende Strahlenquellen zugelassen ist.

Die Integrität der BHS wurde an den Generationen F0-Gruppe1 und F2 nach viermonatiger Bestrahlung und an der F0-Gruppe2 nach elfmonatiger Bestrahlung, untersucht. Die quantitative Messung der Integrität der BHS erfolgte mit Hilfe der unidirektionalen Influxkonstante  $K_{in}$  mit  $^{14}\text{C}$ -Saccharose für sieben Hirnareale (Bulbus olfactorius, Cerebellum, Medulla oblongata, Pons, Mesencephalon, Diencephalon und Cortex) der jeweils linken und rechten Hemisphäre. In Vorversuchen wurde eine Challenge-Methode entwickelt, mit deren Hilfe die BHS labilisiert, jedoch nicht geöffnet wird. Hierzu wurden sinkende Konzentrationen einer hyperosmolaren Arabinoselösung in die A. carotis interna injiziert und untersucht, ab welcher Konzentration die BHS gerade nicht geöffnet wird. Diese Konzentration wurde in den Hauptversuchen den Versuchstieren fünf Minuten vor Messung der  $K_{in}$  injiziert.

**Ergebnisse:** In den Vorversuchen konnte die BHS nach Infusion von 1,6 mol/l Arabinoselösung immer und nach 1,0 mol/l Lösung noch vereinzelt geöffnet werden.

Die  $K_{in}$ -Werte nach Infusion von 0,5 mol/l Arabinoselösung entsprechen denen nach Infusion isotoner Kochsalzlösung und wurden daher als geeignete Challenge-Methode festgelegt und in den Hauptversuchen angewendet.

In keiner der untersuchten Tiergenerationen (F0-Gruppe1, F0-Gruppe2 und F2) traten signifikante Unterschiede zwischen den  $K_{in}$ -Werten der GSM-, UMTS- und Kontrollgruppe auf. Weder die unterschiedliche Bestrahlungsdauer von vier oder elf Monaten (Vergleich F0-1 mit F0-2) noch die kontinuierliche Bestrahlung über mehrere Generationen (Vergleich F0-1 mit F2) ergaben signifikante Unterschiede der  $K_{in}$ -Werte.

**Schlussfolgerung:** Mit Hilfe spezieller Expositions-kammern konnte eine große Anzahl von Ratten über mehrere Monate und Generationen hinweg kontinuierlich mit Mobilfunkstrahlen im nicht thermischen Bereich unter homogenen Fernfeldbedingungen bestrahlt werden. Der in den Versuchstieren erreichte SAR-Wert von 0,4 W/kg entspricht dem für beruflich strahlenexponierte Menschen höchstzulässigen Wert in Deutschland. Die Anwendung einer quantitativen Messmethode in Verbindung mit einer zusätzliche Labilisierung der BHS durch die Challenge-Bedingungen erhöht die Aussagekraft der Untersuchung, dass eine chronische Befeldung von Ratten mit Mobilfunkstrahlen unterhalb der in Deutschland zugelassenen Grenzwerte keinen Effekt auf die Integrität der BHS hat. Um eine Aussage treffen zu können, ab welchen SAR-Werten die BHS geöffnet wird, sind weitere Untersuchungen mit steigenden Leistungen unter Verwendung der Challenge-Bedingungen notwendig.

## 7 Summary

**Nina Hettenbach:**

**Effects of chronic exposure to mobile radiation (GSM and UMTS) on the permeability of the blood-brain barrier of rats.**

**Introduction:** This study investigated the effects of chronic exposure to mobile telephony (GSM, UMTS) on the permeability of the blood-brain barrier (bbb) of rats. The integrity of the bbb was measured quantitatively with the unidirectional influx-constant  $K_{in}$  with  $^{14}\text{C}$ -saccharose. In order to increase the sensitivity of the investigation compared to other studies, we developed special challenge conditions, which stress the bbb but do not open it.

**Method:** Three high frequency exposition chambers for GSM 900 MHz-, UMTS 1966 MHz- and sham exposure were set up and three rat generations were continuously (24 h/d) exposed under far field conditions. The field intensity was adjusted to reach a whole body SAR (wb-SAR) of 0.4 W/kg within the animals. This equals the highest admitted wb-SAR which is defined in the German BImSchV for work-related exposure for stationary sources of radiation. The integrity of the bbb was measured after four months of exposure within the generation F0-group1 and F2 and after eleven months of exposure within Generation F0-group2. The quantitative measurement was accomplished by determination of the unidirectional influx-constant  $K_{in}$  with  $^{14}\text{C}$ -saccharose within seven defined brain areas of the left and right hemisphere (bulbus olfactorius, cerebellum, medulla oblongata, pons, mesencephalon, diencephalon and cortex). In preliminary tests we developed challenge conditions which stress but do not open the bbb. For this purpose we infused decreasing concentrations of hyperosmolar arabinose dilution into the right A. carotis interna and investigated the highest concentration which does not lead to bbb disruption. In the main tests this concentration was infused into the animals five minutes prior to the measurement of the  $K_{in}$ .

**Results:** In the preliminary tests bbb disruption was achieved by infusion of 1.6 mol/l arabinose dilution and in some cases after 1.0 mol/l arabinose dilution infusion.  $K_{in}$ -

values after infusion of 0.5 mol/l arabinose correspond with those of isotone saline and were therefore chosen as challenge conditions and applied in the main tests.

No significant differences between the  $K_{in}$ -values of the three groups (GSM, UMTS and sham) could be found in any of the investigated rat generations (F0-group1, F0-group2 and F2). Neither a longer duration of exposition from four to eleven months (F01 compared to F02) nor the continuous exposure of several generations (F01 compared to F2) did result in significant differences of the  $K_{in}$ -values.

**Conclusion:** Within special exposition chambers, it was possible to expose a large number of rats over several months and generations continuously to a homogeneous electromagnetic field of mobile radiation under far field conditions. A wb-SAR of 0.4 W/kg was achieved in the animals which equals the highest admitted value for exposure to stationary sources of radiation. The application of a quantitative measurement method in combination with the labialisation of the bbb increases the significance of the results, that chronic exposure to mobile radiation within the admitted german wb-SAR values has no effect on the integrity of the bbb of rats. In order to state a threshold which barely opens the bbb, further investigations with increasing SAR-values under challenge conditions are necessary.

## **8 Literaturverzeichnis**

### **Abott NJ (2002)**

Astrocyte endothelial interactions and blood-brain barrier permeability.

J. Anat. 200: 629-638

### **Adey WR, Bawin SM, Lawrence AF (1982)**

Effects of weak amplitude-modulated microwave fields on calcium efflux from awake cat cerebral cortex.

Bioelectromagnetics 3(3): 295-307

### **Albert EN und Kerns JM (1981)**

Reversible microwave effects on the blood-brain barrier.

Brain Res 230: 153-164

### **Banks WA und Kastin AJ (1995)**

Permeability of the blood-brain barrier to melanocortins.

Peptides 16(6): 1157-1161

### **Baumbach GL und Heistad DD (1983)**

Effects of sympathetic stimulation and changes in arterial pressure in segmental resistance of cerebral vessels in rabbits and cats.

Circ Res 52: 527-533

### **Begley DJ (2004)**

Delivery of therapeutic agents to the central nervous system: the problems and the possibilities.

Pharmacology & Therapeutics 104: 29-45

### **Begley DJ (1999)**

Methods of determining CNS drug transport in animals.

Alfred Benzon Symposium 45: 91-109

### **Blasberg RG, Fenstermacher JD, Patlak CS (1983)**

Transport of alpha-aminoisobutyric acid across brain capillary and cellular membranes.

J Cereb Blood Flow Metab 3: 8-32

### **Blettner M und Schlehofer B (1999)**

Is there an increased risk of leukemia, brain tumors and breast cancer after exposure to high frequency radiation?

Medizinische Klinik 94(3): 150-158

**Brightman MW und Reese TS (1969)**

Junctions between intimately opposed cell membranes in the vertebrate brain.

J. Cell Biol. 40: 648-677

**Butt AM, Jones HC, Abbott NJ (1990)**

Electrical resistance across the blood-brain barrier in anaesthetized rats: A developmental study.

J Physiol 429: 47-62

**Byus CV, Kartun K, Pieper S, Adey WR (1988)**

Increased ornithine decarboxylase activity in cultured cells exposed to low energy modulated microwave fields and phorbol ester tumor promoters.

Cancer Res 48: 4222-4226

**Byus CV, Pieper S, Adey WR (1987)**

The effects of low-energy 69-Hz environmental electromagnetic fields upon the growth-related enzyme ornithine decarboxylase.

Carcinogenesis 8: 1385-1389

**Challis LJ (2005)**

Mechanisms for interaction for RF fields and biological tissue.

Bioelectromagnetics Supplement 7: 98-106

**Chang BK, Huang AT, Joines WT, Kramer RS (1982)**

The effects of microwave radiation (1.0 GHz) on the blood-brain barrier in dogs.

Radio Sci 17: 165-168

**Chinard FP, Vosburgh CJ und Enns T (1955)**

Transcapillary exchange of water and other substances in certain organs of the dog.

Am J Physiol. 183: 221-234

**Cosquer B, Vasconcelos AP, Frohlich J, Cassel JC (2005)**

Blood-brain barrier and electromagnetic fields: Effects of scopolamine methylbromide on working memory after whole-body exposure to 2.45GHz microwaves in rats.

Behav Brain Res 161(2): 229-237

**Cragg BG und Phillips SC (1981)**

Natural variation in the blood-brain barrier.

Neurosci. Lett. 27: 309-312

**Crone C (1965a)**

Fasciliated transfer of glucose from blood to brain tissue.

J Physiol 181: 103-113

**Crone C (1965b)**

The permeability of brain capillaries to non-electrolytes.

Acta physiol. scand 64: 407-417

**Crone C (1963)**

The permeability of capillaries in various organs as determined by use of the 'Indicator Diffusion' method.

Acta physiol. scand 58: 292-305

**D`Andrea JA, Chou CK, Johnston SA, Adair ER (2003)**

Microwave effects on the nervous system.

Bioelectromagnetics Supplement 6: 107-147

**Dorovini-Zis K, Bowman PD, Betz AL, Goldstein GW (1984)**

Hyperosmotic arabinose solutions open tight junctions between brain capillary endothelial cells in tissue culture.

Brain Res. 302: 383-386

**Dunn JR, Fuller M, Zoeger J, Dobson JR, Heller F, Hammann J, Caine E, Moskowitz MB (1995)**

Magnetic material in the human hippocampus.

Brain Res Bull 36: 149-153

**Duvernoy HM und Risold P-Y (2007)**

The circumventricular organs: An atlas of comparative anatomy and vascularisation.

Brain Research Reviews 56: 119-147

**Erdlenbruch B, Alipour M, Fricker G, Miller DS, Kugler W, Eibl H, Lakomek M (2003)**

Alkylglycerol opening of the blood-brain barrier to small and large fluorescence markers in normal and C6 glioma-bearing rats and isolated rat brain capillaries.

British journal of pharmacology 140(7): 1201-1210

**Finnie JW, Blumbergs PC, Cai Z, Manavis J, Kuchel TR (2006)**

Effect of mobile telephony on blood-brain barrier permeability in fetal mouse brain.

Pathology 38(1): 63-65

**Finnie JW (2005)**

Expression of the immediate early gene, c-fos, in mouse brain after acute global system for mobile communication microwave exposure.

Pathology 37(3): 231-233

**Finnie JW, Blumbergs PC, Manavis J, Utteridge TD, Gebski V, Davies RA, Vernon-Roberts B, Kuchel TR (2002)**

Effect of long-term mobile communication microwave exposure on vascular permeability in mouse brain.

Pathology 34: 344-347

**Finnie JW, Blumbergs PC, Manavis J, Utteridge TD, Gebski V, Swift JG, Vernon-Roberts B, Kuchel TR (2001)**

Effect of global system for mobile communication (gsm)-like radiofrequency fields on vascular permeability in mouse brain.

Pathology 33: 338-340

**Franke H, Ringelstein EB, Stögbauer F (2005)**

Electromagnetic fields (GSM 1800) do not alter blood-brain barrier permeability to sucrose in models in vitro with high barrier tightness.

Bioelectromagnetics 26(7): 529-535

**French PW, Penny R, Laurence JA, MCKenzie DR (2001)**

Mobile phones, heat shock proteins and cancer.

Differentiation; research in biological diversity 67(4-5): 93-97

**Frey AH, Feld SR, Frey B (1975)**

Neural function and behaviour: Defining the relationship.

Ann NYAcad Sci 247: 433-439

**Fritze K, Wiessner C, Kuster N, Sommer C, Gass P, Hermann DM, Kiessling M, Hossmann K-A (1997)**

Effect of GSM microwave exposure on the genomic response of the rat brain.

Neuroscience 81: 627-639

**Goldman H, Lin JC, Murphy S, Lin MF (1984)**

Cerebrovascular permeability to Rb-86 in the rat after exposure to pulsed microwaves.

Bioelectromagnetics 5: 323-330

**Grau S und Pittelkow S (2004)**

Hirndruck bei intrakraniellen Tumoren.

Manual Hirntumoren und primäre Tumoren des Rückenmarks, W. Zuckschwerdt Verlag München

**Gruenau SP, Oscar KJ, Folker MT, Rapoport SI (1982)**

Absence of microwave effect on blood-brain barrier permeability to <sup>14</sup>C-sucrose in the conscious rat.

Exp Neurol 75: 299-307

**Hau VS, Huber JD, Campos CR, Davis RT, Davis TP (2004)**

Effect of  $\lambda$ -carrageenan-induced inflammatory pain on brain uptake of codeine and antinociception.  
Brain Research 1018: 257-264

**Heistad DD, Marcus ML, Abboud FM (1978)**

Role of large arteries in regulation of cerebral blood flow in dogs.  
J Clin Invest 62: 761-768

**Hennies K, Neitzke HP, Voigt H (2000)**

Mobilfunk und Gesundheit.  
ECOLOG-Institut 2000

**Hocking B (1998)**

Symptoms associated with mobile phone use: addendum.  
Occup Med (Lond) 48(7): 472

**Hossmann KA und Hermann DM (2003)**

Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system.  
Bioelectromagnetics 24(1): 49-62

**International Commission of Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP)-Guidelines (1998)**

Guidelines for limiting exposure to time varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz).  
Health Physics 70(4): 494-522

**Jeppsson PG und Olin T (1960)**

Cerebral angiography in the rabbit.  
Lunds Univ. Årsskr. Avd. 56: 1-55

**Kantos HA, Wei EP, Dietrich WD (1981)**

Mechanism of cerebral arteriolar abnormalities after acute hypertension.  
Am J Physiol 240: H511-H527

**Kantos HA, Wei EP, Navari RM, Levassure JE, Roseblum WI, Patterson JL (1978)**

Responses of cerebral arteries and arteriols to acute hypotension and hypertension.  
Am J Physiol 234: H371-H383

**Kirschvink JL (1996)**

Microwave Absorption by Magnetite: a possible mechanism for coupling nonthermal levels of radiation to biological systems.  
Bioelectromagnetics 17: 187-194

**Kirschvink JL, Kobayashi-Kirschvink A und Woodford BJ (1992)**

Magnetite biomineralization in the human brain.

Proc Acad Sci USA 89:7683-7687

**Klinke R und Silbernagel S (1996)**

Lehrbuch der Physiologie.

2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 721-731

**Kniesel U und Wolburg H (2000)**

Tight junctions of the blood brain barrier.

Cell Mol Neurobiol, 20(1): 57-76

**Koenig H, Goldstone AD, Lu CY, Trout JJ (1989)**

Polyamines and Ca<sup>2+</sup> mediated hyperosmolal opening of the blood-brain barrier: In vitro studies in isolated rat cerebral capillaries.

J Neurochem 52: 1135-1142

**Lassen NA und Christensen MS (1976)**

Physiology of the cerebral blood flow.

Br J Anaesth. 48: 719-734

**Lee HJ, Zhang Y und Pardrige WM (2002)**

Blood-brain barrier disruption following the internal carotid arterial perfusion of alkyl glycerols.

Journal of drug targeting 10(6): 463-467

**Leszczynski D, Joenväärä S, Reivinen J, Kuokka R (2002)**

Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: Molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects.

Differentiation 70: 120-129

**Lin JC und Lin MF (1982)**

Microwave hyperthermia-induced blood-brain barrier alterations.

Radiat Res 89(1): 77-87

**Lin JC und Lin MF (1980)**

Studies on microwave and blood-brain barrier interaction.

Bioelectromagnetics 1(3): 313-323

**Lin-Lui S und Adey WR (1982)**

Low frequency amplitude modulated microwave fields change calcium efflux rates from synaptosomes.

Bioelectromagnetics 3: 309-322

**Masuda H, Ushiyama A, Hirota S, Wake K, Watanabe S, Yamanaka Y, Taki M, Okhubo C (2007)**

Effects of subchronic exposure to a 1439 MHz electromagnetic field on the microcirculatory parameters in rat brain.

In Vivo 21(4): 563-570

**Merritt JH, Chamness AP und Allen SJ (1978)**

Studies on blood–brain barrier permeability after microwave radiation.

Radiat Environ Biophys 15(4): 367–377

**Moriyama E, Salcman M, Broadwell RD (1991)**

Blood–brain barrier alteration after microwave-induced hyperthermia is purely a thermal effect: I. Temperature and power measurements.

Surgical Neurology 35(5): 177-182

**Moulder JE, Erdreich LS, Malyapa RS, Merritt J, Pickard WF, Vijayalaxmi (1999)**

Cell Phones and Cancer: What is the evidence for a connection?

Radiation Research 151: 513-531

**Mullins JM, Penafiel LM, Juutilainen J, Litovitz TA (1999)**

Dose–response of electromagnetic field-enhanced ornithine decarboxylase activity.

Bioelectrochem Bioenerg 48: 193–199

**Neilly JP und Lin JC (1986)**

Interaction of ethanol and microwaves on the blood-brain barrier of rats.

Bioelectromagnetics 7(4): 405-414

**Neubauer C, Phelan AM, Kues H, Lange DG (1990)**

Microwave irradiation of rats at 2.45 GHz activates pinocytotic-like uptake of tracer by capillary endothelial cells of cerebral cortex.

Bioelectromagnetics 11: 261–268

**Neuwelt EA (2004)**

Mechanism of disease: the blood-brain barrier.

Neurosurgery 54(1): 131-142

**Neuwelt EA, Goldman DL, Dahlborg SA, Crosen J, Ramsey F, Roman-Goldstein S, Brazoel R, Dana B (1991)**

Primary CNS lymphoma treated with osmotic blood-brain barrier disruption, prolonged survival and preservation of cognitive function.

J Clin Oncol 9: 1580-1590

**Neuwelt EA, Weissleder R, Nilaver G, Kroll RA, Roman-Goldstein S, Szumowski J, Pagel MA, Jones RS, Remsen LG, McCormick CI, Shannon EM, Muldoon LL (1994)**

Delivery of virus-sized iron oxide particles to rodent CNS neurons.

Neurosurgery 34: 777-784

**Neuwelt EA, Maravilla KR, Frenkel EP, Barnett P (1980)**

Use of enhanced computerized tomography to evaluate osmotic blood-brain barrier disruption.

Neurosurgery 6: 49-56

**Nickel R, Schummer A, Seiferle E (1991)**

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band IV – Nervensystem, Sinnesorgane, endokrine Drüsen.

3., völlig neubearbeitete Auflage von G. Böhme, Paul Parey Verlag, Berlin, S. 1-17 u. 74-227

**Ohmoto Y, Fujisawa H, Ishikawa T, Koizumi H, Matsuda T, Ito H (1996)**

Sequential changes in cerebral blood flow; early neuropathological consequences and blood-brain barrier disruption following radiofrequency-induced localized hyperthermia in the rat.

Int. J Hyperthermia 12(3): 321-334

**Ohno K, Pettigrew KD, Rapoport SI (1978)**

Lower limits of cerebrovascular permeability to nonelectrolytes in the conscious rat.

Am. J. Physiol. 235(3): 299-307

**Oldendorf WH (1970)**

Measurement of the brain uptake internal standard.

Brain Res 24: 372-376

**Oscar KJ, Gruenau SP, Folker MT, Rapoport SI (1981)**

Local cerebral blood flow after microwave exposure.

Brain Res 204(1): 220-225

**Oscar KJ und Hawkins TD (1977)**

Microwave alteration of the blood-brain barrier system of rats.

Brain Res 126: 281-293

**Patlak CS, Blasberg RG, Fenstermacher JD (1983)**

Graphical evaluation of blood-to brain transfer constants from multiple-time uptake data.

J cereb Blood Flow Metab 3: 1-7

**Persson BRR, Salford LG, Brun A, Eberhardt JL, Malmgren L (1992)**

Increased permeability of the blood-brain barrier induced by magnetic and electromagnetic fields.

Ann NY Acad Sci 649: 356-358

**Preece AW, Iwi G, Davies-Smith A, Wesnes K, Butler S, Lim E, Varey A (1999)**

Effect of a 915-MHz simulated mobile phone signal on cognitive function in man.

International journal of radiation biology 75(4): 447-456

**Preston JE (2001)**

Ageing of the choroids plexus-cerebrospinal fluid system.

Microsc Res Tech 52: 31-37

**Preston E, Foster DO, Mills PA (1998)**

Effects of radiochemical impurities on measurements of transfer constants for [<sup>14</sup>C]sucrose permeation of the normal and injured blood-brain barrier of rats.

Brain Research Bulletin, 45(1): 111-116

**Preston E und Prefontaine G (1980)**

Cerebrovascular permeability to sucrose in the rat exposed to 2450 MHz microwaves.

J. Appl. Physiol. 49: 218-223

**Preston E, Vavasour EJ, Assenheim HM (1979)**

Permeability of the blood-brain barrier to mannitol in the rat following 2,450 MHz microwave irradiation.

Brain Res 174: 109-117

**Quock RM, Fujimoto JM, Ishii TK, Lange DG (1986)**

Microwave facilitation of methylatropine antagonism of central cholinomimetic drug effects.

Radiat Res 105: 328-340

**Raichle ME, Eichling JO, Straatmann MG, Welch MJ, Larson KB, Ter-Pogossian MM (1976)**

Blood-brain barrier permeability of 11C-labeled alcohols and 15O-labeled water.

the American journal of physiology 230(2): 543-552

**Rapoport SI (2000)**

Osmotic opening of the blood-brain barrier: principles mechanism and therapeutic applications.

Cell Mol Neurobiol 20: 217-230

**Rapoport SI (1996)**

Modulation of the blood-brain barrier permeability.

Journal of Drug Targeting 3: 417-425

**Rapoport SI (1991)**

Microinfarction: osmotic bbb opening of microcrystals in infusate?

J. Neurosurg. 74: 658

**Rapoport SI, Fredericks WR, Ohno K, Pettigrew KD (1980)**

Quantitative aspects of reversible osmotic opening of the blood-brain barrier.  
Am. J. Physiol. 238 (Regulatory integrative Comp. Physiol. 7): R421-R431

**Rapoport SI (1976)**

Blood-brain Barrier in Physiology and Medicine.  
Raven Press, New York

**Rapoport SI, Hori M, Klatzo I (1972)**

Testing of a hypothesis for osmotic opening of the blood-brain barrier.  
Am. J. Physiol. 223: 323-331

**Rapoport SI (1970)**

Effect of concentrated solutions on the blood-brain barrier.  
Am. J. Physiol. 219: 270-274

**Raub TJ, Kuentzel SL, Sawada GA (1992)**

Permeability of bovine brain microvessel endothelial cells in vitro: barrier tightening by a factor released from astrogloma cells.  
Experimental Cell Research 199: 330-340

**Reese TS und Karnovsky MJ (1967)**

Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase.  
J Cell Biol 34: 207-217

**Repacholi MH (1998)**

Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: Health effects and research needs.  
Bioelectromagnetics 19(1): 1-19

**Robinson PJ und Rapoport SI (1990)**

Model for drug uptake by brain tumors: Effects of osmotic treatment and of diffusion in brain.  
J. Cereb. Blood flow Metab. 10: 153-161

**Robinson PJ und Rapoport SI (1987)**

Size selectivity of blood-brain barrier permeability at various times after osmotic opening.  
Am J. Physiol. 253: R459-R466

**Salahuddin TS, Johansson BB, Kalimo H, Olsson Y (1988)**

Structural changes in the rat brain after carotid infusions of hyperosmolar solutions. An electron microscopic study.  
Acta Neuropathol. (Berl.) 77: 5-13

**Salford LG, Brun AE, Eberhardt JL, Malmgren L, Persson BR (2003)**

Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones.  
Environ Health Perspect. 111(7): 881-3

**Salford LG, Brun AE, 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, 50 and 200Hz.  
Microsc Res Tech 27: 535–542

**Schanker LS und Hogben CA (1961)**

Biliary excretion of inulin, sucrose and mannitol: analysis of bile formation.  
Am J Physiol. 200: 1087-1090

**Schelkshorn S, Tejero S, Detlefsen J (2007)**

Exposure setup for animal experiments using a parabolic reflector.  
Radiation Protection Dosimetry 2007: 1-4

**Schirmacher A, Winters S, Fischer S, Goeke J, Galla HJ, Kullnick U, Ringelstein EB, Stögbauer F (2000)**

Electromagnetic fields (1.8 GHz) increase the permeability to sucrose of the blood–brain barrier in vitro.  
Bioelectromagnetics 21: 338–345

**Sims DE (2000)**

Diversity within pericytes.  
Clin Exp Pharmacol Physiol 27(10): 842-846

**Smith QR, Ziylan YZ, Robinson PJ, Rapoport SI (1988)**

Kinetics and distribution volumes for tracers of different sizes in the brain plasma space.  
Brain Research 462: 1-9

**Stagg RB, Hawel LH, Pastorian K, Cain C, Adey WR, Byus CV (2001)**

Effect of immobilization and concurrent exposure to a pulse-modulated microwave field on core body temperature, plasma ACTH and corticosteroid and brain ornithine decarboxylase, Fos and Jun mRNA.  
Radiation Research 155(4): 584-592

**Stevens RG (1987)**

Electric power use and breastcancer: a hypothesis.  
Am J Epidemiol 125(4): 556-561

**Sutton CH und Carrol FB (1979)**

Effects of microwave-induced hyperthermia on the blood–brain barrier of the rat.  
Radiat Sci 14: 329–334

**Takasato Y, Rapoport SI, Smith QR (1984)**

An in situ brain perfusion technique to study cerebrovascular transport to the rat.

Am J Physiol 247: H484-493

**Tomiwa K, Hazama F, Mikawa H (1982)**

Reversible osmotic opening of the blood-brain barrier: prevention of tissue damage with filtration of the perfusate.

Acta Pathol. Jap. 32: 427-435

**Tsurita G, Nagawa H, Ueno S, Watanabe S, Taki M (2000)**

Biological and morphological effects on the brain after exposure of rats to a 1439 MHz TDMA field.

Bioelectromagnetics 21(5): 364-371

**Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL (2004)**

Edema and brain trauma.

Neuroscience 129: 1021-1029

**Vohra BP, James TJ, Sharma SP, Kansal VK, Chudhary A, Gupta SK (2002)**

Dark neurons in the ageing cerebellum: their mode of formation and effect of Maharishi Amrit Kalash.

Biogerontology 3: 347-354

**Ward TR und Ali JS (1985)**

Blood-brain barrier permeation in the rat during exposure to low-power 1.7 GHz microwave radiation.

Bioelectromagnetics 6(2): 131-143

**Ward TR, Elder JA, Long MD, Svendsgaard D (1982)**

Measurement of blood-brain barrier permeation in rats during exposure to 2450-MHz microwaves.

Bioelectromagnetics 3: 371-383

**World Health Organisation (WHO) (2005)**

Elektromagnetische Felder und öffentliche Gesundheit- Elektromagnetische Hypersensitivität (Elektrosensibilität).

Fact Sheet N° 296

**Williams WM, Lu S-T, del Cerro M, Michaelson SM (1984)**

Effect of 2450 MHz microwave energy on the blood-brain barrier to hydrophilic molecules.

A. Effect of permeability to Sodium Fluorescein.

B. Effect on the permeability to HRP.

C. Effect on the permeability to [<sup>14</sup>C]sucrose.

D. Brain temperature and blood-brain barrier permeability to hydrophilic tracers.

Brain Res Rev 7: 165-212

**Zilyan YZ, Robinson PJ, Rapoport SI (1984)**

Blood-brain barrier permeability to sucrose and dextran after osmotic opening.

Am. J. Physiol. 247: R634-R638

**26. Verordnung zur Umsetzung des Bundes-Immissionsschutz Gesetzes (BImSchV)**

in der Fassung der Bekanntmachung vom 14.5.1990 (BGBl. IS. 880), geändert durch Art. 13 des Gesetzes vom 9. Oktober 1996 (BGBl. IS. 1498)

**Bayerisches Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (2007)**

Mobilfunk, Zugriff Juli 2007

[www.stmugv.bayern.de](http://www.stmugv.bayern.de)

**Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), Deutsches Mobilfunkforschungsprogramm (DMF), aktualisiert 2007;**

[http://www.bfs.de/elektro/forsch\\_mobil.html](http://www.bfs.de/elektro/forsch_mobil.html)

**Bundesnetzagentur, Zugriff September 2007;**

[http://www.bundesnetzagentur.de/enid/2a2cdb818d7390d8f44dadf9a6ec752,0/Marktbeobachtung/Mobilfunkdienste\\_vw.html#mobiltelefondienst\\_teilnehmerentwicklung](http://www.bundesnetzagentur.de/enid/2a2cdb818d7390d8f44dadf9a6ec752,0/Marktbeobachtung/Mobilfunkdienste_vw.html#mobiltelefondienst_teilnehmerentwicklung)

**EMF-Portal, Grundlagen elektromagnetischer Felder, Zugriff Juli 2007;**

<http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g>

**Gesellschaft für Versuchstierkunde, Society of Laboratory Animal Science (GV-SOLAS) Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere (2003), Zugriff September 2007;**

Besonderheiten der Nährstoffansprüche von Mäusen im Tierversuch.

[http://www.gv-solas.de/auss/ern/ernaehrung\\_maus.pdf](http://www.gv-solas.de/auss/ern/ernaehrung_maus.pdf)

**Landesanstalt für Umweltschutz, Baden Württemberg, Zugriff September 2007;**

Auswirkungen hochfrequenter Felder auf den Menschen, Literaturstudie.

<http://www.lfu.baden-wuerttemberg.de>

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wirkung niedrig frequenter elektrischer Felder im menschlichen Körper (Tab. Grundlagen EMF <a href="http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g">http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g</a> ) .....	23
Tabelle 2: Grenzwerte für die Ganzkörper- und lokale SAR für die berufliche Exposition und die Exposition der Bevölkerung .....	26
Tabelle 3: Vergleich des Plasmavolumens, ermittelt aus dem Verteilungsvolumen von <sup>3</sup> H-Inulin (dpm/gHirn)/(dpm/mlPlasma) nach einer Minute. Angaben für sieben Hirnareale als arithmetischer Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (STABW) .....	42
Tabelle 4: Extrapolierte Plasmavolumina in µl/g Hirn. Die Werte wurden wie oben beschrieben mit Hilfe der Trendlinienfunktion für jedes Hirnareal mit jeweils <sup>3</sup> H-Inulin und <sup>14</sup> C-Saccharose bestimmt. ....	45
Tabelle 5: Vergleich des extrapolierten Plasmavolumens mit dem -Verteilungsvolumen nach 0,5 min, gemessen mit <sup>3</sup> H-Inulin. Angabe der Werte als arithmetischer Mittelwert ± STABW, bei den extrapolierten Volumina ist keine Angabe der STABW möglich. ....	46
Tabelle 6: Übersicht aller unidirektionaler Influxkonstanten K <sub>in</sub> in [µl*g <sup>-1</sup> *min <sup>-1</sup> ]. Von den Vorversuchen wird nur die Challenge-Konzentration 0,5 mol/l Arabinose angegeben. Alle Angaben als MW ± STABW. ....	59
Tabelle 7: Vergleich der K <sub>in</sub> -Werte in [µl*g <sup>-1</sup> *min <sup>-1</sup> ] von Rapoport et al., 1980 mit eigenen Ergebnissen nach Infusion 0,9 %iger Kochsalzlösung und 1,6 molarer Arabinoselösung. Die Werte mussten auf eine gemeinsame Einheit umgerechnet werden und sind gerundet. Rapoport gibt in der 1,6 molaren Arabinose-Gruppe nur die K <sub>in</sub> -Werte der rechten Hemisphäre an. Angaben in MW ± STABW; (*) eigene Cortextwerte werden der grauen Substanz gleichgesetzt .....	65
Tabelle 8 Übersicht über bisherige Untersuchungen der BHS nach Bestrahlung mit Mobilfunkstrahlen mit den jeweiligen Ergebnissen der Integrität und den dabei gemessenen Temperaturen im Gehirn.....	68
Tabelle 9: Plasma-Verteilungsvolumen (dpm/g Hirn)/(dpm/ml Plasma) von <sup>3</sup> H-Inulin und <sup>14</sup> C-Saccharose gemessen nach 1, 5 und 30 min. Angaben als arithmetischer MW in µl/g Hirn ± STABW. Jede Verteilungszeit entspricht 4 Versuchen.....	97
Tabelle 10: obere und untere Grenzwerte des Konfidenzintervalls der K <sub>in</sub> in [µl*g <sup>-1</sup> *min <sup>-1</sup> ] der Generation F0-Gruppe1 für den Vergleich der bestrahlten Kammer mit der Kontrollkammer .....	97
Tabelle 11: obere und untere Grenzwerte des Konfidenzintervalls der K <sub>in</sub> in [µl*g <sup>-1</sup> *min <sup>-1</sup> ] der Generation F02 für den Vergleich der bestrahlten Kammer mit der Kontrollkammer.....	98
Tabelle 12: obere und untere Grenzwerte des Konfidenzintervalls der K <sub>in</sub> in [µl*g <sup>-1</sup> *min <sup>-1</sup> ] der Generation F2 für den Vergleich der bestrahlten Kammer mit der Kontrollkammer .....	98

**Tabelle 9: Plasma-Verteilungsvolumen (dpm/g Hirn)/(dpm/ml Plasma) von <sup>3</sup>H-Inulin und <sup>14</sup>C-Saccharose gemessen nach 1, 5 und 30 min. Angaben als arithmetischer MW in µl/g Hirn ± STABW. Jede Verteilungszeit entspricht 4 Versuchen.**

Marker	<sup>14</sup> C	<sup>3</sup> H	<sup>14</sup> C	<sup>3</sup> H	<sup>14</sup> C	<sup>3</sup> H
Verteilungszeit	1 min	1 min	5 min	5 min	30 min	30 min
Cortex	12,0 ± 1,3	9,2 ± 1,8	17,6 ± 8,7	10,8 ± 2,0	28,7 ± 30,9	39,7 ± 19,5
Diencephalon	12,7 ± 2,9	11,9 ± 2,6	23,9 ± 13,8	15,6 ± 11,2	29,2 ± 28,1	22,9 ± 12,8
Mesencephalon	14,3 ± 5,0	11,4 ± 2,8	19,8 ± 8,3	11,3 ± 6,6	30,7 ± 30,0	30,3 ± 24,0
Pons	19,7 ± 5,7	12,8 ± 4,9	21,5 ± 8,2	17,4 ± 16,1	31,7 ± 32,3	29,6 ± 16,2
Medulla	21,4 ± 4,5	16,1 ± 6,1	25,9 ± 11,2	25,6 ± 19,4	39,8 ± 42,3	38,9 ± 34,4
Cerebellum	20,3 ± 4,5	17,3 ± 7,0	27,0 ± 14,7	19,2 ± 7,1	37,9 ± 38,2	39,8 ± 29,2
Bulbus	28,8 ± 6,3	18,3 ± 5,8	31,8 ± 13,9	20,3 ± 3,6	51,5 ± 53,1	50,0 ± 37,7

**Tabelle 10: obere und untere Grenzwerte des Konfidenzintervalls der  $K_{in}$  in [ $\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ] der Generation F0-Gruppe1 für den Vergleich der bestrahlten Kammer mit der Kontrollkammer**

F01- Generation		Grenzwerte des Konfidenzintervalls			
		linke Seite unterer	oberer	rechte Seite unterer	oberer
Bulbus	GSM	-2,8	0,5	-2,4	0,9
	UMTS	-2,5	0,6	-2,4	0,9
Cerebellum	GSM	-1,0	0,6	-1,9	0,6
	UMTS	-1,3	0,2	-1,7	0,4
Medulla	GSM	-0,9	0,6	-1,1	0,5
	UMTS	-0,9	0,6	-0,9	0,4
Pons	GSM	-0,8	0,6	-1,1	0,4
	UMTS	-0,9	0,6	-0,9	0,4
Mesencephalon	GSM	-0,8	0,5	-1,4	0,9
	UMTS	-0,8	0,4	-0,9	0,9
Diencephalon	GSM	-0,6	0,5	-1,5	0,7
	UMTS	-0,8	0,4	-1,2	1,0
Cortex	GSM	-0,8	0,3	-1,8	0,7
	UMTS	-0,9	0,2	-1,3	1,1

**Tabelle 11: obere und untere Grenzwerte des Konfidenzintervalls der  $K_{in}$  in  $[\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}]$  der Generation F02 für den Vergleich der bestrahlten Kammer mit der Kontrollkammer**

F02-Generation		Grenzwerte des Konfidenzintervalls			
		linke Seite unterer	oberer	rechte Seite unterer	oberer
Bulbus	GSM	-0,4	1,5	0,0	1,9
	UMTS	-0,4	1,5	-0,7	1,4
Cerebellum	GSM	-1,2	1,1	-0,1	1,2
	UMTS	-0,4	1,0	-0,3	1,0
Medulla	GSM	-0,2	0,6	-0,2	0,6
	UMTS	-0,3	0,6	-0,3	0,6
Pons	GSM	-0,1	0,6	-0,1	0,3
	UMTS	-0,5	0,5	-0,4	0,5
Mesencephalon	GSM	-0,1	0,3	-0,3	0,7
	UMTS	-0,5	0,4	-0,3	0,7
Diencephalon	GSM	-0,2	0,5	-0,4	0,8
	UMTS	-0,4	0,4	-0,5	0,6
Cortex	GSM	-0,2	0,3	-0,2	0,9
	UMTS	-0,4	0,3	-0,6	0,8

**Tabelle 12: obere und untere Grenzwerte des Konfidenzintervalls der  $K_{in}$  in  $[\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}]$  der Generation F2 für den Vergleich der bestrahlten Kammer mit der Kontrollkammer**

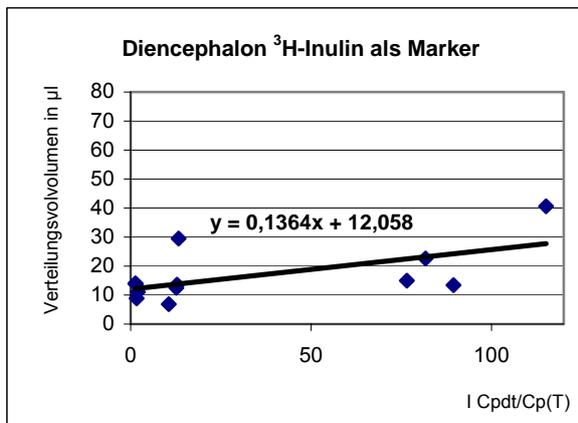
F2-Generation		Grenzwerte des Konfidenzintervalls			
		unterer	oberer	unterer	oberer
Bulbus	GSM	-1,1	0,7	-0,8	1,0
	UMTS	-0,9	0,8	-0,8	1,0
Cerebellum	GSM	-0,7	1,2	-0,5	0,5
	UMTS	-0,9	1,0	-0,4	0,6
Medulla	GSM	-0,2	0,6	-0,4	0,6
	UMTS	-0,1	0,7	-0,2	0,8
Pons	GSM	-0,2	0,6	-0,4	0,3
	UMTS	-0,2	0,5	-0,2	0,5
Mesencephalon	GSM	-0,4	0,3	-0,6	0,7
	UMTS	-0,3	0,4	-0,6	0,7
Diencephalon	GSM	-0,1	0,5	-0,8	0,8
	UMTS	-0,1	0,4	-0,8	0,6
Cortex	GSM	-0,2	0,3	-0,7	0,9
	UMTS	-0,2	0,3	-0,7	0,8

## 10 Abbildungsverzeichnis

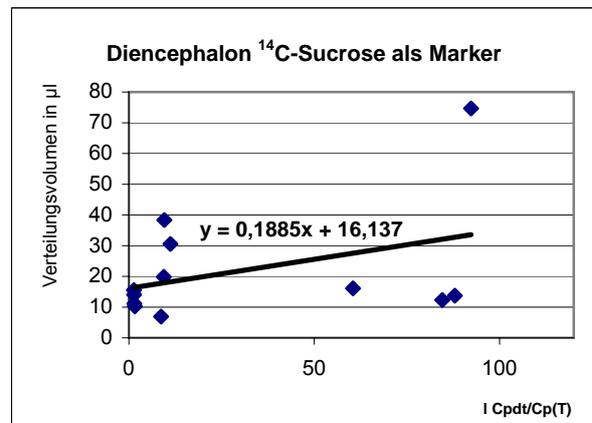
Abbildung 1: Schematische Darstellung der Blutversorgung des Gehirns. Anastomosen der A. carotis interna mit der A. vertebralis bilden den so genannten Cerebellus arteriosus willisii. (re. Abb. modifiziert nach <a href="http://www.ims.uni-stuttgart.de/phonetik/joerg/sgtutorial/blutversorgung.html">http://www.ims.uni-stuttgart.de/phonetik/joerg/sgtutorial/blutversorgung.html</a> ) .....	5
Abbildung 2: schematische Darstellung der an der Bildung von tight junctions beteiligten Proteine. (Abb. von <a href="http://www.nastech.com/nastech/junctions_biology">http://www.nastech.com/nastech/junctions_biology</a> ) .....	7
Abbildung 3: Schematische Darstellung der BHS. Endothelzellen der Blutkapillaren bilden untereinander tight junctions aus. ( <a href="http://users.ahsc.arizona.edu/davis/bbb.htm">http://users.ahsc.arizona.edu/davis/bbb.htm</a> ) .....	8
Abbildung 4 Zeitlicher Verlauf des elektrischen und magnetischen Feldstärkevektors im Modell der linearen Welle (Abb. Grundlagen EMF <a href="http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g">http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g</a> ) .....	20
Abbildung 5a: Schematische Seitenansicht und b: Foto der Befeldungsanlage und des Aufbaus einer Expositionskammer am Beispiel der GSM- Kammer. (Abb. modifiziert nach Schelkshorn et al., 2007) .....	32
Abbildung 6: Ablauf der Untersuchung der BHS von Juli 2005 bis Februar 2007 .....	33
Abbildung 7 a: Bifurcatio carotidis mit ligierter A. carotis externa. b: Lage des durch die A. carotis externa eingeführten Katheters 2 mm distal der Bifurkation. A: A. carotis communis, B: Bifurcatio carotidis, C: A. carotis externa, D: A. carotis interna, E : Katheter .....	37
Abbildung 8: Schematischer Ablauf der letzten 15 Minuten der Operation inklusive Injektion der Arabinoselösung, der radioaktiven Marker, der MgCl <sub>2</sub> -Lösung und Blutprobenentnahme .....	38
Abbildung 9: Vergleich des regionalen Plasma-Verteilungsvolumina von <sup>3</sup> H-Inulin und <sup>14</sup> C-Saccharose, gemessen zu drei Zeitpunkten (1, 5 und 30 min post injectionem) in sieben Hirnarealen.....	43
Abbildung 10: Das Plasma-Verteilungsvolumen für <sup>3</sup> H-Inulin und <sup>14</sup> C-Saccharose des Cortex wird als eine Funktion $V(T) =  C_p dt / C_p dT$ dargestellt. Aus der Funktion der Trendlinie lässt sich $V(0)$ ablesen indem $x = 0$ gesetzt wird. Jeder Punkt im Diagramm repräsentiert ein Versuchstier (n = 12). .....	44
Abbildung 11: Plasma-Verteilungsvolumen von <sup>3</sup> H-Inulin nach 1 min (blau n = 68) und 0,5 min (rot n = 52) in sieben Arealen gemessen. Angaben als arithmetischer MW + STABW.....	46
Abbildung 12: A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D = Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Dargestellt ist die unidirektionale Influxkonstante ( $K_{in}$ ) in Abhängigkeit von steigenden Arabinosekonzentrationen. $K_{in}$ wird als arithmetischer MW ± STABW angegeben.....	49

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

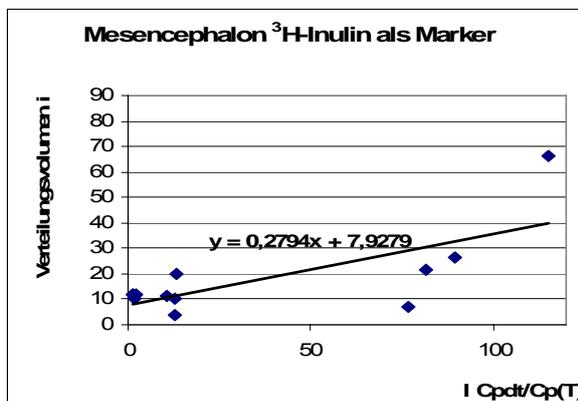
- Abbildung 13: A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D= Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Vergleich der  $K_{in}$  der Tiere aus GSM-, UMTS- und Kontrollkammer der F0-Generation, Gruppe 1, nach viermonatiger Bestrahlung. Die  $K_{in}$  wird als arithmetischer MW  $\pm$  STABW angegeben. .... 53
- Abbildung 14: A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D= Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Vergleich der  $K_{in}$  der Tiere aus GSM-, UMTS- und Kontrollkammer der F0-Generation, Gruppe 2, nach elfmonatiger Bestrahlung. Die  $K_{in}$  wird als arithmetischer MW  $\pm$  STABW angegeben. .... 55
- Abbildung 15: A-G (A= Bulbus olfactorius, B= Cerebellum, C= Medulla oblongata, D= Pons, E= Mesencephalon, F= Diencephalon, G= Cortex) Vergleich der  $K_{in}$  der Tiere aus GSM-, UMTS- und Kontrollkammer der F2-Generation, nach viermonatiger Bestrahlung. Die  $K_{in}$  wird als arithmetischer MW  $\pm$  STABW angegeben. .... 57
- Abbildung 16: (A= Diencephalon, B= Mesencephalon, C= Pons, D= Medulla oblongata, E= Cerebellum, F= Bulbus olfactorius) Plasma-Verteilungsvolumen für  $^3\text{H}$ -Inulin (1) und  $^{14}\text{C}$ -Saccharose (2) als eine Funktion  $V(T) = |C_p dt / C_p dT$ . Jeder Punkt im Diagramm repräsentiert ein Versuchstier (gesamt n = 12). Aus der Funktion der Trendlinie lässt sich  $V(0)$  ablesen indem  $x = 0$  gesetzt wird. .... 101



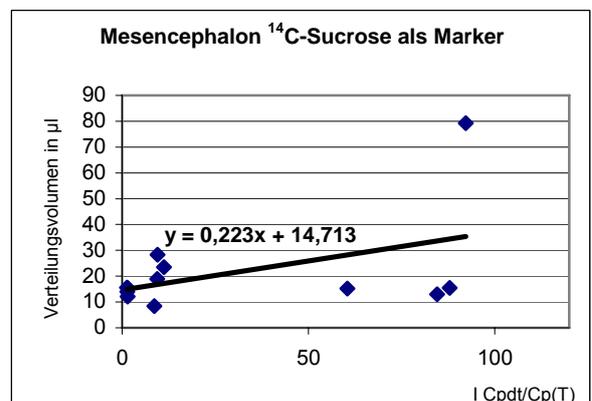
A1



A2

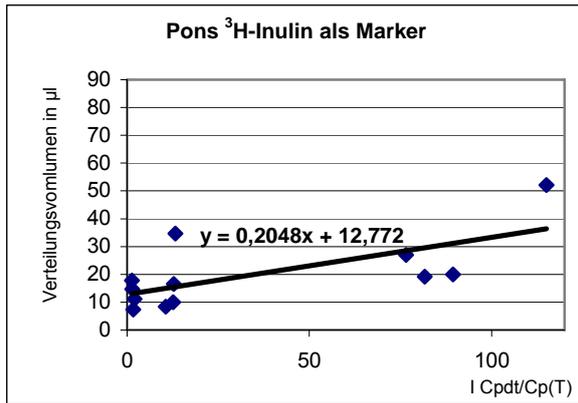


B1

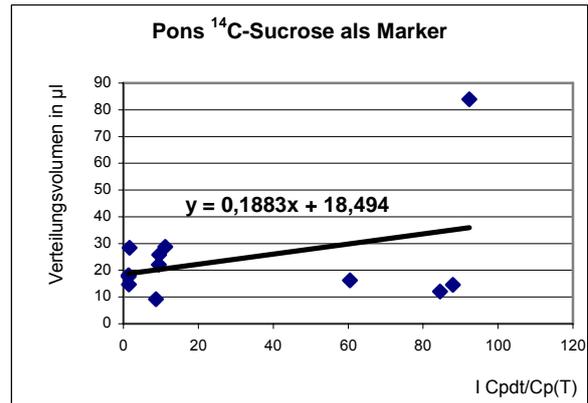


B2

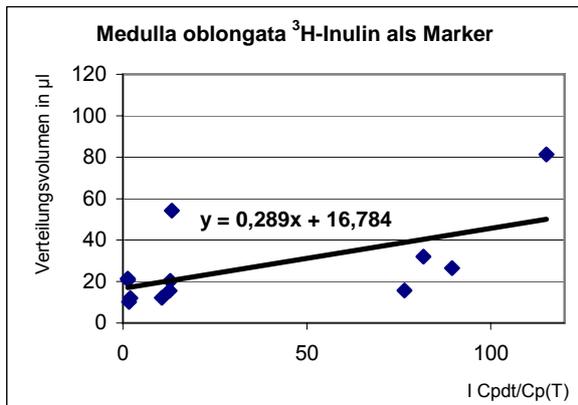
ABBILDUNGSVERZEICHNIS



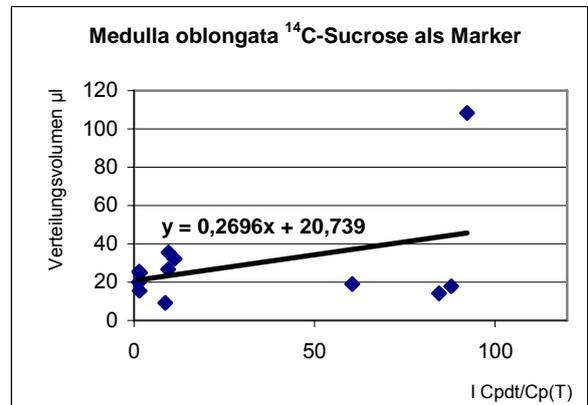
C1



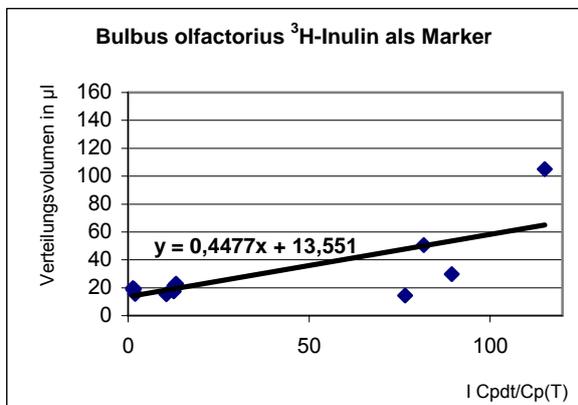
C2



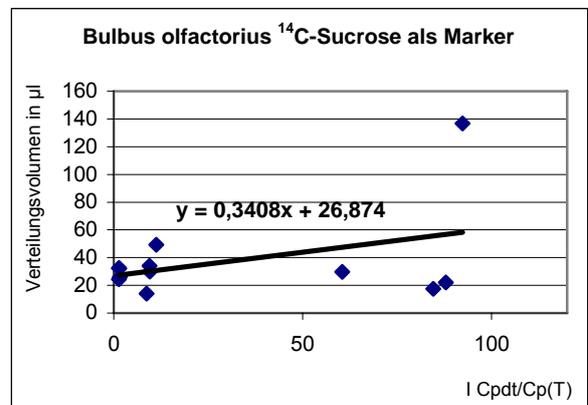
E1



E2



F1



F2

**Abbildung 16:** (A= Diencephalon, B=Mesencephalon, C=Pons, D= Medulla oblongata, E= Cerebellum, F= Bulbus olfactorius) Plasma-Verteilungsvolumen für <sup>3</sup>H-Inulin (1) und <sup>14</sup>C-Saccharose (2) als eine Funktion  $V(T)=|C_{pdt}/C_{pd}T$ . Jeder Punkt im Diagramm repräsentiert ein Versuchstier (gesamt  $n = 12$ ). Aus der Funktion der Trendlinie lässt sich  $V(0)$  ablesen indem  $x = 0$  gesetzt wird.

## 11 Abkürzungsverzeichnis

I	Integral
μCu	Microcurie
μg	Microgramm
μl	Microliter
μT	Microtesla
<sup>14</sup> C	Radiocarbon
<sup>3</sup> H	Tritium
A	Ampere
Å	Angström
A.	Arteria
Aa.	Arteriae
AM	Amplitudenmodulation
Aqua dest.	Aqua destillata
BfS	Bundesamt für Strahlenschutz
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BImSchV	Bundes Immissionsschutz Verordnung
BLS	Blut-Liquor-Schranke
C <sub>p</sub>	Plasmakonzentration
CPP	Cerebrale Perfusionsdruck
Da	Dalton
DMF	Deutsches Mobilfunkforschungsprogramm
dpm	Disintegrations per minute
E	elektrische Feldstärke in [V/m]
EMF	elektromagnetisches Feld
EMW	elektromagnetische Welle
FM	Frequenzmodulation
GK-SAR	Ganzkörper SAR
GSM	Global System for Mobile Telecommunication
H	magnetische Feldstärke in [A/m]
H+	Wasserstoff-Ionen
ICNIRP	International Commission on Non-Ionising Radiation Protection
ICP	Intrakranieller Druck
JAM	Junction Adhesion Molecules
K	Kelvin
K+	Kalium-Ionen
K <sub>in</sub>	unidirektionale Influxkonstante
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
M.	Musculus
mA	Milliampere
MAP	Mittlerer Arterieller Druck
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

mol	Mol
ms	Millisekunde
MW	Mittelwert
nm	Nanometer
PHz	Pentahertz
ppb	pars per billion
S	Leistungsflussdichte in [W/m <sup>2</sup> ]
SAR	Spezifische Absorptionsrate
STABW	Standardabweichung
SSK	Strahlenschutz Kommission
Stablab	Statistisches Beratungs Labor
T	Zeitpunkt des Todes
TDMA	Time Division Multiple Access
THz	Terahertz
TK-SAR	Teilkörper SAR
U	Umdrehungen
UMTS	Universal Mobile Telecommunication System
V.	Vena
Vv.	Venae
ZNS	Zentrales Nervensystem

---

## **LEBENS LAUF**

### **Nina Hettenbach**

geboren am 23.05.1979 in Heilbronn  
als Tochter von  
Fritz Hettenbach (Dipl.-Kfm.) und  
Vigdis Hettenbach, geb. Steffensen (Krankengymnastin)  
Bruder: Patrick Hettenbach

### **Schulbildung:**

1985-1989	Silcher- Grundschule in Heilbronn
1989-1998	Theodor-Heuss-Gymnasiums Heilbronn
1998	Allgemeine Hochschulreife

### **Studium:**

1999-2001	Studium der Tiermedizin an der St. Istvan Universität in Budapest, Physikum
2001	Wechsel an die Münchner Fakultät für Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
Februar 2005	Approbation als Tierärztin

### **Beruflicher Werdegang**

Oktober 2005 bis Mai 2007	Doktorarbeit „Auswirkung der chronischen Bestrahlung von Ratten mit Mobilfunkstrahlen (GSM und UMTS) auf die Blut-Hirn- Schranke“, am Institut für Tierphysiologie der Ludwig- Maximilians-Universität
August 2007	Assistenzärztin in der Kleintierpraxis Dr. Knoll, Eisligen

München, den 11.09.2007

---

## **12 Danksagung**

Ganz besonders möchte ich mich bei meinem Betreuer Herrn Dr. Manfred Stohrer für die Bereitstellung dieses Themas, seine Unterstützung, Hilfe und Motivierung, anregende Diskussionen und die gute und freundliche Zusammenarbeit bedanken.

Herrn Professor Manfred Stangassinger danke ich herzlich für die Möglichkeit, diese Arbeit am Institut für Tierphysiologie zu erstellen.

Frau Sieglinde Hirmer, Herrn Zdravko Grahovazc und Herrn Peter Sommer gilt mein großer Dank für die Einarbeitung in das wissenschaftliche Arbeiten, die herzliche und humorvolle Atmosphäre und jederzeit gewährte Hilfestellung bei stundenlangen Vorbereitungen und Durchführung der Operationen.

Ebenfalls möchte ich mich bei den übrigen Mitarbeitern der AG Stohrer für eine freundliche und gute Zusammenarbeit und die Unterstützung während dieser Arbeit bedanken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich während der Abfassung dieser Arbeit und während des gesamten Studiums immer liebevoll und geduldig unterstützt hat.

Und schließlich vielen Dank meinem Freund Nikolaus Spyra, für unglaublich viel Geduld, Unterstützung in technischen Fragen, für konstruktive Kritik und Anregungen und vieles mehr.