

**Aus der Radiologischen Universitätsklinik Tübingen
Abteilung Radiologische Diagnostik
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. C. D. Claussen**

**Teratogene Einflüsse von Gradientenfeldern
verschiedener Frequenz und Dauer auf die
Zellzyklusverteilung humaner fetaler
Lungenfibroblasten**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
SVENJA MAREN TILGNER
aus Reutlingen

2003

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. S. Duda

2. Berichterstatter: Professor Dr. B. Schmidt

Meiner Familie

Inhalt

1	Einleitung.....	I
2	Theoretische Grundlagen.....	5
2.1	Grundlagen elektromagnetischer Felder.....	5
2.2	Grundlagen der Magnetresonanztomographie.....	5
2.2.1	Gradientenfelder.....	8
2.3	Biologische Grundlagen der Regulation des Zellwachstums.....	9
2.3.1	Zellzyklus.....	9
2.3.1.1	Interphase.....	9
2.3.1.2	Mitose.....	10
3	Material und Methoden.....	11
3.1	Zellen und Methoden der Zellkultur.....	11
3.1.1	Die Zellen.....	11
3.1.1.1	DAPI-Test.....	11
3.1.2	Material und Methoden der Zellkultur.....	12
3.2	Inkubationssystem.....	13
3.2.1	Anforderungen.....	13
3.2.2	Material.....	14
3.2.3	Maße.....	15
3.2.4	Funktionalität.....	15
3.2.5	Gasatmosphäre.....	15
3.2.6	Temperaturhomöostase.....	17
3.2.7	Luftfeuchtigkeit.....	19
3.3	Methode der Magnetfeldexposition.....	19
3.3.1	Magnetresonanztomograph.....	19
3.3.1.1	Aufbau des MR-Tomographen.....	20
3.3.2	Befeldungen.....	20
3.4	Zellversuch.....	24
3.4.1	Zellansatz.....	24
3.4.2	Material und Methoden der Zellaufbereitung.....	25
3.4.3	Zellzyklusanalyse und DNA-Gehalt.....	26
3.4.3.1	Prinzip der Durchflusszytometrie.....	26
3.4.3.2	Material und Methoden der Durchflusszytometrie.....	26
3.4.3.3	FACS-Gerät.....	27
3.4.3.4	Auswertung.....	28
3.5	Statistische Auswertung.....	29
4	Ergebnisse.....	30
5	Diskussion.....	37
5.1	Magnetfeldexposition in der Schwangerschaft.....	37
5.1.2	Schwangere Patientinnen.....	37
5.1.3	Schwangere am Arbeitsplatz.....	38
5.2	Interaktionsmechanismen der Magnetfelder.....	39
5.2.1	Statisches Magnetfeld.....	39

5.2.1.1	Elektrodynamische Wirkungen.....	40
5.2.1.2	Magnetomechanische Wirkungen.....	41
5.2.2	Gradientenfeld	43
5.2.3	Hochfrequenzfeld.....	48
5.2.3.1	Thermische Wirkungen.....	48
5.2.3.2	Nichtthermische Wirkungen	49
5.3	Tierexperimentelle Studien.....	49
5.4	Experimente mit Zellkulturen.....	52
5.4.1	Einfluss der Magnetfelder auf die DNA	52
5.4.2	Einfluss der Magnetfelder auf die Zellproliferation und Zelldifferenzierung	55
5.4.2.1	Proliferation	56
5.4.2.2	Differenzierung	58
5.4.2.3	Zusammenfassung	59
5.5	Vorliegende Studie	60
5.5.1	Standardisierung der Expositionsbedingungen.....	60
5.5.1.1	Die Kontrollkulturen.....	61
5.5.1.2	Das Inkubationssystem	61
5.5.1.3	Die Magnetfeldkomponente	61
5.5.2	Wahl der Zellen	63
5.5.3	Versuchskriterien	64
5.5.3.1	Zellzyklusanalysen.....	64
5.5.3.2	Durchflusszytometrie	64
5.5.3.3	Frequenzen.....	65
5.5.3.4	Die Expositionsdauer.....	65
5.5.4	Vergleich der vorliegenden Ergebnisse mit denen anderer Studien	66
5.6	Therapeutische Relevanz elektromagnetischer Felder und Richtlinien.....	70
5.6.1	Therapeutische Relevanz elektromagnetischer Felder	70
5.6.2	Richtlinien und Empfehlungen	71
5.6.2.1	Richtlinien und Empfehlungen für statische Magnetfelder	72
5.6.2.2	Richtlinien und Empfehlungen für Gradientenfelder	72
5.6.2.3	Richtlinien und Empfehlungen für Hochfrequenzfelder	73
5.6.2.4	Ausschlusskriterien.....	73
5.6.2.5	Kenntnisstand.....	74
6	Zusammenfassung	75
7	Literatur	78
8	Danksagung	95
9	Lebenslauf.....	96

Abkürzungen

°C	Grad Celsius
A	Ampère
Abb.	Abbildung
AC	Alternating Current (dt. Wechselstrom)
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
ADA	Adenosindeaminase
AK	Antikörper
ATCC	American Type Culture Collection
<i>B</i>	magnetische Flussdichte, in T
B_0	statisches Magnetfeld
BfS	Bundesamt für Strahlenschutz
BImSchV	Verordnung zur Durchführung des Bundesimmissionsschutzgesetzes
BrdU	Bromodesoxyuridin
BSA	Bovine Serum Albumin
C	Coulomb
C57BL/6J	fetaler Mäusestamm
Ca^{2+}	Kalzium-Ion
CD-1	Mäusestamm
CDK	Cyclindependent Kinase (dt. cyklinabhängige Proteinkinase)
c-fos	Protoonkogen
CHO	Chinese Hamster Ovary Cells (dt. Ovarialzellen des Chinesischen Hamsters)
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
cm	Zentimeter
cm^2	Quadratzentimeter
CO_2	Kohlenstoffdioxid
CPD	Cumulative Population Doubling
CT	Computertomographie
d	day (dt. Tag)
DAPI	4,6-Diamidinophenylindol
DC	Direct Current (dt. Gleichstrom)
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	Deoxyribonucleic Acid (dt. Desoxyribonukleinsäure)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid (Ethylendiamintetraessigsäure)
EKG	Elektrokardiogramm
ELF	Extremely Low Frequency (dt. extrem niederfrequent)
EMF	Electromagnetic Field (dt. Elektromagnetfeld)
et al.	et alii (dt. und andere)
eV	Elektronvolt ($1 \text{ eV} = 1,602 \cdot 10^{-19} \text{ J}$)
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorter
F_C	Coulomb-Kraft
FCS	Fetal Calf Serum (dt. fetales Kälberserum)
FDA	Food and Drug Administration
Fe_3O_4	biogener Magnetit
FIP	Federation International Pharmaceutique
FITC	Fluoreszein Iso Thio Cyanat
F_L	Lorentz-Kraft

g	Erdbeschleunigung (9,81 m/s ²)
G	Gauß (1 G = 0,1 mT)
g	Gramm
Gin-1	Gingivofibroblasten
Gy	Gray
h	hora (dt. Stunde)
H	magnetische Feldstärke, in A/m
H ⁺	Proton
H ₀	Nullhypothese
H ₂ CO ₃	Kohlensäure
H ₂ O	Wasser
HBS-15	humane, embryonale Fibroblasten
HCl	Salzsäure
HCO ₃ ⁻	Hydrogenkarbonat
HeLa	Zervixkarzinomzellen (v. Henrietta Lacks)
HF	Hochfrequenz
HFL	humane Lungenfibroblasten
HH-8	humane Hautfibroblasten
HL-60	humane Promyelozyten
Hz	Hertz
I.E.	Internationale Einheiten
i.v.	intravenös
ICNIRP	International Commission of Non-Ionizing Radiation Protection
ICR	Ion Cyclotron Resonance
IEC	International Electrotechnical Commission
Ig	Immunglobulin
IGF	Insulin-like Growth Factor
J	Joule
Kat.Nr.	Katalognummer
kg	Kilogramm
kHz	Kilohertz
kV	Kilovolt
l	Liter
m	Masse
m	Meter
m ²	Quadratmeter
Mg ²⁺	Magnesium-Ion
MHz	Megahertz
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MR	Magnetresonanz
mRNA	messenger Ribonucleic Acid
MRT	Magnetresonanztomographie
ms	Millisekunde
mT	Millitesla
N	Normal
NK Cells	Natural Killer Cells

nm	Nanometer
NRPB	National Radiation Protection Board
p	probability (dt. Wahrscheinlichkeit)
PBMC	peripheral blood mononuclear cells (dt. periphere, mononukleäre Blutzellen)
PBS	Phosphate Buffered Saline
pCO ₂	CO ₂ -Partialdruck
PD	Population Doubling
pH	pondus hydrogenii (Wasserstoff-Exponent)
PHA	Phytohämagglutinin
pK _s	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstanten K _s
Q	Ladung, in C
RBM	Rat Bone Marrow (dt. Rattenknochenmark)
RF	Radiohochfrequenz
RNA	Ribonucleic Acid (dt. Ribonukleinsäure)
RTF	Rat Tendon Fibroblast (dt. Fibroblast von Rattensehnen)
S	molarer Löslichkeitskoeffizient
s	Sekunde
SAR	Specific Absorption Rate (dt. spezifische Absorptionsrate), in W/kg
SCE	Sister Chromatin Exchange (dt. Schwesterchromatidenaustausch)
SE	Spin-Echo
SSK	Strahlenschutzkommission
SV40-3T3	Simian Virus 40-transformierte, embryonale Mäusefibroblasten
T	Tesla
T ₁	longitudinale Relaxationszeit
T ₂	transversale Relaxationszeit
TE	Time to Echo (dt. Ausleseverzögerung)
TE-85	Osteosarkomzellen
TR	Time to Repetition (dt. Repetitionszeit)
TSE	Turbo-Spin-Echo
UV	Ultraviolett
V	Volt
VDU	Visual Display Unit (dt. Bildschirmgerät)
W	Watt
WHO	World Health Organization (dt. Weltgesundheitsorganisation)
WI-38	humane Lungenfibroblasten
γ	gyromagnetische Zahl
μ	absolute Suszeptibilität/Permeabilität
μ	magnetisches Dipolmoment
μ ₀	Permeabilität des Vakuums/Induktionskonstante = 1,256 · 10 ⁻⁶ Vs/Am od. Tm/A)
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
μ _{rel}	relative Suszeptibilität/Permeabilität
μT	Mikrotesla
χ _m	magnetische Suszeptibilität
ω ₀	Resonanz-/Larmorfrequenz

1 Einleitung

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist eine noch relativ junge diagnostische Methode, obwohl das Prinzip der Kernresonanz bereits seit 1945 bekannt ist. In jenem Jahr führten die Physiker Purcell et al. (140) sowie Bloch et al. (14) unabhängig voneinander Experimente zur Kernspinresonanz durch und entdeckten, dass präzedierende Atomkerne in einem externen Magnetfeld bei der Einstrahlung von elektrischer Energie mit geeigneter Wellenlänge Energie absorbieren können und ein Resonanzsignal aussenden. Für diese Entdeckung erhielten die beiden Wissenschaftler 1952 den Nobelpreis. Die Entwicklung der Kernspinresonanz zu einem klinisch nutzbaren, bildgebenden Verfahren zog sich noch über 30 Jahre hin (93), in denen 1974 Lauterbur erstmals das magnetresonanztomographische Bild einer Maus anfertigen konnte und 1977 Damadian et al. (39) die erste Ganzkörperaufnahme veröffentlichten. Dank intensiver Forschung und Weiterentwicklung stellt die MRT heute eines der wichtigsten Diagnoseverfahren der Medizin dar. Dabei geht der Trend zu immer stärkeren elektromagnetischen Feldern und schnelleren Gradientensystemen, um damit eine bessere Auflösung und Bildqualität bzw. eine schnellere Bildakquisition zu erzielen. Die Liste der MR-Anwendungen wird ständig erweitert. So gehören beispielsweise kinematische Gelenkstudien (z. B. Knie), dynamische MR-Untersuchungen (z. B. MR-Mammographie) und MR-Angiographien zu den Routineanwendungen der modernen bildgebenden Diagnostik. Die größte Bedeutung besitzt dabei die MR-Tomographie im Bereich der Erkrankungen des Gehirns und bei Tumoren der „weichen“ Organe (44). Doch auch im pränatalen Imaging findet sie zunehmend Verwendung. So können bestimmte, in der Schwangerschaft gehäuft auftretende Erkrankungen, wie z. B. die Basilararterienstenose (153) oder die Ureterhydronephrose (155), sicher diagnostiziert werden.

Im Gegensatz dazu steht das mangelnde Grundlagenwissen über die Bioeffekte der MR-Exposition auf biologische Organismen. Zu möglichen teratogenen Wirkungen des Ultraschalls wurden bereits Tausende von Studien durchgeführt, nur ein paar wenige Arbeiten existieren jedoch zum teratogenen Potential der MRT (169). Im allgemeinen wird die Möglichkeit der ungewollten Nerven- oder Muskelstimulation als limitierender Faktor für noch kürzere Schaltzeiten der Gradienten in neuen schnellen Scantechniken betrachtet. Dennoch könnten auch andere, weniger offensichtliche Effekte auftreten. Im Zuge der Erkenntnis einer Tumorpromotion bzw. einer teratogenen Wirkung der ioni-

sierenden Strahlung gerät nun auch die MRT immer stärker in die Diskussion, allem voran hinsichtlich schwangerer Patientinnen und schwangeren Krankenpflegepersonals. Säugetiere, wie auch der Mensch, durchlaufen während ihrer Entwicklung Phasen erhöhter Sensibilität. Besonders empfindlich gegenüber schädigender Reize sind Zellen während der Zellteilung, wie im Falle der sich entwickelnden Frucht im ersten Trimenon (45, 171), in dem die Ausdifferenzierung des Gehirns und die Organogenese erfolgt. Die spontane Abortrate während der ersten drei Monate beträgt generell $> 30\%$.

Bisherige *in vivo*-Studien behandelten die Thematik einer potentiellen Teratogenität von Magnetfeldern meist sehr allgemein, indem Tiere komplexen Spinechosequenzen ausgesetzt wurden. Beispielsweise stellte Tyndall verminderte Kopfumfänge und kleinere Scheitel-Rumpf-Größen (182) sowie Fehlbildungen der Augen (183) fest, nachdem er genetisch transformierte Mäuse mit einer T₂-gewichteten Spinechosequenz eines 1,5 T-Gerätes befeldete. Diese Ergebnisse konnten spätere Studien mit genetisch normalen Mäusen nicht reproduzieren, zeigten dafür jedoch z. B. ein reduziertes Geburtsgewicht und eine gesteigerte Abortrate (28).

An Menschen selbst wurden die potentiell teratogenen Auswirkungen der Magnetfeldexposition nur sehr selten untersucht. Eine epidemiologische Studie zu diesem Thema befasste sich mit den Daten schwangerer Arbeiterinnen, die an einem MR-Tomographen arbeiteten, konnte aber keine gesundheitsschädigenden Effekte nachweisen (83).

Es sind auch nur recht wenige *in vitro*-Untersuchungen über mögliche Bioeffekte hinsichtlich eines teratogenen Potentials der MRT durchgeführt worden. In den meisten Arbeiten wurden Lymphozyten verwendet. Dabei wurden auch Einflüsse auf Chromosomen- oder DNA-Schädigung (34), Killerzelltoxizität (139) oder den Calcium-Einstrom (99) getestet. In den meisten Fällen konnten aber keine signifikanten Effekte bewiesen werden.

Intensiver wurde diesbezüglich auf dem Gebiet der extrem niederfrequenten (ELF) Elektromagnetfelder, wie sie bei der Erzeugung, Verbreitung und dem Verbrauch von Strom entstehen, geforscht (eine Übersicht zeigt (110)). Dabei wurden typischerweise Expositionen verschiedener Zelllinien bei 50 - 60 Hz sinusoidalen Wellenformen und Amplituden um 100 μ T beschrieben. Obwohl sich diese Expositionsbedingungen meist stark in Wellenform, Amplitude oder Expositionsdauer von den Gradientenfeldern, wie sie in der MRT zur Anwendung kommen, unterscheiden, zeigen sie, dass selbst sehr

kleine Wechselfelder - zum Teil mit Feldstärken kleiner als das Erdmagnetfeld - Einflüsse auf lebende Organismen haben können. Viele dieser Studien weisen widersprüchliche Ergebnisse auf, die häufig auf mangelnde Standardisierung der Versuchsbedingungen zurückzuführen sind.

Zu wenige Studien existieren bislang zu der praxisrelevanten Frage nach potentiellen teratogenen Nebenwirkungen elektromagnetischer Felder der Magnetresonanztomographie, so dass fruchtschädigende Wirkungen nach dem gegenwärtigen Stand der Wissenschaft nicht ausgeschlossen werden können. Wirkungen des magnetischen Feldes hinsichtlich Teratogenität werden als wissenschaftlich ungeprüft bzw. umstritten eingestuft (174). Aufgrund dieser unsicheren Datenlage empfiehlt die Strahlenschutzkommission des Bundesamtes für Strahlenschutz, Schwangere nur unter strengster Indikationsstellung mittels MRT untersuchen zu lassen, vor allem während der ersten drei Entwicklungsmonate, aber auch nach dem dritten Schwangerschaftsmonat nur aufgrund diagnostisch zwingender Fragestellungen (z. B. vitale Indikation) und unter Einhaltung minimaler Expositionsdauer und Feldstärken (176).

Die für Schwangere empfohlene Vorsicht wird damit begründet, dass es im Verlauf der Entwicklungsvorgänge stets zu einer Sensibilitätssteigerung gegenüber äußerer Reize kommt, und Wachstums- und Differenzierungsvorgänge von Biomolekülen, Zellorganellen oder Zellen durch Feldwirkungen beeinflusst werden könnten (s. o.) (90).

Nach bisherigem Kenntnisstand der Wissenschaft scheint diese Annahme weder bestätigt noch widerlegt. Deshalb wurden von den verantwortlichen Kommissionen wie der International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) (77) und der Food and Drug Administration (FDA) in den USA sowie der Strahlenschutzkommission (SSK) des Bundesamtes für Strahlenschutz (BfS) (176) uneinheitliche Richt- und Grenzwerte festgelegt, die allerdings in keinem Verhältnis zur eigentlichen Leistungsfähigkeit der ab etwa 1993 installierten Geräte stehen (69). Da diese Leistung in Form immer größerer Feldstärken und kürzerer Gradienten-Schaltzeiten jedoch für die neueren Pulssequenzen benötigt wird, bewegt sich der Betreiber der MR-Anlage oftmals bereits oberhalb der empfohlenen Richtwerte. Dadurch entsteht bei den Untersuchungen ein großer Überwachungsaufwand für z. B. Puls und Atmung des Untersuchten. Dies suggeriere dem Patienten ein falsches Bild von Gefahr und Schaden einer Untersuchungsmethode, die mit ihrer im Vergleich „sanften“ Technologie doch eher gefördert werden sollte, anstatt sie durch strenge Richtlinien zu behindern (70, 123).

Die - möglicherweise unbegründeten - vorsichtigen Empfehlungen der Strahlenschutzbehörden und die widersprüchlichen Ergebnisse der bislang veröffentlichten Studien waren Anlass zur Durchführung der vorliegenden Arbeit. Ebenso wird bei aller Kontroversität in nahezu allen Studien und kritischen Beurteilungen darauf hingewiesen, dass zur endgültigen Abklärung der Frage nach Spätwirkungen weitere Forschungsarbeiten notwendig sind.

So war es das Ziel der vorliegenden Studie, die teratogene Wirkung zeitlich veränderlicher Gradientenfelder unterschiedlicher Frequenzen und Dauer auf das Wachstumsverhalten humaner fetaler Lungenfibroblasten zu evaluieren. Dabei wurde eine Sequenz auf einen Gradienten mit einer einzigen trapezoiden Amplitudenform reduziert. Befeldet man hingegen mit bildgebenden Sequenzen, ist es nicht möglich, zwischen Effekten der verschiedenen Feldkomponenten (statisches, Gradientenmagnetfeld oder elektromagnetische HF-Einstrahlung), sowie der während bildgebender Pulssequenzen infolge Überlagerung von statischem Feld und Gradientenfeldern entstehenden potentiellen Störfaktoren Lärm und Vibration zu unterscheiden. Ferner interessierte die Existenz bestimmter Fenstereffekte bezüglich Dauer und Frequenz. Darum wurden die Zellen im ersten Teil des Experiments in Langzeitversuchen, im zweiten Teil frequenzabhängig untersucht. Als eine wichtige biologische Endstrecke hinsichtlich der Teratogenität wurde der Einfluss auf die Zellteilung in Form von Zellzyklusanalysen gewählt. Eine valide Messung der erwartungsgemäß geringen Effekte durch Gradientenfelder ohne Maskierung dieser Effekte durch andere Parameter (z. B. pH-Schwankungen, Temperaturunterschiede, geringe Luftfeuchtigkeit) ist nur dann möglich, wenn die Bedingungen eines Begasungsbrutschrankes zuverlässig simuliert werden. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit in Form experimentell erprobter Inkubationskammern besonders viel Wert auf die Einhaltung dieser Umgebungsbedingungen gelegt.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Grundlagen elektromagnetischer Felder

Es werden drei verschiedene Elementarteilchen unterschieden: Neutronen, Protonen und Elektronen. Ihre Wirkung aufeinander wird von der Gravitation (Massenanziehung), den elektromagnetischen Kräften und den Kernkräften bestimmt.

Protonen und Elektronen sind durch ihre Ladung Q (Einheit Coulomb [C]) gekennzeichnet, die zwischen Teilchen ungleicher Ladung eine Anziehung und zwischen denen gleicher Ladung eine Abstoßung bewirken kann. Es resultieren elektromagnetische Kräfte. Hier unterscheidet man die elektrische Kraft (Coulomb-Kraft F_C) zwischen ruhenden von der zusätzlich zwischen bewegten Ladungen auftretenden magnetischen Kraft (Lorentz-Kraft F_L). Die hier entstehende magnetische Feldstärke H (Einheit A/m) unterscheidet sich lediglich in der dimensionslosen Materienkonstante μ von der magnetischen Flussdichte B (Einheit Tesla [T]), welche die Wirkung des Magnetfeldes auf Materie beschreibt.

Im Jahre 1885 ist es dem schottischen Physiker James Clerk Maxwell (1831 bis 1879) gelungen, Faradays Ideen vom Zusammenspiel elektrischer und magnetischer Felder in einem umfassenden mathematischen Gleichungssystem zu formulieren. Diese *Maxwell-Gleichungen* sagen aus, dass wandernde Magnetfelder stets mitwandernde elektrische Felder erzeugen und umgekehrt (181). Damit wird auch die eigenständige Ausbreitung elektromagnetischer Wellen verständlich: Die wandernden Magnetfelder induzieren elektrische Wirbelfelder, die wiederum magnetische Wirbelfelder erzeugen (181).

2.2 Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie (MRT) beruht auf der Aussendung hochfrequenter Signale, während der zu untersuchende Patient von einem starken Magnetfeld umgeben ist. Bei den gebräuchlichen Patientenuntersuchungen wird das äußere Magnetfeld üblicherweise von Magneten der Stärke 0,2 bis 2 Tesla (T) erzeugt.

Die MRT basiert auf dem Prinzip der Kernspin-Resonanz, d. h. dem Wechsel zwischen verschiedenen Energiezuständen. Zum überwiegenden Teil tragen in der MRT Wasserstoffkerne - einfache Protonen - zur Bildgebung bei. Die Protonendichte bestimmt hierbei die Signalintensität: Je mehr Protonen vorhanden sind, desto mehr Protonen werden

angeregt, und desto höher ist auch das detektierte Signal. Dabei wird die Tatsache ausgenutzt, dass Atomkerne mit ungerader Zahl an Protonen wie auch Neutronen die Eigenschaft des Spins, einer Grundeigenschaft der Elementarteilchen, besitzen (89). Das heißt, dass sie konstant mit einem magnetischen Dipolmoment und Eigendrehimpuls um die eigene Achse rotieren, sich damit wie magnetische Kreisel verhalten und ein magnetisches Moment erzeugen.

Die Atomkerne, die innerhalb eines statischen Magnetfeldes aus der ansonsten zufälligen Anordnung ihrer Magnetdipole ausgelenkt werden, ordnen sich dadurch längs der Magnetfeldlinien an. Dabei gibt es nach den Prinzipien der Quantenphysik nur zwei Möglichkeiten der Ausrichtung: parallel zum äußeren Magnetfeld oder genau entgegengesetzt, antiparallel. Die parallele Ausrichtung, die weniger Energie benötigt, wird von den Protonen in geringem Maße bevorzugt; dieser kleine Unterschied macht letztendlich die Längsmagnetisierung aus. Die Energiedifferenz dieser beiden Energieniveaus wächst mit steigender Magnetfeldstärke.

Die Kreisel führen in einem stärkeren Magnetfeld eine Präzessionsbewegung (Ausweichbewegung) einer bestimmten Präzessionsfrequenz (Larmorfrequenz) ω_0 um die Magnetfeldrichtung B_0 aus, da das magnetische Dipolmoment μ und die magnetische Flußdichte B nicht in die gleiche Richtung zeigen. Sie kreisen infolgedessen auf einem Kegelmantel. Hierbei nimmt die Präzessionsfrequenz mit steigender Magnetfeldstärke zu. Dies beschreibt die Larmor-Gleichung:

$$\omega_0 = \gamma \cdot B_0,$$

wobei

ω_0 = Präzessionsfrequenz (in Hz oder MHz),

B_0 = Statische Magnetfeldstärke (in Tesla),

γ = Gyromagnetische Zahl (der Wert für Protonen beträgt $2 \pi \cdot 42,58$ MHz/T).

Das Einstrahlen kurzer Pulse transversaler elektromagnetischer Wellen im Frequenzbereich der Radiowellen (Radiohochfrequenz RF), die in einem starken Radiosender erzeugt und mit einer Antennenspule auf das Untersuchungsobjekt eingestrahlt werden, bewirkt, dass die Atomkerne Energie absorbieren. Damit wird eine Schwingungsresonanz bestimmter Kerne induziert, welche ein Umkippen des Spins aus der dem äußeren

Magnetfeld parallelen Ausrichtung (Z-Richtung) bewirkt. Das Spin-System wird angeregt.

Die für die Magnetresonanz notwendige Frequenz des gepulsten Radiosignals, die exakt der Larmorfrequenz entspricht (Kernresonanz), wird durch die Magnetfeldstärke und die zu untersuchende Kernart (meistens Wasserstoff) bestimmt.

Durch eine bestimmte Leistung und Dauer des Hochfrequenzpulses kann eine Auslenkung um z. B. genau 90° erzielt werden (90° -Impuls), wodurch die Spins in die XY-Ebene umgekippt werden. Unter Einwirkung des Magnetfeldes beginnen sie wiederum zu präzedieren. Die Bewegung des magnetischen Summenvektors wirkt wie ein elektrischer Generator und induziert in der Empfangsspule eine Wechselspannung, das Magnetresonanz-Signal (89).

Das Ausschalten des Hochfrequenzfeldes resultiert in einem Zurückklappen der Kernspins in ihre Ausgangslage (Relaxation). Dabei wird die beim Übergang von einem höheren zu einem niedrigeren Energiezustand entstehende Energie registriert und als elektrisches Signal aufgezeichnet. Aus diesen Daten werden dann die digitalen Bilder rekonstruiert, wobei die Signalintensität der Stärke der registrierten Hochfrequenzwelle, die ein Gewebe nach seiner Anregung aussendet, entspricht.

Nach Abschalten des Hochfrequenzfeldes kommt es durch Spin - Gitter - Wechselwirkungen der Protonen mit den umliegenden Nichtwasserstoffatomen zu einer Relaxation (Längsrelaxation); das heißt, es findet ein exponentieller Zerfall mit der Längsrelaxationszeit T_1 dieses angeregten Energiezustandes statt, und es stellt sich das ursprüngliche Energieniveau wieder ein.

Nach der Veränderung des Besetzungszustandes vom niedrigeren zum höheren Energiezustand präzedieren die Kerne in Phase und erzeugen eine Quermagnetisierung, die ähnlich der Längsrelaxation durch Spin - Spin - Wechselwirkung mit benachbarten Wasserstoffatomen, das heißt durch Aufeinanderstoßen mit anderen magnetischen Kreisläufen, in der Querrelaxationszeit T_2 zerfällt. Die transversale Relaxationszeit beschreibt somit den Verlust an begleitender Phasenkohärenz zwischen den einzelnen Protonenspins direkt nach Einstrahlung des Hochfrequenzimpulses.

Die Relaxationszeiten sind Naturkonstanten und somit nicht veränderlich. Fett hat beispielsweise eine sehr kurze, Wasser eine längere T_2 -Relaxationszeit. Dies wird auf T_2 -gewichteten Bildern verdeutlicht, indem Fett leuchtend hell, Wasser deutlich dunkler erscheint.

Durch eine Folge von RF-Pulsen, einer sogenannten Pulssequenz, wird in einem Körper, der in einem starken Magneten liegt, also eine Vielzahl unterschiedlicher T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten betont, die den nötigen Bildkontrast liefern und deren Darstellung im Schnittbild Ziel der MR-Tomographie ist. In der klinischen Routine werden heutzutage die sogenannten Spin-Echo- (SE-) Sequenzen und Turbo-Spinecho- (TSE-) Sequenzen am häufigsten eingesetzt, wobei die T_1 -gewichteten Sequenzen eine gute anatomische Detailauflösung, die T_2 -gewichteten Sequenzen dagegen einen hohen Kontrast liefern.

2.2.1 Gradientenfelder

Um nur bestimmte Schnitte untersuchen zu können, wird das externe Magnetfeld B_0 zeitweise in einen inhomogenen Zustand versetzt, indem sogenannte Gradienten-Magnetfelder zugeschaltet werden. Dadurch werden die unterschiedlichen Körperschnitte entlang des Gradienten verschiedenen Magnetfeldstärken ausgesetzt. Es entstehen unterschiedliche Präzessionsfrequenzen, so dass mit der Wahl der Pulsfrequenz die Lokalisation des Schnittes bestimmt werden kann. Da die Gradientenfelder in den drei Raumebenen (x , y , z) angebracht sind, ist es außerdem möglich, durch Anlage der Gradientenfelder in jeder beliebigen Richtung alle möglichen Schnittebenen zu definieren, ohne den Patienten bewegen zu müssen.

Während der MRT werden zahlreiche Gradientenfelder verschiedener Frequenzen, unterschiedlicher Amplitude und variabler Dauer ein- und ausgeschaltet. Nach Faradays Gesetz der Induktion wird in jeder leitenden Materie, die dem zeitlich veränderlichen Gradientenfeld ausgesetzt ist, senkrecht zum Magnetfeld ein Strom erzeugt. Deshalb werden im Patienten durch das An- und Abschalten des Stromes innerhalb der drei orthogonal ausgerichteten Gradientenspulen zwei Effekte erzielt: Zum einen entstehen Gradienten-Magnetfelder, zum anderen aber auch elektrische Spannungen und Ströme innerhalb des Patienten. Die Höhe dieser Spannungen und Ströme kann durch den elektrischen Widerstand des Gewebes, das Kreuzen des Stromflusses und der Schaltzeit des Gradientenfeldes an sich beeinflusst werden. Daraus folgt, dass die Spannungen und Ströme nur während der Auf- und Abbewegung des Gradienten auftreten und mit größerer Amplitude zunehmen. Die maximal erreichbare Gradientenstärke ist konstruktiv begrenzt (69); konventionelle Geräte erreichen heutzutage Gradienten von 30 mT/m bis 60 mT/m (neurooptimierte MR-Tomographen). Dabei treten im peripheren Gewebe die höheren Flussdichten auf und nehmen zur Körpermitte hin linear ab.

2.3 Biologische Grundlagen der Regulation des Zellwachstums

2.3.1 Zellzyklus

Die Zelle ist der Grundbaustein des menschlichen Körpers. Eine der kennzeichnenden Eigenschaften einer Zelle ist ihre Fähigkeit zur Selbstvermehrung (88). Unter optimalen Wachstumsbedingungen befinden sich die Zellen in der exponentiellen Wachstumsphase. Beim Starten einer Zellkultur hingegen ist ein zögerndes Verhalten der Zellen zu beobachten, die sogenannte Lag-Phase.

Den Vorgang vom Entstehen zweier Zellen aus einer Mutterzelle bis zur erneuten Teilung der beiden Tochterzellen nennt man Zellzyklus. Er wird nach einer von A. Howard und S. R. Pelc (75) 1951 eingeführten Terminologie in vier Phasen, die Mitose und die dreigeteilte Interphase (S-, G₁- und G₂-Phase), gegliedert (Abb. 1).

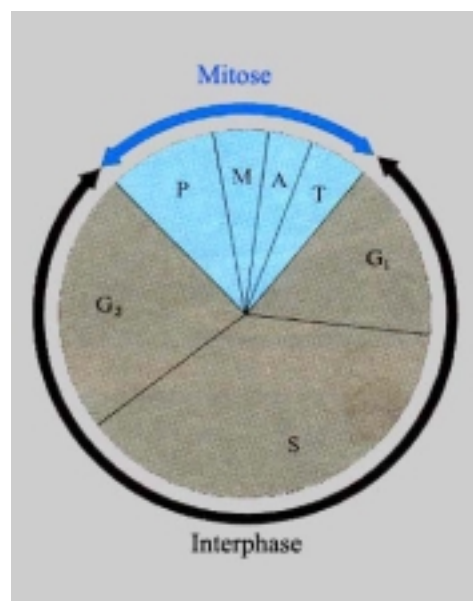


Abb. 1: Der Zellzyklus

P = Prophase; M = Metaphase; A = Anaphase; T = Telophase

2.3.1.1 Interphase

Den Zeitraum zwischen zwei Mitosen, in dem die Erbsubstanz als Chromatin vorliegt, nennt man Interphase. Es werden drei Interphase-Stadien unterschieden:

Die *G₁-Phase* (von engl. gap = Lücke, Pause) ist das präsynthetische Wachstumsstadium der Zelle. Die Tochterzellen wachsen zur Größe der Mutterzelle heran und

synthetisieren RNA, Histone, Enzyme und andere Proteine. Dieses Stadium ist in seiner Dauer am variabelsten.

In der *S-Phase* (Synthesephase) wird die Erbsubstanz verdoppelt (DNA-Replikation), und es werden zwei einander gleiche Chromatiden aufgebaut. Diese Phase weist die höchste Empfindlichkeit gegenüber äußeren Störfaktoren auf.

Die *G₂-Phase* ist ein Zeitraum ohne Synthese, sie beginnt nach Verdopplung der Erbsubstanz und reicht bis zum Beginn der Prophase. In dieser Phase können bei fehlerhafter DNA Reparaturmechanismen in Gang gesetzt werden.

Außerdem gibt es ein Kontrollsystem der Zelle, das an zwei Restriktionspunkten den Zellzyklus steuert. An dem ersten zwischen G₁-Phase und S-Phase, bei dessen Überschreitung die Zellen zur neuen Replikationsrunde programmiert sind, wird zwischen Progression im Zellzyklus (in die S-Phase), temporärem Verharren in G₁, Quieszenz, Differenzierung (Wechsel in G₀), Seneszenz (Zellalterung) und Apoptose (programmierter Zelltod) entschieden. Die andere Regulationsstelle liegt in G₂. Hier binden mitotische Cycline, die aber auch an anderen Stellen des Zyklus regulatorisch eingreifen, an einen Komplex mit cyclinabhängigen Proteinkinasen (CDK) und lösen die Mitose aus (88).

Zellen, die ihre Teilungsaktivität aufgrund erschöpfter Nahrungsquelle, Akkumulation hemmender Stoffwechselprodukte oder zu hoher Zelldichte (88) eingestellt haben, wie beispielsweise ausdifferenzierte Nervenzellen, nennt man Dauergewebszellen; sie treten von der G₁-Phase ohne Synthese in die stabile G₀-Phase (stationäre Phase) über, in der sie dann ohne Teilung ständig bleiben. Teilweise können Zellen aus der G₀-Phase in die G₁-Phase zurückgelangen (88).

2.3.1.2 Mitose

Die auf den ganzen Zyklus bezogen relativ kurz dauernde Mitose samt Zellteilung wird als M-Phase bezeichnet (88).

Der Mitosevorgang ist in Prophase, Metaphase, Anaphase und Telophase gegliedert (Abb. 1) und sichert die gleichmäßige Aufteilung der Chromatiden auf die beiden Tochterkerne, indem die Chromosomen zuerst kondensieren und sich in der Äquatorialebene anordnen, dann von der Zellspindel in zwei Chromatiden getrennt und in zwei Tochterzellen mit identischem DNA-Gehalt aufgeteilt werden.

3 Material und Methoden

3.1 Zellen und Methoden der Zellkultur

3.1.1 Die Zellen

Für alle beschriebenen Experimente wurden humane, fetale, diploide Lungenfibroblasten (HFL 1; CCL-137) verwendet, die von der American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA) erworben wurden.

Gelagert wurden die tiefgefrorenen Zellen in Ampullen auf flüssigem Stickstoff bei -96 °C in Passage 13 und mit einer CPD (cumulative population doubling) von circa 25. Die Zellen wurden für jeden Zellansatz neu aufgetaut und im standardisierten Brutschrank (s. u.) 12 bis 14 Tage lang kultiviert (zwei Passagen), bis sie in Passage 15 für den Versuch verwendet werden konnten. Es wurden ausschließlich Zellen mit einer Anwachsrate von mindestens 80 % eingesetzt. Kontaminationen durch Mykoplasmen konnten durch Kontrollen mithilfe des DAPI-Tests vermieden werden (s. u.).

3.1.1.1 DAPI-Test

Bei mikroskopischem bzw. makroskopischem Verdacht auf bakterielle oder Pilz-Kontamination wurde die Probe verworfen. Mithilfe der DAPI-Routinefärbung können Zellen auf Verunreinigungen durch Mykoplasmen untersucht werden.

Hierzu wurden 40 000 Zellen in einer 6-Loch-Makroplatte (Falcon, Kat.-Nr. 3046) unter Verwendung steriler Deckgläser mit 2 ml Medium für 2 Tage im Brutschrank kultiviert. Anschließend wurde das Medium abgesaugt, die Zellen mit PBS gewaschen und mit DAPI-Methanol-Lösung (Konzentration $0,5\ \mu\text{g/ml}$, Serva, Heidelberg) 15 - 20 min lang im Brutschrank inkubiert. Danach wurden die Zellen mit Methanol und PBS gewaschen und in Medium eingebettet.

Das Prinzip des Testes beruht auf der Komplexbildung von DAPI (4,6-Diamidinophenylindol) mit doppelsträngiger DNA; dieser Komplex erscheint unter UV-Licht als blau leuchtende Punkte und stellt die im Zytoplasma befindliche Mykoplasmen-DNA dar.

3.1.2 Material und Methoden der Zellkultur

Die Kultivierung der Zellen erfolgte im Zellkulturmedium DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) von Gibco-BRL (Eggenstein-Leopoldshaven, Kat.-Nr. 41965), das mit 10 Vol.-% fetalem Kälberserum (FCS), 1 Vol.-% Antibiotikallösung (Penicillin und Streptomycin; BiochromKG seromed®, Berlin) und 1 Vol.-% L-Glutamin (Gibco-BRL, Eggenstein-Leopoldshaven, Kat.-Nr. 25030) ergänzt wurde. Das Kulturmedium dient der Zufuhr von Nährstoffen sowie Neutralisierung der Abfallprodukte über Puffersysteme.

Das FCS (Roche, Bestell-Nr. 210471) enthält die notwendigen Wachstumsfaktoren (88) in Form von wachstumsstimulierenden Hormonen (Schilddrüsenhormone, Insulin, Cortisol) und Vitamine (54, 103), womit ein regelhaftes Zellwachstum ermöglicht wird. Es wurde bei - 20 °C eingefroren und für jedes neue Medium frisch aufgetaut.

Die Antibiotikallösung beinhaltet 10 000 µg Streptomycin pro ml und 10 000 I.E. Penicillin G pro ml. Die Kombination wurde bei - 20 °C in Monovetten eingefroren und ebenfalls für jedes neue Medium frisch aufgetaut.

Da die essentielle Aminosäure Glutamin bei 37 °C schneller als die anderen Aminosäuren abgebaut wird (103), muss sie dem Medium als 1 %iges L-Glutamin beigemischt werden. Es wurde analog zu den anderen Zusätzen in Aliquots bei - 20 °C gelagert und zum Ansetzen eines neuen Mediums frisch aufgetaut.

Ein Medienwechsel wurde zweimal wöchentlich durchgeführt, um die Konzentration von Zellabfallprodukten bzw. Zellgiften (z. B. Ammoniak, dem Abbauprodukt der Aminosäuren), die das Zellwachstum beeinträchtigen können, gering zu halten. Der pH-Wert diente hierbei als Indikator für den Verbrauch des Mediums, bei Alkalisierung verfärbt sich das Medium violett, bei Azidität orange.

Zuvor wurden die Zellen unter dem Durchlichtmikroskop (Axiovert 25, Zeiss) auf Kontaminationen, degenerative Veränderungen und Zelldichte inspiziert.

Die Zellen wurden einmal in der Woche passagiert (subkultiviert), um eine Zellkonfluenz zu verhindern, welche die Medienkapazität überschreiten und das Zellwachstum hemmen kann (Kontaktinhibition) (88). Dadurch wurde eine CPD (Cumulative Population Doubling) von 30 - 35 der Zellen für das Experiment erreicht, die folgendermaßen berechnet wird:

$$PD = (\ln \text{ geerntete Zellen} - \ln \text{ ausgesäte Zellen}) / \ln 2$$

und

$$\text{CPD}_{\text{neu}} = \text{CPD}_{\text{alt}} + \text{PD},$$

wobei die PD (Population Doubling) ein Maß für die Anzahl der Zellverdopplungen darstellt und so Wachstumsdifferenzen zwischen den dem Magnetfeld exponierten Zellen und der Kontrollgruppe aufzeigen kann. Die CPD stellt somit einen Verlaufparameter für das Zellwachstum dar.

Zellgruppen innerhalb eines Versuches, beispielsweise Befeldungs- und Kontroll-Kulturen wurden derselben Kulturflasche entnommen. Die Zellen aller einzelnen Versuche variierten um nicht mehr als zwei Passagen, die CPD lag immer zwischen 30 und 35.

Alle Arbeitsschritte mit den Zellkulturen (z. B. Medienwechsel, Passagieren) erfolgten unter sterilen Bedingungen einer Laminar-Flow-Sterilbank (BDK Luft- und Reinraumtechnik GmbH, Sonnenbühl-Genkingen), die zusätzlich mit UV-Licht (Einwirkzeit 1 h) und 70 %igem Alkohol sterilisiert wurde.

In der Phase vor den Befeldungen wurden die Zellen alle im gleichen Brutschrank (Heraeus, Osterode) bei 37 °C, 7 % CO₂ und > 98 % Luftfeuchtigkeit aufbewahrt, um standardisierte Umgebungsbedingungen zu gewährleisten.

Zur Kultivierung wurden während der ganzen Versuchszeit Zellkulturflaschen (25 cm² bzw. 75 cm²) mit gasdurchlässigem Filterverschluss (Typ 353109, Falcon, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) verwendet, um einen optimalen Gasaustausch zu ermöglichen.

3.2 Inkubationssystem

3.2.1 Anforderungen

Die Inkubationskammer hat zwei wesentliche Aspekte zu erfüllen:

Zum einen muss sie die Temperatur, Gasatmosphäre und Luftfeuchtigkeit wie in einem Brutschrank konstant halten und regulieren können, damit Magnetfeldeffekte weder maskiert noch vorgetäuscht werden. Zum anderen darf sie das magnetische Feld (praktisch) nicht beeinflussen, muss also idealerweise diamagnetisch sein.

Es wurde in einer Reihe von Experimenten ein Inkubationssystem entwickelt, das diese Kriterien erfüllt und während der Versuche verwendet wurde (Abb. 2).

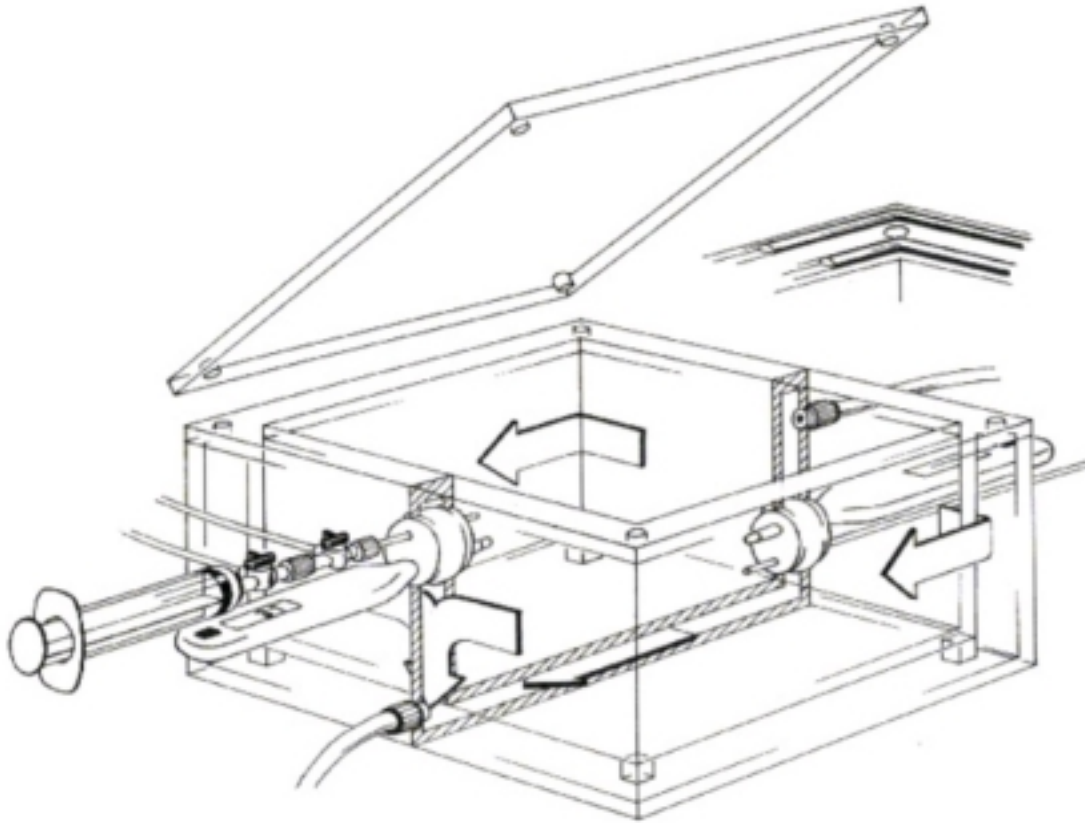


Abb. 2: Das Inkubationssystem

3.2.2 Material

Um den Zellen auch während der Befeldung eine ähnlich konstante Umgebung wie im Brutschrank zu garantieren, wurden zwei spezielle Inkubationskästen aus Polymethylmethacrylat (Plexiglas®, Keim Kunststoffe, Zimmern) gebaut. Die Suszeptibilität χ_m ist ein Maß für die Magnetisierbarkeit von Stoffen. Das diamagnetische Plexiglas® hat eine ähnlich geringe Suszeptibilität (χ_m zwischen $2,2$ und $3,2 \cdot 10^{-6}$) wie Luft ($\chi_m = 0,35 \cdot 10^{-6}$ bei 20 °C), das Produkt aus der Induktionskonstanten μ_0 und der relativen Suszeptibilität μ_{rel} ist nur wenig größer als 1 und ändert so die magnetische Flussdichte B praktisch nicht (156). Dies ergibt sich aus folgender Gleichung (181):

$$B = \mu_{\text{rel}} \cdot \mu_0 \cdot H,$$

wobei

B = magnetische Flussdichte

μ_{rel} = relative Permeabilität

μ_0 = Induktionskonstante = $1256 \cdot 10^{-6}$ Vs/Am

H = magnetische Feldstärke

3.2.3 Maße

Die Größe der Inkubationskammer wurde dem Kugeldurchmesser des homogenen Feldes von 36 cm des offenen Magnetresonanztomographen Magnetom Open angepasst und misst 35 cm x 33 cm x 15,3 cm.

Der nutzbare Innenraum beträgt 27 cm x 25 cm x 10 cm; somit ist an jedem Punkt der Inkubationskammer ein homogenes Magnetfeld gewährleistet. Die maximale Bestückung betrug dadurch $4 \times 4 = 16$ Zellkulturflaschen (je 70 ml, nutzbare Kulturfläche = 25 cm^2 je Flasche).

3.2.4 Funktionalität

Zwei Verbindungen zum Innenraum an Vorder- und Rückseite des Kastens ermöglichen das Einbringen verschiedener Sonden (Thermometer, Gasanschlüsse, Hygrometer); die entstandenen Durchgänge wurden anschließend mit Knetmasse (Weible, Schorndorf) abgedichtet.

3.2.5 Gasatmosphäre

Kohlenstoffdioxid ist an der Regulation des pH-Wertes in Form eines Natriumbikarbonat-Puffers in den Kulturmedien beteiligt. Es verhindert eine Alkalisierung des Kulturmediums und der Zellen. Durch den atmosphärischen Partialdruck und die Temperatur wird die Konzentration des gelösten Kohlenstoffdioxid bestimmt. Hier fungiert CO_2 als Säure, die korrespondierende Base bildet Hydrogenkarbonat (HCO_3^-). Die beiden Stoffe stehen im Gleichgewicht, worin sie über die Stufe der Kohlensäure (H_2CO_3) ineinander übergehen können:



Kann viel CO_2 der Lösung entweichen, verschiebt sich das Gleichgewicht gemäß der Formel nach links, da der Partialdruck von CO_2 sinkt. Die Konzentration der gebildeten Protonen nimmt ab, weil sie vermehrt an das Hydrogenkarbonat gebunden werden. Da-

durch verlagert sich der pH-Wert der Lösung ins Alkalische. Umgekehrt wird die Lösung sauer, wenn der Partialdruck des CO₂ steigt, also vermehrt Protonen entstehen und das Gleichgewicht nach rechts verschoben wird.

Nach der Henderson-Hasselbalch-Gleichung kann der pH-Wert in Abhängigkeit von der CO₂-Konzentration berechnet werden:

$$pH = pK_s + \log \frac{[HCO_3^-]}{S \cdot pCO_2}$$

mit

pK_s = negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante von Hydrogencarbonat

[HCO₃⁻] = Hydrogencarbonatkonzentration im Medium

pCO₂ = Partialdruck des CO₂

S = molarer Löslichkeitskoeffizient für CO₂

Der molare Löslichkeitskoeffizient für CO₂ beträgt bei 37 °C etwa 0,072 mmol/l/mmHg; das heißt, es lösen sich bei 37 °C und einem Partialdruck von 1 mmHg in 1 l wässriger Flüssigkeit etwa 0,072 mmol CO₂. Abweichungen ins Saure ergeben sich im wesentlichen durch das Entstehen saurer Valenzen aus dem Zellstoffwechsel.

CO₂ wird jedoch auch in hydrogenkarbonatfreier Umgebung benötigt, da die komplette Elimination von CO₂ bzw. HCO₃⁻ limitierend auf das Zellwachstum wirkt (54).

Die Menge des für die Zellkulturen benötigten CO₂ konnte durch die Henderson-Hasselbalch-Gleichung bestimmt werden (ca. 300 ml). Das errechnete Volumen wurde aus einer CO₂-Druckflasche über eine angeschlossene Perfusorspritze (Braun, Melsungen) in die gasdicht verschließbaren Kästen insouffliert, indem das Gas über eine Schleuse (5F, Cordis, Haan) und einen Drei-Wege-Hahn (Codan, Espergærde, Dänemark) geführt wird (siehe Abb. 3). In dem während der gesamten Expositionsdauer an einen Anästhesie-Monitor (HP M1025A, Hewlett Packard, Böblingen) angeschlossenen System wurde der CO₂-Gehalt in der Gasphase dieses geschlossenen Gaskreislaufes kontrolliert und auf 6 % ± 0,3 konstantgehalten.

3.2.6 Temperaturhomöostase

Das Temperaturoptimum der Zellkulturen hängt von der Spezies ab, von der sie stammen (54). Insgesamt werden Temperaturen über 39,5 °C von Zellen nur sehr schlecht toleriert, wobei die Temperaturkonstanz ein bedeutenderer Faktor ist als das exakte Einhalten einer bestimmten Temperatur. Niedrigere Temperaturen fördern die CO₂-Löslichkeit, wodurch eine pH-Verschiebung ins Saure resultiert (54).

Die Regulation der Temperatur erfolgte über einen Wasserkreislauf. Hierbei wurde das Wasser durch ein außerhalb des Magnetfeldes stehendes, wärmereregulierbares Wasserbad (Typ 1012, Fisher Scientific, Niederau) auf 38,5 °C erwärmt und über eine Kreiselpumpe (Typ KrP 1034, Vetter, Ammerbuch) mit einer konstanten Flussrate von ca. 36 l/min gepumpt, so dass in den Kästen eine Temperaturhomöostase von 37 °C ± 0,3 entstand. Durch ein Y-Stück mit der Pumpe verbunden, führten jeweils 5 m lange, wärmeisolierte Schläuche zu zwei baugleichen Inkubationskammern. Durch zwei gegenläufige Schläuche gelangte das Wasser wieder zurück ins Wasserbad (siehe Abb. 3). Die Länge der Schläuche gewährleistete die Unterbringung des Kontrollkastens und des Wasserbades außerhalb des Magnetfeldes. Um einer Wärmeabgabe vorzubeugen, sind sie von Wärmeisulationsmaterial umgeben, so dass sich die Temperatur von 37,0 °C ± 0,3 konstant hielt. Die Möglichkeit zur Erwärmung der Kammern ist durch deren doppelbodige und -wandige Bauweise gegeben. Vorexperimente zeigten, dass die Temperaturen zwischen Kontroll- und Magnetfeldkasten um maximal 0,1 °C differierten.

Die direkte Temperaturmessung in den Inkubationskammern während der Versuche erfolgte durch zwei digitale Fieberthermometer (Hartmann, Heidenheim) im Kontrollkasten, die mit der Messspitze im Kammerinneren, mit der Aktivierungstaste außerhalb der Kammer, angebracht waren (Abb. 3).

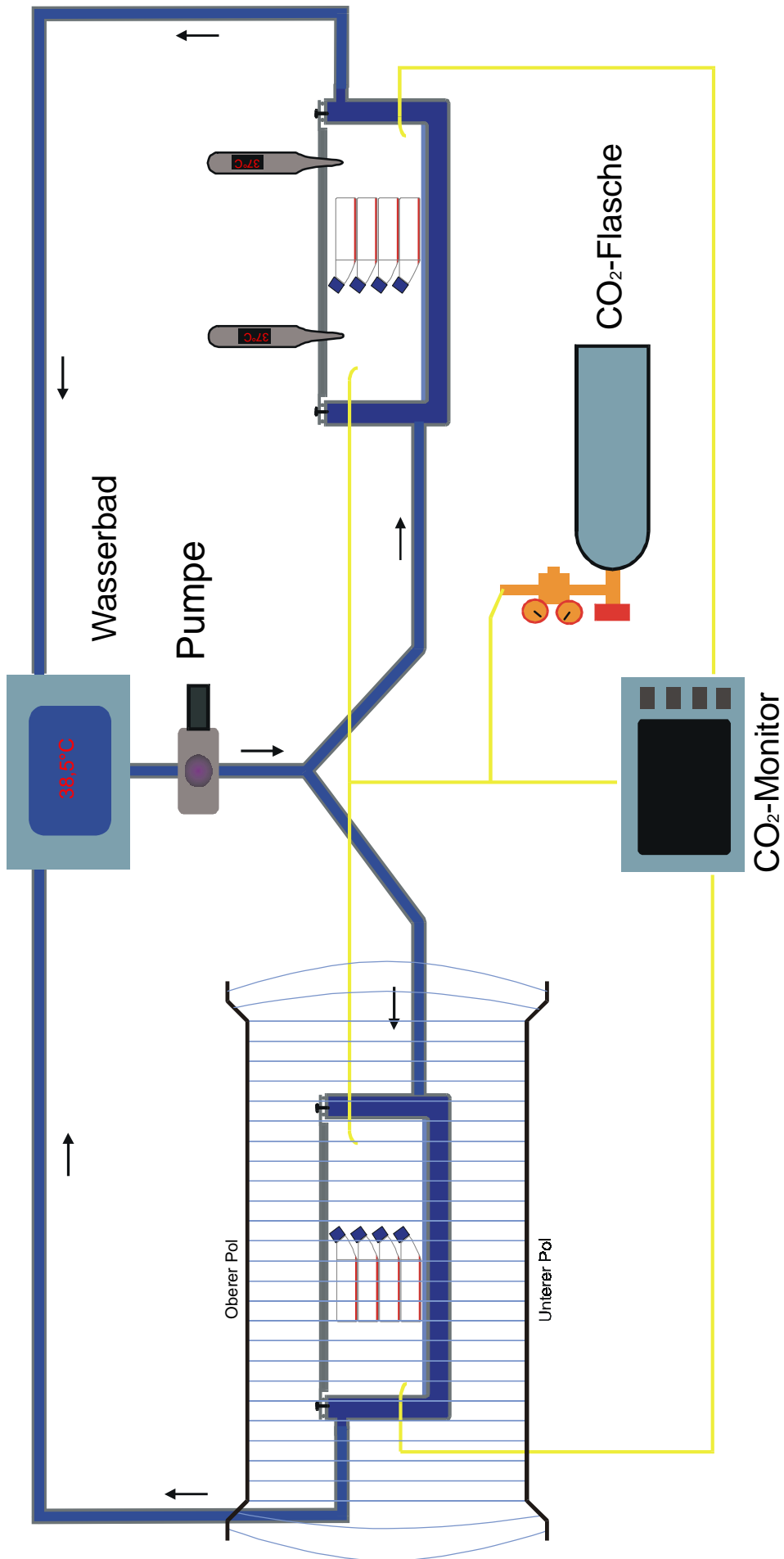


Abb. 1: Die Umgebungskontrolle der Zellkulturen.
Die Wasserwege sind blau, die Kohlenstoffdioxidleitungen gelb dargestellt.

3.2.7 Luftfeuchtigkeit

Im Brutschrank herrscht eine Luftfeuchtigkeit von $> 98 \%$, um ein Austrocknen der Zellkulturen zu verhindern. Dieser Wert stellt sich innerhalb weniger Minuten in den Inkubationskammern, deren Kammerböden mit Wasser bedeckt wurden, von selbst ein. Die Kulturflaschen wurden auf zwei Holzstäbchen oberhalb des Wasserspiegels platziert.

3.3 Methode der Magnetfeldexposition

Die Kontrollen wurden exakt in gleicher Weise behandelt wie die befeldeten Zellen, ausgenommen der Platzierung der Inkubationskammer. Die baugleiche Inkubationskammer der Kontrollkulturen befand sich außerhalb des Magnetfeldes im Kontrollraum des Magnetresonanztomographen mit einer magnetischen Restbelastung von maximal $0,05 \text{ mT}$. Nach Einstellung der gewünschten Temperatur in den Kästen ($37 \text{ }^\circ\text{C}$) wurden die Proben in den Inkubationskammern zentral positioniert, um eine möglichst homogene Magnetfeldexposition aller Proben zu gewährleisten. Die Kammern wurden dann mit den Plexiglas®-Deckeln luftdicht verschlossen, so dass das CO_2 insouffliert werden konnte. Letztendlich wurde der Expositionskasten in das Isozentrum des Magnetresonanztomographen gestellt, während der Kontrollkasten im Kontrollraum blieb.

3.3.1 Magnetresonanztomograph

Alle Experimente erfolgten an einem MR-Gerät (Magnetom Open, Siemens, Erlangen) der Radiologischen Klinik, Abteilung Radiologische Diagnostik, der Eberhard-Karls-Universität Tübingen. Dieses Gerät besitzt einen resistiven Magneten und eignete sich daher besonders gut für die Versuchsreihen, da sich das statische Magnetfeld abschalten lässt. Die elektromagnetischen Einflüsse des Gradientensystems konnten so isoliert untersucht werden.

Magnetfeldstärke des statischen Magnetfeldes B_0 : $0,2 \text{ mT}$

Kugeldurchmesser des homogenen Magnetfeldes: 36 cm

Restmagnetfeld: $< 0,05 \text{ mT}$

3.3.1.1 Aufbau des MR-Tomographen

Das Magnetom Open besitzt einen C-förmigen, nach vorne offenen Eisenmagneten, der vor allem zur Bildgebung während kleiner Eingriffe geeignet ist. Die von Antriebsspulen (aus Kupfer- oder Aluminiumdraht) zugeführte elektrische Energie wird in Wärme umgesetzt und durch ein Wasser-Kühlsystem abtransportiert. Der Magnet erzeugt ein homogenes Magnetfeld der Feldstärke 0,2 T.

Mit dem Gradientensystem, das aus je drei planaren, orthogonal ausgerichteten Gradientenspulen im oberen und unteren Magneten und dem Gradientenverstärker besteht, kann eine bestimmte Schichtposition selektiert werden. Die dabei entstehenden Feldgradienten von etwa von 5 - 10 mT/m dienen der lokalen Veränderung der Magnetfeldstärke, die eine örtliche Zuordnung empfangener Signale ermöglicht.

Die RF-Antennen (Spulen) gliedern sich in Sende- und Empfangsspulen. Sie sollen ein rotierendes Magnetfeld quer zur Längsrichtung des Magneten (x-Achse) erzeugen und detektieren, damit alle Spins der Wasserstoffprotonen die gleiche Anregung von den Sendespulen erfahren.

3.3.2 Befeldungen

Die ersten Versuche dienten der Langzeitbefeldung von 8 h, 16 h und 24 h bei einem Gradientenfeld mit konstanter Frequenz von 75 Hz.

Der zweite Versuchsteil beinhaltete Gradientenbefeldungen verschiedener Frequenzen, nämlich 50 Hz, 60 Hz, 70 Hz, 80 Hz, 90 Hz und 100 Hz, jeweils zweistündig.

Das statische Magnetfeld und das Hochfrequenzfeld blieben während aller Versuche ausgeschaltet. Die in z-Richtung applizierten Magnetfeldgradienten wiesen eine trapezoide Wellenform und eine maximale Amplitude von 10 mT auf (Abb. 4 und 5).

Die Zellen wurden in Zellkulturflaschen innerhalb der Inkubationskammer an den Rand des homogenen Magnetfeldes platziert (20 cm vom Isozentrum), um einen Gradienten von $2 \text{ mT/m} \pm 0,25$ zu erzielen (Abb. 6).

Bei allen Versuchen wurde die maximale Anzahl an Zellkulturflaschen eingesetzt, d. h. 16 Zellkulturflaschen in jeder Inkubationskammer. Den limitierenden Faktor stellen hierbei die Breite und Höhe der Inkubationskammer dar. Diese hohe Anzahl an Proben ermöglichte uns eine aussagekräftige statistische Analyse mit dem U-Test nach Mann-Whitney-Wilcoxon.

Die Zellen wurden direkt nach der Befeldung für die Durchflusszytometrie aufbereitet, um kurzfristige Magnetfeldeffekte erkennen zu können.

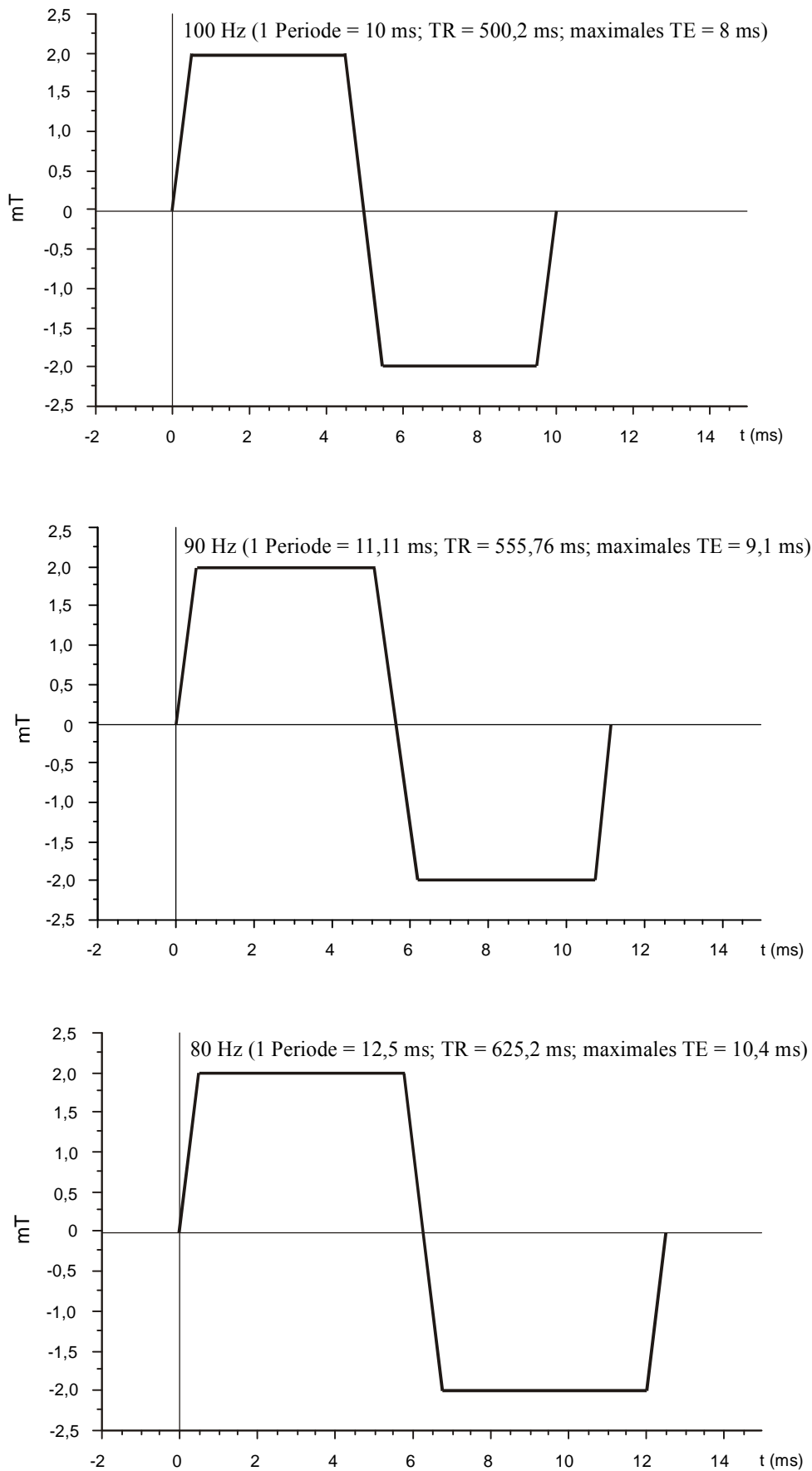


Abb. 4: Wellenformen der Magnetfeldgradienten bei 100 Hz, 90 Hz und 80 Hz; TR = time to repetition (Repetitionszeit); TE = time to echo (Ausleseverzögerung)

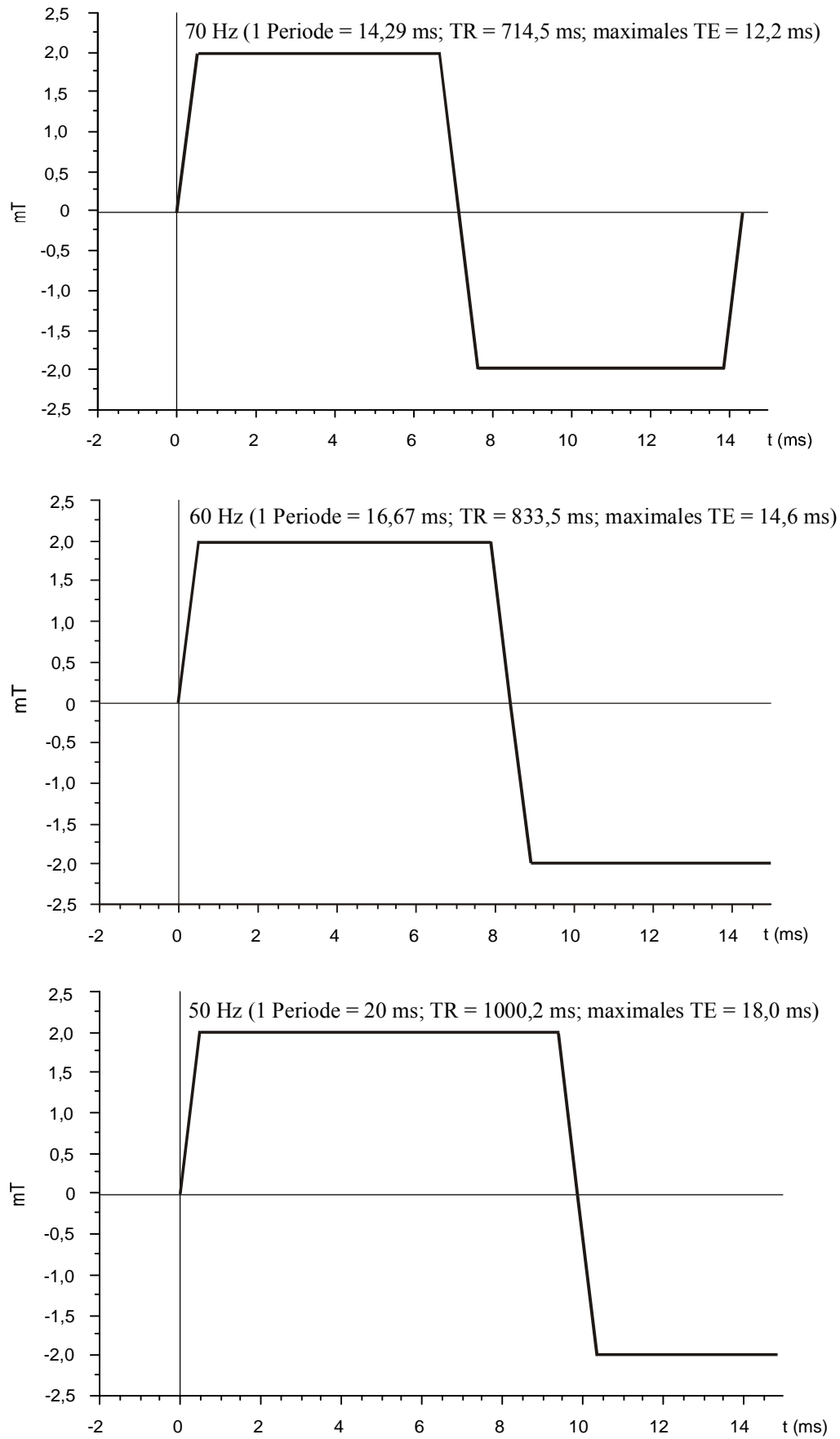


Abb. 5: Wellenformen der Magnetfeldgradienten bei 70 Hz, 60 Hz und 50 Hz
TR = time to repetition (Repetitionszeit); TE = time to echo (Ausleseverzögerung)

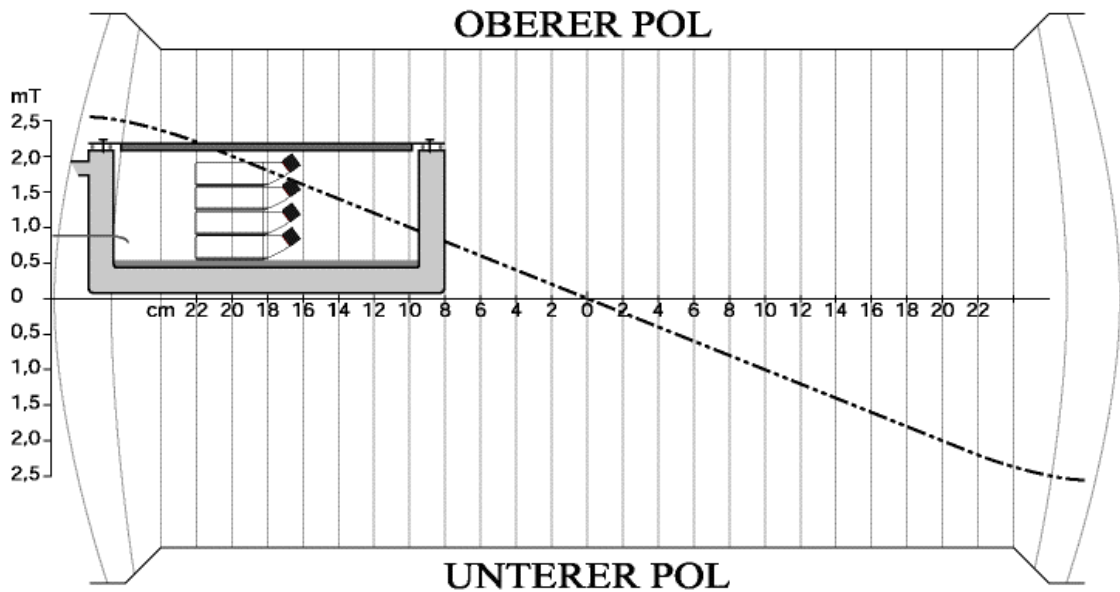


Abb. 6: Platzierung der Zellkulturen innerhalb des Magnetom Open. Die gepunktete Linie stellt die Gradienten-Amplitude in Abhängigkeit von der Entfernung zum Isozentrum dar.

3.4 Zellversuch

3.4.1 Zellansatz

Für den Zellversuch wurden 200 000 Zellen mit Hilfe der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer unter dem Durchlichtmikroskop (Axiovert 25, Zeiss) ausgezählt, indem die Zellzahl zweier Diagonalen (32 Kleinquadrate) bestimmt wurde. Die Zellzahl konnte dabei folgendermaßen berechnet werden:

Ausgezählte Zellzahl von 2 Diagonalen x 2500 (Kammerfaktor) = Zellzahl in 1 ml.

Mit 5 ml Kulturmedium wurden die Zellen in einer 25 cm² Zellkulturflasche angesetzt und ohne Medienwechsel nach zwei Tagen dem Magnetfeld ausgesetzt. Zu diesem Zeitpunkt sollte der maximale Effekt auf das Wachstum der Kulturen durch Magnetfeldeinflüsse zu erwarten sein, da sich die subkonfluenten Kulturen in der maximalen Wachstumsphase befanden.

3.4.2 Material und Methoden der Zellaufbereitung

Nach der Befeldung wurden die Flaschen mit je 10 µl BrdU (10 mM) versehen, so erhielt man eine Endkonzentration von 20 µM in den Kulturflaschen. Daraufhin wurden die Proben für 30 min in den Brutschrank gestellt.

Danach wurden die als Monolayer am Flaschenboden haftenden Zellen mit Hilfe des Enzyms Trypsin gelöst. Die Trypsin/EDTA-Lösung (Gibco-BRL, Eggenstein-Leopoldshaven, Kat.-Nr. 45300) setzt sich aus 0,5 g/l Trypsin und 0,2 g/l EDTA in Pucks Salzlösung A zusammen. Durch Trypsin werden die Adhäsionsmoleküle der Zellen enzymatisch angedaut, so dass die Zellen in Lösung kommen und subkultiviert werden können (54). Eine Überschreitung der Einwirkzeit von 2 - 3 min ist zu vermeiden, da sonst die Zellmembran der HFL vom Enzym geschädigt werden kann. Durch die Zugabe von 5 ml Kulturmedium wird die Aktivität des Trypsins durch den Serumzusatz antagonisiert.

Um eine Wirkungsabschwächung von Trypsin durch Medienreste zu vermeiden (54), wurden diese vor dem Passagieren durch Waschen mit phosphatgepufferter Salzlösung („Phosphate-Buffered Saline“ = PBS) entfernt. Verwendet wurde hierzu Dulbeccos PBS ohne Ca^{2+} , Mg^{2+} (Gibco-BRL, Eggenstein-Leopoldshaven, Kat.-Nr. 14190).

Anschließend wurden die Zellen mehrmals resuspendiert, um im gegebenen Volumen eine einheitliche Zellzahl zu erreichen. Danach in PP-Röhrchen (15 ml, Greiner Labortechnik, Frickenhausen) pipettiert und 2 min lang bei 200 g zentrifugiert (Typ Hettich Rotixa/RP, Bäch, Schweiz). Der entstandene Überstand wurde abgesaugt, das Zell-Pellet mit 200 µl Puffer PBS gewaschen und dann erneut zentrifugiert. Nach Absaugen des Überstands wurden die Zellen in 200 µl 70 %igen Ethanol resuspendiert und fixiert. Bis zur durchflusszytometrischen Auswertung wurden die Proben für maximal vier Wochen bei - 20 °C gelagert.

Die Aufbereitung der Zellen wurde grundsätzlich von denselben zwei Personen durchgeführt, so dass der Zeitfaktor durch paralleles Arbeiten minimiert werden konnte. Dabei wurde jeweils parallel eine MR-Probe und eine Kontroll-Probe aufbereitet, wobei jede Person abwechselnd eine MR-Probe und eine Kontroll-Probe bearbeitete, um systematische Aufarbeitungsfehler zu vermeiden.

3.4.3 Zellzyklusanalyse und DNA-Gehalt

Als Maß für die Proliferation wurde in der vorliegenden Studie der Zellgehalt in den einzelnen Zellzyklusphasen, der letztendlich die DNA-Syntheserate (S-Phase) veranschaulicht, gewählt.

3.4.3.1 Prinzip der Durchflusszytometrie

Bereits 1975 wurde die Durchflusszytometrie im wesentlichen von Crissman et al. (38) entwickelt. Diese Methode beruht auf dem Prinzip der Fluoreszenz, einer Eigenschaft chemischer Verbindungen, nach Anregung auf ein höheres Energieniveau wieder auf das ursprüngliche Grundniveau überzugehen und die freiwerdende Energie in Form von Licht auszusenden.

Wird Kulturen im Überschuss stark lichtempfindliches Bromdeoxyuridin (BrdU) (158), ein Thymidinanalogon, angeboten, dann wird es in der S-Phase anstelle von Thymidin in die DNA eingebaut. Mit einem spezifisch gegen BrdU gerichteten Antikörper und einem zweiten fluoreszenzmarkierten Antikörper, der gegen den ersten Anti-BrdU-AK spezifisch ist, können BrdU-markierte DNA enthaltende Zellen bzw. Zellkerne sowohl qualitativ als auch quantitativ einzeln detektiert werden. Die Zellkerne werden in einer Kapillare einzeln an einem Laser, welcher den Fluoreszenzfarbstoff anregt, vorbeigeführt. Das im Rahmen der Fluoreszenz emittierte Licht wird über einen Bandenfilter getrennt und von verschiedenen Photodetektoren gemessen. Jede einzelne Zelle wird je nach Höhe der Lichtemission einer Phase des Zellzyklus (G_1 -, S-, G_2 -/M-Phase) zugeordnet. (42, 43, 63, 64)

3.4.3.2 Material und Methoden der Durchflusszytometrie

Vor der FACS- (Fluorescence-Activated Cell Sorter-) Analyse wurden die Zellen zuerst mit 3 ml PBS resuspendiert und gewaschen, dann mit 375 g über 3 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen.

Bei der folgenden Aufarbeitung der Zellen wurden sie nach jeder Zugabe von Lösungen oder Antikörpern mit Hilfe eines Vortex (Reax 2000, Heidolph, Kehlheim) erneut vereinzel.

Zunächst wurden die Zellen mit 1 ml RNase A (Stammlösung 1 mg/ml (Sigma) 1:10 mit PBS verdünnt = 0,1 mg/ml) 10 min im Wasserbad bei 37 °C inkubiert, um die RNA

zu entfernen, da Propidiumjodid in doppelsträngige RNA und DNA gleichermaßen eingebaut wird, und somit die DNA-Messwerte verfälscht werden können. Nach Waschen mit PBS und 6-minütiger Zentrifugation wurde 1 ml Pepsin (Stammlösung 0,5 g Pepsin mit einer Konzentration von 70 FIP-Units/g in 1N HCl (Merck, Darmstadt) auf 95 ml destilliertes Wasser) hinzugefügt, um die Zellwände anzudauen und zytoplasmatische Proteine zu entfernen, da sie zu unspezifischen Antikörperbindungen und somit falschen Messergebnissen führen können (133). Um die Lyse der isolierten Zellkerne zu verhindern, wird die enzymatische Aktivität des Pepsins durch Lagerung auf Eis gestoppt. Nach 5 Minuten wurde erneut mit 3 ml PBS gewaschen und bei 4 °C zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Denaturierung der DNA durch Inkubation in 1 ml 2 N HCl bei Raumtemperatur über 10 Minuten. Dadurch wird die Bindung des Anti-BrdU-Antikörper ermöglicht. Nach jeweils zweimaligem Waschen mit jeweils 3 ml PBS und Zentrifugieren wurden die Zellen mit 2 ml PBS, das mit 1 %igem BSA (Albumin-Fraktion V, Serva, Heidelberg) angereichert worden war, gewaschen und zentrifugiert. Damit wurde die Stabilität der AK-Bindungen und die Spezifität der Antikörper erhöht. Dann wurde der erste Antikörper, ein monoklonaler Maus-IgG-Antikörper, der das in die DNA eingebaute BrdU markiert, (200 µl PBS/BSA + 3 µl Anti-BrdU (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) pro Röhrchen) hinzupipettiert und 30 min bei Raumtemperatur sowie unter Lichtabschluss inkubiert. Zur Kontrolle wurde bei einer Probe der erste Antikörper weggelassen. Nach erneutem Waschen mit 3 ml PBS/BSA (1 %) und Zentrifugieren wurde der zweite Antikörper, ein monoklonaler Kaninchen-IgG-Antikörper (200 µl PBS/BAS + 2 µl Rabbit-Anti-Mouse (Fa. Dako, Hamburg) pro Röhrchen) hinzugefügt und wieder 30 min bei Raumtemperatur und im Dunkeln gelagert. Der lichtempfindliche zweite Antikörper ist mit Fluoreszein-Isothiocyanat (FITC) versehen und kann den ersten Antikörper markieren. Nachdem die Zellen dann noch mit 500 µl Propidiumjodid-Lösung (Stammlösung 1 mg/ml 1:100 mit PBS oder PBS/BSA verdünnen) gewaschen und zentrifugiert worden waren, erfolgte die 15-minütige Inkubation je nach Anzahl der Zellkerne mit 200 - 500 µl Propidiumjodid-RNase (Propidiumjodid-Lösung mit RNase 1:50 verdünnt) bei 4 °C im Dunkeln, um mögliche doppelsträngige RNA zu entfernen.

3.4.3.3 FACS-Gerät

Die Durchflusszytometrie wurde mit einem Becton Dickinson FACSort-Gerät (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, Mountain View, Kalifornien, USA), das über

einen Argonlaser mit einer Wellenlänge von 488 nm verfügt (133), bei Wellenlängen von 530 nm (FITC) und 578 nm (Propidiumjodid) durchgeführt. Zur Kalkulation diente das Zellanalyseprogramm Cell-Quest 1.1™, womit 10^4 Zellkerne mit einer Flussgeschwindigkeit von 150 Kernen/s registriert werden konnten.

3.4.3.4 Auswertung

Die Lichtemission der Zellen wurde für beide Wellenlängen in einem Punktwolken-Diagramm dargestellt. Jeder Punkt repräsentiert eine Zelle und jede Zelle ist, abhängig von ihrer Lokalisation im Diagramm, einer Zellzyklusphase zugeordnet (Abb. 7). Die grüne BrdU-FITC-Fluoreszenz wird über einen 530/30 nm-Bandenfilter (d. h. $530 \text{ nm} \pm 15 \text{ nm}$) gesammelt und stellt auf der Ordinate die DNA-Syntheserate dar. Die rote Fluoreszenz des angeregten Propidiumjodid wird über einen 578/28 nm-Bandenfilter (d. h. $578 \text{ nm} \pm 14 \text{ nm}$) gebündelt und als relativer DNA-Gehalt einer Zelle auf der Abszisse aufgetragen. Damit kann jede Zelle beziehungsweise jeder Zellkern einer Mitosephase (G1-, S-, G2/M- Phase) zugeordnet und der Prozentsatz ihres Gehaltes in jeder Phase berechnet werden.

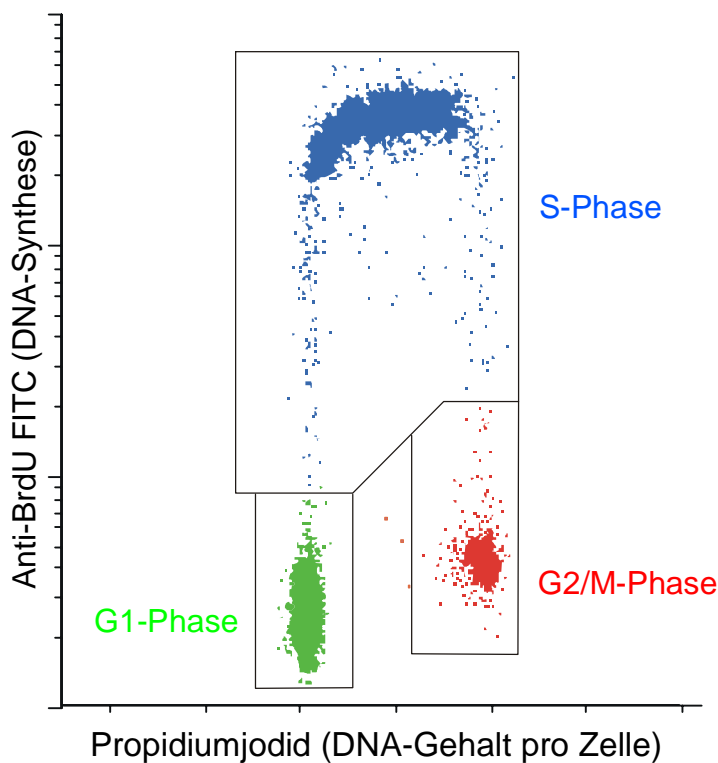


Abb. 7: Punktwolken-Diagramm einer FACS-Zellzyklusanalyse

3.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Analyseprogramms STATISTICA (Version 5, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA) erstellt.

Das Ziel war, mögliche Differenzen in der Zellzyklusverteilung zwischen exponierten Zellen und Kontrollzellen aufzuzeigen. Hierzu wurde der U-Test nach Mann-Whitney-Wilcoxon für unverbundene Stichproben angewendet. Aus den prozentualen Zellanteilen jeder der 16 Zellkulturen aus der einen Inkubationskammer in den drei Zyklusphasen wurde eine Rangsumme gebildet, die dann mit der Rangsumme der 16 Proben aus der anderen Inkubationskammer verglichen wurde. Die Nullhypothese (H_0) lautete: „MR- und Kontroll-Gruppen unterscheiden sich nicht.“ Eine Signifikanz wurde ab einem p-Wert von $\leq 0,05$ angenommen. In den Analysen wurden die Daten für jeden Versuch separat berücksichtigt.

4 Ergebnisse

Um zu erkennen, wie viele Zellen sich in welcher Phase des Zellzyklus befinden (Abb. 7) und damit Störungen der Zellteilung registrieren zu können, wurde die Durchflusszytometrie (vgl. 3.4.3) angewendet. Diese Methode erlaubt, die Zellen auf jegliche entstandene Störungen im Laufe der Zellteilung zu überprüfen.

Insgesamt haben wir folgende Experimente zur Zellzyklusverteilung durchgeführt:

- a) Langzeitversuche: 8 h; 75 Hz (2x)
16 h; 75 Hz
24 h; 75 Hz
- b) Frequenzabhängige
Versuche: 50 Hz; 2 h (2x)
60 Hz; 2 h
70 Hz; 2 h
80 Hz; 2 h
90 Hz; 2 h
100 Hz; 2 h

In jedem Experiment wurden jeweils 16 Kulturflaschen in beide Inkubationskästen gestellt und den einzelnen Expositionsbedingungen (s. o.) ausgesetzt. Direkt im Anschluss an die Magnetfeldexposition wurden die Zellen aufgearbeitet und konserviert (vgl. 3.4.2).

Die Daten wurden in sogenannten Whisker-Box-Graphiken dargestellt, in denen jeweils die waagrechte Linie den Median, der Kasten (Box) die Perzentilen 25 % - 75 % und die „Schnurrhaare“ (Whisker) die Perzentilen 1 % - 99 % jeweils ohne Ausreißer darstellen (Abb. 8 - 16).

Abb. 8 - 10 geben die Ergebnisse der durchgeführten Langzeitbefeldungen über eine Zeitdauer von 8 h, 16 h bzw. 24 h, Abb. 11 - 16 die Ergebnisse der frequenzabhängigen Versuchsreihe (50 Hz, 60 Hz, 70 Hz, 80 Hz, 90 Hz bzw. 100 Hz) wieder.

Auffällig ist in den frequenzabhängigen, zweistündigen Versuchen die im Vergleich zu den Versuchen mit Langzeitexposition hohe Anzahl der Zellen, die sich in der S-Phase

befinden (Abb. 11 - 16). Außerdem fällt das mit der Zeit systematische Abnehmen der Zellanteile in der S-Phase mit einem gleichzeitigen Zuwachs der Zellen in der G₁-Phase auf (vgl. Langzeitversuche, Abb. 8 - 10).

Zur Verifizierung einer möglichen signifikanten Differenz in der Zellzyklusverteilung (scheinbar signifikante Differenz in der Fraktion der G₁-Phase) zwischen exponierten und nicht-exponierten Zellen im 50 Hz-Versuch der ersten Versuchsreihe (n = 14) mit p-Wert 0.04 wurden Wiederholungsversuche durchgeführt, um die Probenzahl und damit die statistische Sicherheit zu erhöhen. Dabei zeigte sich ein eindeutig nicht-signifikantes Ergebnis (p-Wert 0.66; n = 24).

In den Resultaten der 24 h-Befeldung sind hingegen statistisch signifikante Differenzen zwischen den befeldeten Zellkulturen und der Kontrollgruppen zu erkennen (p-Werte: 0,01; 0,02; 0,01). Dabei finden sich Signifikanzen in allen drei Entwicklungsphasen des Zellzyklus. Trotz statistisch signifikanter Unterschiede liegen die Mittelwerte der Zellzyklusfraktionen der exponierten Kulturen und der Kontrollkulturen jedoch sehr eng beieinander (Abb. 10).

In allen anderen durchgeführten Experimenten konnten mit p-Werten zwischen 0,20 und 0,94 keine signifikanten Differenzen in den Differenzierungseigenschaften zwischen Expositions- und Kontroll-Zellkulturen nachgewiesen werden (Tab. 1).

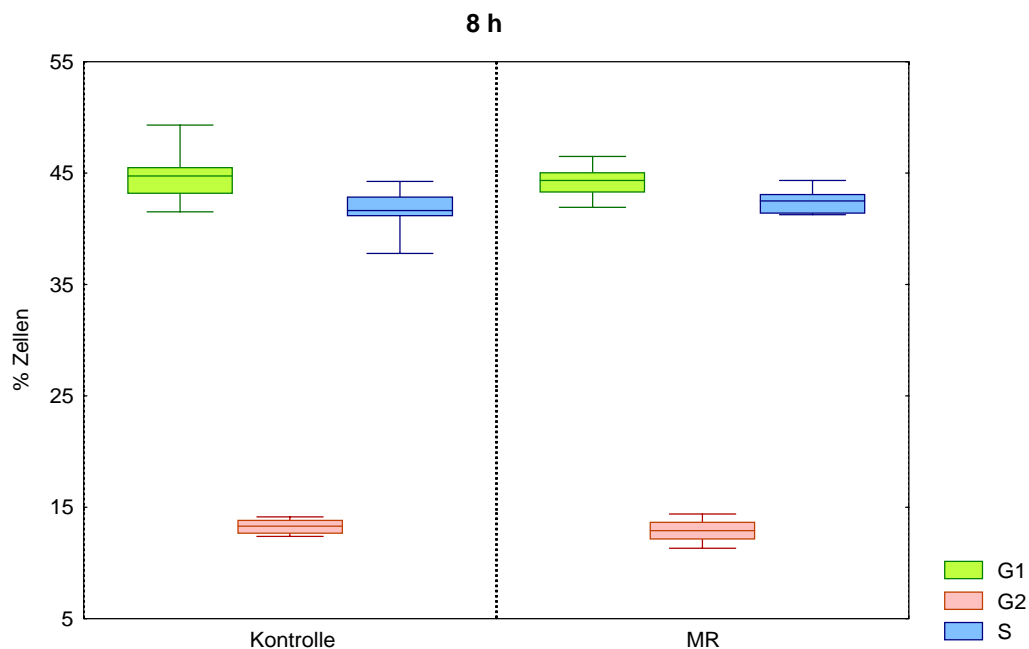


Abb. 8: Langzeitversuch über 8 Stunden

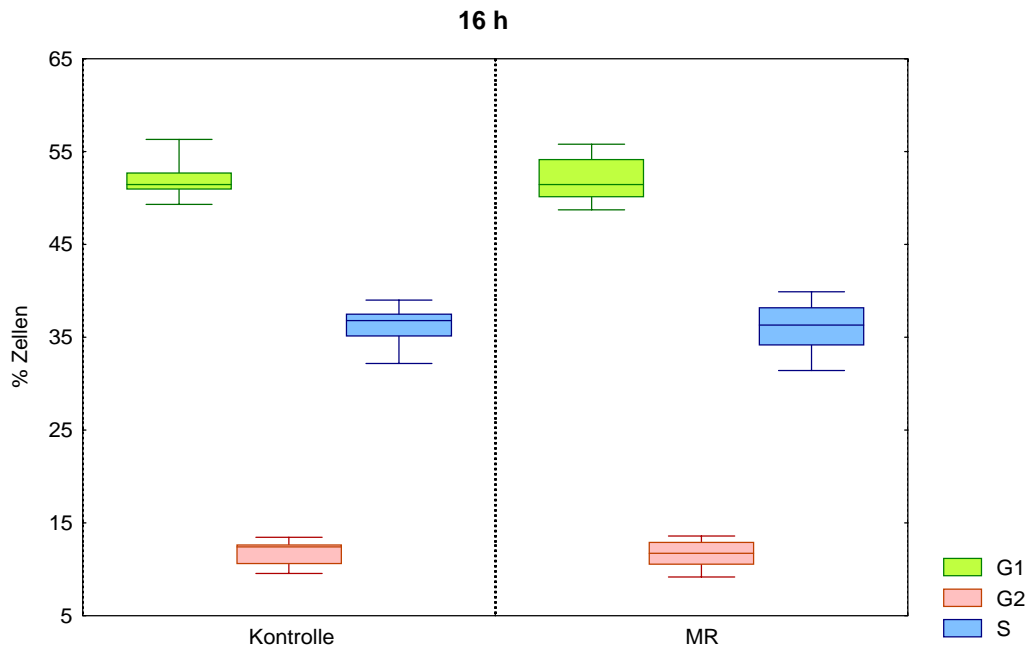


Abb. 9: Langzeitversuch über 16 Stunden

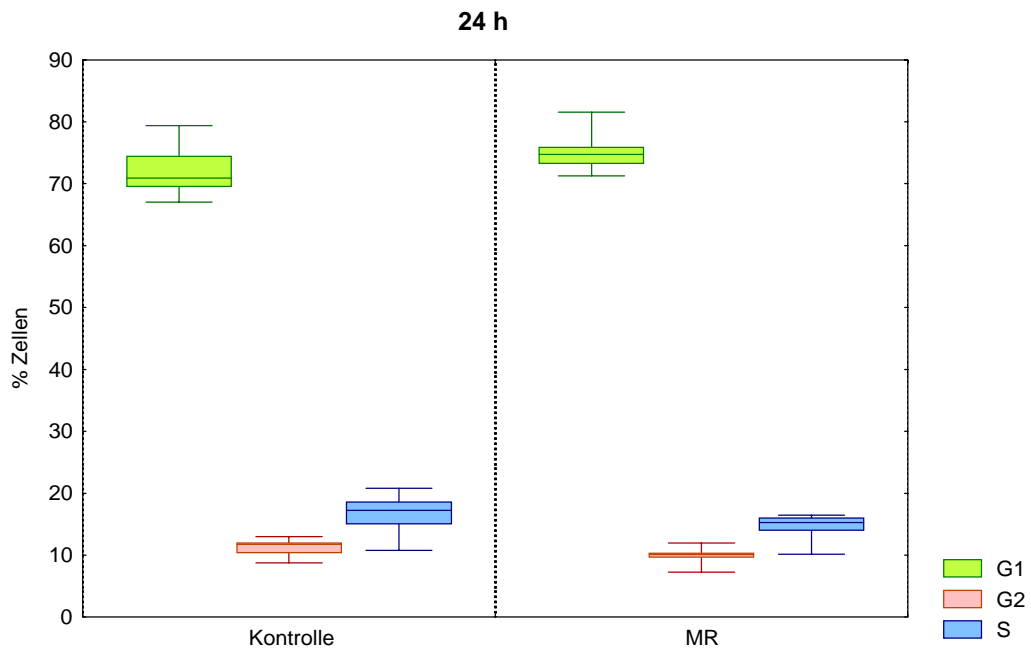


Abb. 10: Langzeitversuch über 24 Stunden

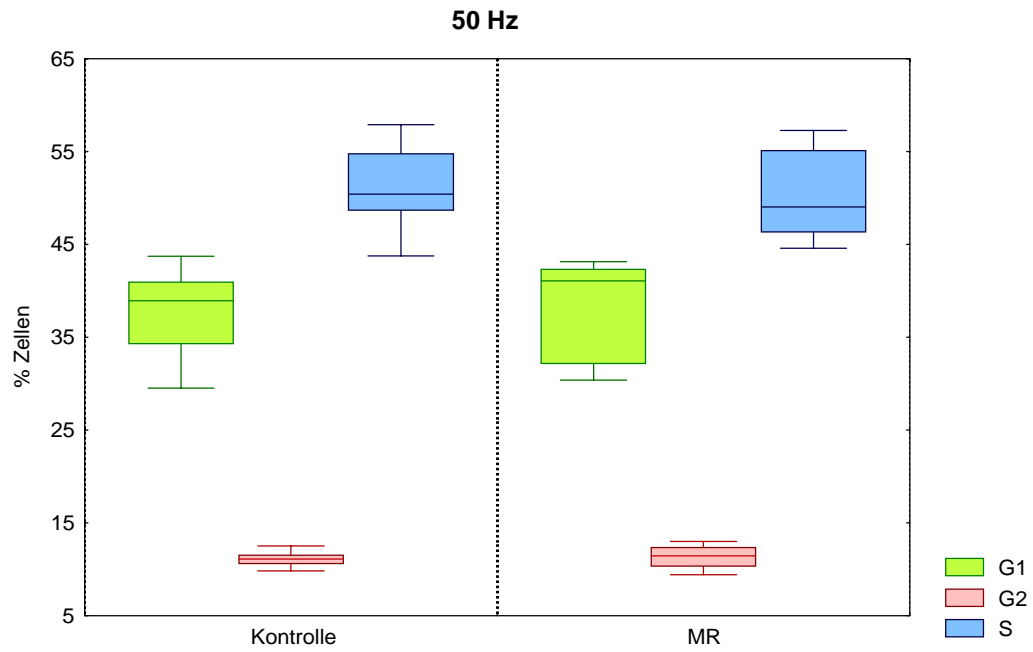


Abb. 11: 2-stündige Exposition mit 50 Hz-Gradient

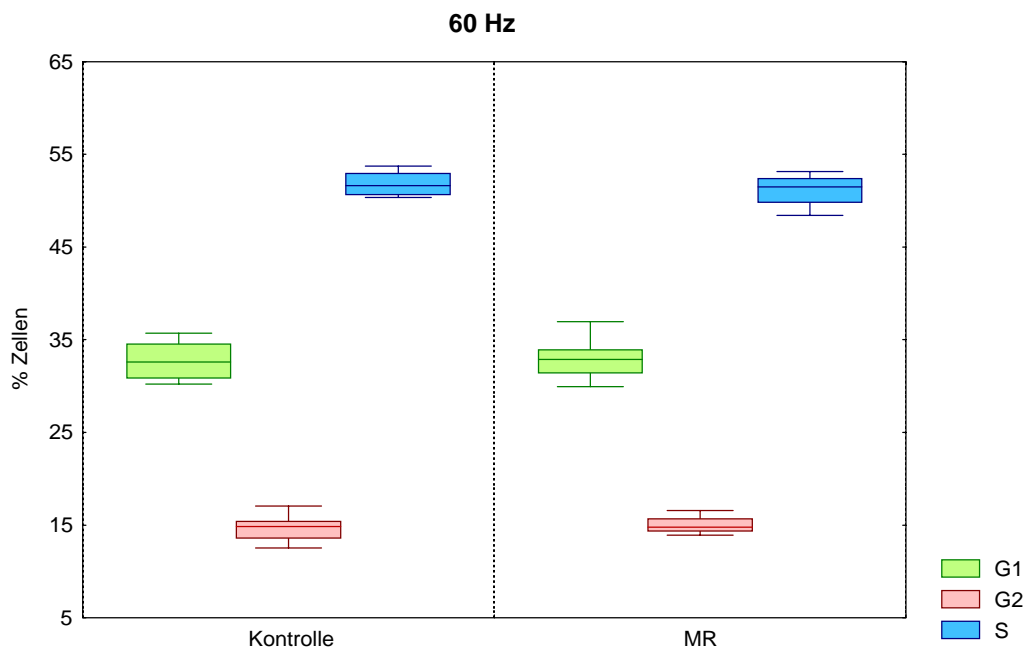


Abb. 12: 2-stündige Exposition mit 60 Hz-Gradient

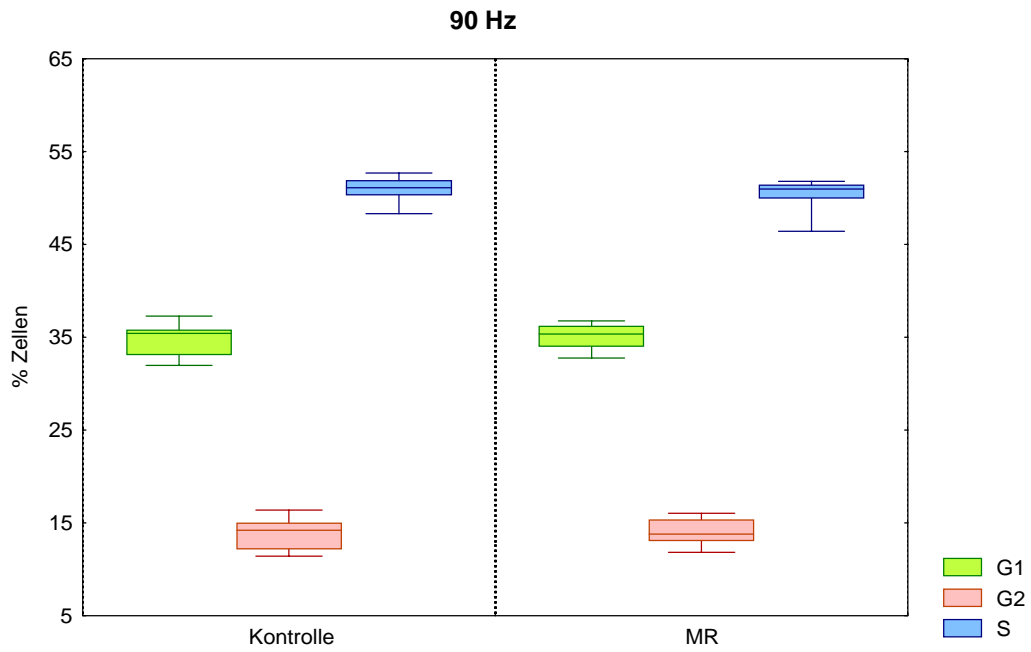


Abb. 15: 2-stündige Exposition mit 90 Hz-Gradient

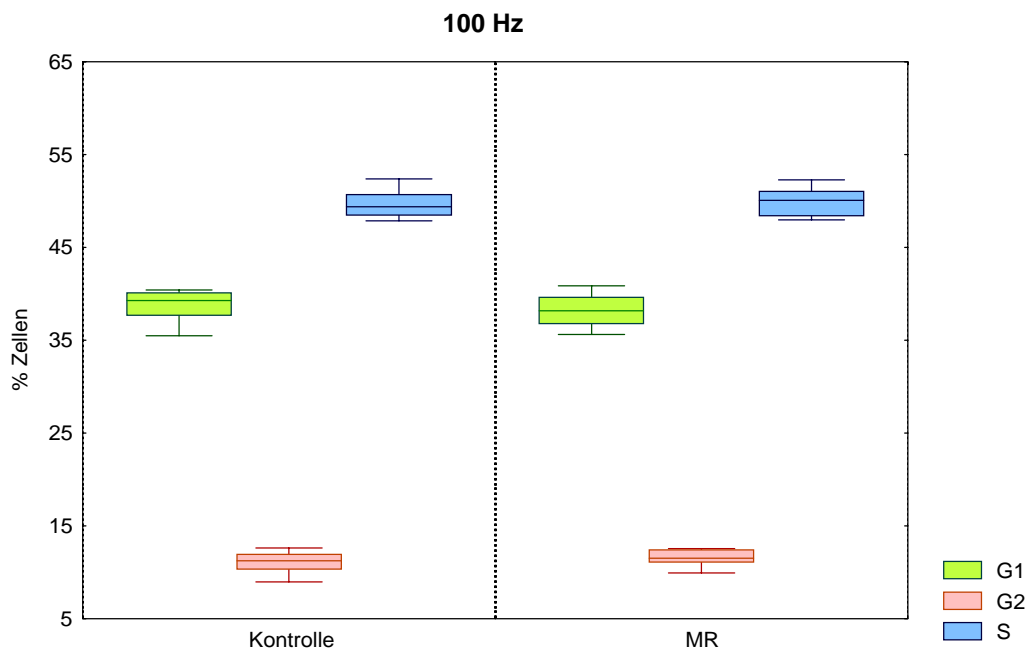


Abb. 16: 2-stündige Exposition mit 100 Hz-Gradient

Tab. 1: p-Werte der statistischen Auswertung nach Mann-Whitney-Wilcoxon

	G₁	G₂	S
50 Hz	0,39	0,48	0,47
60 Hz	0,88	0,49	0,35
70 Hz	0,33	0,21	0,59
80 Hz	0,67	0,41	0,85
90 Hz	0,75	0,47	0,35
100 Hz	0,23	0,25	0,71
8 Stunden	0,75	0,28	0,20
16 Stunden	0,94	0,85	0,94
24 Stunden	0,01	0,02	0,01

5 Diskussion

5.1 Magnetfeldexposition in der Schwangerschaft

In den meisten Europäischen Behörden, die sich mit der radiologischen Sicherheit beschäftigen (v. a. der Strahlenschutzkommission (SSK) des Bundesamtes für Strahlenschutz (BfS)), der US Food and Drug Administration (FDA) und auch der International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) wird über die Grenzwerte der Magnetfeldexposition, und inwieweit schwangere Patienten bzw. Mitarbeiter den Magnetfeldern ausgesetzt werden dürfen, diskutiert.

5.1.2 Schwangere Patientinnen

Die Möglichkeit einer bestehenden Schwangerschaft hat in der radiologischen Diagnostik eine sehr zurückhaltende Indikationsstellung von Röntgen- oder CT-Untersuchungen zur Folge. Selbst beim geringsten Schwangerschaftsverdacht wird dieser durch einen vorherigen Schwangerschaftstest ausgeschlossen, um teratogenen Folgen der ionisierenden Röntgenstrahlung vorzubeugen.

In der Magnetresonanztomographie richten sich die Beschränkungen gegenüber Schwangeren derzeit nach den Empfehlungen der Strahlenschutzkommission von 1996, die eine MRT-Untersuchung für Schwangere im ersten Trimenon verbietet, weil „fruchtschädigende Wirkungen durch Magnet- und Hochfrequenzfelder nach dem gegenwärtigem Kenntnisstand nicht definitiv auszuschließen“ sind (176). Auch in den späteren Monaten der Schwangerschaft sollte nur „aufgrund diagnostisch zwingender Fragestellung“ untersucht werden (176). Generell sollte bei der MR-Untersuchung Schwangerer „Expositionsdauer und Feldstärken auf das zur diagnostischen Information unabdingbare Minimum reduziert und sollten keine Richtwerte überschritten werden“ (176). Des weiteren sollte der Untersucher neben der Risikoabwägung auch den Vergleich anderer diagnostischer Verfahren heranziehen und nur bei dringender Indikationsstellung die MRT wählen. Als Beispiel sei die Ureterohydronephrose, die gehäuft im letzten Trimenon der Schwangerschaft auftritt, genannt (51, 155). Bei diesem Krankheitsbild erfasst die konventionelle Sonographie lediglich den oberen Harnleitertrakt, wohingegen bei einer i.v.-Urographie die große Gefahr einer Fetusschädigung sowohl durch die Röntgenstrahlung als auch durch das verwendete Kontrastmittel

besteht (60). Diagnostisches Mittel der Wahl ist somit die Magnetresonanztomographie, mit der man ohne Applikation eines Kontrastmittels und unter Vermeidung ionisierender Strahlung einen Überblick über den gesamten Harntrakt erhält.

Die Indikation zur MR-Untersuchung sollte individuell gestellt werden und ist in jedem Stadium der Schwangerschaft gegeben, sofern das alternative diagnostische Verfahren eine Belastung durch ionisierende Strahlung mit sich bringt.

5.1.3 Schwangere am Arbeitsplatz

Durch den intensivierten Gebrauch der MRT in der klinischen Routine traten für das Personal erhöhte Magnetfeldbelastungen des magnetostatischen Streufeldes auf, so dass die Strahlenschutzkommission neben Spitzenwerten (2 T für Kopf und Rumpf, 5 T für die Extremitäten) einen Grenzwert für die magnetische Flussdichte von 0,2 T gemittelt über den ganzen Körper festlegte. Es habe bislang jedoch keinerlei Anhaltspunkte für eine Akkumulation biologischer Wirkungen bei langfristiger Tätigkeit im Umfeld eines NMR-Magneten gegeben (176). Diese Werte liegen weit über den tatsächlich entstehenden Magnetfeldern (7). Von einer Exposition Schwangerer gegenüber Gradientenfeldern oder HF-Feldern wird jedoch dringend abgeraten, die Mitarbeiterinnen sollten sich ebenfalls möglichst außerhalb der 10 G-Grenze (1 mT) aufhalten (84).

Mit ihrer epidemiologischen Studie waren Kanal et al. (83) auf dem Gebiet der Magnetfeldwirkungen während der Schwangerschaft Wegbereiter. Ihre Evaluation von Arbeiterinnen an MR-Tomographen ergab bezüglich der Faktoren Infertilität, erniedrigtes Geburtsgewicht und Missgeburten kein signifikant erhöhtes Risiko gegenüber Arbeiterinnen anderer Berufsgruppen. Dagegen resultierten leicht erhöhte Odds-Ratios (relative Risiken) bei den Kriterien Frühgeburt (1,19) und Spontanabort (1,27) gegenüber Arbeiterinnen anderer Tätigkeiten im Krankenhaus. Diese zeigten jedoch eine im Hinblick auf die Gesamtbevölkerung abnormal niedrige Spontanabortrate. Bei Frauen nämlich, die keiner Arbeit nachgingen, betrug die Odds-Ratio sogar 3,22 für Spontanabort und 1,7 für Frühgeburt. Deshalb bleibt eine eindeutige Korrelation zwischen der Exposition statischer und zeitlich veränderlicher Magnetfelder und Schwangerschaft unklar. Außerdem wurden Faktoren wie Nikotinabusus, psychischer Stress und das Alter der Befragten nicht erfasst.

Auch in anderen Berufsgruppen wurden Schwangere untersucht, die beispielsweise an Geräten mit Monitoren („visual display units“ (VDU's)) arbeiteten, wobei elektrische und magnetische Felder entstanden. Zwei Studien konnten ein erhöhtes Risiko weder

für Spontanaborte noch für Missbildungen nachweisen (166, 167). Dagegen fanden Lindbohm et al. Hinweise auf erhöhte Missbildungsraten, die jedoch unterhalb des Signifikanzniveaus lagen (101). Eine ausführliche Studie liegt auch von Bracken et al. vor, in der ein Einfluss elektromagnetischer Felder auf Geburtsgewicht oder intrauterines Wachstum nicht nachgewiesen werden konnte (18).

5.2 Interaktionsmechanismen der Magnetfelder

Die Wirkungen elektromagnetischer Felder auf den Organismus lassen sich anhand der Frequenz in drei Stufen gliedern:

- 1) Statische Felder oder Felder niedriger Frequenz bis etwa 30 kHz tendieren überwiegend zu Kraftwirkungen und Nervenreizungen (68). Hierbei stützt sich die Diskussion vorwiegend auf die elektromagnetischen Felder extrem niedriger Frequenz (ELF-EMF), die bezüglich ihrer biologischen Wirkung noch besonders wenig erforscht sind.
- 2) Im Frequenzbereich über 30 kHz bis in den Bereich des sichtbaren Lichtes kommt es hauptsächlich zu thermischen Effekten (Aufheizung) (68).
- 3) Bei Ultraviolett (ca. 300 nm / 10^{15} Hz) beginnt die zerstörende Wirkung auf Biomoleküle; die Grenze zur ionisierenden Strahlung befindet sich bei 12,4 eV (ca. 100 nm / 3×10^{15} Hz) (68).

Zusätzlich werden eine ganze Reihe von möglichen Interaktionsmechanismen auf zellulärer Ebene, die mögliche teratogenen Folgen von Magnetfeldexpositionen erklären könnten, diskutiert (s. u.). Der Nachweis einer potentiellen Teratogenität ist möglich, indem die Schwangerschaft, die Geburt, die Morphologie oder das Wachstumsverhalten an Embryonen und Feten direkt (28, 35, 40, 47, 80, 125, 128, 135, 183, 192, 196, 198) bzw. verschiedene Zellfunktionen wie DNA-Synthese (36, 92, 97, 130, 159, 180), Proliferation (65, 102, 131, 141, 150-152, 154, 165, 191) oder Zellzyklusverteilung (37, 95, 141, 150, 165, 186, 191) untersucht werden.

5.2.1 Statisches Magnetfeld

Ähnlich wie im Bereich der ELF-Felder (s. u.) wurden auch auf dem Gebiet der statischen Magnetfelder großangelegte epidemiologische Studien durchgeführt. Wegweisend war hier 1983 eine Kohortenstudie von Rockette und Arena (149), die 21829 Aluminiumarbeiter bezüglich des Auftretens von Krebserkrankungen untersuchten. Tat-

sächlich wurde eine gesteigerte Inzidenz von Pankreas-Karzinomen (Exposition 8 h/d, 4 - 40 mT), Leukämien, Karzinomen der ableitenden Harnwege, unspezifischen Neoplasien und benignen Lungenerkrankungen nachgewiesen. Andere belastende Faktoren in der Arbeitsumgebung (z. B. Chemikalien) wurden leider nicht berücksichtigt, so dass auch hier keine eindeutige Assoziation vorliegt. Aufgrund unterschiedlicher Resultate - Mur et al. konnten beispielsweise eine niedrigere Gesamtmortalität („healthy worker effect“) und eine nur tendenziell leicht erhöhte Krebsmortalität bei Aluminiumarbeitern feststellen (124) - prüften Savitz et al. (160) mehrere der vorausgegangenen Studien und postulierten zusammenfassend, das höchste relative Risiko für Aluminiumarbeiter bei EMF-Exposition läge im Bereich der Leukämien.

Insgesamt lässt sich aufgrund der veröffentlichten epidemiologischen Studienergebnisse keine eindeutige Korrelation zwischen vermehrter Exposition durch statische Magnetfelder und erhöhter Inzidenz von Krebserkrankungen festlegen, da in den allermeisten Fällen nicht alle Einflussgrößen erfasst wurden. Es besteht allerdings Klärungsbedarf bezüglich signifikanter Resultate in bestimmten Industriezweigen (in den Bereichen von medizinischer Diagnostik, Magnetschwebbahnen und Fusionsreaktoren) (147).

Die physikalischen Effekte statischer Magnetfelder lassen sich in elektrodynamische und magnetomechanische Effekte sowie Wirkungen auf Elektronenspinzustände bei chemischen Reaktionen unterteilen.

5.2.1.1 Elektrodynamische Wirkungen

Bewegen sich in einem statischen, homogenen Magnetfeld Ladungen senkrecht zur Gleichfeldrichtung, entsteht unter Wirkung der Lorentz-Kraft F_L ein elektrisch induziertes Potential. Die Lorentzkraft bewirkt eine Ablenkung der Ladungsträger senkrecht zum Feld und der Richtung der Ionenbewegung und lässt eine verzögerte Nervenfortleitung erwarten (1). In einem theoretischen Versuchsmodell wurde berechnet, dass bei einer applizierten Feldstärke von 24 T, also einem Magnetfeld weit jenseits des klinisch gebräuchlichen, die Nervenleitungsgeschwindigkeit um 10 % gesenkt wird (179, 189). Die Interaktionen des statischen Magnetfeldes mit den Ionenströmen der Axonmembran bei niedrigeren Feldstärken werden hingegen als äußerst gering eingestuft; bei Feldstärken von 1 - 2 T konnten jedenfalls bislang keine Änderungen der Nervenleitungsgeschwindigkeiten demonstriert werden. Durch Bewegungen im statischen Magnetfeld wurden zum Teil auch Nervenstimulationen ausgelöst.

Auch in dem sich bewegenden Volumenleiter Blut können durch elektrodynamische Wirkungen elektrische Potentialdifferenzen (Hall-Spannung) induziert werden. Das induzierte Potential verstärkt dann z. B. im EKG die T-Welle, die zeitlich mit dem Öffnen der Aortenklappe zusammenfällt. Hauptsächlich verantwortlich gemacht werden hierfür die negativ geladenen, roten Blutzellen entlang der Herzklappen und des Aortenbogens, die mit dem Magnetfeld interagieren und Hall-Spannungen erzeugen (84). Diese Aortenflusspotentiale konnten zwar im Tierversuch nachgewiesen werden (56), verschwanden jedoch wieder nach Entfernen der Tiere aus dem Magnetfeld. Auch bei gesunden Versuchspersonen wurden bereits Herzrhythmusstörungen in Form eines verlängerten Herzzyklus nach einstündiger Exposition in einem statischen Magnetfeld von 2 T beschrieben; dies könnte auf einen direkten oder indirekten Effekt des Magnetfeldes auf den Sinusknoten zurückzuführen sein (79). Bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit konnten zusätzlich schon bei niedrigen Feldstärken Veränderungen der P-Welle und ST-Strecke beobachtet werden, jedoch lediglich temporär. Da eine erhöhte T-Welle auf einen Herzinfarkt, eine kardiale Ischämie oder eine Kaliumintoxikation hinweisen kann, wird für kardial auffällige Patienten ein EKG-Monitoring während und nach der MR-Untersuchung empfohlen (176).

Für bewegte Flüssigkeiten innerhalb des statischen Magnetfeldes hat die Einwirkung des elektrischen Potentials eine Abnahme der Flussgeschwindigkeit zur Folge. Dieser Effekt wurde bislang lediglich theoretisch evaluiert und konnte im Tierversuch bei Feldstärken bis 1,5 T noch nicht nachgewiesen werden. Weiterhin wird die Beeinflussung der Endolymph-Zirkulation in den Bogengängen als Auslöser für Übelkeit und Schwindel verantwortlich gemacht (164).

5.2.1.2 Magnetomechanische Wirkungen

Diamagnetische bzw. paramagnetische Moleküle mit einer ungleichen Verteilung der magnetischen Eigenschaften über das Molekül (Anisotropie) richten sich in einem homogenen, statischen Magnetfeld genau dann aus (Orientierung), wenn die Magnetisierungsenergie größer ist als die thermische Energie.

Ein schwacher Orientierungseffekt konnte z. B. bei DNA-Molekülen festgestellt werden, wobei das Ausmaß der Polarisierung bei 6 T lediglich 1 % betrug (109). Ergebnisse der gleichen Größenordnung ergaben Fibrin und Fibrinogen (55). Desoxygeniertes Hämoglobin dagegen zeigte schon bei der Feldstärke von 1 T das Orientierungsphänomen, da das planare Häm-Molekül parallel zur Längsachse des Magnetfeldes steht. Durch

Orientierung der Sichelzellen wurde für Sichelzellanämie-Kranke eine Verlangsamung des Blutstroms oder sogar Verlegung von Endarterien erwartet (127). Die in vitro-Ergebnisse konnten in vivo durch Laser-Doppler-Blutflussgeschwindigkeitsmessungen vor, während und nach der MRT mit 0,35 und 1,5 T jedoch nicht bestätigt werden (20). Auch bei biologischen Membranen ist eine Ausrichtung im Magnetfeld zu beobachten. So konnte bei einer TALL-1-Zelllinie in einem statischen Magnetfeld von 0,4 T eine erhöhte Plasmamembrandurchlässigkeit für das Chemotherapeutikum Adriamycin im Bereich der Phasenübergangstemperatur (41 - 46 °C) festgestellt werden (5). Der mit 5 - 10 % signifikante Anstieg des Effluxes wurde auf die Orientierung der Phospholipidmembran zurückgeführt. Dieses Ergebnis ist besonders interessant für die MRT, da hier die zusätzlich zum statischen Magnetfeld verwendeten HF-Pulse ebenfalls zu Erwärmung führen können, und dadurch möglicherweise ebenfalls veränderte Membranpermeabilitäten entstehen können.

Auch im Erdmagnetfeld (gemittelt ca. 30 - 70 μ T) spielt das Phänomen der Orientierung eine große Rolle und ist für viele Tier- und Pflanzenarten ein lebensnotwendiger Teil ihres räumlichen Orientierungsverhaltens. Bestimmte Sensorezeptoren können wie Kompassnadeln die elektromagnetischen Signale erfassen (179). Bereits 1971 konnten Navigationsschwierigkeiten gewisser Vogelarten aufgrund eines gestörten Erdmagnetfeldes festgestellt werden (85). Ein weiteres Beispiel sind bestimmte Meerestiere (z. B. Haie, Rochen), die kleinste elektromagnetische Signale empfangen können, wobei durch eine gallertartige Flüssigkeit in den Kanälen ihrer Ampulle, die eine extrem hohe elektrische Leitfähigkeit aufweist, ein Feld entsteht, das je nach Orientierung als Wegweiser dient (82). Ebenso änderten bestimmte Bakterien ihre Schwimmrichtung, wenn sie magnetische Partikel enthielten (52).

Ferromagnetische Materialien erfahren im statischen Magnetfeld Kräfte, die sie zur Translation veranlassen. Quantenmechanische Wechselwirkungen zwingen die zuvor zufällig ausgerichteten magnetischen Einzelmomente zu einer einheitlich parallelen sowie dauerhaften Anordnung. So wurde vermutet, dass die Existenz von biogenem Magnetit (Fe_3O_4) im Gehirn von Tier und Mensch für eine Vielzahl von Bioeffekten verantwortlich sein könnte, indem die Magnetitkristalle an Ionenkanäle koppeln, das Gleichgewicht der Ionenkonzentrationen stören und möglicherweise zu Veränderungen in biologischen Prozessen führen könnten (86).

5.2.2 Gradientenfeld

Mehrere epidemiologische Berichte weisen auf eine Korrelation zwischen Krebs und niederfrequenten elektromagnetischen Feldern, sog. ELF-Feldern (extremely low frequency), die das Frequenzspektrum von 30 bis 300 Hz umfassen, hin. Die meisten Untersuchungen bezogen sich auf den Frequenzbereich der häuslichen Stromübertragung (50/60 Hz).

Die erste Studie, die mit der Exposition niederfrequenter elektromagnetischer Felder, in diesem Fall durch Starkstromleitungen verursacht, ein erhöhtes Auftreten von Krebserkrankungen bei Kindern assoziierte, wurde bereits 1979 von Wertheimer und Leeper erstellt (187). Diesem Report folgten starke Kritiken, seine Ergebnisse konnten jedoch durch eine rigoros kontrollierte Studie in Schweden bestärkt werden (49). Diese zeigte geschätzte relative Risiken für das Entstehen von Leukämie bei Kindern von 1960 - 1985 von 2,7 bei 0,2 mT und 3,8 bei 0,3 mT.

Seitdem haben sich viele Forscher weltweit mit dem Zusammenhang zwischen Magnetfeldern und der Entstehung von Krebs im Kindesalter, insbesondere Leukämie, Gehirntumoren und Brustkrebs, beschäftigt. Dies entfachte stark kontroverse Diskussionen. In der gleichen Region (Denver, Colorado, USA) entstand die Fall-Kontroll-Studie von Savitz et al. (161), in der untersucht wurde, ob Krebs im Kindesalter mit 60 Hz- (ELF-) Magnetfeldern, wie sie in der häuslichen Stromversorgung entstehen, assoziiert ist. Die Autoren konnten, wie auch London et al. (105), die eine potentielle Leukämiegefährdung von Kindern durch elektrische und magnetische Felder von 60 Hz-Wechselstrom in Häusern untersuchten, keine klaren Korrelationen zwischen gemessenen elektrischen bzw. magnetischen Feldern und dem Auftreten der Krankheiten erkennen. Sie bezogen auch die unterirdische Verkabelung, die in die niedrigste Expositions-kategorie fällt und in Deutschland bevorzugt Anwendung findet, in ihre Untersuchungen ein. Dabei konnten sie lediglich einen Zusammenhang zwischen Leukämierisiko und dem sog. „Wire-Code“, einer Klassifikation der Verkabelung zur Stromversorgung von Häusern, bei der die Leitungskonfiguration, die Spannung in den Versorgungsleitungen und die Leitungsführung berücksichtigt werden, außerdem der Abstand einer Wohnung zu einer Hochspannungsleitung oder zu Umspannstationen miteinfließt (118), nachweisen.

Eine weitere Fall-Kontroll-Studie zu diesem Thema wurde von Armstrong et al. (6) in Quebec (Kanada) und Frankreich durchgeführt. Hier zeigte sich keine Assoziation gepulster elektromagnetischer Felder in bezug auf Krebs (Leukämie, andere

hämatopoetische Tumore, Gehirntumore oder Melanome). Es erwies sich jedoch ein Zusammenhang mit einer Odds Ratio von bis zu 6,67 zwischen gepulsten elektromagnetischen Feldern und dem gehäuften Vorkommen von Lungenkrebs. An dieser Diskussion beteiligte sich Erren (46) und verdeutlichte, dass die Entstehung von Lungenkrebs multifaktoriell bestimmt sei und es neben dem Hauptrisikofaktor Rauchen noch eine Vielzahl von Kanzerogenen gebe. Aufgrund dieser komplexen Pathophysiologie könne allerdings das karzinogene Potential von elektromagnetischen Feldern bislang nicht ausgeschlossen werden.

Ebenfalls in Quebec wurde 1999 eine Studie veröffentlicht, in der der Zusammenhang zwischen Kinderleukämie und hochfrequenten elektrischen und magnetischen Feldern zwar unterstützt wurde, jedoch mit keinen signifikanten Ergebnissen belegt werden konnte (111). Zuvor vermuteten Bowman et al. ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für Kinderleukämie durch kombinierte Effekte von statischen und extrem niederfrequenten (ELF) Magnetfeldern (17). Eine der größten Studien zu diesem Thema von Linet et al. (104) konnte nicht zeigen, dass das Leben in Häusern mit einem durchschnittlichen elektromagnetischen Feld mit einem Risiko für akute lymphatische Leukämien einhergeht; bei größeren magnetischen Feldern, wie beispielsweise in der Nähe von Starkstromleitungen, wurde eine mögliche Krankheitsgefährdung nicht ausgeschlossen. Eine aktuelle Studie von Kleinerman et al. (87) konnte dagegen bei Kindern, die in der Nähe von Hochstromleitungen wohnten, kein erhöhtes Risiko, an akuter lymphatischer Leukämie zu erkranken, feststellen.

Henshaw (71) wies besonders auf seine Studie über den Einfluss elektrischer Felder hin, die die Deposition und Konzentration von Radonkernen, aber auch Bakterien und Viren, erhöhen und damit ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko ermöglichen (72, 107).

Insgesamt gibt es sicherlich einige Hinweise auf eine Beziehung zwischen elektromagnetischen Feldern und dem Auftreten von Krebs, meist fehlen aber signifikante Ergebnisse, die reproduziert werden konnten, um diese Vermutung zu festigen (119). So deutet alles bislang auf eine lediglich schwache Korrelation zwischen ELF-Exposition und Krebs im Kindesalter hin, wie in mehreren Metaanalysen gezeigt wurde (118). All diese Ergebnisse sollten als nicht entgültig betrachtet werden, da auch hier meist nicht alle Einflussgrößen berücksichtigt wurden. So bestehen die hypothetischen Korrelationen nicht zwangsläufig auch bei kurzen und sporadischen Expositionen wie bei der MR-Untersuchung (22). Dennoch war durch die ersten Vermutungen schädlicher Wirkungen der Grundstein für eine bis heute andauernde Diskussion der Kommissionen

hinsichtlich Richtlinien und Grenzwerten gelegt (siehe 5.4). So schließt auch die Strahlenschutzkommission des Bundesamtes für Strahlenschutz eine Beeinflussung des Verlaufs von Krebserkrankungen durch schwache Magnetfelder nicht aus (176). Es gibt mittlerweile einige Hinweise auf die Funktion des elektromagnetischen Feldes als Tumorpromotor (73, 175) bzw. Co-Promotor (26). Für diese Theorie sprechen auch die Ergebnisse einer Arbeit von Miyakoshi et al. (122), die besagen, dass eine kombinierte Belastung von Gliom-Zellen durch Bestrahlung (5 Gy) und Befeldung (50 bzw. 400 mT) vermehrt zu DNA-Brüchen führte als die alleinige Bestrahlung. Auch die Forscher Repacholi und Greenbaum (147), die eine Vielzahl von Studien verglichen und bewertet haben, sprechen sich für eine Promotor-Funktion aus. In diesem Zusammenhang sind noch die Hypothesen über eine Assoziation von elektromagnetischen Feldern und Apoptose (programmierter Zelltod) zu erwähnen (15, 145, 175).

Die im Vergleich zu den statischen Magnetfeldern sehr viel schwächeren zeitlich veränderlichen Gradientenfelder können durch extrem schnelles Hintereinanderschalten nach Faradays Gesetz der Induktion im Körper eine elektrische Feldstärke oder Stromdichte induzieren. Theoretisch resultieren aus der Strominduktion durch Gradientenfelder zwei mögliche Bioeffekte:

Zum einen kann es durch die induzierten elektrischen Spannungen und Ströme zu thermischen Effekten wie Gewebeaufheizung kommen, die jedoch vernachlässigbar gering sind und keine klinische Relevanz zeigen (168), da sie erst bei sehr schnellen Impulsfolgen ab ca. 100 kHz beginnen, eine Rolle zu spielen.

Zum anderen kann die elektrische Stimulation (Spannungen, Ströme, Feldstärken) eine Signalübertragung im neuronalen System des Körpers bewirken und zur direkten neuromuskulären Stimulation und Reizung führen, wie beispielsweise zu Krämpfen, visuellen Lichtblitzen (Magnetophosphenen), Beeinflussungen der Nervenleitungsgeschwindigkeit, peripheren Nervenstimulationen, Skelettmuskelkontraktionen und sogar zu kardialen Arrhythmien bis hin zu Kammerflimmern (143). Hierbei nimmt die Stimulationswirkung mit steigender Frequenz ab; für Nervenzellen der Säugetiere ist sie scheinbar bei 60 Hz am sensitivsten (22).

Als Faktoren, die zu einer solchen physiologischen Antwort auf eine Strominduktion beitragen, sind bekannt: die Stärke des statischen Magnetfeldes, die Orientierung der Gradientenfelder zum Patienten, der größte Durchmesser des Patientenkörpers, die Fre-

quenz des Stimulus, die Dauer der Strominduktion, die Art der Wellenform, die Gewebesensitivität und andere Faktoren (23, 114, 143, 144, 163).

Möglicherweise resultierende Beschwerden scheinen jedoch viel höhere Ströme zu benötigen als sie in der klinischen MRT entstehen können (21). Sie beginnen beim Patienten gewöhnlich mit leichten Missempfindungen in der Peripherie (z. B. Finger oder Zehen), da die Reizschwelle peripherer myelinisierter Nerven (6,2 V/m) niedriger liegt als beispielsweise die des Herzmuskels (ca. 60 V/m) (69, 78, 115, 144, 176). Versuchsweise wurden in einem Experiment Probanden extrem hohen Gradientenfeldern (61 T/s und 1,4 kHz) ausgesetzt, wodurch direkt stimulierte Muskelzuckungen im Gesicht, im unteren Rückenbereich und an den Oberschenkeln hervorgerufen wurden (23, 33).

Die klinische Erfahrung zeigt, dass durch Gradientenfelder keine gesundheitlich nachteiligen Wirkungen auftreten, sofern die zeitliche Änderung der magnetischen Induktion unterhalb von 6 T/s bleibt (176). Untersuchungen an ausgesuchten Freiwilligen verdeutlichten, dass die Stimulation von Nervenzellen durch Veränderung von Frequenz, Schaltzeiten und der Richtung der geschalteten Gradientenfelder ab 30 T/s möglich ist (23, 33).

Das Phänomen der „Magnetophosphene“, visuell wahrnehmbaren Lichtblitzen, die bereits 1893 von d'Arsonval beschrieben wurden, gilt als eine der sensitivsten physiologischen Antworten auf Gradientenfelder (21, 84, 168). Sie entstehen aufgrund direkter Erregung des Sehnervs und/oder der Retina durch von Gradientenfeldern induzierte Ströme bei 2 - 5 T/s und 20 - 30 Hz (137) oder durch schnelle Augenbewegung im statischen Magnetfeld (84). Selbst bei Blinden wurde dieses Phänomen beobachtet. Es hat sich jedoch als komplett reversibel und nicht gesundheitsschädlich herausgestellt. Obwohl bislang über keine Betroffenen mit Magnetophosphenen durch Magnetfeldbelastungen bis 2,5 T berichtet wurde (1), war dieses Phänomen bei Freiwilligen zu beobachten, die an einem 4,0 T-Gerät arbeiteten (142).

Ferner werden umfassende Arbeiten zur Frage der magnetfeldbedingten Beeinflussung des Ionenverkehrs in der Zelle durchgeführt. Infolge der großen Anzahl an mobilen Ionen im Zytoplasma und Extrazellulärraum kann das elektromagnetische Wechselfeld in der Zelle zur Induktion eines elektrischen Stromes führen und das Ionengleichgewicht stören. Besonders dominiert hierbei die Rolle des Kalziums (29). Aus einer Veränderung des Ionenverkehrs durch die Zellmembran kann eine große Bandbreite an beeinflussten Stoffwechselgeschehnissen der Zelle, wie z. B. Signaltransduktion (61, 99) oder Synthesewege (184) resultieren. Mitte der achtziger Jahre konnten Blackmann

et al. (10, 12) einen verstärkten Kalzium-Ausstrom in Hühnerhirngewebe als Folge der Magnetfeldexposition feststellen. Daraufhin vermuteten Liboff und McLeod (96) zur Erklärung dieses Effektes ein Cyclotron-Resonanz-Modell, das besagt, dass schwache elektromagnetische Felder Resonanzinteraktionen auslösen, durch welche der Ionenfluss durch Membrankanäle und andere zellbiologische Prozesse beeinflusst werden können. Das physikalisch zugrunde liegende Prinzip, Ion Cyclotron Resonance (ICR), beruht auf der Übertragung von Energie in dem Fall, wenn die Frequenz des Gradientenfeldes der ICR der Ionen entspricht. Dieses Modell basiert auf Experimenten, in denen frequenzabhängig und bei verschiedenen Magnetfeld-Kombinationen Effekte beobachtet werden konnten (94). Jenrow et al. (80) demonstrierten am Beispiel des Plattwurms *Dugesia tigrina* unter Exposition in schwachen elektromagnetischen Feldern (60 Hz) eine signifikant verlängerte Regenerationszeit des zuvor transversal abgetrennten Kopfes. Die Ergebnisse seien ebenfalls nicht auf Faradays Induktionsgesetz, sondern auf einen Ca^{2+} -Cyclotron-Mechanismus zurückzuführen. Andere Forscher wiederum konnten unter Resonanzbedingungen keine Bioeffekte beobachten (74, 145).

Auch eine direkte Interaktion der Wechselfelder mit der Zellmembran wird diskutiert (30, 136, 157). Starke Kritik dazu äußerten jedoch Tenforde et al. (179); ihrer Meinung nach sei das induzierte elektrische Feld viel niedriger als das bereits physiologisch bestehende.

Ferner gibt es Hinweise auf eine Verlängerung der Lebenszeit freier Radikale infolge elektromagnetischer Felder (92, 112, 113, 162). Dadurch entstehe eine Konzentrationserhöhung der hochreaktiven freien Radikale und damit verbunden die Gefahr vermehrter Zellschädigung durch Reaktionen mit DNA/RNA (Gentoxizität), Proteinen oder Lipiden.

Prinzipiell sind all die Effekte, die über die bekannten, am Modell verstandenen Wirkungen (v. a. Strominduktion) elektromagnetischer Felder hinausgehen, sehr kritisch zu beurteilen. Die größte Bedeutung wird im allgemeinen der Interaktion des magnetischen und elektrischen Feldes mit Komponenten der Zellmembran zugeschrieben (106, 136). Doch auch über eine mögliche direkte Interaktion mit der DNA wird kontrovers diskutiert (3, 13). Da ein Großteil der Studien, die sich mit den biologischen Wirkungen der ELF-EMF befassen, methodische oder statistische Mängel aufweisen (69), ist bei ihrer Interpretation Vorsicht geboten.

5.2.3 Hochfrequenzfeld

5.2.3.1 Thermische Wirkungen

Im Hochfrequenzfeld der klinisch verwendeten MR-Tomographen (1 - 85 MHz) (1) kann es durch im leitenden Körpergewebe bzw. in der Körperflüssigkeit induzierte Wirbelströme und der damit verbundenen Verlustleistung zur Erwärmung kommen, die mit der Masse des Patienten und der Frequenz wächst (69). Als Maß für die Wärmebelastung wird die durchschnittliche, über den ganzen Körper gemittelte spezifische Absorptionsrate (SAR) angegeben.

Beispielsweise beobachteten Shellock und Crues (170) nach Patientenexposition im Hochfrequenzfeld (1,5 T; 64 MHz) mit einer SAR zwischen 2,54 und 3,05 W/kg einen signifikanten Temperaturanstieg der Cornea von bis zu 1,8 °C auf maximal 33,7 °C. Damit wären keine thermischen Schäden für das Auge zu erwarten, da im Tierversuch bereits nachgewiesen wurde, dass die Temperaturschwelle zur Kataraktentstehung durch Radiofrequenzen zwischen 41 °C und 55 °C (129) bzw. bei 43 °C (170) liegt.

Sterilität kann bei Säugetieren dann auftreten, wenn zur Spermatogenese befähigtes Gewebe akut oder chronisch auf Körpertemperatur oder höher erwärmt wird (148). Auch bei Befeldungen (1,5 T; 64 MHz; SAR: 0,56 - 0,84 W/kg) des Skrotums wurde eine signifikante Temperaturerhöhung von bis zu 3,0 °C auf maximal 34,2 °C registriert (172). Da der Temperaturanstieg jedoch unterhalb der Schwellenwerte liegt, sind auch hier keine Beeinträchtigungen zu erwarten; bei Patienten mit bestehendem Spermamangel allerdings ist die Gefahr der temporären oder permanenten Sterilität durchaus gegeben (172).

Eine weitere Studie von Shellock et al. (173) untersuchte die Erwärmung von Trommelfell und Haut, sowie die Herzfrequenz, den Blutdruck, die Sauerstoffsättigung und den kutanen Blutfluss von sechs gesunden Freiwilligen während einer MRT mit einer SAR von 6,0 W/kg, dem 15fachen Wert der gemittelten SAR, die von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) (48) festgelegt worden war. Darin kommt es zu signifikanten Temperaturerhöhungen, sowie gesteigerter Herzfrequenz und Hautdurchblutung. Die Erwärmungen bewegten sich jedoch in Bereichen, die von Personen mit regelrechter Thermoregulation ohne physiologische Nachwirkungen zu tolerieren sind. Deshalb werfen die Autoren der FDA vor, ihre Kriterien zu konservativ festgelegt zu haben (173) (vgl. 5.6.2).

Alle anderen Wirkungen, die im Rahmen der Diskussion über die Teratogenität von Mobiltelefonen und Mikrowellenöfen auch in der modernen MRT-Diagnostik im Raum stehen, sind derzeit keineswegs gesichert. Bis voraussichtlich 2003 läuft diesbezüglich eine großangelegte Studie des IARC (International Agency for Research on Cancer) (188).

5.2.3.2 Nichtthermische Wirkungen

Zu erwähnen ist hier das sogenannte „Perlschnur“-Phänomen in Suspensionen wie z. B. Blut. Dadurch, dass sich die durch das HF-Wechselfeld in den Blutkörperchen induzierten Dipolladungen gegenseitig anziehen, reihen sich die Blutzellen parallel zu den elektrischen Feldlinien an. Dieser Effekt scheint allerdings erst bei sehr hohen HF-Feldstärken ($SAR > 50 \text{ W/kg}$) stattzufinden, so dass er in vivo bei der MRT nicht von Bedeutung sei (137).

5.3 Tierexperimentelle Studien

Die potentiell teratogenen Effekte durch Magnetfelder sind ein kontrovers diskutiertes Thema. Besonders gebräuchlich für die Untersuchung potentiell schädlicher Einflüsse von Magnetfeldern auf die embryonale und fetale Entwicklung zu untersuchen waren bislang Tierstudien, am häufigsten mit Hühnerembryonen (35, 47, 81, 195, 196, 198), Ratten (40) oder Mäusen (125, 128):

Den Einfluss eines starken statischen Magnetfeldes (7,0 T) allein auf Feten untersuchte z. B. Pan (135). Er stellte bei seinen Analysen des Schlüpfverhaltens des Eulenfalters *Heliothis virescens* (Tabakeule) eine um 15 % verlangsamte Schlüpfdauer und um 42 % verminderte Schlüpftrate fest.

Auch Narra et al. (128) konnten Effekte eines statischen Magnetfeldes (1,5 T) auf die Embryo- und Spermatogenese von Mäusen nachweisen. Sie exponierten männliche und schwangere weibliche Schweizer Webster Mäuse für 30 min dem Magnetfeld und konnten eine schwach signifikante Reduktion (15 %) des testikulären Spermias und einen erheblichen Rückgang der Überlebensrate der Embryonen (0,56) im Vergleich zu den Kontrolltieren zeigen.

Eine andere Studie konnte teratogene Wirkungen von schwachen elektromagnetischen Feldern (60 Hz) nachweisen (80). Am Beispiel des Plattwurms *Dugesia tigrina* demonstrierten die Autoren nach Exposition eine signifikant verlängerte Regenerations-

zeit des zuvor transversal abgetrennten Kopfes. Die Ergebnisse seien ebenfalls nicht auf Faraday's Induktionsgesetz, sondern auf einen Ca^{2+} -Cyclotron-Mechanismus zurückzuführen. Außerdem konnten die Autoren einen eindeutigen ursächlichen Zusammenhang dem kombinierten Gleich- und Wechselstromfeld und nicht dem statischen Feld zuschreiben.

Farrell et al. (47) untersuchten die Wirkung gepulster und sinusoidaler (60 Hz) schwacher Magnetfelder ($4 \pm 0,2 \mu\text{T}$) auf die Morphologie von Hühnerembryonen. Dabei erkannten sie einen statistisch signifikanten Anstieg der Abnormitätsrate bei den Exponierten sowohl im gepulsten Magnetfeld (verdoppelte Abnormitätsrate) als auch im sinusoidalen Magnetfeld (fast verdreifachte Abnormitätsrate).

So konnten auch Juutilainen et al. beobachten, dass oszillierende sinusoidale Magnetfelder (50 Hz) bei Hühnerembryonen zu Entwicklungsanomalien führten; allerdings wären im „Feldstärke-Fenster“ unterhalb von 0,9 - 1,0 A/m keine derartigen Effekte zu erwarten (81).

Einem kontinuierlichen EMF (Computer und Fernseher) setzten Youbicier-Simo et al. (198) Hühnerembryonen aus. Während der 21-tägigen Exposition war eine signifikant erhöhte Mortalität, sowie verminderte Corticoid-, Melatonin- und Immunglobulinspiegel festzustellen. Die Abnahme dieser Werte könnte eine Expansion immunkompetenter Zellen verursachen und so möglicherweise z. B. lymphoproliferative Krankheiten auslösen.

Levin und Ernst (95) exponierten Seeiglembryonen einem statischen (4 mT) und elektromagnetischen Feld (3,4 - 8,8 mT; 60 Hz) und konnten eine beschleunigte erste und zweite Zellteilung 10 - 12 % bzw. 12 - 13 % nachweisen. Als Ursache hierfür vermuteten die Autoren eine verkürzte Mitose, erläuterten jedoch leider keine Zellzyklusverteilung.

Carnes und Magin (28) untersuchten die Effekte eines starken statischen Magnetfeldes von 4,7 T, einer zusätzlichen Spin-Echo-Sequenz und einem Hochfrequenzfeld von 200 MHz an schwangeren Mäusen über acht Stunden. Am 18. Tag der Schwangerschaft konnte bei den Feten eine signifikante Abnahme der Kopf-Rumpf-Länge von 8 %, sowie ein um 17 % geringeres Geburtsgewicht festgestellt werden, ebenso war auch die tägliche Spermaproduktion vermindert.

Einen weiteren Hinweis zur Teratogenität der Magnetresonanz lieferten Tyndall und Sulik (183). Sie exponierten schwangere Mäuse (C57BL/6J) am siebten Gestationstag - der Zeitpunkt der Augenanlage - 36 Minuten lang einem 1,5 T-Gerät mit einer T2-ge-

wichteten Spin-Echo-Sequenz und einem Radiofrequenzfeld von 64 MHz. Dabei beobachteten sie eine signifikant erhöhte (15 - 37 %) Malformationsrate der Augen bei den exponierten fetalen C57BL/6J-Mäusen.

Es sind jedoch auch zahlreiche tierexperimentelle Arbeiten zu finden, die den Magnetfeldern keine teratogene Wirkung zuschreiben konnten.

Murakami et al. (125) arbeiteten mit 84 schwangeren Mäusen (CD-1), die vom 7. bis 14. Schwangerschaftstag - dem Zeitraum der maßgeblichen Organogenese - für eine Stunde täglich dem statischen Magnetfeld (6,3 T) ausgesetzt wurden. Es konnten keine signifikanten Effekte auf Wurfgröße, Fetalgewicht, intrauterine Mortalitätsrate oder skelettale und äußere Anomalien nachgewiesen werden.

Withers et al. (192) untersuchten nach 66-stündiger, kontinuierlicher Exposition sämtliche Entwicklungsstadien von Mäusespermien. Das 0,3 T-starke statische Magnetfeld konnte auf ihre Spermio-genese keine zytotoxischen Wirkungen verursachen.

Ebenso beobachteten Dawson et al. (40) keine Auswirkungen des sinusoidalen Magnetfeldes (0,095 mT, 0,25 mT, 0,95 mT; 10 kHz) in ihrem Versuchsansatz mit Ratten. Nach der 22-stündigen Exposition wiesen die weiblichen Ratten weder eine gestörte Befruchtungsfähigkeit noch eine erhöhte Frühgeburtenrate auf; auch die Jungtiere ergaben bezüglich ihres Körpergewichts und sonstiger morphologischer Kriterien unauffällige Resultate. Bei den männlichen Ratten konnte ebenfalls in der gesamten Spermio-genese keine Beeinflussung durch die Magnetfelder festgestellt werden.

Cox et al. (35) kamen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass die verwendeten sinusoidalen ELF-EMF (10 μ T, 50 Hz) keinerlei teratogene Wirkung auf die Entwicklung von Hühnerembryonen haben.

Wie auch McRobbie und Foster (116), die nach Befeldung mit starken gepulsten Magnetfeldern schwangerer Mäuse keine Auswirkungen auf die Anzahl der Jungen und ihre Wachstumsrate feststellen konnten.

In zwei Studien untersuchten Yip et al. (195, 196) potentielle Veränderungen der Embryonalentwicklung von Hühnern und der Seitenstrangmotoneuronen von Hühnerembryonen aufgrund sechsstündiger Exposition im statischen Magnetfeld von 1,5 T, sowie vierstündiger Exposition im Radiofrequenzfeld (64 MHz) und Gradientenfeld (0,6 G/cm). Die Ergebnisse zeigten zwar einen Trend zu einer erhöhten Abnormalitäts- und Mortalitätsrate, das Geburtsdatum, die Migration und Proliferation blieben jedoch von den Einflüssen der Magnetfelder unbeeinflusst.

Der Vorteil des Experimentierens mit Tieren liegt sicherlich darin, dass man Auswirkungen auf einen Gesamtorganismus untersucht. Dies ermöglicht eher vergleichende Folgerungen bezüglich des Gesamtorganismus Mensch als bei Zellstudien.

Jedoch kann hier von den Einflüssen der Magnetfelder auf tierisches Expositionsgut nicht einfach auf Interaktionen mit Menschen geschlossen werden (27). Die Ergebnisse aus den Tierstudien sind nur bedingt auf den Menschen übertragbar. Humane Zellen verfügen beispielsweise über andere Zellorganellen, Reparaturmechanismen, Enzyme und Ionenkanäle. Zu den Regulationsunterschieden auf zellulärer Ebene sollte zusätzlich von einer unterschiedlichen Sensitivität gegenüber Magnetfeldern ausgegangen werden. Weiterhin in Betracht zu ziehen sind die methodischen Schwierigkeiten, die sich beim Experimentieren mit Tieren ergeben. Hierzu denke man beispielsweise an die erschwerte Standardisierung, die eingeschränkte Repetitionsmöglichkeit von Experimenten, die eingeschränkten Fallzahlen mit resultierender erhöhter statistischer Irrtumswahrscheinlichkeit bzw. geringerer statistischer Aussagekraft.

5.4 Experimente mit Zellkulturen

Der große Vorteil einer Studie mit Zellkulturen liegt in der experimentellen Wiederholbarkeit, der präzisen Kontrollierbarkeit der experimentellen Parameter, wie z. B. Temperaturhomöostase, CO₂-Gehalt, Platzierung innerhalb des Magnetfeldes etc. und vor allem in ihrer ethischen Vertretbarkeit (30). Ferner ermöglichen *in vitro*-Studien eine ganz gezielte Evaluation von Effekten bestimmter Zellvorgänge, wie z. B. des Wachstumsverhaltens. So wurde auf der Suche nach möglichen Wirkmechanismen und Schädigungsmustern der Magnetfelder vielfach molekularbiologisch geforscht (s. u.), so z. B. auch in der Krebsforschung. Generell ist jedoch bei der Übertragung von *in vitro*-Studien auf den Gesamtorganismus Vorsicht geboten, da die einzelnen Zelllinien lediglich Parenchyme bestimmter Organe charakterisieren. Auch die Ergebnisse aus den Tierstudien sind nur bedingt auf den Menschen übertragbar. Humane Zellen verfügen beispielsweise über zum Teil andere Zellorganellen, Reparaturmechanismen, Enzyme und Ionenkanäle.

5.4.1 Einfluss der Magnetfelder auf die DNA

Initial wollte man mit *in vitro*-Studien eine potentielle Genotoxizität der Magnetfelder untersuchen. Hierzu wurden Experimente an Zellen bzw. deren DNA oder an Chromo-

somen direkt durchgeführt. Hintergrund der folgenden Studien war oftmals die viel diskutierte und von zahlreichen epidemiologischen Berichten verfolgte Thematik, dass eventuell ein Zusammenhang zwischen elektromagnetischen Feldern und der Entstehung bestimmter Krebsarten (v. a. Leukämie bei Kindern) existiert. Dabei wurde eine Interaktion elektromagnetischer Strahlung mit der DNA diskutiert.

In den meisten Experimenten mit humanen Zellen wurden Blutzellen von gesunden Probanden verwendet, wie z. B. auch bei Ahuja et al. (4), die periphere Blutzellen nach Exposition (2 mT, 3 mT, 5 mT, 7 mT und 10 mT bei 50 Hz) auf DNA-Schädigung untersuchten und einen signifikanten Anstieg feststellen konnten. Hierbei reagierten die Zellen weiblicher Probanden stärker als die männlichen.

Garcia-Sagredo et al. (58) konnten bei 40 G vermehrt Chromosomenbrüche in humanen, peripheren Lymphozyten vorfinden.

Kula und Drozd (92) konnten in ihrer Arbeit mit Mäusefibroblasten zeigen, dass die schützende Wirkung von Radikalfängern wie Eisen-, Zink- und Kupferionen und protektiven Enzymen wie Katalase oder Superoxiddismutase vom statischen Magnetfeld (0,49 T) abgeschwächt wird. Die Forscher führten ihre Versuche auch mit elektromagnetischen Wechselfeldern (20 mT; 50 Hz) durch. Nach 16-minütiger Exposition zeigten Radikalfänger wie Eisen-, Kupfer- und Zinkionen eine intrazelluläre Abnahme bei gleichzeitiger extrazellulärer Zunahme. Eine weitere signifikante Konzentrationsminderung fand sich bei den protektiven Enzymen Katalase und Superoxiddismutase (37 % bzw. 47 %). Dadurch ließe sich ein intrazellulärer Anstieg freier Radikale und eine erhöhte Membranpermeabilität erklären.

Liboff et al. (97) setzten humane embryonale Fibroblasten (HBS-15) einem sinusoidalen Wechselfeld verschiedener Frequenzen (15 Hz bis 4 kHz) und Amplituden (2,3 μ T bis 56 mT) aus. Daraus ergab sich eine signifikant erhöhte DNA-Syntheserate verbunden mit einem bis zu 60 % verstärkten Thymidin-Einbau.

Nindl et al. (130) beobachteten nach Befeldung (1,8 mT; 4,5 msec-Impulse) von Jurkat-Zellen einen um 41,4 % verminderten Thymidineinbau und eine DNA-Syntheseabnahme um 21 %.

Dagegen stellten Thomas et al. (180) in einem Experiment mit mutierten *E. coli*-Stämmen, die ihre Fähigkeit zur DNA-Reparatur verloren hatten, fest, dass ein statisches Magnetfeld der Flussdichte von 1,0 T während ein- bis fünfstündigen Befeldungen keinen Einfluss auf die Überlebensfraktion der Bakterien hat.

Im Experiment von Prasad et al. (139) wurde der Einfluss des statischen Magnetfeldes (2,35 T) auf die Natural Killer (NK) Cell-Zytotoxizität von humanen peripheren mononuklearen Blutzellen (PBMC) mit und ohne Interleukin 2-Stimulation untersucht. Nach der 50-minütigen Exposition war keine Wirkung des Magnetfeldes auf die Zytotoxizität zu erkennen.

Auch Sato et al. (159) konnten keinen Einfluss elektromagnetischer Felder nachweisen. Sie untersuchten die potentiell schädigende, statische Magnetfeldwirkung (0,3 - 1,1 T) an Gingivofibroblasten (Gin-1) und HeLa-Zellen, konnten aber nach bis zu 48-stündiger Exposition weder im DNA-Gehalt bei beiden Zelllinien noch in der DNA-Syntheserate ($[^3\text{H}]$ Thymidin-Einbau) bei den HeLa-Zellen Differenzen im Vergleich zu den Kontrollen ausmachen.

Auch Cridland et al. (36) konnten überhaupt keine signifikanten Effekte bezüglich einer veränderten DNA-Synthese feststellen, nachdem sie normale humane Fibroblasten bis zu 30 Stunden einem elektromagnetischen Feld (0,02-20 mT; 50 Hz) ausgesetzt hatten. Neben Chromosomenaberrationen ist der verstärkte Schwesterchromatidenaustausch (Sister Chromatid Exchange; SCE) ein sehr sensibler Parameter für DNA-Läsionen; er wird durch nichtionisierende Felder und viele chemische Mutagene ausgelöst (194).

Die Beteiligung des statischen Magnetfeldes an diesen Chromosomenveränderungen untersuchten Cooke und Morris (34). Hierzu exponierten sie humane Lymphozyten einem homogenen statischen Magnetfeld von 0,5 T und 1,0 T jeweils über eine Dauer von einer Stunde. Keine der Expositionsbedingungen hatte jedoch statistisch signifikante Auswirkungen auf die Anzahl der Chromosomen- und Chromatidenläsionen sowie die Rate an SCE.

Den Einfluss eines elektromagnetischen Feldes (50 Hz; 5 mT) auf die geschlechtsgebundene Mutationsrate der Chromosomen von *Drosophila melanogaster* untersuchten Otaka et al. [Otaka, 1992 #99] anhand eines geschlechtsgebundenen rezessiven. In diesem Experiment wurden die Tiere 13-14 Tage dem Magnetfeld ausgesetzt, was einem Lebenszyklus der *Drosophila* entspricht. Letztendlich unterschieden sich die letalen Mutationsraten der exponierten x-Chromosomen nicht signifikant von den Kontrollen.

Cohen et al. (31, 32) konnten in ihren Experimenten mit humanen peripheren Lymphozyten, die sie für 69 Stunden einem elektromagnetischen Wechselfeld (0,1 - 0,2 mT; 60 Hz) aussetzten, weder bezüglich Mitoserate und Chromosomenbrüche noch des SCE-Anteils signifikante Feldeffekte nachweisen.

Wolff et al. (193) fanden heraus, dass die Befeldung von Ovarialzellen Chinesischer Hamster (CHO) mit starken Magnetfeldern (0,352 T), gepulsten Feldgradienten (bis 2,3 mT/m) und Hochfrequenzfeldern (15 MHz) bis zu 14 Stunden weder zu Chromosomenaberrationen führte noch nach vier Stunden Exposition einen erhöhten SCE-Anteil verursachte. Es wurden auch HeLa-Zellen für 16 Stunden einem starken Hochfrequenzfeld exponiert, doch auch hier war keine Änderung der DNA-Syntheserate zu erkennen. In weiteren Versuchen (194) konnten sie in 12,5-stündigen Expositionen im statischen Magnetfeld kombiniert mit Hochfrequenzfeldern (2,35 T; 100 MHz) von exponentiell wachsenden CHO und stimulierten sowie unstimulierten humanen Lymphozyten ihr Ergebnis bestätigen, durch MR-Expositionen keine Chromosomenbrüche und SCEs zu begünstigen.

Dementsprechend stellten auch Geard et al. (59) an Mäusezellen (C3H 10T1/2) nach bis zu 17-stündiger Exposition im statischen Magnetfeld (2,2 bis 2,7 T) in Kombination mit gepulsten Gradientenfeldern und Hochfrequenzfeldern (25 - 30 MHz) keine erhöhte Anzahl von Chromosomenaberration und Schwesterchromatidenaustausch fest.

Statische Magnetfelder scheinen die DNA-Synthese im Bereich der klinisch eingesetzten Magnetfeldstärken nicht zu beeinflussen. Bei elektromagnetischen Wechselfeldern ist der Zusammenhang durch viele unterschiedliche, teils gegensätzliche Studienergebnisse noch weit weniger geklärt. Es existieren Ergebnisse zu hemmenden (130), fördernden (97) und fehlenden (36) Einflüssen auf die DNA-Synthese. Über eine mögliche direkte Interaktion elektromagnetischer Felder mit Elektronenflüssen innerhalb der DNA spekulieren Blank und Goodman (13). Diese These stieß auf starke Kritik von Seiten Adairs (3), der den vermuteten Mechanismus nicht mit physikalischen Prinzipien zu vereinbaren sieht. Eine endgültige Beurteilung ist deshalb nicht möglich; es sind jedoch nur milde Effekte zu erwarten, genotoxische Effekte sind wenig wahrscheinlich.

5.4.2 Einfluss der Magnetfelder auf die Zellproliferation und Zelldifferenzierung

Das Interesse für potentiell schädigende Bioeffekte des Magnetfeldes konzentriert sich mehr und mehr auf die Möglichkeit, dass die Tumor-Promotion durch eine gesteigerte Zellproliferation von diesen Feldern beeinflusst wird (36).

Im Gegensatz zu genotoxischen Wirkungen sind gerade Einflüsse auf Proliferation und Differenzierung als mildere Effekte der nichtionisierenden elektromagnetischen Strahlung denkbar. Um auch sehr kleine Effekte nachweisen zu können, ist es deshalb sinnvoll, diese Parameter zu untersuchen.

5.4.2.1 Proliferation

Bereits 1976 beschrieben Malinin et al. (108) eine Wachstumsinhibition von humanen WI-38-Fibroblasten und murinen L-929-Zellen aufgrund einer Magnetfeldexposition (4,2°K; 4 bis 8 h) bei 0,5 T.

Linder-Aronson und Lindskog (102) erforschten in ihrem Experiment Zellwachstum und -bindung von humanen, periodontalen Fibroblasten nach fünfwöchiger Exposition in einem statischen Magnetfeld (107 - 160 mT). Als Ergebnis fand sich ein signifikant vermindertes Zellwachstum und eine reduzierte Bindung der Zellen untereinander. Diese Zellbindung ist als vitale Funktion für zelluläre Vorgänge wie z. B. die Zellteilung notwendig. Im Vergleich zur klinischen MRT war die Expositionsdauer jedoch länger. Die Ergebnisse können damit nicht ohne weiteres auf die klinische MRT übertragen werden; auch wenn kurzfristige Effekte nicht auszuschließen sind.

Raylman et al. (141) setzten in ihrer Studie drei verschiedene Tumorzelllinien, Melanomzellen (HTB 63), Ovarialkarzinomzellen (HTB 77 IP3) und Lymphomzellen (CCL 86), 64 Stunden lang einem starken statischen Magnetfeld von 7 T aus. Die direkt nach Expositionsende bestimmte Zellzahl wies bei den Melanom-, Ovarialkarzinom- und Lymphomzellen eine Abnahme von 19,04 % ± 7,32 %, 22,06 % ± 6,19 % bzw. 40,68 % ± 8,31 % im Vergleich zu den Kontrollzellen auf. Bemerkenswert ist dabei, dass das Zellwachstum der in Suspension wachsenden Lymphomzellen stärker gehemmt wurde als das der als Monolayer wachsenden beiden anderen Zelllinien. Doch auch hier liegt der direkte Vergleich zur klinischen Magnetresonanztomographie aufgrund der deutlich längeren Expositionsdauer eher fern.

Auch elektromagnetische Felder induzierten Proliferationseffekte. So fanden Rodemann et al. (152) heraus, dass niederfrequente EMF eine terminale Differenzierung und Wachstumsinhibition in postmitotischen Zellen normaler, nicht-transformierter humaner Fibroblasten in vitro als Fenstereffekte verursachen. In ihren Versuchen exponierten sie humane Haut- und Lungenfibroblasten einem biphasischen, sinusoidalen Magnetfeld (20 Hz, 6 mT) 21 Tage lang für 2 x 6 h pro Tag. Mit Hilfe des Markerproteins PIVA und der Zellmorphologie wurden anschließend die mitotischen und postmitotischen

Zellanteile quantifiziert. Da die postmitotischen Zellen nicht mehr teilungsfähig sind, führte die terminale Differenzierung zu der deutlich geringeren Zellzahl. Auf molekularer Ebene konnte eine Erhöhung des intrazellulären Calciums, eine Aktivierung der Proteinkinase A und eine reduzierte Transkription der mRNA des Wachstumsregulators c-myc nachgewiesen werden. Die postmitotische Differenzierung führte dabei auch zu einer Erhöhung des interstitiellen Kollagens. Diese Ausdifferenzierung vollzieht sich vermutlich auf molekularer Ebene schon nach kurzer Expositionszeit aufgrund einer erhöhten intrazellulären Calcium-Menge, der Aktivierung der Proteinkinase A und einer reduzierten Expression des Wachstumsregulators c-myc mRNA.

Ross (154) exponierte Ligament-Fibroblasten von Hasen elektromagnetischen Feldern. Abhängig von den Signalparametern Amplitude, Frequenz und dem DC-Magnetfeld konnte er teils eine Inhibition, teils eine Stimulation der Zellproliferation nachweisen.

Schimmelpfeng und Dertinger (165) konnten nach 60-minütiger Exposition von virustransformierten, embryonalen Mäusefibroblasten (SV40-3T3) und Promyelozyten der Zelllinie einer akuten Leukämie (HL-60) im sinusoidalen Magnetfeld (2 mT, 50 Hz) lediglich vorübergehende Effekte in Form von Zellzahlunterschieden aufzeigen. Ein verminderter Überlebensanteil oder eine erhöhte Apoptosefraktion war nicht zu beobachten.

Im Gegensatz dazu steht eine Vielzahl von Studien, die keine Magnetfeld-Effekte auf die Proliferation von Zellen nachweisen konnten.

Keine quantitativen Effekte auf das Zellwachstum wurden bereits 1966 von Greene und Halpern (65) nachgewiesen. Sie exponierten poliploide (Mensch) und diploide (Chinesischer Hamster, Hühnerembryo, Mensch) Zellen einem schwachen Magnetfeld für vier Tage und konnten anschließend keinerlei Differenzen der Zellmengen feststellen.

In den Versuchen von Norimura et al. (131) wurden periphere humane T-Lymphozyten für bis zu 60 h starken statischen Magnetfeldern bis 6,3 T ausgesetzt. Dabei konnten bis einschließlich 2 T nur sehr geringe Veränderungen in der Wachstumsrate festgestellt werden. Bei den Lymphozyten, die zuvor mit dem Wachstumsstimulans Phytohämagglutinin (PHA) behandelt worden waren, zeigte sich allerdings nach dreitägiger Exposition (4 bzw. 6 T) ein deutlicher Rückgang im Wachstum von 22 bzw. 37 %; jedoch von nur vorübergehender Dauer. Außerdem konnten die Autoren eine ver-

stärkte Radiosensitivität der Zellen nach zusätzlicher Magnetfeldexposition (6,3 T; 24 h) nachweisen.

Wiskirchen et al. (190, 191) exponierten humane fetale Fibroblasten (HFL) verschiedenen statischen Magnetfeldern (0,2 T, 1,0 T und 1,5 T), was sich jedoch nicht auf Wachstumsverhalten der Zellen auswirkte.

Ebenso konnten Sato et al. (159) in ihren Experimenten mit humanen Gingiva-fibroblasten und exponentiell wachsenden jungen HeLaS3-Zellen, die einem inhomogenen statischen Magnetfeld (0,3 bzw. 1,1 T) 96 bzw. 48 h lang ausgesetzt waren, keine Einflüsse auf die Proliferation beobachtet werden.

Wie auch Rodegerdts et al. (150), die fetale humane Lungenfibroblasten einem elektromagnetischen Wechselfeld (500 und 75 Hz; 2 mT) für 2 bis 24 Stunden exponierten. Bis drei Wochen nach Befeldung zeigten sich keine Differenzen bezüglich des Wachstums von exponierten und nicht-exponierten Zellen.

5.4.2.2 Differenzierung

Levin und Ernst (95) exponierten Seeiglembryonen einem statischen (4 mT) und einem elektromagnetischen Feld (3,4 - 8,8 mT; 60 Hz) und konnten eine beschleunigte erste und zweite Zellteilung nachweisen. Als Ursache hierfür vermuteten die Autoren eine verkürzte Mitose, analysierten jedoch leider nicht die Zellzyklusverteilung.

Dagegen beschrieben Schimmelpfeng und Dertinger (165) nach einer Stunde Befeldung (2 mT; 50 Hz) von Mäusefibroblasten (SV40-3T3) und humanen Promyelozyten (HL-60) schwach signifikante Veränderungen in der G₁- und S-Phase, wobei der G₁-Anteil bei den Mäusefibroblasten gesteigert, bei den humanen Promyelozyten vermindert war; zusätzlich zeigten die Mäusefibroblasten einen geringen Anstieg der S-Phase-Population. Die Ergebnisse sind leider nur bedingt aussagekräftig, da die CO₂-Versorgung der Zellen während der Magnetfeldexposition ausblieb, und deshalb möglicherweise die Aufrechterhaltung des pH-Wertes nicht garantiert wird. Damit könnten die Differenzen zur Kontrollgruppe durchaus auf diesen methodischen Mangel zurückzuführen sein.

Doch auch Cridland et al. (37) konnten nach bis zu 30-stündiger Befeldung bei 20 µT bzw. 200 µT und 50 Hz Flussdichte von humanen fetalen Lungenfibroblasten (HF-19) eine kleine, aber signifikante Verlängerung der G₁-Phase beobachten. Bei höheren Flussdichten (2 und 20 mT) zeigte sich jedoch kein signifikanter Effekt auf die Zellzyklusverteilung.

Auch im statischen Magnetfeld wurden Effekte nachgewiesen. So stellten Weik et al. (186) bei humanen embryonalen Fibroblasten eine G_1 - und bei Vollblutkulturen eine G_2 -Arretierung fest, nachdem die Zellen einem statischen Magnetfeld der Flussdichte von 1,0 T über 48 - 72 Stunden ausgesetzt waren. Allerdings finden sich derzeit keine genauen Angaben zu den Expositionsbedingungen dieses Experiments, sodass über mögliche Störgrößen wie Temperatur und pH-Wert, die die Proliferation beeinflussen könnten, nur spekuliert werden kann.

Ebenso setzten Raylman et al. (141) drei maligne Zelllinien einem uniformen, statischen Magnetfeld mit der Flussdichte 7 T über 64 Stunden aus (s. o.). Dabei zeigten sich lediglich bei den Ovarialkarzinomzellen Verteilungsdifferenzen in Form eines verminderten G_1 -Phase-Anteils verbunden mit mehr Zellen in der S-Phase im Vergleich zu den Kontrollzellen. Hierbei sollte jedoch berücksichtigt werden, dass transformierte Zellen offensichtlich nicht über eine intakte Regulation der Proliferation und Differenzierung verfügen.

Einige Experimente auf diesem Gebiet ergaben aber auch keine Magnetfeldwirkungen auf die Zellzyklusverteilung.

Wiskirchen et al. (190, 191) konnten nach wiederholten Expositionen im statischen Magnetfeld (0,2 T; 1,0 T; 1,5 T) von humanen, fetalen Lungenfibroblasten keinerlei Wirkungen in den Zellzyklusanalysen erkennen.

In Experimenten mit der gleichen Zellart von Rodegerdts et al. (150) wurden die Zellen unter Ausschaltung des statischen Magnetfeldes sowie von Radiofrequenzpulsen einem trapezoiden elektromagnetischen Wechselfeld (2 mT; 75 und 500 Hz) über zwei Stunden ausgesetzt (s. o.). 36 Stunden nach der Magnetfeldexposition waren keinerlei signifikante Differenzen in der Zellzyklusverteilung zwischen exponierten und nicht-exponierten Zellen zu beobachten.

5.4.2.3 Zusammenfassung

Die genannten Studien legen nahe, dass das Wachstumsverhalten prinzipiell durch elektromagnetische Felder beeinflusst werden kann. Dabei überwiegen die Studien, die eine Wachstumsinhibition zeigten. Es ist jedoch unzulässig, die Effekte der Studien an tierischen Zellen direkt auf den Menschen zu übertragen, da wir Menschen auf Zellebene teilweise über völlig andere Reparaturmechanismen, Enzyme, Ionenkanäle, usw. verfügen. Außerdem muss zusätzlich von einer unterschiedlichen Sensitivität gegenüber

Magnetfeldern ausgegangen werden. Ähnliche Probleme stellen sich bei den Arbeiten mit transformierten Zellen, bei denen Regulationsdefekte im Vordergrund stehen. Werden wiederum nicht-fetale bzw. nicht-embryonale Zellen verwendet, können möglicherweise Effekte übersehen werden, die in der Fetal- bzw. Embryonalperiode deutlich in Erscheinung treten würden. Selbstverständlich muss hierbei unter Fetalzellen, deren Stoffwechselfvorgänge weitaus anfälliger gegenüber Störgrößen sind als die weitestgehend abgeschlossene Organogenese, und Embryonalzellen, die sich in der sensitiven Phase der Organanlage befinden, differenziert werden. Ebenso sollten die Expositionsbedingungen nicht allzu stark von den klinischen Rahmenbedingungen abweichen. Eine Tendenz, dass bei langer Expositionsdauer (186) oder sehr hohen Flussdichten (199) Effekte zumindest temporär entstehen, ist zu erkennen.

Auffallend sind jedoch die geringe Anzahl der molekularbiologischen Studien, die sich mit der Proliferation bzw. Differenzierung von Zellen beschäftigen, sowie die widersprüchlichen Ergebnisse, die wahrscheinlich auf mangelnde Standardisierung und falsche Zellauswahl zurückzuführen sind (98). Deshalb muss eine endgültige Beurteilung der potentiellen Magnetfeld-Wirkung auf die Zellproliferation und -differenzierung ausbleiben, wobei der fehlende Nachweis von Wirkungen in zahlreichen Studien einen deterministischen, d. h. von der Dosis oder Expositionsdauer abhängigen, nicht zufallsverteilten Effekt letztlich wenig wahrscheinlich macht.

5.5 Vorliegende Studie

Die Diskrepanzen in den derzeit existierenden Studienresultaten waren der Anlass, die vorliegende Studie durchzuführen. Dabei wurde versucht, systematische Fehler wie fehlende Standardisierung der Kulturbedingungen oder Testverfahren an transformierten bzw. nicht-humanen Zellen zu vermeiden.

5.5.1 Standardisierung der Expositionsbedingungen

Experimente, die unter suboptimalen methodischen Bedingungen durchgeführt worden sind - besonders in früheren Veröffentlichungen festzustellen - können falsch positive Ergebnisse vortäuschen und zur gesamten Heterogenität in diesem Themenkomplex beitragen.

5.5.1.1 Die Kontrollkulturen

Durch Kontrollkulturen, die exakt in gleicher Weise behandelt wurden - eben nur nicht dem Magnetfeld ausgesetzt waren - konnten die meisten anderen potentiellen Einflussgrößen, wie beispielsweise Verfälschungen aufgrund des Zelltransports vom Brutschrank zum Inkubationkasten unter dem MR-Tomographen und zurück, minimaler Inkubationsunterschiede zwischen Brutschrank und Expositionskasten, diskreten Altersunterschieden der Zellen in verschiedenen Experimenten, Schwankungen in der Aufarbeitung zwischen den einzelnen Versuchen etc. eliminiert werden.

Die Aufarbeitung der beiden Zellgruppen erfolgte stets unter gleichen Bedingungen, d. h. immer die gleichen beiden Personen arbeiteten parallel mit gleicher Technik in abwechselnder Reihenfolge Kontroll- und Expositionszellen auf. Dadurch konnten systematische Fehler aufgrund individueller Unterschiede in der Aufarbeitungstechnik, wie sie auch trotz standardisierter Abläufe aufgrund individueller Handhabung entstehen, vermieden werden.

5.5.1.2 Das Inkubationssystem

Durch einen sorgfältigen Versuchsaufbau wurde sichergestellt, dass die Zellkulturen auch während der Exposition im Magnetfeld den standardisierten Bedingungen eines Begasungsbrutschranks ausgesetzt waren. Nur so ist gewährleistet, dass geringe Effekte nachgewiesen und reproduziert werden können, andererseits aber auch mögliche Effekte nicht durch andere Einflüsse wie Temperaturunterschiede oder pH-Wert-Änderungen vorgetäuscht werden, oder aber dass geringe Effekte der Magnetfeldexposition durch Änderungen der Temperaturhomöostase oder Gasatmosphäre nicht maskiert werden. (vgl. 3.2).

5.5.1.3 Die Magnetfeldkomponente

Exponiert man Zellkulturen einer diagnostischen MRT-Sequenz, werden die Kulturen sowohl einem statischen und einem wechselnden Gradientenmagnetfeld als auch hochfrequenten Radiofrequenzen (RF-Pulse) ausgesetzt. Sollten biologische Effekte nachgewiesen werden, kann dann nicht entschieden werden, welches dieser (Elektro-) Magnetfelder der Auslöser war. (150). Deshalb wurde in der vorliegenden Studie die Sequenz auf ein Minimum reduziert, indem nur ein einziger Gradient einer einfachen Wellenform unter Ausschluss sowohl des statischen als auch des Hochfrequenzfeldes

eingesetzt worden war. Hierzu eignet sich der MR-Tomograph Magnetom Open, da die statische Magnetfeldkomponente B_0 gänzlich abschaltbar ist.

In Anbetracht der unterschiedlichen Studienresultate bzw. Expositionsbedingungen wird deutlich, dass Experimente zur Teratogenität der Magnetresonanz nur dann weiterführende Aspekte bringen, wenn die Magnetfeldkomponenten separat untersucht werden. So gelang es Mevissen et al., parallel die Einflüsse eines statischen (30 mT) und eines zeitlich veränderlichen Magnetfeldes (50 Hz) auf die Fortpflanzung und die fetale Entwicklung von Ratten getrennt voneinander zu untersuchen. Dies ermöglichte es ihnen, teils gemeinsame, teils unterschiedliche Effekte der beiden Magnetfeldkomponenten aufzuzeigen (117). Erst im zweiten Schritt, wenn eine ursächliche Beteiligung der einzelnen Komponenten ausgeschlossen ist, würde dann interessieren, inwieweit sich die verschiedenen Magnetfelder beeinflussen und biologische Wirkungen forcieren (9, 168). Ein solches Zusammenspiel, nämlich das zwischen statischen (bis 0,25 mT) und sinusoidalen (60 - 1000 Hz) Magnetfeldern, interessierte Blumenthal et al. (15). Sie exponierten Fibroblasten von Rattensehnen (RTF) und Osteoprogenitorzellen aus Rattenknochenmark (RBM) und beobachteten signifikante Effekte auf den Zellstoffwechsel und die Zellmorphologie. Zudem existieren Vermutungen über etwaige Interferenzen der Felder mit dem Kulturmedium (91, 121). Diese beiden Magnetfeldkomponenten kombiniert scheinen auch - im Gegensatz zu ihrer isolierten Wirkung - Einfluss auf Kalzium-Signalwege in Form eines verminderten Zuflusses von Ca^{2+} auszuüben (197).

Des weiteren können nur diejenigen Versuche wirklich miteinander verglichen werden, die unter exakt gleichen Befeldungsbedingungen, d. h. gleiche Feldkomponente, Feldstärke etc., stattfanden (81). Nur unter vergleichbaren Umgebungsbedingungen könnten auch die Vermutungen bezüglich einer Abhängigkeit der Bioeffekte von diesen einzelnen Expositionsparametern bestärkt werden. So werden beispielsweise spezifische Fenstereffekte bezüglich der Flussdichte diskutiert. Die Möglichkeit, dass Zellen bei bestimmten bzw. höheren Feldstärken sensitiver reagieren, konnte zwar teilweise beobachtet werden (11), lässt sich bislang jedoch nicht theoretisch erklären (36, 199).

So sei auch darauf hingewiesen, dass nahezu alle Arbeiten zu zeitlich veränderlichen Gradientenfeldern mit sinusoidalen Wechselfeldern arbeiteten. Die Gradientenschaltungen der klinischen MRT sind aber trapezförmig, weshalb in der vorliegenden Studie - im Hinblick auf eine bestmögliche Vergleichbarkeit - diese Wellenform Verwendung fand. Auch dieser Parameter schränkt somit den direkten Vergleich zu Studien mit trapezoiden Wechselfeldern ein.

Nicht unbeachtet sollte auch der Aspekt des inhomogenen Erdmagnetfeldes (gemittelt 30 - 70 μT) bleiben, das durch ein äquatoriales Kreisen von elektrischen Ladungen im Erdinneren entsteht. Es weist in der Umgebung der Pole eine höhere Flussdichte auf als im Bereich des Äquators, zusätzlich unterliegt es örtlichen Schwankungen (zwischen 10 und 100 μT) (19, 147). Beides kann zu unterschiedlichen Expositionsbedingungen z. B. zwischen Expositions- und Kontrollgruppe führen und ursächlich an einer Maskierung von Effekten beteiligt sein.

5.5.2 Wahl der Zellen

In allen Experimenten wurden fetale, humane Lungenfibroblasten eingesetzt. Fibroblasten zeichnen sich durch eine äußerst gute Kultivierbarkeit aus.

Es wurden humane Zellkulturen verwendet, da die Übertragung von Ergebnissen aus Zellkulturen humaner Zellen zur Einschätzung des Risikos für den Menschen als geeigneter angesehen wurde als die Übertragung von Ergebnissen, die aus Tierzellkulturen gewonnen wurden.

Die Zellen waren zusätzlich nicht-transformiert und genetisch intakt. Genetisch transformierte Zellen hingegen können nach einer Magnetfeldexposition völlig unterschiedliche bzw. empfindlichere Reaktionen zeigen, die sich beispielsweise in einer Induktion von Apoptose und genotoxischen Effekten äußern können (175). Ferner fällt auf, dass viele der Studien mit transgenen Tieren oder Tumorzelllinien positive Resultate aufweisen; so liegt der Verdacht nahe, dass diese Zellen empfindlicher oder in anderer Weise auf eine Magnetfeldexposition reagieren als nicht veränderte Zellen (175).

Eine fetale Zelllinie bietet den großen Vorteil, dass sich die Zellen in einer sehr sensiblen Entwicklungsphase befinden und möglicherweise anfälliger gegenüber einer Magnetfeldexposition reagieren. Eine noch höhere Sensibilität dürfte bei embryonalen Zellen zu erwarten sein; dieses Zellalter geht mit dem größten Teil der Organogenese einher. Eine Begründung für das Ausbleiben von Bioeffekten in der vorliegenden Arbeit könnte deshalb allerdings die von Cameron et al. (27) aufgestellte Hypothese sein, die besagt, dass es lediglich bereits im Morula-Stadium der frühen Embryogenese zu Interaktionen zwischen schwachen elektromagnetischen Feldern und den Zellen käme. So wären im nächsten Schritt Experimente mit humanen, embryonalen Zellen bzw. Stammzellen sinnvoll. Dies ist ethisch aber nicht ganz unbedenklich.

5.5.3 Versuchskriterien

5.5.3.1 Zellzyklusanalysen

Wie bereits vorliegende Studienergebnisse gezeigt haben, scheinen keine genotoxischen Effekte zu erwarten sein. Deshalb wurde als ein sehr wichtiges Kriterium hinsichtlich einer teratogenen Wirkung elektromagnetischer Felder das Proliferationspotential der Zellen gewählt. Es wurden Zellzyklusanalysen durchgeführt, um die prozentuale Verteilung der Zellen auf die einzelnen Zellzyklusphasen zu ermitteln, und die Zellen auf kleinste Veränderungen im Mitosezyklus nach Befeldung, wie beispielsweise temporäre Zyklusblockaden, die mit herkömmlichen Langzeit-Proliferationsanalysen nicht nachzuweisen sind, zu untersuchen. Dadurch ist es möglich, Aussagen über das Wachstumsverhalten und die DNA-Synthese zu treffen. Außerdem erschien diese genauere Methode sehr interessant, weil bereits mehrere Forscher Veränderungen im Zellzyklus nach Befeldung mit Wechselfeldern angaben (37, 165).

Es ist aber durchaus möglich, dass relativ kleine Effekte auf zellphysiologischer Basis (z. B. Signaltransduktion, Gentranskription) (62, 99, 100, 138, 185) keine merklichen Auswirkungen auf die zellulären „Endstrecken“ wie Zellzyklusverteilung, Proliferation oder Zellteilung haben, jedoch in Verbindung mit anderen Faktoren registrierbare biologische Veränderungen bewirken (36). Zu diesen Faktoren könnten beispielsweise die Entstehung von Lärm und Vibration während der MRT oder das verbleibende Streufeld in der MRT-Umgebung zählen (150). Ebenso wurden bereits verstärkte Effekte in Kombination mit ionisierender Strahlung beschrieben (73, 122, 199). Durch das exakte, standardisierte Arbeiten mit Kontrollzellen wurde in der beschriebenen Studie jedoch versucht, diese Faktoren zu eliminieren (vgl. 5.5.1).

5.5.3.2 Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ermöglicht stabile Analysen mit hoher Zellzahl. Dies wiederum ist grundlegend für eine gute, aussagekräftige statistische Auswertung.

Außerdem stellt sie eine sehr sensitive Methode dar, um kleinste Veränderungen der Verteilung im Zellzyklus erkennen zu können (vgl. 3.4.3). Andererseits zeigt sie aufgrund ihrer hohen Sensibilität eine Anfälligkeit, auch auf andere äußere Störfaktoren zu reagieren und diese zu detektieren. So besteht die Gefahr, durch andere bzw. zusätzliche Faktoren die eigentlichen Magnetfeldwirkungen zu maskieren bzw. vorzutäuschen.

5.5.3.3 Frequenzen

Da in der unmittelbar vorausgegangenen Studie von Rodegerdts et al. (150) allerdings stets mit den gleichen beiden Frequenzen (75 Hz und 500 Hz) befeldet wurde, ergab sich für die vorliegende Arbeit u. a. die Aufgabe, durch Befeldung mit Wechselfeldern unterschiedlicher Frequenz mögliche Fenstereffekte - Bereiche höherer Sensibilität der Zellen - hinsichtlich einer Frequenzabhängigkeit aufzudecken. In den Experimenten wurde dabei die gesamte Breite der klinisch relevanten Frequenzen der Gradienten, somit auch die in der Übertragung elektrischer Energie gebräuchlichen (50 Hz und 60 Hz), abgedeckt. In den Langzeitversuchen wurde eine gängige Frequenz (75 Hz) gewählt, die im klinischen Alltag bei MR-Untersuchungen und im Zusammenhang mit elektrischer Energie Verwendung findet, andererseits aber in früheren Arbeiten bislang eher selten benutzt wurde.

Das wohl bislang am gründlichsten untersuchte „Frequenzfenster“ dürfte das im Bereich von 50/60 Hz sein, insbesondere aufgrund des steigenden Interesses an elektromagnetischen Feldern in der Umwelt, wie beispielsweise im Umfeld von elektrischen Geräten oder Stromleitungen.

5.5.3.4 Die Expositionsdauer

Es scheint eine Abhängigkeit biologischer Effekte bezüglich der Expositionsdauer zu existieren (2, 95, 186). Deshalb sollte man in den Experimenten - auch angesichts der Vergleichbarkeit zur klinischen Patientenuntersuchung - den Zeitrahmen beachten.

Diesbezüglich wurden die vorliegenden Experimente in Form einer Kinetik durchgeführt. Nach Magnetfeldexpositionen von 2, 8, 16 und 24 Stunden wurde aufgearbeitet, um sowohl mögliche kurzfristige biologische Effekte als auch langfristig schädigende Wirkungen aufdecken zu können. Der Vorteil einer Langzeitbefeldung liegt auch darin, kleine Effekte unterhalb der Nachweisgrenze, wie sie möglicherweise bei kurzzeitigeren Expositionen entstehen könnten, durch Summierung über einen längeren Zeitraum zu registrieren. Außerdem ist im Falle von ausbleibenden Wirkungen im Langzeitversuch ein ebensolches Ergebnis erst recht bei Kurzzeitbefeldungen sehr wahrscheinlich. Dabei sei jedoch darauf hingewiesen, dass zelluläre Bestandteile, wie z. B. Enzyme, Kontrollgene, Ionenkanäle, zwar primär von den Magnetfeldern beeinflusst werden können, anschließend aber Regulations- und Reparaturmechanismen eingeschaltet werden könnten, die einen Nachweis dieser Effekte unmöglich machen könnten. Allerdings ist der

Kenntnisstand über diese Zellfunktionen noch unzureichend, um sie in die Überlegungen bezüglich der Expositionsdauer einfließen lassen zu können (53).

Selbst die 24-stündige Exposition ergab in der beschriebenen Arbeit keinerlei signifikante Veränderungen im Hinblick auf die Zyklusverteilung fetaler Zellen.

Um Auswirkungen dieser Befeldungsdauer nochmals zu evaluieren und auch, weil dieser Zeitrahmen häufig den Routineuntersuchungen einer MRT entspricht, wurden die frequenzabhängigen Experimente jeweils zweistündig durchgeführt.

5.5.4 Vergleich der vorliegenden Ergebnisse mit denen anderer Studien

Grundsätzlich sollte man die unterschiedlichen Versuchsbedingungen der jeweiligen Studien im Hinblick auf deren Vergleichbarkeit beachten (27, 81). Letztendlich sind nur diejenigen Experimente direkt miteinander vergleichbar, die unter exakt den gleichen Bedingungen durchgeführt worden sind. Für einen direkten Vergleich mit der vorliegenden Arbeit lassen sich nur sehr wenige Studien finden, die sowohl mit humanen Fibroblasten experimentierten als auch Einflüsse des elektromagnetischen Feldes evaluierten:

Liboff et al. (97) setzten humane, embryonale Fibroblasten einem sinusoidalen Gradientenfeld verschiedener Frequenzen (15 Hz bis 4 kHz) und Amplituden (2,3 μ T bis 56 mT) aus. Daraus resultierte eine verstärkte DNA-Synthese verbunden mit einem vermehrten Thymidin-Einbau.

Rodemann et al. (151, 152) arbeiteten mit normalen, nichttransformierten, humanen Haut- und Lungenfibroblasten und fanden heraus, dass ein biphasisches, sinusoidales Wechselfeld (20 Hz, 6 mT) bei einer Exposition von 2 x 6 h täglich 7 bis 21 Tage lang zu einer frühzeitigen terminalen Differenzierung und Wachstumsinhibition der Zellen führen kann.

Rodegerdts et al. (150) dagegen experimentierten mit einem trapezoiden Wechselfeld (75 und 500 Hz, 2 mT) und humanen, fetalen Lungenfibroblasten. Bis zu 3 Wochen nach 2- bis 24-stündigen Befeldungen konnten die Autoren keine Veränderungen bezüglich des Proliferationsverhaltens und der Zellzyklusverteilung feststellen. Dies ist die einzige Studie, die sich ebenfalls mit den Auswirkungen isolierter trapezoider Gradientenfelder auf das Wachstumsverhalten humaner Lungenfibroblasten befasste.

Ebenso konnten Cridland et al. (36) in ihrer Studie, in der sie normale, humane Fibroblasten für bis zu 30 h einem elektromagnetischen Feld (0,02 mT bis 20 mT, 50 Hz) exponierten, keine Einflüsse auf die DNA-Synthese nachweisen; in weiteren Experimenten (37) dafür aber auf die Zellzyklusverteilung. Hier induzierten elektromagnetische Felder bei 20 μ T und 200 μ T und einer Flussdichte von 50 Hz eine verlängerte G₁-Phase; interessanterweise war dieser Effekt bei 2 mT und 20 mT jedoch wieder verschwunden.

Für all diese Berichte über schädigende Prozesse konnten jedoch keine nachfolgenden Studien die gleichen Ergebnisse reproduzieren, so dass im Moment kein endgültiger, wissenschaftlicher, direkter Zusammenhang zwischen ELF-Magnetfeld-Exposition und teratogenen Störungen auf der zellulären Ebene von Fibroblasten bewiesen ist.

Aufgrund der oben beschriebenen Resultate (vgl. Kap. 4) konnte in der vorliegenden Studie nicht auf zeit- oder frequenzabhängige Fenstereffekte geschlossen werden. Es sollte aber bedacht werden, dass möglicherweise Fenstereffekte bezüglich anderer Faktoren (Feldstärke, Amplitude, Zellalter etc.) zustande kommen könnten.

Auffällig ist in den frequenzabhängigen, zweistündigen Versuchen die hohe Anzahl der Zellen, die sich in der S-Phase befinden (vgl. Abb. 11 - 16). Nach den Langzeitbefehlen hingegen befanden sich die meisten Zellen in der G₁-Phase. Eine Verminderung der syntheseaktiven Zellen mit dem Alter der Zellkultur ist aufgrund der Wachstumseigenschaft zur Konfluenz ein gewöhnliches Phänomen nicht-transformierter Zellen, in Zellkulturen mit regelmäßigem Passagewechsel jedoch unwahrscheinlich. Haben die Zellen erst einmal das Konfluenzstadium erreicht, differenzieren sie zu postmitotischen Fibrozyten in der G₀-Phase (Ruhephase), die sie nicht wieder verlassen können. Die wahrscheinlichere Erklärung für dieses Phänomen dürfte in der Synchronisation der Zellkulturen zu suchen sein. Zum einen wirkt Passagieren synchronisierend auf die Zellen, zum anderen wurden sie dünn ausgesät sowie maximal stimuliert. Dies dürfte die hohe Anzahl der sich in der S-Phase befindlichen Zellen ausmachen. Diese Theorie bestätigt auch das mit der Zeit systematische Abnehmen der Zellanteile in der S-Phase mit einem gleichzeitigen Zuwachs der Zellen in der G₁-Phase (vgl. Langzeitversuche, Abb. 8 - 10). Im desynchronisierten Zustand nehmen die Zellen wieder die ursprüngliche Zyklusverteilung mit Überwiegen der Zellzahl in der G₁-Phase ein.

Zur Verifizierung einer entstandenen signifikanten Inhomogenität in der G₁-Phase zwischen exponierten und nicht-exponierten Zellen des 50 Hz-Versuchs aus der ersten Ver-

suchsreihe ($n = 14$; p -Wert 0.04) wurden Wiederholungsversuche durchgeführt. Dadurch wurde die Probenanzahl erhöht, und es zeigte sich ein eindeutig nicht-signifikantes Ergebnis ($n = 22$; p -Wert 0.66) (vgl. Kap. 4).

In den Resultaten der 24 h-Befeldung sind hingegen statistisch signifikante Differenzen zwischen den befeldeten Zellkulturen und der Kontrollgruppen zu erkennen (p -Werte: 0,01; 0,02; 0,01). Dabei finden sich Signifikanzen in allen drei Entwicklungsphasen des Zellzyklus. Die p -Werte deuten zwar auf eindeutige mathematische bzw. statistische Unterschiede hin, doch sollte bedacht werden, dass die in den Experimenten verwendeten Zellkulturen biologische Systeme darstellen, in denen durchaus Unterschiede im Sinne biologischer Schwankungen auftreten können, Differenzen bis zu 10 % sogar als natürlich betrachtet werden. Folglich sind solche Statistiken zwar ein Hinweis auf mögliche biopathologische Effekte, müssen aber dennoch immer im Rahmen eines biologischen Systems relativiert betrachtet werden. In der Grafik fällt beispielsweise eine optische Parallelität zwischen den zu vergleichenden Gruppen sofort ins Auge. Die dem auf den ersten Blick widersprüchlichen starken statistisch berechneten Differenzen können als Folge sehr geringer Varianzen entstehen, durch welche kleinste Unterschiede dann stark zum Tragen kommen. So können im mathematischen bzw. graphischen Vergleich beim 24 h-Experiment die weitaus geringsten Varianzen nachgewiesen werden. Die Frage nach der Ursache für eben diese außergewöhnlich kleine Bandbreite der Variabilität, die eigentlich Ziel jeglichen Experimentierens sein sollte, bleibt bisweilen unvollständig geklärt. Realistisch betrachtet sind diese biopathologischen Veränderungen durch die 24-stündige MRT-Befeldung extrem unwahrscheinlich. Zum einen sind in allen anderen Versuchen Signifikanzen ausgeblieben, ganz besonders eindeutig beim zweitlängsten Experiment, der achtstündigen Befeldung. Zum anderen wären biopathologische Effekte im Sinne einer gesteigerten Syntheserate zu befürchten. Die vorliegenden Signifikanzen zeigen allerdings den gegenteiligen Effekt: die Syntheserate wurde durch die MRT-Befeldung verringert. Sollten tatsächlich derartige Bioeffekte vorkommen, wären diese längst nicht als teratogen zu betrachten. Auch sei an die lange Expositionsdauer hingewiesen. Im Rahmen der klinischen magnetresonanztomographischen Untersuchung befindet sich der Patient in der Regel nicht länger als zwei Stunden im Magnetfeld. Abgesehen davon sind Effekte, die durch äußere Einflüsse, wie beispielsweise Transport und Aufbereitung der Zellkulturen, verursacht werden können, in ihrer Entstehung weitaus wahrscheinlicher.

In allen anderen durchgeführten Experimenten konnten mit p-Werten zwischen 0,20 und 0,94 keine signifikanten Differenzen in den Differenzierungseigenschaften zwischen Expositions- und Kontroll-Zellkulturen nachgewiesen werden (vgl. Tab. 1).

So sind die vorliegenden Inhomogenitäten am ehesten auf biologische Schwankungen oder Messfehler zurückzuführen, zumal die Verteilung der signifikanten Effekte keine Rückschlüsse auf einen logischen Zusammenhang oder systematischen Fehler zulässt. Die Abweichungen traten nicht konsistent auf, sondern zeigten sich unterschiedlich in einer verlängerten G₁-, S- oder G₂-Phase. Auch die kleinen nicht-signifikanten Unterschiede sind am ehesten auf geringgradige Differenzen in der Ausarbeitung aufgrund minimaler Unterschiede der individuellen Handhabung innerhalb und zwischen den Forschern zurückzuführen, wobei versucht wurde, diese Fehlerquelle durch koordiniertes, standardisiertes Arbeiten unter kontrollierten Bedingungen der stets gleichen beiden Personen auf ein Minimum zu reduzieren. Sehr empfindlich reagieren Zellen auch auf geringe Abweichungen der CO₂-Konzentration. So könnten Momente kurzer CO₂-Schwankungen, wie bei der Einstellung des CO₂-Optimums, kleine Effekte verursacht haben. Eine weitere Fehlerquelle könnten die Faktoren Lärm und Vibration darstellen, die unabhängig von der Befeldung in höherem Maße bei den exponierten Zellen auftreten. Es konnte sogar bereits gezeigt werden, dass diese Faktoren schädigend auf die Keimentwicklung wirken können (126). Die geringgradigen Differenzen in der Zyklusverteilung der Zellen könnten aber auch auf ein unterschiedliches Alter bzw. Wachstumsverhalten hinweisen. Diesbezüglich wurde z. B. nicht auf die genaue Tageszeit der Zellaussaat vor den Befeldungen geachtet, sondern aus organisatorischen Gründen lediglich die Vorgabe des Zeitpunktes der Aussaat von zwei Tagen vor der Befeldung eingehalten. Demzufolge sind minimale Altersunterschiede der Zellen und dadurch verschiedene Vermehrungsgrade bis hin zum frühen Konfluenzstadium, verbunden mit einer Wachstumshemmung, nicht gänzlich auszuschließen, wobei die Zellen selbstverständlich vor jedem Experiment auf eine noch nicht eingetretene Konfluenz, welche eine Kontaktinhibition zur Folge hätte, inspiziert worden sind. Erklären würden minimale Altersunterschiede jedoch nur Differenzen zwischen den einzelnen Experimenten; beide Zellgruppen innerhalb eines Versuches waren aber stets gleich alt. Auch heute ist es selbstverständlich möglich, dass Mechanismen an Bioeffekten beteiligt sind, die momentan noch unentdeckt sind.

Aus den vorliegenden Daten wurde geschlossen, dass Gradientenfeldexpositionen (0,5 T) verschiedener Frequenzen (50 bis 100 Hz) und Dauer (2 bis 24 h) keine wesentlichen wachstumsmodulierenden Effekte von fetalen humanen Lungenfibroblasten-Kulturen ausüben, Aussagen über ein gänzlich fehlendes schädigendes Wirkungspotential sind jedoch aus statistischer Sicht nicht möglich. Da die magnetischen Feldstärken der neuen MR-Techniken und -Geräte immer weiter ansteigen, und sich das Indikationsspektrum für die MRT immer weiter ausweitet, besteht weiterhin Bedarf, das Risikopotential elektromagnetischer Bioeffekte durch die MRT zu untersuchen.

5.6 Therapeutische Relevanz elektromagnetischer Felder und Richtlinien

5.6.1 Therapeutische Relevanz elektromagnetischer Felder

Elektromagnetische Felder haben inzwischen auch therapeutische Relevanz, wie beispielsweise auf dem Gebiet der Knochenheilung. Bringt man Spulen in der Nähe des Frakturspaltes an, so soll es zu einem beschleunigten Heilungsprozess durch vermehrte Kalzium- und Kollagenbildung kommen (134). Der genaue Wirkmechanismus ist jedoch bislang nicht vollständig geklärt (67). Garcia und Madronero de la Cal (57) konnten einen verminderten Knochenkalziumgehalt bei Kaninchen nachweisen, die vom Erdmagnetfeld abgeschirmt worden waren; zurück in ihrer natürlichen Umgebung hingegen war ein verstärkter Mineralisierungsprozess zu erkennen. Außerdem soll ein kontinuierliches Magnetfeld die Teilungsaktivität von Osteoblasten herabsetzen und dadurch eine beschleunigte Ausdifferenzierung und Heilung bewirken. Diese Feststellung wirft allerdings die Frage auf, ob die mehrmalige Exposition eines im Wachstum befindlichen Organismus zum Proliferationsstop der mesenchymalen Zellen und damit zur Wachstumsretardierung führen kann. Garcia postulierte auch, dass niederfrequente Magnetfelder zur Stimulation der Fibroblasten- und Osteoblasten-Synthese, hochfrequente Magnetfelder dagegen zur Stabilisation von Osteozyten führten. Fitzsimmons et al. (50) entdeckten bei der Exposition von Osteosarkom-Zellen im elektromagnetischen Feld (15,3 Hz; 15 μ T) eine signifikant erhöhte Rezeptorzahl des Wachstumsfaktors IGF2 bei gleichzeitiger Abnahme der Rezeptoraffinität. Wachstumsfaktoren wie dieser können durch Aktivierung von Osteoblasten die Frakturheilung beschleunigen. Die

gleichzeitig verminderte Affinität dagegen deutet eher auf eine gestörte Knochenbildung hin.

In der Studie von Bassett et al. (8) wird auf eine große Anzahl von möglichen, zum Teil gesicherten therapeutischen Effekten hingewiesen. So seien positive Resultate auf dem Gebiet von Muskel- und Skelettstörungen, Frakturen, Nervenregeneration, Wundheilung, Diabetes, Transplantation, myokardialer und cerebraler Ischämie sowie möglicherweise malignen Erkrankungen erzielt worden. Auch ein potentiell protektiver Effekt elektromagnetischer Felder gegen UV-Strahlung konnte bei Hühnerembryonen bereits beobachtet werden (41).

5.6.2 Richtlinien und Empfehlungen

Die epidemiologischen Studien über teratogene Wirkungen von ELF-Magnetfeldern bildeten die Grundlage zur Festlegung von Richtlinien und Grenzwerten (vgl. 5.2.2).

Am 1. Januar 1997 ist die Verordnung über elektromagnetische Felder - 26. BImSchV vom 16. Dezember 1996 in Kraft getreten (Sechszwanzigste Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes) (25). Hiermit legte sich die Bundesregierung zum ersten Mal bezüglich „Anforderungen zum Schutz der Allgemeinheit und der Nachbarschaft vor schädlichen Umwelteinflüssen und zur Vorsorge gegen schädliche Umwelteinflüsse durch elektromagnetische Felder“, wie sie im Bereich von Hoch- und Niederfrequenzanlagen entstehen, fest.

Die Strahlenschutzkommission (SSK) des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit hat daraufhin ihre Empfehlungen veröffentlicht (178). Hier wurden die Grenzwerte für beruflich Exponierte auf 10 kV/m (elektrische Feldstärke) bzw. 0,5 mT (magnetische Flussdichte), für die Normalbevölkerung auf 5 kV/m bzw. 0,1 mT pro Tag festgelegt.

Für Expositionen in statischen Magnetfeldern entwickelte 1987 das US Lawrence Livermore National Laboratory Richtlinien (120). Als Grenzwert für Kurzzeit-Expositionen wurde schon damals der Wert von 2 T angegeben. Im selben Jahr veröffentlichte die World Health Organization (WHO) Empfehlungen für im Umfeld statischer Magnetfelder Arbeitende, in denen Gesundheitsschäden durch Felder unterhalb 2 T ausgeschlossen wurden (132). Ende 1993 entstanden die Beschränkungen des UK National Radiation Protection Board (NRPB) (16), 1994 die Expositionsstandards der American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) (76) und schließlich im selben Jahr die Empfehlungen der International Commission on Non-

Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) (146). Die dort angegebenen Richt- und Grenzwerte wurden von der Strahlenschutzkommission weitestgehend übernommen.

Da es der gegenwärtige Stand der Wissenschaft nicht erlaubt, Schwellenwerte für gesundheitsschädliche Effekte der MRT exakt anzugeben, wurde hierfür ein Zwei-Stufen-System von Richt- und Grenzwerten eingeführt:

- bei Normalbetrieb Exposition bis zu den Richtwerten, die als sicher gilt
- unter besonders kontrollierten Bedingungen (Risikogruppen) Exposition bis zu den Grenzwerten.

Die hier angeführten Werte basieren auf den aktuellen „Empfehlungen zur Vermeidung gesundheitlicher Risiken bei Anwendung magnetischer Resonanzverfahren in der medizinischen Diagnostik“ des Bundesamtes für Strahlenschutz von 1997 (177). Sie ersetzen die ehemaligen Empfehlungen des Bundesgesundheitsamtes (BGA) aus dem Jahre 1984 (24) und entsprechen den Publikationen der Institutionen NRPB, FDA und IEC.

5.6.2.1 Richtlinien und Empfehlungen für statische Magnetfelder

Bei Exposition in statischen Magnetfeldern wurde der *Richtwert* für Kopf und Rumpf auf die magnetische Flussdichte von 2 T festgelegt. Bei Exposition der Extremitäten sind 5 T als tolerabel anzusehen. Liegen die magnetischen Flussdichten oberhalb von 2 T bzw. 5 T (Extremitäten), muss der Patient in speziellem Maße überwacht werden.

5.6.2.2 Richtlinien und Empfehlungen für Gradientenfelder

Bei Gradientenfeldern werden keine schädigenden Effekte bis zu einer Änderung der magnetischen Flussdichte von 6 T/s bzw. einer elektrischen Feldstärke von 1 V/m erwartet. Dabei stellt die Vermeidung der Stimulation peripherer Nerven- und Muskelzellen das Kriterium für die *Richtwerte* dar. Für diese Richtwerte wurde ein Sicherheitsfaktor von mindestens 3 einbezogen. Das Kriterium für die *Grenzwerte* ist die Vermeidung einer Herzstimulation durch einen angemessenen Sicherheitszuschlag. Expositionen, welche die Richtwerte überschreiten, erfordern eine EKG-Überwachung. Als Grenzwert für Schaltintervalle länger als 3 ms gilt der Wert von 20 T/s bzw. 3 V/m. Für kürzere Schaltzeiten wird die Erwärmung zum begrenzenden Parameter. Es gelten dann abhängig von der Pulsdauer die Richt- und Grenzwerte der SAR (vgl. 5.6.2.3).

5.6.2.3 Richtlinien und Empfehlungen für Hochfrequenzfelder

Bei Hochfrequenzfeldern wurde der *Richtwert* für die thermische Belastung des Körpers auf 0,5 °C Temperaturzunahme für den ganzen Körper festgesetzt (besonders bei Patienten mit Herz-, Kreislauf- oder Thermoregulationsstörungen einzuhalten). Unter besonders kontrollierten Bedingungen (*Grenzwert*) ist eine Temperaturerhöhung des ganzen Körpers von 1 °C zulässig. Zur internationalen Vergleichbarkeit wurde als Maß für die thermische Wirkung die spezifische Absorptionsrate (SAR) in W/kg eingeführt. Der *Richtwert* kann mit absorbierten Hochfrequenzleistungen für den ganzen Körper bis durchschnittlich 1 Watt pro kg, der *Grenzwert* mit 2 Watt pro kg eingehalten werden. Aufgrund der ungleichförmigen Verteilung der Energieabsorption wurde eine SAR von 0,2 W/100 g für den Kopf, 0,4 W/100 g für den Rumpf und 0,6 W/100 g für die Extremitäten als *Grenzwert* festgesetzt. Bei schwach durchbluteten Organen (z. B. Augen, Hoden), sowie beim Embryo oder Fetus, deren Wärmeableitung durch die Plazentabariere gedrosselt wird, darf die lokale SAR einen Wert von 0,1 W/100 g nicht überschreiten. Teratogene Wirkungen gelten als ausgeschlossen, wenn die Temperatur des Ungeborenen 37,5 °C nicht überschreitet.

5.6.2.4 Ausschlusskriterien

Eine Untersuchung von Schwangeren im ersten Trimenon ist weitestgehend kontraindiziert, da hier die Organogenese stattfindet. Auch im weiteren Verlauf der Schwangerschaft sollte die MRT möglichst vermieden und nur unter strenger Indikationsstellung eingesetzt werden.

Ebenso sollten Säuglinge und Kleinkinder möglichst nicht der Untersuchung unterzogen werden, da sie thermointoleranter als Erwachsene reagieren und die Gefahr einer zu starken Körpererwärmung besteht.

Eine weitere Gefährdung stellt die Exposition von Patienten mit ferromagnetischen Implantaten dar, die durch das Magnetfeld verlagert werden und dadurch Verletzungen auslösen können. Die Befeldung von Patienten mit elektrisch gesteuerten Implantaten (z. B. Herzschrittmacher, Insulinpumpen, Defibrillatoren) birgt eine zusätzliche Gefahr, da die durch das Magnetfeld induzierten Ringströme ihre Funktion stören können, und ist somit ebenfalls kontraindiziert.

5.6.2.5 Kenntnisstand

Statische Magnetfelder bis 2 T - wie sie im klinischen Alltag gebräuchlich sind - scheinen keine gesundheitsgefährdenden Wirkungen auf den Menschen auszuüben. Dies haben langjährige, methodisch reproduzierbare Forschungen mit tierischen und humanen Zellen ergeben. Außerdem scheinen die biophysikalischen Prinzipien der Wirkmechanismen statischer Magnetfelder geklärt. Von einer generell bioeffektfreien Anwendung der MRT kann dennoch nicht ausgegangen werden. Deshalb sollten die Magnetfelder mit Flussdichten über 2 T vor einem klinischen Einsatz im entsprechenden Zellversuch mit humanen Zellen oder im Tierversuch auf nachteilige Wirkungen überprüft werden. Zusätzlich zum statischen Magnetfeld finden die Gradientenfelder in Form elektromagnetischer Felder klinische Anwendung. Hierzu wurde eine Reihe sehr unterschiedlicher oder gegensätzlicher Bioeffekte beschrieben. Die Wirkungsmechanismen sind jedoch weitestgehend unklar. Ein sinnvoller Ansatz scheint das Auftreten von frequenzabhängigen Fenstereffekten zu sein (36), in denen es zu Interaktionen mit der Zellmembran kommt, die zu veränderten Enzymreaktionen führen.

Beim Zuschalten von Hochfrequenzfeldern besteht die größte Gefahr in der Erwärmung, die jedoch durch die Einführung der SAR und ihrer Grenzwerte kontrollierbar geworden ist.

6 Zusammenfassung

Die Weiterentwicklung in der Magnetresonanztomographie (MRT) zu immer größeren Magnetfeldstärken und schnelleren Gradientensystemen sowie einer großzügigeren Indikationsstellung führt dazu, dass Personen (v. a. Patienten und Personal) häufiger stärkeren Magnetfeldern ausgesetzt sind. Im Gegensatz dazu steht das mangelnde Grundlagewissen über eine potentielle Gefährdung durch die Magnetfeldexposition. Deshalb wurden für besonders gefährdete Personengruppen strenge Indikationsbeschränkungen festgelegt. Hierzu zählen die Schwangeren, da insbesondere im ersten Trimenon eine erhöhte Sensitivität des Embryos bzw. des Feten gegenüber äußerer Einflüsse besteht. Ziel der vorliegenden Studie war es, die Auswirkungen isolierter Gradientenfelder auf das Wachstumsverhalten fetaler Zellen zu analysieren. Dabei wurde der Einfluss der Expositionsdauer und verschiedener Frequenzfenster auf die Zellzyklusverteilung untersucht.

Die Versuche wurden mit eugenen, humanen, fetalen Lungenfibroblasten (HFL 1), die von der American Type Culture Collection (ATCC) bezogen wurden, durchgeführt. Während der Experimente wurden die Zellen in zwei Plexiglaskammern eines speziell entwickelten Inkubationssystems aufbewahrt, um nahezu identische Kultivierungsbedingungen zu garantieren. Ein geschlossener Wasserkreislauf sorgte für eine konstante Temperatur in den Kästen von $37 \pm 0,2$ °C. Nach CO₂-Begasung der Kammern war auch eine konstante Gasatmosphäre von 6 % CO₂ sichergestellt. Die erforderliche Luftfeuchtigkeit stellte sich nach Befeuchtung der Kammerböden selbstständig auf > 98 % ein. Die Kontrollkulturen wurden im Vergleich zu den exponierten Zellen in exakt gleicher Weise behandelt, lediglich ihre baugleiche Inkubationskammer befand sich außerhalb des Magnetfeldes.

Alle Versuche wurden an einem offenen MR-Tomographen (Magnetom Open, Siemens), dessen statisches Magnetfeld eine magnetische Flussdichte von 0,2 T aufweist, durchgeführt. Nach Abschalten des statischen Magnetfelds konnten an diesem Gerät die isolierten Wirkungen des Gradientenfelds untersucht werden. Die Gradienten wiesen eine Amplitude von 10 mT/m mit einer trapezoiden Wellenform auf. Die Expositionsdauer erreichte bei einer Frequenz von 75 Hz zwischen 8 h, 16 h und 24 h. Im zweiten Versuchsteil wurden die Zellkulturen jeweils unterschiedlichen Frequenzen (50 Hz, 60 Hz, 70 Hz, 80 Hz, 90 Hz und 100 Hz) über zwei Stunden exponiert. Am

Standort der Proben am Rand des homogenen Feldes betrug die maximale magnetische Flussdichte 2 mT.

Für den Zellversuch wurden jeweils 200 000 Zellen pro Zellkulturflaschen (70 ml, 25 cm²) mit 5 ml Medium (beinhaltete 10 % fetales Kälberserum) zwei Tage vor Exposition ausgesät. Pro Versuch wurde die maximal mögliche Anzahl von 16 Kulturflaschen je Inkubationskammer eingesetzt.

Nach der Exposition wurden alle Proben mit je 10 µM BrdU (Bromodesoxyuridin) markiert und in 70 %igem Ethanol bis zur weiteren Aufarbeitung konserviert.

In der Vorbereitung zur Durchflusszytometrie wurden die Zellkerne mithilfe von Pepsin isoliert, und es wurden zwei Antikörper (AK) hinzugefügt. Der erste war gegen das in die DNA eingebaute BrdU gerichtet. Der zweite spezifische Anti-BrdU-AK ist mit FITC (Fluoreszein Iso Thio Cyanat) markiert. Mit Propidiumjodid wurde anschließend die DNA angefärbt. Die Durchflusszytometrie wurde mit den Wellenlängen 518 nm (FITC) und 617 nm (Propidiumjodid) durchgeführt, wobei die entstehende BrdU-FITC-Fluoreszenz die DNA-Syntheserate, die Propidiumjodid-Fluoreszenz den gesamten DNA-Gehalt auf Einzelzellniveau darstellte. Dadurch konnte jede Zelle ihrer bestimmten Zellzyklusphase zugeordnet und der Zellanteil in jeder dieser Phasen berechnet werden.

Zur statistischen Datenanalyse wurde der Mann-Whitney U-Test für ungepaarte Stichproben verwendet. Die Nullhypothese, Expositions- und Kontrollgruppe unterscheiden sich nicht, wurde für Werte $p < 0,05$ (Signifikanzniveau 5 %) verworfen.

Die Resultate der 24-stündigen Langzeitbefeldung zeigen statistisch signifikante Unterschiede mit p-Werten von 0,01 für die G1- und S-Phase und 0,02 für die G2-Phase.

In allen anderen Experimenten besteht kein Anhalt für signifikante elektromagnetische Bioeffekte. Die p-Werte schwanken zwischen 0,20 und 0,94.

Es gibt bis heute keine gesicherte theoretische Grundlage, die erklärt, wie schwache elektromagnetische Felder mit lebendem Gewebe interagieren. Dennoch existieren zahlreiche Studien, die gewisse elektromagnetische Interaktionen nachweisen können. Die enorme Heterogenität der Studienresultate könnte dadurch erklärt werden, dass die Reaktionen stark von der Art des Untersuchungsobjektes, dem zu untersuchenden Kriterium, den methodischen Rahmenbedingungen und der statistischen Auswertung abhängen.

Obwohl die vorliegende Studie den zeitlich veränderlichen Gradientenfeldern keine gesicherten teratogenen Effekte zuschreiben und keine eindeutigen Hinweise auf einen möglichen Interaktionsmechanismus geben konnte, ist es dennoch möglich, dass andere Zelltypen vulnerabler sind bzw. alternative Magnetfeldexpositionen sehr wohl derartige Wirkungen aufweisen können.

7 Literatur

1. Abart, J., Ganssen, A. (1995). Safety aspects in MR imaging]. *Aktuelle Radiol*, 5, 376-84
2. Adair, R. K. (1994). Biological responses to weak 60-Hz electric and magnetic fields must vary as the square of the field strength. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91, 9422-5
3. Adair, R. K. (1998). Extremely low frequency electromagnetic fields do not interact directly with DNA [comment]. *Bioelectromagnetics*, 19, 136-8
4. Ahuja, Y. R., Vijayashree, B., Saran, R., Jayashri, E. L., Manoranjani, J. K., Bhargava, S. C. (1999). In vitro effects of low-level, low-frequency electromagnetic fields on DNA damage in human leucocytes by comet assay. *Indian J Biochem Biophys*, 36, 318-22
5. Aoki, H., Yamazaki, H., Yoshino, T., Akagi, T. (1990). Effects of static magnetic fields on membrane permeability of a cultured cell line. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 69, 103-6
6. Armstrong, B., Theriault, G., Guenel, P., Deadman, J., Goldberg, M., Heroux, P. (1994). Association between exposure to pulsed electromagnetic fields and cancer in electric utility workers in Quebec, Canada, and France. *Am J Epidemiol*, 140, 805-20
7. Athey, T. W., Ross, R. J., Ruggera, P. S. (1982). Magnetic fields associated with a nuclear magnetic resonance medical imaging system. *Magn Reson Imaging*, 1, 149-54
8. Bassett, C. A. (1993). Beneficial effects of electromagnetic fields. *J Cell Biochem*, 51, 387-93.
9. Beers, G. J. (1989). Biological effects of weak electromagnetic fields from 0 Hz to 200 MHz: a survey of the literature with special emphasis on possible magnetic resonance effects. *Magn Reson Imaging*, 7, 309-331
10. Blackman, C. F., Benane, S. G., House, D. E., Joines, W. T. (1985). Effects of ELF (1-120 Hz) and modulated (50 Hz) RF fields on the efflux of calcium ions from brain tissue in vitro. *Bioelectromagnetics*, 6, 1-11
11. Blackman, C. F., Benane, S. G., House, D. E., Pollock, M. M. (1993). Action of 50 Hz magnetic fields on neurite outgrowth in pheochromocytoma cells. *Bioelectromagnetics*, 14, 273-86

12. Blackman, C. F., Benane, S. G., Rabinowitz, J. R., House, D. E., Joines, W. T. (1985). A role for the magnetic field in the radiation-induced efflux of calcium ions from brain tissue in vitro. *Bioelectromagnetics*, 6, 327-37
13. Blank, M., Goodman, R. (1997). Do electromagnetic fields interact directly with DNA? *Bioelectromagnetics*, 18, 111-5
14. Bloch, F., Hansen, W. W., Packard, M. E. (1946). Nuclear Induction. *Phys. Rev.* 69, 127
15. Blumenthal, N. C., Ricci, J., Breger, L., Zychlinsky, A., Solomon, H., Chen, G. G., Kuznetsov, D., Dorfman, R. (1997). Effects of low-intensity AC and/or DC electromagnetic fields on cell attachment and induction of apoptosis. *Bioelectromagnetics*, 18, 264-72
16. Board, N. R. P. (1993). Restrictions on human exposure to static and time-varying electromagnetic fields and radiation, Document of the NRPB 4 (5): UK National Radiation Protection Board (NRPB);
17. Bowman, J. D., Thomas, D. C., London, S. J., Peters, J. M. (1995). Hypothesis: the risk of childhood leukemia is related to combinations of power-frequency and static magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 16, 48-59
18. Bracken, M. B., Belanger, K., Hellenbrand, K., Dlugosz, L., Holford, T. R., McSharry, J. E., Adesso, K., Leaderer, B. (1995). Exposure to electromagnetic fields during pregnancy with emphasis on electrically heated beds: association with birthweight and intrauterine growth retardation. *Epidemiology*, 6, 263-70
19. Brockhaus, F. A. (1988). Brockhaus Enzyklopädie, 6. Band.
20. Brody, A. S., Embury, S. H., Mentzer, W. C., Winkler, M. L., Gooding, C. A. (1988). Preservation of sickle cell blood-flow patterns during MR imaging: an in vivo study. *AJR Am J Roentgenol*, 151, 139-41
21. Budinger, T. F. (1981). Nuclear magnetic resonance (NMR) in vivo studies: known thresholds for health effects. *J Comput Assist Tomogr*, 5, 800-11
22. Budinger, T. F. (1998). MR safety: past, present, and future from a historical perspective. *Magn Reson Imaging Clin N Am*, 6, 701-14
23. Budinger, T. F., Fischer, H., Hentschel, D., Reinfelder, H. E., Schmitt, F. (1991). Physiological effects of fast oscillating magnetic field gradients. *J Comput Assist Tomogr*, 15, 909-14
24. Bundesgesundheitsamt. (1984). Empfehlungen zur Vermeidung gesundheitlicher Risiken, verursacht durch magnetische und hochfrequente elektromagnetische

- Felder bei der NMR-Tomographie und In-vivo-NMR-Spektroskopie, 92-96. In: Bundesgesundheitsblatt.
25. Bundesregierung. (1996) BImSchV Verordnung über elektromagnetische Felder. Sechszwanzigste Verordnung zur Durchführung des Bundesimmissionsschutzgesetzes in der Fassung vom 16.12.1996. (Verordnung über elektromagnetische Felder - 26. BImSchV). Bonn
 26. Cain, C. D., Thomas, D. L., Adey, W. R. (1993). 60 Hz magnetic field acts as co-promoter in focus formation of C3H/10T1/2 cells. *Carcinogenesis*, 14, 955-60
 27. Cameron, I. L., Hardman, W. E., Winters, W. D., Zimmerman, S., Zimmerman, A. M. (1993). Environmental magnetic fields: influences on early embryogenesis. *J Cell Biochem*, 51, 417-25
 28. Carnes, K. I., Magin, R. L. (1996). Effects of in utero exposure to 4.7 T MR imaging conditions on fetal growth and testicular development in the mouse. *Magn Reson Imaging*, 14, 263-74
 29. Carson, J. J., Prato, F. S., Drost, D. J., Diesbourg, L. D., Dixon, S. J. (1990). Time-varying magnetic fields increase cytosolic free Ca²⁺ in HL-60 cells. *Am J Physiol*, 259, C687-92
 30. Cleary, S. F. (1993). A review of in vitro studies: low-frequency electromagnetic fields. *Am Ind Hyg Assoc J*, 54, 178-85
 31. Cohen, M. M., Kunska, A., Astemborski, J. A., McCulloch, D. (1986). The effect of low-level 60-Hz electromagnetic fields on human lymphoid cells. II. Sister-chromatid exchanges in peripheral lymphocytes and lymphoblastoid cell lines. *Mutat Res*, 172, 177-84
 32. Cohen, M. M., Kunska, A., Astemborski, J. A., McCulloch, D., Paskewitz, D. A. (1986). Effect of low-level, 60-Hz electromagnetic fields on human lymphoid cells: I. Mitotic rate and chromosome breakage in human peripheral lymphocytes. *Bioelectromagnetics*, 7, 415-23
 33. Cohen, M. S., Weisskoff, R. M., Rzedzian, R. R., Kantor, H. L. (1990). Sensory stimulation by time-varying magnetic fields. *Magn Reson Med*, 14, 409-14
 34. Cooke, P., Morris, P. G. (1981). The effects of NMR exposure on living organisms. II. A genetic study of human lymphocytes. *Br J Radiol*, 54, 622-5

35. Cox, C. F., Brewer, L. J., Raeman, C. H., Schryver, C. A., Child, S. Z., Carstensen, E. L. (1993). A test for teratological effects of power frequency magnetic fields on chick embryos. *IEEE Trans Biomed Eng*, 40, 605-10
36. Cridland, N. A., Cragg, T. A., Haylock, R. G., Saunders, R. D. (1996). Effects of 50 Hz magnetic field exposure on the rate of DNA synthesis by normal human fibroblasts. *Int J Radiat Biol*, 69, 503-11
37. Cridland, N. A., Haylock, R. G., Saunders, R. D. (1999). 50 Hz magnetic field exposure alters onset of S-phase in normal human fibroblasts. *Bioelectromagnetics*, 20, 446-52
38. Crissman, H. A., Mullaney, P. F., Steinkamp, J. A. (1975). Methods and applications of flow Systems for analysis and sorting mammalian cells, In: Prescott D. M., *Methods in cell biology* 9. Auflage. Academic Press, New York.
39. Damadian, R., Goldsmith, M., Minkoff, L. (1977). NMR in cancer: XVI. FONAR image of the live human body. *Physiol Chem Phys*, 9, 97-100
40. Dawson, B. V., Robertson, I. G., Wilson, W. R., Zwi, L. J., Boys, J. T., Green, A. W. (1998). Evaluation of potential health effects of 10 kHz magnetic fields: a rodent reproductive study. *Bioelectromagnetics*, 19, 162-71
41. Dicarolo, A. L., Hargis, M. T., Penafiel, L. M., Litovitz, T. A. (1999). Short-term magnetic field exposures (60 Hz) induce protection against ultraviolet radiation damage. *Int J Radiat Biol*, 75, 1541-9
42. Dolbeare, F. (1995). Bromodeoxyuridine: a diagnostic tool in biology and medicine, Part I: Historical perspectives, histochemical methods and cell kinetics. *Histochem J*, 27, 339-69
43. Dolbeare, F., Gratzner, H., Pallavicini, M. G., Gray, J. W. (1983). Flow cytometric measurement of total DNA content and incorporated bromodeoxyuridine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80, 5573-7
44. Dössel, O. (2000). *Bildgebende Verfahren in der Medizin: Von der Technik zur medizinischen Anwendung*. Springer-Verlag 1 Berlin, Heidelberg, New York
45. Elster, A. D. (1994). *Questions and Answers in Magnetic Resonance Imaging*. St. Louis: Mosby, 253-260
46. Erren, T. C. (1996). Re: "Association between exposure to pulsed electromagnetic fields and cancer in electric utility workers in Quebec, Canada and France" (Letter). *American Journal of Epidemiology*, 143, 841

47. Farrell, J. M., Litovitz, T. L., Penafiel, M., Montrose, C. J., Doinov, P., Barber, M., Brown, K. M., Litovitz, T. A. (1997). The effect of pulsed and sinusoidal magnetic fields on the morphology of developing chick embryos. *Bioelectromagnetics*, 18, 431-8
48. FDA. Magnetic resonance diagnostic device: panel recommendation and report on petitions for MR reclassification (1988). 7575-7579
49. Feychting, M., Ahlbom, A. (1993). Magnetic fields and cancer in children residing near Swedish high-voltage power lines. *Am J Epidemiol*, 138, 467-81
50. Fitzsimmons, R. J., Ryaby, J. T., Magee, F. P., Baylink, D. J. (1995). IGF-II receptor number is increased in TE-85 osteosarcoma cells by combined magnetic fields. *J Bone Miner Res*, 10, 812-9
51. Fradin, J. M., Regan, F., Rodriguez, R., Moore, R. (1999). Hydronephrosis in pregnancy: simultaneous depiction of fetal and maternal hydronephrosis by magnetic resonance urography. *Urology*, 53, 825-7
52. Frankel, R. B., Blakemore, R. P. (1989). Magnetite and magnetotaxis in microorganisms. *Bioelectromagnetics*, 10, 223-37
53. Frazier, M. E., Reese, J. A., Morris, J. E., Jostes, R. F., Miller, D. L. (1990). Exposure of mammalian cells to 60-Hz magnetic or electric fields: analysis of DNA repair of induced, single-strand breaks. *Bioelectromagnetics*, 11, 229-34
54. Freshney, R. I. (1990). Kulturbedingungen, 59-87, In: Freshney R. I., Ein Methoden-Handbuch. De Gruyter-Verlag, New York, Berlin.
55. Freyssinet, J. M., Torbet, J., Hudry-Clergeon, G. (1984). Fibrinogen and fibrin in strong magnetic fields. Complementary results and discussion. *Biochimie*, 66, 81-5
56. Gaffey, C. T., Tenforde, T. S. (1981). Alterations in the rat electrocardiogram induced by stationary magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 2, 357-70
57. Garcia, P. G., Madronero del la Cal, A. (1985). Enhancement of bone healing by an exogenous magnetic field and the magnetic vaccine, Technical Notes. *J Biomed Eng*, 7
58. Garcia-Sagredo, J. M., Monteagudo, J. L. (1991). Effect of low-level pulsed electromagnetic fields on human chromosomes in vitro: analysis of chromosomal aberrations. *Hereditas*, 115, 9-11

59. Geard, C. R., Osmak, R. S., Hall, E. J., Simon, H. E., Maudsley, A. A., Hilal, S. K. (1984). Magnetic resonance and ionizing radiation: a comparative evaluation in vitro of oncogenic and genotoxic potential. *Radiology*, 152, 199-202
60. Giraud, J. R., Dugue-Marechaud, M., Fizazi, T., de Tourris, H., Aubert, J. (1983). [Intravenous urography in pregnancy and the risks of fetal hypothyroidism]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 12, 45-9
61. Goodman, E. M., Greenebaum, B., Marron, M. T. (1993). Altered protein synthesis in a cell-free system exposed to a sinusoidal magnetic field. *Biochim Biophys Acta*, 1202, 107-12
62. Goodman, R., Blank, M. (1998). Magnetic field stress induces expression of hsp70. *Cell Stress Chaperones*, 3, 79-88
63. Gratzner, H. G. (1982). Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication. *Science*, 218, 474-5
64. Gray, J. W., Dolbeare, F., Pallavicini, M. G., Beisker, W., Waldman, F. (1986). Cell cycle analysis using flow cytometry. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*, 49, 237-55
65. Greene, A. E., Halpern, M. H. (1966). Response of tissue culture cells to low magnetic fields. *Aerosp Med*, 37, 251-3
66. Gupta, T. D., Jain, V. K., Tandon, P. N. (1991). Comparative study of bone growth by pulsed electromagnetic fields. *Med Biol Eng Comput*, 29, 113-20
67. Heinzerling, J. (1997). Das Stichwort: Elektromagnetische Felder-Physikalische Grundlagen und Bioeffekte. *Kontraste*, 10, Beilage
68. Heinzerling, J. (1997). Gefahren durch elektromagnetische Felder bei der MR-Diagnostik. *kontraste*, Ausgabe 10, 30-39
69. Hennig, J. (1996). Kommentar zu den Empfehlungen zur Vermeidung gesundheitlicher Risiken bei Anwendung magnetischer Resonanzverfahren in der medizinischen Diagnostik. Freiburg; 8.2.1996
70. Henshaw, D. L. (1997). Re: Electromagnetic Field Exposure and Lung Cancer. *American Journal of Epidemiologie*, 146, 366
71. Henshaw, D. L., Ross, A. N., Fews, A. P. (1996). Enhanced deposition of radon daughter nuclei in the vicinity of power frequency electromagnetic fields. *Int J Radiat Biol*, 69, 25-38

72. Hintenlang, D. E. (1993). Synergistic effects of ionizing radiation and 60 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 14, 545-51
73. Hojevnik, P., Sandblom, J., Galt, S., Hamnerius, Y. (1995). Ca²⁺ ion transport through patch-clamped cells exposed to magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 16, 33-40
74. Howard, A., Pelc, S. R. (1951). Nuclear incorporation of ³²P as demonstrated by autoradiography. *exp. Cell Res.*, 2, 178-187
75. Hygienists, A. C. o. G. I. (1994). Documentation of Threshold Limit Values. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)
76. ICNIRP. (1998). Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). *Health Physics*, 74, 494-521
77. Irnich, W., Schmitt, F. (1995). Magnetostimulation in MRI. *Magn Reson Med*, 33, 619-23
78. Jehenson, P., Duboc, D., Lavergne, T., Guize, L., Guerin, F., Degeorges, M., Syrota, A. (1988). Change in human cardiac rhythm induced by a 2-T static magnetic field. *Radiology*, 166, 227-30
79. Jenrow, K. A., Smith, C. H., Liboff, A. R. (1995). Weak extremely-low-frequency magnetic fields and regeneration in the planarian *Dugesia tigrina*. *Bioelectromagnetics*, 16, 106-12
80. Juutilainen, J., Laara, E., Saali, K. (1987). Relationship between field strength and abnormal development in chick embryos exposed to 50 Hz magnetic fields. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*, 52, 787-93
81. Kalmijn, A. J. (1982). Electric and magnetic field detection in elasmobranch fishes. *Science*, 218, 916-8
82. Kanal, E., Gillen, J., Evans, J. A., Savitz, D. A., Shellock, F. G. (1993). Survey of reproductive health among female MR workers. *Radiology*, 187, 395-9
83. Kanal, E., Shellock, F. G., Talagala, L. (1990). Safety considerations in MR imaging. *Radiology*, 176, 593-606
84. Keeton, W. T. (1971). Magnets interfere with pigeon homing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 68, 102-6

85. Kirschvink, J. L., Kobayashi-Kirschvink, A., Diaz-Ricci, J. C., Kirschvink, S. J. (1992). Magnetite in human tissues: a mechanism for the biological effects of weak ELF magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, Suppl, 101-13
86. Kleinerman, R. A., Kaune, W. T., Hatch, E. E., Wacholder, S., Linet, M. S., Robison, L. L., Niwa, S., Tarone, R. E. (2000). Are children living near high-voltage power lines at increased risk of acute lymphoblastic leukemia? *Am J Epidemiol*, 151, 512-5
87. Kleinig, H., Maier, U. (1999). *Zellbiologie*. Gustav Fischer Verlag, 4. Auflage
88. Köchli, V. D., Marincek, B. (1998). *Wie funktioniert MRI?* Springer-Verlag, 2. Auflage
89. Konermann, G. (1989). Entwicklungsbiologische Wirkungen magnetischer und elektromagnetischer Felder, In: *Veröffentlichungen der Strahlenschutzkommission*. G. Fischer Verlag, Stuttgart
90. Kula, B. (1996). A study of magnetic field effects on fibroblast cultures Part 3. The evaluation of the effects of static and extremely low frequency (ELF) magnetic fields on glycosaminoglycan metabolism in fibroblasts, cell coats and culture medium. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 39, 31-37
91. Kula, B., Drozd, M. (1996). A study of magnetic field effects on fibroblast cultures Part 2. The evaluation of the effects of static and extremely low frequency (ELF) magnetic fields on free-radical processes in fibroblast cultures. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 39, 27-30
92. Lauterbur, P. C. (1989). Image formation by induced local interactions. Examples employing nuclear magnetic resonance. 1973. *Clin Orthop*, 5, 3-6
93. Lednev, V. V. (1991). Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems. *Bioelectromagnetics*, 12, 71-5
94. Levin, M., Ernst, S. G. (1995). Applied AC and DC magnetic fields cause alterations in the mitotic cycle of early sea urchin embryos. *Bioelectromagnetics*, 16, 231-40
95. Liboff, A. R., McLeod, B. R. (1988). Kinetics of channelized membrane ions in magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 9, 39-51
96. Liboff, A. R., Williams, T., Strong, D. M., Wistar, R. (1984). Time-varying magnetic fields: effect on DNA synthesis. *Science*, 223, 818-20
97. Liburdy, R. P. (1992). Biological interactions of cellular systems with time-varying magnetic fields. *Ann N Y Acad Sci*, 649, 74-95

98. Liburdy, R. P. (1992). Calcium signaling in lymphocytes and ELF fields. Evidence for an electric field metric and a site of interaction involving the calcium ion channel. *FEBS Lett*, 301, 53-9
99. Liburdy, R. P., Callahan, D. E., Harland, J., Dunham, E., Sloma, T. R., Yaswen, P. (1993). Experimental evidence for 60 Hz magnetic fields operating through the signal transduction cascade. Effects on calcium influx and c-MYC mRNA induction. *FEBS Lett*, 334, 301-8
100. Lindbohm, M. L., Hietanen, M., Kyyronen, P., Sallmen, M., von Nandelstadh, P., Taskinen, H., Pekkarinen, M., Ylikoski, M. (1992). Magnetic fields of video display terminals and spontaneous abortion. *Am J Epidemiol*, 136, 1041-51
101. Linder-Aronson, A., Lindskog, S. (1995). Effects of static magnetic fields on human periodontal fibroblasts in vitro. *Swed Dent J*, 19, 131-7
102. Lindl, T., Bauer, J. (1987). *Zell- und Gewebekultur*. G. Fischer Verlag Stuttgart
103. Linet, M. S., Hatch, E. E., Kleinerman, R. A., Robison, L. L., Kaune, W. T., Friedman, D. R., Severson, R. K., Haines, C. M., Hartsock, C. T., Niwa, S., Wacholder, S., Tarone, R. E. (1997). Residential exposure to magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children. *N Engl J Med*, 337, 1-7
104. London, S. J., Thomas, D. C., Bowman, J. D., Sobel, E., Cheng, T.-C., Peters, J. M. (1991). Exposure to Residential Electric and Magnetic Fields and Risk of Childhood Leukemia. *American Journal of Epidemiology*, 134, 923-37
105. Luben, R. A. (1991). Effects of low-energy electromagnetic fields (pulsed and DC) on membrane signal transduction processes in biological systems. *Health Phys*, 61, 15-28
106. Lubin, J. H., Linet, M. S., Boice, J. D., Jr., Buckley, J., Conrath, S. M., Hatch, E. E., Kleinerman, R. A., Tarone, R. E., et al. (1998). Case-control study of childhood acute lymphoblastic leukemia and residential radon exposure. *J Natl Cancer Inst*, 90, 294-300
107. Malinin, G. I., Gregory, W. D., Morelli, L., Sharma, V. K., Houck, J. C. (1976). Evidence of morphological and physiological transformation of mammalian cells by strong magnetic fields. *Science*, 194, 844-6
108. Maret, G., Schickfus, M. V. (1975). Orientation of nuclear acids in high magnetic fields. *Phys. Rev. Lett.* 35, 397
109. Matthes, R., Bernhardt, J. H., Repacholi, M. H. (1997). Biological effects of static and ELF electric and magnetic fields. *Proceedings, International Seminar on*

- Biological Effects of Static and ELF Electric and Magnetic Fields and Related Health Risks, 55-76. In: Matthes R., Bernhardt, J. H., Repacholi, M. H., Biological Effects of Static and ELF Electric and Magnetic Fields 1. ICNIRP, Bologna.
110. McBride, M. L., Gallagher, R. P., Theriault, G., Armstrong, B. G., Tamaro, S., Spinelli, J. J., Deadman, J. E., Fincham, S., et al. (1999). Power-frequency electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia in Canada [published erratum appears in *Am J Epidemiol* 1999 Jul 15;150(2):223]. *Am J Epidemiol*, 149, 831-42
 111. McCann, J., Dietrich, F., Rafferty, C. (1998). The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. *Mutat Res*, 411, 45-86
 112. McCann, J., Dietrich, F., Rafferty, C., Martin, A. O. (1993). A critical review of the genotoxic potential of electric and magnetic fields. *Mutat Res*, 297, 61-95
 113. McRobbie, D., Foster, M. A. (1984). Thresholds for biological effects of time-varying magnetic fields. *Clin Phys Physiol Meas*, 5, 67-78
 114. McRobbie, D., Foster, M. A. (1985). Cardiac response to pulsed magnetic fields with regard to safety in NMR imaging. *Phys Med Biol*, 30, 695-702
 115. McRobbie, D., Foster, M. A. (1985). Pulsed magnetic field exposure during pregnancy and implications for NMR foetal imaging: a study with mice. *Magn Reson Imaging*, 3, 231-4
 116. Mevissen, M., Buntenkotter, S., Loscher, W. (1994). Effects of static and time-varying (50-Hz) magnetic fields on reproduction and fetal development in rats. *Teratology*, 50, 229-37
 117. Michaelis, J., Meinert, R. (1995). Elektromagnetische Felder und Krebserkrankungen im Kindesalter. *Deutsches Ärzteblatt* 92, Heft 38, C-1648 - C-1653
 118. Michaelis, J., Schuz, J., Meinert, R., Menger, M., Grigat, J. P., Kaatsch, P., Kaletsch, U., Miesner, A., et al. (1997). Childhood leukemia and electromagnetic fields: results of a population-based case-control study in Germany. *Cancer Causes Control*, 8, 167-74
 119. Miller, G. (1987). Exposure guidelines for magnetic fields. *Amer. Indust. Hygiene Assoc. J.*, 48, 957-968
 120. Misakian, M. T. F. G., Kanal E. (1997). Vertical circularly polarized ELF magnetic fields and induced electric fields in culture media. *Bioelectromagnetics*, 18, 524-6

121. Miyakoshi, J., Yoshida, M., Yaguchi, H., Ding, G. R. (2000). Exposure to extremely low frequency magnetic fields suppresses x-ray-induced transformation in mouse C3H10T1/2 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 271, 323-7
122. Molyneux, A. J. (1991). Computed tomography and radiation doses. *Lancet*, 337, 1164
123. Mur, J. M., Moulin, J. J., Meyer-Bisch, C., Massin, N., Coulon, J. P., Loulergue, J. (1987). Mortality of aluminium reduction plant workers in France. *Int J Epidemiol*, 16, 257-64
124. Murakami, J., Torii, Y., Masuda, K. T. F. G., Kanal Emanuel. (1992). Fetal development of mice following intrauterine exposure to a static magnetic field of 6.3 T. *Magn Reson Imaging*, 10, 433-7
125. Muratama, M., Takigawa, H., Sakamoto, H. (1993). Teratogenic effects of noise and cadmium in mice: does noise have teratogenic potential? *Toxicol Environ Health*, 39, 237 - 45
126. Murayama, M. (1965). Orientation of sickled erythrocytes in a magnetic field. *Nature*, 206, 420-2
127. Narra, V. R., Howell, R. W., Goddu, S. M., Rao, D. V. T. F. G., Kanal Emanuel. (1996). Effects of a 1.5-Tesla static magnetic field on spermatogenesis and embryogenesis in mice. *Invest Radiol*, 31, 586-90
128. NCRP. (1986). Cataractogenesis, 191-206. In: Biological effects and exposure criteria for radiofrequency electromagnetic fields. NCRP report no. 86. Bethesda, Md: National Council on Radiation Protection
129. Nindl, G., Swez, J. A., Miller, J. M., Balcavage, W. X. (1997). Growth stage dependent effects of electromagnetic fields on DNA synthesis of Jurkat cells. *FEBS Lett*, 414, 501-6
130. Norimura, T., Imada, H., Kunugita, N., Yoshida, N., Nikaido, M. (1993). Effects of strong magnetic fields on cell growth and radiation response of human T-lymphocytes in culture. *J Uoeh*, 15, 103-12
131. Organization, W. H. (1987). Environmental Health Criteria 69, Magnetic Fields. Geneva, Switzerland: World Health Organization
132. Ormerod, M. D. (1994). Analysis of DNA, 119-156. In: Ormerod M. D., Flow Cytometrie. IRL-Press, Oxford.
133. Otter, M. W., McLeod, K. J., Rubin, C. T. (1998). Effects of electromagnetic fields in experimental fracture repair. *Clin Orthop*, 20, 90-104

134. Pan, H. (1996). The effect of a 7 T magnetic field on the egg hatching of *Heliothis virescens*. *Magn Reson Imaging*, 14, 673-7
135. Paradisi, S., Donelli, G., Santini, M. T., Straface, E., Malorni, W. (1993). A 50-Hz magnetic field induces structural and biophysical changes in membranes. *Bioelectromagnetics*, 14, 247-55
136. Persson, B. R., Stahlberg, F. (1985). Safety aspects of magnetic resonance examinations. *Int J Technol Assess Health Care*, 1, 647-65
137. Phillips, J. L., Haggren, W., Thomas, W. J., Ishida-Jones, T., Adey, W. R. (1992). Magnetic field-induced changes in specific gene transcription. *Biochim Biophys Acta*, 1132, 140-4
138. Prasad, N., Lotzova, E., Thornby, J. I., Taber, K. H. T. F. G., Kanal E. (1990). The effects of 2.35-T MR imaging on natural killer cell cytotoxicity with and without interleukin-2. *Radiology*, 175, 261-3
139. Purcell, E. M., Torrey, H. C., Pound, R. V. (1946). Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys. Rev.* 69, , 37-38
140. Raylman, R. R., Clavo, A. C., Wahl, R. L. (1996). Exposure to strong static magnetic field slows the growth of human cancer cells in vitro. *ioelectromagnetics*, 17, 358-63
141. Redington, R. W., Dumoulin, C. L., Schenk, J. F. (1988). MR imaging and bio-effects in whole body 4.0 Tesla imaging system. Book of abstracts. Society of Magnetic Resonance Imaging Berkeley, Calif
142. Reilly, J. P. (1989). Peripheral nerve stimulation by induced electric currents: exposure to time-varying magnetic fields. *Med Biol Eng Comput*, 27, 101-10
143. Reilly, J. P. (1992). Principles of nerve and heart excitation by time-varying magnetic fields. *Ann N Y Acad Sci*, 649, 96-117
144. Reipert, B. M., Allan, D., Reipert, S., Dexter, T. M. (1997). Apoptosis in haemopoietic progenitor cells exposed to extremely low- frequency magnetic fields. *Life Sci*, 61, 1571-82
145. Repacholi, M. H. (1994). Guidelines on limits of exposure to static magnetic fields. *Health. Phys.*, 66, 100-106
146. Repacholi, M. H., Greenebaum, B. (1999). Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics*, 20, 133-60

147. Robinson, D., Rock, J. (1967). Intrascrotal hyperthermia induced by scrotal insulation: effect on spermatogenesis. *Obstet Gynecol*, 29, 217-23
148. Rockette, H. E., Arena, V. C. (1983). Mortality studies of aluminum reduction plant workers: potroom and carbon department. *J Occup Med*, 25, 549-57
149. Rodegerdts, E. A., Gronewaller, E. F., Kehlbach, R., Roth, P., Wiskirchen, J., Gebert, R., Claussen, C. D., Duda, S. H. (2000). In vitro evaluation of teratogenic effects by time-varying MR gradient fields on fetal human fibroblasts. *J Magn Reson Imaging*, 12, 150-6
150. Rodemann, H. P., Löschinger, M., Dittmann, K., Thumm, S., Hämmerle, H. (1995). Zell- und Molekularbiologische Untersuchungen zur Wirkungsweise Niederfrequenter, Athermischer Elektromagnetischer Felder. In:: Kleinheubacher Berichte
151. Rodemann, H. P., Wecke, P., Jaeschke, M. (1992). Low-frequency electromagnetic fields induce premature terminal differentiation of in-vitro cultured human skin and lung fibroblasts. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 27, 269-280
152. Rooholamini, S. A., Au, A. H., Hansen, G. C., Kioumehr, F., Dadsetan, M. R., Chow, P. P., Kurzel, R. B., Mikhail, G. (1993). Imaging of pregnancy-related complications. *Radiographics*, 13, 753-70
153. Ross, S. M. (1990). Combined DC and ELF magnetic fields can alter cell proliferation. *Bioelectromagnetics*, 11, 27-36
154. Roy, C., Saussine, C., Jahn, C., Le Bras, Y., Steichen, G., Delepaul, B., Campos, M., Chambron, J., et al. (1995). Fast imaging MR assessment of ureterohydronephrosis during pregnancy. *Magn Reson Imaging*, 13, 767-72
155. Saini, S., Frankel, R. B., Stark, D. D., Ferrucci, J. T., Jr. (1988). Magnetism: a primer and review. *AJR Am J Roentgenol*, 150, 735-43
156. Santoro, N., Lisi, A., Pozzi, D., Pasquali, E., Serafino, A., Grimaldi, S. (1997). Effect of extremely low frequency (ELF) magnetic field exposure on morphological and biophysical properties of human lymphoid cell line (Raji). *Biochim Biophys Acta*, 1357, 281-90
157. Sasaki, K., Murakami, T., Ogino, T., Takahashi, M., Kawasaki, S. (1986). Flow cytometric estimation of cell cycle parameters using a monoclonal antibody to bromodeoxyuridine. *Cytometry*, 7, 391-5

158. Sato, K., Yamaguchi, H., Miyamoto, H., Kinouchi, Y. (1992). Growth of human cultured cells exposed to a non-homogeneous static magnetic field generated by Sm-Co magnets. *Biochim Biophys Acta*, 1136, 231-8
159. Savitz, D. A., Calle, E. E. (1987). Leukemia and occupational exposure to electromagnetic fields: review of epidemiologic surveys. *J Occup Med*, 29, 47-51
160. Savitz, D. A., Wachtel, H., Barnes, F. A., John, E. M., Tvrdik, J. G. (1988). Case-control study of childhood cancer and exposure to 60-Hz magnetic fields. *Am J Epidemiol*, 128, 21-38
161. Scaiano, J. C., Mohtat, N., Cozens, F. L., McLean, J., Thansandote, A. (1994). Application of the radical pair mechanism to free radicals in organized systems: can the effects of 60 Hz be predicted from studies under static fields? *Bioelectromagnetics*, 15, 549-54
162. Schaefer, D. J. (1992). Dosimetry and effects of MR exposure to RF and switched magnetic fields. *Ann N Y Acad Sci*, 649, 225-36
163. Schenck, J. F., Dumoulin, C. L., Redington, R. W., Kressel, H. Y., Elliott, R. T., McDougall, I. L. (1992). Human exposure to 4.0-Tesla magnetic fields in a whole-body scanner. *Med Phys*, 19, 1089-98
164. Schimmelpfeng, J., Dertinger, H. (1997). Action of a 50 Hz magnetic field on proliferation of cells in culture. *Bioelectromagnetics*, 18, 177-83
165. Schnorr, T. M., Grajewski, B. A., Hornung, R. W., Thun, M. J., Egeland, G. M., Murray, W. E., Conover, D. L., Halperin, W. E. (1991). Video display terminals and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med*, 324, 727-33
166. Shaw, G. M., Croen, L. A. (1993). Human adverse reproductive outcomes and electromagnetic field exposures: review of epidemiologic studies. *Environ Health Perspect*, 101 Suppl 4, 107-19
167. Shellock, F. G. (1989). Biological effects and safety aspects of magnetic resonance imaging. *Magn Reson Q*, 5, 243-61
168. Shellock, F. G. (1992). Safety, Chapter 17, 522-544. In: Stark D. D., Brafley W. G., *Magnetic Resonance Imaging Second Edition*. Mosby Year Book
169. Shellock, F. G., Crues, J. V. (1988). Corneal temperature changes induced by high-field-strength MR imaging with a head coil. *Radiology*, 167, 809-11
170. Shellock, F. G., Kanal, E. (1991). Policies, guidelines, and recommendations for MR imaging safety and patient management. SMRI Safety Committee. *J Magn Reson Imaging*, 1, 97-101

171. Shellock, F. G., Rothman, B., Sarti, D. (1990). Heating of the scrotum by high-field-strength MR imaging. *AJR Am J Roentgenol*, 154, 1229-32
172. Shellock, F. G., Schaefer, D. J., Kanal, E. (1994). Physiologic responses to an MR imaging procedure performed at a specific absorption rate of 6.0 W/kg. *Radiology*, 192, 865-8
173. Silny, J. (1991). Risks of electromagnetic fields for humans. *Versicherungsmedizin*, 43, 142-8
174. Simko, M., Kriehuber, R., Weiss, D. G., Luben, R. A. (1998). Effects of 50 Hz EMF exposure on micronucleus formation and apoptosis in transformed and nontransformed human cell lines. *Bioelectromagnetics*, 19, 85-91
175. Strahlenschutzkommission. (1996). Empfehlungen zur Vermeidung gesundheitlicher Risiken bei Anwendung magnetischer Resonanzverfahren in der medizinischen Diagnostik; 27.06.1996
176. Strahlenschutzkommission. Empfehlungen zur Vermeidung gesundheitlicher Risiken bei Anwendung magnetischer Resonanzverfahren in der medizinischen Diagnostik. Heller H. (25.09.1997). Gustav Fischer; 1997. 59
177. Strahlenschutzkommission. (1997). Schutz vor niederfrequenten elektrischen und magnetischen Feldern der Energieversorgung und -anwendung (Empfehlung der Strahlenschutzkommission). Gustav Fischer, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm
178. Tenforde, T. S. (1991). Interaction Mechanisms and Biological Effects of Static Magnetic Fields. *Automedica*, 14, 271-29
179. Thomas, A., Morris, P. G. (1981). The effects of NMR exposure on living organisms. I. A microbial assay. *Br J Radiol*, 54, 615-21
180. Trautwein, A., Kreibig, U., Oberhausen, E., Hüttermann, J. (2000). Physik für Mediziner, Biologen, Pharmazeuten. Walter de Gruyter, 5. Auflage
181. Tyndall, D. A. (1993). MRI effects on craniofacial size and crown-rump length in C57BL/6J mice in 1.5T fields. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 76, 655-60
182. Tyndall, D. A., Sulik, K. K. (1991). Effects of magnetic resonance imaging on eye development in the C57BL/6J mouse. *Teratology*, 43, 263-75
183. Walleczek, J. (1992). Electromagnetic field effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. *Faseb J*, 6, 3177-85
184. Walleczek, J., Liburdy, R. P. (1990). Nonthermal 60 Hz sinusoidal magnetic-field exposure enhances $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake in rat thymocytes: dependence on mitogen activation. *FEBS Lett*, 271, 157-60

185. Weik, S., Fränken, E., Urbschat, K., Zankl, H., Friedrich, E., Kramann, B., Schneider, G. (1994). Einfluss starker Magnetfelder auf die Entwicklung embryonaler Zellkulturen und Lymphozytenkulturen (abstract). *Radiologie*, 34, 695
186. Wertheimer, N. W., Leeper, E. (1979). Electrical Wiring Configurations and Childhood Cancer. *American Journal of Epidemiology*, 109, 292-6
187. WHO. (2000). More Information Necessary To Establish Health Effects Of Mobile Phones. Press Release WHO/45
188. Wikswo, J. P., Barach, J. P. (1980). An estimate of the steady magnetic field strength required to influence nerve conduction. *IEEE Trans Biomed Eng*, 27, 722-3
189. Wiskirchen, J., Groenewaeller, E. F., Kehlbach, R., Heinzelmann, F., Wittau, M., Rodemann, H. P., Claussen, C. D., Duda, S. H. (1999). Long-term effects of repetitive exposure to a static magnetic field (1.5 T) on proliferation of human fetal lung fibroblasts. *Magn Reson Med*, 41, 464-8
190. Wiskirchen, J., Gronewaller, E. F., Heinzelmann, F., Kehlbach, R., Rodegerdts, E., Wittau, M., Rodemann, H. P., Claussen, C. D., et al. (2000). Human fetal lung fibroblasts: in vitro study of repetitive magnetic field exposure at 0.2, 1.0, and 1.5 T. *Radiology*, 215, 858-62
191. Withers, H. R., Mason, K. A., Davis, C. A. (1985). MR effect on murine spermatogenesis. *Radiology*, 156, 741-2
192. Wolff, S., Crooks, L. E., Brown, P., Howard, R., Painter, R. B. (1980). Tests for DNA and chromosomal damage induced by nuclear magnetic resonance imaging. *Radiology*, 136, 707-10
193. Wolff, S., James, T. L., Young, G. B., Margulis, A. R., Bodycote, J., Afzal, V. (1985). Magnetic resonance imaging: absence of in vitro cytogenetic damage. *Radiology*, 155, 163-5
194. Yip, Y. P., Capriotti, C., Norbash, S. G., Talagala, S. L., Yip, J. W. (1994). Effects of MR exposure on cell proliferation and migration of chick motoneurons. *J Magn Reson Imaging*, 4, 799-804
195. Yip, Y. P., Capriotti, C., Talagala, S. L., Yip, J. W. (1994). Effects of MR exposure at 1.5 T on early embryonic development of the chick. *J Magn Reson Imaging*, 4, 742-8

-
196. Yost, M. G., Liburdy, R. P. (1992). Time-varying and static magnetic fields act in combination to alter calcium signal transduction in the lymphocyte. *FEBS Lett*, 296, 117-22
 197. Youbicier-Simo, B. J., Boudard, F., Cabaner, C., Bastide, M. (1997). Biological effects of continuous exposure of embryos and young chickens to electromagnetic fields emitted by video display units. *Bioelectromagnetics*, 18, 514-23
 198. Zhang, X. R., Kobayashi, H., Hayakawa, A., Ishigaki, T. (1995). An evaluation of the biological effects of three different modes of magnetic fields on cultured mammalian cells. *Nagoya J Med Sci*, 58, 157-64.

8 Danksagung

Ohne die tatkräftige Hilfe und Unterstützung zahlreicher Personen hätte ich die vorliegende Arbeit nicht in dieser Form erstellen können.

Herrn Professor Dr. med. Stephan Duda danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die wohlwollende Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. Claus D. Claussen bin ich für die großzügige Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Arbeitsmittel zu Dank verpflichtet.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Eckart F. Grönwäller, der mir hilfsbereit und freundlich theoretische Kenntnisse und praktische Erfahrung im weiten Feld der Magnetresonanz und ihrer biologischen Wirkungen vermittelte sowie durch seine gewissenhafte Unterstützung bei auftretenden Problemen und seiner konstruktiven Kritik bei der Durchsicht des Manuskripts zu dieser Arbeit verhalf.

Herrn Dipl. biol. Rainer Kehlbach, der ein nahezu allzeit ansprechbarer Betreuer war, möchte ich besonders für die kompetente Einarbeitung im Umgang mit Zellkulturen und manch aufbauendes Wort während einzelner Durststrecken danken. Ohne die aus zahlreichen Diskussionen mit ihm gewonnenen biologischen Kenntnisse und ohne seine geduldige, herzliche Art, diese zu vermitteln, wäre diese Arbeit so nicht entstanden.

Ein herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. med. Enno Rodegerdts, der mich freundlich an das Thema heranführte. Durch ihn erhielt ich in zahlreichen gemeinsamen Sitzungen viele Anstöße, die mich veranlassten, das Thema auf immer neue Weise zu beleuchten und mit neuen Argumenten zu diskutieren.

Nina Schwenzer sei für die gute, freundschaftliche Zusammenarbeit und die vielen fruchtbaren Diskussionen gedankt.

Für die wertvolle, zuverlässige Unterstützung danke ich den Mitarbeitern des Labors der Abteilung für Radiologische Diagnostik in Derendingen.

9 Lebenslauf

Svenja Maren Tilgner, geboren am 19. 07. 1976 in Reutlingen als Tochter von Udo Tilgner und Sabine Tilgner.

1983 - 1985	Grundschule Glems, Metzingen
1985 - 1987	Grundschule Uhlandschule Neuhausen, Metzingen
1987 - 1996	Dietrich-Bonhoeffer-Gymnasium Metzingen
25. Juni 1996	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife (Abitur)
14. Oktober 1996	Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
19. August 1998	Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
31. August 1999	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (1. Staatsexamen)
08. April 2002	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (2. Staatsexamen)
29. April 2002	Beginn des Praktischen Jahres an den Städtischen Kliniken Esslingen, Wahlfach Gynäkologie
Mai 2003	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (3. Staatsexamen)