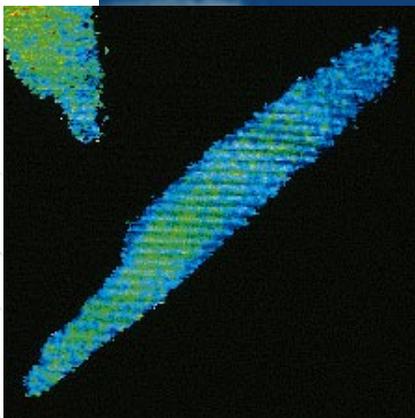
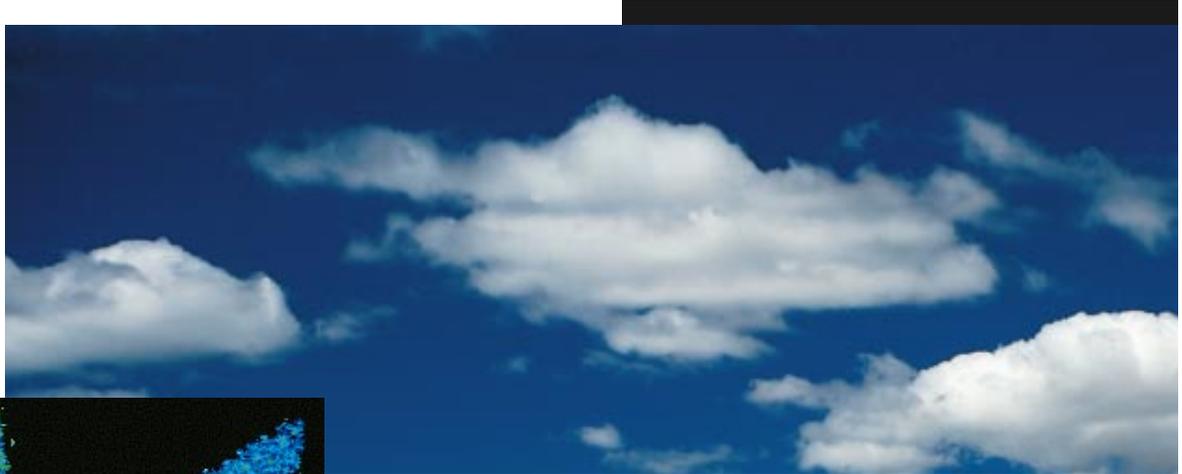


NewsLetter Edition Wissenschaft

Forschungsgemeinschaft Funk e.V. Ausgabe Nr. 2 Dezember 1995



**Der Einfluß hochfrequenter
EM-Felder auf die Calcium-
Homöostase von Herzmuskel-
zellen und Lymphozyten**

Von R. Meyer, F. Gollnick und S. Wolke

Forschungsgemeinschaft
FUNK



Editorial

Liebe Leserinnen und Leser,

die Forschungsgemeinschaft Funk e.V. wurde 1992 mit dem erklärten Ziel ins Leben gerufen, die biologischen Wirkungen elektromagnetischer Wellen auf Mensch und Umwelt zu untersuchen. Gleichzeitig hat die sachliche und objektive Information der Öffentlichkeit für uns einen hohen Stellenwert. Neben dem bewährten „Newsletter“, der das gesamte Thema EMV und EMVU behandelt, werden Sie künftig auch im Newsletter „Edition Wissenschaft“ über den aktuellen Stand der wissenschaftlichen Forschung informiert.

Zahlreiche Forschungsaufträge wurden an unabhängige Wissenschaftlergruppen vergeben. Die Ergebnisse der Einzelprojekte werden wir Ihnen in loser Form in dem neuen Newsletter „Edition Wissenschaft“ vorstellen. Die beauftragten Projekte befaßten sich mit der biologischen Wirkung hochfrequenter elektromagnetischer Felder, wie sie im Mobilfunk genutzt werden. Fazit der Studien: Bislang konnte kein Hinweis auf eine krebserzeugende bzw. krebserfördernde Wirkung gefunden werden.

Die ersten vier Beiträge sind nicht als „Abschlußbericht“ der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. zu verstehen. Vielmehr sind die Untersuchungsergebnisse eine Basis für weitere Studien. Die Forschungsgemeinschaft Funk wird daher in weiteren Ausgaben der „Edition Wissenschaft“ über den aktuellen Kenntnisstand die Öffentlichkeit informieren.

Gerd Friedrich

Inhalt

Vorwort: **Biologische Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern** 3

Teilbericht: **Der Einfluß hochfrequenter elektromagnetischer Felder des Mobilfunks auf die Calcium-Homöostase von Herzmuskelzellen und Lymphozyten** 5

1. Zusammenfassung	5
2. Einleitung	7
3. Material und Methoden	8
3.1. Zellisolierung und Kultivierung	8
3.1.1 Präparation frisch isolierter Herzmuskelzellen des Meerschweinchens	8
3.1.2 Die Kultivierung der T-Jurkat-Zellen	9
3.2. Die Messung der $[Ca^{2+}]_i$	9
3.2.1 Die Wirkungsweise des Farbstoffes	9
3.2.2 Die Beladung der Zellen mit Fura-2	10
3.2.3 Die Vorgehensweise bei der Messung der $[Ca^{2+}]_i$	11
3.3. Der Versuchsaufbau	12
3.3.1 Die für die Messung der $[Ca^{2+}]_i$ erforderlichen Komponenten des Versuchsaufbaues	12
3.3.2 Die für die Erzeugung des hochfrequenten elektromagnetischen Feldes erforderlichen Komponenten des Versuchsaufbaues	13
3.4. Das Design der Experimente	16
3.4.1 Das Meßprogramm	16
3.4.1.1 Das Meßprogramm der Herzmuskelzellen	16
3.4.1.2 Das Meßprogramm der Lymphozyten	18
3.4.2 Die Auswertung	18
4. Ergebnisse	19
4.1. Die Ergebnisse an Herzzellen	19
4.1.1 Variation der Trägerfrequenz	19
4.1.2 Variation der Modulationsfrequenz	20
4.1.3 Variation des Membranpotentials	21
4.1.4 Langzeitexperimente	22
4.2. Die Ergebnisse an Lymphozyten	23
4.2.1 Variation der Trägerfrequenz	23
4.2.2 Variation der Modulationsfrequenz	24
5. Diskussion und Bewertung der Versuche	25
6. Literatur	26

Anhang: **Beschreibung des Versuchsaufbaus und Feldbestimmung** 28

1. Beschreibung des Versuchsaufbaus	28
2. Feldbestimmung	30
3. Literatur	33

Summary: **The Influence of High-Frequency Electromagnetic Fields on the Intracellular Calcium Concentration of Excitable and Non-Excitable Cells** 34

Biologische Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern

Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. E.h. Karl Brinkmann,
Prof. Dr.-Ing. Rudolf Elsner

Beim Einsatz von Mobilfunkgeräten setzt sich der Nutzer der Wirkung elektromagnetischer Strahlung aus. Deshalb muß sichergestellt werden, daß er keine körperliche Schädigung erleidet. Der Hersteller ist daher verpflichtet, Normenvorschriften einzuhalten. Diese Normen beruhen auf der Kenntnis der thermischen Wirkungen elektromagnetischer Felder. Bekannt ist, daß bei einer

spezifischen Absorptionsrate (SAR) von 4 W/kg tierisches und damit vermutlich auch menschliches Gewebe sich um 1°C erwärmt [1]. Um die allgemeine Bevölkerung vor solcher Schädigung zu schützen, ist ein Fünfzigstel dieses Wertes als SAR-Grenzwert von 80 mW/kg vorgeschrieben. Bei Einhaltung dieses Wertes treten sicher keine thermischen Wirkungen auf.

In letzter Zeit ist aber verschiedentlich darauf hingewiesen worden, daß elektromagnetische Felder auch athermische Wirkungen haben könnten. Festzustellen, ob solche Wirkungen auftreten, ist Inhalt unseres Forschungsvorhabens.

Es ist sinnvoll und üblich, solche Wirkungen am biologischen Verhalten tierischer oder menschlicher Zellen zu beobachten. Die Zellen befinden sich in einer Nährflüssigkeit und werden für eine geeignete Zeitdauer einem hochfrequenten elektromagnetischen Feld ausgesetzt. Um Fremdeinflüsse eliminieren zu können, wird parallel eine Vergleichsprobe, ohne einem hochfrequenten Feld ausgesetzt zu sein, beobachtet. Unterschiedliches Verhalten der Zellen mit und ohne Exposition kann dann nur durch den Einfluß des elektromagnetischen Feldes verursacht sein. Offen muß allerdings bei dieser Untersuchungsmethode bleiben, ob diese Wirkungen auch Schädigungen hervorrufen. Das könnte nur durch Versuche am Gesamtorganismus geklärt werden. Richtig bleibt aber, wenn keine oder nur vernachlässigbare Wirkungen auftreten, können auch keine Schädigungen vorhanden sein. Untersucht

Newsletter Edition Wissenschaft

Untersuchungsreihe „Biologische Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern“

1. Ausgabe:

Wachstumsverhalten von humanen Leukämiezellen (Promyelozyten) unter Einfluß von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (1,8 GHz und 900 MHz, jeweils mit 217 Hz gepulst) zur Prüfung auf krebspromovierende Effekte

2. Ausgabe:

Der Einfluß hochfrequenter elektromagnetischer Felder des Mobilfunks auf die Calcium-Homöostase von Herzmuskelzellen und Lymphozyten

3. Ausgabe:

Expositionseinrichtungen

4. Ausgabe:

Zellproliferation, Schwesterchromatidaustausche, Chromosomenaberrationen, Mikrokerne und Mutationsrate des HGPRT-Locus nach Einwirkung von elektrischen Hochfrequenzfeldern (440 MHz, 900 MHz und 1,8 GHz) auf humane periphere Lymphozyten

Vorwort

wurden Lymphozyten gesunder männlicher Spender (Arbeitsgruppe Eberle, Braunschweig), Herzmuskelzellen und Lymphozyten (Arbeitsgruppe Meyer, Bonn) und humane Leukämiezellen (Arbeitsgruppe Fitzner, Berlin). Die Exposition erfolgte mit 440 MHz (C-Netz), 900 MHz (D-Netz) und 1.800 MHz (E-Netz). Im D- und E-Band wurden pulsmodierte Signale verwendet. Die Nährflüssigkeit wurde auf $37^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ konstant gehalten. Die Probenhalter mit Zellen, Nährflüssigkeit und Weißöl zur Temperaturkonstanthaltung waren bei der Arbeitsgruppe Eberle und Fitzner mit Abmessungen von 10 cm relativ groß. Bei der Arbeitsgruppe Meyer mit Abmessungen von 1 cm entsprechend kleiner.

Die elektromagnetischen Felder sollten ohne störende Prüfbjekte in ihrer Struktur möglichst homogen sein. Dazu wurden geeignete Wellenleiter (Arbeitsgruppe Elsner/Neibig, Braunschweig) bereitgestellt. Diese Wellenleiter sind metallisch geschlossene Räume, so daß die inneren Hochfrequenzfelder nicht nach außen störend wirken können und fremde Felder nicht in den Meßraum verfälschend eindringen können.

Die Leistung, die der Wellenleiter am Ort des Prüfbjektes zur Verfügung stellt, ist wesentlich höher als die Leistung, die die Nährflüssigkeit annimmt. Das liegt an den elektromagnetischen Eigenschaften der Nährflüssigkeit. Die Leistungsdichte in der Nährflüssigkeit und damit auch in den Zellen kann nicht gemessen werden. Deshalb wurde mit Kenntnis der elektromagnetischen Eigenschaften der Nährflüssigkeit und des Materials des Probentragers die elektrische und magnetische Feldstärke in der

Nährflüssigkeit berechnet. Daraus ergeben sich über die elektrische Leitfähigkeit des Materials die SAR-Werte als Leistungsdichte der elektromagnetischen Strahlung in der Nährflüssigkeit. Die berechneten Werte konnten nur mit einigen Vereinfachungen gewonnen werden. Sie können daher maximal um den Faktor zwei nach oben oder unten von den wirklichen Werten abweichen. Die SAR-Werte sollten für alle Versuche bei 80 mW/kg bzw. $80 \mu\text{W/cm}^3$ liegen. Das konnte nur in der Größenordnung erreicht werden, da die Berechnungen aus zeitlichen Gründen durchgeführt wurden, während die biologischen Untersuchungen schon liefen. Die meisten berechneten Werte liegen unter diesen Normenwerten.

Für die elektrische und magnetische Feldstärke liegen nach DIN VDE 0848 Teil 2 die Grenzwerte bei 100 V/m bzw. $0,265 \text{ A/m}$ (entsprechend einer magnetischen Flußdichte von $0,3 \mu\text{T}$). Berechnungen ergaben ferner, daß bei den verwendeten Nährflüssigkeiten die magnetische Feldstärke im Wellenleiter durch Einbringen des Prüfbjektes nur sehr wenig verändert wird, während die elektrische Feldstärke dabei wesentlich kleiner wird. Das geschieht auch im menschlichen Körper in gleicher Weise.

In den folgenden vier Teilberichten sind die biologischen Grundlagen, die Meßaufbauten und die Ergebnisse dargestellt. Alle Ergebnisse lassen keine athermischen Wirkungen erkennen.

- Teilbericht:
Dipl.-Ing. Uwe Neibig, Technische Universität Braunschweig
„Expositionseinrichtungen“

- Teilbericht:
Dr. rer. nat. Susanne Diener, Prof. Dr. rer. nat. Paul Eberle, Technische Universität Braunschweig
„Zellproliferation, Schwesterchromatidaustausche, Chromosomenaberrationen, Mikrokerne und Mutationsrate des HGPRT-Locus nach Einwirkung von elektromagnetischen Hochfrequenzfeldern (440 MHz, 900 MHz und 1,8 GHz) auf humane periphere Lymphozyten“
- Teilbericht:
Dr. rer. nat. Rainer Meyer, Universität Bonn
„Der Einfluß hochfrequenter elektromagnetischer Felder des Mobilfunks auf die Calcium-Homöostase von Herzmuskelzellen und Lymphozyten“
- Teilbericht:
Dr. med. R. Fitzner, E. Langer, Freie Universität Berlin
„Wachstumsverhalten von humanen Leukämiezellen (Promyelozyten) unter Einfluß von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (1,8 GHz und 900 MHz, jeweils mit 217 Hz gepulst) zur Prüfung auf krebspromovierende Effekte“

Diese Arbeiten wurden mit Mitteln der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. gefördert.

Literatur

- [1] Heinrich Baggenstoës: „Dosismetrische Untersuchungen zum Mobilfunk“, Kleinheubacher Berichte, Band 37 (1993), S. 589

Abschlußbericht des Teilprojektes:

Der Einfluß hochfrequenter elektromagnetischer Felder

des Mobilfunks auf die Calcium-Homöostase von Herzmuskelzellen und Lymphozyten

Physiologisches Institut der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn, Wilhelmstr. 31, 53111 Bonn

Mitarbeiter: Dr. Rainer Meyer, Dr. Frank Gollnick, Dr. Stephan Wolke

Korrespondenzadresse: Arbeitsgruppe Priv. Doz. Dr. Rainer Meyer,
Physiologisches Institut der Universität Bonn, Wilhelmstr. 31,
53111 Bonn, Tel.: 0228/2872311, Fax: 0228/2872313,
E-Mail: meyer@snphysio2.wilhelm.uni-bonn.de

1. Zusammenfassung

Das Vorhaben beschäftigt sich mit den Auswirkungen elektromagnetischer Felder in einem für Telekommunikationszwecke relevanten Bereich auf die intrazelluläre Calciumkonzentration, $[Ca^{2+}]_i$, von Herzmuskelzellen und Lymphozyten. Zur Ausführung dieser Untersuchung wurde eine Hochfrequenz-Applikationsapparatur entwickelt, die die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung einzelner Zellen bei gleichzeitiger Einwirkung definierter hochfrequenter elektromagnetischer Felder erlaubt. Die Applikationsapparatur besteht aus einem Leistungsmeßsender, der mit der Möglichkeit zur externen Modulation versehen wurde, einem

Modulator und einer Zelle zur Erzeugung eines hochfrequenten elektromagnetischen Feldes mit homogener transversaler elektrischer und magnetischer Feldkomponente, TEM-Zelle. Die TEM-Zelle enthält eine Versuchskammer zur Aufnahme des biologischen Materials, also der Herzzellen und der Lymphozyten. Der Boden der Versuchskammer wird durch ein Deckglas und ein Metallgitter gebildet, wodurch bei weitestgehender Abdichtung für elektromagnetische Felder der optische Einblick mit dem Mikroskopobjektiv gewährleistet werden konnte. Für die unterschiedlichen angewendeten Konfigurationen von Trägerfrequenz und Puls/Pauseverhältnis wurden SAR-Werte bestimmt. Die mittleren SAR-Werte schwankten in Abhängigkeit von der Konfiguration; sie

lagen z.B. bei 900 MHz Trägerfrequenz und 217 Hz Pulsfrequenz bei 15,4 mW/kg und bei 1800 MHz Trägerfrequenz und 217 Hz Pulsfrequenz bei 8,6 mW/kg.

Mit Hilfe des fluoreszierenden Calciumindikatorfarbstoffes Fura-2 wurde die $[Ca^{2+}]_i$ in isolierten Herzmuskelzellen des Meerschweinchens und in kultivierten menschlichen T-Lymphozyten der Zelllinie Jurkat gemessen. Die Messung erfolgte durch Bestimmung von Fluoreszenzintensitäten mit Hilfe der quantitativen computergestützten Bildanalyse.

Die Versuche wurden in der Regel nach folgendem Muster durchgeführt: Die erste Phase des Experiments bildete ein Vorlauf ohne Feldapplikation von 500 s, in einer zweiten Phase wurde für

Zusammenfassung

500 s das hochfrequente Feld angewendet, in einer dritten Phase wurde das Feld wieder abgeschaltet und ein chemischer Stimulus appliziert, der zu einem Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ führen sollte. Der chemische Stimulus sollte zeigen, daß die Zellen aktivierbar sind und ein Fehlen einer Antwort nicht auf mangelnde Aktivierbarkeit der Zellen zurückzuführen ist. Im Fall der Herzmuskelzellen wurde normalerweise als Stimulus eine Erhöhung der äußeren K^+ -Konzentration (135 mM), $[K^+]_o$, vorgenommen, im Fall der Lymphozyten wurde eine Lösung mit erniedrigter Na^+ -Konzentration (10 mM) perfundiert. Mit beiden Zelltypen wurden umfangreiche Meßprogramme abgewickelt, wobei sowohl die Trägerfrequenz der hochfrequenten Felder als auch die Modulationsfrequenz variiert wurden. Bei den Herzmuskelzellen wurden zusätzlich das Membranpotential und die Expositionszeit verändert. Die Herzmuskelzellen wurden bei 900, 1300 und 1800 MHz moduliert mit 217 Hz, 14% Impuls/Pauseverhältnis, Modulationshub 100%, exponiert. Bei 900 MHz wurde die Modulationsfrequenz auf unterschiedliche Stufen eingestellt: 0, 16, 50 und 217 Hz sowie 30 kHz. Das Impuls/Pauseverhältnis betrug bei 16 und 50 Hz 50%, bei 217 Hz 14% und bei 30 kHz 80%. Der Modulationshub war grundsätzlich 100%. Das Membranpotential der Herzmuskelzellen wurde vor der Exposition (bei 900 MHz, 217 Hz, 14%) auf -50, -30 und 0 mV verschoben. Nach der Exposition wurde repolarisiert. In Langzeitexperimenten wurde die Expositionszeit (900 MHz, 217 Hz) auf 120 min verlängert. Zu den verschiedenen Experiment-Variationen wurden

grundsätzlich die passenden Scheinexpositionen durchgeführt. Bei den T-Jurkat-Zellen wurde ein breites Spektrum an Trägerfrequenzen getestet (900, 1100, 1300, 1500, 1700 und 1900 MHz, alle mit 30 kHz moduliert, Impuls/Pauseverhältnis 80%). Außerdem wurden bei 900 MHz wieder verschiedene Modulationsfrequenzen in ihrer Wirkung getestet (0, 16, 50 und 217 Hz sowie 30 kHz, Impuls/Pauseverhältnis wie bei den Herzzellen). Zusätzlich wurden die für den Mobilfunk wichtigen Frequenzen 900 und 1800 MHz, gepulst mit 217 Hz, Impuls/Pauseverhältnis 14% an jeweils 400 Zellen untersucht.

Die Herzmuskelzellen reagierten auf die chemische Stimulation in der erwarteten Weise, d.h. die $[Ca^{2+}]_i$ stieg regelmäßig unter den Bedingungen der K^+ -Erhöhung an. Das Feld bewirkte unter keiner der untersuchten Meßkonfigurationen eine Veränderung der $[Ca^{2+}]_i$. Auch wenn die $[Ca^{2+}]_i$ durch eine Verschiebung des Membranpotentials während der Expositionszeit erhöht war, nahm das Feld keinen Einfluß.

Die T-Jurkat-Lymphozyten reagierten ebenfalls nicht auf die Exposition im hochfrequenten elektromagnetischen Feld. Allerdings reagierten diese Zellen auch nicht auf die chemische Stimulation, so daß hier ein wichtiges Element im Nachweis der Unempfindlichkeit dieser Zellen gegen die hochfrequenten Felder fehlt. Darüber hinaus zeigten die Zellen in der Meßkammer auch ungewöhnlich wenig spontane Oszillationen der $[Ca^{2+}]_i$.

Die Herzzellen waren in keinem Fall durch die Exposition im Feld

in ihrer $[Ca^{2+}]_i$ zu beeinflussen, obwohl ihre Fähigkeit zur Reaktion immer gegeben war. Diese Ergebnisse sind bezüglich meßbarer Veränderungen in der $[Ca^{2+}]_i$ klar und deutlich. Die Lymphozyten reagierten ebenfalls nicht auf die Exposition im Feld, jedoch konnte ihre Reaktionsfähigkeit nicht bewiesen werden. Ihre Vitalität steht außer Zweifel, denn in Vorversuchen konnten wir klären, daß nur intakte und vitale Zellen durch Fura-2 gefärbt werden können. Die anderen Zellen nehmen den Farbstoff gar nicht auf oder verlieren ihn während des Experimentes sehr schnell wieder. Die Experimente lieferten keinen Hinweis auf eine Beeinflussbarkeit der $[Ca^{2+}]_i$ der T-Jurkat Zellen durch die hochfrequenten elektromagnetischen Felder, die hier untersucht wurden. Trotzdem konnten unsere Experimente an den T-Jurkat Lymphozyten nicht eindeutig beweisen, daß diese Zellen auf die Felder nicht mit einer Veränderung der $[Ca^{2+}]_i$ reagieren; denn dazu würden noch klare Positivkontrollen benötigt.

2. Einleitung

Die intrazelluläre Calciumkonzentration, $[Ca^{2+}]_i$, spielt eine große Rolle bei der Regelung zellulärer Vorgänge wie Bewegung, Kontraktion oder Zellteilung (Carafoli und Penniston, 1986; Rasmussen, 1989). Falls elektromagnetische Felder Einfluß auf die Aktivitäten von Zellen haben, dann wird sich dies mit großer Wahrscheinlichkeit auch in Veränderungen der $[Ca^{2+}]_i$ widerspiegeln. Die $[Ca^{2+}]_i$ unterliegt vielen Einflüssen, z.B. hängt sie von der elektrischen Leitfähigkeit der Zellmembran ab, wird durch die Permeabilität von intrazellulären Ca^{2+} -Speichern bestimmt, aber auch die Konzentration von anderen intrazellulären Botenstoffen wie Inositoltrisphosphat (IP_3) hat Einfluß auf sie. IP_3 ist hauptsächlich in die Signalübertragung, ausgehend von Rezeptoren in der Zellmembran, involviert. So ist die $[Ca^{2+}]_i$ ein guter Indikator für Veränderungen in den verschiedensten zellulären Systemen, die selbst für elektromagnetische Felder empfindlich sein könnten. Untersuchungen zur Beeinflussung der $[Ca^{2+}]_i$ werden also Veränderungen in den verschiedensten möglichen Angriffspunkten elektromagnetischer Felder registrieren.

Auch schon bevor man die $[Ca^{2+}]_i$ direkt messen konnte, hat man daher versucht, ihre mögliche Beeinflussung durch Felder meßtechnisch zu erfassen. Hochfrequente elektromagnetische Felder wurden in ihrem Einfluß auf den Aus- bzw. Einstrom von radioaktiv markiertem Calcium, $^{45}Ca^{2+}$, in sogenannten Flux-Messungen untersucht (Bawin et al., 1975). Auf diese Arbeit an Vogelgehirn-

gewebe folgten eine ganze Reihe von $^{45}Ca^{2+}$ -Flux-Messungen an dem gleichen Präparat (Übersicht: in Blackman et al., 1991), an Herzgewebe (Schwartz et al., 1983), aber auch an menschlichen Neuroblastoma-Zellen (Dutta et al. 1984). Veränderungen im $^{45}Ca^{2+}$ -Flux durch die Zellmembran wurden bei den Untersuchungen an Hirngewebe dann gefunden, wenn hochfrequente Wellen niederfrequent z.B. bei 16 Hz amplitudenmoduliert wurden, also im Frequenzbereich der EEG-Wellen (Elektroencephalogramm). Unter Feldern, die für Kernspintomographie mittels magnetischer Resonanz verwendet werden, wurde auch die $[Ca^{2+}]_i$ in HL60-Zellen – dies sind Zellen des Immunsystems – bestimmt. Die kombinierten Felder für die Kernspintomographie führten zu einem signifikanten Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ in diesen Zellen, während der hochfrequente Anteil der Felder allein keine Auswirkung hatte. Auch eine Reihe von Ca^{2+} -abhängigen Vorgängen wie die betäubende Wirkung von Opiaten (Kavaliers und Ossenkopp, 1987) und die Kontraktion glatter Gefäßmuskeln (Miura und Okada, 1991, Miura et al., 1993) können durch hochfrequente elektromagnetische Felder beeinflußt werden, ebenso die elektrischen Eigenschaften der Zellmembran wie das Membranpotential von Schneckenervenzellen (Kullnick, 1992) oder die Membranströme in kultivierten Skelettmuskeln (Bernardi et al., 1989), die selbst wiederum die $[Ca^{2+}]_i$ beeinflussen können. Es gibt also in der oben erwähnten Literatur (Fluxmessungen und elektrophysiologische Ableitungen) Hinweise, daß die gepulsten hochfrequenten elektromagnetischen Felder der mo-

dernen Mobilfunk-Telefonnetze auch einen Einfluß auf die $[Ca^{2+}]_i$ von Zellen haben könnten. Daraus ergab sich als Ziel dieser Untersuchung, den Einfluß der gepulsten hochfrequenten Felder des Mobilfunks auf die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration zu messen. Als Zelltyp wurden isolierte Herzmuskelzellen des Meerschweinchens ausgewählt; die Herzmuskelzellen verfügen über eine reichhaltige Ausstattung mit Ca^{2+} -Kanälen, Ca^{2+} -Speichern und Ca^{2+} -Transportsystemen, die alle gut beschrieben sind (z.B. Meyer et al., 1987). Diese Zellen wurden als Vertreter der Gruppe der erregbaren Zellen ausgewählt. Zusätzlich haben wir während der Laufzeit des Projektes noch eine Zelllinie entarteter menschlicher T-Lymphozyten, Jurkat-Zellen, in das Programm mit aufgenommen. Diese Zellen gerieten durch eine Untersuchung einer schwedischen Arbeitsgruppe im letzten Jahr in den Verdacht, besonders empfindlich für elektromagnetische Felder zu sein (Lindström et al., 1993). Diese Zellen sollten als Beispiel aus der Gruppe der elektrisch nicht erregbaren Zellen dienen.

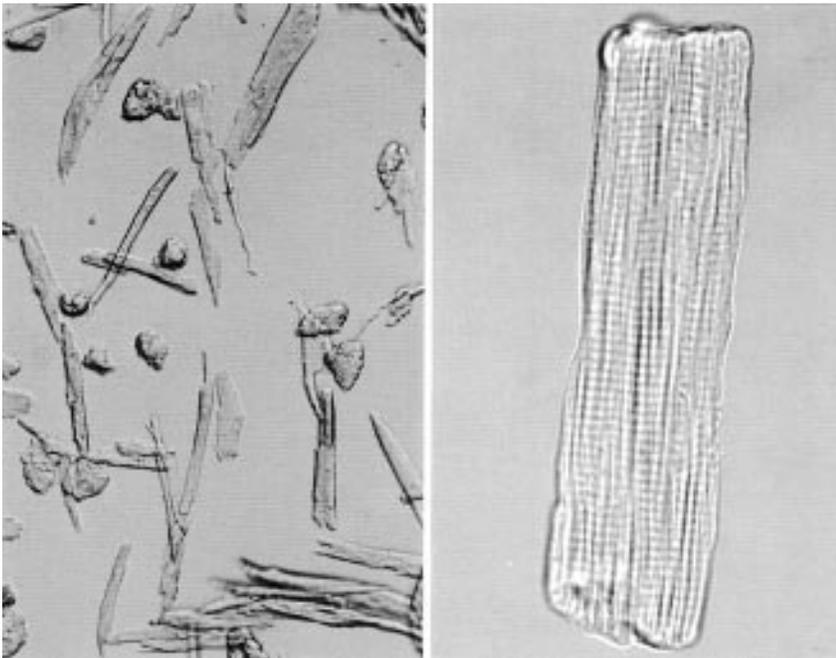


Abbildung 1: Lichtmikroskopische Hellfeldaufnahmen isolierter Herzmuskelzellen. Links: Übersichtsaufnahme mit wenigen runden, zerstörten Zellen und vielen stäbchenförmigen, vitalen Zellen. Rechts: Detailansicht einer isolierten Herzmuskelzelle. Die Querstreifung entsteht durch den regelmäßigen Aufbau der kontraktiven Elemente in diesen Zellen. Sie kann als interner Maßstab verwendet werden, da die Periodenlänge der Querstreifung bei diesen Zellen ca. 1,9 μm beträgt.

3. Material und Methoden

3.1. Zellisolierung und Kultivierung

Für die Untersuchungen wurden zwei Zelltypen, frisch isolierte Herzmuskelzellen aus dem Ventrikel des Meerschweinchens und kultivierte entartete menschliche T-Lymphozyten der Zelllinie T-Jurkat, ausgewählt.

3.1.1 Präparation frisch isolierter Herzmuskelzellen des Meerschweinchens

Zur Isolierung der Herzmuskelzellen wurden Meerschweinchenherzen retrograd nach Langendorff perfundiert. Das Prinzip der Zellisolation beruht auf einer Reihe von einzelnen Schritten, die es ermöglichen, das intakte Gewebe als Einheit aufzulösen, ohne die einzelne Zelle dabei zu zerstören:

Im ersten Schritt wird das Ca^{2+} aus dem Herzgewebe ausgewaschen. Dies geschieht, damit das Herz nicht mehr schlägt und damit die Zellverbindungen gelockert werden.

Im zweiten Schritt wird die extrazelluläre Lösung in ihrem Ionengehalt an die intrazelluläre angeglichen, damit die Zellen kleine Verletzungen während der Isolationsprozedur besser überstehen.

Im dritten Schritt werden Enzyme perfundiert, die die Zell-Zell-Verbindungen lockern und das extrazelluläre Collagengerüst, welches das Gewebe stabilisiert, auflösen. Die Enzyme, Trypsin und Collagenase, werden nacheinander in einer Lösung mit hohem K^+ -Anteil angewendet.

Im vierten Schritt wird das so aufgelockerte Gewebe zerschnitten, und durch mechanisches Rühren werden einzelne Zellen aus dem Gewebsverband heraus-

gelöst. Gleichzeitig werden die Herzmuskelzellen wieder in eine Ionenlösung normaler Zusammensetzung überführt (Tyrodelösung, Inhaltsstoffe in mM: 135 NaCl; 4 KCl; 1.8 CaCl_2 ; 1 MgCl_2 ; 11 Glucose; 2 HEPES; 7.2 pH mit NaOH titriert plus Rinder-Serum-Albumin (BSA) 1 g/l). Man erhält so eine Mischung aus runden, zerstörten und stäbchenförmigen, vitalen Zellen (vgl. Abb. 1).

Im fünften Schritt wird versucht, die stäbchenförmigen, vitalen Zellen von den runden, zerstörten zu trennen. Dies geschieht über Zentrifugations- und Sedimentationsschritte. Als Ergebnis erhält man eine Zellsuspension mit einem Anteil von 30 - 70 % langgestreckten Zellen, die in ihrem Aussehen und auch in ihren physiologischen Reaktionen weitestgehend den Zellen im intakten Gewebe entsprechen (Abb. 1). Die Details der Zellisolation sind bei Stegemann et al. (1990) beschrieben.

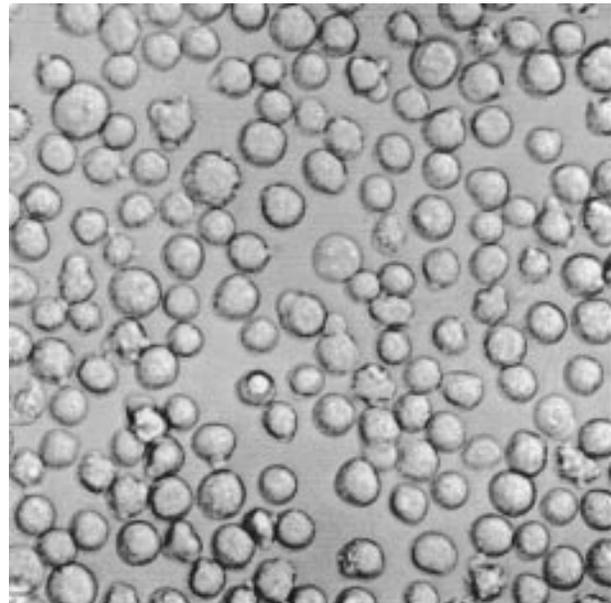


Abbildung 2: Darstellung menschlicher T-Lymphozyten der Zelllinie Jurkat. Der Durchmesser einer Zelle beträgt ca. 5 μm .

3.1.2 Die Kultivierung der T-Jurkat-Zellen

Die T-Jurkat Zellen (Klon E6-1, Weiss et al., 1984) wurden von der American Type Culture Collection (ATCC) bezogen. Die Kultur der T-Jurkat Zellen erfolgt in Suspension in Zellkulturflaschen (Fa. Costar) mit einer Wachstumsfläche von 75 cm^2 und einem Gesamtvolumen von 300 ml. Die Zellen werden in einem speziell für die Suspensionskultur menschlicher Lymphozyten entwickelten Medium (RPMI 1640, nach Moore et al., 1967, bezogen von GIBCO) kultiviert. Das Medium wird mit foetalem Kälberserum (FCS, bezogen von Seromed) versetzt. Der FCS-Anteil wurde zwischen 5 und 10% variiert. Mit dem FCS-Anteil wird die Wachstumsgeschwindigkeit eingestellt. In Abhängigkeit von der FCS-Konzentration findet der Medienwechsel in einem Rhythmus von 2 bis 4 Tagen statt. Hierzu werden bei einem Gesamtvolumen von 30 ml Zellsuspension 20 bis 28 ml entnommen; die verblei-

benden 2 bis 10 ml werden anschließend mit entsprechender Menge Medium aufgefüllt. Die Zellen werden bei 37°C in einem CO_2 -begasteten Inkubator kultiviert. Die Zellen erscheinen im mikroskopischen Hellfeldbild rund und ohne besondere Kennzeichen (Abb. 2). Alle Experimente mit den T-Jurkat Lymphozyten wurden in Krebs-Ringer-Lösung durchgeführt (in mM: 120 NaCl; 4,7 KCl; 1,2 KH_2PO_4 ; 1,2 MgSO_4 ; 1 CaCl_2 ; 20 HEPES pH 7,3; 10 Glucose; 1 mg/ml BSA).

3.2. Die Messung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$

3.2.1 Die Wirkungsweise des Farbstoffes

Der Fluoreszenzfarbstoff Fura-2 (Grynkiewicz et al., 1985) diente bei den hier dargestellten Messungen als Ca^{2+} -Indikator. Er arbeitet nach dem Prinzip der Zwei-Wellenlängen-Anregungs-Fluorochrome.

Bei diesen Fluoreszenzfarbstoffen hängt die emittierte Intensität nicht nur von der Intensität und Wellenlänge des Anregungslichtes ab, sondern auch von dem Grad, mit dem der Farbstoff mit spezifischen Liganden gesättigt ist. Die Abhängigkeit der emittierten Lichtintensität von der Wellenlänge des Anregungslichtes und der Ca^{2+} -Konzentration ist in Abb. 3 als dreidimensionales Diagramm dargestellt (verändertes Diagramm nach Grynkiewicz et al., 1985). Die mit 0 nM bezeichnete Kurve gibt die Emission des Ca^{2+} -freien Fura-2 an und hat ihr Maximum bei 360 nm Anregungslicht (hinterste Kurve). Wird zunehmend Ca^{2+} an den Farbstoff gebunden, dann verschiebt sich das Maximum von 360 nm zu 340 nm hin, die Fluoreszenz bei 340 nm steigt an und sinkt bei Anregungswellenlängen länger als 360 nm. Bei 360 nm bleibt die Fluoreszenz konstant; dies ist der isosbestische Punkt. Damit ist die Fluoreszenz bei 360 nm unabhängig von der Ca^{2+} -Konzentration in der Lösung und

Methoden

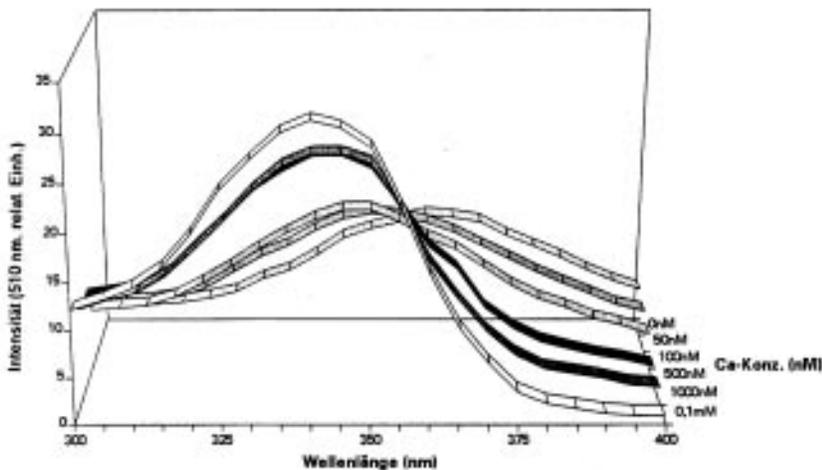


Abbildung 3: Anregungsdiagramm von Fura-2 bei verschiedenen freien $[Ca^{2+}]$. Die Kurven für eine $[Ca^{2+}]$ von 0, 50, 100, 500, 1.000 und 10.000 nM sind aufgetragen.

nur abhängig von der Intensität des Anregungslichtes, der Farbstoffkonzentration, der Schichtdicke und anderen Geräteparametern. Dieses Verhalten des Farbstoffes ist Voraussetzung für eine absolute Eichung der gemessenen Lichtintensitäten als Ca^{2+} -Konzentrationen.

Um eine Messung mit einem Zwei-Wellenlängen-Anregungs-Fluorochrom durchzuführen, muß also der Farbstoff einmal bei einer Wellenlänge unterhalb und einmal bei einer Wellenlänge oberhalb des isosbestischen Punktes oder am isosbestischen Punkt selbst angeregt werden. Die so erzielte Fluoreszenz wird jeweils gemessen, und die Meßwerte werden zueinander ins Verhältnis gesetzt.

Ein Rechenbeispiel soll die Unabhängigkeit der Verhältniswerte von Farbstoffkonzentration oder Zeldicke bei einer Quotientenbildung zweier Intensitäten verdeutlichen: Bei einer bestimmten Konzentration des Farbstoffes betrage die Intensität des Emissionslichtes (in relativen Einheiten) bei 340 nm Anregungslicht $I_{340nm} = 3$,

bei 380 nm Anregungslicht $I_{380nm} = 1$. Der Quotient $R_{340nm/380nm} = I_{340nm} / I_{380nm}$ ergibt dann $R = 3$. Eine Verdoppelung der Farbstoffkonzentration würde die Intensitäten $I_{340nm} = 6$ und $I_{380nm} = 2$ liefern, der Quotient ist jedoch auch hier $R = 3$.

Diese Verhältniswerte werden an Hand einer Kennlinie in Ca^{2+} -Konzentrationen überführt. Ein Beispiel für eine Kennlinie ist in dem unteren Teilbild in Abb. 4 gezeigt. Diese Kennlinie wurde mit Hilfe von genau kalibrierten Eichpräparaten nach dem bei Gollnick et al. (1991) beschriebenen Ver-

fahren erstellt. Sie bezieht sich auf ein Experiment an Herzmuskelzellen, welches im Rahmen der hier beschriebenen Untersuchung durchgeführt wurde.

3.2.2 Die Beladung der Zellen mit Fura-2

Zur Messung der $[Ca^{2+}]_i$ haben wir die Zellen mit dem Ca^{2+} -Indikatorfarbstoff Fura-2 beladen. Es ist in zwei chemischen Varianten erhältlich, zum einen als membranimpermeables Salz und zum anderen in der membrangängigen Variante als Acetoxymethylester

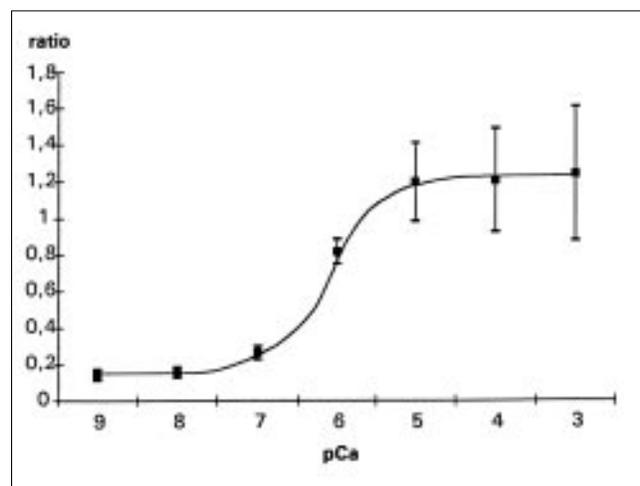


Abbildung 4: Verhältniswerte der Fluoreszenzintensitäten bei 340 und 380 nm Anregungslicht, aufgetragen gegen den negativen dekadischen Logarithmus der $[Ca^{2+}]$, nCa.

Methoden

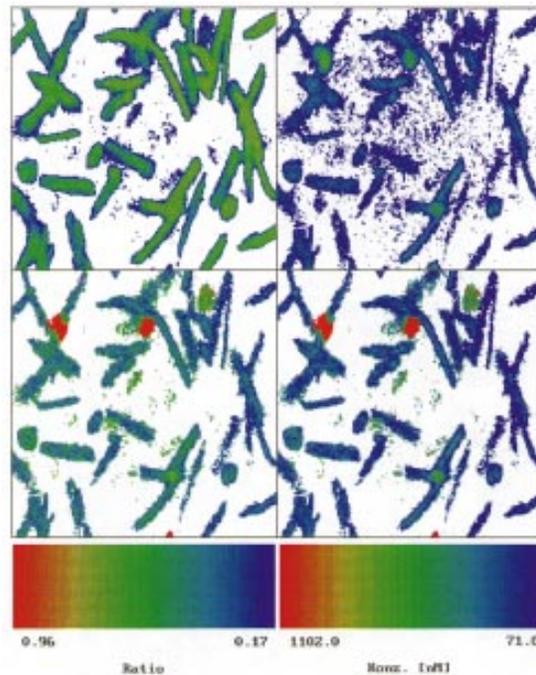
30-60 min bei 37°C in Krebs-Ringer-Lösung mit 2-4 µM Fura-2/AM inkubiert.

3.2.3 Die Vorgehensweise bei der Messung der $[Ca^{2+}]_i$

Die Messung erfolgte mittels computergestützter Bildanalyse. Die einzelnen Schritte der Bildverarbeitung sind nebenstehend erläutert. Im vorliegenden Fall wurden Fluoreszenzbilder, die durch Anregung mit Licht einer Wellenlänge von 340 und 380 nm erzeugt wurden, digitalisiert. Pixel für Pixel wird das Verhältnis 340/380 nm errechnet und das Bild zusammengesetzt. Dieses Verhältnis ist ein Maß für die Calcium-Konzentration. Es wird farbcodiert (Falschfarbdarstellung) und dann als Ca^{2+} -Verteilung innerhalb der Zellen dargestellt (Beispielbilder in Abb. 5+6). Für die Aufnahme der Bilder wurde das Hamamatsu Programm ICS (Interactive Calcium Measurement System) verwendet. Die Auswertung wurde mit Hilfe eines selbstentwickelten Bildverarbeitungs-Programmes, welches während der Dauer des Projektes fertiggestellt wurde, vorgenommen. Während eines Experimentes wurden die Bildpaare jeweils in einem Abstand von 10 s aufgenommen. In den meisten Experimenten betrug die gesamte Beobachtungszeit 1500 s. Dieses Limit von 150 Belichtungen ist bei der gewählten Bildfrequenz durch das Ausbleichen des Fluoreszenzfarbstoffs bedingt.

Um zu ermitteln, wie die $[Ca^{2+}]_i$ sich in einer Zelle während eines Experimentes ändert, wird diese Zelle mit einem Meßfenster verse-

Abbildung 5: Darstellung eines Bildpaares der Originalfluoreszenzbilder und der verarbeiteten Bilder aus einem Experiment an Herzmuskelzellen. 380 nm Bild (links oben), 340 nm Bild (rechts oben), Verhältnisbild (links unten) und Konzentrationsbild (rechts unten). Alle Bilder sind farbcodiert gemäß der angegebenen Farbbalken.



(Fura-2/AM). Werden die Zellen in einer Lösung, die Fura-2/AM enthält, inkubiert, dann gelangt der Farbstoff in das Zytoplasma der Zellen. Dort wird er durch die Aktivität der zelleigenen Esterasen in die membranimpermeable Variante umgewandelt. Er bleibt also im Zytoplasma „gefangen“. Will man den membranimpermeablen Farbstoff verwenden, der über eine Reihe von methodischen Vorteilen verfügt, dann muß man diesen in das Zytoplasma injizieren oder über eine andere Beladungstechnik, die zu transienten Membranrupturen führt, einschleusen. Dies ist nur bei sehr geringen Zellzahlen möglich und schied daher für diese Untersuchung von vornherein aus. Daher haben wir uns für die Acetoxymethylestervariante des Farbstoffes entschieden. Dazu wurde die Suspension mit den Herzzellen für 15 min bei 37° in Tyrode-Lösung mit einem Zusatz von 0,5-1 µM Fura-2/AM inkubiert, Lymphozyten wurden für

Ablauf einer Messung

1. Beladung der Zellen mit Farbstoff
2. Messung des Dunkelstromes der Kamera
3. Aufnahme eines „Background“-Wertes für die 340 und 380 nm Bilder
4. Aufnahme einer Bildserie, jeweils Bildpaare 340-380
5. Korrektur der Originalhelligkeiten um Dunkelstrom und „Background“
6. Quotientenbildung (pixelweise) für jedes Bildpaar
7. Grauwertspreizung und Darstellung in Falschfarben
8. Umrechnung der Verhältniswerte in Calcium-Konzentrationen durch Vergleich mit einer Eichkurve

hen. In diesem Meßfenster wird die $[Ca^{2+}]_i$ in jedem Bild gemessen und anschließend gegen die Zeit aufgetragen. In Abb. 6 sind die Meßfenster eines Experimentes in die entsprechenden Zellen eingetragen, um das Verfahren zu verdeutlichen.

Um die Aufnahme dieser Bilder zu ermöglichen, muß der Versuchstand eine Reihe von speziellen Komponenten aufweisen, die im folgenden Kapitel näher beschrieben werden sollen.

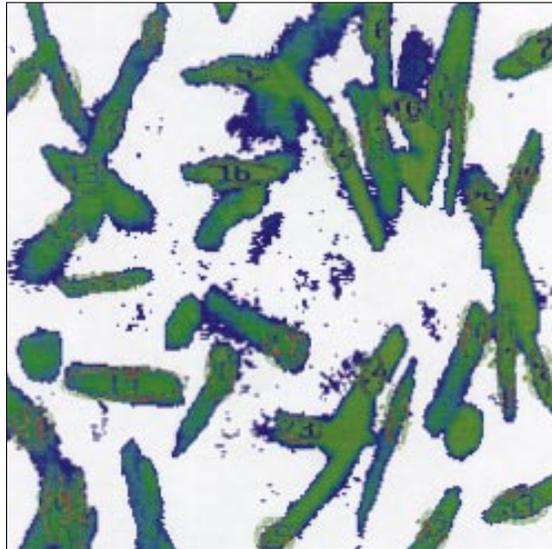


Abbildung 6:
Herzmuskelzellen mit
Meßfenstern als „overlay“.

3.3. Der Versuchsaufbau

Der Versuchstand besteht aus zwei Funktionseinheiten, die der Messung der $[Ca^{2+}]_i$ und der Erzeugung und Applikation der hochfrequenten elektromagnetischen Felder dienen. Beide sollen hier getrennt beschrieben werden.

3.3.1 Die für die Messung der $[Ca^{2+}]_i$ erforderlichen Komponenten des Versuchsaufbaus

Im Prinzip besteht der Versuchsaufbau aus einem inversen Mikroskop, welches auf einem schwingungsgedämpften Tisch aufgebaut

ist. Abb. 7 gibt einen Überblick über den Versuchsaufbau. Das Mikroskop ist mit einer Auflichtfluoreszenzeinrichtung mit einer Xenon-Lampe, mit einem computergesteuerten Filterwechsler und mit einem Verschluss, einer restlichtverstärkenden Videokamera, einem Bildverarbeitungssystem für „online“-Digitalisierung und einer temperierten Versuchskammer für die Zellen ausgerüstet. Die Versuchskammer wird permanent perfundiert und geheizt. Der Filterwechsler enthält je einen Bandpaßfilter für die Anregungswellenlänge 340 und 380 nm. Der Filterwechsler und der Verschluss erhalten Steuersignale von einem eigenen Rechner, der die ursprünglichen Steuersignale des Bildverarbeitungssystems entsprechend umsetzt. Das Zusammenspiel der verschiedenen Komponenten des Mikroskopes, die zum Teil Eigenentwicklungen sind, ist aus dem Schema in Abb. 8 ersichtlich. Der Versuchstand entspricht den Kriterien eines Versuchstandes für Bildverarbeitung nach dem Prinzip der Zwei-Zellenlängen-Anregungs-Fluorochrome (Tsien und Hasegawa, 1990).



Abbildung 7: Übersichtfoto des Versuchsaufbaus mit seinen unterschiedlichen Komponenten (von links nach rechts): Bildverarbeitungsrechner, „rack“ mit Videoausrüstung und „online“-Bildverarbeitung, daneben „rack“ mit Geräten zur Steuerung des Standes und schwingungsgedämpfter Tisch mit inversem Mikroskop.

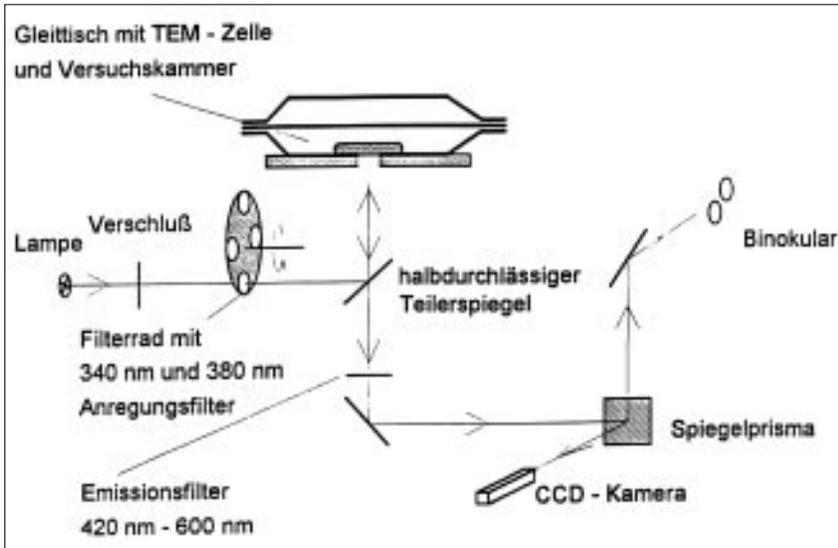


Abbildung 8: Strahlengang bei der Auflichtfluoreszenzmikroskopie im Zeiss IM35 Mikroskop bei der Verwendung von Zweiwellenlängen-Anregungs-Farbstoffen. Der halbdurchlässige Spiegel reflektiert Licht $< 395 \text{ nm}$ und läßt längere Wellenlängen passieren.

3.3.2 Die für die Erzeugung des hochfrequenten elektromagnetischen Feldes erforderlichen Komponenten des Versuchsaufbaues

Zur Erzeugung eines gepulsten hochfrequenten elektromagnetischen Feldes mit homogener transversaler elektrischer Feldkomponente sind die folgenden Komponenten notwendig: Ein HF-Sender, ein Modulator und ein aufgeweitetes Leitungsstück (TEM-Zelle). Zur Erzeugung der Hochfrequenz im Bereich 900 MHz bis 1,8 GHz wurde ein Leistungsmeßsender (Rohde & Schwarz, SLRD, BN 41004/50) eingesetzt. Der Sender ist über ein Koaxialkabel (2m RG 58 C/U, Fa. Suhner) an die TEM-Zelle angeschlossen. Die TEM-Zelle ist mit einem 50Ω -Widerstand abgeschlossen (vgl. Abb. 9). Der Sender wurde nachträglich mit einer Möglichkeit zur externen Modulation ausgerüstet. Der Umbau wurde im Elektroniklabor des Instituts für Strahlen- und Kernphysik zeitgleich mit dem Entwurf und Bau des Modulators (im Elektroniklabor des

Physiologischen Instituts) durchgeführt.

Nach dem Umbau wurde der Sender vollständig neu vermessen, um die im Sender vorhandenen Meßinstrumente zu kalibrieren. Es wurde die tatsächliche Frequenz f_{st} in Abhängigkeit von der eingestellten und am Sender abgelesenen Frequenz f_{se} bestimmt. Weiterhin wurde die tatsächliche Spannungsamplitude U_t und die Breite des Frequenzbandes d_f in Abhängigkeit von der tatsächlichen Frequenz bestimmt sowie eine Kontrollmessung zur Zeitstabilität mit Hilfe von Spektrogrammen vorgenommen (vgl. Abb. 10). Auf die Ergebnisse der Kalibrierung

soll im einzelnen nicht eingegangen werden.

Der Modulator (Rechteckgenerator) erlaubt eine kontinuierliche Variation der Frequenz von 200 Hz bis 30 kHz. Weiterhin verfügt der Generator über die Möglichkeit der kontinuierlichen Variation des Impuls/Pauseverhältnisses im Bereich von 0,15 bis 0,8. Die Amplitude ist den Erfordernissen des Modulationseingangs des Senders angepaßt. Sie beträgt frequenzunabhängig $10,6 \text{ V} \pm 0,2 \text{ V}$. Zur Erzeugung niedrigerer Modulationsfrequenzen (16 Hz und 50 Hz, siehe Kap. 3.4: Meßprogramm) wurde ein anderer Rechteckgenerator (Wavetek Modell 144 HF Sweep

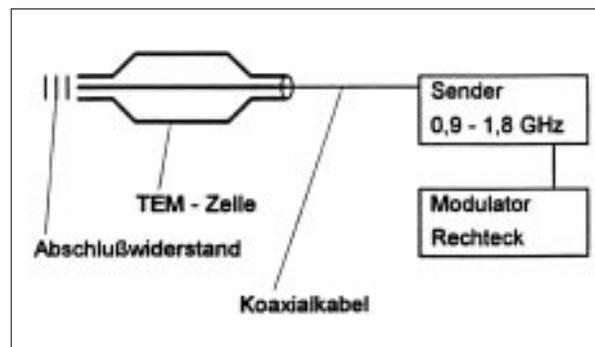


Abbildung 9: Blockschaltbild mit den zur Erzeugung der Hochfrequenz notwendigen Komponenten.

Methoden

Generator) verwendet. Im gepulsten Betrieb des Senders erreicht man eine Aufspaltung des monofrequenten Senderbandes in Seitenbänder (vgl. Abb. 10). Durch frequenzunabhängige Änderungen des Impuls/Pauseverhältnisses sind weitere Variationen möglich.

Die TEM-Zelle wurde entsprechend den Anforderungen als Aufsatz auf das inverse Mikroskop konzipiert (vgl. Abb. 11). Die Idee zur Entwicklung einer TEM-Zelle als Aufsatz auf ein Mikroskop wurde in Zusammenarbeit zwischen dieser Arbeitsgruppe und der Arbeitsgruppe von Prof. Elsner am Institut für Nachrichtentechnik in Braunschweig gefunden. Die notwendigen Berechnungen zur Entwicklung des Designs der Zelle wurden im wesentlichen im Institut für Nachrichtentechnik in Braunschweig durchgeführt und sind daher an dieser Stelle des Berichtes nicht erläutert, sondern finden sich in dem Teil, der von der Braunschweiger Arbeitsgruppe erstellt wurde. An dieser Stelle sei nur erwähnt, daß die TEM-Zelle für Frequenzen zwischen 800 und 1900 MHz (außer bei 1560 MHz \pm 10 MHz, vgl. Anhang Abb. 2) geeignet ist. Die TEM-Zelle besteht aus zwei Teilen, die voneinander getrennt werden können, dem Oberteil mit Septum (die eigentliche TEM-Zelle) und der rechteckigen Bodenplatte, welche die Versuchskammer mit allen für das biologische Material notwendigen Einrichtungen enthält (vgl. Abb. 12). Bodenplatte und Versuchskammer wurden in Bonn konzipiert und in der Werkstatt des Physiologischen Instituts hergestellt und sollen daher in diesem Teil des Berichtes genauer beschrieben werden.

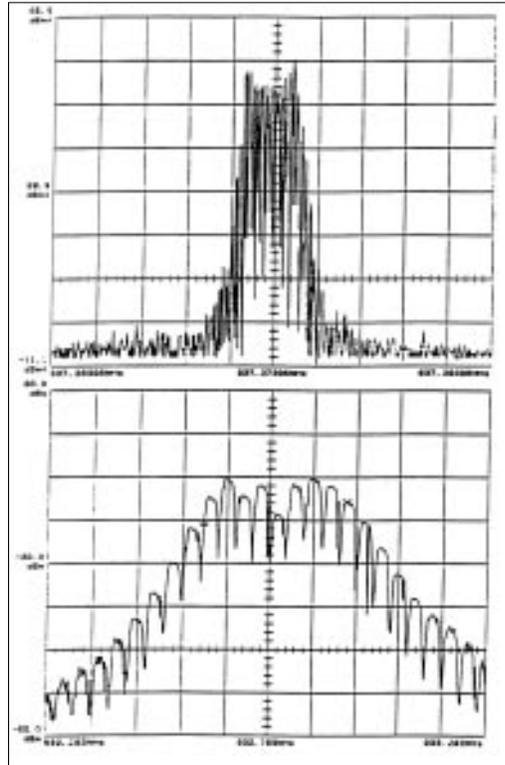


Abbildung 10: Beispielhafte Spektrogramme des Senders. Oben: Monofrequente Linie des Senders im unmodulierten Betrieb bei $f_{st} = 837$ MHz. Die Spannungsamplitude ist um 20 dB vermindert angezeigt. Unten: Im modulierten Betrieb sind deutlich die Seitenbänder der Grundfrequenz $f_{st} = 932,78$ MHz mit dem durch die Modulationsfrequenz 38,6 kHz bestimmten Abstand erkennbar.

Dem Boden der TEM-Zelle kommen eine Reihe von Aufgaben neben der reinen HF-Abschirmung zu: Das Probenvolumen (200 μ l Perfusionsflüssigkeit sowie die Zellen) befindet sich in einem Polyacrylglasbehälter (s. Abb. 13). Zum Austausch der auf 37°C vortemperierten Flüssigkeit verfügt dieser über einen Zulauf am Boden sowie (aus Sicherheitsgründen) über einen doppelten Ablauf an der Flüssigkeitsoberfläche.

Weiterhin läuft Heizflüssigkeit in einem Ringkanal um das Probenvolumen herum, um Wärmeverluste zu vermeiden. Ein Temperaturfühler mißt die Flüssigkeitstemperatur im Probenvolumen (Genauigkeit $\pm 0,2^\circ$ C). Seine Tauglichkeit unter HF-Applikation wurde in Vorversuchen sichergestellt. Es wurden Lösungen bekannter Temperatur in Anwesenheit und Abwesenheit der hochfrequenten Felder mit dem Meß-

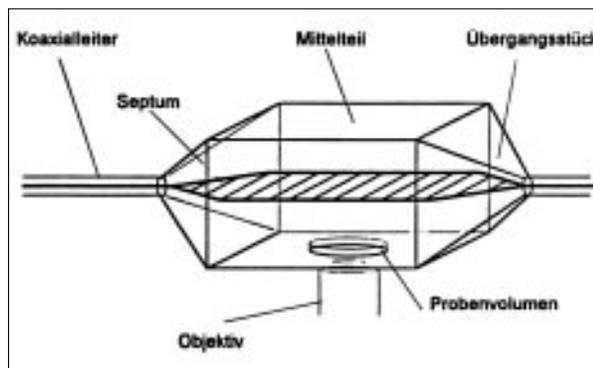


Abbildung 11: Schematische Darstellung der TEM-Zelle als Aufweitung des koaxialen Leiters mit rechteckigem Querschnitt und darunter angebrachtem Mikroskopobjektiv.

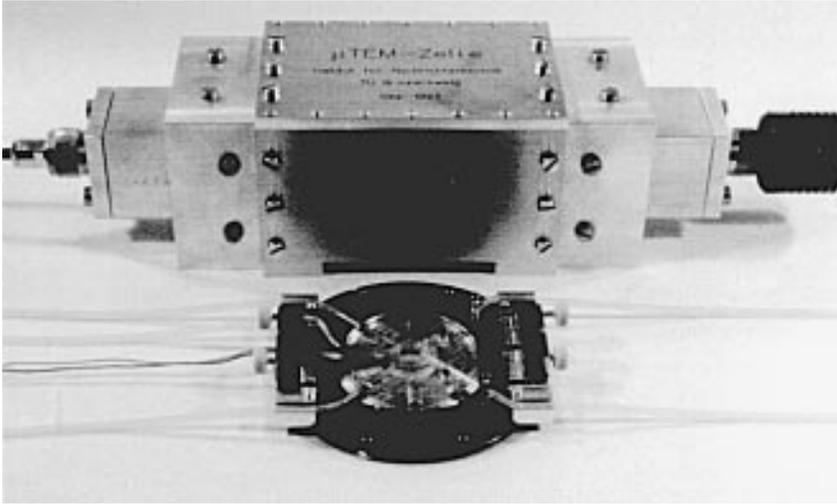


Abbildung 12: Zerlegte TEM-Zelle. Aufsatz mit Kabel und Septum im Hintergrund, Boden mit Versuchskammer im Vordergrund.

system gemessen. Um evtl. Störungen des hochfrequenten Feldes auszuschließen, wurde ein Teil der Versuche jeweils in einer Kammer ohne Temperaturfühler durchgeführt. Zur Beobachtung der Herzzellen durch das Deckglas am Kammerboden verfügt die TEM-Zelle über eine Öffnung von 1 cm Durchmesser, die jedoch zur HF-Abschirmung mit einem dünnmaschigen Metallgitter (Fa. Rhodius, Weissenburg) abgedeckt ist, welches bezüglich der Maschenweite (≈ 1 mm) einen Kompromiß zwischen Lichtdurchlässigkeit und HF-Abschirmung darstellt. Während der Experimente wird also durch das Metallgitter hindurch mikroskopiert, wobei das Objektiv keinen direkten Kontakt zum Gitter hat.

Zur sicheren Handhabung sind sämtliche Schläuche quetschsicher durch Bohrungen nach außen geführt. Der obere Teil der TEM-Zelle wird jeweils zum Einfüllen der Zellen (und zum Reinigen) entfernt. Der gesamte Aufbau befindet sich auf dem Gleittisch eines invertierten Mikroskopes (Zeiss IM 35). Die Verwendung des extrem dünnen Metallgitters

(Drahtstärke 0,05 mm) und der dünnsten verfügbaren Deckgläser (Dicke $0,1 \pm 0,02$ mm) erlauben nicht nur den Einsatz von 16 x und 40 x Objektiven für die Herzzellen, sondern auch die Verwendung von Objektiven mit sehr geringen Arbeitsabständen (z.B. 100 x Objektiv zur Lymphozyten-Beobachtung).

Der bei dieser Geometrie des Aufbaus erzielte SAR-Wert („specific absorption rate“) wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Nachrichtentechnik in Braun-

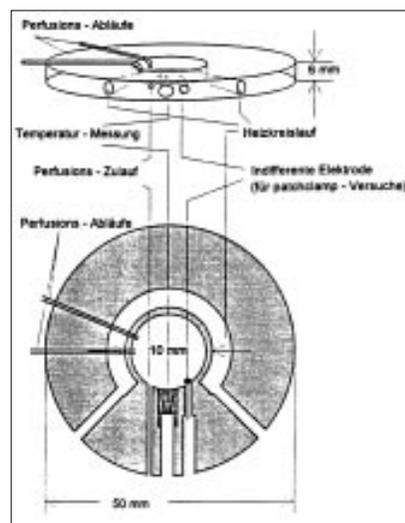


Abbildung 13

schweig ermittelt (Kombination aus Messungen und Berechnungen). Genauerer dazu findet sich in dem Bericht der entsprechenden Arbeitsgruppe. Die Vorgehensweise soll hier nur pauschal erläutert werden, wobei die in Bonn durchgeführten Arbeiten unter den Punkten 5 und 6 zusammengefaßt sind:

1. Bestimmung von μ_r , ϵ_r und κ (Leitfähigkeit) der Lösung (Tyrode) und des Polyacrylglases, welches die Versuchskammer bildet.
2. Erstellung eines Rechenmodells für den Innenraum der TEM-Zelle mit dem Programmpaket „MAFIA“.
3. Errechnen der Feldverteilung für eine Leistung von 1 W (unmoduliert).
4. Errechnen der im Probenvolumen absorbierten Leistung bei 1 W (unmoduliert) und Umrechnung in den SAR-Wert.
5. Messung der vom Sender an die TEM-Zelle abgegebenen Leistung unter Berücksichti-

Methoden

gung der Kabeldämpfung mit einem Bolometer (tft-Powermeter Typ 6460/1, Marconi); alle angewendeten Trägerfrequenz- und Pulsmuster wurden einzeln vermessen. Zusätzlich wurden Kontrollmessungen mit einem Spectrumanalyser und einem Millivoltmeter durchgeführt.

6. Berechnung der tatsächlichen SAR-Werte für die Trägerfrequenzen 900 und 1800 MHz mit ihren unterschiedlichen Pulsmustern.

Die erzielten SAR-Werte liegen im Bereich einiger aus der Literatur bekannter Messungen, bei denen der SAR-Wert bestimmt wurde, etwa bei Dutta et al. (1989; 50 mW/kg) oder Grundler et al. (1992; 40 mW/kg, 0,04 mW/kg und 0,2 µW/kg).

3.4. Das Design der Experimente

Alle Experimente wurden nach dem gleichen feststehenden Muster ausgeführt. Jeder Versuchslauf war in drei Phasen von je 500 s eingeteilt: Während der ersten Phase wurden die Zellen ohne Feldeinwirkung beobachtet; während der zweiten Phase wurde immer das hochfrequente elektromagnetische Feld angewendet, wobei unterschiedliche Trägerfrequenzen und unterschiedliche Modulationsmuster verwendet wurden (vgl. Kap. 3.4.1). In einer dritten Phase wurde das Perfusionsmedium als chemischer Stimulus verändert, um so eine Antwort der Zellen zu provozieren. Diese Antwort konnte als Positivkontrolle angesehen wer-

carrier /MHz	mod. /Hz	% pulse	SAR mean	SAR peak
900	cont.	-	59.4	59.4
900	16	50	28,6	57,2
900	50	50	29.7	59.4
900	217	14	15.4	123.2
900	30000	80	37.4	46.7
1800	217	14	8.6	68.8

Tabelle: SAR-Werte

den. Bei den Herzmuskelzellen wurde als Positivkontrolle eine Depolarisation der Zellen durch die Perfusion mit einer Lösung mit hohem K^+ -Gehalt (135 mM) verwendet. Bei den Lymphozyten wurde eine Krebs-Ringerlösung mit erniedrigtem Na^+ -Gehalt (10 mM) als Stimulans eingesetzt. Der Ablauf eines Experimentes ist am Verlauf der $[Ca^{2+}]_i$ in einer Herzmuskelzelle in Abb. 14 exemplarisch dargestellt.

3.4.1 Das Meßprogramm

Das Meßprogramm für die Herzmuskelzellen und für die Lymphozyten unterschied sich etwas voneinander, so daß beide hier getrennt behandelt werden sollen.

3.4.1.1 Das Meßprogramm der Herzmuskelzellen

Bei dem Meßprogramm, welches wir an Herzmuskelzellen durch-

führten, wurden im wesentlichen vier Parameter variiert: Trägerfrequenz, Modulationsfrequenz, das Membranpotential und die Expositionszeit. In Abb. 15 sind die verschiedenen Modifikationen schematisch dargestellt.

1. Die Variation der Trägerfrequenz umfaßt die für Mobilfunkstandards wichtigen Frequenzen 900 MHz und 1800 MHz (nach dem DECT-Standard) und zusätzlich 1300 MHz. Die Modulationsfrequenz betrug hier jeweils 217 Hz. Experimente ohne Feldexposition in Phase 2 wurden bei gleicher Behandlung der Zellen und gleichem experimentellen Ablauf als Kontrolle in das Programm aufgenommen (diese sind im folgenden mit „kein Feld“ gekennzeichnet).
2. Im Rahmen der Variation der Modulationsfrequenz wurden ausgehend von kontinuierlicher Einstrahlung (0 Hz Mo-

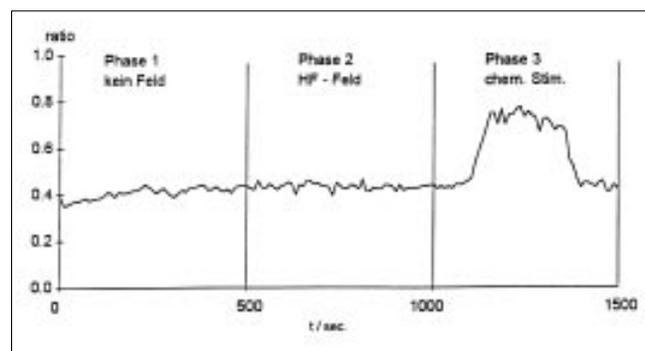


Abbildung 14: Originalregistrierung einer Messung an einer Herzmuskelzelle. Das HF-Feld betrug 900 MHz bei Modulation mit 217 Hz, 14% Pulsdauer.

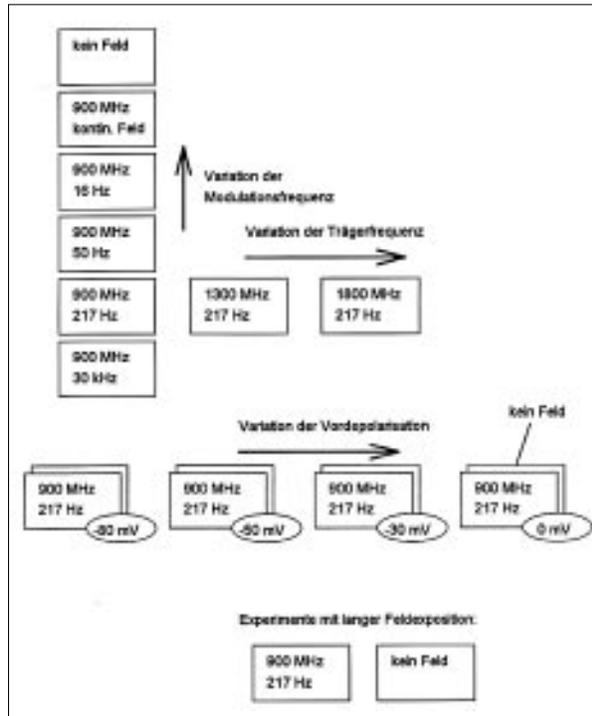


Abbildung 15: Übersicht über die verschiedenen experimentellen Parameter an Herzzellen.

dulation) die Frequenzen 16 Hz, 50 Hz, 217 Hz bis hin zu 30 kHz (letztere als Beispiel für eine extreme Modulation) verwendet. Die Trägerfrequenz betrug bei den Variationen der Modulationsfrequenz 900 MHz, die Rechteckmodulation (Modulationshub 100%) hatte ein Impuls/Pauseverhältnis von 14% bei 217 Hz Modulationsfrequenz, 50% bei 16 Hz und 50% bei 30 kHz.

3. Das Membranpotential der Herzmuskelzellen, welches in der Regel bei -80 mV liegt, wurde zusätzlich auf die Stufen -50 mV, -30 mV und 0 mV depolarisiert. Die Verschiebung des Membranpotentials wurde durch Perfusion mit einer Tyrode-Lösung mit erhöhter K^+ -Konzentration erreicht. Die benötigten K^+ -Konzentrationen wurden nach der Nernst'schen Gleichung errechnet (Adrian,

1956) und die Potentialverschiebungen in Membranpotentialmessungen überprüft. In jedem Experiment begann die Depolarisation in Phase 1 und dauerte während der Feldexposition bis zum Ende der Phase 2

an. Zu Beginn von Phase 3 wurde bei den zuvor eingestellten Stufen -50 mV, -30 mV und 0 mV auf -80 mV repolarisiert. Diese Experimente wurden mit 900 MHz, moduliert mit 217 Hz (14%), durchgeführt. Auch für jedes dieser Experimente wurde parallel ein Nullexperiment mit exakt gleichem Ablauf, jedoch ohne Feldexposition, durchgeführt.

4. In einer Serie von Experimenten wurde die Expositionszeit extrem verlängert: Auf Phase 1 (kein Feld, 5 Minuten Dauer) folgte eine 120-minütige Feldexposition (Phase 2) und eine 25-minütige Kontrollphase (3) mit der oben beschriebenen chemischen Stimulation. Auch diese Experimente wurden durch entsprechende Nullexperimente ergänzt.

Die an der TEM-Zelle anliegende Leistung betrug bei allen Experimenten $p = 5 \text{ W}$ außer bei Experimenten mit einer von 900 MHz

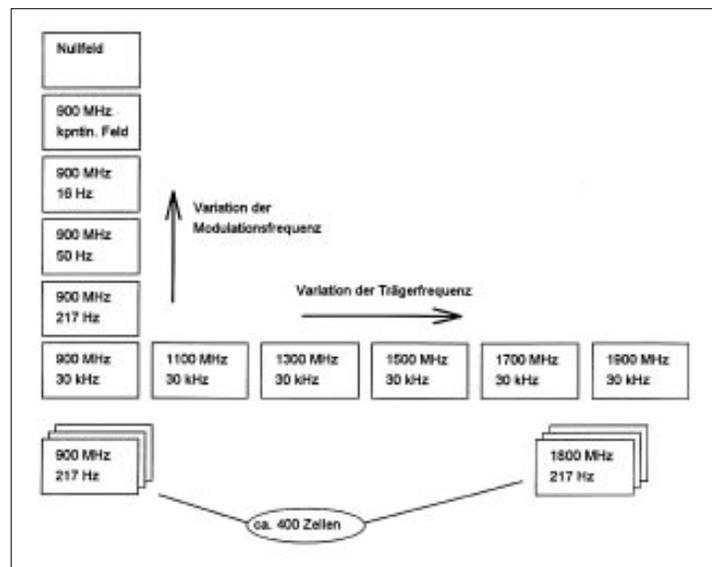


Abbildung 16: Übersicht über die verschiedenen experimentellen Parameter an Lymphozyten.

Methoden

abweichenden Trägerfrequenz (dort: $p = 2 \text{ W}$). Der SAR-Wert und die Leistungsflußdichte s_m für 5 W wurden weiter oben schon genannt.

3.4.1.2 Das Meßprogramm für Lymphozyten

Bei dem Meßprogramm, welches wir an Lymphocyten durchführten, wurden die Parameter Trägerfrequenz und Modulationsfrequenz variiert. In Abb. 16 sind die verschiedenen Konfigurationen schematisch dargestellt.

1. Die Variation der Trägerfrequenz umfaßt auch hier die für Mobilfunkstandards wichtigen Frequenzen 900 MHz und 1800 MHz . Die Modulationsfrequenz betrug hier jeweils 217 Hz . In einer großen Serie wurden die Trägerfrequenzen $900, 1100, 1300, 1500, 1700$ und 1900 MHz getestet. Experimente ohne Feldexposition in Phase 2 wurden bei gleicher Behandlung der Zellen und gleichem experimentellem Ablauf als Kontrolle in das Programm aufgenommen (diese sind im folgenden mit „kein Feld“ gekennzeichnet).

2. Im Rahmen der Variation der Modulationsfrequenz wurden die Frequenzen $16 \text{ Hz}, 50 \text{ Hz}, 217 \text{ Hz}$ bis hin zu 30 kHz (als Beispiel für eine extreme Modulation) verwendet. Die Trägerfrequenz betrug bei den Variationen der Modulationsfrequenz 900 MHz , die Rechteckmodulation (Modulationshub 100%) hatte ein Impuls/Pauseverhältnis von 14% bei 217 Hz Modulationsfrequenz, 50% bei 16 Hz und 50 Hz sowie

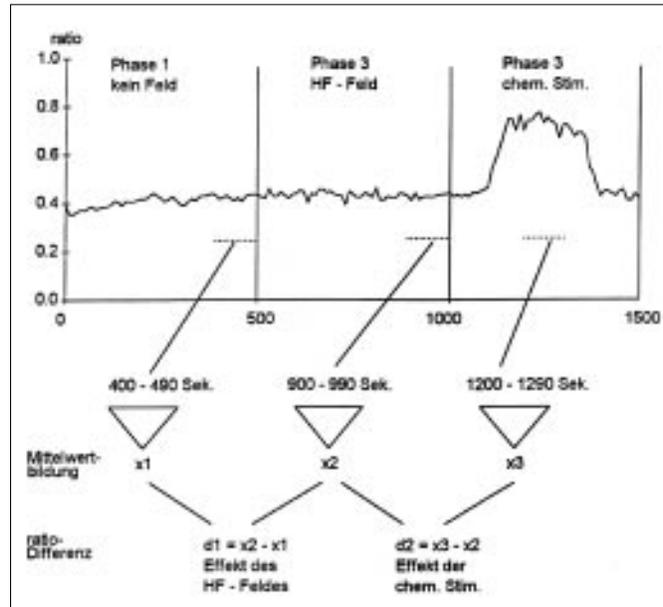


Abbildung 17: Auswertungsschema zur Errechnung der Werte $d1$ und $d2$.

80% bei 30 kHz . Die große Serie von Trägerfrequenzvariationen wurde bei einer Modulationsfrequenz von 30 kHz durchgeführt.

Die an der TEM-Zelle anliegende Leistung betrug bei allen Experimenten mit 900 MHz $p = 5 \text{ W}$, bei den anderen Experimenten $p = 2 \text{ W}$. Der SAR-Wert und die Leistungsflußdichte s_m für 5 W und 2 W wurden weiter oben bereits genannt.

3.4.2 Die Auswertung

Um das Verhalten der Zellen unter dem Einfluß des hochfrequenten elektromagnetischen Feldes beziehungsweise der chemischen Stimulation beurteilen zu können, wurden für jede Zelle zwei Werte errechnet, die die Reaktionen der Zellen charakterisieren. In einem ersten Schritt wurde $x1$ als der Mittelwert von zehn ratio-Werten am Ende von Phase 1 (bei $t = 400 \text{ s}, 410 \text{ s}, 420 \text{ s}, \dots, 490 \text{ s}$) gebildet. Analog

wurde der Wert $x2$ als Mittelwert der ratio-Werte am Ende von Phase 2 (bei $t = 900 - 990 \text{ s}$) und $x3$ in der Mitte von Phase 3 (bei $t = 1200 - 1290 \text{ s}$) berechnet (s. Abb. 17).

In einem zweiten Schritt wurden für jede Zelle einer Parameterkonfiguration (also der für das Experiment charakteristischen Träger- und Modulationsfrequenz) zwei Differenzen $d1$ und $d2$ berechnet: $d1$ beschreibt den Einfluß des elektromagnetischen Feldes auf die Zelle; $d2$ beschreibt den Effekt der chemischen Stimulation nach der Feldapplikation (vgl. Abb. 17). Aus allen $d1$ -Werten jeweils einer Parameterkonfiguration wurden daraufhin der Mittelwert und die Standardabweichung errechnet. Diese sind in den folgenden Ergebnisabbildungen (Kap. 4: Ergebnisse) dargestellt. Jeder Meßpunkt in diesen Abbildungen repräsentiert mehr als 30 Zellen und mehr als ein Experiment, um tagesindividuelle Einflüsse (z.B. präparationsbedingt) auszuschließen.

4. Ergebnisse

4.1. Ergebnisse an Herzzellen

Im Laufe dieser Studie wurden Messungen an insgesamt 600 Herzzellen durchgeführt. Ein repräsentatives Experiment ist in Abb. 18 auszugsweise gezeigt. Zunächst werden die Zellen ohne äußere Einwirkung beobachtet (Bild 0000: erstes Bild des Experimentes; Bild 0050: letztes Bild ohne eingeschaltetes Feld nach 500 s). Dann folgt eine Phase unter Feldeinwirkung (Bild 0100: letztes Bild unter Feld, 900 MHz, Modulation mit 217 Hz). Es wird danach ein chemischer Stimulus appliziert, der die $[Ca^{2+}]_i$ ansteigen läßt (Bild 0105: während des Einwaschens; Bild 0106: bei maximaler Wirkung der Depolarisation mit K^+). Nach dem Auswaschen der erhöhten K^+ -Konzentration stellt sich die Ausgangs- $[Ca^{2+}]_i$ wieder ein. Im vorgestellten Beispiel in Abbildung 18 ist dies in Bild 0140 noch nicht vollständig abgeschlossen.

4.1.1 Variation der Trägerfrequenz

Ein Beispiel für eine Auswertung des zeitlichen Verlaufes der $[Ca^{2+}]_i$ eines Experimentes an Herzzellen findet sich in Abb. 14. Dieses Experiment war eines von 1500 s Dauer. Eine ganz ähnliche Darstellung der $[Ca^{2+}]_i$ während einer Langzeitexposition ist in Abbildung 23 gezeigt. Die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration ist in Abb. 23 sowohl in relativen Einheiten als auch in absoluten Einheiten aufgetragen. Die $[Ca^{2+}]_i$ blieb in

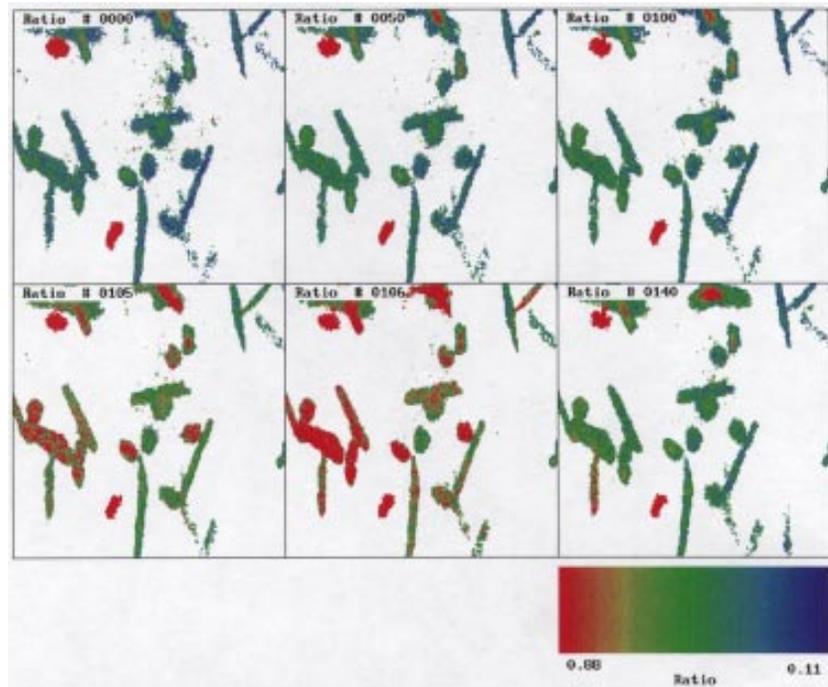


Abbildung 18: Typisches Experiment; die $[Ca^{2+}]_i$ in den Herzzellen ist in Falschfarbdarstellung gezeigt. Während des Experimentes wird eine Positivkontrolle durchgeführt; die $[Ca^{2+}]_i$ steigt. Dies wird durch den Farbumschlag auf rot visualisiert.

beiden Experimenten vor der Anwendung der Positivkontrolle (K^+ -Depolarisation) weitgehend konstant unabhängig davon, ob das Feld eingeschaltet war oder nicht.

Errechnet man aus einem solchen Experiment den d1-Wert (vgl. Abb. 17), so wird dieser bei null liegen; denn das Feld hat die $[Ca^{2+}]_i$ nicht verändert. Entsprechend muß der d1-Wert bei Kontrollexperimenten ohne Feldeinwirkung auch bei null liegen, da die Herzzellen eine konstante $[Ca^{2+}]_i$ aufweisen, wenn sie nicht beeinflusst werden. Eine Positivkontrolle, die zu einem deutlichen Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ führt, sollte dagegen d2-Werte liefern, die signifikant über null liegen. Die verschiedenen Meßprogramme wurden entsprechend dem angegebenen Schema ausgewer-

tet. Zunächst soll der Einfluß der Trägerfrequenz betrachtet werden:

Der d1-Mittelwert für die Kontrollmessungen ohne Feldapplikation („kein Feld“ in Abb. 19) beträgt $0,0108 \pm 0,0143$ ($n = 55$). Dieser Wert wurde als Referenzwert benutzt. Der durch seine Standardabweichung definierte y-Achsenabschnitt ist durch zwei waagerechte Linien in Abbildung 19 (oberes Teilbild) markiert. Die d1-Mittelwerte aller Experimente mit Trägerfrequenzen von 900 MHz ($0,0049 \pm 0,0311$; $n = 39$), 1300 MHz ($0,0067 \pm 0,0093$; $n = 32$) und 1800 MHz ($0,008 \pm 0,0086$; $n = 37$) liegen in diesem Bereich. Eine signifikante Beeinflussung der intrazellulären Calciumkonzentration ist somit bei den Trägerfrequenzen von

Ergebnisse

900, 1300 und 1800 MHz, gepulst mit 217 Hz, nicht festzustellen.

Das untere Teilbild von Abbildung 19 zeigt in analoger Weise das Verhalten von d2 (Einfluß der chemischen Stimulation nach Feldeinwirkung). Wie erwartet, erhöhte die K⁺-Depolarisation die [Ca²⁺]_i. Dies bewirkte einen Anstieg der ratio-Werte von durchschnittlich 0,2134 ± 0,1109 ohne Feldeinwirkung und 0,1589 ± 0,0781 bei 900 MHz, von 0,1941 ± 0,1328 bei 1300 MHz und von 0,1784 ± 0,0656 bei 1800 MHz. Doch auch hier liegt die ratio-Differenz der Experimente mit Feld innerhalb des durch die Messungen ohne Feld vorgegebenen Bereichs. Die Standardabweichungen der d2-Werte sind erheblich größer als die der d1-Werte, da die Zellen individuell unterschiedlich auf die chemische Stimulation reagierten.

4.1.2 Variation der Modulationsfrequenz

Die Ergebnisse der Modulationsfrequenz-Variation wurden auf analoge Weise behandelt. Als Bezugswert wurden die gleichen Kontrollmessungen herangezogen wie in Kap. 4.1.1. Sie wurden verglichen mit den Ergebnissen einer Feldapplikation von 900 MHz moduliert mit 0 Hz (kontinuierliches Feld), 16 Hz, 50 Hz, 217 Hz und 30 kHz. Auch in diesen Experimenten ist kein Einfluß der Feldapplikation auf die [Ca²⁺]_i, repräsentiert durch den ratio-Wert, feststellbar, da alle Mittelwerte der d1-Differenzen in dem Bereich liegen, der durch die Standardabweichung der Nullfeldkontrolle markiert ist, 0 Hz (0,0127 ± 0,0086; n = 42),

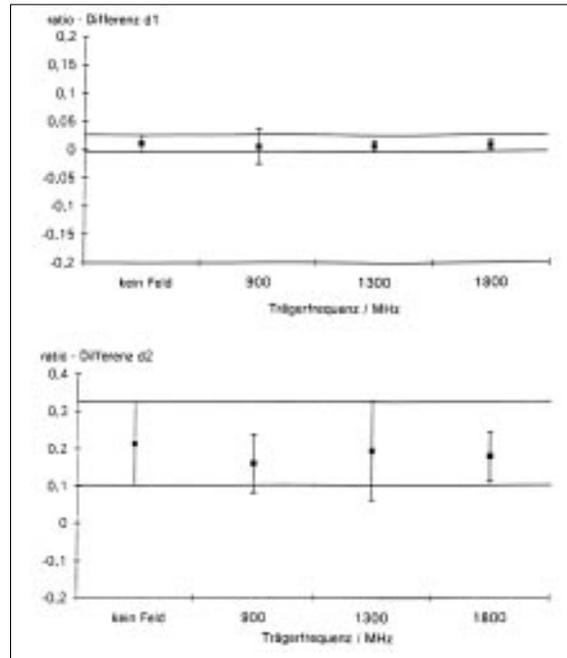


Abbildung 19: Ergebnisse der Variation der Trägerfrequenz an Herzmuskelzellen; oberes Teilbild: Auftragung der d1-Mittelwerte, unteres Teilbild: d2-Mittelwerte (jeweils mit Standardabweichungen).

50 Hz (-0,0005 ± 0,0091; n = 40), 217 Hz (0,0049 ± 0,0311; n = 39) und 30 kHz (0,0049 ± 0,0055; n = 39) (Abb. 20).

Auch der Einfluß der chemischen Stimulation stellt sich entsprechend dar wie bei der Variation

der Trägerfrequenz. Die chemische Stimulation bewirkte einen Anstieg der ratio-Werte von durchschnittlich 0,2072 ± 0,0727 bei 16 Hz, 0,1932 ± 0,0917 bei 50 Hz, 0,1590 ± 0,0781 bei 217 Hz und von 0,1477 ± 0,0354 bei 30 kHz, was man aus den d2-Mit-

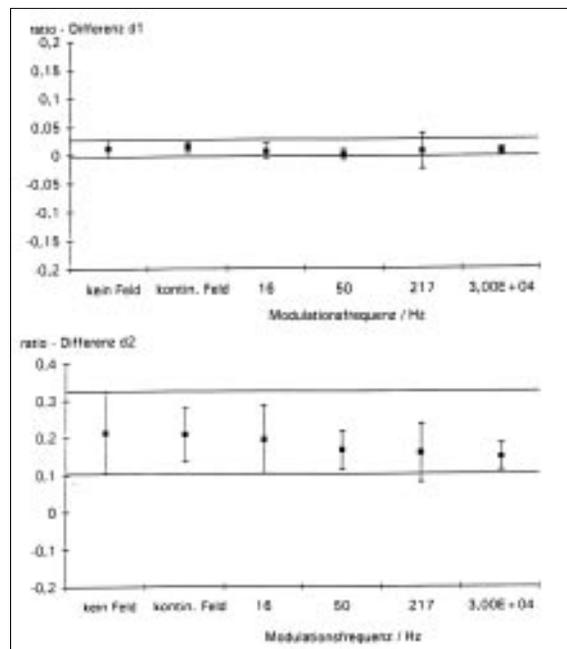


Abbildung 20: Ergebnisse der Variation der Modulationsfrequenz an Herzmuskelzellen; oberes Teilbild: Auftragung der d1-Mittelwerte, unteres Teilbild: d2-Mittelwerte (jeweils mit Standardabweichungen).

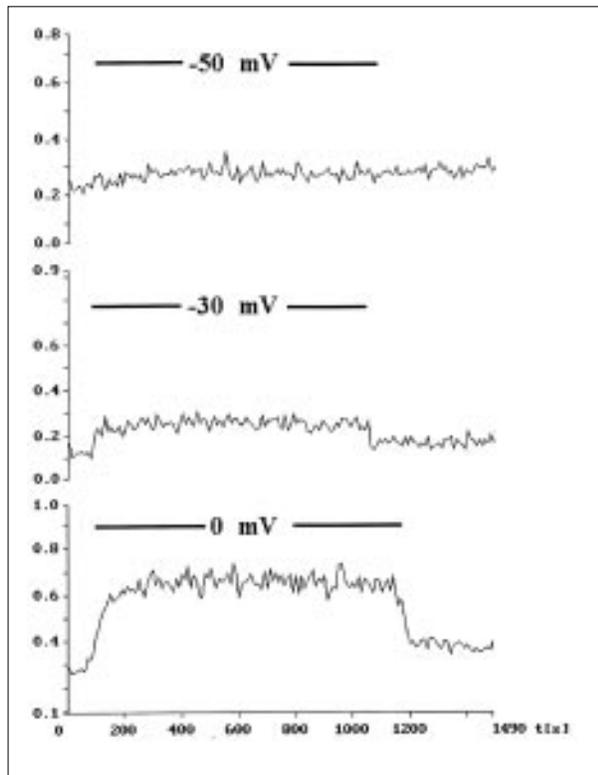


Abbildung 21:
Originalregistrierungen bei -50, -30, 0 mV Membranpotential während der Feldanwendung.

telwerten entnehmen kann. Auch die Vergrößerung der Standardabweichung ist wieder deutlich erkennbar (Abb. 20, unteres Teilbild). Alle Werte liegen wiederum innerhalb der Streubreite der Kontrollmessungen; ein Einfluß der hochfrequenten elektromagnetischen Felder ist hier also bisher nicht feststellbar.

4.1.3 Variation des Membranpotentials

Bei den Experimenten, in denen das Membranpotential verschoben wurde, wurde für jede Stufe ein entsprechender Kontrollwert aufgenommen.

Die Verschiebung des Membranpotentials führte je nach dem Betrag zu einer Erhöhung oder Erniedrigung der $[Ca^{2+}]_i$. Während der ersten Phase wurde die extra-

zelluläre K^+ -Konzentration, $[K^+]_o$, verändert, um so das Membranpotential auf den gewünschten Wert einzustellen. In den Originalregistrierungen in Abb. 21 ist der Einfluß der Variation des Membranpotentials für die Stufen -50, -30 und 0 mV gezeigt. Zusätzlich wurde noch eine Serie mit Ruhepotential und anschließender Depolarisation auf 0 mV aufgenommen, wie schon oben beschrieben.

Die Auswertung der Experimente erfolgte nach dem gleichen Schema wie bereits beschrieben, jedoch wurde jeder Expositionswert mit seinem spezifischen Kontrollwert verglichen. Dazu wurde der Nullfeldwert der entsprechenden Potentialstufe herangezogen. Bei -80 mV, dem Ruhepotential, welches hier als Kontrollwert anzusehen ist, ergab sich ohne Feld $0,0108 \pm 0,143$

($n = 55$) im Vergleich zur Feldexposition ($0,0049 \pm 0,0311$; $n = 39$), bei -50 mV ohne Feld $0,0121 \pm 0,0162$ ($n = 40$) im Vergleich zur Feldexposition $0,0071 \pm 0,0099$ ($n = 31$), bei -30 mV ohne Feld $-0,011 \pm 0,0546$ ($n = 34$) im Vergleich zur Feldexposition $0,0055 \pm 0,0072$ ($n = 37$) sowie bei 0 mV ohne Feld $-0,0131 \pm 0,0183$ ($n = 34$) im Vergleich zur Feldexposition $0,0101 \pm 0,0132$ ($n = 31$). Diese Werte sind im oberen Teil von Abbildung 22 im Vergleich aufgetragen. Auch bei den Zellen, die auf Potentiale abweichend vom Ruhemembranpotential eingestellt wurden, zeigten sich keine Einflüsse der Feldapplikation auf die $[Ca^{2+}]_i$.

Die d2-Werte zeigen ein potentialabhängiges Verhalten: Die erste Wertegruppe (Beschriftung in Abb. 22 unten: kein Feld, -80 mV) entspricht den in Kap 4.1.1 angegebenen Referenzwerten, die hier als Beispiel für die Ruhepotentialsituation herangezogen werden. Als Positivkontrolle wurden diese Zellen auf 0 mV depolarisiert und es kam zu einer ratio-Differenz von $0,2134 \pm 0,1109$ ohne Feld, sowie mit Feld zu einer Differenz von $0,1589 \pm 0,0781$ ratio-Werten. Die Wirkung der chemischen Stimulation wird somit durch die vorherige Applikation des Feldes nicht beeinflusst. Bei der zweiten Wertegruppe (Beschriftung in Abb. 22 unten: kein Feld, -50 mV) ist diese ratio-Differenz entsprechend fast gleich null ohne Feld $0,0053 \pm 0,0149$ bzw. mit Feld $-0,0059 \pm 0,0095$, da die $[Ca^{2+}]_i$ zwischen -50 und -80 mV nicht signifikant differiert, führt die Repolarisation in Phase 3 (-80 mV) zu keinem meßbaren Effekt. Auch hier zeigt sich kein erkennbarer Einfluß des

Ergebnisse

Feldes. Entsprechend fällt die ratio-Differenz in der dritten Wertegruppe (kein Feld, -30 mV) bei der größeren Repolarisationsdifferenz klein, aber meßbar aus (-30 mV auf 0 mV) ohne Feld $-0,0316 \pm 0,0251$ bzw. mit Feld $-0,0245 \pm 0,0218$.

In der vierten Wertegruppe (kein Feld, 0 mV) dagegen wurde von 0 mV (Phase 2) auf -80 mV (Phase 3) repolarisiert. Daher ist erwartungsgemäß die ratio-Differenz deutlich negativ und auch erheblich größer als bei der „-30 mV“-Stufe. Doch auch hier sind die Werte mit und ohne vorheriger Feldapplikation jeweils gleich (ohne Feld $-0,1355 \pm 0,0846$ bzw. mit Feld $-0,1329 \pm 0,037$).

4.1.4 Langzeitversuche

Bei den Versuchen mit langen Expositionszeiten ergab sich durch das Ausbleichen des Fluoreszenzfarbstoffes Fura-2 während des Experimentes ein besonderes Problem. Es wurde versucht, diesem Problem durch eine Herabsetzung der Bildaufnahmefrequenz zu begegnen (150 Belichtungen im

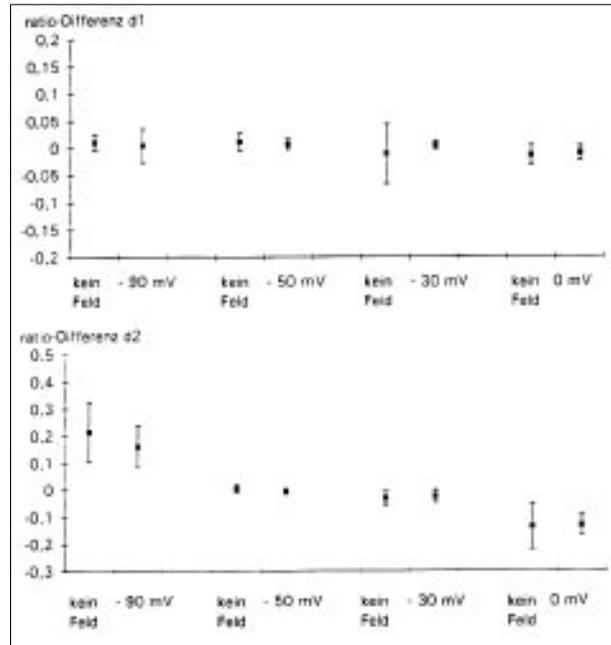


Abbildung 22: Vergleich der d1- und d2-Werte für verschiedene Membranpotentiale der Herzmuskelzellen.

10-Sekunden-Abstand bei 8,3 minütiger Feldexposition bzw. 60-Sekunden-Abstand bei der 2-Stunden-Feldexposition). Daraus ergibt sich die gleiche Netto-Belichtungsdauer für ein Langzeitexperiment wie für eines von kurzer Dauer. Trotzdem, bei allen Experimenten verliert der Farbstoff Fura-2 bei längerer Verweildauer in den Zellen an Leuchtkraft (Gollnick, 1992), vielleicht,

weil er in bestimmte Kompartimente der Zellen befördert wird und somit für die Messung unwirksam ist. Dieser Effekt ist in der bis ca. 50 min leicht abfallenden Linie der relativen $[Ca^{2+}]_i$ in Abbildung 23 erkennbar. Um eine artefizielle Beeinflussung durch einen derartigen Effekt zu vermeiden, wurden für die Langzeitversuche auch Kontrollen von entsprechender Dauer durchgeführt.

Abbildung 23: Verlauf von relativer und absoluter $[Ca^{2+}]_i$ während eines Experimentes mit langer Expositionsdauer. Die Exposition dauerte 120 Minuten von $t = 5$ min bis $t = 125$ min. Die Feldparameter waren 900 MHz, 217 Hz Modulation und SAR = 15,4 mW/kg.

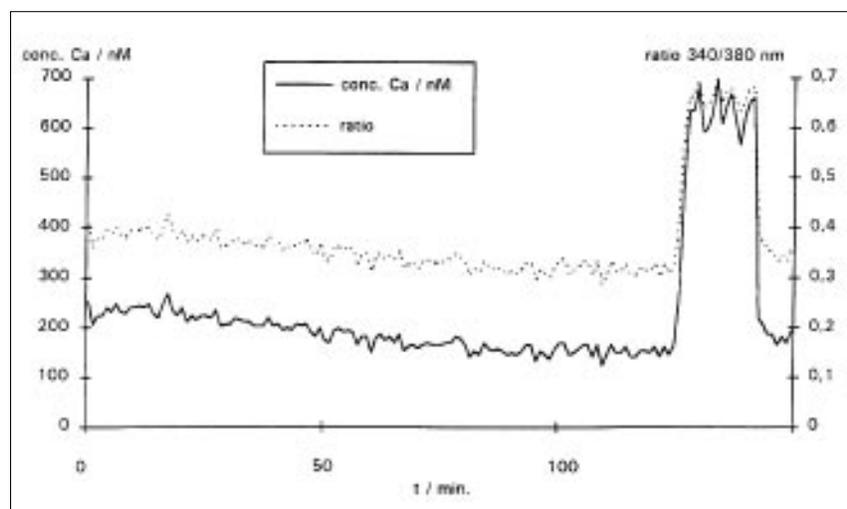
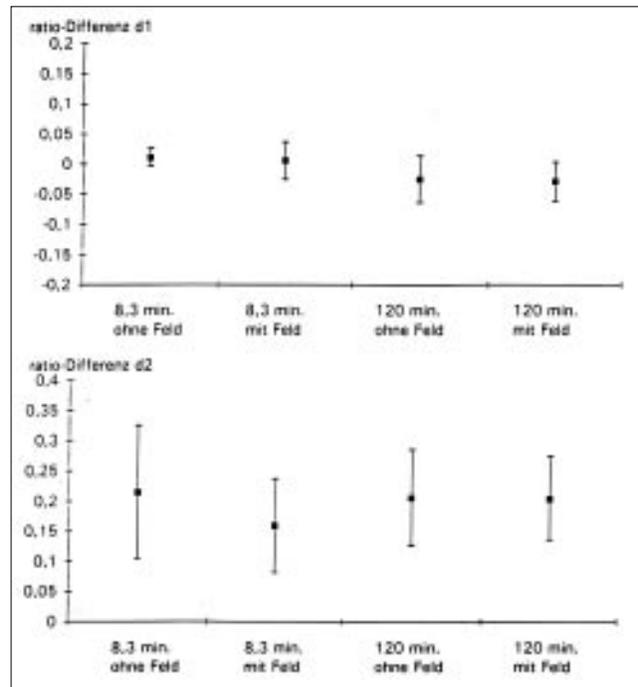


Abbildung 24: d1- und d2-Werte bei Experimenten für verschiedene Applikationsdauern. Auch hier ist der Vergleich des Experimentes „mit Feld“ mit einem Experiment „ohne Feld“ von sonst genau gleichem zeitlichem Ablauf notwendig.



In Abbildung 23 sind die Differenzen d1 und d2 in der schon oben verwendeten Darstellungsweise für Kurz- und Langzeitversuche einander gegenüber gestellt. Wie erwartet, ist d1 bei der 120-minütigen Feldexposition leicht negativer als bei den 8,3-minütigen Experimenten, doch auch hier hat eine längere Exposition keinen Einfluß auf die intrazelluläre Calciumkonzentration. Dies zeigt sich in den entsprechenden d1- und d2-Werten: d1 ohne Feld: $-0,0252 \pm 0,0386$ (n = 33), mit Feld: $-0,0118 \pm 0,0181$ (n = 47), d2 ohne Feld: $0,2053 \pm 0,08$, mit Feld: $0,2038 \pm 0,07$.

4.2. Die Ergebnisse an Lymphozyten

Im Laufe dieser Studie wurden Messungen an insgesamt 1465 T-Jurkat Lymphozyten durchgeführt. Im Gegensatz zu den Expe-

perimenten an den Herzmuskelzellen zeigten die Experimente an den Lymphozyten wesentlich weniger eindeutige Resultate. Es ist uns nicht gelungen, während der Projektlaufzeit einen chemischen Stimulus zu finden, der mit hoher Zuverlässigkeit die $[Ca^{2+}]_i$ in diesen Zellen ansteigen läßt. Dies stellt natürlich ein Problem dar; denn eine Zelle, die im hochfrequenten Feld keine Reaktion zeigt, könnte auch deshalb nicht reagieren, weil sie sich grundsätzlich in einem inaktivierten Zustand befindet. Nur grundsätzlich reaktive Zellen können möglicherweise auch durch ein Feld aktiviert werden. Die geringe Reaktivität der Zellen zeigte sich auch bei einer Auswertung der spontanen Ca^{2+} -Oszillationen der Lymphozyten in der TEM-Zelle. Nur sehr wenige Zellen, ca. 3%, zeigten in der TEM-Zelle spontan Ca^{2+} -Oszillationen, unabhängig von der An- oder Abwesenheit eines Feldes. Ohne die Abdeckung

durch die TEM-Zelle zeigten in einer anderen Versuchsserie ca. 10% der Zellen spontan Ca^{2+} -Oszillationen. Auf den Aspekt der Reaktivität der Zellen wird in der Bewertung der Ergebnisse in Kap. 5 näher eingegangen.

4.2.1 Variation der Trägerfrequenz

Die Versuche erfolgten nach dem gleichen Schema und hatten die gleiche Dauer wie die an den Herzzellen. Es wurden auch hier wieder die Werte d1 und d2 berechnet. In einer großen Serie von Experimenten wurde die Trägerfrequenz der hochfrequenten Felder bei 30 kHz Modulationsfrequenz über die Stufen 900 (n = 121), 1100 (n = 58), 1300 (n = 59), 1500 (n = 63), 1700 (n = 59), 1900 MHz (n = 67) variiert. Die Werte wurden mit scheinexponierten Zellen (n = 76) verglichen. Für d1 ergab sich

Ergebnisse

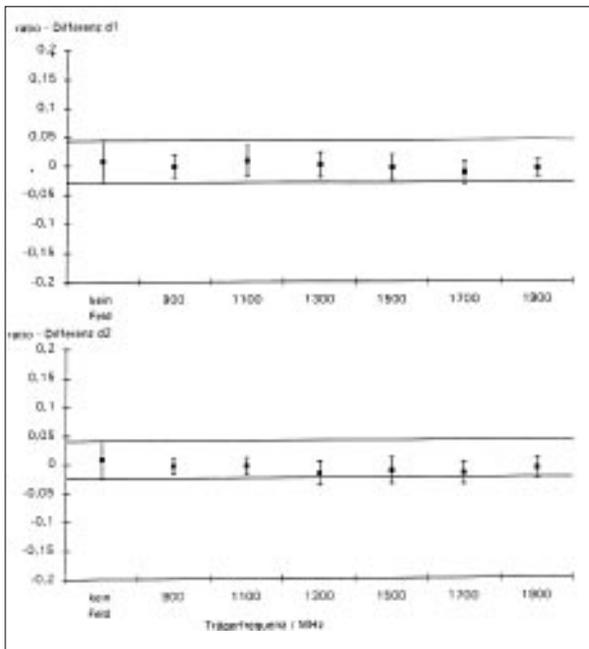


Abbildung 25: Der Einfluß der Trägerfrequenz auf die $[Ca^{2+}]_i$ von kultivierten Lymphozyten T-Jurkat.

ohne Feld $0,007 \pm 0,036$,
 bei 900 MHz $-0,0016 \pm 0,0193$,
 bei 1100 MHz $0,0079 \pm 0,0251$,
 bei 1300 MHz $0,0006 \pm 0,0213$,
 bei 1500 MHz $-0,0038 \pm 0,0222$,
 bei 1700 MHz $-0,0128 \pm 0,0196$,
 bei 1900 MHz $-0,0061 \pm 0,0143$

(vgl. Abb. 25, oberer Teil). Die Werte unter Feldexposition unterscheiden sich damit nicht signifikant von denen ohne Feldexposition. Da die chemische Stimulation nicht ausreichend wirksam war, liegen die d2-Werte im glei-

chen Bereich wie die d1-Werte; jedoch ließ sich auch hier wieder kein Unterschied zwischen den exponierten Zellen und den nicht exponierten Zellen nachweisen. Für d2 ergab sich ohne Feld $0,008 \pm 0,0323$, bei 900 MHz $-0,0036 \pm 0,0144$, bei 1100 MHz $-0,0039 \pm 0,0147$, bei 1300 MHz $-0,0174 \pm 0,021$, bei 1500 MHz $-0,0127 \pm 0,0228$, bei 1700 MHz $-0,0174 \pm 0,0195$, bei 1900 MHz $-0,009 \pm 0,018$ (vgl. Abb. 25, unterer Teil).

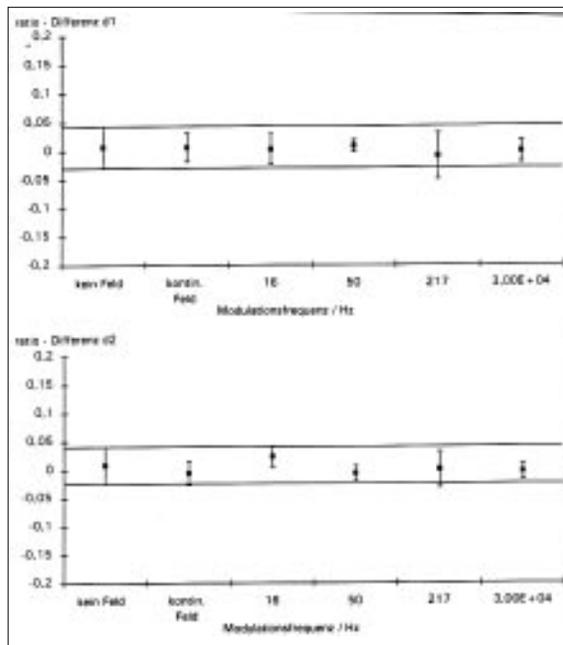


Abbildung 26: Der Einfluß der Modulationsfrequenz auf die $[Ca^{2+}]_i$ von kultivierten Lymphozyten T-Jurkat.

4.2.2 Variation der Modulationsfrequenz

Neben der Variation der Trägerfrequenz wurde auch eine Variation der Modulationsfrequenz in den gleichen Stufen wie bei den Herzmuskelzellen vorgenommen. Bei 900 MHz wurde die Modulationsfrequenz auf die Werte 0 Hz (kontinuierliches Feld), 16 Hz, 50 Hz, 217 Hz und 30 kHz eingestellt. Die Puls/Pause-Verhältnisse

5. Diskussion und Bewertung der Versuche

Die Ergebnisse an den Herzmuskelzellen sind eindeutig in Beziehung auf einen Einfluß der hochfrequenten elektromagnetischen Felder des Mobilfunks auf die $[Ca^{2+}]_i$ der ruhenden und der langfristig depolarisierten Zelle. Es konnte kein Einfluß nachgewiesen werden. Die Reaktivität und die Vitalität der Zellen wurde in jedem einzelnen Fall nachgewiesen. Erste Teilergebnisse aus diesem Bereich wurden bereits auf der Tagung der Bioelectromagnetics Society in Kopenhagen (1994) vorgestellt (Wolke et al., 1994). Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit Messungen unter 50 Hz magnetischen Feldern aus unserer Arbeitsgruppe (Meyer et al., 1994, Meyer et al., 1995). Allerdings ist die $[Ca^{2+}]_i$ nicht der einzige Parameter der Ca^{2+} -Homöostase, der im Verdacht steht, durch elektromagnetische Felder beeinflussbar zu sein. Die Ca^{2+} -Kanäle der Zellmembran, die während einer Erregung der Zelle geöffnet werden, sollen ebenfalls durch die elektromagnetischen Felder in ihrem Verhalten modifizierbar sein (Liboff, 1985). Eine Wirkung auf den offenen Kanal läßt sich durch die Ergebnisse dieser Studie nicht vollständig ausschließen. Dies gilt insbesondere, da kleine Veränderungen in dem Membranstrom von Ca^{2+} sich nicht unbedingt in einer Veränderung der $[Ca^{2+}]_i$, unserem Meßparameter, manifestieren; denn das Cytoplasma hat eine sehr große Pufferkapazität, die kleine Veränderungen in der $[Ca^{2+}]_i$ kaschieren kann. Auch wenn die theoretische

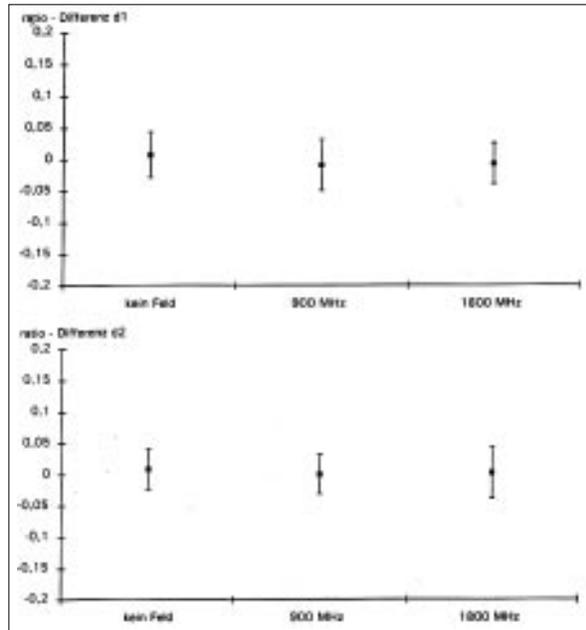


Abbildung 27:
Der Einfluß der für den Mobilfunk relevanten Träger- und Modulationsfrequenz auf die $[Ca^{2+}]_i$ von kultivierten Lymphozyten T-Jurkat.

entsprachen denen bei den Herzmuskelexperimenten. Auch in diesen Experimenten war kein Einfluß der Feldapplikation auf die $[Ca^{2+}]_i$, repräsentiert durch den ratio-Wert, feststellbar, da alle Mittelwerte der d1-Differenzen in dem Bereich liegen, der durch die Standardabweichung der Nullfeldkontrolle markiert ist, im einzelnen: 0 Hz: $0,0061 \pm 0,0248$ (n = 57), 16 Hz: $0,0025 \pm 0,0265$ (n = 51), 50 Hz: $0,0083 \pm 0,0107$ (n = 68), 217 Hz: $-0,0095 \pm 0,0403$ (n = 414), 30 kHz: $-0,0016 \pm 0,0193$ (n = 121) (Abb. 26).

Auch der Einfluß der chemischen Stimulation entspricht wieder dem wie bei der Variation der Trägerfrequenz. Die chemische Stimulation wirkte praktisch nicht; die d2-Werte sind in ihrem Betrag mit den d1-Werten vergleichbar:

0 Hz: $-0,0064 \pm 0,0208$,
16 Hz: $0,0232 \pm 0,0183$,
50 Hz: $-0,0063 \pm 0,0134$,
217 Hz: $0,0001 \pm 0,0312$,

30 kHz: $-0,0036 \pm 0,0144$.

Auch aus dem unteren Teil der Abbildung 26 läßt sich dieser Effekt klar ablesen.

In einer besonderen Versuchsreihe wurden im Rahmen der Variation der Modulationsfrequenz die getesteten Stichproben für die Situation 900 MHz und 1800 MHz moduliert mit 217 Hz, 14% Puls/ Pause-Verhältnis besonders erhöht auf je 400 Zellen, um den für den Mobilfunk relevanten Frequenzen hier besondere Aufmerksamkeit zu widmen (Abb. 27). Auch hier ließ sich wieder kein Einfluß des Feldes feststellen, weder in den d1-Werten (ohne Feld: $0,0070 \pm 0,036$, bei 900 MHz: $-0,0095 \pm 0,0403$, bei 1800 MHz: $-0,0074 \pm 0,0323$) noch in den d2-Werten (ohne Feld: $0,008 \pm 0,0323$, bei 900 MHz: $0,0001 \pm 0,0312$, bei 1800 MHz: $0,0027 \pm 0,0409$). Leider konnte jedoch auch kein Einfluß der chemischen Stimulation gezeigt werden.

schen Modelle, mit denen dies untermauert werden sollte, heute eher als überholt anzusehen sind, so muß man trotzdem feststellen, daß ausführliche Messungen des Calcium-Membranstromes unter der Einwirkung hochfrequenter Felder noch fehlen.

Eine kleine Studie wurde in diesem Zusammenhang von unserer Arbeitsgruppe unter der Einwirkung netzfrequenter Felder durchgeführt (Meyer et al., 1994). In dieser Untersuchung konnten wir keine Wirkung der 50-Hz-Felder nachweisen. Diese Studie umfaßt allerdings noch einen relativ geringen Stichprobenumfang (ca. 35 Zellen), was für eine fundierte Beurteilung dieser Frage nicht ausreicht. Um die Frage einer Beeinflussung des Ca^{2+} -Stromes durch elektromagnetische Felder wirklich zu klären, sind also noch direkte Messungen dieses Stromes notwendig, sowohl im Bereich der niedrigfrequenten Felder als auch im Bereich der hochfrequenten Felder.

Etwas komplizierter stellt sich die Problematik der Messungen bezüglich der T-Jurkat Zellen dar. Diese Zellen wurden von uns mit in die Untersuchung hinein genommen, da sie einerseits als Lymphozyten in bezug auf die mögliche Promotion von Leukämie durch elektromagnetische Felder von Interesse sind, andererseits gibt es eine durchaus ernstzunehmende Studie (Lindström et al., 1993), die besagt, daß diese Zellen auf 50-Hz-Magnetfelder mit $[Ca^{2+}]_i$ -Oszillationen reagieren. Wir haben versucht, diese Studie nachzuvollziehen. In unseren noch nicht abgeschlossenen Experimenten zeigt sich ein Anstieg der Ca^{2+} -

Oszillationen unter 50-Hz-Magnetfeldern, der allerdings wesentlich weniger drastisch ausfiel als in der Lindström et al. Studie (Gollnick et al., 1994). Aufgrund dieser Ergebnisse erschien es uns besonders wichtig nachzuprüfen, ob diese Zellen durch die hochfrequenten Felder zu beeinflussen sind. Insgesamt zeigten die T-Jurkat Zellen, unabhängig von der Einwirkung des hochfrequenten Feldes, in dieser Studie ein weniger reaktives Verhalten als in unseren noch laufenden Untersuchungen zur Wirkung von 50-Hz-Feldern (Meyer et al., 1995). Auch die chemische Stimulation erbrachte nicht die erwarteten Ergebnisse. Das Problem einer reproduzierbaren Positivkontrolle bei T-Jurkat Zellen wird zur Zeit von unserer Arbeitsgruppe intensiv untersucht. Dennoch muß man feststellen, daß die Zellen mit Sicherheit vital waren; denn sonst hätten sie den Fluoreszenzindikator Fura-2 nicht aufgenommen und gehalten. Insgesamt muß man auch hier darauf hinweisen, daß auch bei den Lymphocyten eine Wirkung der hochfrequenten Felder in dieser Untersuchung nie gesehen wurde, trotz des großen Stichprobenumfanges von mehr als 1300 Zellen.

6. Literatur

Adrian RH (1956): The effect of internal and external potassium concentration on the membrane potential of frog muscle. *J Physiol* 133, 631-658

Bawin SM, Kaczmarek LK, Adey WR (1975): Effects of modulated VHF fields on the central nervous system. *Ann NY Acad Sci* 247, 74-81

Bernardi P, D'Inzeo, Eusebi F, Tamburello CC (1989): The patch-clamp technique in the study of electromagnetic field effects on biological structures. *Alta Frequenza*, 58, 355-360

Blackman CF, Benane SG, House D.E. (1991): The influence of temperature during electric and magnetic-field-induced alteration of calcium-ion release from in vitro brain tissue. *Bioelectromagnetics*, 12, 173-182

Carafoli E, Penniston JT (1986): Das Calcium-Signal. *Spektrum d. Wissenschaft* 1/1986, 76-85

Carson JJ, Prato FS, Drost DJ, Diesbourg LD, Dixon SJ (1990): Time-varying magnetic fields increase cytosolic free Ca^{2+} in HL-60 cells. *Am J Physiol*, 259, C687-C692

Dutta SK, Subramoniam A, Ghosh B, Parshad R (1984): Microwave radiation-induced calcium ion efflux from human neuroblastoma cells in culture. *Bioelectromagnetics* 5, 71-78

Gollnick F (1992): Aufbau eines Messplatzes und fluorometri-

Literatur

- sche Untersuchungen mit Fura-2 zur Verteilung und regulatorischen Funktion von Calciumionen in lebenden Amöben. Dissertation mat. nat Fak., Bonn
- Gollnick F, Meyer R, Stockem W (1991): Visualization and measurement of calcium transients in *Amoeba proteus* by fura-2 fluorescence. *Europ J Cell Biol* 55, 262-271.
- Gollnick F, Pohl U, Conrad G, Bock H, Meyer R (1994): Calcium imaging in freshly isolated human peripheral blood lymphocytes and in a human T-cell line under exposure to 50 Hz magnetic fields. Paper J 2-2, 16th Annual Meeting Bioelectromagnetics Society, Copenhagen, Denmark (1994)
- Grundler W, Kaiser F, Keilmann F, Walleczek J (1992): Mechanisms of electromagnetic interaction with cellular systems. *Naturwissenschaften* 79, 551-559
- Grynkiewicz G, Poenie, M Tsien RY (1985): A new generation of Ca²⁺-indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem* 260, 3440-3450
- Kavaliers M, Ossenkopp K-P (1987): Calcium channel involvement in magnetic field inhibition of morphine-induced analgesia. *Arch Pharmacol* 336, 308-315
- Kullnick U (1992): Influence of weak non-thermic highfrequency electromagnetic fields on the resting potential of nerve cells. *Bioelectrochem Bioenerg* 27, 293-304
- Liboff AR (1985): Cyclotron resonance in membrane transport. In: Chiabrera, A, Nicolini C, Schwan HP (ed.), *Interactions between electromagnetic fields and cells*. Plenum, London, 281
- Lindström E, Lindström P, Berglund A, Mild KH, Lundgren E (1993): Intracellular calcium oscillations induced in a T-cell line by a weak 50 Hz magnetic field. *J Cell Physiol* 156, 395-398
- Meyer R, Hüning C, Pohl U, Wang SY (1994): Die Calcium-Homöostase isolierter Herzmuskelzellen unter der Einwirkung magnetischer Felder. In: *Berufsgenossenschaft der Feinmechanik und Elektrotechnik* (ed.): *Tagungsband – Wirkung niederfrequenter Magnetfelder auf den Organismus*. Eigenverlag Berufsgenossenschaft, Köln, 31-38.
- Meyer R, Hüning C, Pohl U, Gollnick F (1995): Die Auswirkung magnetischer 50-Hz-Felder auf die intrazelluläre Calcium-Konzentration von erregbaren und nicht erregbaren Zellen. In: K Brinkmann, HC Kärner, H Schaefer (Hrsg.): *Elektromagnetische Verträglichkeit biologischer Systeme Band 4, Elektromagnetische Verträglichkeit biologischer Systeme in schwachen 50-Hz-Magnetfeldern*. VDE-Verlag Berlin, Offenbach, 90-109.
- Meyer R, Wiemer J, Dembski J, Haas HG (1987): Photoelectric recording of mechanical responses of cardiac myocytes. *Pflügers Arch*, 408, 390-394
- Miura M, Okada J (1991): Non-thermal vasodilatation by radiofrequency bursttype electromagnetic field radiation in the frog. *J Physiol*, 435, 257-273
- Miura M, Takayama K, Okada J (1993): Increase in nitric oxide and cyclic GMP of rat cerebellum by radiofrequency burst-type electromagnetic field radiation. *J Physiol*, 461, 513-524
- Moore GE, Gerner RE, Franklin HA (1967): Culture of normal human leucocytes. *J A M A* 199, 519-524
- Rasmussen H (1989): Der Membrankreislauf von Calcium als intrazelluläres Signal. *Spektrum d. Wissenschaft*, 12, 128-135
- Schwartz JL, Delorme J, Mealing GAR (1983): Effects of low-frequency amplitude modulated radiofrequency waves on the calcium efflux of the heart. *Biophys J* 41, 295a
- Stegemann M, Meyer R, Haas H-G, Robert-Nicoud M (1990): The cell surface of isolated cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*, 22, 787-803
- Tsien RY, Harootunian AT (1990): Practical design criteria for dynamic ratio imaging systems. *Cell Calcium* 11, 93-110
- Weiss A, Wiskocil RL, Stobo JD (1984): The role of T3 surface molecules in the activation of human T cells: A two-stimulus requirement for IL 2 production reflects events occurring at a pre-translational level. *J Immunol* 133, 123-128
- Wolke S, Neibig U, Elsner R, Gollnick F, Meyer R (1994): A setup for measurement of intracellular calcium during high frequency application. Paper A 3-6, 16th Annual Meeting Bioelectromagnetics Society, Copenhagen, Denmark (1994)

Anhang:

Beschreibung des Versuchsaufbaus und Feldbestimmung

Dr.-Ing. U. Neibig, Institut für Nachrichtentechnik, TU Braunschweig

1. Beschreibung des Versuchsaufbaus

Für die Untersuchungen wurde eine sogenannte TEM-Zelle [1] als Felderzeuger verwendet. Eine TEM-Zelle ist als aufgeweitete koaxiale Leitung mit großem, rechteckförmigen Querschnitt vorstellbar, der beidseitig mittels trichterförmiger Übergangsstücke auf die Querschnittsabmessungen gewöhnlicher Koaxialkabel überführt wird. Die TEM-Zelle stellt einen geschirmten Raum dar, wobei die ungenügende Schirmung niederfrequenter magnetischer Felder zu beachten ist, wenn der Außenleiter aus Aluminium gefertigt ist. Die Abmessungen der aufgebauten TEM-Zelle und das eingeführte Koordinatensystem gehen aus Abb. 1 hervor.

Im längshomogenen Mittelteil der TEM-Zelle bildet sich in guter Näherung eine TEM-Welle aus. Dies gilt für einen Frequenzbereich, der sich von Gleichspannung (DC) bis zu einer oberen Grenzfrequenz erstreckt, von der an zusätzlich Hohlleiterwellen ausbreitungsfähig sind. Diese Hohlleiterwellen bewirken uner-

wünschte räumliche Feldstärkeinhomogenitäten, die sich z.B. in resonanzartigen Extremstellen beträchtlicher Größe im Frequenzgang der elektrischen Feldstärke äußern [2]. Die Grenzfrequenz läßt sich aus der Querschnittsgeometrie des Zellenmittels berechnen und ist umso höher, je kleiner die Querschnittsabmessungen sind. Die kleinsten möglichen Abmessungen sind allerdings festgelegt, da

das eingebrachte Prüfobjekt mit seinen vorgegebenen Abmessungen nur einen gewissen Teil des TEM-Zellenvolumens ausfüllen darf [1]. Danach sollte die Höhe des Prüfobjekts ein Drittel des Abstands zwischen Innen- und Außenleiter nicht übersteigen. Zum Betrieb wird in ein Tor der TEM-Zelle eine Hochfrequenzleistung eingespeist und das andere Tor mit einem Widerstand reflexionsfrei abgeschlossen. Die Lei-

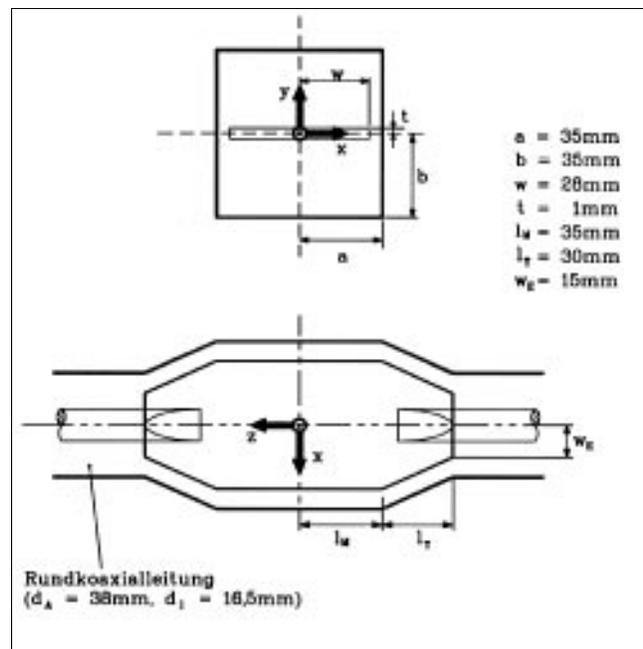


Abbildung 1: Geometrie und Koordinatensystem der TEM-Zelle für 900/1800 MHz

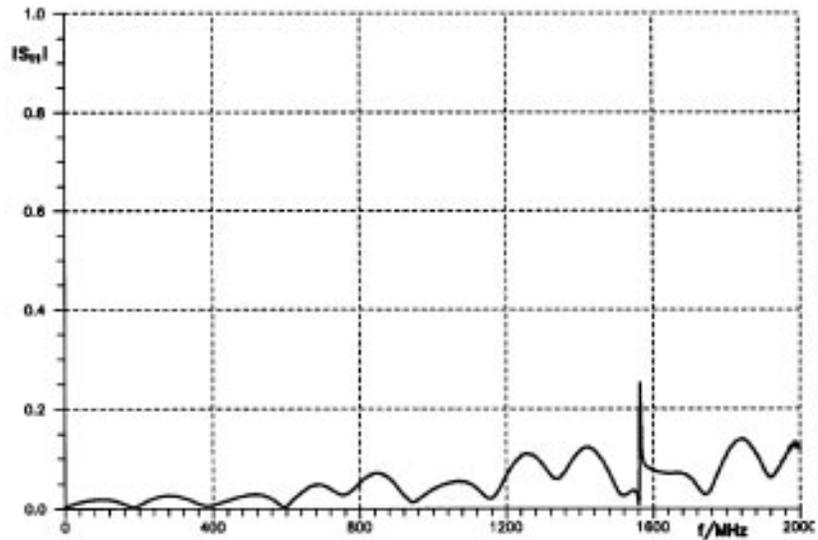


Abbildung 2: Eingangsreflexionsfaktor der TEM-Zelle für 900/1800 MHz

tungsimpedanz der TEM-Zelle läßt sich auf den üblichen Wert von 50Ω dimensionieren.

Aufgrund des hier nur sehr kleinen Prüfvolumens und der großen erforderlichen oberen Frequenz sind entsprechend geringe Querschnittsabmessungen notwendig, um eine möglichst hohe Grenzfrequenz zu erzielen. Die Abmessungen wurden so gewählt, daß einerseits der Einfluß des Prüfobjekts auf die Meßanordnung zu vernachlässigen ist und andererseits bei beiden Frequenzen näherungsweise eine TEM-Feldverteilung vorliegt. Die rechnerisch abgeschätzte Grenzfrequenz des ersten ausbreitungsfähigen Hohlleitermodus beträgt 1,2 GHz. Damit liegt bei 900 MHz sicher allein die TEM-Welle vor. Vergleichende Abschätzungen mit anderen TEM-Zellen ergeben, daß die zweite Untersuchungsfrequenz von 1800 MHz bei dieser Geometrie gerade zwischen der ersten und zweiten schmalbandigen Hohlleiterresonanzfrequenz liegt. So kann auch bei 1800 MHz näherungsweise

von einer TEM-Feldverteilung ausgegangen werden.

In Abb. 2 ist der bis 2 GHz gemessene Betrag des Eingangsreflexionsfaktors dargestellt. Die Anpassung an den Bezugswellenwiderstand von 50Ω ist gut; bei 900 MHz beträgt $|S_{11}|$ etwa 5% und bei 1800 MHz etwa 9%. Der Einfluß des eingebrachten Prüfobjekts wurde durch Messung des Reflexionsfaktors im Zeitbereich mit einem Impulsreflektometer [3] überprüft. Es zeigt sich, daß die Leitungsimpedanz an der Stelle des Prüfobjekts nur um 2% kleiner ist als in der TEM-Zelle ohne Prüfobjekt. Die zum Betrieb der TEM-Zelle notwendige Bedingung geringer Reflexionen ist daher auch mit eingebrachtem Prüfobjekt erfüllt. Messungen der Feldstärkeverteilung im Zelleninneren sind aufgrund der geringen Abmessungen nicht möglich.

Im Zentrum des unteren ($x = 0$, $y = -17,5 \text{ mm}$, $z = 0$) oder oberen ($x = 0$, $y = 17,5 \text{ mm}$, $z = 0$) Halb-

raumes der leeren TEM-Zelle gilt für die elektrische Feldstärke E_0 der TEM-Welle [1]:

$$E_0 = \frac{\sqrt{P \cdot Z_L}}{b} \quad (1)$$

Dabei ist P die eingespeiste Leistung, Z_L die Leitungsimpedanz ($Z_L = 50 \Omega$) und b der Abstand zwischen Innen- und Außenleiter (vgl. Abb. 1). Da im Fall der TEM-Welle Freiraumverhältnisse vorliegen, kann aus E_0 die magnetische Flußdichte B_0 berechnet werden:

$$B_0 = \mu_0 \cdot H_0 = \mu_0 \cdot \frac{E_0}{Z_F} \quad (2)$$

Mit $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \text{ Vs/Am}$ und $Z_F = 120\pi \Omega$ sowie der Bezeichnung $1 \text{ Vs/m}^2 = 1 \text{ T}$ folgt daraus:

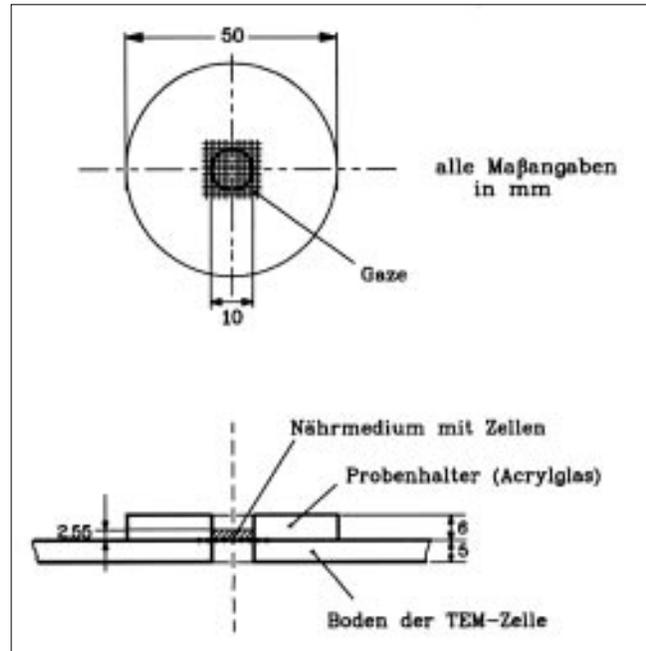
$$\frac{B_0}{\mu\text{T}} = \frac{1}{300} \cdot \frac{E_0}{\text{V/m}} \quad (3)$$

Bei diesem Versuch sollten die Zellen während der Feldeinwirkung mit einem Mikroskop zu beobachten sein. Der Probenhalter mußte daher auf dem Boden (Außenleiter) der TEM-Zelle angeordnet werden. Eine elektrostatische Abschätzung, die gleichfalls

für die TEM-Welle gilt, ergibt, daß in der *leeren* TEM-Zelle an diesem Ort die Feldstärke gleich der 0,835-fachen Feldstärke nach Gl.(1) im Zentrum des Halbraumes ist. Ein kalibrierter Feldstärke-sensor für den erforderlichen großen Frequenzbereich bis rund 1,8 GHz stand nicht zur Verfügung. Probemessungen mit einem unkalibrierten Sensor ergeben jedoch schmalbandige Maxima im Feldstärkefrequenzgang bei 1568 MHz und 2252 MHz, die als Folge der beiden ersten Hohlleiterresonanzen der TE_{01} -Welle auftreten. Damit ist die TEM-Zelle auch oberhalb ihrer Grenzfrequenz von 1,2 GHz bis etwa 2 GHz unter Aussparung eines schmalen Frequenzbereiches um 1,57 GHz verwendbar.

Als Signalquelle wird ein UHF-Leistungsmeßsender vom Typ SLRD (Hersteller Rohde&Schwarz) verwendet, der um die Möglichkeit einer externen Pulsmodulation erweitert wurde. Im D- und E-Mobilfunknetz wird im Zeitmultiplex mit digitaler GMSK- (Gaussian Minimum Shift Keying) Modulation gearbeitet. Das tatsächliche, relativ komplizierte Modulationssignal wird vereinfachend durch eine Pulsmodulation der Trägerfrequenz von 900 MHz bzw. 1800 MHz mit einer Pulsbreite von 0,577 ms und einer Periodendauer von 4,615 ms nachgebildet. Der Sender gibt für eine Zeit von 0,577 ms eine vorgegebene Spitzenleistung ab, während in der übrigen Zeit einer Periode die Sendeleistung null ist. So wird der burstartige Charakter des Mobilfunksignals nachempfunden. Die in die TEM-Zelle eingespeiste Spitzenleistung beträgt 5 W bei 900 MHz und 2 W bei 1800 MHz. Damit ergibt sich am Boden in der

Abbildung 3:
Probenhalter für
900/1800 MHz



leeren TEM-Zelle gemäß Gl.(1) und Gl.(2) und unter Berücksichtigung des Faktors 0,835 eine elektrische Feldstärke von 377 V/m und eine magnetische Flußdichte von 1,26 μ T bei 900 MHz, während bei 1800 MHz 239 V/m und 0,80 μ T vorliegen.

Der Probenhalter besteht aus einem Acrylglasgefäß zur Aufnahme des Nährmediums mit den Zellen (Abb. 3). Dieses Gefäß befindet sich direkt auf dem Boden der TEM-Zelle, wo eine Bohrung von 1 cm Durchmesser eingebracht ist, die mit feinmaschiger, leitfähiger Gaze hochfrequenzmäßig verschlossen ist. Durch die Maschen der Gaze können die Zellen während der Feldeinwirkung mit einem Mikroskop beobachtet werden. Die Temperierung erfolgt durch einen in das Acrylglasgefäß eingearbeiteten Kanal, der von dem als Temperierflüssigkeit verwendeten Öl durchflossen wird. Zwei weitere Kunststoffschläuche, die vom Probenhalter

aus der TEM-Zelle führen, dienen der Perfusion.

2. Feldbestimmung

Zur Beurteilung der Expositionsversuche ist die Feldstärke in der Flüssigkeit, in der sich die Zellen befinden, zu bestimmen. Feldstärkemessungen scheiden wegen der geringen Abmessungen und der Leitfähigkeit des Nährmediums aus. Eine analytische Berechnung ist aufgrund der komplizierten Geometrie ebenfalls nicht möglich. Daher wurde ein numerisches Berechnungsverfahren verwendet. Dazu stand bei der Telekom das Programmpaket „MAFIA“ zur Verfügung, das nach der Finite-Differenzen-Methode arbeitet und das sich zur Feldberechnung in geschlossenen dreidimensionalen Strukturen eignet [4].

Das zu untersuchende Gebiet ist mit einem orthogonalen Gitter

zu überziehen, und die tatsächliche Materialverteilung ist auf das Gitter abzubilden. Aufgrund der dreidimensionalen Geometrie ergeben sich beträchtliche Gitterelementanzahlen. Um die Berechnungen auf der verfügbaren Rechenanlage überhaupt und dazu noch in akzeptabler Rechenzeit durchführen zu können, sind vereinfachende Annahmen bei der Modellierung notwendig. So wird der Felderzeuger nicht in seiner vollständigen Geometrie einschließlich der verhältnismäßig kleinen Einspeisestellen nachgebildet. Vielmehr wurde nur das längshomogene Mittelteil modelliert. Dieser Wellenleiterabschnitt mit dem nachgebildeten Probenhalter wurde vereinfachend mit einer TEM-Welle gespeist. Die Anregung höherer Moden, die ja in den trichterförmigen Übergängen erfolgt, und ihre Ausbreitung wurde also nicht berücksichtigt. Der dadurch bedingte Rechenfehler läßt sich nicht abschätzen. Dazu müßte nämlich der Felderzeuger vollständig nachgebildet werden, was unter den gegebenen Bedingungen nicht möglich war.

Die Gitterelementweite wurde im Bereich des Nährmediums so gewählt, daß sie maximal 0,3% der kleinsten vorkommenden Wellenlänge beträgt. Weiterhin können mit MAFIA Materialabgrenzungen auch auf den Raumdiagonalen der kartesischen Gitterelemente festgelegt werden, so daß sich die runde Form des Nährmediums gut approximieren läßt. Rechenfehler aufgrund einer möglicherweise zu groben Diskretisierung sollten daher zu vernachlässigen sein.

Das Speisesignal hat einen sinusförmigen Verlauf mit der Fre-

quenz des entsprechenden Mobilfunknetzes (900 MHz oder 1800 MHz). Bei beiden Frequenzen wurde einheitlich eine Speiseleistung von 1 W verwendet; eine Umrechnung auf andere Speiseleistungen ist aufgrund der vorausgesetzten Linearität der Anordnung zulässig. Die Berechnung mit MAFIA erfolgt mit dem T3-Modul im Zeitbereich. Dazu wird als Anfangswert auf allen Gitterelementen eine Feldstärke von null vorgegeben und zum Zeitpunkt $t = 0$ das anregende Signal in das Eingangstor des Wellenleiters eingespeist. Die Berechnung ist solange durchzuführen, bis auf allen Gitterelementen der eingeschwungene Zustand erreicht ist. Die sich über der letzten vollständigen Periode der Anregungsfrequenz einstellenden Feldstärkewerte können zur Beurteilung der Feldstruktur herangezogen werden.

Die elektrischen Materialeigenschaften sind in Form der relativen Permeabilität μ_r , der relativen Dielektrizitätszahl ϵ_r und der Leitfähigkeit κ vorzugeben. Es werden die Stoffe Acrylglas, Weißöl, eine Tyrode-Lösung als Nährmedium und eine Mischung des Nährmediums mit den Zellen verwendet. Für alle diese Stoffe gilt $\mu_r = 1$. Die beiden übrigen Größen ϵ_r und κ wurden durch Messungen ermittelt. Dazu stand im Frequenzbereich bis 1000 MHz ein Meßverfahren zur Verfügung, das auf der Bestimmung der Leitungskonstanten einer mit der Stoffprobe gefüllten Koaxialleitung beruht [5]. Kleine Verlustfaktoren $\tan\delta$ sind mit diesem Verfahren schwer zu erfassen. Daher wurden für das Acrylglas und das Weißöl ein frequenzunabhängiger Wert aus der Literatur [6] von $\tan\delta = 0,015$ angenommen. Aus dem Verlustfaktor $\tan\delta$ be-

rechnet sich die Leitfähigkeit κ bei der Frequenz f zu:

$$\kappa = 2\pi f \cdot \epsilon_0 \cdot \epsilon_r \cdot \tan\delta. \quad (4)$$

Zum Vergleich standen für ein anderes Nährmedium (HAM's F10) Meßergebnisse der komplexen Permittivität $\underline{\epsilon}_r = \epsilon'_r - j\epsilon''_r$ in einem Frequenzbereich von 10 MHz bis 3 GHz zur Verfügung. Hierfür wurde ein Meßaufbau verwendet, bei dem der Reflexionsfaktor einer kurzen, mit der Flüssigkeit gefüllten Leitung bestimmt wird [7]. Aus $\underline{\epsilon}_r$ lassen sich ϵ_r und $\tan\delta$ zu

$$\epsilon_r = \epsilon'_r, \quad (5)$$

$$\tan\delta = \frac{\epsilon''_r}{\epsilon'_r} \quad (6)$$

bestimmen. Die Meßergebnisse stimmen mit den Meßwerten, die nach dem ersten vorgestellten Meßverfahren bestimmt wurden, gut überein. Daher ist es zulässig, die Materialeigenschaften der Tyrode-Lösung bei 1,8 GHz, die ja nicht gemessen werden konnten, durch Extrapolation des Frequenzgangs zu gewinnen.

Nach dem ersten Verfahren durchgeführte Messungen ergeben, daß die Materialeigenschaften eines homogenen Gemisches aus dem Nährmedium HAM's F-10 und Blut den Eigenschaften des Mediums sehr ähnlich sind. Es kann davon ausgegangen werden, daß dies auch für das hier verwendete Gemisch aus der Tyrode-Lösung und den Zellen gilt. Vereinfachend wurden daher für die Flüssigkeit im Acrylglasgefäß die Materialeigenschaften des Mediums zugrunde gelegt. Sämtliche für die numerischen Berechnungen erforderlichen elektrischen Materialparameter sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Bei den Leitfähigkei-

Anhang

Tabelle 1: Verwendete elektrische Materialparameter

Material	900 MHz		1800 MHz	
	ϵ_r	κ	ϵ_r	κ
Acrylglas	2,6	0,002	2,6	0,0039
Weißöl	2,2	0,0017	2,2	0,0033
Tyrode	70	1,6	67	1,8

ten κ für Acrylglas und Weißöl handelt es sich um Werte, die mit Gl.(4) aus den Literaturangaben [6] für die Verlustfaktoren dieser Stoffe berechnet wurden. Die übrigen Werte resultieren aus den durchgeführten Messungen.

Im folgenden werden die Ergebnisse der numerischen Berechnungen vorgestellt. Angegeben werden die Feldverteilung im Felderzeuger, ein Näherungswert für den Abfall der elektrischen Feldstärke und der magnetischen Flußdichte im Nährmedium bezogen auf die Verhältnisse am gleichen Ort *ohne* Medium sowie die spezifische Absorptionsrate (SAR) im Medium. Der SAR-Wert gibt die in einem Stoff umgesetzte Leistung aufgrund von Verlusten bezogen auf die Masse an:

$$SAR = \frac{P_J}{m} \quad (7)$$

Dabei berechnet sich die Joulesche Verlustleistung P_J in einem Körper der Leitfähigkeit κ und des Volumens V zu:

$$P_J = \int_{(V)} E^2 \cdot \kappa \cdot dV \quad (8)$$

Daraus ergibt sich:

$$SAR = \frac{P_J}{V \cdot \rho} \quad (9)$$

wobei ρ die Dichte des Körpers ist. Das Programmpaket MAFIA bietet in seinem P-Modul die Möglichkeit, die Joulesche Verlustleistung P_J nach Gl.(8) nume-

risch aus den zuvor bestimmten Feldstärkewerten und der bekannten Leitfähigkeit κ in einem gewünschten, quaderförmigen Volumen zu berechnen. Im folgenden wird stets der zeitliche Mittelwert über eine Periode der anregenden Sinusschwingung angegeben, wobei allen Berechnungen eine *zeitlich konstante* Leistung (CW-Betrieb) von 1 W zugrunde gelegt wurde. Der SAR-Wert ist aufgrund der vorausgesetzten Linearität der verwendeten Materialien proportional der Speiseleistung, so daß er einfach auf andere Speiseleistungen umgerechnet werden kann.

Die elektrische Feldverteilung bei 900 MHz in einer Querschnittsebene mittig durch den Probenhalter ist in Abb. 4 dargestellt. Im unteren Halbraum befindet sich der Probenhalter, der in der Mitte

die Tyrode-Lösung mit den Zellen enthält. Die Bohrung mit der feinmaschigen Gaze-Abdeckung unter der Lösung wurde nicht modelliert, sondern vereinfachend ein geschlossener Außenleiter angenommen.

Die Feldverteilung ist in beiden Halbräumen sehr ähnlich; im Acrylglas und besonders in der Tyrode-Lösung sinkt die elektrische Feldstärke allerdings ab. Eine Auswertung der Zahlenwerte ergibt, daß die elektrische Feldstärke in der Tyrode-Lösung auf etwa das 0,0185-fache ($\approx 1/54$) der Feldstärke am gleichen Ort in der *leeren* TEM-Zelle abgesunken ist. Die Verteilung der magnetischen Flußdichte (Abb. 5) wird durch die eingebrachten Materialien praktisch nicht verändert. In der Tyrode-Lösung beträgt die magnetische Flußdichte das 1,08-fache der Flußdichte am gleichen Ort in der *leeren* TEM-Zelle. Aufgrund der geringen elektrischen Feldstärkewerte betragen die Jouleschen Verluste in der Lösung lediglich etwa 2,2 μ W. Mit einem Volumen von 0,2 ml ergibt sich daraus ein SAR-Wert von 11 mW/kg in der Lösung (Speiselei-

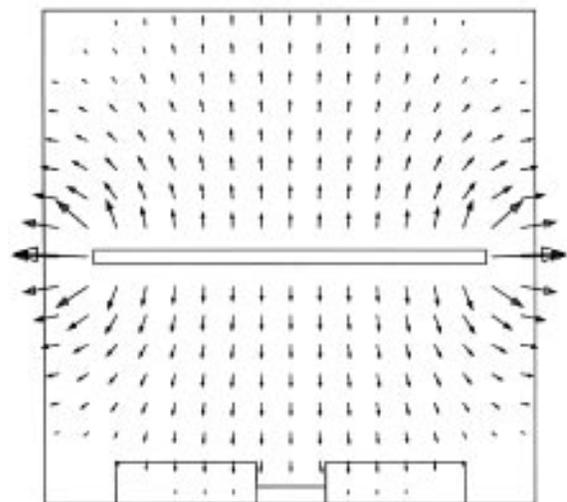


Abbildung 4: Verteilung der elektrischen Feldstärke in einer vertikalen Schnittenebene mittig durch den Probenhalter bei 900 MHz

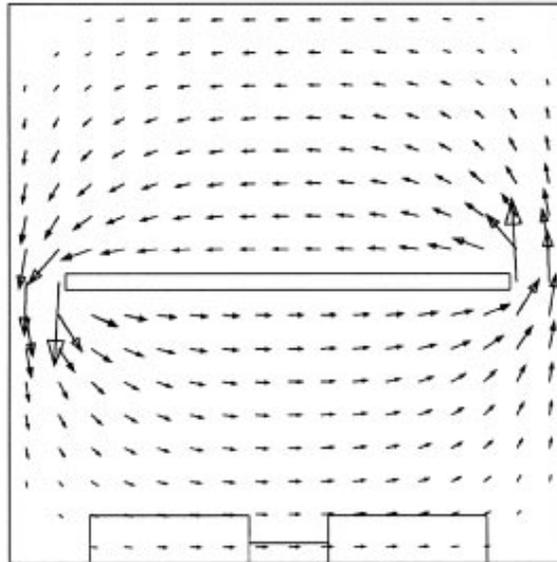


Abbildung 5:
Verteilung der magnetischen Flußdichte in einer vertikalen Schnittebene mittig durch den Probenhalter bei 900 MHz

stung 1 W). Da weiterhin die Jouleschen Verluste im Acrylglas nur $9 \mu\text{W}$ betragen, ist eine Eigenerwärmung zu vernachlässigen.

Bei 1800 MHz sinkt die elektrische Feldstärke in der Tyrode-Lösung nicht so stark ab wie bei 900 MHz, und die magnetische Flußdichte ändert sich stärker. Die numerische Berechnung ergibt, daß die elektrische Feldstärke in der Lösung auf den 0,029-fachen Wert ($\approx 1/35$) der Feldstärke am gleichen Ort in der *leeren* TEM-Zelle absinkt, während die magnetische Flußdichte auf das 1,38-fache der Flußdichte in der *leeren* TEM-Zelle ansteigt. Offensichtlich kann bei 1800 MHz nicht mehr von einer elektrostatischen Näherung

wie bei 900 MHz ausgegangen werden. Wegen der im Vergleich zu 900 MHz höheren elektrischen Feldstärke in der Tyrode-Lösung und ihrer höheren Leitfähigkeit treten bei 1800 MHz größere Joulesche Verluste auf. Sie betragen $6,9 \mu\text{W}$, so daß sich ein SAR-Wert von 34 mW/kg ergibt. Die Jouleschen Verluste im Acrylglas betragen $42 \mu\text{W}$.

In einer Übersicht sind die Feldverhältnisse für beide Untersuchungsfrequenzen zusammengefaßt (Tabelle 2). In der ersten Spalte ist die verwendete Frequenz aufgeführt. In Spalte 2 ist die in den Felderzeuger eingespeiste Leistung P angegeben, wobei es sich um die Spitzenleistung handelt. Aus der Spitzenlei-

stung P und der Geometrie des Felderzeugers läßt sich die elektrische Feldstärke E_{leer} am Ort des Nährmediums in dem *leeren* Felderzeuger abschätzen (Spalte 3). Die Berechnung der magnetischen Leerflußdichte B_{leer} aus E_{leer} erfolgt unter Annahme von Freiraumverhältnissen. In den beiden folgenden Spalten 5 und 6 sind die Feldänderungen im Nährmedium als Quotienten $E_{\text{Med}}/E_{\text{leer}}$ bzw. $B_{\text{Med}}/B_{\text{leer}}$ angegeben, die mit dem FD-Rechenprogramm MAFIA numerisch berechnet wurden. Dabei handelt es sich jeweils um den Mittelwert über das Volumen des Nährmediums. Damit kann die elektrische Feldstärke E_{Med} und die magnetische Flußdichte B_{Med} im Medium, denen die untersuchten Zellen ungefähr ausgesetzt sind, angegeben werden. In den Spalten 7 und 8 sind diese Größen als Mittelwert mit ihren maximalen Abweichungen im Volumen des Nährmediums aufgeführt. Es handelt sich wiederum um Spitzenwerte. Die elektrische Feldstärke und magnetische Flußdichte sind proportional zu \sqrt{P} ; die angegebenen Werte lassen sich somit umrechnen, wenn andere Leistungen verwendet werden. In der letzten Spalte ist schließlich die spezifische Absorptionsrate (SAR) im Nährmedium als zeitlicher Mittelwert angegeben, wobei das Puls-Pausenverhältnis von 8 berücksichtigt wurde.

f (MHz)	P (W)	Leerfeld		Änderung		Feld im Medium		SAR (mW/kg)
		E_{leer} (V/m)	B_{leer} (μT)	$\frac{E_{\text{Med}}}{E_{\text{leer}}}$	$\frac{B_{\text{Med}}}{B_{\text{leer}}}$	E_{Med} (V/m)	B_{Med} (μT)	
900	5	380	1,26	0,0185	1,1	7 $\pm 25\%$	1,4 ± 5	6,9
1800	2	240	0,80	0,029	1,4	7 $\pm 30\%$	1,1 $\pm 10\%$	8,5

Tabelle 2: Zusammenstellung der Feldverhältnisse

3. Literatur

- [1] Crawford, M.L.; Workman, J.L.: „Using a TEM Cell for EMC Measurements of Electronic Equipment“, Technical Bureau of Standards, Boulder, Colorado, U.S.A., April 1979
- [2] Hill, D.A.: „Bandwidth Limitations of TEM Cells due to Resonances“, Journal of Microwave Power, 18(2), 1983, S. 181-195
- [3] Meinke; Gundlach (Hrsg.): „Taschenbuch der Hochfrequenztechnik“, 5. Auflage, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York/Tokyo, 1992
- [4] Weiland, T. [u.a.]: „Maxwell's Grid Equations“, FREQUENZ 33 (1990) 1, S. 9-16
- [5] Altmaier, H.: „Messung komplexer Materialkonstanten von Absorbermaterialien mit einem automatischen Netzwerkanalysator“, Tagungsband zum Kongreß „Elektromagnetische Verträglichkeit“, Karlsruhe, 13.-15. März 1990, VDE-Verlag, Berlin, 1990, S. 189-202
- [6] Brinkmann, Curt: „Die Isoliertstoffe der Elektrotechnik“, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, 1975
- [7] Kaatze, U.; Lönnecke-Gabel, V.; Pottel, R.: „Broadband Dielectric Relaxation Study of Aqueous Samples with High Content of Organic Molecules“, Zeitschrift für Physikalische Chemie Neue Folge, Bd. 175, 1992, S. 165-186

Research Project “Biological Effects of High-Frequency Electromagnetic Fields”

The Influence of High-Frequency Electromagnetic Fields on the Intracellular Calcium Concentration of Excitable and Non-Excitable Cells

Dr. rer. nat. Rainer Meyer, Dr. rer. nat. Frank Gollnick,
Dr. rer. nat. Stephan Wolke, Institute of Physiology,
Rheinische-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

All cells contain an ionic solution, in which all the other cellular components are embedded, the cytoplasm. The concentration of calcium ions in the cytoplasm is kept extremely low by the cells. Thus, small changes in the number of calcium ions result in relatively big changes in the cytoplasmic calcium. This allows the cells to generate signals of a good signal-to-noise ratio by small numbers of calcium ions. The cells make use of this feature, therefore the intracellular calcium concentration is one of the main factors for the control of cell metabolism. Cellular reactions like muscle contraction, contraction of the heart cells, amoeboid movement of cells, cell division, activation of immune cells or synaptic transmission are controlled by the calcium concentration in the cytoplasm. As many cellular reactions

lead to changes in the cytoplasmic calcium concentration, the calcium concentration will reflect, whether cellular processes are occurring normally or not. Therefore, the cytoplasmic calcium concentration is a useful indicator for external influences that disturb cell metabolism.

We examined the influence of high-frequency electromagnetic fields on the intracellular calcium concentration of excitable and non-excitable cells. Various carrier frequencies and pulsation patterns were tested, among those the ones utilized in mobile communication with cellular phones. As representative for the excitable cells we investigated isolated heart muscle cells of the guinea pig and as non-excitable cell cultured T-lymphocytes of the cell line Jurkat were studied.

Summary

T-Jurkat were chosen, because they have been shown to react with oscillations of the cytoplasmic calcium concentration onto the influence of 50 Hz magnetic fields. Possibly, these cells are extraordinary sensitive to magnetic fields.

For the application of the high-frequency fields a transversal electromagnetic cell (TEM-cell) was developed which allows microscopic observation of the cells during simultaneous exposure to the field. The cells were kept in a temperature controlled, permanently perfused experimental chamber inside the TEM-cell. Intracellular calcium concentrations were measured by means of the fluorescent indicator fura-2. The fluorescence of this dye changes in proportion to the calcium concentration and depending on the excitation wavelength. At an excitation wavelength of 340 nm the emitted fluorescence intensity increases with increasing calcium concentration, while at an excitation wavelength of 380 nm the fluorescence intensity decreases with increasing calcium concentration. Measuring the fluorescence at both wavelengths and dividing the measured values by each other allows to get a good estimation of the calcium concentration. To do so, the setup was equipped with an epifluorescence illumination with a step motor driven filter wheel for automatic change of the excitation wavelength. Images were recorded by an image analysis system based on an intensified CCD-camera and a frame grabber with appropriate software.

Both cell types were subjected to an extensive measurement pro-

gramme with various carrier frequencies (between 900 and 1900 MHz) and pulsation patterns (0, 16, 50, 217 Hz, and 30 kHz) among those were the frequencies and pulsation patterns utilized in mobile communication (GSM-Standard). The specific absorption rate gained depended on the combination of carrier frequency and pulsation pattern, it varied between 9 and 59 mV/kg. An experiment was usually divided into three parts each of these lasting 500 s. During the first phase the cells were monitored without any field present (sham exposure). During the second phase the cells were usually exposed to the field, as control some runs with sham exposure instead of field exposure were also performed. During the third phase a chemical stimulation was carried out, in order to raise the calcium concentration in the cytoplasm of the cells. As chemical stimulation the membrane potential of the heart cells was depolarised from -80 mV resting potential to 0 mV by increasing the external potassium concentration. In the case of the T-Jurkat cells the external sodium concentration was lowered, to block the sodium/calcium exchanger and thereby disable the cells from pumping out calcium. With the heart cells additional experiments were performed, long term exposures (120 min) and exposures of depolarized cells (depolarization from -80 mV to -50, -30, and 0 mV).

In the experiments with the heart cells the chemical stimulation lead always to an increase and a subsequent decrease in the cytoplasmic calcium concentration indicating that the calcium transport

mechanisms were working properly in these cells. In contrast, the field exposure did not influence the calcium concentration in any case. There was no difference between the sham exposed and the cells exposed in the high-frequency field. Likewise in the case of the T-Jurkat cells, the cytoplasmic calcium concentration could not be influenced by the high-frequency field. However, in these cells the cytoplasmic calcium concentration did neither change during the chemical stimulation. Although the T-cells were definitely alive these experiments do not prove the failure of an effect definitely, because the T-cells may have been to insensitive to answer to any stimulation.

The experiments performed in this investigation did not give any sign for an influence of weak (athermal) high-frequency electromagnetic fields on the intracellular calcium concentration of cells independently of the carrier frequency and the pulsation pattern.



Impressum

Newsletter Edition Wissenschaft der FGF e.V.

Herausgeber: Forschungsgemeinschaft Funk e.V., Rathausgasse 11a,
D-53113 Bonn, Telefon: 0228 / 72622-0, Telefax: 0228 / 7262211

Redaktion: Gerd Friedrich (verantw.)

Grafik, Satz, Layout: Autoren Societät, Bonn

Die vorliegende Studie wurde im Auftrag der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. durchgeführt. Die Berichte geben die Meinungen der Autoren wieder und stellen daher nicht unbedingt auch die Meinung der FGF dar.

ISSN 1430-1458