

# In vitro und in vivo Studien zu biologischen Wirkungen von hochfrequenten Feldern

**Rainer Meyer, Physiologisches Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Wilhelmstr. 31, D-53111 Bonn.**

Hochfrequente elektromagnetische Felder können biologische Systeme auf verschiedene Weise beeinflussen. Bei hohen Feldstärken kommt es zu thermischen Wirkungen. Bei niedrigen Feldstärken, die nicht zu einer messbaren Erwärmung des Gewebes führen, können möglicherweise athermische Wirkungen auftreten. Während die thermischen Wirkungen physikalisch gut abgesichert sind und technisch vielfach angewendet werden, sind die athermischen Wirkungen noch umstritten und vergleichsweise schlecht belegt. In der vorliegenden Literaturstudie stehen die athermischen Wirkungen im Mittelpunkt.

Die referierten Untersuchungen werden in sechs Themenkomplexe eingeordnet zu denen jeweils eine Reihe von Arbeiten vorliegt:

1. Beeinflussung der Kalziumhomöostase von Zellen und Geweben,
2. Beeinflussung der Permeabilität bzw. Leitfähigkeit von Zellmembranen,
3. Beeinflussung des Herzschlages,
4. Beeinflussung der Blut/Hirnschranke und des Gefäßsystems,
5. Beeinflussung des Immunsystems,
6. Beeinflussung der Initiation und Promotion von Krebs.

Es findet sich in der Literatur eine große Menge von Befunden die auf Experimente mit sehr unterschiedlichen Feldern und sehr verschiedenen Präparaten zurückgehen. Meist stehen die Befunde relativ allein, und sie wurden nicht unter den gleichen Bedingungen reproduziert. Dies gilt jedoch nicht für den Komplex der Beeinflussung der Kalziumhomöostase von neuronalem Gewebe. Hier liegen eine Reihe von Befunden vor, die über einen Zeitraum von vielen Jahren erarbeitet wurden. Wegen der vielen unterschiedlichen Frequenz- und Leistungsfenster ebenso wie wegen der unsicheren Feldverhältnisse müssen diese Befunde trotzdem kritisch hinterfragt werden. Eine Beeinflussung der Permeabilität bzw. Leitfähigkeit von Zellmembranen wurde reproduzierbar im Feldbereich unterhalb der Grenzwerte noch nicht gezeigt. Das Gebiet einer Beeinflussung des Herzschlages ist noch sehr umstritten, da hier zum Teil widersprüchliche Befunde vorliegen. Die Blut/Hirnschranke wird seit vielen Jahren untersucht und auch hier sind die Befunde nicht eindeutig, eine neuere methodisch recht gut gemachte Arbeit zeigt jedoch eine Steigerung der Durchlässigkeit der Blut/Hirnschranke. Eine Beeinflussung des Immunsystems wurde unter hochfrequenten Feldern wesentlich seltener untersucht als unter niedrigfrequenten (50/60 Hz) Feldern, entsprechend sind die Befunde hier auch weitaus unklarer. Gleiches gilt für die Frage der Beeinflussung der Tumorentstehung und des Tumorwachstums, eine ganz neue Arbeit über die Entstehung und das Wachstum von Hirntumoren, scheint jedoch allen Kriterien einer guten wissenschaftlichen Studie zu genügen. Sie kann keine Wirkung der Felder des Mobilfunkes zeigen.

Insgesamt kann der Autor aus der vorliegenden Literatur kein klares Gefährdungspotential im Bereich athermischer Felder erkennen.

# **In vitro und in vivo Studien zu biologischen Wirkungen von hochfrequenten Feldern**

**Rainer Meyer, Physiologisches Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Wilhelmstr. 31, D-53111 Bonn,**

Hochfrequente elektromagnetische Felder können biologische Systeme auf verschiedene Weise beeinflussen. Bei hohen Feldstärken kommt es zu thermischen Wirkungen. Bei niedrigen Feldstärken, die nicht zu einer messbaren Erwärmung des Gewebes führen, können möglicherweise athermische Wirkungen dieser Felder auftreten. Während die thermischen Wirkungen physikalisch gut abgesichert sind und technisch vielfach angewendet werden, sind die athermischen Wirkungen noch umstritten und vergleichsweise schlecht belegt.

Die thermischen Wirkungen führen zu einer Erwärmung von Geweben oder Organismen. Diese Erwärmung durch hochfrequente Felder wird in verschiedener Weise technisch eingesetzt. Die bekanntesten Anwendungen sind der Mikrowellenherd und die Diathermie in der Medizin. Eine Überwärmung des Körpers, herbeigeführt durch Bestrahlung mit hochfrequenten Feldern, kann natürlich zu Schädigungen des Körpers führen. Insbesondere ist hier eine Beeinflussung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes zu nennen. Durch eine Überwärmung kann es zu einer Steigerung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes kommen. Dies kann zu lokalen Infarkten im Gefäßsystem führen, die natürlich eine Mangeldurchblutung in dahinter gelegenen Gewebsbezirken zur Folge hat (Leitgeb, 1991).

Bei der medizinischen Anwendung der Diathermie wird die Feldstärke so eingestellt, daß eine Überwärmung lokal vermieden wird. Die Diathermie wird seit dem letzten Jahrhundert als Therapie zur Erwärmung unterschiedlichster Körperregionen eingesetzt (Nimtz und Mäcker, 1994). Allein in Deutschland werden jährlich mehr als eine Million Personen mit dieser Methode behandelt. Es ist bemerkenswert, daß bei der großen Zahl dieser Anwendungen bisher keine schädlichen Nebenwirkungen aufgefallen sind. Thermische Wirkungen hochfrequenter elektromagnetischer Felder könnten bei Funkanwendungen auch zu unbeabsichtigter Erwärmung von Anwendern oder von Personen, die zufällig den Feldern ausgesetzt sind, führen. Um eine unbeabsichtigte Erwärmung zu vermeiden, sind Grenzwerte festgelegt worden, die sich an den thermischen Wirkungen orientieren. Werden diese Grenzwerte eingehalten, sollte eine thermische Schädigung von Personen durch Funkanwendungen ausgeschlossen sein. Damit rückt die Frage in den Mittelpunkt, ob es neben der thermischen Wirkung der hochfrequenten Felder auch bei niedrigerem Energieeintrag in den Körper zu Wirkungen kommen kann. Hier wird von athermischen Wirkungen gesprochen.

Im Gegensatz zu den thermischen Wirkungen sind die athermischen Wirkungen noch sehr umstritten. 1987 wurde diese Diskussion in einem Kommentar von Foster und Pikard in Nature dargestellt. Es lohnt sich auch heute noch, zehn Jahre später, das provozierende Resümee dieses Kommentars zu zitieren: Nach 40 Jahren Forschung, bleibt die Literatur über die biologischen Effekte einer Bestrahlung mit niedrig energetischen Mikrowellen von Zweideutigkeit durchsetzt. Es müssen Richtlinien zur Durchführung von Risiko abschätzender Forschung erarbeitet werden.

Selbstverständlich blieb dieser Kommentar nicht unwidersprochen, Adey (1988) entgegnete in Nature, daß die Autoren einen Großteil der relevanten Literatur nicht

mitberücksichtigt hätten, sondern sich auf Randgebiete dieser Forschungsrichtung konzentriert hätten. Aus diesem Grund seien die Schlußfolgerungen der Autoren nicht gerechtfertigt. Auch heute ist diese Diskussion um die athermischen Wirkungen der hochfrequenten elektromagnetischen Felder noch nicht abgeschlossen, sondern durch die Einführung der Mobiltelefone neu aufgelebt. Ein Teilaspekt der Literatur, nämlich Studien an Zellen und Tieren, soll in diesem Literaturüberblick dargestellt werden. Es existieren schon eine Reihe von Übersichtsartikeln auf dem Gebiet der Interaktion elektromagnetischer Felder mit biologischen Systemen, die das ganze Frequenzspektrum berücksichtigen. Der grundlegendste und ausführlichste Übersichtsartikel wurde 1981 von Adey zusammengestellt. Neun Jahre später erschien wieder eine Zusammenfassung von Adey (1990), in der er die neueren Erkenntnisse aufarbeitet und auch die oben erwähnte Diskussion mitberücksichtigt. Insbesondere in den letzten Jahren, mit der Einführung des Mobilfunkes, sind neue Untersuchungen initiiert worden. Eine speziell auf die Belange des Mobilfunkes zugeschnittene Zusammenstellung von Übersichtsartikeln erschien kürzlich in einem von Kuster et al. (1997) herausgegebenem Buch, in dem sich auch ein ganz neuer Übersichtsartikel von Adey (1997) zum Thema Mobilfunk findet.

Mit der hier vorgelegten Literaturzusammenfassung soll versucht werden, die älteren Untersuchungen und auch die zum Thema Mobilfunk, in einen Zusammenhang zu stellen. In diese Literaturübersicht wurden hauptsächlich Artikel aus Zeitschriften mit Gutachterverfahren aufgenommen, um einen gewissen Qualitätsstandard zu wahren. Lediglich bei ganz neuen Untersuchungen wurde von diesem Verfahren abgewichen, und es wurden z.T. auch Kongressberichte u.ä. berücksichtigt, da ein Teil dieser neuen Befunde möglicherweise demnächst in die Literatur aufgenommen werden wird. Die Studien, die bisher einen Einfluß von hochfrequenten Feldern auf Organismen, Gewebe und Zellen beschreiben, lassen sich nach verschiedenen Kriterien in unterschiedliche Gruppen einteilen: Nach den biologischen Präparaten, nach der Fragestellung, oder nach den angewendeten Frequenzen bzw. Pulsationsmustern. Die angewendeten Frequenzen und Pulsationsmuster variieren stark, und es liegen nur wenige Untersuchungen mit den heute besonders interessierenden Mustern des Mobilfunkes vor, daher soll die Einteilung im wesentlichen nach der Fragestellung vorgenommen werden. Bei der Einteilung nach unterschiedlichen Fragestellungen lassen sich Überlappungen zwischen den einzelnen Gebieten nicht vermeiden:

1. Beeinflussung der Kalziumhomöostase von Zellen und Geweben,
2. Beeinflussung der Permeabilität bzw. Leitfähigkeit von Zellmembranen,
3. Beeinflussung des Herzschlages,
4. Beeinflussung der Blut/Hirnschranke,
5. Beeinflussung des Immunsystems,
6. Beeinflussung der Initiation und Promotion von Krebs.

Ein Aspekt, nämlich das Phänomen des "Hörens" von Mikrowellen, soll hier nicht mitberücksichtigt werden, da es in der letzten Zeit kaum noch bearbeitet wird. Die bislang sehr häufig diskutierten Befunde sind der ersten Gruppe zuzuordnen. Dies ist sicherlich darauf zurückzuführen, daß Veränderungen in der Kalziumhomöostase auch auf die anderen Punkte Einfluß nehmen könnten.

## 1. Beeinflussung der Kalziumhomöostase von Zellen und Geweben

Die Aufgaben von Kalzium im Körper sind vielfältig, wobei generell zwischen der Rolle der freien extrazellulären Kalziumkonzentration,  $[Ca^{2+}]_e$ , und der der freien intrazellulären Kalziumkonzentration,  $[Ca^{2+}]_i$ , unterschieden werden muß. Die Gesamtkalziumkonzentration beträgt im Blutplasma ca. 3 mmol/l, davon sind ca. 45% an Proteine bzw. organische Säuren gebunden, und 55% frei, ca. 1,8 mmol/l. Physiologisch wirksam wird nur der freie Anteil. Der gebundene Anteil dient als "schneller" Puffer. Als langsamer Puffer wird das in den Knochen abgelagerte Kalzium, welches z. T. ebenfalls mobilisiert werden kann, herangezogen. Da die  $[Ca^{2+}]_e$  eine Reihe von Eigenschaften des Organismus, wie die Blutgerinnung, die synaptische Übertragung und auch die elektrischen Eigenschaften der Zellmembran mitbestimmt, wird sie vom Organismus relativ konstant gehalten. Im Gegensatz zur  $[Ca^{2+}]_e$  ist die  $[Ca^{2+}]_i$  sehr niedrig, sie liegt um vier Größenordnungen niedriger im Bereich von 100 nmol/l. Aufgrund der relativ hohen Proteinkonzentration im Zytoplasma der Zellen liegt der gebundene Teil an Kalzium intrazellulär über 90%. Die  $[Ca^{2+}]_i$  steuert zahlreiche biochemische Abläufe in den Zellen, dies können schnelle Vorgänge wie die Muskelkontraktion oder die synaptische Übertragung sein, aber auch langsame Vorgänge wie die Genexpression, die Zellteilung oder die Einleitung der Immunantwort von Lymphozyten sein.

Es ist seit vielen Jahren ein zentrales Anliegen physiologisch arbeitender Wissenschaftler, die Kalziumkonzentration extrazellulär und intrazellulär, aber auch die Flüsse von Kalzium durch die Zellmembran - in beiden Richtungen - zu verfolgen. Dazu sind neben den Verfahren der analytischen Chemie wie Flammenphotometrie und Atomabsorption auch eine Reihe von anderen Techniken entwickelt worden, z. B. die Messung der freien Kalziumkonzentration mit ionensensitiven Elektroden oder Indikatorfarbstoffen - Farbstoffe die ihre Absorption oder ihre Fluoreszenz als Funktion der Kalziumkonzentration ändern. Eine weitere Methode, die insbesondere bei der Erforschung der Wirkung hochfrequenter Felder auf die Kalziumhomöostase eingesetzt wurde, sind die sogenannten Flux- oder Flußmessungen. Dabei wird in der extrazellulären Lösung ein Teil der Kalziumionen durch das Isotop  $^{45}Ca^{2+}$  ersetzt. Man kann Zellen oder Gewebe nun für eine gewisse Zeit in dieser Lösung inkubieren, und die extrazelluläre Lösung dann gegen eine ohne  $^{45}Ca^{2+}$  austauschen. Das an der Zelloberfläche gebundene und das im Zytoplasma bzw. den Zellorganellen abgelegte  $^{45}Ca^{2+}$  wird nun langsam wieder gegen die nicht radioaktiven Nukleotide ausgetauscht. Dabei tauchen die ehemals an oder in den Zellen befindlichen  $^{45}Ca^{2+}$  nach und nach in der jetzt nicht radioaktiven Lösung auf. Sie lassen sich über ihre Radioaktivität relativ leicht messen. Aus dem Zeitverlauf, mit dem die Radioaktivität sich verändert, kann man Rückschlüsse über den Austausch von zellulärem Kalzium mit dem Kalzium der Umgebung ziehen. Solche Messungen werden als Efflux-Messungen bezeichnet. Man kann natürlich auch das umgekehrte Verfahren anwenden und die zunehmende Radioaktivität im Gewebe während der Aufladung messen. Dieses Verfahren nennt man Influx-Messung. Influx-Messungen spielen jedoch bei der Erforschung der Wirkung hochfrequenter elektromagnetischer Felder keine Rolle.  $^{45}Ca^{2+}$  Efflux-Messungen hingegen sind auf diesem Gebiet eine häufig angewendete Untersuchungsmethode. Die meisten Messungen mit der Technik der  $^{45}Ca^{2+}$  Efflux-Messung wurden an neuronalem Gewebe bzw. Zellen durchgeführt. Sie gehen zurück auf eine Arbeit von Bawin et al. (1973). In dieser Studie wurden Elektroencephalogramme (EEG) von Katzen aufgezeichnet. Es zeigten sich unter einem 147 MHz Feld, welches im Bereich

der natürlichen EEG-Wellen (0,5 und 30 Wellen/s) amplitudenmoduliert wurde, Veränderungen.

Diese Beobachtung führte dazu, daß man mit  $\text{Ca}^{2+}$  Efflux-Messungen aus Gehirn begonnen hat. Viele Messungen wurden an den Gehirnen neugeborener Küken vorgenommen, weil bei diesen eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Injektion in das Gehirn zu langanhaltenden Verhaltensveränderungen führen sollte (Bawin et al., 1975). Bereits bei der ersten Publikation aus dieser Serie zeigte sich eine Abhängigkeit der Veränderung des  $\text{Ca}^{2+}$ -Effluxes von der Modulationsfrequenz. Ein 147 MHz Feld wurde mit 0,5, 3, 6, 9, 11, 16, 20, 25 und 35 Hz sinusförmig moduliert. Das unmodulierte bzw. das mit 0,5, 3 Hz und das mit 35 Hz modulierte Feld hatten keinen Einfluß. Jedoch die zwischen 6 und 25 Hz modulierten Felder bewirkten eine Steigerung des  $\text{Ca}^{2+}$ -Effluxes. Das Maximum des Effektes lag bei 16 Hz mit einer 18 %igen Steigerung des Effluxes.

Auf der in dieser Arbeit vorgegebenen Linie lagen auch eine Reihe nachfolgender Arbeiten der gleichen Gruppe (Bawin et al., 1978; Sheppard et al., 1980; Adey und Bawin, 1980; Lin-Liu und Adey, 1982; Adey et al., 1982). Dabei ist bemerkenswert, daß Effluxsteigerungen regelmäßig nur bei bestimmten Modulationsfrequenzen und Energiebereichen auftraten. Diese Fenstereffekte traten sowohl in Gehirnschnitten neugeborener Küken als auch bei Gehirnen von Katzen (Adey et al., 1982) auf. Die Effluxsteigerung ließ sich mit zwei unterschiedlichen modulierten hochfrequenten Trägern 147 MHz (Bawin et al., 1975) und 450 MHz (Bawin et al., 1978a) induzieren. Bezogen auf die Modulationsfrequenz ergab sich ein Fenster zwischen 6 und 20 Hz, bei einem Modulationsgrad zwischen 70% und 90%. Ob sich dann eine Steigerung oder eine Verringerung des  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Effluxes ergab, hing unter anderem vom Puffer im extrazellulären Medium ab - An- oder Abwesenheit von  $\text{HCO}_3$  kehrt die Steigerung des  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Effluxes in seine Hemmung um (Bawin et al., 1978b).

Auch mit niedrigfrequenten Feldern, deren Frequenz im Bereich der Modulationsfrequenzen der HF-Felder lag, ließ sich eine Veränderung des  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Effluxes induzieren, eine Verringerung des  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Effluxes. Neben dem markanten Frequenzfenster bei 16 Hz wurden, bezogen auf die Leistungsdichte, bei Kükengewebe ein Fenster bei 0,8 mW/cm<sup>2</sup> und 147 MHz sowie bei 450 MHz eines bei 1 mW/cm<sup>2</sup> beschrieben. Bei den Experimenten am Katzenhirn wurde ein Fenster bei 3 mW/cm<sup>2</sup> beschrieben (Adey und Bawin, 1982).

Es wurde nachträglich versucht, diesen frühen Experimenten SAR-Werte zuzuordnen, dazu mußte im Präparat die Feldstärke des HF-Feldes bestimmt werden, und für die Leistungsfenster ergaben sich SAR-Werte von 0,6 mW/kg (147 MHz) bzw. 1,3 mW/kg (450 MHz) (Adey, 1980b). Das bei den Experimenten am Katzenhirn gefundene Leistungsfenster von 3 mW/cm<sup>2</sup> wurde in einen SAR-Wert von 290 mW/kg umgerechnet (Adey und Bawin, 1982). Die Bestimmung der Felder innerhalb des Gewebes sowohl bei diesen Messungen als auch bei denen von Blackman und Mitarbeitern, die im folgenden Absatz besprochen werden, war schwierig und auch nicht ganz un widersprochen, wenngleich zumindest die Größenordnung reproduziert wurde (Weil et al., 1984).

Diese Studien aus der Arbeitsgruppe um Adey wurden von Blackman und Mitarbeitern reproduziert und auf eine Trägerfrequenz von 50 MHz erweitert (Blackman et al., 1979, Blackman et al., 1980a, b). Die Autoren beschreiben zusätzliche Leistungsfenster bei 1,44, 1,67 und 3,64 mW/cm<sup>2</sup>. In der folgenden Zeit konzentrierten sich Blackman und Mitarbeiter mehr auf die Frage, ob niederfrequente Felder zu einer Beeinträchtigung des  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Effluxes aus Gehirn von Küken führen können. Sie haben bei 16 Hz elektrischen

und elektromagnetischen Feldern eine Steigerung des Effluxes gezeigt. Auf die eher verwirrenden Ergebnisse dieser Studie soll hier nicht näher eingegangen werden, da es sich um Arbeiten mit niederfrequenten Feldern handelt. In Nachfolgestudien wurde untersucht, ob die Exposition der Eier im Brutkasten mit elektrischen Feldern (10 V/m) einen Einfluß auf das spätere Verhalten der Gehirne der Küken im Efflux-Experiment hat (Blackmann et al., 1988). Die Autoren stellten fest, daß Eier, die im Brutkasten 60 Hz ausgesetzt waren, Hühnergehirne produzieren, die unempfindlich auf 60 Hz-Felder reagieren.

Eine weitere Studie, die im Zusammenhang mit den  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Effluxmessungen an neuronalem Gewebe von Interesse ist, wurde von Dutta et al., 1984 an menschlichen Neuroblastoma (Stamm IMR-32) Zellen ausgeführt. Die Trägerfrequenz lag bei 915 MHz, es wurde sinusförmig gepulst zwischen 0 und 30 Hz. Bei 16 Hz wurde wieder ein Fenster gefunden. Es wurde ein breites Spektrum Energien eingestrahlt (SAR 10-5000 mW/kg), bei einem SAR-Wert von 50 mW/kg lag der maximale Effekt. Ein weiteres Fenster wurde im Bereich von 750 und 1000 mW/kg gefunden. Bei 1000 mW/kg konnte auch mit einem kontinuierlichen Feld eine Erhöhung des Effluxes erzielt werden. Diese Untersuchung bestätigt zumindestens im Prinzip nochmals, daß eine Modulation mit 16 Hz einen Effekt hat, und daß Effekte der Felder nur in bestimmten eng umgrenzten Leistungsbereichen auftreten können. Außerdem wurden die Erkenntnisse hier auf eine Zelllinie menschlichen Ursprunges erweitert. Eine weitere Serie von Experimenten wurde von Dutta, Ghosh und Blackman (1989) zur Bestätigung der früheren Experimente der Arbeitsgruppe von Adey mit hochfrequenten Feldern vorgenommen (Dutta et al., 1989). Wieder wurden Neuroblastomazellen, menschliche und solche des Hamsters, eingesetzt. Diese Arbeit ist aus vielen Gründen von Interesse: Bei 147 MHz und 16 Hz Amplitudenmodulation wurde ein großes Spektrum von SAR-Werten untersucht (0,1 - 100 mW/kg), lediglich bei 5 und 50 mW/kg wurde eine Steigerung des Effluxes erzielt. Zusätzlich wurden bei 147 MHz und 50 mW/kg die Modulationsfrequenzen variiert im Bereich 9 - 20 Hz und zwischen 55 und 65 Hz, auch hier wurden Fenster bei 16 und 57,5 Hz gezeigt. Zusätzlich zu den Untersuchungen bei 147 MHz wurden auch einige Experimente bei 915 MHz mit aufgenommen, wobei ein Einfluß des Feldes bei 16 Hz Amplitudenmodulation und 50 mW/kg auftrat. Auch in dieser Untersuchung wurde das Frequenzfenster bei 16 Hz Amplitudenmodulation bestätigt. Was die Leistungsfenster angeht, wurde das von Dutta et al. (1984) bei 50 mW/kg gezeigte Fenster reproduziert, und eines im ganz niedrigen SAR-Wert Bereich ließ sich ebenfalls nachweisen. Da die früheren Ergebnisse aus der Arbeitsgruppe von Adey bezüglich der Frequenzfenster in dieser Arbeit bestätigt bzw. auch erweitert wurden (bzgl. Zelltypen), stellen die Autoren fest, daß ihre Befunde eine Verallgemeinerung der früheren an Geflügel und Katzen erhobenen Ergebnisse ermöglichen. Mit der Arbeit von Dutta et al., 1989 endet die Serie von  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Efflux-Messungen unter modulierten hochfrequenten EM-Feldern an neuronalen Zellen. Allerdings erschienen später noch einige Arbeiten im niederfrequenten Bereich (Blackmann et al., 1990 und 1991), die jedoch keine generell neuen Befunde lieferten. Bemerkenswert ist, daß die bestehenden Widersprüche bei den niederfrequenten Feldern in der Arbeit von 1991 auf Temperaturdifferenzen zurückgeführt werden.

Die Autoren, insbesondere Adey, gehen bei der Interpretation der Ergebnisse davon aus, daß die an die Zelloberfläche adsorbierten und gebundenen Kalziumionen die Fraktion darstellen, die durch die Felder beeinträchtigt werden. Diese an der Zelloberfläche angelagerten Ionen sind zum Teil sehr locker, nur aufgrund der negativen

Oberflächenladung der Zellmembran, adsorbiert. Sie könnten sich also durch geringe Kräfte lösen.

Im Gehirn fließen Ausgleichströme zwischen de- und hyperpolarisierten Synapsen. Diese Ausgleichsströme stellen aus heutiger Sicht eine der wesentlichen Ursachen für die im EEG meßbaren Signale dar. Dabei werden wahrscheinlich die Ausgleichsströme vieler Zellen summiert und so über Elektroden auf dem Kopf des Probanden ableitbar. Die abgeleiteten EEG-Signale zeigen eine Periodizität im Bereich zwischen 0,5 und 30 Wellen/s, wobei die Frequenzen z.B. vom Aktivitätsniveau des Gehirns abhängen. Die erwähnte Anreicherung von  $\text{Ca}^{2+}$  wird durch extrazelluläre elektrische Felder beeinflusst. Das extrazelluläre Feld hängt unter anderem von den oben erwähnten Ausgleichsströmen ab. Damit würden Veränderungen der Ausgleichsströme die  $\text{Ca}^{2+}$ -Anreicherung über der Zellmembran verändern, und diese wiederum rückgekoppelt Einfluß auf die Ausgleichsströme nehmen. Dieser Mechanismus soll sich damit gleichsam selbst verstärken. Wenn man über einstrahlende elektromagnetische Felder eine der Komponenten beeinflusst, dann müßten, also schon ganz geringe Einflußnahmen ausreichen, um relativ große Veränderungen hervorzurufen. Verändert man durch entsprechend angepaßte Frequenzmuster der Felder die  $\text{Ca}^{2+}$ -Anreicherung über der Zellmembran im Rhythmus der EEG-Wellen, dann könnten vielleicht minimale Veränderungen schon zu meßbaren Effekten führen.

Diese Interpretation ist sicherlich recht gewagt, insbesondere wenn man die Qualität der zugrundeliegenden Befunde berücksichtigt. Faßt man die Ergebnisse dieser Arbeiten zusammen, dann kann man feststellen, daß einheitlich hochfrequentete Felder, deren Amplituden im Bereich von 16 Hz moduliert werden, sich begünstigend auf den  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Efflux auswirken.

Es handelt sich um ein relativ enges Frequenzfenster. Die gezeigten Leistungsfenster sind nur sehr schwer verständlich. Man muß berücksichtigen, daß nach den heutigen Erkenntnissen kaum homogene SAR-Werte in den Präparaten zu erwarten sind, und daß die Umrechnungen des Feldes auf SAR-Werte sicherlich von großen Ungenauigkeiten begleitet sind. Die Technik der Efflux-Messung ist sehr artefaktanfällig, und die gemessenen Unterschiede waren zum Teil nur recht klein, so daß einige der Befunde möglicherweise von Artefakten überlagert sein können. Akzeptiert man die Befunde, dann muß man jedoch feststellen, daß eine Übertragung auf andere Situationen wegen der relativ engen Fenster kaum möglich ist.

Vergleichbare  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Effluxmessungen wurden auch an ganzen Froschherzen vorgenommen. In einer Arbeit von 1990 wurden bei 240 MHz moduliert mit 16 Hz, SAR-Wert 0,15 und 0,3 mV/kg ähnliche Efflux-Steigerungen gefunden (Schwartz et al., 1990). Allerdings konnte Schwartz in einer zweiten Studie mit 1 GHz Trägerfrequenz und 0,5 Hz sowie 16 Hz Amplitudenmodulation keinen Einfluß des Feldes auf den  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Efflux und die Kontraktionskraft von Froschvorhofstreifen nachweisen (Schwartz und Mealing, 1993). Da ein sehr breites Spektrum von SAR-Werten getestet wurde von 0,0032 mW/kg bis 1,6 W/kg, hätten die vorher festgestellten Fenster eigentlich getroffen werden müssen. Die Autoren führen das Fehlen eines Effektes auf drei mögliche Ursachen zurück: 1. Der Versuchsaufbau und die Trägerfrequenz waren gegenüber der ersten Studie geändert. 2. Es wurden Streifenpräparate aus dem Froschvorhof eingesetzt, im Gegensatz zu den ganzen Herzen der ersten Studie. 3. Die Zellen waren in der neueren Studie im rechten Winkel zu den elektrischen und magnetischen Feldvektoren ausgerichtet, während sie in der älteren weitgehend parallel dazu lagen. Die vorgeschlagenen Interpretationen sind allerdings spekulativ.

In einer Studie von Wolke et al. (1996) wurde die intrazelluläre Kalziumkonzentration von isolierten Herzmuskelzellen des Meerschweinchens mit dem Fluoreszenzindikator Fura-2 direkt gemessen. Bei dieser Methode werden Veränderungen des an die Zelloberfläche gebundenen Kalziums nicht mit erfaßt, sondern die  $[Ca^{2+}]_i$ , die in die  $^{45}Ca^{2+}$ -Effluxmessungen nur indirekt eingeht. Bei einem SAR-Wert von ca. 15 mW/kg wurden bei 900, 1300 und 1800 MHz Trägerfrequenz die Pulsmuster des GSM-Standards (217 Hz, Puls/Pause-Verhältnis 1/8, 100% Pulshöhe) getestet. Daneben wurden bei 900 MHz auch kontinuierliche Befeldung sowie Pulsraten von 16 und 50 Hz sowie 30 kHz getestet. Die Zellen wurden depolarisiert und dann dem Feld (900 MHz, GSM-Standard) ausgesetzt. Unter keiner der Bedingungen konnte ein Einfluß der Anwesenheit eines Feldes auf die  $[Ca^{2+}]_i$  nachgewiesen werden. Diese Arbeit diente nicht dazu, die älteren Arbeiten zu überprüfen, sondern war speziell auf die Überprüfung, der im Mobilfunk eingesetzten Frequenzen ausgerichtet. Es konnten mit dieser Technik keine Hinweise für eine Beeinflussbarkeit der Kalziumhomöostase gezeigt werden. Eine weitere Studie der gleichen Arbeitsgruppe, die Messungen der Kalziumströme durch die Zellmembran mit elektrophysiologischer Technik unter dem Einfluß der GSM-Felder beinhaltet (Meyer et al., 1996) soll im Kapitel über die Beeinflussung von Ionenkanälen genauer besprochen werden. An dieser Stelle kann jedoch erwähnt werden, daß auch hier keine positiven Befunde erzielt wurden. In den Bereich der Arbeiten, die sich mit der Kalziumhomöostase beschäftigen, gehört auch eine Arbeit von Furmaniak (1983), in der die Ionenkonzentration in der Speichelflüssigkeit von Ratten untersucht wurde. Hier geht es um die Fragestellung, ob die Konzentrationen im makroskopischen Bereich schwanken. Bei Tieren, die nicht über Schweißdrüsen verfügen, wird ein Teil der Überschusswärme über die Speichelflüssigkeit abgeführt, und daher spielt der Ionenverlust über die Speichelflüssigkeit eine Rolle für die Aufrechterhaltung der gesamten Homöostase im Körper. In ihrer Untersuchung hat Frau Furmaniak keinen Unterschied in der Ionenkonzentration des Speichels festgestellt, gleichgültig ob die Ratten mit 2880 MHz Feldern oder mit einem Lüfter bzw. einer Infrarotlampe erwärmt wurden. Eine athermische Komponente konnte hier nicht gezeigt werden.

## **2. Beeinflussung der Permeabilität bzw. Leitfähigkeit von Zellmembranen**

Neben der Technik der Fluxmessung wurde auch die direkte Messung elektrischer Eigenschaften biologischer Membranen mit elektrophysiologischer Technik oder die Bestimmung der Permeabilität von Membranen als Indikator für die Wirksamkeit von HF-Feldern im athermischen Bereich herangezogen.

Ein Ansatz für die Untersuchung von Membranen ist die Reduktion des biologischen Systems Zellmembran auf ein möglichst einfaches und überschaubares System. Biologische Membranen sowohl die Zellmembran als auch die Membranen, die die Zellorganellen, wie Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum oder Zellkern, umgeben, sind aus einem bimolekularen Lipidfilm aufgebaut, in den die anderen Bestandteile wie die Proteine eingelagert sind (Singer und Nicolson, 1972). Reine bimolekulare Lipidfilme, sogenannte Bilayer, lassen sich künstlich herstellen und dann in ihren elektrischen Eigenschaften ebenso wie bezüglich ihrer Permeabilität untersuchen. Die elektrischen Eigenschaften dieser künstlichen Membranen lassen sich ableiten, indem man eine solche Membran zwischen zwei Kompartimenten ausspannt, und dann zwischen beiden eine elektrische Spannung anlegt wird (Bean et al., 1969). Der

Stromfluß wird gemessen, und man kann die Leitfähigkeit errechnen. Baut man in eine solche Membran Ionenkanäle ein, so kann man die Eigenschaften dieser Kanäle studieren. Messungen an künstlichen Membranen wurden schon mehrfach auch unter dem Einfluß hochfrequenter Felder durchgeführt.

Die schwedischen Autoren Sandblom und Theander haben 1991 einen Versuchsaufbau entwickelt, der Messungen an künstlichen Membranen in einem Hohlleiter erlaubt. Es wurde die Wirkung von gepulsten 10 GHz Feldern, SAR-Wert von 350 W/kg, auf künstliche Membranen, in die der Ionenkanal Gramicidin A, eingebracht war, untersucht. Beim Gramicidin A handelt es sich um ein Antibiotikum, welches von Bakterien zur Abwehr von Pilzen gebildet wird. Gramicidin A ist ein kleines Protein, welches sich in den Lipidfilm der Membran einlagert und in der Mitte eine hydrophile Pore hat und somit einen Kanal bilden kann. Unter den Versuchsbedingungen von Sandblom und Theander (1991) ergab sich ein Temperaturanstieg in der Kammer von 5 C. Unter der Einwirkung des Feldes stellten die Autoren die folgenden Veränderungen fest: 1. Eine Erhöhung der Einzelkanal-Leitfähigkeit; 2. eine Verkürzung der Offenzeiten der Kanäle; 3. eine Abnahme der Anzahl der Öffnungen pro Zeit. Sowohl die Erhöhung der Einzelkanal-Leitfähigkeit als auch die Verkürzung der Offenzeiten könnten durch die Temperaturerhöhung hervorgerufen werden. Die in der Lösung in der Kammer gemessene Temperaturerhöhung reicht jedoch nicht aus, um die Größe der Effekte zu erklären, jedoch könnte eine lokal höhere Temperatur in der Membran auftreten. Der dritte gemessene Effekt, die Abnahme der Anzahl der Öffnungen, läßt sich nicht durch eine Zunahme der Temperatur erklären, denn eine Zunahme der Temperatur müßte zu einer Zunahme der Zahl der Öffnungen führen. Die Autoren interpretieren dies als einen athermischen Effekt.

In einer anderen Variante zur Messung der elektrischen Eigenschaften künstlicher Membranen bedient man sich der gleichen Ausrüstung wie bei der "patch clamp"-Technik, die weiter unten beschrieben wird. Bei dieser Methode wird die künstliche Membran auf der Spitze einer Glaspipette ausgespannt so daß die Öffnung der Glaspipette durch die künstliche Membran verschlossen wird. Der Vorteil dieser Technik liegt darin, daß sie mit Komponenten durchgeführt wird, die in jedem Labor, welches "patch clamp" betreibt, vorhanden sind. Alekseev und Ziskin haben 1995 eine Untersuchung mit dieser Technik veröffentlicht, in der sie 54-76 GHz Felder im kontinuierlichen und im gepulsten Sendebetrieb auf die Membranen einwirken ließen. Die Felder trafen am Ende einer Hohlleitung auf die künstliche Membran. Am Ausgang der Hohlleitung betrug die Sendeleistung 20 mW. Sie untersuchten die Wirkung auf reine Lipidmembranen und auf Membranen, deren Leitfähigkeit durch die Einlagerung von Gramicidin- A, Amphotericin und Tetraphenylboron Anionen erhöht war. Mit ihrem Aufbau sehen die Autoren nur sehr kleine Veränderungen in den Meßparametern. Eine Veränderung in der Leitfähigkeit der reinen Lipidmembran wurde nicht registriert, ebensowenig Veränderungen in den Leitfähigkeiten der Gramicidin A- und der Alamethicinkanäle. Lediglich, wenn die lipidlöslichen Tetraphenylboron-Anionen in die Membran eingebaut waren, wurde ein vergrößerter Strom unter der Einwirkung des Feldes beobachtet. Diesen vergrößerten Strom führen die Autoren auf den gemessenen Temperaturanstieg von einem Grad zurück. Beide Untersuchungen zeigen also Effekte, die durch thermische Einflüsse bei den hohen Feldern erklärbar sind. Ob der eine Befund von Sandblom und Theander wirklich eine athermische Wirkung darstellt, läßt sich noch nicht abschätzen. Allerdings sind die in dieser Untersuchung eingesetzten Felder mit 350 W/kg deutlich oberhalb jedes Grenzwertes.

In einer ähnlichen Studie von Hansen und Mitarbeitern wurden mit Feldern des Mobilfunkes, bei 900 MHz Trägerfrequenz (Pulsung GSM-Standard) an Bilayermembranen deutliche Erhöhungen in der Leitfähigkeit, sowohl der reinen Membran, als auch der Gramacidin A Kanäle und einer weiteren Kanalpopulation, den Alamethicin Kanälen, gezeigt. Der gewählte Aufbau besteht aus einem Hohlleiter, in den eine symmetrische, zweiteilige Kammer eingebracht ist. In der Mitte der Kammer befindet sich ein nichtleitendes Septum, welches lediglich durch ein kleines Loch mit der Bilayermembran unterbrochen wird. Die Bilayermembran steht senkrecht zur Ausbreitungsrichtung der Welle. Bei diesem Aufbau ergeben sich bei relativ niedrigen eingestrahlten Leistungen genau an der Membran sehr starke Überhöhungen des Feldes. Durch diese starken Felder, die sich an Zellen nicht ohne großen Aufwand erreichen lassen, und die unter normalen Bedingungen zu einer Erwärmung führen würden, erklären die Autoren die Leitfähigkeitserhöhungen. Dreht man die Meßkammer in dem Hohlleiter um 90°, dann verschwinden die Leitfähigkeitserhöhungen, da die lokale Erhöhung des Feldes an der Membran nicht mehr auftritt. Nach Meinung der Autoren wird der von ihnen gemessene Einfluß des Feldes auf die Leitfähigkeit der Membranen normalerweise nicht sichtbar, da so große Feldstärken, wie sie hier ausschließlich lokal an der Membran entstehen, normalerweise zu einer starken Erwärmung der gesamten Meßkammer führen würden, und damit die thermischen Effekte überwiegen würden. Eine andere Möglichkeit des Studiums von Membraneigenschaften besteht darin, aus künstlichen Membranen Vesikel, sogenannte Liposomen, herzustellen. In diese Liposomen kann man Lösungen mit markierten Molekülen einschließen, z.B. durch Markierung mit radioaktiven Isotopen oder Fluoreszenzfarbstoffen. Das Austreten der markierten Moleküle aus den Liposomen kann im Experiment verfolgt werden. Eine Serie derartiger Versuche wurde von einer schwedischen Arbeitsgruppe durchgeführt. In einer Serie von zwei Publikationen hat diese Arbeitsgruppe zunächst publiziert, daß unter einem 2,45 GHz Feld von 38 W/kg die Liposomen mehr von dem eingeschlossenem Fluoreszenzfarbstoff verlieren, als wenn ihre Temperatur mittels einer normalen Beheizung erhöht wird (Saalman et al., 1991). Dies wurde als eine Permeabilisierung der Membranen durch die Anwesenheit des Feldes gedeutet. Da mehr Farbstoff als bei normaler Aufheizung verloren ging, hat man einen nicht thermischen Zusatzmechanismus in Betracht gezogen. In einer zweiten Arbeit mit dem gleichen System hat man jedoch die Möglichkeit eines nicht thermischen Effektes ausgeschlossen, und den zusätzlichen Farbstoffverlust auf spezielle Erwärmung, bedingt durch das Feld, zurückgeführt (Bergqvist et al., 1994).

In ihrer biologischen Komplexität stellen Messungen an künstlichen Membranen das weitestgehend reduzierte Modell dar, eine Stufe höher in Richtung auf die Komplexität des biologischen Materials sind Untersuchungen an Vesikeln aus Zellmembranen oder sogenannten "Zellgeistern" - Zellen, die nur noch aus ihrer Membran bestehen. Auch an derartigen Systemen wurden Untersuchungen zur Wirkung der hochfrequenten Felder vorgenommen. An Erythrozytengeistern wurden die Eigenschaften der Membranlipide und Proteine mit verschiedenen Fluoreszenzmarkern verfolgt (Kim et al., 1985). Die Fluoreszenzmarker geben Auskunft über die Fluidität des bimolekularen Lipidfilmes der Membran und über die Lage der Proteine in der Membran, beides Parameter, die natürlich extrem temperaturabhängig sind. Unter unmodulierten Feldern von 340 MHz, SAR 100 W/kg und 900 MHz, 10 mW/cm<sup>2</sup>, veränderten sich die gemessenen Parameter alle in die Richtung, die sich auch durch eine entsprechende Erwärmung

ohne Feld ergab. Alle gemessenen Veränderungen der physikalischen Eigenschaften der Zellmembranen entsprachen denen bei einer konventionellen Erwärmung. Natürlich können die elektrischen Eigenschaften der Zellmembranen auch direkt an Zellen abgeleitet werden. Hierzu bedient man sich in der Regel der Technik der intrazellulären Mikroelektroden oder in den letzten Jahren auch der Ableitung mit Hilfe der sogenannten "patch clamp"-Technik (Hamill et al., 1981). In beiden Fällen werden als Elektroden dünn ausgezogene Glaspipetten verwendet - Spitzendurchmesser bei Mikroelektroden < 1 M bei "patch clamp"- Elektroden 2 - 5 M. Diese Glaspipetten sind mit einer leitenden Lösung meist KCl gefüllt. Diese Lösung stellt den elektrischen Kontakt zwischen der Zelle und dem jeweiligen Meßverstärker her. An einer Stelle in der Elektrode wird das elektrische Signal von der Weiterleitung in der Lösung in eine Weiterleitung in einem metallischen Leiter überführt. Genau an diesem Umsetzungspunkt besteht eine Empfindlichkeit für hochfrequente Felder (Yee et al., 1984). Die Einwirkung eines Feldes an dieser Stelle führt zu Fehlpotentialen der Elektrode, die wiederum zu einer Beeinträchtigung des Präparates führen können z. B. zu einem Abfall in der Herzfrequenz (Yee et al., 1984). Man muß also dafür sorgen, daß dieser Übergabepunkt nicht dem Feld ausgesetzt ist. Alle Messungen mit Glas- oder Metallelektroden könnten von diesem Artefakt betroffen sein.

Bei der Messung mit Mikroelektroden wird eine hochohmige (20-50 M $\Omega$ ) Elektrode durch die Zellmembran in das Zytoplasma gestochen, und man kann das Membranpotential ableiten. Bei der Messung mit "patch clamp"-Elektroden wird die relativ stumpfe Glaspipette (3-5 M $\Omega$ ) auf die Zelle aufgebracht, durch Anlegen eines Unterdruckes an die Elektrode bildet sich eine innige Verbindung zwischen dem Glas der Elektrode und der Zellmembran aus. Diese Verbindung ist so dicht, daß der Widerstand zwischen dem Lumen der Elektrode und dem Außenraum im Bereich von G $\Omega$  liegt. Ausgehend von dieser Konfiguration kann man verschiedene Wege einschlagen, die entweder die Messung von Einzelkanälen oder der ganzen Zelle erlauben. Durchbricht man jetzt die Zellmembran durch erneutes Anlegen eines Unterdruckpulses an die Elektrode, dann verschafft man sich einen niederohmigen Zugang zum Zytoplasma. Man kann jetzt das Membranpotential ableiten, wie mit Mikroelektroden auch, man kann aber auch der Zelle bestimmte Spannungssprünge aufzwingen, und den dazu notwendigen Strom messen - das Spannungsklemm-Verfahren, "voltage clamp".

Seit Beginn der 80er Jahre wurde eine Serie von elektrophysiologischen Untersuchungen mit konventionellen Mikroelektroden von Arber und Lin an Neuronen von Schnecken durchgeführt. In Hohlleitern unter einem Feld von 2450 MHz und einem SAR-Wert von 12,9 W/kg wurde das Membranpotential und der Membranwiderstand gemessen. Es wurde nach einer Stunde im Feld eine Abnahme des Membranwiderstandes und eine Hyperpolarisation beobachtet (Arber und Lin, 1983). Die Schneckenneurone entwickeln spontan Aktionspotentiale. Wird das Feld, 2450 MHz SAR-Wert 6,8 und 14,4 W/kg, mit 0 bis 20 kHz Rauschen amplitudenmoduliert, dann steigt der Membranwiderstand und es kommt zu einem Anstieg Zellen der Frequenz der Aktionspotentiale (Lin und Arber, 1983). Die Veränderungen in den Membraneigenschaften sollen von Ca<sup>2+</sup>- Freisetzung aus intrazellulären Speichern abhängen (Arber und Lin, 1984). Arber (1985) diskutiert dies als einen von Calmodulin vermittelten Effekt und vermutet im Calmodulin den möglichen Zielort für die Interaktion mit den hochfrequenten Feldern. Eine ähnliche Verschiebung des Ruhepotentials bei Schneckenneuronen wie bei Arber und Lin wurde von Kullnick (1992) unter der Einwirkung eines 150 MHz Feldes bei sehr niedrigen SAR-Werten berichtet. Alle

Ergebnisse der älteren Studien von Arber und Lin und auch die anderer Autoren werden in einer neueren Studie von Field, Ginsburg und Lin (1993) angezweifelt und eine mangelnde Temperaturkonstanz im Präparat wird vermutet. Trotzdem zeigen die Autoren in dieser Studie unter einem Feld 2450 MHz gepulst mit 100 Hz, Pulslänge 10 S und einem SAR von 81,5 W/kg unter sehr gut kontrollierten Bedingungen einen kleinen Unterschied in der Varianz der Pausen zwischen spontanen Aktionspotentialen. Der bemerkenswerte Aspekt dieser Studie liegt in der Erkenntnis, daß sehr viele der älteren Ergebnisse doch nur thermische Wirkungen sein könnten. Um von gesundheitlicher Relevanz sein zu können, sind die eingesetzten SAR-Werte viel zu hoch. In einer ganz neuen Studie haben Alekseev et al. (1997) gezeigt, daß bereits eine Anstiegsrate der Temperatur von 0,0025° C/s zu einer vorübergehenden meßbaren Verschiebung in der Aktionspotentialfrequenz von Schneckenneuronen führen. So geringe Temperaturveränderungen lassen sich lokal bei der Einwirkung relativ starker hochfrequenter Felder praktisch nicht ausschließen. Die Autoren folgern, daß Schneckenneurone ein ideales Präparat für das Studium thermischer Effekte sind, für athermische sind sie damit eher ungeeignet.

Neben den Messungen mit Mikroelektroden wurden auch schon Versuche unternommen, die Leitfähigkeit von Ionenkanälen mit der "patch clamp"-Technik zu messen. In der ersten "patch clamp"-Untersuchung unter der Einwirkung hochfrequenter Felder zeigten Bernardi et al. (1989), daß es möglich ist, Einzelkanalableitungen sofort nach der Einwirkung eines 10,75 GHz Feldes vorzunehmen. Es handelte sich um die Liganden-gesteuerten Acetylcholinäle von Muskelzellvorläufern. In einer zweiten Arbeit von Tarricone et al. (1993) wurden diese Kanäle an kultivierten Skelettmuskelzellen unter einem Feld von 10,75 GHz und einer Leistungsflußdichte von wenigen W/cm<sup>2</sup> der "cell attached" Konfiguration untersucht. Es wurde unter Feldbedingungen eine Verlängerung der Geschlossenzeit gefunden, die sich möglicherweise auf den Mechanismus der synaptischen Übertragung auswirkt. In einer umfangreichen bislang nur als "abstract" publizierten Studie von Meyer et al. (1996) wurde mit Hilfe der "patch clamp"-Technik in der "whole cell" Konfiguration der Einfluß von Feldern des Mobilfunkes auf das Membranpotential, die Aktionspotentiale sowie den L-Typ Ca<sup>2+</sup>-Strom und die Kaliumleitfähigkeit von Herzmuskelzellen des Meerschweinchenventrikels untersucht. Auf keinen der gemessenen Parameter konnte unter den Meßbedingungen 900 und 1800 MHz unter SAR-Werten zwischen 80 und 500 mW/kg ein Einfluß nachgewiesen werden. Es ist im Rahmen dieser Studie wichtig zu erwähnen, daß eine Veränderung des an die Zelloberfläche gebundenen Ca<sup>2+</sup> auch eine Verschiebung der Spannungsabhängigkeit des L-Typ Ca<sup>2+</sup>-Stromes gefolgt wäre. Dies war jedoch nicht der Fall, und daher sind Einflüsse, wie sie bei den Fluxmessungen beobachtet wurden, bei diesen Frequenzmustern kaum zu erwarten.

Am gleichen Präparat wurde von v. Klitzing und Janz (1996) bei Messungen des L-Typ Ca<sup>2+</sup>- Einstromes ein Einfluß eines hochfrequenten Feldes festgestellt. In einer Kurzveröffentlichung werden Messungen unter einem Feld von 150 MHz moduliert mit 4 Hz, 8,3 Hz und 16 Hz vorgestellt. Bei 8.3 Hz und einer Leistungsflußdichte von 1 mW/m<sup>2</sup> wurde eine 12%ige Vergrößerung des L-Typ Ca<sup>2+</sup>-Stromes gezeigt, bei den anderen Pulsationfrequenzen nicht. Auf grund des geringen Umfanges der Veröffentlichung können die Ergebnisse hier nicht detailliert behandelt werden, und Artefakte lassen sich nicht ausschließen.

Insgesamt kann man feststellen, daß die umfangreiche elektrophysiologische Literatur zu dem Thema einer Interaktion hochfrequenter elektromagnetischer Felder mit

Membranen vermutlich stark von artefiziellen Einflüssen beeinträchtigt wird, und daß klare Beweise athermischer Effekte fehlen.

### **3. Beeinflussung des Herzschlages**

Der Herzschlag wird von dem primären Schrittmacherzentrum des Herzens am Sinusknoten gesteuert. Dabei depolarisieren die Schrittmacherzellen während der Diastole, Füllungsphase des Herzens mit entspanntem Herzmuskel, langsam bis zur Schwelle eines Aktionspotentials. Dann wird im Schrittmacherzentrum ein Aktionspotential ausgelöst. Dieses Aktionspotential wird anschließend durch spezielle Kontaktstrukturen von Zelle zu Zelle über das gesamte Herz weitergeleitet. Das Herz tritt in die Systole ein und kontrahiert. Zu diesem Zeitpunkt sind die Schrittmacherzellen schon wieder weitgehend repolarisiert. Nach ihrer maximalen Repolarisation beginnt die diastolische Depolarisation von neuem. Entscheidend für die selbstständig ablaufende diastolische Depolarisation sind verschiedene Stromsysteme, einerseits eine mit der Zeit und zunehmender Depolarisation abnehmende Kaliumleitfähigkeit und ein  $\text{Na}^+$ -Stromsystem, welches durch die Repolarisation aktiviert wird (Noble, 1984).

Dieses selbständig oszillierende System hat die Untersucher, die nach Wirkungen hochfrequenter Felder forschten, immer wieder als möglicher Interaktionsort fasziniert. Schon in den 30er Jahren dieses Jahrhunderts wurde erstmals untersucht, ob HF-Felder die Herzfrequenz von Vertebraten beeinflussen können. Die thermische Wirkung, die zu einer Erhöhung der Frequenz führen würde, ist dabei unumstritten, und wurde auch in einigen Arbeiten beschrieben. Ob es jedoch unter der Einwirkung eines hochfrequenten Feldes zu einer Erniedrigung der Schlagfrequenz kommen kann, ist sehr umstritten. Die Arbeiten bis 1987 sind in der schon in der Einleitung erwähnten Arbeit von Foster und Pikard (1987) sehr kritisch gewertet worden und als Beispiel für die Mehrdeutigkeit der Ergebnisse auf diesem Forschungsgebiet angeführt. In einigen Arbeiten wurde eine Verlangsamung der Herzfrequenz unter der Einwirkung von 960 MHz Feldern auf Frosch- (Frey und Seifert, 1968) und Rattenherzen (Olsen et al., 1977) bei einer Stärke zwischen 2 und 10 mW/cm<sup>2</sup> berichtet. Trotzdem standen auch diesen frühen Arbeiten schon Studien mit negativen Befunden gegenüber, wie z.B. die sehr gut kontrollierte Studie von Galvin et al. (1982), die unter 2450 MHz sowie zwei SAR-Werten 2 und 10 W/kg bei 22° und 37°C keinen Einfluß der unmodulierten Felder nachweisen konnten. Bei der Bewertung der Literatur zur Veränderung der Schlagfrequenz von Herzpräparaten muß man zwei Beobachtungen mit berücksichtigen. 1. Eine Erwärmung führt zur Erhöhung der Schlagfrequenz. 2. Messungen mit Mikroelektroden können von dem im letzten Kapitel erwähnten Fehlpotential an der Elektrode betroffen sein, die schon im letzten Kapitel erwähnt wurden. Diese Fehlpotentiale führen zu einem Abfall in der Herzfrequenz (Yee et al., 1984), also einem möglicherweise falsch positiven Befund. Diese Möglichkeit besteht bei der Arbeit von Frey und Seifert (1968). Auch noch in einer späteren Arbeit von Caddemi et al. (1986) läßt sich dieser Artefakt nicht ausschließen. Diese Autoren haben mit einer Mikroelektrode festgestellt, daß sich die Herzfrequenz eines Präparates aus einem isolierten embryonalen Kükenherz auf die Pulsfrequenz eines 2450 MHz Feldes, SAR 0,95 W/kg synchronisierte, wenn die Pulsfrequenz im Bereich der natürlichen Frequenz lag. Nach ihrer Skizze befindet sich der Flüssigkeit-zu-Metall-Übergang im Feld.

In zwei späteren Studien haben Yee et al. keinen athermischen Einfluß von Mikrowellen (2450 MHz gepulst mit 16 Hz) auf die Schlagfrequenz des Frosch- (1986) und des

Rattenherzens (1988) gefunden, jedoch thermische Einwirkungen bei einem SAR von 200 W/kg. Die Autoren führen das Fehlen eines Einflusses auf ihre wohl kontrollierten Versuchsbedingungen und auf das Arbeiten bei 37,7°, also Körpertemperatur, zurück. Sie glauben, daß ein Teil Arrhythmien in früheren Studien, bei Olsen et al. (1977), auf den Einsatz zu niedrigeren Temperaturen bei den Versuchen und auf nicht so gut kontrollierte Versuchsbedingungen zurückzuführen ist.

Trotz dieser recht überzeugenden Studien mit negativen Ergebnissen blieb die Frage einer Beeinflussung der Herzfrequenz weiter in der Diskussion. 1986 erschien eine Studie von Watkinson und Gordon, die an lebenden Ratten im Hohlleiter, unter dem Einfluß von 600 MHz CW-Feldern einen linearen Zusammenhang zwischen Herzfrequenz und SAR-Wert bzw. Körpertemperatur zeigten, was die Autoren als einen thermischen Einfluß interpretieren.

An spontan schlagenden kultivierten embryonalen Herzmuskelzellen des Kükens haben Seaman und DeHaan 1993 eine Frequenzerhöhung als Antwort auf Bestrahlung mit Mikrowellen (2450 MHz gepulst mit 16 Hz) sowohl im athermischen (SAR 1,2 - 12 W/kg) wie thermischen Bereich (SAR 42 W/kg) gefunden, sie denken daher auch an einen athermischen Einfluß.

In einer umfangreichen Studie von 1995 an spontan schlagenden Präparaten aus dem Vorhof des Frosches haben Pakhomov et al. (1995a) ein breites Spektrum von gepulsten Feldern (885 mit variabler Pulsung oder 915 MHz und einer Pulsung von 16 Hz) in ihrer Auswirkung auf die Schlagfrequenz getestet. Es ließen sich bei SAR-Werten unterhalb des thermischen Bereiches keine Wirkungen erkennen und bei solchen oberhalb nur Wirkungen, die auf eine Erwärmung zurückzuführen waren.

Ein weiterer Parameter, der sich am Herzen gut untersuchen läßt, ist die Kontraktionskraft. Sie wurde auch von Pakhomov et al. (1995b) in einer weiteren Studie untersucht. Auf die Kontraktionskraft der unbehandelten Froschvorhofpräparate hatten die gleichen Felder wie in der ersten Studie keinen Einfluß. Wenn das sarkoplasmatische Retikulum allerdings durch Coffeinapplikation entleert war, konnte ein kraftsteigernder Einfluß der gepulsten Felder beobachtet werden, der nach Meinung der Autoren nicht auf eine Erwärmung zurückzuführen war. Berücksichtigt man wie sorgfältig die gesamte Studie angelegt ist, so muß man diesem Befund als zuverlässig einstufen. Ob er allerdings von physiologischer Bedeutung ist, ist sehr fraglich, da die sehr hohe angewendete Coffeinkonzentration die physiologischen Abläufe weitgehend ändert. Wie dieser Befund zu interpretieren ist, lassen die Autoren offen. Diese Studie stimmt bezüglich der Unempfindlichkeit der Kontraktionskraft des unbehandelten Froschherzens gegenüber mit 16 Hz gepulsten hochfrequenten Feldern mit der Arbeit von Schwartz und Mealing (1993) überein, die unter 1 GHz-Feldern zwischen 3,2 W/kg und 1,6 W/kg und bei Amplitudenmodulation zwischen 0,5 Hz und 16 Hz keinen Einfluß auf die Kontraktionskraft und den  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -Efflux von Streifenpräparaten aus dem Froschherzen gefunden haben. In einer älteren Arbeit von Galvin et al. (1982) wurde ebenfalls keine Empfindlichkeit der Kontraktionsamplitude des Rattenherzens gegenüber unmodulierten 2450 MHz Feldern mit SAR-Werten von 2 und 10 W/kg gefunden.

Die schon im letzten Kapitel erwähnte Studie von Meyer et al. (1996) zeigte unter den Feldern des Mobilfunkes ebenfalls keinen Einfluß auf die elektrischen Parameter der Zellmembran des Meerschweinchenherzens, die ja die Kontraktionsamplitude steuern. Somit lassen sich diese negativen Befunde, zumindest ansatzweise, auch auf die Frequenzen des Mobilfunkes erweitern.

Faßt man die Befunde am Herzen zusammen, dann kann man feststellen, daß viele der älteren Arbeiten mit positiven Befunden wahrscheinlich von Artefakten überlagert sind. Unter den neueren Arbeiten findet sich eine Studie an embryonalen Zellen des Kükenherzens, die bei Werten von mehr als 1,2 W/kg eine Beeinflussung der Schlagfrequenz findet. Dieser Befund sollte zunächst nochmals bestätigt werden, und man sollte dann vielleicht auch das betreffende Stromsystem identifizieren, bevor hier Anlaß zur Diskussion besteht. Gleiches gilt für die Steigerung der Kontraktionskraft unter Coffein, die in einer anderen Studie gezeigt wurde.

#### **4. Beeinflussung der Blut/Hirnschranke und des Gefäßsystems**

Ein großes Gebiet der Erforschung der Wirkung von HF-Feldern ist ihr Einfluß auf die Blut/Hirnschranke. Da es sich dabei um einen Teil des Gefäßsystems handelt, sollen in diesem Kapitel auch Arbeiten zur Gefäßregulation mit referiert werden. Im normalen Gefäßsystem können relativ hochmolekulare Substanzen frei durch die Gefäßwände hindurchtreten. Dies ist im Bereich des Gehirnes nicht der Fall. Hier sind einerseits die Gefäßwände durch Zellkontakte (tight junctions) zwischen den Endothelzellen besonders gut abgedichtet, und andererseits bilden die Gliazellen in der Nachbarschaft der Gefäße eine weitere besonders enge Abdichtung. Dadurch wird der unkontrollierte Übertritt zahlreicher Substanzen aus dem Blut in den Liquorraum, den Bereich der Neurone, verhindert. Lediglich kleine lipidlösliche Substanzen können diese Barriere unkontrolliert passieren, alle anderen Moleküle müssen transportiert werden. Diese Barriere schützt die Neurone vor vielfältigen biologischen und chemischen Einflüssen. Die Durchlässigkeit der Blut/Hirnschranke steht schon seit vielen Jahren im Verdacht, empfindlich auf HF-Felder zu reagieren. Allerdings besteht auch hier eine große Diskrepanz zwischen positiven und negativen Befunden.

Einige Beispiele für die frühen Arbeiten sollen hier kurz genannt werden. Studien von Frey et al. (1975) und von Oscar und Hawkins (1977) zeigten einen Einfluß eines 1,2 bzw. 1,3 GHz Feldes auf die Durchlässigkeit der Blut/Hirnschranke. Bei der Arbeit von Oscar und Hawkins handelt es sich um eine umfangreiche Studie, in der radioaktiv [<sup>14</sup>C] markierte Substanzen unterschiedlichen Molekulargewichtes, Mannitol, Innulin und Dextran unter den verschiedensten Feldbedingungen an wachen Ratten getestet wurden. Eine Steigerung der Durchlässigkeit wurde nur für Mannitol und Innulin hauptsächlich in der Medulla gezeigt. Diese Ergebnisse konnten von Preston et al. (1979) nicht reproduziert werden. Allerdings setzten sie kontinuierliche Felder von 2450 MHz an anästhesierten Ratten ein. In einer weiteren Studie konnten Lin und Lin keinerlei Einfluß eines Feldes von 2450 MHz bei SAR-Werten zwischen 0,04 und 80 W/kg auf die Durchlässigkeit der Blut/Hirnschranke für Na-Fluoreszein an anästhesierten Ratten zeigen. Dies ist recht erstaunlich, da der höchste SAR-Wert zu einer Erhöhung der Temperatur um 4,8°C führt. Dieses Ergebnis steht auch im Widerspruch zu den Befunden der Studie von Williams et al. (1984a) die im Folgenden besprochen werden soll.

In dieser Studie versuchten Williams und Mitarbeiter, Erklärungen für die widersprüchlichen Befunde zu finden. Sie setzten sich in einer Serie von vier sehr sorgfältig durchgeführten Publikationen mit der Frage auseinander, ob HF-Felder über thermische oder athermische Wirkungen die Durchlässigkeit der Blut/Hirnschranke beeinflussen (Williams et al., 1984a, b, c, d). Bei den Studien wurden wache Ratten für 30, 90 und 180 Minuten unmodulierten Feldern von 2450 MHz mit SAR-Werten von 4

bzw. 13 W/kg (20 bzw. 65 mW/cm<sup>2</sup>) ausgesetzt. Als Kontrollen dienten Tiere, die scheinexponiert wurden, und als Positivkontrolle Tiere, die durch Erwärmung der Umgebungstemperatur aufgewärmt wurden. Es wurden mehrere Testsubstanzen für die Permeabilität der Blut/Hirnschranke ausgewählt Na-Fluoreszein (Williams et al., 1984a), Meerrettich-Peroxidase (Williams et al., 1984b) und [<sup>14</sup>C]-Saccharose (Williams et al., 1984c). In der vierten Arbeit wurde der Einfluß der angewendeten Felder für das Temperaturprofil innerhalb des Rattengehirns gemessen (Williams et al., 1984d). Die Durchlässigkeit der Blut/Hirnschranke für Na-Fluoreszein, eine Substanz mit relativ kleinem Molekulargewicht, wurde sowohl durch das Feld wie auch durch die Temperaturerhöhung vergrößert. Beim niedrigeren athermischen SAR-Wert, 4 W/kg, trat keine Veränderung ein. Die Permeabilität für den größeren Marker, Meerrettich-Peroxidase, ließ sich durch keine der Behandlungen beeinflussen und auch die Versuche mit [<sup>14</sup>C]-Saccharose erbrachten keinen Hinweis auf athermische Feldwirkungen. Es muß an dieser Stelle betont werden, daß auch bei dieser Arbeit eine Beeinträchtigung der Blut/Hirnschranke bei Feldern mit deutlicher thermischer Wirkung und auch bei der Erwärmung der Tiere nachgewiesen wurde. Die Autoren glauben, daß die widersprüchlichen Befunde der früheren Arbeiten auf methodische Unsicherheiten zurückzuführen seien.

Die Frage, ob es einen athermischen Einfluß auf die Blut/Hirnschranke gibt, war damit allerdings noch nicht aus der Diskussion verschwunden, wenngleich die Autoren der ursprünglich positiven Befunde nicht mehr in Erscheinung traten. Mit einer anderen Nachweismethode konnten Neubauer et al., 1990 zeigen, daß es unter einem Feld von 2450 MHz bei einem SAR von 2 W/kg zu einem verstärktem Transport einer Rhodamin-Ferritinkombination durch die Endothelzellen, Zellen der Gefäßwände, des Rattenhirns kommt. Mit einem mikroskopischem Ansatz, der recht überzeugend ist, haben Salford und Mitarbeiter zeigen können, daß es unter 915 MHz Feldern CW oder gepulst mit 8, 16, 50 oder 200 Hz zu einem Durchtritt von Albumin durch die Blut/Hirnschranke im Rattenhirn kommt. Insgesamt wurden 246 Tiere in die Studie aufgenommen.

Erstaunlicherweise kommt es bereits bei ganz niedrigen SAR-Werten von 0,1 W/kg zu einem erhöhten Durchtritt des Albumins. Die Wahrscheinlichkeit einer Erhöhung des Durchtritts ist bis zu einem SAR von 2,5 W/kg unabhängig von der Energie, darüber steigt sie mit der Energie des Feldes. Albumin wurde im Gehirn der Kontrolltiere nur in 8% nachgewiesen, während es in insgesamt 30% der exponierten Tiere auftrat.

Betrachtet man die große Zahl von Studien auf diesem Gebiet, die hier nur z.T. genannt wurden, dann kann man sicherlich nicht davon ausgehen, daß alle Befunde artefiziell sind. Die älteren Arbeiten, die mit recht artefaktanfälligen Methoden arbeiteten, kann man eventuell so erklären, die neueren wahrscheinlich nicht. Trotzdem benötigen auch neueren Arbeiten noch eine unabhängige Bestätigung. Die gesundheitliche Relevanz der Befunde bleibt jedoch nach Meinung der Autoren unklar (Salford et al., 1992).

Neben der Durchlässigkeit der Blut/Hirnschranke sind auch andere Einflußnahmen auf die Gefäßwände beschrieben worden. So haben Miura und Okada (1991) festgestellt, daß die Arteriolen des Frosches sich unter dem Einfluß eines gepulsten Feldes von 0,1, 1 und 10 MHz dilatieren. Die optimale Pulsung ergab sich, wenn das Feld im 10 kHz Rhythmus Puls/Pause Verhältnis 1/1 an- und abgeschaltet wurde, es wurden also jeweils 500 Wellen des 10 MHz Signals gesendet und dann wieder 500 ausgelassen.

Aus den Ergebnissen einer Kalkulation und Messung leiten die Autoren unter ihren Bedingungen eine Erwärmung von weniger als 0,05°C ab. Sie gehen daher von einem athermischen Einfluß aus. Die Autoren interpretieren ihren Befund als eine Aktivierung

der Guanylatcyclase, die eine  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase stimuliert und damit die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration senkt. In einer zweiten Studie an einer Präparation aus Ratten kleinhirn Homogenat haben die Autoren diesen Gedanken weiterverfolgt Miura et al. (1993). Sie haben unter den gleichen Feldbedingungen gezeigt, daß die Guanylatcyclase durch das Feld aktiviert wird. Weiterhin konnten sie zeigen, daß diese Aktivierung auf eine Erhöhung der Stickoxyd-Produktion zurückzuführen war. NO reguliert die Guanylatcyclase. Daraus leiten die Autoren ab, daß die NO-Synthase durch das Feld stimuliert wird. Diese Hypothese wurde dann nochmals an Frosch-Arteriolen überprüft. Leider haben weder Miura und Mitarbeiter noch andere auf diesem Gebiet weitere Studien publiziert. Wenn ein so zentrales Enzym der Gefäßregulation wie die NO-Synthase durch HF-Felder stimulierbar ist, dann müßte dies vielfältige Auswirkungen haben. Von derartigen Auswirkungen wurde jedoch nicht berichtet.

## **5. Beeinflussung des Immunsystems**

Das Immunsystem wird im Blut durch die Leukozyten, weiße Blutzellen, bestimmt. Man unterscheidet die Granulozyten, Lymphozyten und die Monozyten. Wenn ein pathogener Erreger oder ein anderes Antigen in den Körper gelangt, erfolgen drei Immunreaktionen: 1. Die humorale Antwort, z.B. die Ausschüttung von Antikörpern, 2. die zelluläre Antwort, 3. die Lymphokin-Sekretion. Die Granulozyten und die Monozyten beseitigen Zelltrümmer, Bakterien und andere Partikel aus dem Körper durch Aufnahme in die Zellen und Verdauung. Dieser Vorgang wird auch als Phagozytose bezeichnet. Sie bilden damit einen Teil des zellulären Immunsystems. Die Lymphozyten sind an den verschiedenen Antworten beteiligt. Je nach Herkunft und Funktion unterscheidet man B- und T-Lymphozyten. Während die B-Zellen im Knochenmark ausdifferenzieren, wachsen die T-Zellen im Thymus heran. Die aus den B-Lymphozyten hervorgehenden Plasmazellen sezernieren die Antikörper und bilden somit einen Teil des humoralen Immunsystems. Die T-Lymphozyten erfüllen vor allem zwei Funktionen: Cytotoxische T-Lymphozyten, Killerzellen, töten als zelluläre Antwort Virus-infizierte Zellen ab, während Helferzellen die Abwehrreaktion des Körpers durch die Sekretion von Lymphokinen stimulieren. Lymphokine, wie Interleukin 2, regen die Lymphozyten zur Teilung an. Das Immunsystem soll für elektromagnetische Felder besonders empfindlich sein. Dabei stehen die Untersuchungen zur Wirkung niederfrequenter Felder eindeutig im Vordergrund. Diese Studien wurden durch epidemiologische Untersuchungen zum Auftreten von Leukämie inspiriert. Trotzdem gibt es auch eine große Zahl von Untersuchungen über den Einfluß von HF-Feldern.

Bei den Versuchen zur Antwort des Immunsystems auf elektromagnetische Felder sind zwei unterschiedliche Vorgehensweisen verfolgt worden. Entweder wurden ganze Tiere im Feld exponiert, und anschließend wurden die Zielzellen isoliert und untersucht, also in vivo Versuche, oder die Zielzellen wurden zuerst isoliert und dann dem Feld ausgesetzt, also in vitro Versuche. Beide Versuchsgruppen sollen getrennt behandelt werden.

Bei den in vivo Versuchen liegt der natürlichere Ansatz vor. Es werden wesentlich mehr Einflußfaktoren, die im lebenden Organismus vorhanden sind, berücksichtigt. Allerdings lassen sich die meisten Parameter schlechter kontrollieren. Die Versuche sind daher auch erheblich anfälliger für Artefakte und zeigen häufig eine starke Streuung zwischen den Individuen.

In einer neueren Arbeit untersuchten Elekes et al. (1996) einen Anstieg der Antikörper produzierenden Zellen in den Nieren von Mäusen auf eine Stimulation hin. Der Anstieg war bei männlichen Tieren, die täglich für drei Stunden mit einem Feld von 2450 MHz kontinuierlich, CW, oder mit 50 Hz gepulst bei einer Leistungsdichte von 15 mW/cm<sup>2</sup> (SAR 140 mW/kg) behandelt wurden, deutlich erhöht. Bei weiblichen Tieren ergab sich kein signifikanter Anstieg. Diese Untersuchung steht zumindest teilweise in Übereinstimmung mit alten Arbeiten von Wiktor-Jedrzejczak (1977a, b). In einer Serie von Versuchen wurden Hamster in 2450 MHz Feldern einer Leistungsdichte von 15 und 25 mW/cm<sup>2</sup> einmal oder mehrfach für je eine Stunde pro Tag exponiert (Yang et al., 1983). Bei den Versuchen mit 15 mW/cm<sup>2</sup> kam es im Vergleich zu scheinexponierten Tieren zu keiner meßbaren Erhöhung der Körperkerntemperatur. Im Feld von 25 mW/cm<sup>2</sup> stieg die Kerntemperatur um 3 - 3,5°. Bei der niedrigeren Leistungsdichte wurden keine Veränderungen in der Dichte der Lymphozyten im Blut, der Dichte der cytotoxischen Lymphozyten in der Niere und in ihrer Cytotoxizität festgestellt. Anders bei den Tieren, die der höheren Leistungsflußdichte ausgesetzt waren. Hier wurde ein Abfall der Lymphozyten im Blut, der Dichte der Killer-Zellen in der Niere und ein Abfall ihrer Giftigkeit beobachtet. Den gleichen Tieren wurden auch Makrophagen, phagozytierende Zellen, aus der Bauchhöhle entnommen (Rao et al., 1983). Diese Zellen sind ebenfalls an der Immunantwort beteiligt. Sie ließen sich durch die Exposition im 25 mW/cm<sup>2</sup> Feld genauso stimulieren wie durch eine Virusinfektion. Die festgestellten Einflüsse werden von den Autoren als thermische Wirkungen eingestuft, athermische wurden nicht beobachtet. Leider fehlten in den Studien thermische Kontrollen, die hier noch bessere Aussagen erlaubt hätten.

Mit diesen Ergebnissen stimmt eine Studie von Cleary et al. (1985) überein, die in vitro an neutrophilen Granulozyten keine Empfindlichkeit auf ein 100 MHz Feld CW oder mit 20 Hz amplitudenmoduliert, SAR 120 und 341 W/kg, zeigten. Dabei wurde die Phagozytoseaktivität und die Unversehrtheit der Zellmembran getestet. Ein Einfluß dieser hohen Felder zeigte sich nicht, wenn eine Erhöhung der Temperatur durch Thermostatisierung vermieden wurde. In Temperaturkontrollexperimenten zeigte sich dagegen eine deutliche Abhängigkeit der Phagozytoserate von den Temperatur. Auch das Verhalten cytotoxischer T-Lymphozyten wurde in in vitro Studien untersucht. In einer Studie von Lyle et al. (1983) haben die Autoren festgestellt, daß die Cytotoxizität der Lymphozyten durch Vorbehandlung oder die Anwesenheit eines 450 MHz sinusförmig amplitudenmodulierten Feldes (1,5 mW/cm<sup>2</sup>) verringert werden kann. Die mit 20% maximale Unterdrückung wurde bei einer Modulationsfrequenz von 60 Hz erzielt (Hub 75 -85%, Frequenz variation CW, 3, 16, 40, 60, 80,100 Hz). Unmodulierte Felder zeigten keine Wirkung. Leider wurde diese Arbeit bisher nicht reproduziert. Unter den gleichen Feldbedingungen, jedoch mit leicht verminderter Leistungsdichte (1 mW/cm<sup>2</sup>) wie bei Lyle et al. (1983) wurde 1984 von Byus et al. die Proteinkinase Aktivität von menschlichen Lymphozyten aus extrahierten Mandeln getestet. Dabei handelte es sich um eine Mischung aus T- und B-Lymphozyten. Untersucht wurden verschiedene Proteinkinasen. Proteinkinasen sind Enzyme, die eine Phosphatgruppe von Adenosintriphosphat, ATP, auf andere Proteine übertragen. Bei der Stimulation der Zellteilung durch Mitogene werden die von zyklischem Adenosinmonophosphat, cAMP, abhängigen Proteinkinasen hochgeregelt. Daher wurden die Proteinkinasen in dieser Studie als Marker für eine Einleitung einer Zellteilung angesehen. Die Gesamtaktivität der cAMP-abhängigen Proteinkinasen blieb unter einem 16 Hz sinusförmig

amplitudenmodulierten Feld über eine Stunde gleich. Greift man allerdings die Aktivität einer Proteinkinase, der Histonkinase, heraus, dann ändert sich das Bild. Die Histonkinase phosphoryliert Histone, das sind Proteine, die zusammen mit der Desoxyribonukleinsäure die Chromosomen bilden. Diese Histonkinase wurde nach der Arbeit von Byus (1984) für ca. 1 Stunde auf weniger als 40% ihrer Aktivität heruntergeregelt, wenn die Zellen einem mit 16 Hz modulierten Feld ausgesetzt waren. Bei anderen Modulationen waren die Einflüsse weniger deutlich. Die gute Übereinstimmung der Parameter des wirksamen Feldes mit denen bei den  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  Efflux-Messungen legt eine Beteiligung von Kalzium nahe, und die Autoren diskutieren dies ausführlich. Eine gesundheitliche Relevanz bleibt dagegen unklar.

In einer Arbeit von Roberts et al. (1983) wurde eine Reihe von verschiedenen Parametern an Leukozyten auf ihre Empfindlichkeit für 2450 MHz CW-Felder überprüft. Die Arbeit bezieht sich auf den damaligen Grenzwert in den USA von 4 mW/ml. Es wurden auch niedrigere SAR-Werte bis 0,5 mW/ml getestet. Die Zellen wurden für zwei Stunden in einem Hohlleiter dem Feld ausgesetzt und anschließend kultiviert. Ihre Desoxyribonukleinsäure-, Ribonukleinsäure- und Proteinsynthese wurden überprüft und zwar an Zellen, die ansonsten unbeeinflusst waren, an solchen, die mit einem Mitogen (Phytohämagglutinin, PHA) stimuliert wurden, und an solchen, die zur Immunantwort stimuliert wurden. Die Zellen, die dem Feld ausgesetzt gewesen waren, wurden mit scheinexponierten Zellen und völlig unbeeinflussten Zellen verglichen. Es ließen sich keinerlei Einflüsse des Feldes nachweisen. Die Autoren räumen ein, daß sie damit nicht alle denkbaren Pulsmuster getestet haben, jedoch glauben sie, besonders wegen der guten Reproduzierbarkeit ihrer Versuche, einen Hinweis für die Rechtfertigung der entsprechenden Grenzwerte vorzulegen.

Die gleichen Autoren haben auch noch weitere Studien mit menschlichen Leukozyten vorgelegt. In einer haben sie die Wirkung von 2450 MHz Feldern, die mit 16 und mit 60 Hz gepulst waren (SAR 4 W/ml), auf das gleiche Zellsystem wie vorher getestet (Roberts et al., 1984). Die Pulsfrequenzen wurden ausgewählt, da hier bei sinusförmig amplitudenmodulierten Feldern Fenster vermutet werden. Sie fanden keine Empfindlichkeit der Zellen für die gepulsten Felder. In einer dritten Studie haben Roberts et al. (1987) die Wirkung von HF-Feldern auf durch das Influenza Virus vorgeschädigte Zellen untersucht. Sie haben wieder 2450 MHz Felder mit einem SAR von 4 mW/ml in CW und mit 16 und 60 Hz Pulsung eingesetzt. Die mit Influenza Virus infizierten Zellen zeigten eine verringerte Antwort auf die Stimulation mit PHA. Diese Antwort war unabhängig davon, ob die Zellen einem Feld ausgesetzt worden waren oder nicht. Die Exposition dauerte immer jeweils zwei Stunden und wurde zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion ausprobiert. Eine Schwachstelle bei den drei Arbeiten dieser Gruppe ist, daß sie haben immer nur eine zweistündige Feldexposition durchgeführt haben und nie mehr.

Mit einer ausführlichen Arbeit haben Czerska et al. (1992) sich unter anderem mit den Ergebnissen von Roberts et al. auseinandergesetzt. Sie haben auch den Einfluß von 2450 MHz Feldern CW und gepulst auf die Vermehrung isolierten menschlichen Lymphozyten untersucht. Allerdings haben sie die Zellen fünf Tage in dem Feld exponiert. Sie haben ein breites Spektrum von SAR-Werten getestet, solche die die Temperatur der Zellen meßbar erhöhen, und solche die dies nicht bewirken, 1; 1,8-2,3; 3,5-4,5; 6,8-8,3; 9,8-12,3 W/kg. Die Zellen wurden mit PHA stimuliert und die Vermehrung wurde mit einem Bildanalyse-System morphologisch gemessen. Die Autoren haben eine große Zahl verschiedener Kontrollen gezeigt, z. B. eine Abhängigkeit der

Vermehrung von der PHA-Konzentration und der Temperatur. Mit CW-Feldern erzielten die Autoren keine Beeinflussung der Vermehrung, es sei denn es kam zu einer Erhöhung der Temperatur. Wurden die Felder gepulst, 100 -1000 Pulse/s von je 1 s Dauer, waren die Felder wirksam. Schon Felder, die Temperatur nicht meßbar erhöhten, SAR 1 W/kg, induzierten jetzt eine stärkere Vermehrung der Zellen. Eine Pulsung des Feldes wird von den Autoren als Bedingung für eine nicht thermische Beeinflussung der Zellen angesehen und sie sehen hier den wesentlichen Unterschied zwischen ihrer Studie und der von Roberts et al. (1983). Auf die Studien von Roberts et al. aus 1984 und 1987 mit gepulstem Feld gehen die Autoren nicht ein. Der größte Unterschied zwischen beiden Arbeitsgruppen liegt wohl eher in der kurzen Expositionszeit von zwei Stunden bei Roberts et al. von 72 Stunden bei Czerska et al. (1992). Cleary et al. haben 1990 ebenfalls eine Studie vorgelegt, die sich mit der Vermehrung von Lymphozyten beschäftigt. Dabei haben sie die Zellen wie Roberts et al. (1983, 1984, 1987) auch für zwei Stunden dem HF-Feld von 27 oder 2450 MHz, beides CW, ausgesetzt und danach ihre Vermehrung verfolgt. Allerdings über den <sup>3</sup>H-Thymidin Einbau wie Roberts et al. und nicht wie Czerska et al. (1992) über eine mikroskopische Methode. Es wurden SAR-Werte von 5 bis 196 W/kg getestet, erstaunlicherweise geben die Autoren an, in allen Fällen hätte eine Erwärmung durch eine entsprechende Thermostatisierung vermieden werden können. Nachdem die Zellen im Feld exponiert worden waren wurden sie mit PHA stimuliert und die Vermehrung gemessen. Die Ergebnisse sind uneinheitlich, bei SAR-Werten über 50 W/kg kommt es zu einer Verlangsamung der Vermehrung. Dagegen kommt es zwischen 5 und 50 W/kg zu einer Beschleunigung. Die Bedeutung der Ergebnisse bleibt trotz einer sehr ausführlichen Diskussion eher unklar. Ich denke nicht, daß sie die Ergebnisse von Roberts et al. widerlegen, da die Autoren leider erst bei SAR-Werten begonnen haben, die schon über denen von Roberts et al lagen. Ob bei den z.T. recht hohen SAR-Werten eine Erwärmung auch lokal in den Zellen vermieden wurde, muß allerdings bezweifelt werden.

In einer neueren Arbeit wurde von Cleary et al. (1996) der Einfluß von 2450 MHz auf die Vermehrung von cytotoxischen T-Lymphozyten untersucht. Die SAR-Werte waren bei CW Exposition mit 5 bis 50 W/kg und bei Pulsung mit 50 Hz mit 5 W/kg wieder recht hoch. Die Vermehrung der Zellen wurde durch Zugabe von Interleukin-2, IL-2, eingeleitet. Die Wirkung des Feldes hing davon ab, ob die Zellen kurz vor der Exposition mit IL-2 stimuliert wurden, oder ob die Stimulation schon 24 h zurücklag. Felder über 25 W/kg reduzierten die Vermehrung immer, was z. T. mit der Untersuchung von Cleary et al. 1990 übereinstimmt. Bei niedrigeren SAR-Werten ergab sich bei den Zellen, die kurz nach der Stimulation mit IL-2 dem Feld ausgesetzt waren, eine Steigerung der Vermehrungsrate. Lag die Stimulation 24 h zurück, bewirkte das Feld eine Verringerung der Vermehrungsrate. Die Ergebnisse sind umfangreich aber verwirrend. Sie werden von den Autoren in der Weise interpretiert, daß unterschiedliche Zustände im Zellzyklus unterschiedlich empfindlich auf das Feld reagieren. Da die Autoren von einer guten externen Temperaturkontrolle in ihrem System ausgehen, interpretieren sie ihre Ergebnisse wieder als athermische Effekte.

B-Lymphozyten binden an der Außenseite der Zellmembran bestimmte Antigene. Die gebundenen Antigene werden in der Membran lateral verschoben, bis sie schließlich an einer Stelle konzentriert sind. Dieser Vorgang wird als "capping" bezeichnet. Die konzentrierten Antigene werden aufgenommen. Anschließend wandelt sich die entsprechende Zelle in eine Antikörper produzierende Mastzelle um. Der Vorgang des

"capping" leitet also die Immunantwort der B-Lymphozyten ein. Dieser Vorgang ist 1983 in zwei Studien von Sultan und Mitarbeitern (1983a, b) in seiner Empfindlichkeit gegenüber HF-Feldern untersucht worden. In einer Studie sind die Autoren (1983b) der Frage nachgegangen, ob die in den  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ - Effluxstudien entdeckten Fenstereffekte hier wirksam sind (Bawin et al., 1975, 1978, Blackman et al., 1979, 1980a, b). Es wurden 147 MHz Felder, die mit 9, 16 und 50 Hz amplitudenmoduliert waren, über ein breites Spektrum von Leistungsdichten 0,11 bis 48 mW/cm<sup>2</sup> an B-Lymphozyten aus der Mäuseniere getestet. Es ließ sich kein Einfluß des Feldes auf das "capping" zeigen. Durch eine Temperaturerhöhung auf 42°C ließ sich das "capping" jedoch unterbinden. In ihrer zweiten Studie sind die Autoren auf die auf thermische Wirkungen eingegangen. Sie konnten eine Temperaturabhängigkeit des "cappings" zeigen, je höher die Temperatur desto weniger Zellen konnten die Antigene konzentrieren. Dabei spielte es keine Rolle ob ein 2450 MHz CW Feld für die Erwärmung verwendet wurde oder auf andere Weise erwärmt wurde. Eine Sensitivität dieses Vorganges für HF-Felder wurde nicht gefunden.

Die hier dargestellten Ergebnisse über die Beeinflussbarkeit des Immunsystems durch HF-Felder erscheinen recht unübersichtlich, wobei hinzugefügt werden muß, daß die Arbeiten nur einen Ausschnitt der hauptsächlich in den frühen 80iger Jahren publizierten Studien darstellen. Einige Parameter lassen sich jedoch herausfiltern. Thermische Wirkungen ließen sich in vielen Fällen zeigen und diese führten zu einer Verminderung der Vermehrungsgeschwindigkeit. Ein großer Teil der Wirkungen, die als athermisch angesehen wurden, traten bei relativ hohen SAR-Werten ein. Diese Werte liegen oberhalb, dessen was unsere Grenzwerte zulassen. Es bleiben jedoch einige Studien wie die von Elekes et al. (1996), von Lyle et al. (1983), Byus et al. (1984) und Czerska et al. (1990), die auch Wirkungen bei relativ niedrigen Feldern gezeigt haben. Die Befunde sind jedoch recht uneinheitlich und lassen sich nicht zu einem klaren Bild zusammenfassen.

## **7. Beeinflussung der Initiation und Promotion von Krebs**

Nach der heutigen Vorstellung beruht die Entstehung einer Krebserkrankung auf einem mehrstufigen Prozess. Am Anfang dieses Prozesses steht die sogenannte Initiation. Hierbei wird im Genom einer Zelle eine Veränderung oder Beschädigung eingeführt. Die meisten Schädigungen können von den Zellen selbst wieder repariert werden. Aber auch eine bestehende Schädigung hat keine Auswirkung, solange das betreffende Gen nicht abgelesen (exprimiert) wird. Dies kann z.T. bis zum Tod der entsprechenden Zelle der Fall sein. Sollte das veränderte Gen jedoch abgelesen werden, so kann seine Veränderung auch eine letale Schädigung der Zelle bewirken, so daß auch hier der Tod der betreffenden Zelle eintritt. Eine andere Möglichkeit besteht jedoch darin, daß die Veränderung des Genoms die Zelle zu unkontrollierter Vermehrung befähigt. Dies kann dann auftreten, wenn das geschädigte Gen Proteine codiert, die an der Wachstumsregulation von Zellen beteiligt sind. Man spricht hier beim ungeschädigten Gen von einem Proto-Onkogen und beim geschädigten von einem Onkogen. Ein Proto-Onkogen codiert im Normalzustand z. B. einen Rezeptor für einen Wachstumsfaktor. Wenn der Wachstumsfaktor an seinen Rezeptor bindet, dann wird die Zelle zur Teilung stimuliert. Der durch ein Onkogen codierte geschädigte Rezeptor kann die Zelle auch zur Teilung anregen, ohne daß der Wachstumsfaktor daran gebunden hat, also permanent.

Zwischen der Initiation und der Expression des geschädigten Genes können Jahre liegen. Hier kann auch der Prozess der Promotion oder Copromotion eine Rolle spielen. Promotoren sind Chemikalien oder Einflußfaktoren, die allein keine schädigende Wirkung erzielen, die jedoch eine schon initiierte Zelle zur Teilung anregen können. Auch später, wenn die Zelle sich schon regelmäßig teilt, können Promotoren die Teilungsgeschwindigkeit noch erhöhen. Manche Promotoren wirken nicht allein sondern nur in Verbindung mit anderen Promotoren, man spricht hier von Copromotion. Weitere Promotoren können dafür sorgen, daß aus dem entstehenden soliden Tumor Zellen auswandern, und es zur Bildung gefährlicher Metastasen kommt.

Auf den verschiedenen Ebenen dieses Geschehens sind auch die schwachen hochfrequenten Felder immer wieder in Verdacht geraten, die Krebsentstehung und Entwicklung zu begünstigen. Allerdings besteht zumindest weitgehende Übereinstimmung, daß die HF-Felder keine direkten Chromosomenschäden verursachen können, wie sie auf der Ebene der ionisierenden Strahlung typisch sind (Repacholi et al., 1996). Dies gilt auch für die Felder der modernen Mobiltelefone. Trotzdem gibt es aus neuerer Zeit anderslautende Ergebnisse. In einer Studie von Lai und Singh (1995) berichten sie, daß an Ratten, die für zwei Stunden in einem Hohlleiter in Feldern von 1 oder 2 mW/cm<sup>2</sup>, Ganzkörper-SAR 0,6 bzw. 1,2 W/kg, exponiert wurden, die Brüche in einem einzelnen Strang der Desoxyribonukleinsäure, DNA zunehmen. Es wurden gepulste und kontinuierliche Felder getestet. Die Gehirne der Tiere wurden entweder sofort nach der Exposition oder vier Stunden später entnommen. Erstaunlicherweise waren die DNA-Brüche nach 4 Stunden ausgeprägter. Diese überraschenden Befunde konnten natürlich nicht unwidersprochen bleiben. In einem Kommentar machte Williams (1996) darauf aufmerksam, daß ein solches Verhalten unerklärlich sei, da die Reparaturenzyme der Zelle eigentlich nach vier Stunden schon etliches wieder repariert haben müßten. Entsprechende Befunde lägen auch für ionisierende Strahlung und chemisch induzierte Chromosomenschäden vor. In ihrer Entgegnung führen Lai und Singh (1996) an, daß ein ähnliches Verhalten wie in ihren Experimenten, nämlich ein zunehmender Anstieg der Chromosomenschäden nach der Exposition im schädigenden Umfeld, sehr wohl schon von anderen gesehen wurde. Sie glauben, daß dieser Effekt auf die mit zwei Stunden relativ lange Exposition zurückzuführen ist. Bis die Befunde reproduziert wurden wird diese Frage ungeklärt und offen bleiben.

Neben dem Mechanismus der Krebsinitiation existieren auch eine Reihe von Studien, die sich mit der Krebspromotion beschäftigen. In diese Gruppe von Studien sind auch solche einzuordnen, die sich mit der Vermehrung von Lymphozyten unter der Einwirkung eines Feldes beschäftigen. Die Vorstellung kann hier eine doppelte sein, werden die Lymphozyten z.B. durch Interleukin (s.o.) zu einer Immunantwort stimuliert, dann vermehren sie sich. Wird diese Vermehrung durch das Feld beschleunigt, dann würde die Immunantwort begünstigt. Wird die Vermehrung von bereits entarteten Zellen durch ein Feld beschleunigt, dann kommt es zu einem schnelleren Wachstum eines Tumors. Da diese Studien schon im letzten Kapitel ausführlich vorgestellt und bewertet wurden, kann auf eine Besprechung in diesem Abschnitt verzichtet werden.

Ein wichtiger Marker für die Entartung von Zellen ist die Ornithin Decarboxylase, ODC; denn dieses Enzym wird bei Zellen, die aus ihrem Normalzustand in eine unkontrollierte Vermehrung übergehen vorher hochreguliert (Auvinen et al., 1992). Die Menge an ODC in Zellen wird also als Marker für den physiologischen Zustand der Zellen angesehen.

Eine Veränderung der ODC unter dem Einfluß von HF-Feldern könnte also gesundheitlich relevant sein.

Über die Veränderung der ODC unter HF-Feldern existieren einige Untersuchungen. Byus et al. publizierten 1988 die erste Studie auf diesem Gebiet. Drei Zelllinien Leberkarzinomzellen, Ovarkarzinomzellen und Melanomzellen wurden einem 450 MHz Feld mit 16 Hz sinusförmig amplitudenmoduliert bei einer Leistungsflußdichte von 1 mW/cm<sup>2</sup> für eine 1 Stunde ausgesetzt. In allen drei Zelllinien ergab sich ein signifikanter Anstieg, bis 50%, der ODC-Aktivität. Auch die durch Phorbol ester stimulierte ODC-Aktivität ließ sich durch das Feld weiter steigern.

In einer kürzlich erschienenen Untersuchung von Penafiel et al. (1997) wurde der Einfluß von 835 MHz Feldern auf die ODC von kultivierten Fibroblasten, Bindegewebszellen, der Zelllinie L929, untersucht. Es wurden eine ganze Reihe von Modulationsmustern getestet unter anderem Frequenzmodulation, Amplitudenmodulation und Pulsmodulation. Die Frequenz- und die Pulsmodulation entsprachen den US-Normen (AMPS und TDMA) für Mobiltelefone. Die SAR-Werte schwankten zwischen 1 und 3 W/kg innerhalb der Anordnung in der TEM-Zelle. Die Expositionszeiten wurden zwischen 2 und 24 Stunden variiert. Unter einigen der getesteten Bedingungen kam es zu einem Anstieg der ODC auf das 1,5 - 2 fache und zwar bei 16 und 60 Hz Amplitudenmodulation bei 50 Hz Pulsung und bei einer Pulsung nach dem TDMA Standard. Frequenzmodulierte Signale zeigten keinen Einfluß. Bei einer Untersuchung der CW-Felder ergab sich bei unterschiedlichen Expositionszeiten 2, 4, 8, 12, 16, 24 h kein Anstieg der ODC-Aktivität nur bei 6 h Expositionszeit zeigte sich ein 30%iger Anstieg, der signifikant war. Ob dieser Befund falsch positiv war, wird diskutiert. Die Autoren bestätigen damit Befunde aus ihrer älteren Arbeit (Litovitz et al., 1993), in der sie bei 8 h Exposition keinen Effekt von CW-Feldern gefunden haben. Penafiel et al. (1997) interpretieren ihre Befunde so, daß eine regelmäßige niederfrequente Veränderung des hochfrequenten Trägers wesentlich für die Steigerung der ODC-Aktivität ist.

Besonders herausgehoben werden soll aufgrund ihrer Aktualität hier eine Serie von drei Publikationen haben aus der Arbeitsgruppe von Adey, in der die Wirkung der Felder der Mobiltelefone auf verschiedene zelluläre Parameter getestet wurde (Ivaschuk et al., 1997; Stagg et al., 1997; Cain et al., 1997).

In einer Arbeit (Ivaschuk et al., 1997) wurde die Expression der Proto-Onkogene *c-fos* und *c-jun* in der Nervenzelllinie PC12 durch den Wachstumsfaktor "nerve cell growth factor", NGF, stimuliert. Dann wurden die Zellen einem TDMA-Feld mit 0,09, 0,9 und 9 mW/cm<sup>2</sup> in einer TEM-Zelle für 20, 40 und 60 min ausgesetzt. Bei 0,9 mW/cm<sup>2</sup> werden SAR-Werte zwischen 0,5 und 4,8 mW/kg in der TEM-Zelle erreicht. Das Feld wurde nach jeweils 20 min für 20 min ausgeschaltet und dann wieder für 20 min angeschaltet, um so die unterbrochene Exposition beim Telefonieren zu simulieren. Es wurde kein Einfluß auf die *c-fos* Expression festgestellt, aber die *c-jun* Expression wurde bei dem höchsten SAR nach 20 min Exposition um 40% reduziert. Diese Reduktion ist nach Meinung der Autoren möglicherweise ohne physiologische Relevanz.

In der zweiten Studie dieser Serie (Stagg et al., 1997) wurde untersucht ob die TDMA-Felder eine Promotion bei Gliomazellen, also Zellen eines Hirntumors, auslösen können. Die Expositionseinrichtung war die gleiche wie bei Ivaschuk et al. (1997). Die SAR-Werte lagen zwischen 0,15 und 59 mW/kg. Bei diesen Versuchen wurde zwischen vier Stunden und 14 Tagen exponiert. Es konnte kein Unterschied im Wachstum zwischen den scheinexponierten Kulturen und den exponierten festgestellt werden. Unter einer

Expositionsbedingung konnte zwar ein erhöhter  $^3\text{H}$ -Thymidin-Einbau beobachtet werden. Dies führte jedoch nicht zu einem erhöhten Zellwachstum. Ein etwas überraschender Befund, da er auch frühere Experimente, die nur den  $^3\text{H}$ -Thymidin-Einbau als Parameter für die Vermehrung eingesetzt haben, zweifelhaft erscheinen läßt (Cleary et al., 1990).

In der dritten Studie aus dieser Serie (Cain et al., 1997) wurde die Fähigkeit der TDMA-Felder überprüft, eine Krebspromotion über den Mechanismus einer Copromotion zu begünstigen.

Das eingesetzte Zellmodell für die Copromotion besteht aus einer gemeinsamen Kultur von zwei unterschiedlichen Fibroblastenzelllinien. Einmal die 10T1/2 Fibroblastenzelllinie. Diese Zellen werden gemeinsam mit einer mutierten Zelllinie UV-TDT10e (10e) kultiviert. Die 10e Zellen sind aus der 10T1/2 Zelllinie entstanden. Unter normalen Bedingungen hemmen die 10T1/2 Zellen ein überschießendes Wachstum der 10e Zellen. In Anwesenheit von Tumorpromotoren, wie Phorbolestern, wird der hemmende Einfluß der 10T1/2 Zellen jedoch aufgehoben, und die 10e Zellen beginnen, stark zu wuchern. Das Wachstum der 10e Zellen kann also als Maß für die Anwesenheit von Tumorpromotoren genommen werden. Die Expositionseinrichtung war wieder die gleiche wie bei Ivaschuk et al. (1997), die SAR-Werte ähnelten denen von Stagg et al. (1997). Das Feld wurde immer 20 min angeschaltet und 20 min abgeschaltet, 24 Stunden am Tag 28 Tage lang. Es zeigte sich kein Einfluß des Feldes auf das Wachstum der 10e Zellen. Der als Positivkontrolle eingesetzte Tumorpromotor, ein Phorbolster, wirkte Dosis abhängig auf das Wachstum der 10e Zellen. Auch in Kombination mit dem Phorbolster hatten die TDMA-Felder keine Wirkung.

Die drei Studien aus der Arbeitsgruppe von Adey lassen also keine Wirkung der TDMA-Felder vermuten. Im Gegensatz zu den Studien, die sich mit der ODC beschäftigen. Auf dem Gebiet der Initiation und der Promotion von Krebs sind schon häufig umfangreiche Tierversuche vorgenommen worden, die hier hier in ihrer chronologischen Reihenfolge vorgestellt werden sollen. Zusätzlich wurden sie in einer Tabelle zusammengefaßt. In einer ersten derartigen Studie haben Szmigielski et al. (1982) das spontane Auftreten von Brusttumoren und das induzierte Auftreten von Hautkrebs an Mäusen untersucht. Für das Studium der Brusttumoren wurde ein Mäusestamm eingesetzt, der diese Tumorart spontan entwickelt. Die Mäuse wurden für ein Jahr sechsmal die Woche jeweils 2 h einem Feld von 2450 MHz mit einer Leistungsdichte von 5 und 15 mW/cm<sup>2</sup> SAR 2-3 W/kg bzw. 6-8 W/kg ausgesetzt. Es wurden drei Arten von Kontrollen mitgeführt: 1. Mäuse, die im normalen Käfig gehalten wurden, 2. Mäuse, die scheinexponiert wurden, 3. Mäuse, die in besonders engen Käfigen gehalten wurden. Diese enge Haltung bedeutet für die Tiere Stress und macht sie aggressiv. Die Tiere im Feld entwickelten alle schneller Tumoren als die aus dem normalen Käfig und die scheinexponierten. Allerdings zeigten auch die Tiere aus den engen Käfigen eine ähnliche Verstärkung im Auftreten von Tumoren wie die mit geringeren Feld. Inwieweit es sich bei den Tieren aus dem Feld, um einen athermischen Einfluß handelt, diskutieren die Autoren ausführlich, besonders da sie keine rektale Temperaturerhöhung fanden.

In einer kleinen Studie, nur 15 Tiere pro Gruppe, fanden Santini et al. 1988 keinen Einfluß eines HF-Feldes auf die Entwicklung von implantiertem Melanom. Die Feldbedingungen ähnelten denen von Szmigielski et al. (1982) allerdings wurde nur ein etwas niedrigerer SAR-Wert 1,2 W/kg, Leistungsdichte 1 mW/cm<sup>2</sup> getestet. Die Autoren konnten keinen Einfluß des Feldes nachweisen. Dies könnte nach Meinung der Autoren

auf die etwas geringere Leistung des Feldes als bei Szmigielski et al. (1982) zurückzuführen sein. Meiner Meinung nach jedoch eher auf das geringere statistische Auflösungsvermögen wegen der kleinen Gruppengrößen.

In einer sehr ausführlichen Studie haben Chou und Mitarbeiter (1992) jeweils 100 Ratten im Vergleich Feld gegen Scheinexposition, für 25 Monate untersucht. Ziel der Studie war zu untersuchen, ob eine Reihe von physiologischen Meßgrößen, die das Körpergewicht, die Verdauung, die Harnabgabe, die Blutzusammensetzung, die Immunantwort, den Spiegel einiger Hormone und vieles andere betrafen, in ihrer Beeinflußbarkeit durch ein HF-Feld zu verfolgen. Am Ende des Versuches wurden die Tiere ausführlich histopathologisch untersucht. Die Tiere wurden täglich 21.5 h sieben Tage die Woche einem Feld von 2450 MHz mit 8 Hz rechteckmoduliert und gepulst, 10 s Pulsweite, 800 Pulse/S, ausgesetzt. Der mittlere SAR-Wert betrug 0,4 W/kg am Anfang und 0,15 W/kg am Ende des Versuches. Bei gleichbleibendem Feld reduziert sich der SAR wegen der Gewichtszunahme der Tiere. Diese sehr umfangreiche und extrem sorgfältig geplante Untersuchung konnte außer einem leicht erhöhtem O<sub>2</sub> - Konsum junger Ratten keinen Einfluß des Feldes auf die physiologischen Parameter nachweisen. Allerdings zeigte sie in der pathologischen Untersuchung ein häufigeres Auftreten von Tumoren in den Tieren, die dem Feld ausgesetzt waren. Es ergibt sich hier eine Signifikanz, wenn man alle spontan aufgetretenen Tumoren zusammenfaßt. Ein Befund der allerdings wegen des relativ seltenen Auftretens von spontanen Tumoren auf nur geringen Zahlen basiert. Nach Meinung der Autoren sollte hier jedoch weiter geforscht werden. Es wird eine weitere Gruppe genannt, die jedoch, soweit mir bekannt ist, noch keine Ergebnisse vorgelegt hat.

In einer Studie von Salford und Mitarbeitern (1993) wurde die Entwicklung von induzierten Hirntumoren in Ratten verfolgt. Die Feldbedingungen ähnelten denen bei der Blut/Hirnschranken Untersuchung der gleichen Gruppe (Salford et., 1992). Die Autoren konnten keinen Einfluß auf das Wachstum der induzierten Hirntumoren finden. Allerdings wurden die eingesetzten 72 Ratten, 36 im Feld und 36 Kontrollen, auf je sechs Gruppen aufgeteilt in denen unterschiedliche Pulsmuster 4, 8,33, 16, 50, 217 Hz und CW Felder angewendet wurden. Die Gruppengrößen sind so gering gewesen, daß nur riesige Einflüsse hätten nachgewiesen werden können. Derartige Einflüsse sind jedoch kaum zu erwarten.

Eine chinesische Arbeitsgruppe hat den Einfluß eines 2450 MHz Feldes SAR 10-12 W/kg auf die Promotion von induzierten Colonicarcinomen untersucht (Wu et al., 1994). Die Tiere, gleicher Stamm wie von Szmigielski et al. (1982) für die Hauttumoren verwendet, wurden drei Stunden täglich sechs Tage pro Woche exponiert. Verglichen wurden vier Gruppen von Tieren: 1. Als Kontrollen Tiere ohne Tumorinitiation und ohne Feld, 2. als weitere Kontrollen Tiere mit Tumorinitiation, 3. als Test Tiere mit Tumorinitiation und Feldexposition, 4. als Positivkontrollen Tiere mit Tumorinitiation und chemischem Promotor, Phorbol ester. In jeder Gruppe waren ca. 30 Tiere. Es konnte kein Einfluß des Feldes nachgewiesen werden, jedoch ein Einfluß des chemischen Promotors.

1996 wurde eine erste Studie vorgestellt, die sich direkt mit dem Einfluß der Felder des Mobilfunkes nach U.S.-Norm, TDMA-Standard, beschäftigt. Es wurde die Initiation und die Promotion von Hirntumoren verfolgt in Ratten verfolgt (Adey et al., 1996). Die Tiere wurden auf vier Gruppen zu je 59 aufgeteilt: 1. Kein Feld, keine Tumorinduktion, 2. Exposition im Feld, keine Tumorinduktion, 3. Kein Feld, Tumorinduktion, 4. Exposition im Feld, Tumorinduktion. Die Tiere wurden bereits im Mutterleib im Fernfeld exponiert

und anschließend ab dem 35 Tag nach der Geburt wurden die Tiere viermal wöchentlich für je zwei Stunden 22 Monate lang einem Nahfeld ausgesetzt oder die Tiere befanden sich in der Apparatur ohne, daß das Feld angeschaltet wurde. Nach Abschluß des Versuches wurden die Tiere pathologisch untersucht. Das Ergebnis zeigte, daß das Auftreten und das Wachstum der Tumoren sich durch den Aufenthalt im Feld nicht statistisch signifikant beeinflussen ließ. Es gab aber kleine statistisch nicht signifikante Unterschiede, die besagten, daß das Auftreten von Tumoren bei Tieren, die nicht im Feld waren, erhöht war.

Eine weitere sehr große Studie wurde von Repacholi und Mitarbeitern wurde kürzlich vorgestellt (Repacholi et al., 1997). 201 E -*Pim 1* transgene Mäuse wurden für bis zu 18 Monate untersucht. Die Mäuse exprimieren das Gen des Protoonkogens, *Pim 1*, in ihren lymphoiden Zellen. Damit nicht alle Tiere schnell an lymphoiden Tumoren erkrankten wurden nicht genetisch veränderte Tiere eingekreuzt. Die so entstandene Linie sollte nach der Erfahrung unter Kontrollbedingungen innerhalb von 18 Monaten bei 15% der Tiere lymphoide Tumoren entwickeln. Die Tiere, die an dem Versuch teilnahmen, wurden in zwei Gruppen aufgeteilt: 1. 100 Tiere wurden als Kontrolle scheinexponiert, 2. 101 Tiere wurden zweimal täglich für 30 min dem Feld eines Mobiltelefones der GSM-Norm ausgesetzt. Die mittleren SAR-Werte lagen zwischen 0,13 und 1,4 W/kg. In der Gruppe der exponierten Tiere traten Lymphome wesentlich häufiger auf als in der Gruppe der nicht exponierten Tiere. Die "odds ratio" war um einen Faktor von 2,4 erhöht. Es traten zunächst T-Zell Lymphome auf später traten dann andere Lymphome auf, die sich nicht exakt klassifizieren ließen, die jedoch wahrscheinlich B-Zell-Lymphome darstellen.

Alle hier behandelten Tierversuche zur Krebsinitiation und Promotion sind in einer Tabelle vergleichend dargestellt.

Tabelle: Es sind die Studien mit Tierversuchen zur Initiation und Promotion von Tumoren durch HF-Felder durchgeführten Studien vergleichend aufgelistet.

Autoren	Feld	SAR-Werte	Exposition	Tumortyp	Tiere/Gruppe	Ergebnis
Szmigielski et al. (1982)	2450 MHz CW	2-3 / 6-8 W/kg	6 x /Woche je 2 h	Brustkrebs, Hautkrebs	40 Mäuse 40 Mäuse	+
Santini et al. (1988)	2450 MHz CW gepulst 10 ms	1,2 W/kg	6 x / Woche je 2,5 h	Melanom	15 Mäuse	-
Chou et al. (1992)	2450 MHz gepulst + 8 Hz mod	0,4 - 0,15 W/kg	7 x / Woche je 21,5 h	alle spontanen Karzinome	100 Ratten	+
Salford et al. (1993)	915 MHz CW gepulst 4, 8,33, 16, 50, 217	0,007 - 1 W/kg je nach Muster	5 x / Woche je 7 h	Gliom	4-11 Ratten	-
Wu et al. (1994)	2450MHz CW	10-12 W/kg	6 x Woche je 3 h	Colon- Karzinom	30 Ratten	-

Adey et al. (1996)	835 MHz TDMA	0,035 - 0,75 W/kg	4 x Woche je 2 h	Hirntumor	59 Ratten	-
Repacholi et al. (1997)	900 MHz GSM	0,13- 1,4 W/kg	täglich 2 x 30 min	Lymphome	100 Mäuse	+

### **Abschließende Bewertung**

Die Fülle des vorhandenen Materials zur Wirkung hochfrequenter Felder auf Zellen und Organismen lässt sich natürlich in vielfältiger Weise interpretieren. Somit kann eine solche Schlußfolgerung nie frei von subjektiven Faktoren sein. Dies sollte man beim Lesen des letzten Teils dieser Literaturzusammenfassung kritisch berücksichtigen. Ein weiterer bedenkenswerter Punkt ist, daß die Existenz von Effekten, also Veränderungen von biologischen Parametern unter dem Einfluß hochfrequenter elektromagnetischer Felder, nicht unbedingt gesundheitsrelevant sein muß. Wenn ein gesundheitsrelevanter Einfluß vorliegt, dann muß noch entschieden werden, ob er die Gesundheit positiv oder negativ beeinträchtigt. Die Aufgabe dieses bersichtartikels ist nicht zu entscheiden, ob gesundheitsrelevante Einflüsse vorliegen, sondern nur herauszuarbeiten, auf welchen Gebieten überhaupt Effekte der Felder relativ sicher nachgewiesen wurden.

Ein großer Teil der Messungen zur Beeinflussung der Kalziumhomöostase zeigte, in den Effluxmessungen Frequenzfenster und Leistungsfenster. Diese Untersuchungen bilden einen großen Block, der nicht widerlegt wurde, im Gegenteil die Befunde mehrerer Arbeitsgruppen ergänzen sich. In den letzten Jahren wurden diese Untersuchungen nicht mehr erweitert. Dies liegt sicherlich auch daran, daß Effluxmessungen nicht mehr dem modernen methodischen Standard entsprechen. Mit modernen Methoden sind diese Messungen bisher nicht bestätigt worden. Solange diese Befunde allerdings nicht widerlegt sind, müssen sie als gültig angesehen werden. Dies gilt auch, wenn die Existenz der Fenster weder logisch erscheint, noch theoretisch gut untermauert ist. Die Beeinflussung der Permeabilität und Leitfähigkeit von Zellmembranen durch HF-Felder scheint wesentlich einfacher einzuschätzen zu sein. Eine große Zahl positiver Befunde aus den 80ziger Jahren an Schneckenneuronen scheint widerlegt. Die verbleibenden positiven Befunde sind bisher als Einzelbefunde einzustufen, die weder reproduziert wurden, noch in einen größeren Zusammenhang einzuordnen sind. Thermische Abhängigkeiten sind auf diesem Gebiet selbstverständlich.

Auch bei der Beeinflussung des Herzschlages sind die Verhältnisse recht klar. Die meisten älteren Arbeiten zur Veränderung der Frequenz des Herzens lassen sich auf Artefakte zurückführen. Es existiert entsprechend auch nur eine Arbeit aus neuerer Zeit, die solch einen Einfluß der hochfrequenten Felder vermuten läst. Eine Bestätigung des Befundes fehlt. Bei der zweiten Frage, nämlich der Beeinflussung der sogenannten elektromechanischen Koppelung, die sich in der Kontraktionskraft des Herzens manifestiert, gibt es ebenfalls keine Befunde, die mehrfach bestätigt wurden. Negative Befunde überwiegen eher.

Die Beeinflussung der Blut/Hirnschranke ist ebenfalls ein früher häufig untersuchter Parameter.

Die älteren Untersuchungen scheinen widerlegt zu sein. Eine neuere Arbeit mit den GSM-Feldern ist positiv. Auch hier fehlt noch eine weitere Bestätigung.

Bei der Frage, ob das Immunsystem sensitiv für hochfrequente elektromagnetische Felder ist, ist die Situation wesentlich unübersichtlicher. Eine Reihe von Befunden auch mit niedrigen SAR-Werten waren positiv, auch Modulationsfenster ähnlich denen bei

den Kalziummessungen wurden gefunden. Allerdings ist auch hier kein einheitlicher Trend erkennbar, in dem mehrere Arbeiten sich gegenseitig bestätigen. Inwieweit HF-Felder Krebsinitiation und Promotion stimulieren, läßt sich bei der Initiation recht klar beantworten. Dies wird trotz vereinzelter anderslautender Befunden generell für unwahrscheinlich gehalten. Im Gegensatz dazu läßt sich eine promovierende Wirkung sich sowohl aus in vitro wie in vivo Studien herauslesen.

### **Literatur:**

Adey, W.R. (1980) Frequency and power windowing in tissue interactions with weak electromagnetic fields. Proc IEEE 69, 119-125.

Adey, W.R. (1981) Tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields. Physiol Rev 61, 435-514.

Adey, W.R. (1988) Effects of microwaves on cells and molecules. Nature 333, 401.

Adey, W.R. (1990) Electromagnetic fields and the essence of living systems. In: Andersen, JB (Hrsgb.). Modern Radio Science. Oxford University Press, Oxford U.K., 1-36

Adey, W.R. (1997) Bioeffects of mobile communications fields. In: Kuster, N., Balzano, Q., Lin, J.C. (Hrsgb.). Telecommunications technology and applications, series 4. Mobile communications safety. Chapman & Hall, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, 95-133.

Adey, W.R., Bawin, S.M. (1980) Nonequilibrium process in binding and release of brain calcium by low-level electromagnetic fields. In: Blank M. (Hrsgb.) Advances in Chemistry 188. Bioelectrochemistry: Ions, Surfaces, Membranes, 361-378

Adey, W.R., Bawin, S.M. (1982) Binding and release of brain calcium by low-level electromagnetic fields: a review. Radio Sci 17, 149S-157S.

Adey, W.R., Bawin, S.M., Lawrence, A.F. (1982) Effects of weak amplitude-modulated microwave fields on calcium efflux from awake cat cerebral cortex. Bioelectromagnetics 3, 295-302.

Adey, W.R., Byus, C.D., Cain, W., Haggren, R.J., Higgins, R.A., Jones, C.J., Kuster, N., MacMurrey, A., Phillips, J.L., Stagg, R.B., Zimmermann, G (1996) Brain tumor incidence in rats chronically exposed to digital cellular telephone fields in an initiation-promotion model. Abstract Book 18th BEMS-Meeting, Victoria, 27.

Alekseev, S.I., Ziskin, M.C. (1995) Millimeter microwave effect on ion transport across lipid bilayer membranes. Bioelectromagnetics 16, 124-131.

Alekseev, S.I., Ziskin, M.C., Kochetkova, N.V., Bolshakov, M.A. (1997) Millimeter waves thermally alter the firing rate of the *Lymnaea* pacemaker neuron. Bioelectromagnetics 18, 89-98.

Arber, S.L. (1985) Microwave enhancement of membrane conductance: calmodulin hypothesis. Physiol Chem Physics Med NMR 17, 227-233.

- Arber, S.L. Lin, J.C. (1983) Microwave enhancement of membrane conductance in snail neurons: role of temperature. *Physiol Chem Physics Med NMR* 15, 259-260.
- Arber, S.L. Lin, J.C. (1984) Microwave enhancement of membrane conductance: effects of EDTA, caffeine and tetracaine. *Physiol Chem Physics Med NMR* 16, 469-475.
- Auvinen, M., Paasinen, A., Andersson, L.C, Hölttä, E., (1992) Ornithine decarboxylase activity is critical for cell transformation. *Nature* 360, 355-358.
- Bawin, S.M, Adey, W.R., Sabbot, I.M. (1978b) Ionic factors in release of  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  from chicken cerebral tissue by electromagnetic fields. *Proc Natl Acad Sci USA* 75, 6314-6318.
- Bawin, S.M., Gavalas-Medici, R.J., Adey, W.R. (1973) Effects of modulated VHF fields on specific brain rhythms in cats. *Brain Res* 58, 365-384.
- Bawin, S.M., Kacmarek, L.K., Adey, W.R. (1975) Effects of modulated VHF fields on the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 247, 74-81.
- Bawin, S.M, Sheppard, A.R., Adey, W.R. (1978a) Possible mechanism of weak electromagnetic field coupling in brain tissue. *Bioelectrochem Bioenerg* 5, 67-78.
- Bean RC, Shepherd WC, Chan H, Eichner J (1969) Discrete conductance fluctuations in lipid bilayer protein membranes. *J Gen Physiol* 53, 741-757.
- Bergqvist, B., Arvidsson, L., Pettersson, E., Galt, S., Saalman, E., Hamnerius, Y., Norden, B. (1994) Effect of microwave radiation on permeability of liposomes. Evidence against non-thermal leakage. *Biochim Biophys Acta* 1201, 51-54.
- Bernardi, P., D'Inzeo, G., Eusebi, F., Tamburello, C.C. (1989) The patch-clamp technique in the study of electromagnetic field effects on biological structures. *Alta Frequenza* 58, 355-360.
- Blackman, C.F., Benane, S.G., Elder, J.A., House, D.E., Lampe, J.A., Faulk, J.M. (1980a): Induction of calcium-ion efflux from brain tissue by radiofrequency radiation: Effect of sample number and modulation frequency on the power density-window. *Bioelectromagnetics* 1: 35-43
- Blackman, C.F., Benane, S.G., 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.
- Blackman, C.F., Benane, S.G., House, D.E., Elliot, D.J. (1990) Importance of alignment between local DC magnetic field and an oscillating magnetic field in responses of brain tissue in vitro and in vivo. *Bioelectromagnetics* 11, 159-167.
- Blackman, C.F., Benane, S.G., Joines, W.T., Hollis, M.A., House, D.E. (1980b) Calcium-ion efflux from brain tissue: power-density vs. internal field-intensity dependencies at 50-MHz RF radiation. *Bioelectromagnetics* 1, 277-283.
- Blackman, C.F., Benane, S.G., Rabinowitz, J.R., House, D.E., Joines, W.T. (1985) A role for the magnetic field in the radiation-induced efflux of calcium ions from brain tissues in vitro. *Bioelectromagnetics* 6, 327-337.

- Blackman, C.F., Elder, J.A., Weil, C.M., Benane, S.G., Eichinger, D.C., House, D.E. (1979) Induction of calcium-ion efflux from brain tissue by radiofrequency radiation: effect of modulation frequency and field strength. *Radio Sci* 14, 93-98.
- Blackman, C.F., House, D.E., Benane, S.G., Joines, W.T., Spiegel, R.J. (1988) Effect of ambient levels of power-line-frequency electric fields on a developing vertebrate. *Bioelectromagnetics* 9, 129-140.
- Byus, C.V., Kartun, K., Pieper, S., Adey W.R. (1988) Increased ornithine decarboxylase activity in cultured cells is exposed to low energy modulated microwave fields and phorbol ester tumor promoters. *Cancer Res.* 48, 4222-4226.
- Byus, C.V., Lundak, R.L., Fletcher, R.M., Adey W.R. (1984) Alterations in protein kinase activity following exposure of cultured human lymphocytes to modulated microwave fields. *Bioelectromagnetics* 5, 341-351.
- Caddemi, A., Tamburello, C.C., Zanforlin, L., Torregrossa, M.V. (1986) Microwave effects on isolated chick embryo hearts. *Bioelectromagnetics* 7, 359-367.
- Cain, C.D., Thomas, D.L., Adey, W.R. (1997) Focus formation of C3H/10T1/2 cells and exposure to a 836.55 MHz modulated radiofrequency field. *Bioelectromagnetics* 18, 237-243.
- Chou, C.-K., Guy, A.W., Kunz, L.L., Johnson, R.B., Crowley, J.J., Krupp, J.H. (1992) Long-term, low-level microwave irradiation of rats. *Bioelectromagnetics* 13, 469-496.
- Cleary, S.F., Liu, L.M., Garber, F. (1985) Viability and phagocytosis of neutrophils exposed in vitro to 100-MHz radiofrequency radiation. *Bioelectromagnetics* 6, 53-60.
- Cleary, S.F., Liu, L.M., Merchant R.E. (1990) In vitro lymphocyte proliferation induced by radio-frequency electromagnetic radiation under isothermal conditions. *Bioelectromagnetics* 11, 47-56.
- Cleary, S.F., Du Z., Cao, G., Liu, L.M., McCrady, C. (1996) Effect of isothermal radiofrequency radiation on cytolytic T lymphocytes. *FASEB J* 10, 913-919.
- Czerska, E.M., Elson, E.C., Davis, C.C., Swicord, M.L., Czerski, P. (1992) Effects of continuous and pulsed 2450-MHz radiation on spontaneous lymphoblastoid transformation of human lymphocytes in vitro. *Bioelectromagnetics* 13, 247-259..
- Dutta, S.K., Subramoniam, A., Ghosh, B., Parshad, R. (1984) Microwave radiation-induced calcium ion efflux from human neuroblastoma cells in culture. *Bioelectromagnetics* 5, 71-78.
- Dutta, S.K., Ghosh, B., Blackmann, C.F. (1989) Radiofrequency radiation-induced calcium ion efflux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture. *Bioelectromagnetics* 10, 197-202.
- Elekes, E., Thuróczy, G., Szabó, L. (1996) Effect on the immune system of mice exposed chronically to 50 Hz amplitude-modulated 2.45 GHz microwaves. *Bioelectromagnetics*. 17, 246-248.
- Field, A.S., Ginsburg, K., Lin J.C. (1993) The effect of pulsed microwaves on passive electrical properties and interspike intervals of snail neurons. *Bioelectromagnetics* 14, 503-520.

Foster, K. R., Pickard, W.F. (1987) Microwaves: the risks of risk research. *Nature* 330, 531-532.

Frey, A.H., Seifert, E. (1968) Pulse modulated UHF energy illumination of the heart associated with changes in heart rate. *Life Sci* 7, 505-512.

Frey, A.H., Feld, S.R., Frey, S. (1975) Neural function and behaviour; defining the relationship. *Ann NY Acad Sci* 247, 433-439.

Furmaniak, A. (1983) Quantitative changes in potassium, sodium, and calcium in the submaxillary salivary gland and blood serum of rats exposed to 2880-MHz microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 4, 55-62.

Galvin, M.J., Dutton, M.S., McRee, D.J. (1982) Influence of 2.45-GHz CW microwave radiation on spontaneously beating rat atria. *Bioelectromagnetics* 3, 219-226.

Hamill, O.P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., Sigworth, F.J. (1981) Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recordings from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch* 391, 85-100.

Hansen, V., Kammerer, H., Wilczewski, F., Boheim, G.H., Meder, S., Wienand, A. (1996) Untersuchungen zum Einfluß von modulierten Hochfrequenz-Feldern auf Zellmembranen. *Kleinheubacher Berichte*.

Ivaschuk O.I., Jones, R.A., Ishida-Jones, T., Haggren W., Adey, W.R. (1997) Exposure of nerve growth factor-treated PC12 rat pheochromocytoma cells to a modulated radiofrequency field at 836.55 MHz: effects on c-jun and c-fos expression. *Bioelectromagnetics* 18, 223-229.

Kim, Y.A., Fomenko, B.S., Agafonova, T.A., Akoev, I.G. (1985) Effects of microwave radiation (340 and 900 MHz) on different structural levels of erythrocyte membranes. *Bioelectromagnetics* 6, 305-312.

Klitzing v L, Janz N (1996) Wirkung gepulster Magnetfelder auf den  $Ca^{2+}$ -Einstrom in Zellen. *Tagungsband Med. Physik, Graz* 111-112

Kullnick, U. (1992) Influence of weak non-thermic highfrequency electromagnetic fields on the resting potential of nerve cells. *Bioelectrochem Bioenerg* 27, 293-304.

Kuster, N., Balzano, Q., Lin, J.C. (1997) Telecommunications technology and applications, series 4. Mobile communications safety. Chapman & Hall, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.

Lai, H., Singh, N.P. (1995) Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 16, 207-210.

Lai, H., Singh, N.P. (1996) Reply to "comment on 'acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells'". *Bioelectromagnetics* 16, 207-210.

Leitgeb, N. (1991) Strahlen, Wellen, Felder. Ursachen und Auswirkungen auf Umwelt und Gesundheit. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, und Deutscher Taschenbuch Verlag, München.

Lin, J.C., Arber, S.L. (1983) Noise-modulated-microwave-induced response in snail neurons. *Physiol Chem Phys Med NMR* 15, 261-263.

- Lin, J.C., Lin, M.F. (1980) Studies on microwave and blood-brain barrier interaction. *Bioelectromagnetics* 1, 313-323.
- Lin-Liu, S., Adey, W.R. (1982) Low-frequency, amplitude-modulated microwave fields change calcium efflux rates from synaptosomes. *Bioelectromagnetics* 3, 309-322.
- Litovitz, T.A., Krause, D., Penafiel, M., Elson, E.C., Mullins, J.M. (1993) The role of coherence time in the effect of microwaves on ornithine decarboxylase activity. *Bioelectromagnetics* 14, 395-403.
- Lyle, D.B., Schechter, P., Adey, W.R., Lundak, R.L. (1983) Suppression of T-lymphocyte cytotoxicity following exposure to sinusoidally amplitude-modulated fields. *Bioelectromagnetics* 4, 281-292.
- Meyer, R., v. Westphalen, C., Wolke, S., Streckert, J., Kammerer, H., Hansen, V. (1996) The influence of high-frequency electromagnetic fields on the membrane currents of isolated cardiac myocytes. Abstract Book 18th BEMS-Meeting, Victoria, 11.
- Miura M, Okada J (1991) Non-thermal vasodilatation by radio frequency burst-type electromagnetic field radiation in the frog. *J Physiol* 435, 257-273
- Miura M, Takayama K, Okada J (1993) Increase of nitric oxide and cyclic GMP of rat cerebellum by radio frequency burst-type electromagnetic field radiation. *J Physiol* 461, 513-524
- Neubauer, C., Phelan, A.M., Kues, H., Lange, D.G. (1990) Microwave irradiation of rats at 2.45 GHz activates pinocytotic-like uptake of tracer by capillary endothelial cells of cerebral cortex. *Bioelectromagnetics* 11, 261-268.
- Nimtz, G., Mäcker, S. (1994) *Elektrosmog, die physikalische Wirkung elektromagnetischer Strahlung*. Meyers Forum, Bibliographisches Institut Taschenbuchverlag, Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich.
- Noble, D. (1984) The surprising heart: a review of recent progress in cardiac electrophysiology. *J Physiol* 353, 1-50.
- Olsen, R.G., Lords, J.L., Durney, C. H. (1977) Microwave-induced chronotropic effects in the isolated rat heart. *Ann Biomed Eng* 5, 395-409.
- Oscar, K.J., Hawkins, D.T. (1977) Microwave alteration of the blood-brain barrier system of rats. *Brain Res* 126, 281-293.
- Pakhomov, A.G., Dubovick, B.V., Degtyariov, I.G., Pronkevich, A.N. (1995a) Microwave influence on the isolated heart function: Effect of modulation. *Bioelectromagnetics* 16, 241-249.
- Pakhomov, A.G., Dubovick, B.V., Degtyariov, I.G., Pronkevich, A.N. (1995a) Microwave influence on the isolated heart function: Combined effect of radiation and some drugs. *Bioelectromagnetics* 16, 250-254.
- Penafiel, M.L., Litovitz, T., Krause, D., Desta, A., Mullins, J.M. (1997) Role of modulation on the effect of microwaves on ornithine decarboxylase activity in L929 cells. *Bioelectromagnetics* 18, 132-141.

- Preston, E., Vavasour, E.J., Assenheim, H.M. (1979) Permeability of the blood-brain barrier to mannitol in the rat following 2450 MHz microwave irradiation. *Brain Res* 174, 109-117.
- Rao, G.R., Cain, C.A., Lockwood, J., Tompkins W.A.F. (1983) Effects of microwave exposure on hamster immune system. II. Peritoneal macrophage function. *Bioelectromagnetics* 4, 141-155.
- Repacholi, M.H., Basten, A., Gebiski, V., Noonan, D., Finnie, J., Harris A.W. (1997) Lymphomas in E -*Pim 1* transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz electromagnetic fields. *Rad Res* 147, 631-640.
- Repacholi, M.H., Grandolfo, M., Ahlbom, A., Bergquist, U., Bernhardt, J.H., Cesarini, J.P., Court, L.A., McKinley, A.F., Sliney, D.H., Stolwijk, J.A.J., Swicord, M.L., Szabo, L.D., Roberts, N.J., Lu, S.T., Michaelson, S.M. (1983) Human leukocyte functions and the U.S. safety standard for exposure to radio-frequency radiation. *Science* 220, 318-320.
- Roberts, N.J., Michaelson, S.M., Lu, S.T. (1984) Exposure of human mononuclear leukocytes to microwave energy pulse-modulated at 16 or 60 Hz. *IEEE Trans Microwave Theory Tech*, MTT-32, 803-807.
- Roberts, N.J., Michaelson, S.M., Lu, S.T. (1987) Mitogen responsiveness after exposure of influenza virus-infected human mononuclear leukocytes to continuous or pulse-modulated radiofrequency radiation. *Rad Res* 110, 353-361.
- Saalman, E., Norden, B., Arvidsson, L., Hamnerius, Y., Hojevik, P., Connell, K.E., Kurucsev, T. (1991) Effect of 2.45 GHz microwave radiation on permeability of unilamellar liposomes to 5(6) carboxyfluorescein. Evidence of non-thermal leakage. *Biochim Biophys Acta* 1064, 124-130.
- Salford, L.G., Brun, A., Persson, B.R.R., Eberhardt, J.L. (1993) Experimental studies of brain tumor development during exposure to continuous and pulsed 915 MHz radiofrequency radiation. *Bioelectrochem Bioenerg* 30, 313-318.
- Salford, L.G., Brun, A., Stuesson, K., Eberhardt, J.L., Persson, B.R.R. (1992) Permeability of the blood-brain barrier induced by 915 MHz electromagnetic radiation, continuous wave and modulated at 8, 16, 50, and 200 Hz. *Microsc Res Tech* 27, 535-542.
- Sandblom J, Theander S (1991) The effect of microwave radiation on the stability and formation of Gramicidin-A channels in lipid bilayer membranes. *Bioelectromagnetics* 12, 9-20.
- Santini, R., Hosini, M., Deschaux, P., Pacheco, H (1988) B16 melanoma development in black mice exposed to low-level microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 9, 105-107.
- Schwartz, J.L, House, D.E., Mealing, G.A.R. (1990) Exposure of frog hearts to CW or amplitude-modulated VHF fields: selective efflux of calcium ions at 16 Hz. *Bioelectromagnetics* 11, 349-358.
- Schwartz, J.L., Mealing, G.A.R. (1993) Calcium-ion movements and contractility in atrial strips of frog heart are not affected by low-frequency-modulated, 1 GHz electromagnetic radiation. *Bioelectromagnetics* 14, 521-533

Seaman, R.L., DeHaan, R.L. (1993) Inter-beat intervals of cardiac-cell aggregates during exposure to 2.45 GHz cw, pulsed and square-wave-modulated microwaves. *Bioelectromagnetics* 14, 41-55.

Sheppard, A.R., Bawin, S.M., Adey, W.R. (1979) Models of long-range order in cerebral macromolecules: effects of sub-ELF and of modulated VHF and UHF fields. *Radio Sci* 14, 141-145.

Singer, S.J., Nicolson, G.L. (1972) The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175, 720-731.

Szmigielski, S., Szudzinski, A., Pietraszek, A., Bielec, M., Janiak, M., Wrembel, J.K. (1982) Accelerated development of spontaneous and benzopyrene-induced skin cancer in mice exposed to 2450-MHz microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 3, 179-191.

Stagg, R.B., Thomas, W.J., Jones, R.A., Adey, W.R. (1997) DNA synthesis and cell proliferation in C<sub>6</sub> glioma and primary glial cells exposed to a 836.55 MHz modulated radiofrequency field. *Bioelectromagnetics*, 230-236.

Sultan, M.F., Cain, C.A., Tompkins, W.A. (1983a) Effects of microwaves and hyperthermia on capping of antigen-antibody complexes on the surface of normal mouse B lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 4, 115-122.

Sultan, M.F., Cain, C.A., Tompkins, W.A. (1983b) Immunological effects of amplitude-modulated radio frequency radiation: B lymphocyte capping. *Bioelectromagnetics* 4, 157-165.

Tarricone, L., Cito, C., D'Inzeo, G. (1993) Ach receptor channel's interaction with MW fields. *Bioelectrochem Bioenerg* 30, 275-285.

Tenforde, T.S., Jammet, H.P., Matthes R. (1996) Health issues related to the use of hand-held radiotelephones and base transmitters. *Health Phys* 70, 587-593.

Watkinson, W.P., Gordon, C.J. (1986) Improved technique for monitoring electrocardiograms during exposure to radio-frequency radiation. *Am J Physiol* 250, H320-H324.

Weil, C.M., Spiegel, R.J., Joines, W.T. (1984) Internal field strength measurements in chick forebrains at 50, 147, and 450 MHz. *Bioelectromagnetics* 5, 293-304.

Wiktor-Jedrzejczak, W., Ahmed, A., Czerski, P., Leach, W.M., Sell, K.W. (1977a) Immune response of mice to 2450-MHz microwave radiation: overview of immunology and empirical studies of lymphoid splenic cells. *Radio Sci* 12, 209-219

Wiktor-Jedrzejczak, W., Ahmed, A., Czerski, P., Leach, W.M., Sell, K.W. (1977b) Microwaves induce an increase in the frequency of complement receptor-bearing lymphoid cells in mice. *J Immunol* 118, 1499-1502.

Williams, G.M. (1996) Comment on "Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells". *Bioelectromagnetics* 16, 207-210.

Williams, W.M., Hoss, W., Formaniak, M., Michaelson, S.M. (1984a) Effect of 2450 MHz microwave energy on the blood-Brain barrier to hydrophilic molecules. A. Effect on the permeability to sodium fluorescein. *Brain Res Rev* 7, 165-170.

- Williams, W.M., del Cerro, M., Michaelson, S.M. (1984b) Effect of 2450 MHz microwave energy on the blood-Brain barrier to hydrophilic molecules. B. Effect on the permeability to HRP. *Brain Res Rev* 7, 171-181.
- Williams, W.M., Platner, J., Michaelson, S.M. (1984c) Effect of 2450 MHz microwave energy on the blood-Brain barrier to hydrophilic molecules. C. Effect on the permeability to [<sup>14</sup>C]sucrose. *Brain Res Rev* 7, 183-190.
- Williams, W.M., Lu, S.-T., del Cerro, M., Michaelson, S.M. (1984d) Effect of 2450 MHz microwave energy on the blood-Brain barrier to hydrophilic molecules. D. Brain temperature and blood-brain barrier permeability to hydrophilic tracers. *Brain Res Rev* 7, 191-212.
- Wolke, S., Neibig, U., Elsner, R., Gollnick, F., Meyer, R. (1996) Calcium homeostasis of isolated heart muscle cells exposed to pulsed high-frequency electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 17, 144-153.
- Wu, R.Y., Chiang H., Shao, B.J., Li, N.G. Fu, Y.D. (1994) Effects of 2.45-GHz microwave radiation and phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate on dimethylhydrazine-induced colon cancer in mice. *Bioelectromagnetics* 15, 531-538.
- Yang, H.K., Cain, C.A., Lockwood J., Tompkins W.A.F. (1983) Effects of microwave exposure on the hamster immune system. I. Natural killer cell activity. *Bioelectromagnetics* 4, 123-139.
- Yee, K.C., Chou, C.K, Guy, A.W. (1984) Effect of microwave radiation on the beating rate of isolated frog hearts. *Bioelectromagnetics* 5, 263-270.
- Yee, K.C., Chou, C.K, Guy, A.W. (1986) Effects of pulsed microwave radiation on the contractile rate of isolated frog hearts. *J. Microwave Power* 21, 159-165.
- Yee, K.C., Chou, C.K, Guy, A.W. (1988) Influence of microwaves on the beating rate of isolated frog hearts. *Bioelectromagnetics* 9, 175-181.