

Abschlussbericht für das Forschungsvorhaben

Tumorpromotion durch hochfrequente elektromagnetische Felder in Kombination mit kanzerogenen Substanzen

Forschungsnehmer:

Jacobs University Bremen gGmbH
School of Engineering and Science
Prof. Dr. Alexander Lerchl
Campus Ring 1, 28759 Bremen

Verfasser

Dr. Melanie Klose
Jacobs University Bremen gGmbH

Dezember 2014

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Forschungsnehmers wieder und muss nicht mit der Meinung des Auftraggebers (Bundesminister für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit) übereinstimmen.

Zusammenfassung

Im ENU-Mausmodell sollte eine mögliche tumorpromovierende Wirkung chronischer UMTS-Exposition untersucht werden. Die maternale ENU-Applikation (40 mg/kg) erfolgte am 14. Schwangerschaftstag, und die UMTS-Exposition begann in der embryonalen/fetalen Phase, womit eine lebenslange Exposition gewährleistet war. Die B6C3F1-Mäuse wurden mit Ganzkörper-SAR-Werten von 0 (sham), 0,04, 0,4 oder 2 W/kg exponiert. Die Exposition erfolgte an allen Wochentagen und über den gesamten Versuchszeitraum. Sie wurde einmal täglich gegen 3 Uhr morgens für eine halbe Stunde unterbrochen, um die Verstärker zu entlasten und den Rechner neu zu booten (in der Studie von Tillmann et al. (2010) wurde die Exposition für 4 Stunden täglich unterbrochen). Am Versuchsende wurden Organe (Gehirn, Lunge, Leber, Milz, Nieren) histopathologisch untersucht und die gefundenen Tumore nach internationalem Standard (WHO / IARC 2001) klassifiziert. Die Ergebnisse der Pilotstudie von Tillmann et al. (2010) konnten prinzipiell bestätigt und erweitert werden. Es fanden sich keine erhöhten Tumorinzidenzen für Milz, Nieren und Gehirn, wohl aber in der Lunge und der Leber. Erhöhte Tumorinzidenzen fanden sich vor allem für das Bronchiolo-Alveolar Karzinom/Adenom und das hepatozelluläre Karzinom/Adenom. In der vorliegenden Studie wurden auch erhöhte Lymphom-Inzidenzen festgestellt. Eine tumorpromovierende Wirkung chronischer UMTS-Exposition im Gehirn, den Nieren und der Milz kann weitestgehend ausgeschlossen werden. Allerdings zeigte sich im ENU-Mausmodell eine tumorpromovierende Wirkung chronischer UMTS-Exposition in der Lunge und Leber und für das Lymphom. Weitere Untersuchungen erscheinen angesichts der nunmehr bestätigten Ergebnisse der Pilot-Studie notwendig, um die zugrundeliegenden Mechanismen der tumor-promovierenden Effekte aufzuklären.

Summary

In the ENU-treated mouse model, the potential tumor promoting effects of chronic exposure to UMTS were investigated. ENU (40 mg/kg) was administered on day 14 of

pregnancy and female B6C3F1 mice were exposed from an embryo-fetal stage on until death. The whole-body SARs tested were 0 (sham), 0.04, 0.4 and 2 W/kg. The animals were exposed during the entire period including weekends. Exposure was interrupted each night for half an hour in order to shut down the generators and to reboot the computer (in the study by Tillmann et al. (2010) exposure was interrupted for 4 hours daily for animal caretaking). A histopathological examination of organs (brain, lung, liver, spleen, and kidney) was done according to international standards (WHO / IARC 2001). The previously published results by Tillmann et al. (2010) could in principal be confirmed and expanded. No increased incidences of brain, spleen and kidney neoplasms were found, however, significantly increased tumor incidences in the lung, in the liver, and for lymphoma were found in the UMTS exposed groups. These results indicate a tumor-promoting effect of lifetime UMTS exposure in the ENU mouse model. Further studies are required in view of the confirmed results of the pilot study in order to clarify the underlying mechanisms.

1. Zielsetzung

Bisherige Erkenntnisse aus *in-vivo* oder *in-vitro* Studien deuten nicht darauf hin, dass akute oder chronische Expositionen mit hochfrequenten elektromagnetischen (HF-EMF) oder niederfrequenten magnetischen (ELF-MF) Feldern tumorinduzierende Wirkungen haben (Babbitt et al. 2000, Boorman et al. 2000a, Anderson et al. 2001; Tillmann et al., 2010; Review siehe Repacholi et al., 2012). Allerdings weisen einige Studien darauf hin, dass HF-EMFs möglicherweise eine tumorpromovierende Wirkung haben könnten. So zeigte sich in einigen Studien ein, wenn auch nicht signifikanter, Trend zu erhöhten Hirntumorinzidenzen (Zook und Simmens 2001) oder eine signifikant erhöhte Lungentumorinzidenz bei HF-EMF exponierten Tieren (Tillmann et al. 2010).

In dieser tierexperimentellen Studie sollten die möglichen tumorpromovierenden Effekte hochfrequenter elektromagnetischer Felder des UMTS-Standards (1,97 GHz) bei Ganzkörper-SAR Werten von 0 (sham), 0,04, 0,4 und 2 W/kg untersucht werden. In einer Pilotstudie von Tillmann et al. (2010) wurden signifikante tumorpromovierende Effekte durch UMTS-Exposition im ENU-(B6C3F1)Maus-Modell beobachtet, und zwar bei einer Leistungsflussdichte von 4,8 W/m². Obwohl die Geometrie der seinerzeit benutzten Expositionsanlagen von den hier benutzten abwich (geringerer Durchmesser, weniger Käfige), war das Prinzip der radialen Wellenleitung gleich. Die in der Publikation angegebenen und berechneten SAR-Werte für die Leistungsflussdichte von 4,8 W/m² entsprachen in etwa 0,4 W/kg. Da die Autoren die promovierenden Effekte auf die Tumorinzidenzen aufgrund einer Infektion mit *Helicobacter spp.* teilweise nicht eindeutig auf die Exposition zurückführen konnten, sollten diese Ergebnisse durch eine Replikationsstudie überprüft werden.

2. Methodik

2.1 Expositionsanlagen

Für das Forschungsvorhaben wurde eine Hochfrequenz-Expositionsvorrichtung verwendet, bestehend aus 4 Anlagen mit je 2 Wellenleitungen mit einem Durchmesser von 2,2 m und einer Höhe von 17 cm (Abb. 1). Über eine konische Antenne im Zentrum jeder Wellenleitung wird das mit einer Frequenz von 1,97 GHz eingespeiste UMTS-Signal in eine in radialer Richtung fortschreitende Welle umgesetzt. Die Wellenleitungen werden durch Zugangsklappen begrenzt, die mit Flachabsorbieren und HF-Dichtungen versehen wurden, um ein Eindringen von HF-Fremdfeldern oder ein Abstrahlen der Expositionsfelder aus der Anlage zu verhindern. Die Klappen ermöglichen außerdem ein einfaches Einbringen der Kunststoffkäfige mit Tieren (Abb. 2). Jede Wellenleitung verfügt über Platz für 16 Käfige, insgesamt können also 384 Tiere in 128 Käfigen in den Versuch eingebracht werden.

Eine ausreichende Luftzufuhr für die Tiere in den Wellenleitungen erfolgt, indem durch leichten Unterdruck im inneren Bereich der Kammern nahe der HF-Einspeisung zentral klimatisierte Raumluft abgesaugt wird, die durch feinmaschige metallische Abdeckgitter der Revisionsöffnungen über den Käfigen eintritt. Dadurch wird eine kontinuierliche und gleichmäßige Luftströmung erzeugt.

Die Expositionsanlage war mit einem Temperaturmesssystem (Omega Engineering, Inc., 8 Channel Temperature Measurement USB Data Acquisition Module) ausgestattet, das eine Überwachung der Temperaturen mittels Sensoren in allen 8 Wellenleitungen ermöglichte. Alle Expositions- und Temperaturdaten wurden auf einem Rechner aufgezeichnet. Während der Versuche wurden keine nennenswerten Temperaturerhöhungen registriert.

Jeweils 2 Wellenleitungen wurden nach numerischer Referenzdosimetrie einer der 4 Expositionsstärken 0 (Schein-Exposition), 0,04, 0,4 oder 2 W/kg zugewiesen. Diese SAR-Werte beziehen sich auf 20g schwere Mäuse und sind bei leichteren Mäusen höher und bei schwereren geringer. Die Erzeugung des UMTS-Signals von 1,97 GHz erfolgt über vier Signalgeneratoren, die an der Bergischen Universität Wuppertal entwickelt worden

sind. Jedem Generator ist ein Leistungsverstärker nachgeschaltet, um den Signalpegel auf die zur Exposition der Tiere erforderliche Leistung anzuheben.

Die Einstellung und Überprüfung der Exposition erfolgte vom Kooperationspartner der Bergischen Universität Wuppertal, so dass die Expositionsstärke der jeweiligen Wellenleitung dem den Versuch durchführenden Personal nicht bekannt war. So war zu jedem Zeitpunkt eine verblindete Durchführung des Experiments gewährleistet.

Eine detaillierte Beschreibung des technischen Konzepts und der Konstruktion der Expositionsanlage ist im Abschlussbericht zum BfS-Forschungsvorhaben „Langzeitstudie an Labornagern mit UMTS-Signalen“ von Januar 2008 (BfS 2008) nachzulesen.



Abb. 1: Eine von vier identischen Anlagen mit zwei radialen Wellenleitungen zur UMTS-Exposition. Pro Wellenleitung stehen 16 Käfigplätze zur Exposition zu Verfügung.



Abb. 2: Detailansicht einer Expositionseinheit mit geöffneter Klappe als Zugang zum Käfigbereich. POM = Polyoxymethylen.

2.2 Dosimetrie

Die geplanten Ganzkörper SAR-Werte von 0 (Schein-Exposition), 0,04, 0,4 und 2 W/kg wurden im Käfigbereich über die entsprechenden elektrischen Feldstärken eingestellt. Der Zusammenhang zwischen den einzustellenden Feldstärken in der leeren Anlage (ohne Käfige und Tiere) und den vorgegebenen SAR-Werten in den Tieren wurde durch numerische Berechnungen mit Hilfe des Simulationstool CST Studio Suite™ auf der Basis eines komplexen Sektormodells der radialen Wellenleitung und mehrerer Voxelmmodelle von Labornagern ermittelt.

In der ersten Versuchsphase wurde ein Muttertier mit 6 Jungtieren in einem Käfig exponiert. Von diesen Jungtieren wurden in der zweiten Versuchsphase 3 Tiere ausgewählt, die nach dem Absetzen von der Mutter im Feld verblieben und lebenslang exponiert wurden. Für beide Versuchsphasen wurden für die jeweilige Gruppe von Tieren bei einer standardisierten Anregungsleistung des Leitungssektors von 0,5 W numerische SAR-Berechnungen durchgeführt. Die Ganzkörper-SAR ergeben sich durch Summation aller SAR-Beiträge im 3D-Modell und Bezug auf die Tiermasse.

Für die numerische Dosimetrie in Phase 1 wurde das Muttertier mit einer Körpermasse von 23 g und die neugeborenen Jungtiere mit einer Körpermasse von je 1 g modelliert. Jungtiere wurden als homogen gefüllte Ellipsoide modelliert, deren Form in etwa der von 1-2 Tage alten Mäusen entspricht. Diese Vereinfachung wurde erforderlich, da die Voxel bei Skalierung eines anatomischen Mausmodells auf 1 g im Vergleich zum Sektormodell so klein würden, dass es nicht mehr möglich wäre, das Modell mit heutiger Computertechnik zu rechnen. Auch ist es bei dem kleinen Volumen der Jungtiere nicht notwendig, verschiedene Gewebearten zu unterscheiden. Für die zweite Versuchsphase wurden adulte Mäuse mit Körpermassen zu jeweils 20 g modelliert (Abb. 3).

Um die SAR-Variationen aufgrund der Tierbewegungen zu simulieren, wurden unterschiedliche Gruppierungen (Positionen/Körperhaltungen) der Tiere in dem in das Leitungsmodell eingesetzten Käfig berücksichtigt. Für die Tiere in Versuchsphase 1 (Muttertier mit Jungtieren) wurden 12 Konfigurationen und für die 3 adulten Tiere in Versuchsphase 2 wurden 10 Konfigurationen für die optimale Dosimetrie berücksichtigt. Um den Tieren ausreichend Rückzugsmöglichkeiten zu bieten, wurden die Käfige mit tunnelförmigen Kunststoffverstecken ausgestattet (siehe Abb. 2). Um den Einfluss der Verstecke auf die Feldverteilung im Expositionsbereich zu ermitteln, wurden die dielektrischen Parameter bestimmt und Modellrechnungen zur Positionierung der Verstecke durchgeführt. Mithilfe eines koaxialen Reflexionsmesskopfes wurden die dielektrischen Parameter an einem Stapel von streifenförmigen Materialproben ermittelt und die Dichte über das Gewicht bestimmt. Es ergab sich nur ein geringfügiger Einfluss der aus rot eingefärbtem Kunststoff bestehenden Tunnelverstecke auf die Feldverteilung im Expositionsbereich. Insbesondere Absorptionseffekte aufgrund geringer dielektrischer Verluste sind vernachlässigbar. Folglich unterliegen auch die SAR-Werte für die Tiere nur sehr geringen Veränderungen.

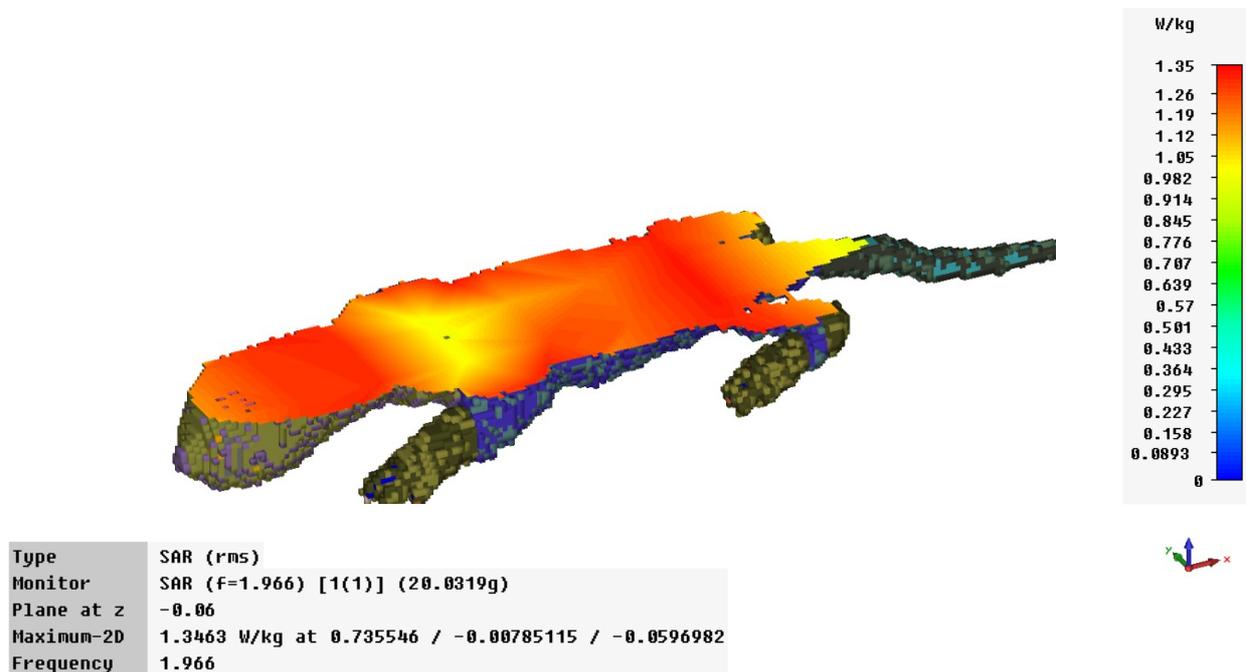


Abb. 3: Lokale SAR-Verteilung in einem willkürlich gewählten Längsschnitt durch ein Computermodell einer 20 g-Maus (Voxelgröße 0,535 mm) im Feld eines Sektormodells der radialen Wellenleitung (Standardanregung 0,5 W).

Weiterführende Informationen finden sich im Abschlussbericht zum technischen Projektteil (Anhang).

2.3 Versuchstiere

Gemäß der Pilotstudie von Tillmann et al. (2010) wurden 9 Wochen alte männliche C3H/HeNcrl-Mäuse (n=43) und weibliche C57Bl/6N-Mäuse, je 128 Weibchen im Alter von 10 Wochen und 9 Wochen, sowie 34 Weibchen im Alter von 8 Wochen vom Züchter Charles River Wiga (Deutschland) geordert. Zur Eingewöhnung wurden die Mäuse für 2 Wochen zu sechst in Käfigen gehalten. Anschließend wurden die nun 12 Wochen alten F0-Weibchen (n=128) für 1 Woche mit den Männchen verpaart, im Verhältnis 1 Männchen zu 3 Weibchen. In Vortests zeigte sich, dass der vaginale Plug kein verlässlicher Hinweis für eine erfolgreiche Befruchtung darstellte. Daher wurden die

Weibchen für 1 Woche bei den Männchen belassen, um zu gewährleisten, dass die Weibchen einmal den kompletten Östruszyklus durchlaufen und die Chancen einer Befruchtung maximal sind. Anschließend wurden die Weibchen nach Gewicht randomisiert in die Anlagen 1 und 2 verbracht. Da der verwendete Mausstamm C57Bl/6N in einer früheren Studie (BfS-Projekt M8828) eine äußerst niedrige Überlebensrate der F1-Nachkommen zeigte, wurden nach Absprache mit dem BfS zunächst 2 Weibchen pro Käfig in die Expositionsanlage verbracht, um eine ausreichende Nachkommenschaft zu gewährleisten.

Die Männchen wurden direkt im Anschluss mit den nächsten, nun 12 Wochen alten Weibchen (n=128) im gleichen Verhältnis verpaart, die eine Woche später in die Expositionsanlagen 3 und 4 verbracht wurden.

Zum Schluss wurden die männlichen C3H/HeNCrl-Mäuse mit den verbleibenden 34 Weibchen verpaart, ohne einen anschließenden Transfer in eine Expositionsanlage. Die weiblichen Nachkommen dieser Tiere dienten als Käfigkontrolle. Auch diese Tiere wurden in Gruppen zu je 3 Mäusen gehalten, und in den Käfigen waren die gleichen Versteckmöglichkeiten vorhanden wie bei den (schein-) exponierten Tieren.

Am 13. Schwangerschaftstag der F0-Mäuse wurden alle Tiere gewogen und die Weibchen, die prozentual am meisten zugenommen hatten, wurden in den Anlagen in die 32 Käfige vereinzelt, die anderen schmerzfrei durch CO₂-Inhalation getötet.

Am 14. Schwangerschaftstag bekamen alle schein-exponierten und exponierten Mäuse eine Injektion i.p. mit ENU (40 mg/kg) und wurden fortan bis zur Geburt der Jungtiere täglich kontrolliert.

Eine Woche nach Geburt wurde das Geschlecht der Nachkommen bestimmt und 3 Weibchen bei den Muttertieren belassen. Die männlichen Jungtiere wurden zu diesem Zeitpunkt schmerzfrei getötet. Nach dem Absetzen der weiblichen F1-Mäuse, am Tag 21 ab der Geburt, wurden die Muttertiere aus den Käfigen entnommen und ebenfalls schmerzfrei getötet. Die geplante Anzahl der Versuchstiere von 96 Mäusen pro Expositionsstärke und 96 Mäuse für die Käfigkontrolle wurde erreicht. Die B6C3F1-Weibchen wurden nach dem Absetzen von der Mutter (3. Lebenswoche) bis zu einem Alter von 14 Wochen wöchentlich gewogen. Eine eindeutige Zuordnung der Tiere erfolgte durch Ohrmarkierungen (Tätowierung). Anschließend wurden die Mäuse alle 2 Wochen

gewogen, oder gegebenenfalls häufiger, wenn Auffälligkeiten im Gesundheitszustand festgestellt wurden. Zusätzlich fand jeden zweiten Tag eine Sichtkontrolle aller Tiere statt. Bei Auffälligkeiten des Gesundheitszustands, z.B. rapider Gewichtsverlust, Apathie, respiratorische Probleme, wurden die Tiere eingeschläfert, präpariert, und Gewebeproben entnommen.

2.5 Auswertungen

Die Gewichtsdaten sowie die Ergebnisse der Autopsien wurden während der Versuchsdurchführung schriftlich protokolliert und anschließend elektronisch gespeichert und analysiert. Die Studie wurde verblindet durchgeführt, d.h. die Versuchsdurchführung, die histologischen Untersuchungen und die Datenaufbereitung erfolgten ohne Kenntnis der Gruppenzugehörigkeit der (schein-) exponierten Mäuse. Erst nachdem die verblindeten Ergebnisse dem Kooperationspartner in Wuppertal übermittelt wurden, übersandte dieser den Expositionscode.

Die parametrischen Körpergewichtsdaten wurden mittels Shapiro-WilksTest auf Normalverteilung geprüft und anschließend mittels ANOVA statistisch analysiert. Bei Vorhandensein statistischer Unterschiede wurde ein post-hoc Test durchgeführt, um zu überprüfen, ob Unterschiede zwischen schein-exponierten, exponierten Tieren und Tieren der Käfigkontrolle vorlagen. Mittels Kaplan-Meier Methode und anschließendem log-Rank Test wurden die Überlebensdaten analysiert. Die Häufigkeiten der pathologischen Befunde wurden mittels des Fisher-Exakt-Tests verglichen. Unterschiede mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen. Da es sich hier um eine Wiederholungsstudie handelte, wurde der einseitige Test angewandt. Anstelle von Signifikanz-orientierten statistischen Testverfahren (wie es auch der exakte Fischer-Test ist) werden heutzutage zunehmend Bayessche Verfahren angewandt, für die durch Computersimulation die Wahrscheinlichkeiten für die Richtigkeit der Hypothesen berechnet werden. Ausgehend von zwei virtuellen Grundgesamtheiten (exponiert bzw. scheinexponiert), die die Verhältnisse der Tiere mit bzw. ohne die Diagnose widerspiegeln, werden zufällig Proben mit Gruppengrößen gezogen, die dem

realen Experiment entsprechen. Aus den jeweiligen Zahlen wird das Verhältnis krank zu gesund für beide Gruppen berechnet und ins Verhältnis gesetzt. Dieser Vorgang wird 25000-mal wiederholt (Monte-Carlo Simulation) und aus den Ergebnissen eine Verteilung ermittelt. Überlappt diese Verteilungskurve mit 0 (keine erhöhte Inzidenz) innerhalb des 95%-Bereichs der Verteilungsfunktion, kann kein Unterschied angenommen werden. Zusätzlich kann "Vorwissen", in diesem Fall die Ergebnisse der Studie von Tillmann et al. (2010), herangezogen und in die Modellierung einbezogen werden.

Für die auf diese Weise untersuchten Inzidenzen von bronchiolo-alveolaren Karzinomen bzw. Adenomen fanden sich Ergebnisse, die sich mit denen der Fischer-Tests sehr gut vergleichen lassen und die Robustheit der gefundenen Effekte bestätigen (siehe Ergebnisse). Entsprechende Berechnungen wurden für die Lebertumore nicht durchgeführt, da hinsichtlich der *Helicobacter*-Problematik ein entsprechender vergleichender Ansatz nicht gerechtfertigt ist.

3. Durchführung

Für diese tierexperimentelle Studie wurde das ENU-Mausmodell gewählt. Ethylnitrosoharnstoff (ENU) ist ein starkes Karzinogen und hochpotentes Mutagen und wird seit den 1970er Jahren verwendet, um in Labortieren Mutationen zu induzieren. Die maternale ENU-Administration ist eine gut etablierte Methode (Diwan und Meier 1974, Tomatis 1979, Vesselinovitich et al. 1977) und erfolgte in der vorliegenden Studie am 14. Schwangerschaftstag. Bei den erzeugten Nachkommen handelt es sich um B6C3F1-Mäuse, einen Hybridstamm, der erfahrungsgemäß auch noch höhere Dosen ENU gut tolerieren kann und daher sehr geeignet ist für Mutagenesestudien (Justice et al. 1999, 2000).

Die chronische Exposition der F1-Mäuse erfolgte bei Ganzkörper SAR-Werten von 0 (sham), 0,04, 0,4 und 2 W/kg (n=96 Tiere / Gruppe). Um mögliche geringe

Feldungleichheiten der Käfigplätze auszugleichen, wurden die Käfige einer Wellenleitung während der gesamten Versuchsdauer jeden zweiten Tag eine Position weiter gestellt. Einmal wöchentlich wurden die Expositions- und Temperaturdaten zur Kontrolle an den Kooperationspartner der Universität Wuppertal gesandt. Dabei wurde im Zeitraum vom 20.03. – 09.04.2013 der teilweise Ausfall eines der Verstärker festgestellt. Dies führte über einen Zeitraum von 21 Tagen zu einer verringerten Versorgung einer der acht Leitungen und somit zu einer Reduzierung des SAR-Wertes auf ein Viertel des vorgesehenen Wertes (in einer der beiden 2 W/kg Untergruppen). Des Weiteren fielen im November 2013 für 2 Wochen die Temperatursensoren in beiden Wellenleitungen der 0,4 W/kg Gruppe aus. Der defekte Verstärker und die Temperatursensoren wurden ausgetauscht. Die Auswertung der Protokolle ergab eine einwandfreie Exposition und Temperaturmessung bis zum Abschluss der Expositionsphase. Die Temperaturen betragen ca. 21°C – 22°C und waren von den Expositionsstärken nicht abhängig.

Die schmerzfrei getöteten F1-Mäuse wurden einer umfassenden pathologischen Untersuchung unterzogen und alle auffälligen Organe entnommen und fixiert. Bei Tieren, die tot im Käfig aufgefunden wurden, wurde umgehend eine Autopsie durchgeführt und soweit möglich die Organe entnommen (bei einigen wenigen Tieren war dies nicht möglich, weil die Organe bereits zu stark zersetzt waren). Die Lunge wurde durch intratracheale Infusion mit 37%-igem Formaldehyd vorfixiert, bevor sie vollständig in das Fixans überführt wurde. Entnommene Knochen (z. B. Oberschenkelkochen, Schädeldach) wurden in Osteomoll (Merck, Darmstadt, Deutschland) zur Dekalzifizierung überführt. Alle anderen Organe (Milz, Leber, Gehirn, Nieren, mesenterische Lymphknoten) wurden in 10%-igem Formaldehyd fixiert. Die fixierten Organe wurden zur weiteren histopathologischen Untersuchung in ein Paraffinbad überführt und eingebettet. Nach dem Einbetten wurden Gewebeschnitte von 4 µm Dicke angefertigt und mit einem Standardverfahren (Hämatoxylin / Eosin) angefärbt. Die Untersuchung und Klassifikation der Tumore nach internationalem Standard / Nomenklatur (WHO / IARC 2001) erfolgte mittels Lichtmikroskopie (Carl Zeiss Axio Vision). Positive Befunde wurden für jedes Organ exemplarisch ausgewählt und für eine Zweitbegutachtung Prof. Dr. med. R.-P. Henke am Institut für Pathologie in Oldenburg vorgelegt. Die Befunde von mehr als 100 Präparaten wurden ohne Ausnahme bestätigt.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Allgemeiner Gesundheitszustand der Muttertiere

Gemäß der Studie von Tillmann et al. (2010) wurden vom Züchter Charles River Wiga (Deutschland) männliche C3H/HeNCrl-Mäuse und weibliche C57Bl/6N-Mäuse geordert. Die Sichtkontrolle der Tiere bei Anlieferung ergab keinerlei Auffälligkeiten. Vom Züchter wurde ein Gesundheitsreport für beide Mausstämme mitgeliefert, der negative Befunde für die letzten Untersuchungen hinsichtlich Serologie, Bakteriologie und Parasitologie enthielt.

Alle schein-exponierten und exponierten Mäuse erhielten am 14. Schwangerschaftstag eine Injektion i.p. mit ENU (40mg/kg). Alle Tiere vertrugen die Injektion augenscheinlich gut, keine Maus verstarb in Folge.

Die Mäuse wurden nach der Injektion täglich kontrolliert, ob die Geburt stattgefunden hat; in diesem Fall wurden die Nachkommen gezählt und bei den Müttern belassen. Aufgrund von sehr hohen Infantizidraten in einem früheren BfS-Projekt (M8828), wurden die neugeborenen Mäuse in diesem Projekt nicht direkt nach der Geburt gewogen, da dies hohen Stress für die Muttertiere bedeutet, der möglicherweise zum Infantizid führt.

4.2 Wurfgrößen

In den 4 Expositiongruppen wurden zwischen 212-268 Jungtiere geboren (Tab. 1), was einer durchschnittlichen Wurfgröße von 6,6-8,4 Jungtieren entspricht. Der Anteil weiblicher Nachkommen lag zwischen 43,3 % in der 2 W/kg Gruppe und 48,6 % in der 0,04 W/kg Gruppe. In allen 4 Anlagen verteilten sich die Geburten über 3-4 Tage. Vom Tag der meisten Geburten ausgehend berechnete sich der Tag 6, an dem die F1-Tiere nach Geschlecht bestimmt wurden und eine Wurfstandardisierung stattfand. 3 weibliche Nachkommen wurden bei der Mutter belassen, gegebenenfalls weitere weibliche Nachkommen wurden anderen Müttern derselben Gruppe beigegeben, die keine oder nicht ausreichend weibliche Nachkommen geboren hatten.

Vortests mit diesem (Hybrid-) Mausstamm haben ergeben, dass die Mausmütter keinerlei Unterschied machen, ob sie ihren eigenen Nachwuchs aufziehen, oder fremde Jungtiere.

Da jedoch unter Versuchsbedingungen ein Infantizid nicht ausgeschlossen werden konnte, wurde in einem Käfig pro Anlage einer Mausmutter 6 weibliche Jungtiere bis zum Absetzen der Tiere am Tag 21 belassen, um bei eventuellen Tod von Jungtieren diese austauschen zu können, um die anvisierte Anzahl von 96 F1-Weibchen pro Expositionsstärke zu gewährleisten. Mit Ausnahme der 0,4 W/kg Gruppe konnte in allen anderen (schein)-exponierten Gruppen Infantizide festgestellt werden (Tab. 1), die jedoch nicht so hoch ausfielen, wie aufgrund einer vorangegangenen Studie befürchtet werden musste. Mit 19 Jungtieren war die höchste Infantizidrate in der schein-exponierten Gruppe. Die alles in allem geringe Infantizidrate lässt sich möglicherweise auf das angebotene Tunnelversteck als Unterschlupf und die Reduzierung von Stress, z.B. durch den Verzicht des Wiegens von Neugeborenen, zurückführen.

Die 34 verpaarten F0-Mäuse, die zur Heranzucht der Käfigkontrolle dienten, wurden paarweise in Käfige verbracht. Mit einer Ausnahme gebaren alle Tiere im Schnitt 8,5 Jungtiere, insgesamt wurden 271 F1-Mäuse geboren, wovon allerdings nur 35,4% weiblichen Geschlechts waren. Auch in der Käfigkontrolle war Infantizid zu beobachten, 8 Jungtiere wurden getötet, ein weiteres verstarb ohne äußere Anzeichen.

Die geplante Anzahl der Versuchstiere von 96 Mäusen pro Expositionsstärke und 96 Mäuse für die Käfigkontrolle wurde somit erreicht.

Tab. 1: Körpergewichte (KG) der mit ENU-behandelten Muttertiere (F0) nach der Verpaarung sowie am 13. Schwangerschaftstag, die prozentuale Gewichtszunahme zwischen diesen beiden Zeitpunkten, und die Anzahl Nachkommen, der Anteil Weibchen und die Infantizidrate pro Anlage. Mittelwerte \pm SD

	KG (g) nach Verpaarung	KG (g) 13. Schwangerschaftstag	Gewichtszunahme (%)	Anzahl Nachkommen gesamt	Anteil Weibchen	Infantizidrate
0 W/kg (sham)	24,67 \pm 1,09	32,65 \pm 1,76	32,4 \pm 6,5	265	122 (46%)	19
0,04 W/kg	24,43 \pm 1,13	31,87 \pm 2,62	30,48 \pm 9,2	212	103 (48,6%)	1 Wurf
0,4 W/kg	25,98 \pm 0,87	33,95 \pm 1,82	35,93 \pm 5,3	225	106 (47,1%)	-
2 W/kg	24,62 \pm 1,05	32,66 \pm 2,06	32,6 \pm 5,8	254	110 (43,3%)	6
Käfigkontrolle	†	†	†	271	96 (35,4%)	8

† Die Gewichte der schwangeren Weibchen der Käfigkontrolle wurden nicht ermittelt, da in dieser Gruppe Muttertiere nicht nach Gewicht aussortiert wurden, alle Weibchen wurden bis zur Geburt behalten.

4.3 Gesundheitszustand und Körpergewichte der B6C3F1-Mäuse

Die in der Studie von Tillmann et al. (2010) aufgetretene Infektion der Mäuse mit *Helicobacter* spp. ließen Zweifel aufkommen, ob die beobachteten erhöhten Tumorinzidenzen der Leber allein auf die Exposition zurückzuführen sind. Besonders Tumorinzidenzen von hepatozellulären Tumoren und Hämangiosarkomen können bei einer *Helicobacter* - Infektion erhöht sein (Hailey et al. 1998).

Laut Züchter (Charles River) wurden seit Jahren, bei regelmäßig durchgeführten Kontrollen der Kolonien (PCR-Analyse), keine *Helicobacter*-Infektionen festgestellt. Der vom Züchter mitgelieferte Gesundheitsreport bestätigte dies für die beiden in der Studie als Elterntiere verwendeten Mausstämme (C3H/HeNCrl und C57Bl/6N-Mäuse). Darüber hinaus wurden von den weiblichen B6C3F1-Nachkommen nach 1 Jahr Expositionszeit gepoolte Faeces-Proben (n=10 gepoolte Proben aus 96 Tieren pro Expositionsstärke und Käfigkontrolle; insgesamt 50 Proben) gesammelt und zur weiteren Untersuchung auf eine *Helicobacter*-Infektion ins Labor von Charles River (Research Animal Diagnostic Services, Charles River, Frankreich) geschickt. Die molekularbiologische Untersuchung (PCR-Analyse) ergab keinen Hinweis auf eine Infektion der B6C3F1-Nachkommen mit einer der drei untersuchten *Helicobacter*-Arten (*Helicobacter hepaticus*, *Helicobacter bilis*, *Helicobacter genus*; Tab. 2).

Tab. 2: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen gepoolter Faeces-Proben (PCR-Analyse) aus allen Expositionsanlagen und der Käfigkontrolle auf eine *Helicobacter*-Infektion (*Helicobacter hepaticus*, *Helicobacter bilis*, *Helicobacter genus*). PCR-Ergebnisse: - = negativ.

	0 W/kg	0,04 W/kg	0,4 W/kg	2 W/kg	Käfigkontrolle
<i>Helicobacter hepaticus</i>	-	-	-	-	-
<i>Helicobacter bilis</i>	-	-	-	-	-
<i>Helicobacter genus</i>	-	-	-	-	-

Regelmäßig durchgeführte Gewichtskontrollen ergaben, dass die Mäuse der Käfigkontrolle in den ersten Lebenswochen etwas schneller an Gewicht zunahmen und bis zu einem Alter von 24 Wochen signifikant schwerer waren als gleichalte schein-

exponierte und exponierte Tiere in den Anlagen (Abb. 4). Dieser Trend setzte sich jedoch nicht fort, zwischen der 25. und 52. Lebenswoche unterscheiden sich die mittleren Gewichte der Käfigkontrolle und den mit 0 W/kg (sham), 0,04 W/kg und 2 W/kg exponierten Mäuse nicht mehr voneinander. Ab der 53. Lebenswoche steigt das Körpergewicht der Käfigkontrolle abermals an, und bis zum Versuchsende blieben die Mäuse der Käfigkontrolle signifikant schwerer als gleichalte schein-exponierte und exponierte Tiere in den Anlagen. Ab der 32. bis zur 52. Lebenswoche sind die Mäuse der 0,4 W/kg Gruppe geringfügig, wenngleich signifikant leichter, verglichen mit den Mäusen aus den anderen Anlagen. Auch im Vergleich zur Käfigkontrolle sind die mit 0,4 W/kg exponierten Mäuse ab der 32. Lebenswoche bis zum Versuchsende signifikant leichter, mit Ausnahme der 41. bis 43. Lebenswoche. Insgesamt sind die geringen Unterschiede der Körpergewichte zwischen den (schein-) exponierten Tieren jedoch als kaum bedeutsam anzusehen.

Im Vergleich zur Studie von Tillmann et al. (2010) zeigt sich, dass die Mäuse in dieser Studie wesentlich leichter sind. Im letzten Drittel des Versuchs beginnen bei Tillmann et al. (2010) die Gewichte der mit ENU behandelten Tiere zu sinken und ab ca. der 57. Lebenswoche stimmen die Gewichte der ENU-positiven Mäuse beider Studien überein. Das mittlere Gewicht der Käfigkontrolle (Tillmann et al. 2010) bleibt während der gesamten Versuchsdauer deutlich über den in dieser Studie gemessenen Gewichten. Die Daten dieser Studie decken sich jedoch weitestgehend mit den Literaturangaben (Cameron et al. 1985, Watanabe et al 2010) (Abb. 5). Die Zusammensetzung der verwendeten Futtermittel in dieser Studie und der Studie von Tillmann et al. (2010) wurde überprüft und scheidet als mögliche Erklärung für die Differenz der Körpergewichte aus. Es ist nicht auszuschließen, dass die *Helicobacter*- Infektion nicht nur zu erhöhten Tumorinzidenzen in der Leber geführt hat, sondern auch für die höheren Körpergewichte der Tiere verantwortlich ist. In einigen Studien wurde ein positiver Zusammenhang zwischen *Helicobacter*- Infektion und erhöhten Tumorinzidenzen und Körpergewichten bei Mäusen nachgewiesen (Haseman 1992; Seilkop 1995).

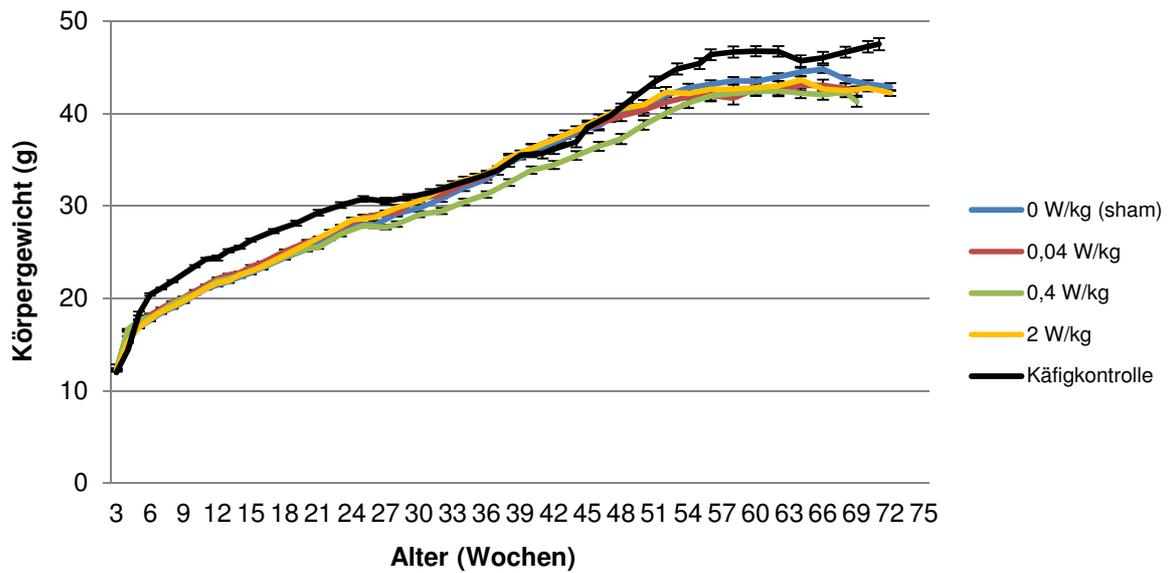


Abb. 4: Entwicklung der mittleren Gewichte (Mittelwerte \pm SEM) der weiblichen B6C3F1-Mäuse.

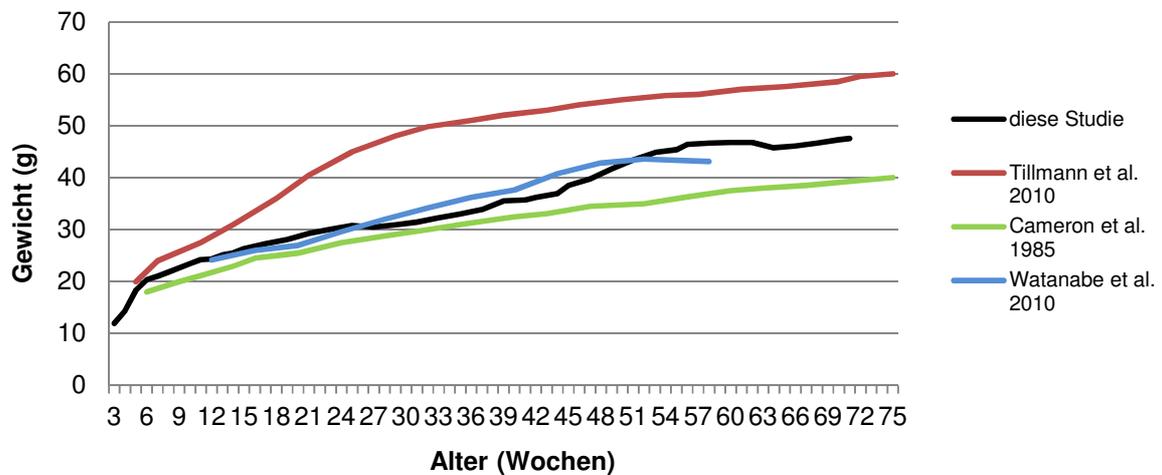


Abb. 5: Mittleres Körpergewicht (g) weiblicher B6C3F1-Mäuse der Käfigkontrolle dieser Studie und nach Literaturangaben.

4.4 Mortalität

Bei B6C3F1-Mäusen, deren Mütter mit ENU behandelt wurden, stieg die Mortalität ab etwa der 45. Lebenswoche an, verglichen mit den Tieren der Käfigkontrolle (Abb. 6).

Erreichte die Mortalität in einer Expositionsanlage 75%, wurden alle noch verbliebenen Tiere dieser Anlage getötet. Im Gegensatz zu der Studie von Tillmann et al. (2010) wurden die Tiere der Käfigkontrolle ebenfalls eingeschläfert, als die letzte Gruppe der (schein-) exponierten Tiere das 75%-Kriterium erreicht hatte. Diese Methode hat den entscheidenden Vorteil, dass altersbedingte Erkrankungen und Todesursachen vermieden werden, die den Vergleich der Gruppen erschweren würden. Das 75%-Kriterium wurde bei den scheinexponierten und exponierten ENU-positiven Mäusen zwischen der 68. und 71. Lebenswoche erreicht (Tab. 3).

Als erstes wurde das 75%-Kriterium von der 2 W/kg Gruppe in der 68. Lebenswoche erreicht. Eine Woche später, in der 69. Lebenswoche, folgten die 0,04 W/kg und 0,4 W/kg Gruppen. Am längsten überlebten die schein-exponierten Mäuse, sie wurden in der 71. Woche eingeschläfert. Eine Kaplan-Meier Analyse ergab eine mittlere Überlebenszeit der 2 W/kg Gruppe von 63 Wochen. Die Mäuse der 0,4 W/kg Gruppe überlebten im Mittel bis zur 64. Woche und die geringste mittlere Überlebenszeit von 58 Wochen zeigten die Tiere in der 0,04 W/kg Gruppe. In dieser Gruppe mit der geringsten Expositionsstärke (0,04 W/kg) verstarben die ersten 3 Mäuse unerwartet früh, innerhalb einer Woche nach dem Absetzen von den Muttertieren in der 4. und 5. Lebenswoche. Alle 3 Mäuse wurden tot im Käfig gefunden und bei einer Maus war die Zersetzung der Gewebe schon zu weit vorangeschritten, so dass keine eindeutige Todesursache mehr festgestellt werden konnte. Bei den anderen beiden Tieren konnten eine Lungenfibrose und degenerative Veränderungen der Milz, sowie bei einem Tier darüber hinaus noch ein hepatozelluläres Karzinom und maligne Lymphome festgestellt werden. Zwei Monate später verstarben in der 0,04 W/kg Gruppe erneut 2 Mäuse an einer Kombination aus Bronchiolo-Alveolar Adenomen und einem metastasierenden malignem Lymphom, während in den anderen Gruppen noch nicht ein Tier verstorben war. Von diesen frühen Todesfällen abgesehen, zeigte sich im weiteren Verlauf des Experiments jedoch keine erhöhte Mortalität in der 0,04 W/kg Gruppe.

Mit 64 Wochen war die mittlere Überlebenszeit am höchsten in der schein-exponierten Gruppe. Ein durchgeführter log-Rank Test mit paarweisen Vergleichen ergab insgesamt keine signifikanten Unterschiede der mittleren Überlebenszeiten ($p = 0,079$) zwischen den schein-exponierten und exponierten ENU-positiven Tieren.

Aufgrund der Annahme, dass wie in bisherigen Projekten beide Wellenleitungen einer Anlage derselben Expositionsstärke zugeordnet wurden, wurde das Abbruchkriterium (75 % Mortalität) bei den schein-exponierten Mäusen zu früh bzw. bei der 2 W/kg Gruppe zu spät angewandt. Tatsächlich wurden in den Anlagen 3 und 4 jeweils die Hälfte der Mäuse schein-exponiert und die andere Hälfte mit 2 W/kg exponiert, was aber durch das verblindete Studiendesign für das den Versuch durchführende Personal nicht zu erkennen war. Die schein-exponierte Gruppe hatte zum Zeitpunkt des Abbruchs in der 71. Lebenswoche erst eine Mortalität von 65 % erreicht. Es hätten demnach noch etwa 9-10 schein-exponierte Mäuse sterben müssen, bevor das 75%-Kriterium erreicht worden wäre, was vermutlich innerhalb weniger Tage passiert wäre. Ein signifikanter Einfluss auf die histopathologischen Untersuchungen und Diagnosen ist daher auszuschließen.

Mit Ausnahme von 3 Tieren überlebten alle Mäuse der Käfigkontrolle bis zum Versuchsende und wurden zusammen mit den verbliebenen Mäusen der schein-exponierten Gruppe eingeschläfert (71. Lebenswoche). In der Studie von Tillmann et al. (2010) erhöhte sich die Mortalität der ENU behandelten Tiere ab einem Alter von etwa 52 Wochen und somit ca. 7 Wochen später als in dieser Studie. Auch überlebten die ENU-positiven Mäuse bei Tillmann et al. (2010) 4-7 Wochen länger, das 75%-Kriterium wurde in der 75. Lebenswoche erreicht. Auch in der vorangegangenen Studie von Tillmann et al. (2010), ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den ENU-positiven Tieren.

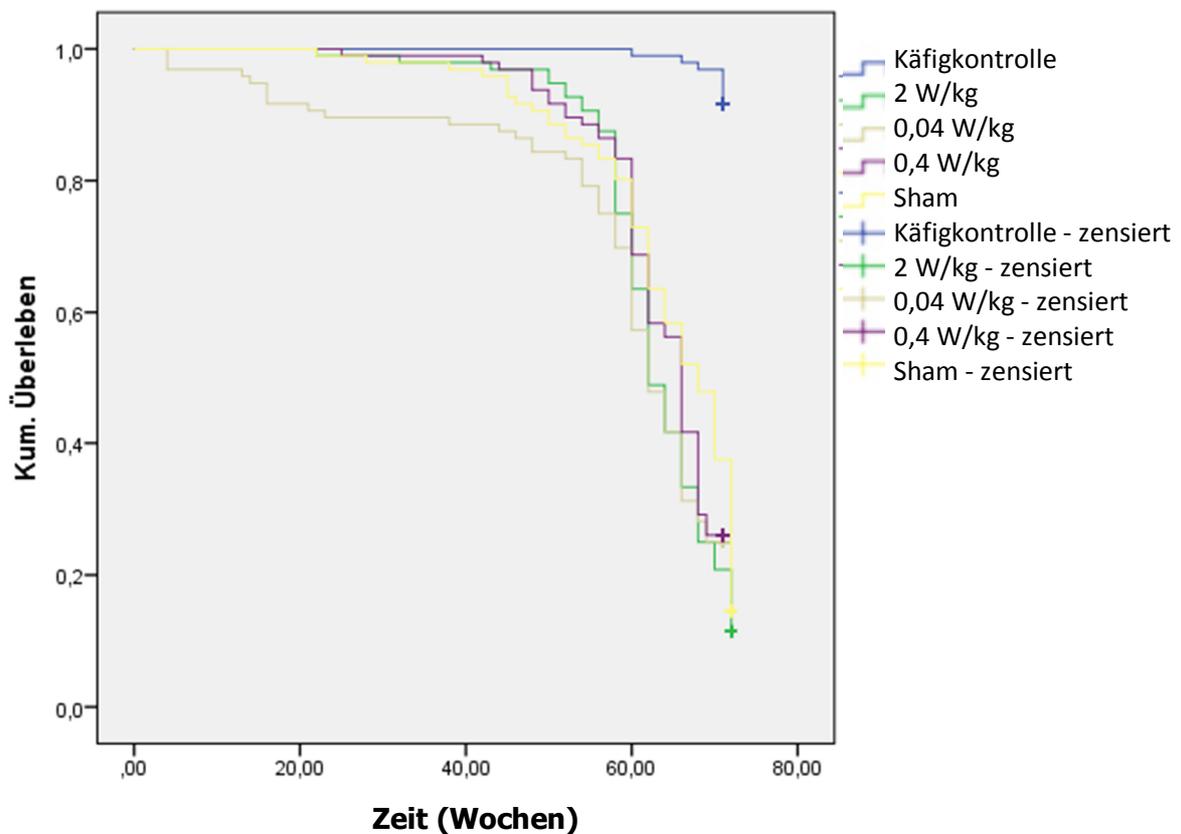


Abb. 6: Überlebensfunktionen der schein-exponierten und exponierten Gruppen sowie der Käfigkontrolle. „Zensiert“ bedeutet, dass die Tiere der entsprechenden Gruppe zu diesem Zeitpunkt getötet wurden.

Tab. 3: Lebenswoche in der die ENU-positiven Mäuse das 75%-Mortalitätskriterium erreicht haben, sowie die mittlere Überlebenszeit (Wochen) nach Kaplan-Meier Analyse.

Gruppe	Abbruchkriterium erreicht	Mittlere Überlebenszeit (Mean \pm SEM) ^a
0 W/kg (sham)	71. Woche	64,2 \pm 1,04
0,04 W/kg	69. Woche	58,1 \pm 1,73
0,4 W/kg	69. Woche	63,6 \pm 0,81
2 W/kg	68. Woche	62,9 \pm 0,84

^a Da die Schätzung zensiert ist, wird sie auf die größte Überlebenszeit begrenzt.

4.5 Histopathologische Untersuchungen

Von allen 96 Mäusen einer Expositionsgruppe und der Käfigkontrolle wurden die Organe Lunge, Milz, Leber, Gehirn und Nieren histopathologisch analysiert (Tab. 4). In einigen Fällen waren die Organe zu stark degeneriert und in einem Fall verstarb eine Maus unbemerkt und wurde bei der Routinereinigung der Käfige unabsichtlich beseitigt, so dass die Anzahl der untersuchten Organe von den Gruppengrößen in einigen Fällen abweicht.

Die Tumorinzidenzen im **Gehirn**, den **Nieren** und der **Milz** unterschieden sich weder zwischen den (schein-) exponierten ENU-positiven Tieren, noch zwischen den Kontrolltieren und den schein- bzw. exponierten Tieren. Im Gehirn konnten bei den Tieren der Käfigkontrolle und der 0,04 W/kg Gruppe keine Gehirntumore nachgewiesen werden. In der 2 W/kg Gruppe konnte bei einer einzigen Maus ein malignes Oligodendrogliom festgestellt werden, in der 0,4 W/kg und der 0 W/kg (sham) konnten bei jeweils 4 % der Mäuse verschiedene Tumore im Gehirn festgestellt werden (Tab 4).

In den **Nieren** wurden Karzinome, Adenome und Hyperplasien histopathologisch erfasst. Nierenkarzinome traten bei 2 % (sham) - 7 % (0,4 W/kg) der ENU-positiven Mäuse auf und in der Käfigkontrolle gar nicht. Nierenadenome wurden in allen Gruppen festgestellt mit Tumorinzidenzen zwischen 2 % und 5 %. Die Inzidenzen von Hyperplasien lag bei 5 % in den 0 W/kg (sham) und 0,4 W/kg Gruppen und bei 3 % in der 0,04 W/kg, die Gruppe mit der höchsten Exposition und die Käfigkontrolle wiesen keine Hyperplasien auf.

In der **Milz** traten maligne Hämangiosarkome am häufigsten in der schein-exponierten Gruppe (3 %) und in der Käfigkontrolle (2 %) auf und waren in der mittleren und höchsten Expositionsstärke nicht vorhanden. Benigne Hämangiome traten in der Käfigkontrolle nicht auf und mit nur geringen Tumorinzidenzen zwischen 1 % - 2 % in den ENU-positiven Gruppen. Stromal Hyperplasia konnte in allen Gruppen festgestellt werden und trat mit 8 % am häufigsten bei Mäusen der 0,04 W/kg und 0,4 W/kg Gruppe auf und war am seltensten in der Käfigkontrolle (1 %). Eine tumorpromovierende Wirkung der UMTS-Exposition im Gehirn, den Nieren und der Milz konnte nicht festgestellt werden, dies deckt sich mit den Ergebnissen der Pilotstudie von Tillmann et al. (2010).

Wie zu erwarten, wurden in der **Lunge** und der **Leber** bei den mit ENU behandelten Tieren erhöhte Tumorinzidenzen beobachtet. Bekanntermaßen führt eine einmalige maternale ENU-Administration bei C57BL/6J x C3HeB/FeJ-Hybriden zwischen dem 12. und 16. Trächtigkeitstag z.B. zu einer erhöhten Leber- und Lungentumorhäufigkeit (Pereira et al. 1985, Vesselinovitich et al. 1977). So konnten Bronchiolo-Alveolar Karzinome bei 79 % - 96 % und Bronchiolo-Alveolar Adenome bei 23 % - 46% der mit ENU behandelten Mäusen nachgewiesen werden (Tab. 4, Abb. 7 und 7a). Im Vergleich dazu lagen die Tumorinzidenzen der Käfigkontrolle bei 3 % (Bronchiolo-Alveolar Karzinome) bzw. 10 % (Bronchiolo-Alveolar Adenome).

In der Pilotstudie von Tillmann et al. (2010) fanden sich bei allen untersuchten Lungentumorarten signifikant erhöhte Inzidenzen in der ENU+UMTS (4,8 W/m²) Gruppe. Bronchiolo-Alveolar Adenome traten auch in dieser Studie bei den exponierten Mäusen (39 – 46%) signifikant häufiger auf als in der schein-exponierten Gruppe (23 %). Bronchiolo-Alveolar Karzinome hingegen traten nur in der mit 0,4 W/kg exponierten Gruppe signifikant häufiger auf als in der schein-exponierten Gruppe (96 % vs. 84 %). Im Gegensatz zu den Befunden von Tillmann et al. (2010) konnten keine Unterschiede der Inzidenzen von Bronchiolo-Alveolar Hyperplasien zwischen den schein-exponierten und exponierten Gruppen, sowie der Käfigkontrolle festgestellt werden. Für Bronchiolo-Alveolar Karzinome und Adenome wurde ebenfalls erfasst, ob es sich um einfache bzw. multiple Bronchiolo-Alveolar Karzinome oder Adenome handelte und ob sie Metastasen ausgebildet hatten (Tab. 5 und 6). In der Mehrzahl handelte es sich bei diagnostizierten Bronchiolo-Alveolar Karzinomen in mit ENU behandelten Mäusen um multiple Karzinome (54 – 75 %). Weder für einfache noch für multiple Bronchiolo-Alveolar Karzinome zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen schein-exponierten und exponierten Tieren (Abb. 9). Mit 70 – 89 % bildete die große Mehrheit der Bronchiolo-Alveolar Karzinome keine Metastasen aus, bei 4 – 10 % der (schein-) exponierten Mäuse wurden Metastasen gefunden. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den (schein-) exponierten Mäusen in der Metastasenbildung des Bronchiolo-Alveolar Karzinoms.

Multiple Bronchiolo-Alveolar Adenome traten signifikant häufiger in der 0,04 W/kg (23 %) als in der 0 W/kg (sham) Gruppe (9 %) auf, jedoch nicht in den anderen beiden UMTS-exponierten Gruppen. Bei einfachen Bronchiolo-Alveolar Adenomen fanden sich

signifikante Unterschiede zwischen der 0 W/kg (sham, 14 %) und der mittleren Expositionsstärke (0,4 W/kg, 29 %), aber nicht für die niedrigste und höchste Expositionsstärke.

Während Tillmann et al. (2010) deutlich erhöhte Funde multipler Bronchiolo-Alveolar Karzinome für die mit UMTS (4,8 W/m²) + ENU im Vergleich zu den nur mit ENU behandelten Mäusen berichtete, konnte dies in dieser Studie nicht beobachtet werden. (Tab 5). In beiden Studien fanden sich keine Unterschiede im Auftreten einfacher Bronchiolo-Alveolar Karzinome und der Metastasenbildung zwischen den Gruppen. Weder für multiple, noch für einfache Bronchiolo-Alveolar Adenome ließen sich in der vorangegangenen Studie Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen. In der aktuellen Studie hingegen weist jeweils eine der drei exponierten Gruppen einen signifikant höheren Wert für multiple oder einfache Adenome auf als die schein-exponierte Gruppe (Tab 5).

Die Inzidenzen für Lebertumore stellten sich sehr unterschiedlich dar. Nur geringe Tumorinzidenzen, zwischen 0 % und 4 %, konnten für Hepatoblastome, Hämangiosarkome, Hämangiome und Hyperplasien der Gallengänge festgestellt werden, sie unterschieden sich nicht zwischen den (schein-) exponierten Mäusen und der Käfigkontrolle. Bei den Hepatoblastomen handelte es sich ausnahmslos um einfache Tumore, die etwa mit der gleichen Häufigkeit (0 - 2%) in allen Gruppen Metastasen ausbildeten oder ohne Metastasen auftraten. Diese Ergebnisse decken sich mit den Befunden von Tillmann et al. (2010). Etwas höhere Tumorinzidenzen ließen sich für veränderte hepatozelluläre Foci ermitteln. Neben hepatozellulären Adenomen und Karzinomen werden generell durch die ENU-Administration auch die Tumorinzidenzen für veränderte hepatozelluläre Foci erhöht (Pereira et al. 1985). Bei den mit ENU behandelten Mäusen lagen die Tumorinzidenzen zwischen 15 % und 19 %, in der Käfigkontrolle bei 9 %, und auch hier fanden sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Anders bei Tillmann et al. (2010), hier liegen die Inzidenzen bei der Käfig- und Sham- Kontrolle bei 33 %, in der ENU-Positivkontrolle bei 28 % und in der ENU + UMTS (4,8 W/m²) Gruppe mit 52 % fast doppelt so hoch wie bei der Kontrolle. Die höchste Inzidenz wurde in der Tillmann-Studie mit 61 % in der UMTS (48 W/m²) Gruppe gefunden, die nicht mit ENU behandelt wurde.

Der am häufigsten auftretende Lebertumor in dieser Studie bei allen Gruppen war das benigne hepatozelluläre Adenom, mit Inzidenzen zwischen 34 und 40 %. Selbst in der Käfigkontrolle wurde bei 37 Mäusen (39 %) ein solches Adenom festgestellt. Zwischen den schein- und exponierten Mäusen, sowie der Käfigkontrolle ließen sich keine signifikanten Unterschiede in den Tumorinzidenzen feststellen, ebenso waren einfache und multiple hepatozelluläre Adenome in allen ENU-positiven Gruppen gleich häufig zu beobachten (Tab 4). In der Tillmann et al. Studie (2010) wurden sehr viel höhere Tumorinzidenzen für das hepatozelluläre Adenom (50 – 84 %) registriert. Erstaunlicherweise war die niedrigste Tumorinzidenz mit 50 % in der ENU-Positivkontrolle zu beobachten. In der ENU + UMTS (4,8 W/m²) Gruppe war sie um 34 % signifikant höher und in der UMTS (48 W/m²) Gruppe um 32 %. Auch wurden multiple hepatozelluläre Adenome signifikant häufiger in der ENU + UMTS (4,8 W/m²) Gruppe als in der ENU-Positivkontrolle gefunden, für einfache hepatozelluläre Adenome ließ sich kein Unterschied feststellen. Selbst die Käfigkontrolle lag mit Tumorinzidenzen für das hepatozelluläre Adenom von 77 % weit über den Werten der ENU-Positivkontrolle. Mit Tumorinzidenzen von 39 % und 77 % lagen die Käfigkontrollen beider Studien über der durchschnittlich gefundenen Inzidenz für spontane hepatozelluläre Adenome. In einer Vergleichsstudie wurden B6C3F1-Mäuse der Käfigkontrolle aus 48 Studien auf ihre spontane Tumorbildung hin untersucht. Für hepatozelluläre Adenome wurden im Mittel Inzidenzen von 23,6 % für Weibchen und 42,2 % für Männchen gefunden (Haseman et al. 1998). Die in der vorliegenden Studie gefundenen Daten liegen daher im Bereich der publizierten Studien. Möglicherweise lassen sich die extrem hohen Tumorinzidenzen der Tillmann - Studie (Tillmann et al. 2010) für das hepatozelluläre Adenom auf die *Helicobacter ssp.*- Infektion zurückführen (Ward et al. 1994a, b).

Eine signifikant höhere Tumorinzidenz des hepatozellulären Karzinoms ließ sich in dieser Studie bei allen exponierten, mit ENU behandelten Gruppen im Vergleich zur schein-exponierten Gruppe finden (Abb. 8). Auch traten einfache hepatozelluläre Karzinome signifikant häufiger in den 0,04 W/kg, 0,4 W/kg und 2 W/kg Gruppen auf, als in der schein-exponierten Gruppe. Multiple hepatozelluläre Karzinome traten in allen Gruppen gleich häufig auf, und auch bei der Metastasenbildung zeigten sich keine Gruppenunterschiede (Tab. 5 und 6). Im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Studie beobachteten Tillmann

et al. (2010) keine Unterschiede zwischen den mit ENU behandelten Tieren. Die ENU-Positivkontrolle und die ENU + UMTS (4,8 W/m²) Gruppe wiesen zwar höhere, aber identische Tumorinzidenzen des hepatozellulären Karzinoms von 52 % auf. Die Metastasenbildung sowie die Anzahl einfacher und multipler hepatozellulären Karzinome unterschied sich ebenfalls nicht zwischen diesen beiden Gruppen.

Tumorinzidenzen des histiozytischen Sarkoms fallen in dieser Studie ebenso gering aus wie in der Vorläuferstudie und unterscheiden sich nicht zwischen den Gruppen. Maligne Lymphome traten in dieser Studie signifikant häufiger in der 0,4 W/kg Gruppe (24 %) als in der schein-exponierten Gruppe (9 %) auf. Zwischen den anderen Gruppen wurden keine statistischen Unterschiede der Lymphominzidenzen beobachtet (Abb. 10). Bemerkenswerterweise wiesen die ENU-positiven Gruppen in der Tillmann - Studie (Tillmann et al. 2010) die niedrigsten Lymphominzidenzen mit jeweils 7 % auf, während die anderen Gruppen eine mindestens 4mal höhere Tumorinzidenz aufwiesen. Die höchste Lymphominzidenz wurde hier sogar in der Käfigkontrolle mit 40 % beobachtet. In früheren Studien mit einem anderen Mausstamm (Sommer et al. 2004a, b, 2007) wiesen exponierte AKR/J Mäuse bei chronischer GSM- und UMTS - Exposition keine signifikant erhöhte Lymphominzidenz gegenüber der Kontrollgruppe auf.

Tab. 4: Häufigkeit von Neoplasien in den untersuchten Organen der Käfigkontrolle, sham und exponierten Gruppen.

Lesions	Cage Control	0 W/kg (sham)	0,04 W/kg	0,4 W/kg	2 W/kg
<i>Gehirn</i>	[96]	[96]	[92]	[96]	[96]
Mixed Glioma [M]	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1%)	0 (0%)
Oligodendroglioma [M]	0 (0%)	1 (1%)	0 (0%)	1 (1%)	1 (1%)
Oligodendroglioma [B]	0 (0%)	1 (1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Astrocytoma [B]	0 (0%)	1 (1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Meningioma [B]	0 (0%)	1 (1%)	0 (0%)	2 (2%)	0 (0%)
<i>Lunge</i>	[96]	[96]	[94]	[96]	[95]
Bronchiolo-Alveolar Carcinoma (Ta) [M]	3 (3%)	81 (84%)	74 (79%)	92 (96%)**	77 (81%)
Bronchiolo-Alveolar Adenoma (Ta) [B]	10 (10%)	22 (23%)	43 (46%)***	43 (45%)**	37 (39%)*
Bronchiolo-Alveolar hyperplasia	3 (3%)	7 (7%)	7 (7%)	9 (9%)	3 (3%)
<i>Leber</i>	[96]	[96]	[93]	[96]	[95]
Hepatocellular Carcinoma (Ta) [M]	4 (4%)	13 (14%)	28 (30%)**	24 (25%)*	28 (29%)**
Hepatocellular Adenoma (Ta) [B]	37 (39%)	33 (34%)	37 (40%)	34 (35%)	33 (35%)
Hepatoblastoma (Ta) [M]	0 (0%)	3 (3%)	3 (3%)	1 (1%)	1 (1%)
Hemangiosarcoma (Ta) [M]	0 (0%)	2 (2%)	3 (3%)	3 (3%)	3 (3%)
Hemangioma (Ta) [B]	3 (3%)	4 (4%)	1 (1%)	2 (2%)	2 (2%)
Focus/Foci of hepatocellular alteration	9 (9%)	14 (15%)	15 (16%)	18 (19%)	14 (15%)
Bile duct hyperplasia	0 (0%)	2 (2%)	0 (0%)	1 (1%)	0 (0%)
<i>Niere</i>	[96]	[96]	[91]	[96]	[96]
Renal Tubule Carcinoma [M]	0 (0%)	2 (2%)	3 (3%)	7 (7%)	5 (5%)
Renal Tubule Adenoma [B]	2 (2%)	3 (3%)	2 (2%)	5 (5%)	2 (2%)
Renal Tubular hyperplasia	0 (0%)	5 (5%)	3 (3%)	5 (5%)	0 (0%)
<i>Milz</i>	[96]	[96]	[93]	[96]	[96]
Hemangiosarcoma [M]	2 (2%)	3 (3%)	1 (1%)	0 (0%)	0 (0%)
Hemangioma [B]	0 (0%)	1 (1%)	1 (1%)	2 (2%)	1 (1%)
Stromal hyperplasia	1 (1%)	7 (7%)	8 (8%)	8 (8%)	5 (5%)
<i>Hematop./Lymphat. Gewebe</i>	[96]	[96]	[93]	[96]	[96]
Lymphoma [M]	6 (6%)	9 (9%)	16 (17%)	23 (24%)**	9 (9%)
Histiocytic Sarcoma [M]	0 (0%)	4 (4%)	2 (2%)	1 (1%)	2 (2%)

Zahlen in eckigen Klammern geben die Anzahl histologisch untersuchter Organe pro Gruppe (n=96) an.

[B] Benigne Neoplasie / [M] Maligne Neoplasie. (Ta): nicht-invasiv.

* p < 0,5 ** p < 0,01 vs. sham.

Tab. 5: Anzahl von Neoplasien in den Organen Lunge und Leber der ENU-positiven Gruppen, aufgeschlüsselt nach singulären und multiplen Tumoren.

Lesions	0 W/kg (sham)	0,04 W/kg	0,4 W/kg	2 W/kg
Lungs	[96]	[94]	[96]	[95]
Multiple Bronchiolo-Alveolar Carcinoma [M]	62 (65%)	52 (55%)	72 (75%)	51 (54%)
Single Bronchiolo-Alveolar Carcinoma [M]	19 (20%)	22 (23%)	20 (21%)	26 (27%)
Multiple Bronchiolo-Alveolar Adenoma (Ta) [B]	9 (9%)	22 (23%)**	15 (16%)	15 (16%)
Single Bronchiolo-Alveolar Adenoma (Ta) [B]	13 (14%)	21 (22%)	28 (29%)**	22 (23%)
Liver	[96]	[93]	[96]	[95]
Multiple Hepatoblastoma [M]	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Single Hepatoblastoma [M]	3 (3%)	3 (3%)	1 (1%)	1 (1%)
Multiple Hepatocellular Carcinoma [M]	5 (5%)	10 (11%)	6 (6%)	6 (6%)
Single Hepatocellular Carcinoma [M]	8 (8%)	18 (19%)*	18 (19%)*	22 (23%)**
Multiple Hepatocellular Adenoma [B]	10 (10%)	15 (16%)	13 (14%)	11 (12%)
Single Hepatocellular Adenoma [B]	23 (24%)	22 (24%)	21 (22%)	22 (23%)

Zahlen in eckigen Klammern geben die Anzahl histologisch untersuchter Organe pro Gruppe (n=96) an.

[B] Benigne Neoplasie / [M] Maligne Neoplasie

* p < 0,05; ** p < 0,01 vs. sham.

Tab. 6: Anzahl von metastasierenden Tumoren in den Organen Lunge und Leber der ENU-positiven Gruppen.

Lesions	0 W/kg (sham)	0,04 W/kg	0,4 W/kg	2 W/kg
Lunge	[96]	[94]	[96]	[95]
Metastasising Bronchiolo-Alveolar Carcinoma [M]	4 (4%)	8 (9%)	7 (7%)	10 (11%)
Non-Metastasising Bronchiolo-Alveolar Carcinoma [M]	77 (80%)	66 (70%)	85 (89%)	67 (71%)
Leber	[96]	[93]	[96]	[95]
Metastasising Hepatoblastoma [M]	2 (2%)	1 (1%)	0 (0%)	1 (1%)
Non-Metastasising Hepatoblastoma [M]	1 (1%)	2 (2%)	1 (1%)	0 (0%)
Metastasising Hepatocellular Carcinoma [M]	6 (6%)	15 (16%)*	13 (14%)	7 (7%)
Non-Metastasising Hepatocellular Carcinoma [M]	7 (7%)	13 (14%)	11 (11%)	21 (22%)**

Zahlen in eckigen Klammern geben die Anzahl histologisch untersuchter Organe pro Gruppe (n=96) an.

[B] Benigne Neoplasie / [M] Maligne Neoplasie

* p < 0,05; ** p < 0,01 vs. sham.

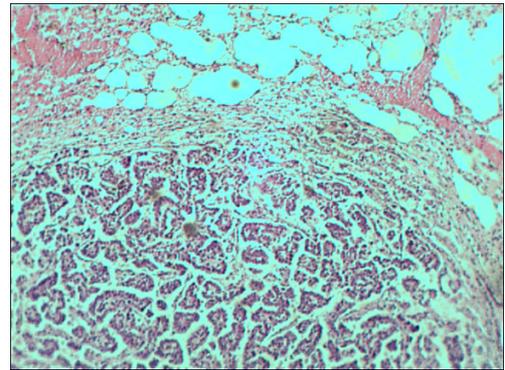
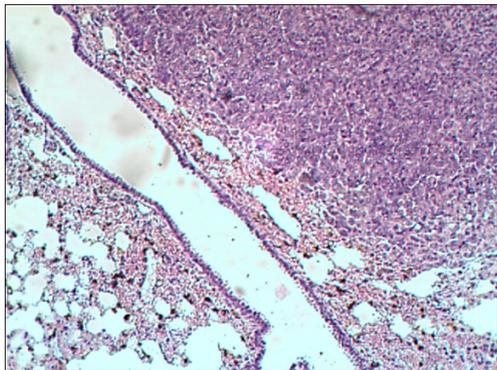
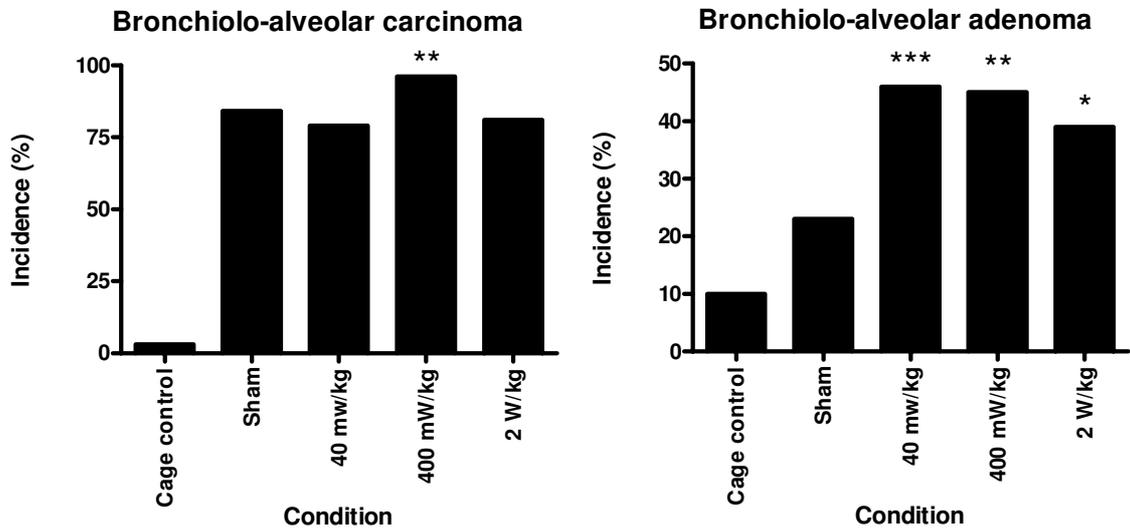


Abb. 7: Prozentuale Häufigkeiten von Neoplasien in der Lunge in allen Gruppen: Bronchiolo-Alveolar Karzinome (linke Seite) mit entsprechender histologischer Darstellung (10x Vergrößerung) und Bronchiolo-Alveolar Adenome (rechte Seite) mit entsprechender histologischer Darstellung (10x Vergrößerung). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs. sham.

Posterior distributions
Bronchiolo-alveolar

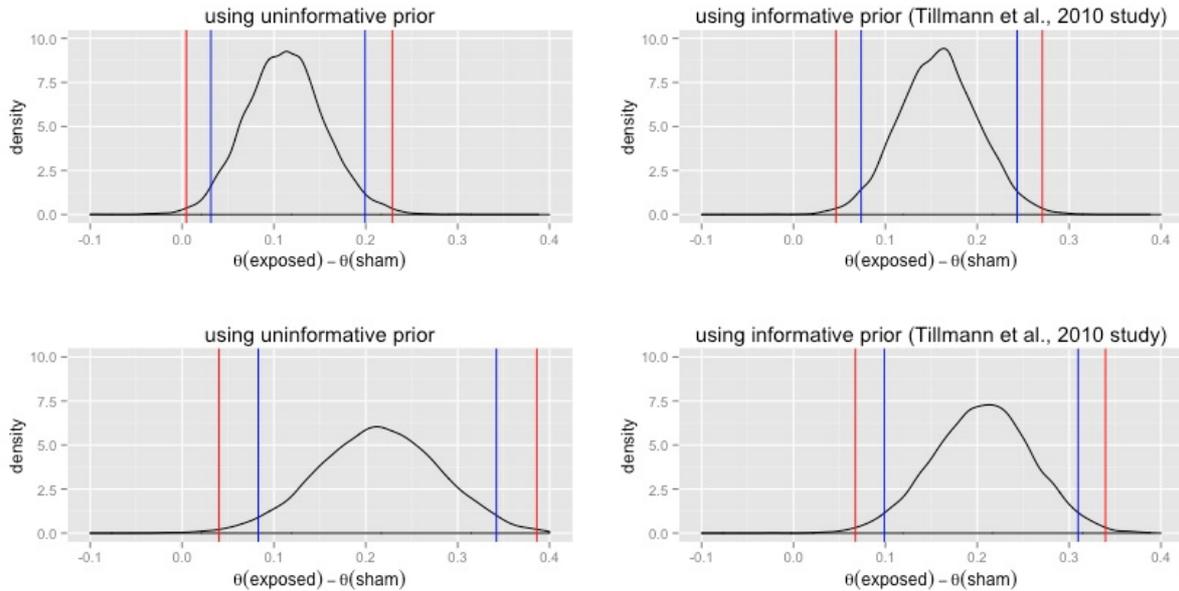


Abb. 7a: Ergebnisse der Analyse der Effekte der Exposition auf die Lungentumore mittels Bayesscher Statistik (Einzelheiten zum Verfahren siehe Methoden). Dargestellt sind die Häufigkeitsfunktionen (schwarze Linien) von Monte-Carlo-Simulationen für die Karzinome (obere Teilabbildungen) und die Adenome (untere Teilabbildungen) für den SAR-Wert von 0,4 W/kg bzw. die Leistungsflussdichte von 4,8 W/m². Die beiden linken Abbildungen sind ohne, die beiden rechten mit Berücksichtigung der Befunde von Tillmann et al. (2010). Die x-Achse steht für den Unterschied der Inzidenz (exponiert – sham), die y-Achse zeigt die Häufigkeit der Ergebnisse der Simulationen. Die blauen bzw. roten Linien markieren die Bereiche, in denen 95% bzw. 99% der Simulationen liegen. Es ist klar zu erkennen, dass in allen Fällen ein deutlicher Unterschied festzustellen ist (höhere Inzidenzen durch die Exposition; keine Überlappung mit „kein Effekt“ (0)).

Die Berechnungen wurden von Prof. Dr. A. Wilhelm (Jacobs University Bremen) durchgeführt.

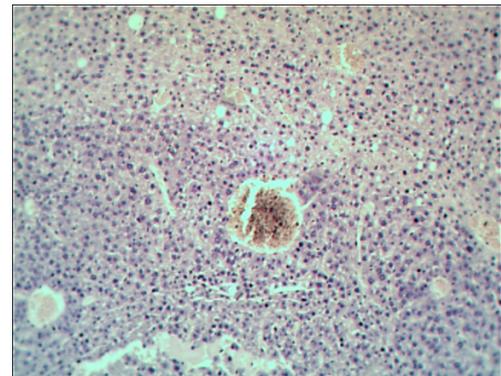
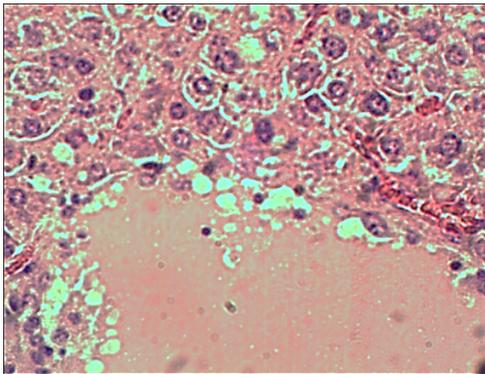
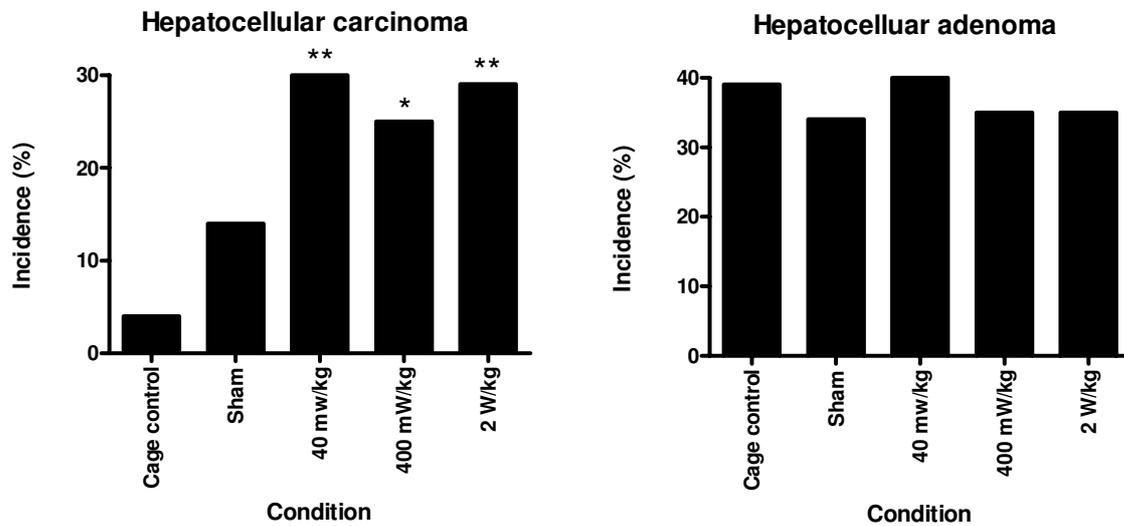


Abb. 8: Prozentuale Häufigkeiten von Neoplasien in der Leber in allen Gruppen: Hepatozelluläre Karzinome (linke Seite) mit entsprechender histologischer Darstellung (40x Vergrößerung) und hepatozelluläre Adenome (rechte Seite) mit entsprechender histologischer Darstellung (10x Vergrößerung). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ vs. sham.

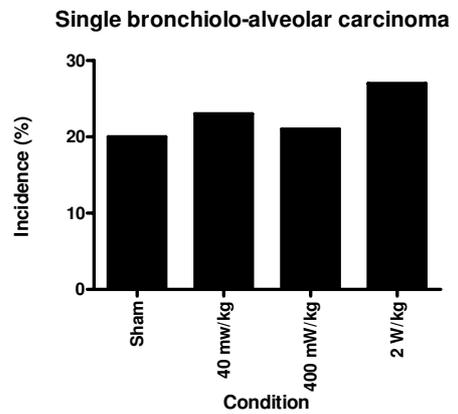
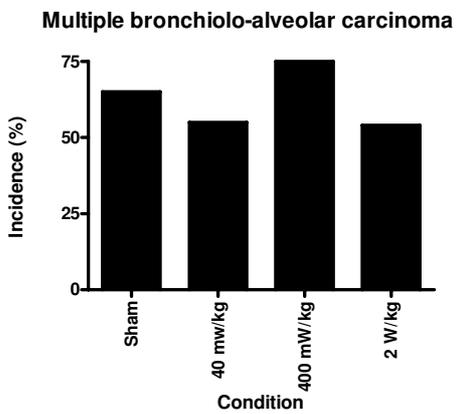
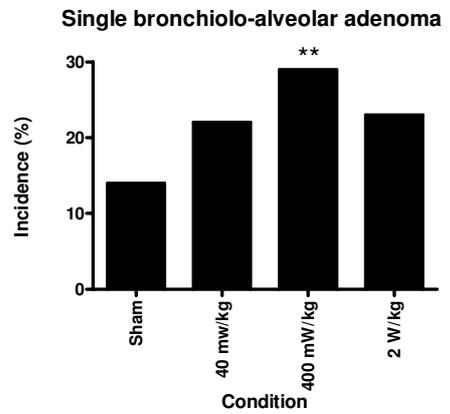
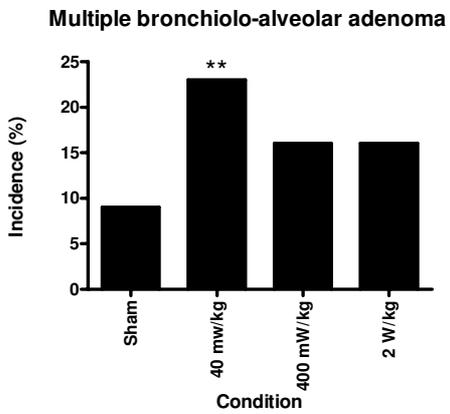


Abb. 9: Prozentuale Häufigkeiten von singulären und multiplen Tumoren in der Lunge in den mit ENU-behandelten Gruppen. ** p < 0,01 vs. sham.

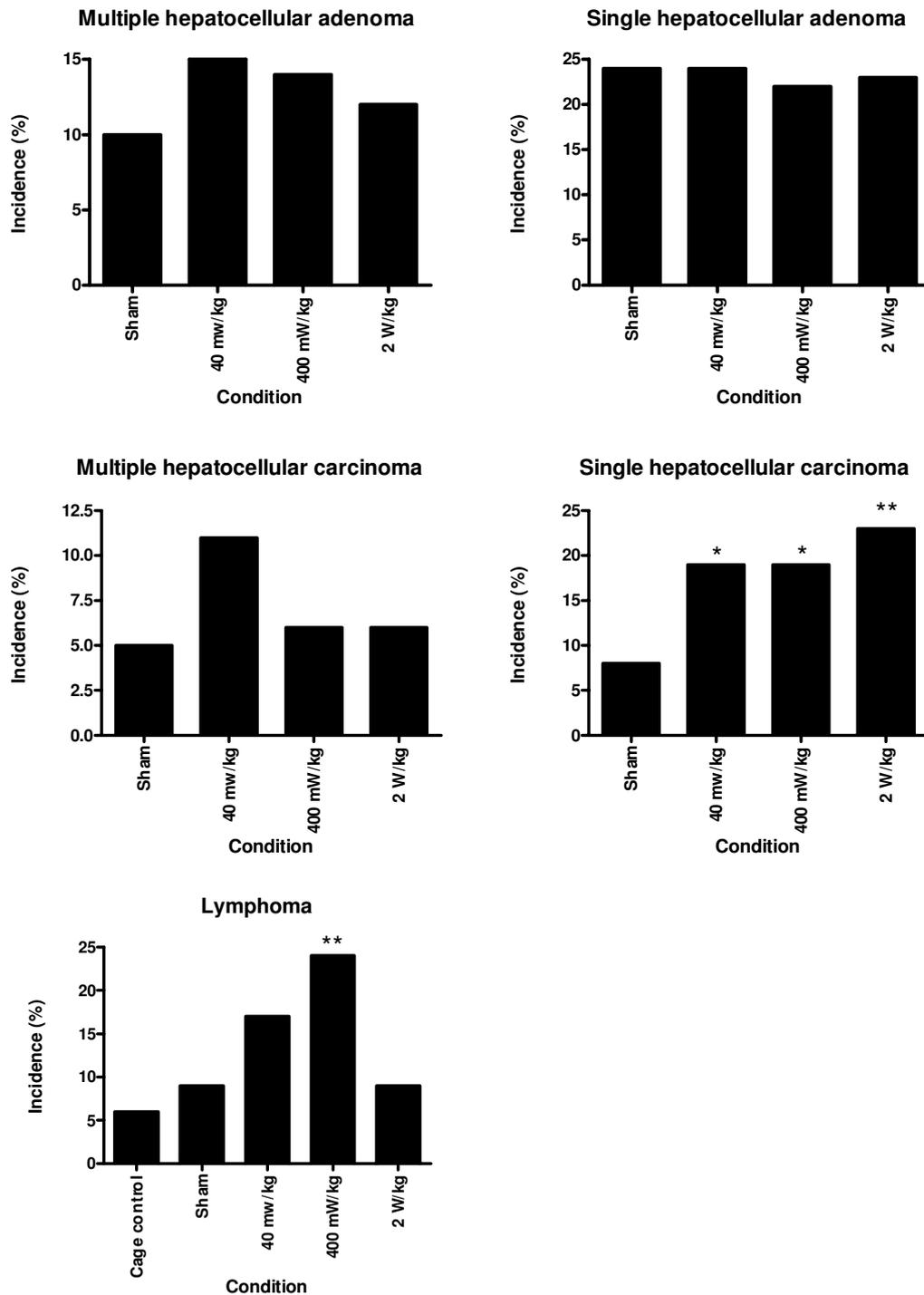


Abb. 10: Prozentuale Häufigkeiten von singulären und multiplen Tumoren in der Leber sowie Häufigkeiten von Lymphomen in den mit ENU-behandelten Gruppen. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ vs. sham.

5. Bewertung der Ergebnisse

Anhand des aktuellen Kenntnisstands wird nicht angenommen, dass eine akute oder chronische Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (HF-EMF) eine tumorinduzierende Wirkung hat. In einigen Studien gab es jedoch vereinzelt Hinweise auf eine mögliche tumorpromovierende Wirkung durch HF-EMF (Zook und Simmens 2001, Tillmann et al. 2010; Übersicht Health Council of Netherlands 2014). Sehr häufig wurde die Frage gestellt, ob die Entstehung bzw. die Entwicklung von Hirntumoren durch HF-EMFs beeinflusst wird (Adey et al. 1999, 2000, Shirai 2005, 2007, Zook and Simmens 2001, 2006; Repacholi et al. 2012). Es zeigte sich, dass bei ENU-induzierter Karzinogenese in Kombination mit HF-EMF die Hirntumorinzidenzen nicht anstiegen. Dies kann durch diese Studie bestätigt werden, es wurden keine erhöhten Tumorinzidenzen im Gehirn UMTS-exponierter B6C3F1-Mäuse festgestellt. Des Weiteren ließen sich auch in der Milz und den Nieren keine erhöhten Tumorinzidenzen feststellen, was die Ergebnisse der Pilotstudie von Tillmann et al. (2010) bestätigt. Eine tumorpromovierende Wirkung chronischer UMTS-Exposition im Gehirn, den Nieren und der Milz kann daher weitestgehend ausgeschlossen werden.

Für die Lunge und die Leber hingegen ließen sich sowohl in der Tillmann-Studie (Tillmann et al. 2010) als auch in dieser Studie erhöhte Tumorinzidenzen finden. Die Inzidenzen des Bronchiolo-Alveolar Karzinoms waren in beiden Studien in den ENU-positiven und exponierten Gruppen erhöht, in der vorliegenden Studie in der 0,4 W/kg Gruppe. Für Bronchiolo-Alveolar Adenome zeigten sich nur in dieser Studie erhöhte Inzidenzen in den exponierten Gruppen. In der Leber ließen sich für hepatozelluläre Karzinome (diese Studie) und hepatozelluläre Adenome (Tillmann et al. 2010) erhöhte Inzidenzen ermitteln.

Anders als in der Studie von Tillmann et al. konnte in der vorliegenden Studie auch gezeigt werden, dass die Inzidenz von Lymphomen durch die Exposition zunahm, wenngleich statistisch signifikant nur bei dem SAR-Wert von 0,4 W/kg.

Im Prinzip kann und muss daher geschlussfolgert werden, dass tumorpromovierende Effekte lebenslanger Exposition zu hochfrequenten elektromagnetischen Feldern im ENU-Mausmodell als gesichert anzusehen sind.

Welche Mechanismen der tumorpromovierenden Wirkung in der Lunge und der Leber und den Lymphomen zugrunde liegen, darüber kann derzeit nur spekuliert werden. Auch darüber, warum erhöhte Tumorzinzenzen vermehrt in den Gruppen mit schwacher und mittlerer Expositionsstärke (0,04 W/kg bzw. 0,4 W/kg) auftraten und nicht in der mit 2 W/kg am stärksten exponierten Gruppe. Dennoch sollen einige Hypothesen formuliert werden, die der experimentellen Überprüfung zugänglich sind.

Die Exposition zu hochfrequenten elektromagnetischen Feldern verursacht je nach den elektrischen Eigenschaften des betreffenden Gewebes die Absorption eines Teils der elektromagnetischen Energie, die in Wärme umgewandelt wird. Zwar werden unterhalb der gesetzlichen Grenzwerte schädliche Erwärmungen vermieden, dennoch ist es falsch anzunehmen, dass die Temperatur des Gewebes bei Exposition unterhalb der Grenzwerte grundsätzlich nicht verändert wird. Vielmehr wird die absorbierte Wärme durch die Blutzirkulation abtransportiert. Regelungsmechanismen stellen sicher, dass es zu keiner messbaren Erhöhung der Temperatur des Gesamtorganismus führt. Eine Vorstudie zur eigentlichen Studie von Tillmann et al. (2010), dort auch beschrieben, zeigte keine relevanten Temperatureffekte bei 48 W/m². Bei ähnlich hohen SAR-Werten kann die Exposition allerdings zu messbaren Erhöhungen der Felltemperaturen führen, bei unveränderter Körperkerntemperatur, wie die bei Dsungarischen Hamstern gezeigt werden konnte (Taberski et al., 2014). Ein weiteres, in der zitierten Publikation enthaltenes Ergebnis wies darauf hin, dass es zu Verschiebungen des Metabolismus kam: die absorbierte Energie führte zu einem geringeren Futterverbrauch und einer verringerten Produktion von CO₂ bei SAR-Werten von 4 W/kg. Die zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur notwendige biochemische Energie (Futter) wird also gedrosselt, weil die vom elektromagnetischen Feld stammende Energie in das System aufgenommen wird. In die gleiche Richtung weisen Befunde, die eine Erhöhung des Körpergewichts von Dsungarischen Hamstern zeigten, die elektromagnetischen Feldern mit niedrigen SAR-

Werten (80 mW/kg) ausgesetzt waren (Lerchl et al., 2008). Zwar ist im vorliegenden Versuch kein vergleichbarer Anstieg des Körpergewichts festgestellt worden, dennoch ist es durchaus vorstellbar, dass Tumoren die zusätzlich absorbierte Energie nutzen können, um schneller zu wachsen. In diesem Zusammenhang ist auch wichtig, dass Tumorgewebe bekanntermaßen schlechter durchblutet ist als normales Gewebe, wodurch die absorbierte Wärmeenergie schlechter abtransportiert werden kann und somit lokal erhöhte Temperaturen auftreten könnten.

In der medizinischen Tumorthherapie wird bei hepatozellulären Karzinomen im Frühstadium die sogenannte Hochfrequenzablation (Radiofrequency ablation, RFA) eingesetzt (Bruix und Sherman 2011). Die Erwärmung des Tumorgewebes auf 55°C führt zu Nekrose der hepatozellulären Karzinomzellen. Wird das Gewebe jedoch auf lediglich 48°C - 50°C erwärmt, überleben 65 – 85 % der Tumorzellen (Yoshida et al. 2013). *In vitro* und *in vivo* Studien haben gezeigt, dass wärmebehandelte hepatozelluläre Karzinomzellen weitaus aggressiver sind als unbehandelte Zellen, sie besitzen eine höhere Proliferationsrate und ein höheres kanzerogenes Potential (Takada et al. 2003, Koda et al. 2003, Portolani et al. 2003, Ruzzenente et al. 2004, Yoshida et al. 2013). Möglicherweise führt also eine Erwärmung des Tumorgewebes durch die Exposition zu einer Tumorpromotion auch durch biochemische Veränderungen.

Dass die meisten positiven Resultate in dieser Studie bei niedrigen bzw. mittleren SAR-Werten auftraten, könnte darauf hindeuten, dass bei hohen SAR-Werten Mechanismen aktiviert werden, die der Tumorpromotion entgegenwirken, z.B. durch eine Aktivierung des Immunsystems.

Es sind weitere Studien nötig, um die tatsächlichen Ursachen der tumorpromovierenden Wirkung chronischer UMTS-Exposition zu identifizieren.

6. Literatur

- Adey, W.R., Byus, C.V., Cain, C.D., Higgins, R.J., Jones, R.A., Kean, C.J., Kuster, N., MacMurray, A., Stagg, R.B., Zimmerman, G., Phillips, J.L. and Haggren, W.: Spontaneous and nitrosourea-induced primary tumors of the central nervous system in Fischer 344 rats chronically exposed to 836 MHz modulated microwaves. *Radiation Research* 152 (1999) 293-302.
- Adey, W.R., Byus, C.V., Cain, C.D., Higgins, R.J., Jones, R.A., Kean, C.J., Kuster, N., MacMurray, A., Stagg, R.B. and Zimmerman, G.: Spontaneous and Nitrosourea induced Primary Tumors of the Central Nervous System in Fischer 344 Rats Exposed to Frequency-modulated Microwave Fields. *Cancer Research* 60 (2000) 1857-1863.
- Anderson, L.E., Morris, J.E., Miller, D.L., Rafferty, C.N., Ebi, K.L. and Sasser, L.B.: Large granular lymphocytic (LGL) leukemia in rats exposed to intermittent 60 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 22 (2001) 185–193
- Babbitt, J.T., Kharazi, A.I., Taylor, J.M.G., Bonds, C.B., Mirell, S.G., Frumkin, E., Zhuang, D. and Hahn, T.J.: Hematopoietic neoplasia in C57BL/6 mice exposed to split-dose ionizing radiation and circularly polarized 60 Hz magnetic fields. *Carcinogenesis* 21 (2000) 1379–1389
- Boorman, G.A., McCormick, D.L., Ward, J.M., Haseman, J.K. and Sills, R.C.: Magnetic fields and mammary cancer in rodents: a critical review and evaluation of published literature. *Radiation Research* 153 (2000) 617-626.
- Bruix J. and Sherman M.: Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 53 (2011) 1020-1022.
- Bundesamt für Strahlenschutz: Abschlussbericht der Jacobs University Bremen für das Forschungsvorhaben „Langzeitstudie an Labornagern mit UMTS-Signalen“, Januar 2008. http://www.emf-forschungsprogramm.de/forschung/biologie/biologie_abges/bio_125_AB.pdf
- Cameron TP, Hickman RL, Kornreich MR, Tarone RE. History, Survival, and Growth Patterns of B6C3F₁ Mice and F344 Rats in the National Cancer Institute Carcinogenesis Testing Program. *Fundamental and Applied Toxicology* 5 (1985) 526-538.
- Diwan, B.A. and Meier, H.: Strain- and Age-dependent Transplacental Carcinogenesis by 1- Ethyl-1-nitrosourea in Inbred Strains of Mice. *Cancer Research* 34 (1974) 764-770.
- Hailey, J.R., Haseman, J.K., Bucher, J.R., Radovsky, E., Malarkey, D.E., Miller, R.T., Nyska, A. and Maronpot, R.R.: Impact of *Helicobacter hepaticus* Infection in B6C3F₁ Mice from Twelve National Toxicology Program Two-Year Carcinogenesis Studies. *Toxicologic Pathology* 26 (1998) 602-611.
- Haseman, J.K.: Value of historical controls in the interpretation of rodent data. *Drug Information Journal* 26 (1992) 191-200.
- Haseman, J.K., Hailey, J.R. and Morris, R.W.: Spontaneous Neoplasm Incidences in Fischer 344 Rats and B6C3F₁ Mice in Two-Year Carcinogenicity Studies: A National Toxicology Program Update. *Toxicologic Pathology* 26 (1998) 428-441.

- Health Council of the Netherlands. Mobile phones and cancer: Part 2. Animal studies on carcinogenesis. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2014.
- Justice, M.J., Carpenter, D.A., Favor, J., Neuhauser-Klaus, A., Hrabé de Angelis, M., Soewarto, D., Moser, A., Cordes, S., Miller, D.C.V., Weber, J.S., Rinchik, E.M., Hunsicker, P.R., Russell, W.L. and Bode, V.C.: Effects of ENU dosage on mouse strains. *Mammalian Genome* 11 (2000) 484-488.
- Justice, M.J., Noveroske, J.K., Weber, J.S., Zheng, B. and Bradley, A.: Mouse ENU Mutagenesis. *Human molecular genetics* 8 (1999) 1955-1963.
- Koda, M., Maeda, Y., Matsunaga, Y., Mimura, K., Murawaki, Y. and Horie, Y.: Hepatocellular carcinoma with sarcomatous change arising after radiofrequency ablation for well-differentiated hepatocellular carcinoma. *Hepatology Research* 27 (2003) 163-167.
- Lerchl A, Krüger H, Niehaus M, Streckert JR, Bitz AK, Hansen V. Effects of mobile phone electromagnetic fields at nonthermal SAR values on melatonin and body weight of Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Journal of Pineal Research* 44 (2008) 267-272.
- Pereira, M.A., Knutsen, G.L. and Herren-Freund, S.L.: Effect of subsequent treatment of chloroform or phenobarbital on the incidence of liver and lung tumors initiated by ethylnitrosourea in 15 day old mice. *Carcinogenesis* 6 (1985) 203-207.
- Portolani, N., Tiberio, G.A., Ronconi, M., Coniglio, A., Ghidoni, S., Gaverini, G. and Giulini, S.M.: Aggressive recurrence after radiofrequency ablation of liver neoplasms. *Hepatology* 50 (2003) 2179-2184.
- Repacholi, M.H., Lerchl, A., Rössli, M., Sienkiewicz, Z., Auvinen, A., Breckenkamp, J., d'Inzeo, G., Elliott, P., Frei, P., Heinrich, S., Lagroye, I., Lahkola, A., McCormick, D.L., Thomas, S. and Vecchia, P.: Systematic review of wireless phone use and brain cancer and other head tumors. *Bioelectromagnetics* 33 (2012) 187-206.
- Ruzzenente, A., Manzoni, G.D., Molfetta, M., Pachera, S., Genco, B., Donataggio, M. and Guglielmi, A.: Rapid progression of hepatocellular carcinoma after Radiofrequency Ablation. *World Journal of Gastroenterology* 10 (2004) 1137-1140.
- Seilkop, S.K.: The effect of body weight on tumor incidence and carcinogenicity testing in B6C3F₁ mice and F344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology* 24 (1995) 247-259.
- Shirai, T., Ichihara, T., Wake, K., Watanabe, S., Yamanaka, Y., Kawabe, M., Taki, M., Fujiwara, O., Wang, J., Takahashi, S. and Tamano, S.: Lack of promoting effects of chronic exposure to 1.95-GHz W-CDMA signals for IMT-2000 cellular system on development of N-ethylnitrosourea-induced central nervous system tumors in F344 rats. *Bioelectromagnetics* 28 (2007) 562-572.
- Shirai, T., Kawabe, M., Ichihara, T., Fujiwara, O., Taki, M., Watanabe, S., Wake, K., Yamanaka, Y., Imaida, K., Asamoto, M. and Tamano, S.: Chronic exposure to a 1.439 GHz electromagnetic field used for cellular phones does not promote N-ethylnitrosourea induced central nervous system tumors in F344 rats. *Bioelectromagnetics* 26 (2005) 59-68.
- Sommer, A.M., Bitz, A.K., Streckert, J., Hansen, V.W. and Lerchl, A.: Lymphoma development in mice chronically exposed to UMTS-modulated radiofrequency electromagnetic fields. *Radiation Research* 168 (2007) 72-80.

- Sommer, A.M. and Lerchl, A.: The risk of lymphoma in AKR/J mice does not rise with life long exposure to 50 Hz magnetic fields. *Radiation Research* 162 (2004a) 194–200
- Sommer, A.M., Streckert, J., Bitz, A.K., Hansen, V.W. and Lerchl, A.: No effects of GSMmodulated 900 MHz electromagnetic fields on survival rate and spontaneous development of lymphoma in female AKR/J mice. *BMC Cancer* 4 (2004b) 77-90.
- Taberski, K., Klose M, Grote K, El Ouardi A, Streckert J, Hansen VW, Lerchl A. Noninvasive assessment of metabolic effects of exposure to 900 MHz electromagnetic fields on Djungarian Hamsters (*Phodopus sungorus*). *Radiation Research* 181 (2014) 617 -622.
- Takada, Y., Kurata, M. and Ohkohchi, N.: Rapid and aggressive recurrence accompanied by portal tumor thrombus after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *International Journal of Clinical Oncology* 8 (2003) 332-335.
- Tillmann, T., Ernst, H., Streckert, J., Zhou, Y., Taugner, F., Hansen, V. and Dasenbrock, C.: Indication of cocarcinogenic potential of chronic UMTS-modulated radiofrequency exposure in an ethylnitrosourea mouse model. *International Journal of Radiation Biology* 86 (2010) 529-541.
- Tomatis, L.: Prenatal exposure to chemical carcinogens and its effect on subsequent generations. *National Cancer Institute Monograph* 51 (1979) 159-184.
- Vesselinovitch, S.D., Koka, M., Rao, K.V., Mihailovich, N. and Rice, J.M.: Prenatal multicarcinogenesis by ethylnitrosourea in mice. *Cancer Research* 37 (1977) 1822-1828.
- Ward, J.M., Anver, M.R., Haines, D.C. and Benveniste, R.E.: Chronic active hepatitis in mice caused by *Helicobacter hepaticus*. *The American Journal of Pathology* 145 (1994) 959-968.
- Ward, J.M., Fox, J.G., Anver, M.R., Haines, D.C., George, C.V., Collins, M.J. Jr., Gorelick, P.L., Kunio, M., Gonda, M.A., Gilden, R.V., Tully, J.G., Russell, J.R., Benveniste, R.E., Paster, B.J., Dewhirst, F.E., Donovan, J.C., Anderson, L. and Rice, J.M.: Chronic active hepatitis and associated liver tumors in mice caused by a persistent bacterial infection with a novel *Helicobacter* species. *Journal of the National Cancer Institute* 86 (1994) 1222-1227.
- Watanabe H, Toyoshima M, Ishikawa M, Kamiya K. Paternal monoenergetic neutron exposure results in abnormal sperm, and embryonal lethality and transgenerational tumorigenesis in mouse F1 offspring. *Oncology Report* 23 (2010)1351-60.
- Yoshida, S., Kornek, M., Ikenaga, N., Schmelzle, M., Masuzaki, R., Csizmadia, E., Wu, Y., Robson, S.C. and Schuppan, D.: Sublethal Heat Treatment Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition and Enhances the Malignant Potential of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 58 (2013) 1667-1680.
- Zook, B.C. and Simmens, S.J.: The effects of 860 MHz radiofrequency radiation on the induction or promotion of brain tumors and other neoplasms in rats. *Radiation Research* 155 (2001) 572-583.
- Zook, B.C. and Simmens, S.J.: The effects of pulsed 860 MHz radiofrequency radiation on the promotion of neurogenic tumors in rats. *Radiation Research* 165 (2006) 608-615.

Tumorpromotion durch hochfrequente elektromagnetische Felder in Kombination mit kanzerogenen Substanzen

im Rahmen des Forschungsauftrags des
Bundesamtes für Strahlenschutz „3611 S30017“

Abschlussbericht zum technischen Projektteil:

Inbetriebnahme der Expositionsanlage und numerische Dosimetrie

Auftraggeber:

**Jacobs University Bremen gGmbH
School of Engineering and Science
Prof. Dr. A. Lerchl**

Auftragnehmer:

**Bergische Universität Wuppertal
Lehrstuhl für Theoretische Elektrotechnik
Prof. Dr. M. Clemens**

Oktober 2012

Verfasser:

Dr. J. Streckert, M.Sc. T. Fiedler, Prof. Dr. V. Hansen, M.Sc. O. Spathmann
Lehrstuhl für Theoretische Elektrotechnik
Bergische Universität Wuppertal

Dieser Abschlussbericht ersetzt den Zwischenbericht von Juli 2012.

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der Meinung des Auftraggebers (Jacobs University Bremen bzw. Bundesamt für Strahlenschutz) übereinstimmen.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine an der JUB aus einem früheren BfS-Forschungsvorhaben vorhandene Hochfrequenz-Expositionsanlage (Abb. 1), bestehend aus 8 radialen Wellenleitungen für ein UMTS-Signal der Frequenz 1,97 GHz mit 128 Expositionsplätzen (Käfigen), wurde technisch überholt, vermessen und eingestellt, neu verblindet und betriebsbereit übergeben.

Die eingestellten Expositionshöhen, orientiert an der mittleren Ganzkörper-SAR einer Referenzgruppe von 3 jungen adulten Mäusen mit 20 g Körpermasse, betragen für jeweils 32 Käfige 0 W/kg (Scheinexposition), 40 mW/kg, 400 mW/kg bzw. 2 W/kg.

Die Anlage ist auf Dauerbetrieb ausgelegt. Exposition und Innentemperatur werden permanent messtechnisch überwacht.

Für die Referenzgruppe wurde eine umfangreiche numerische Dosimetrie durchgeführt.



Abbildung 1: Vier der insgesamt acht radialen Wellenleitungen zur UMTS-Exposition. Jede Leitung mit 2,2 m Durchmesser und ca. 17 cm Höhe enthält 16 Käfigplätze.

1. ZIELSETZUNG

Mäuse sollen gemäß der Leistungsbeschreibung des BfS vom 25.01.2011 langfristig (ca. 24 Stunden / Tag, 7 Tage / Woche) elektromagnetischen Feldern des UMTS-Standards (generisches Testsignal gemäß [Ndoumbè et al. 2004] bei der Trägerfrequenz 1,97 GHz) ausgesetzt werden, beginnend bei trächtigen Muttertieren und für die Nachkommen lebenslang fortgesetzt. Die spezifischen Absorptionsraten (Ganzkörper-SAR) sollen 0 (Schein-Exposition), 0,04, 0,4 und 2 W/kg betragen. (Der letztgenannte, von der Leistungsbeschreibung abweichende Wert wurde in Übereinstimmung mit dem überarbeiteten Angebot der JUB vom 25.05.2011 mit Schreiben des BfS vom 02.08.2011 als plausibel akzeptiert).

Im Abschlussbericht zum BfS-Forschungsvorhaben „Langzeitstudie an Labornagern mit UMTS-Signalen“ von Januar 2008 [BfS 2008] wurden das technische Konzept und die Konstruktion der Anlage detailliert beschrieben. Dieser Zwischenbericht schildert im Wesentlichen die gegenüber den Ausführungen in [BfS 2008] erwähnenswerten Änderungen.

2. EXPOSITIONSANLAGE

Die 128 Zugangsklappen am Außenrand der radialen Wellenleitungen, die ein einfaches Einbringen der Kunststoffkäfige mit den Tieren ermöglichen, wurden justiert und – soweit notwendig - an der Innenseite mit neuen elastischen HF-Dichtungen (s. Abb. 2) versehen.

Nach Messung und Bewertung der Leer-Feldverteilungen in den Käfigbereichen aller Wellenleitungen (ohne Käfige und Tiere, aber mit den Polyoxymethylen (POM)-Halterungen für die Käfige) wurden den Einzelleitungen die aus der numerischen Referenzdosimetrie (s. Abschnitt 3) resultierenden vier Expositionsstärken zugewiesen. Nach entsprechender Einstellung am 28.06.2012 ist damit das Expositionsschema der Anlage neu verblindet, d.h., dem den Versuch betreuenden Personal ist nicht bekannt, in welchen Wellenleitungen welche Expositionsstärke des Hochfrequenzfeldes bzw. die Scheinexposition vorliegt.



Abbildung 2: Geöffnete Klappe mit HF-Dichtung als Zugang zum Käfigbereich.

Die ausreichende Luftzufuhr für die Tiere in den Wellenleitungen erfolgt, indem durch leichten Unterdruck im inneren Bereich der Kammern nahe der HF-Einspeisung zentral klimatisierte Raumluft abgesaugt wird, die durch feinmaschige metallische Abdeckgitter der Revisionsöffnungen über den Käfigen eintritt. Dadurch wird eine kontinuierliche und gleichmäßige Luftströmung erzeugt.

Der bisherige PC zur Aufzeichnung der Expositions- und Temperaturdaten wurde durch einen neuen Rechner (Dell, Optiplex XE) ersetzt. Ebenso wurde die Anlage mit einem neuen, kommerziellen Temperaturmesssystem (Omega Engineering, Inc., 8 Channel Temperature Measurement USB Data Acquisition Module) und mit je einem neuen Temperatursensor für jede der 8 Expositionsvorrichtungen ausgestattet. Die Messdaten werden kontinuierlich auf einem Monitor dargestellt und sollen regelmäßig der Wuppertaler Arbeitsgruppe zur Kontrolle übersandt werden.

3. SAR-BERECHNUNGEN

Der Zusammenhang zwischen den einzustellenden Feldstärken in der leeren Anlage (ohne Käfige und Tiere) und den vorgegebenen SAR-Werten in den Tieren wurde durch

numerische Berechnungen mit dem Simulationstool CST Studio Suite™ auf der Basis eines komplexen Sektormodells der radialen Wellenleitung und mehrerer Voxelmodelle von Labornagern ermittelt.

3.1 Referenz-Dosimetrie

Für die Referenzgruppe von 3 jungen adulten Mäusen mit 20 g Körpermasse wurden bei einer standardisierten Anregungsleistung des Leitungssektors von 0,5 W numerische SAR-Berechnungen durchgeführt. In Abb. 3 ist beispielhaft eine lokale SAR-Verteilung für ein 20 g-Mausmodell in einem willkürlich gewählten Längsschnitt gezeigt. Die Ganzkörper-SAR folgt durch Summation aller SAR-Beiträge im 3D-Modell und Bezug auf die Tiermasse.

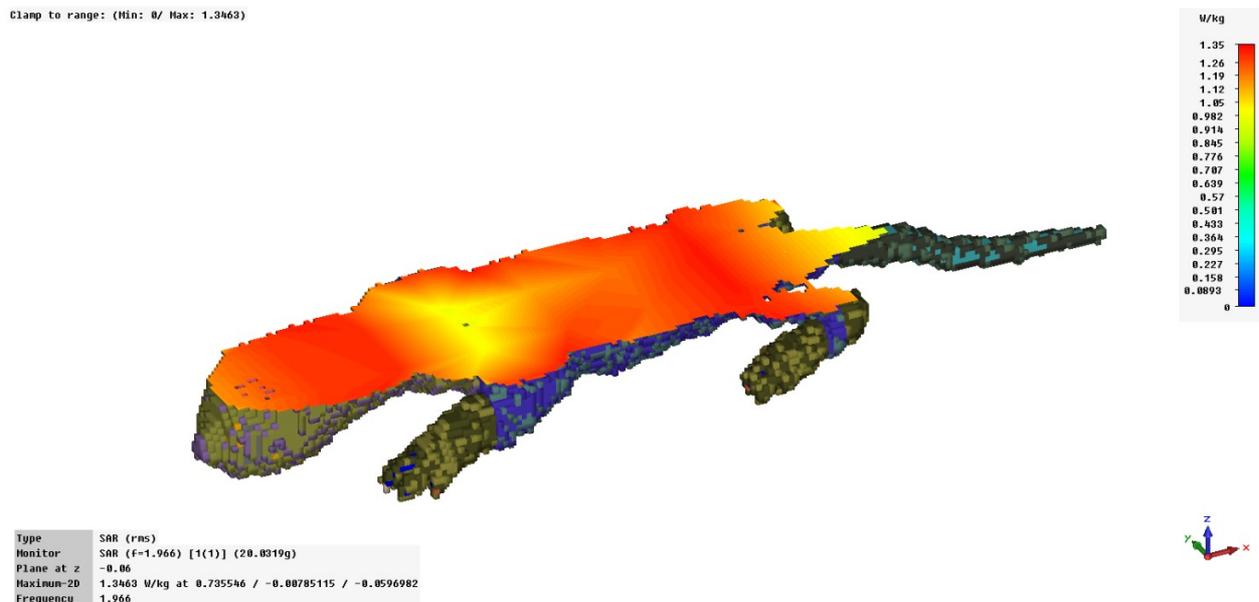
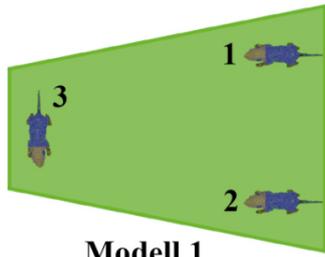
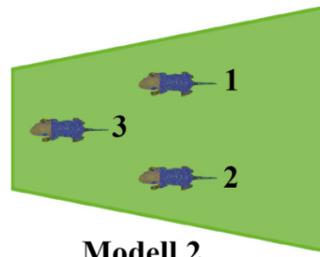


Abbildung 3: Voxelbasierte lokale SAR in einem Schnitt durch ein Computermodell einer 20 g-Maus (Voxelgröße 0,535 mm) im Feld eines Sektormodells der radialen Wellenleitung (Standardanregung 0,5 W).

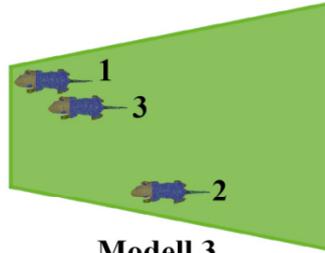
Um die SAR-Variationen aufgrund der Tierbewegungen zu simulieren, wurden 10 unterschiedliche Gruppierungen (Positionen/Körperhaltungen) der 3 Tiere in dem in das Leitungsmodell eingesetzten Käfig berücksichtigt. Abb. 4 stellt die verwendeten Konfigurationen dar.



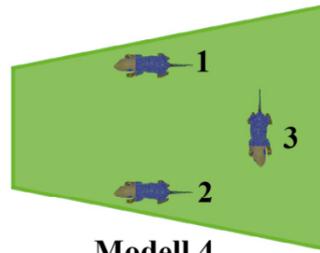
Modell 1



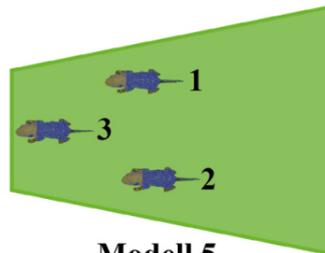
Modell 2



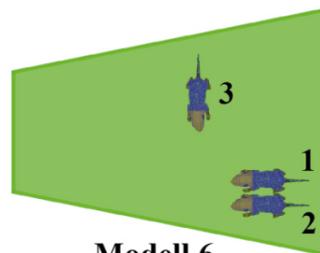
Modell 3



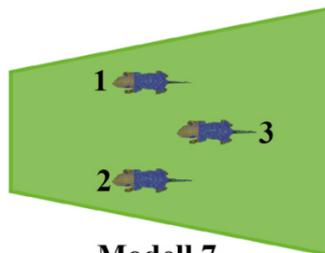
Modell 4



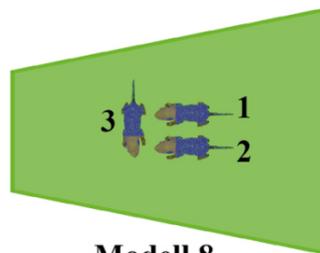
Modell 5



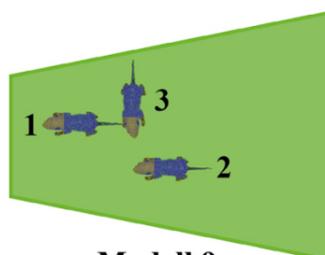
Modell 6



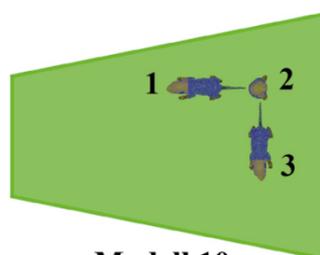
Modell 7



Modell 8



Modell 9



Modell 10

Abbildung 4: Draufsicht der 10 Konfigurationen der Referenz-Dosimetrie von je drei 20 g-Mäusen pro Käfig

In Tab. 1 sind die 30 Einzel-SAR-Werte bei der Standardanregung angegeben, aus denen ein mittlerer Ganzkörper-SAR-Wert von ca. $\overline{SAR}_{GKS} = 1,02$ W/kg mit einer Standardabweichung von ca. 36% resultiert.

SAR_{GK} in W/kg			
Modell	Maus 1	Maus 2	Maus 3
1	0,71	0,65	0,50
2	1,11	1,06	1,57
3	1,51	0,59	1,00
4	1,37	1,36	0,36
5	1,17	1,30	1,03
6	0,81	0,65	0,74
7	1,37	1,33	0,48
8	1,32	1,42	1,12
9	1,59	0,85	0,86
10	1,52	0,44	0,72
Durchschnitt über			
alle 30 Mäuse: 1,02			
Standardabweichung: 0,37			
Standardabweichung in %: 36,3			

Tabelle 1: Ganzkörper-SAR-Werte der 30 Mausmodelle aus Abb. 4 bei einer Anregungsleistung von 0,5 W

Zusätzlich wurde numerisch die Leer-Feldverteilung im Leitungsmodell bei der standardisierten Anregungsleistung von 0,5 W bestimmt, wobei vor allem die Feldstärke in ca. 1 – 2 cm Abstand von der oberen Metallplatte der Leitung ausgewertet wurde, weil in den realen radialen Wellenleitungen dort die Messung mit einer kalibrierten Monopolsonde am zuverlässigsten erfolgen kann. Aus dem Zusammenhang von mittlerer Leerfeldstärke \bar{E} zu gemittelter spezifischer Absorptionsrate \overline{SAR}_{GKS} folgen durch Umskalierung auf die mit dem BfS abgestimmten Soll-Werte der Ganzkörper-SAR von 2 W/kg, 0,4 W/kg, 0,04 W/kg und 0 W/kg über

$$\bar{E}_{soll} = \bar{E} \cdot \sqrt{\frac{SAR_{GK,soll}}{SAR_{GKS}}} \quad (3.1.1)S$$

die einzustellenden elektrischen Feldstärken s_{ollS} im Käfigbereich. Die elektrischen Feldstärken s_{ollS} für die Expositionshöhen sind in Tab. 2 dargestellt.

2 W/kg	67,03 V/m
400 mW/kg	29,98 V/m
40 mW/kg	9,48 V/m
0 W/kg	0 V/m

Tabelle 2: Resultierende Feldstärken zur Erzielung der verschiedenen Expositionshöhen für die Referenzgruppe

Tab. 3 zeigt die aus Tab. 1 mit Gl. 3.1.1 umskalierten Ganzkörper-SAR-Werte der 30 Mäuse aus der Referenzgruppe (Abb. 4) bei der in Tab. 2 für 2 W/kg angegebenen Soll-Feldstärke sowie Mittelwert und Standardabweichung der SAR.

Modell	SAR _{GK} in W/kg		
	Maus 1	Maus 2	Maus 3
1	1,398	1,274	0,979
2	2,178	2,078	3,086
3	2,973	1,168	1,961
4	2,692	2,671	0,711
5	2,303	2,568	2,030
6	1,589	1,273	1,447
7	2,697	2,613	0,949
8	2,591	2,787	2,206
9	3,129	1,673	1,689
10	2,994	0,871	1,422
Durchschnitt über			
alle 30 Mäuse: 2,000			
Standardabweichung: 0,727			
Standardabweichung in %: 36,3			

Tabelle 3: Ganzkörper-SAR-Werte der 30 Mausmodelle aus Abb. 4 bei der Referenz-Feldstärke $s_{ollS} = 67,03$ V/m für 2 W/kg (Tab. 2)

3.2 Optionale Dosimetrie

Eine optionale numerische Dosimetrie wurde auf Wunsch des Auftraggebers für zwei weitere Projektstadien mit jeweils 12 bzw. 10 Tierkonfigurationen durchgeführt (Option Nr. 1: 1 adulte Maus (23 g) plus 6 neugeborene Jungtiere (Pups) (1 g), Option Nr. 2: 3 adulte Mäuse (45 g)). Die methodische Vorgehensweise entspricht der in Abschnitt 3.1 beschriebenen. Im Folgenden werden die Konfigurationen und die SAR-Ergebnisse angegeben.

3.2.1 *Option Nr. 1: 1 adulte Maus (23 g) plus 6 neugeborene Jungtiere (1 g) pro Käfig*

Die für die optionale Dosimetrie Nr. 1 ausgewählten Tierkonfigurationen sind in den Abb. 5 und 6 skizziert.

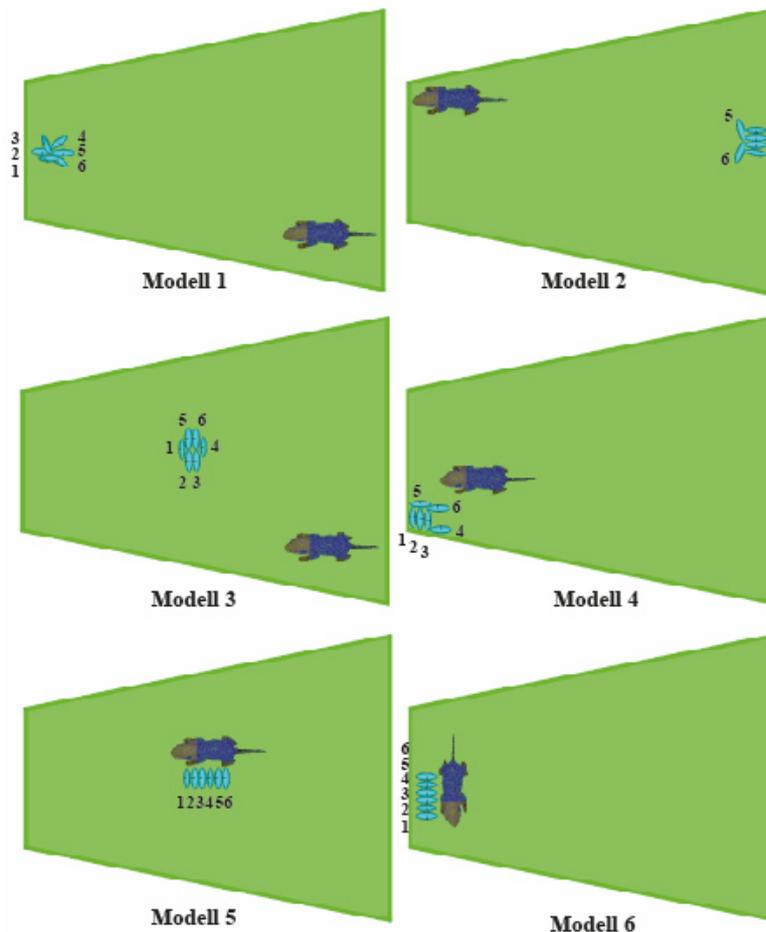


Abbildung 5: Draufsicht der Konfigurationen 1 bis 6 der optionalen Dosimetrie Nr. 1 von je einer Maus und sechs Jungtieren pro Käfig

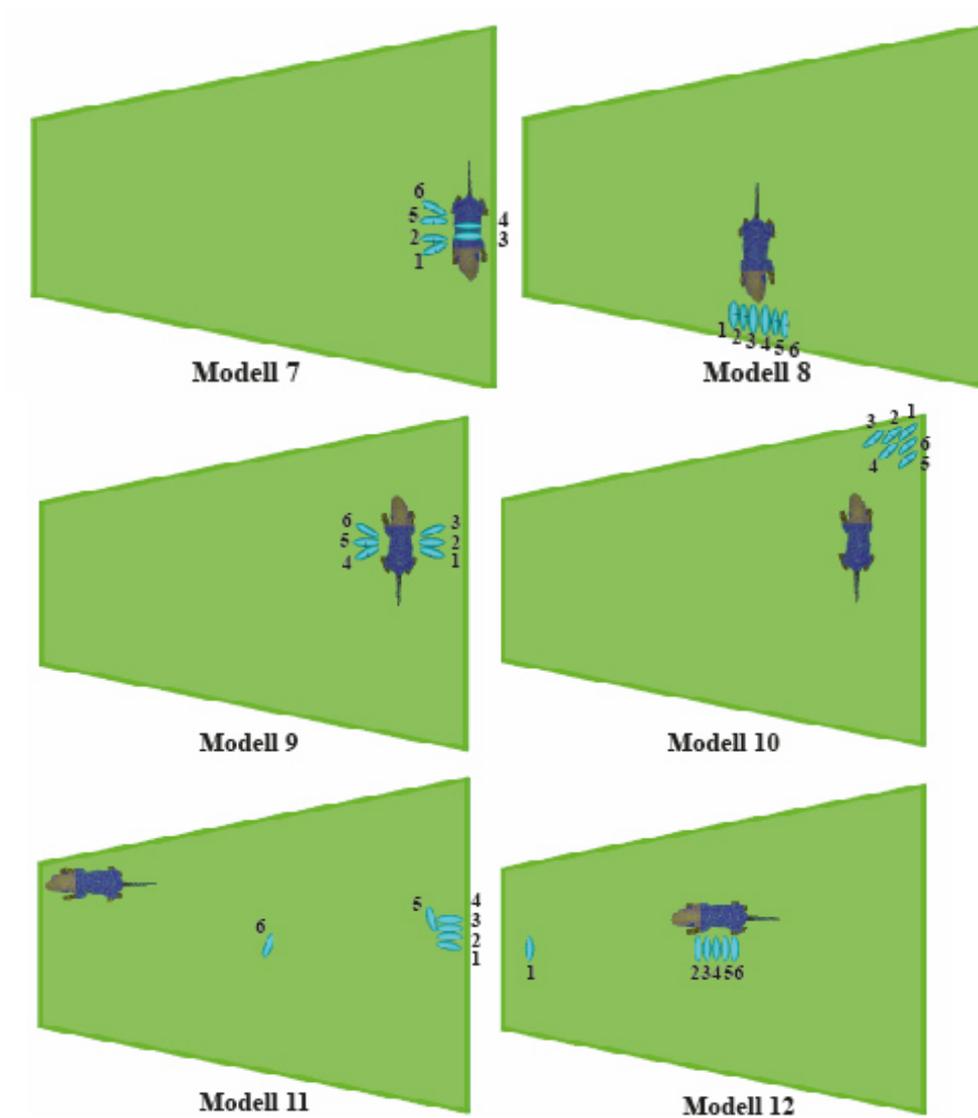


Abbildung 6: Draufsicht der Konfigurationen 7 bis 12 der optionalen Dosimetrie Nr. 1 von je einer Maus und sechs Jungtieren pro Käfig

In den Konfigurationen 1 - 10 liegen die Pups - wie auch in der Realität die meiste Zeit über - sehr eng zusammen im Käfig. Dabei befindet sich das Muttertier bei den ersten drei Konfigurationen nicht in der Nähe der Pups. In den verbleibenden Konfigurationen 11 und 12 hält sich jeweils ein Pup von der Gruppe entfernt auf. Die Pups wurden als homogen gefüllte Ellipsoide von 1 g Masse modelliert, weil bei Skalierung eines anatomischen Mausmodells auf 1 g die Voxel im Vergleich zum Sektormodell so klein würden, dass es nicht mehr möglich wäre, das Modell mit heutiger Computertechnik zu rechnen. Außerdem ist es bei dem kleinen Volumen der Pups nicht notwendig, verschiedene Gewebearten zu unterscheiden. Die Ellipsoide wurden mit einem Seitenverhältnis von 3:1 so gewählt, dass sie ungefähr die Form von jungen Mäusen nachbilden, und anschließend auf die 1 g-Masse von 1 – 2 Tage alten Neugeborenen herunterskaliert.

Tab. 4 gibt für $s_{0115} = 67,03$ V/m die Ganzkörper-SAR-Werte aller Tiere aus Abbn. 5 und 6 sowie die durchschnittlichen SAR-Werte und die Standardabweichungen wieder.

SAR_{GK} in W/kg							
Modell	Pup 1	Pup 2	Pup 3	Pup 4	Pup 5	Pup 6	Mutter
1	0,392	0,485	0,249	0,258	0,428	0,236	1,738
2	0,239	0,342	0,375	0,205	0,261	0,195	3,111
3	0,081	0,068	0,060	0,079	0,081	0,071	1,587
4	0,321	0,200	0,241	0,245	0,323	0,393	2,952
5	0,074	0,083	0,085	0,072	0,061	0,064	2,523
6	0,130	0,112	0,117	0,113	0,105	0,111	1,445
7	0,099	0,140	0,112	0,132	0,156	0,154	1,479
8	0,101	0,095	0,091	0,091	0,101	0,098	0,952
9	0,121	0,122	1,183	0,157	0,146	0,108	1,095
10	0,166	0,138	0,097	0,083	0,066	0,102	1,061
11	0,191	0,193	0,373	0,200	0,272	0,099	3,105
12	0,111	0,073	0,078	0,069	0,598	0,065	2,511
Durchschnitt über alle 72 Pups:							0,1802
Durchschnitt über alle 12 Mütter:							1,9633
SAR-Standardabweichung der Pups:							0,1642
SAR-Standardabweichung der Mütter:							0,7904

Tabelle 4: Ganzkörper-SAR-Werte der 12 Maus- und 72 Jungtiermodelle (Pups) aus Abbn. 5 und 6 bei der Referenz-Feldstärke $s_{0115} = 67,03$ V/m für 2 W/kg (Tab. 2)

3.2.2 Option Nr. 2: 3 adulte Mäuse (45 g) pro Käfig

Die für die optionale Dosimetrie Nr. 2 ausgewählten Tierkonfigurationen zeigt Abb. 7.

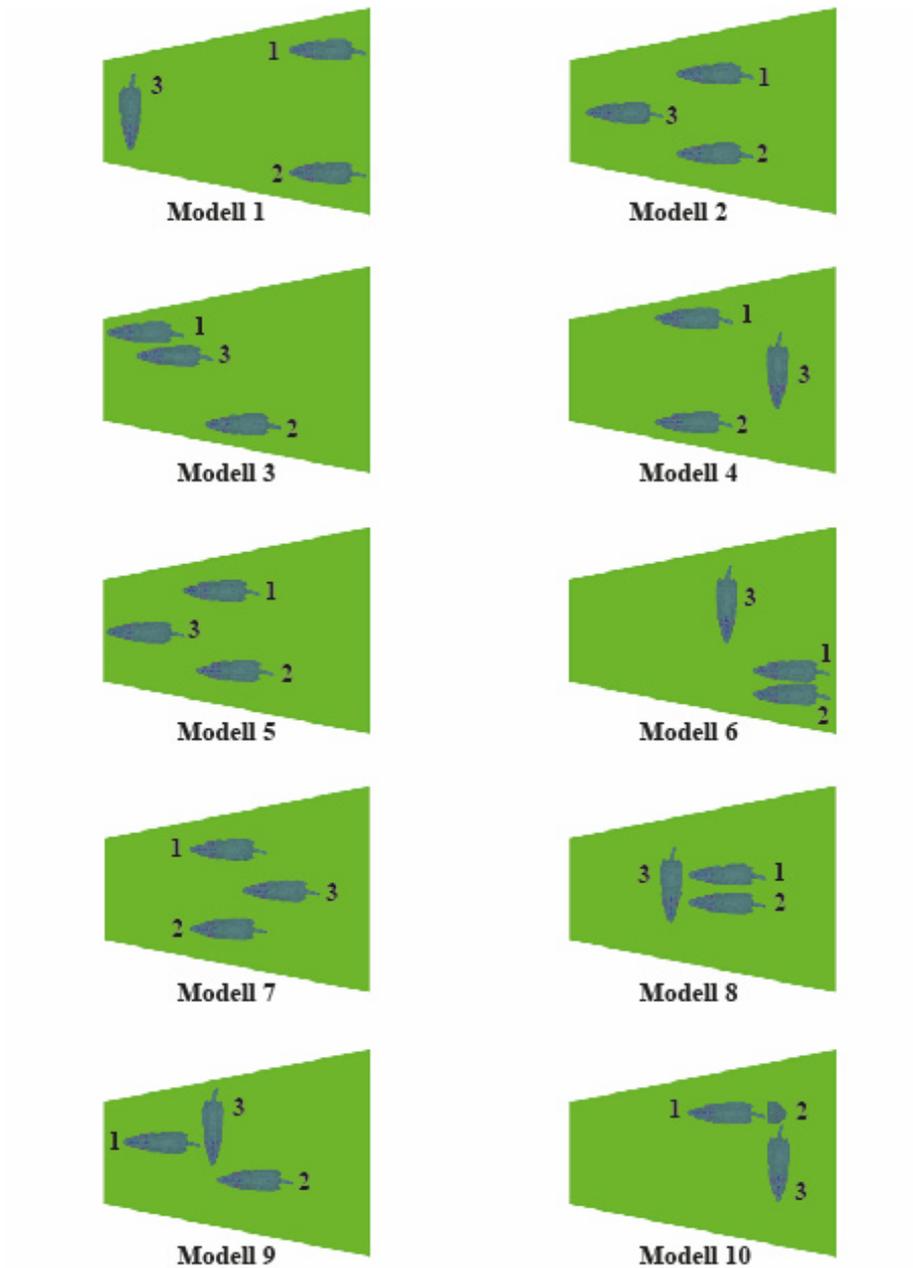


Abbildung 7: Draufsicht der 10 Konfigurationen der optionalen Dosimetrie Nr. 2 von je drei 45 g-Mäusen pro Käfig

Tab. 5 enthält für $s_{0115} = 67,03$ V/m die Ganzkörper-SAR-Werte aller Tiere aus Abb. 7, die durchschnittliche SAR sowie die Standardabweichung.

Modell	SAR _{GK} in W/kg		
	Maus 1	Maus 2	Maus 3
1	0,803	0,817	0,723
2	0,773	0,850	1,189
3	1,399	0,556	0,912
4	1,097	1,093	0,463
5	1,036	1,026	1,225
6	0,837	0,636	0,770
7	1,064	1,081	0,399
8	1,186	1,227	1,453
9	1,153	0,460	0,814
10	1,299	0,611	0,847
Durchschnitt über			
alle 30 Mäuse:			0,927
Standardabweichung:			0,277
Standardabweichung in %:			29,9

Tabelle 5: Ganzkörper-SAR-Werte der 30 Mausmodelle aus Abb. 7 bei der Referenz-Feldstärke $s_{0115} = 67,03$ V/m für 2 W/kg (Tab. 2)

3.3 Tunnelversteck

Im Verlauf der Einrichtung der Expositionsanlage wurde vom Auftraggeber die Frage gestellt, ob das Hinzufügen eines aus rot gefärbtem Kunststoff gefertigten, tunnelförmigen Verstecks für die Mäuse das Expositionsfeld im Käfig in unerwünschter Weise verändern würde. Der Auftragnehmer erklärte sich bereit, diese Frage durch numerische Berechnungen zu untersuchen.

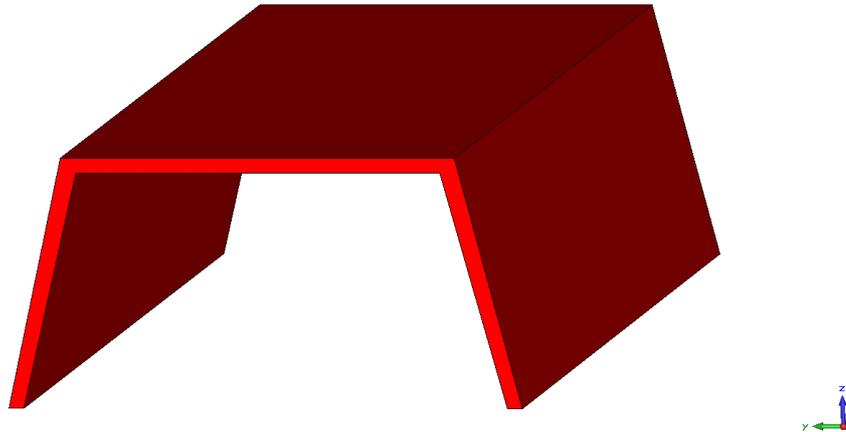


Abbildung 8: Modell des Mäuse-Verstecks

Die dielektrischen Parameter des transparenten roten Kunststoffes wurden an einem Stapel von streifenförmigen Materialproben mithilfe eines koaxialen Reflexionsmesskopfes (Agilent 85070E Dielectric Probe Kit) ermittelt, die Dichte über das Gewicht bestimmt.

Tab. 6 listet die Ergebnisse bei der Messfrequenz 1,97 GHz auf.

$\epsilon_r' = \Re\{\epsilon_r\}$	2,67
$\epsilon_r'' = -\Im\{\epsilon_r\}$	0,012
σ in S/m	0,00132
ρ in kg/m ³	1268,98
Messfrequenz in GHz	1,97

Tabelle 6: Materialparameter des Mäuse-Verstecks

Die Positionierung des Mäuseverstecks in den Käfigen erfolgt durch die Tierpfleger vorzugsweise etwa in Richtung der Käfigachse, kann aber individuell leicht variieren und auch durch die Tiere etwas verschoben werden. Als Beispiel für die Ergebnisse der Modellrechnungen wird hier eine Position gewählt, bei der eine Seitenwand des Tunnels in Bodennähe durch Bereiche hoher Feldstärke des Leerfeldes, also des Feldes im Käfig ohne Tiere, verläuft. In Abb. 9 ist die Lage des Mäuseverstecks im Käfig skizziert.

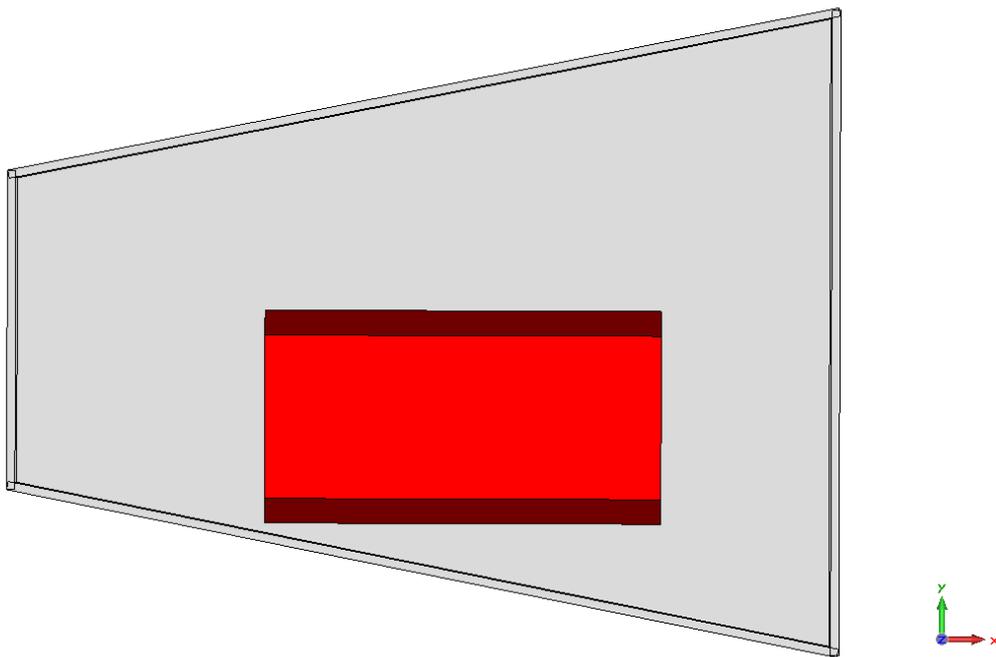


Abbildung 9: Draufsicht auf das Käfigmodell mit Mäuse-Versteck

Die Abbn. 10 bzw. 11 zeigen im Vergleich die elektrischen Feldverteilungen des Leerfeldes im Sektormodell der radialen Wellenleitung ohne bzw. mit Mäuseversteck. Dabei ist erkennbar, dass das Tunnelversteck nur einen geringfügigen Einfluss auf die Feldverteilung im Expositionsbereich ausübt und insbesondere Absorptionseffekte aufgrund seiner geringen dielektrischen Verluste vernachlässigbar sind. Daraus folgt, dass auch die SAR-Werte für die Tiere nur sehr geringen Veränderungen unterliegen.

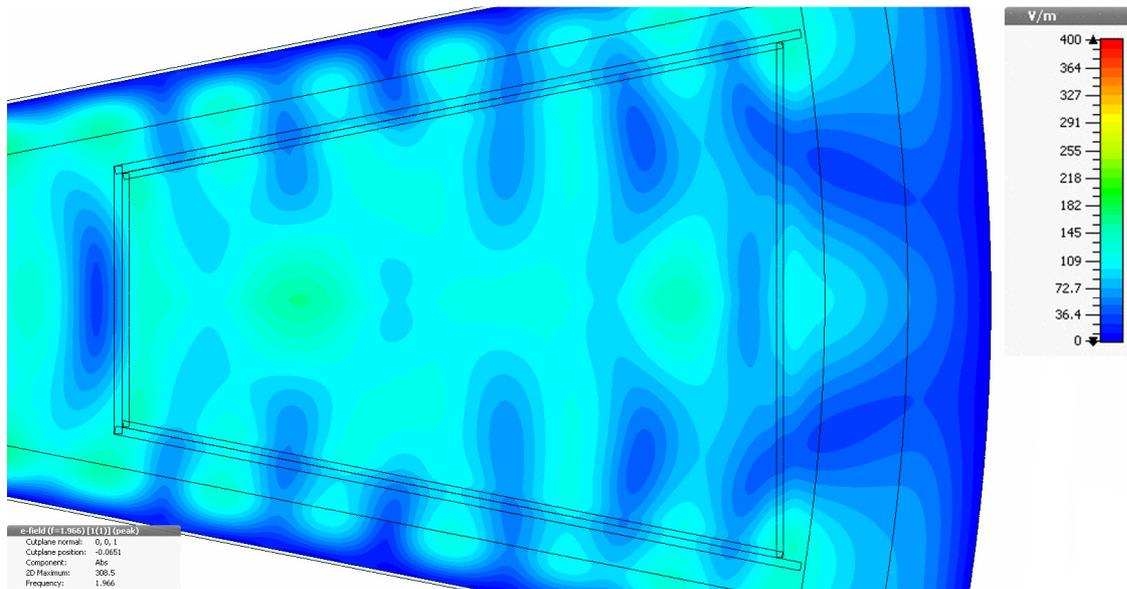


Abbildung 10: Verteilung der elektrischen Feldstärke im Sektormodell der radialen Wellenleitung ohne Mäuse-Versteck (Leerfeld) in einer Ebene ca. 4 mm über dem Käfigboden

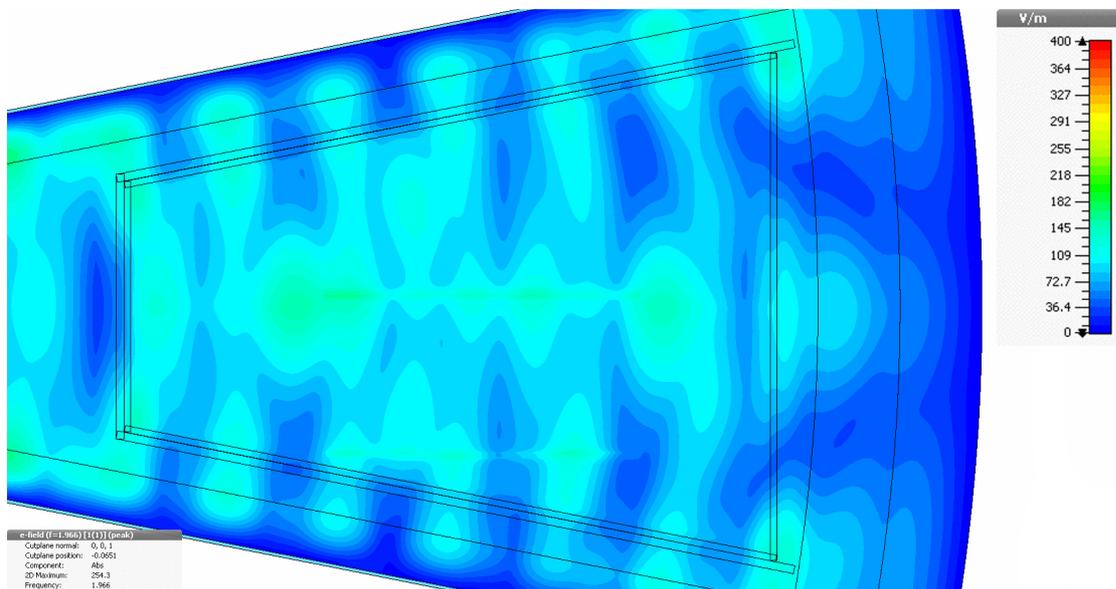


Abbildung 11: Verteilung der elektrischen Feldstärke im Sektormodell der radialen Wellenleitung mit Mäuse-Versteck (Leerfeld) in einer Ebene ca. 4 mm über dem Käfigboden

4. AUSBLICK

Bis zum Abschluss der Tier-Exposition werden die Messdaten für Expositionsfeld und Innentemperatur regelmäßig von der Wuppertaler Arbeitsgruppe kontrolliert. Auch der Support bei etwaigen technischen Störungen wird weiterhin gewährleistet. Nach Beendigung aller biologischen Auswertungen wird dem Projektpartner der JUB das Verblindungsschema bekannt gegeben.

5. REFERENZEN

Bundesamt für Strahlenschutz: Abschlussbericht der Jacobs University Bremen für das Forschungsvorhaben „Langzeitstudie an Labornagern mit UMTS-Signalen“, Januar 2008.

http://www.emf-forschungsprogramm.de/forschung/biologie/biologie_abges/bio_125_AB.pdf

Ndombè Mbonjo Mbonjo H, Streckert J, Bitz A, Hansen V, Glasmachers A, Gencol S, Rozic D: Generic UMTS test signal for RF bioelectromagnetic studies. *Bioelectromagnetics*, 25, 2004, 415-425.