

**Abschlussbericht BfS-Projekt:  
„Einfluss hochfrequenter elektromagnetischer  
Felder der Mobilfunkkommunikation auf  
Sinnesorgane.  
A. Das Hörsystem.“**

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

Dr. Stefan Münkner<sup>1</sup>  
Dr. Reinhard Vonthein<sup>2</sup>  
Dr. Jutta Engel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Physiologisches Institut Abt. II und  
Tübinger Hörforschungszentrum  
Universität Tübingen  
Gmelinstr. 5  
72076 Tübingen

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Biometrie  
Universität Tübingen

Dezember 2007



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitender Überblick</b>	<b>1</b>
1.1	Kurzer Überblick über das Hörsystem . . . . .	1
1.2	Spannungsgesteuerte Ca <sup>2+</sup> -Kanäle . . . . .	3
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>5</b>
2.1	Messungen von otoakustischen Emissionen . . . . .	5
2.2	Evozierte Potentiale . . . . .	9
2.3	Kombinierte Untersuchungen am Gehör . . . . .	11
2.4	Einzelfallstudien und Umfragen . . . . .	13
2.5	Patch-Clamp-Experimente unter Befeldung . . . . .	14
<b>3</b>	<b>Durchführung</b>	<b>16</b>
3.1	Studiendesign . . . . .	16
3.2	Patch-Clamp Messungen in der Ganzzellkonfiguration . . . . .	16
3.3	Leck- und Serienwiderstand . . . . .	17
3.4	Patch-Clamp Messungen an inneren Haarsinneszellen im Cortischen Organ von Mäusen . . . . .	19
3.5	Isolierung der Ionenströme durch Ca <sup>2+</sup> -Kanäle der inneren Haarsinneszellen	20
3.6	Ablauf der Messungen und verwendete Messprotokolle . . . . .	21
3.7	Temperaturerfassung . . . . .	22
3.8	Feldartefakte . . . . .	22
3.8.1	Modifikation der Vorverstärkerstufe . . . . .	23
3.8.2	Artefaktfreie Messungen an inneren Haarsinneszellen unter Befeldung	25
<b>4</b>	<b>Auswertung</b>	<b>27</b>
4.1	Auswertung der elektrophysiologischen Daten . . . . .	27
4.2	Fallzahlabschätzung . . . . .	30
4.3	Das statistische Modell . . . . .	30
<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>34</b>
5.1	Qualitätskriterien und Zellzahlen . . . . .	34
5.2	Temperatur . . . . .	35
5.3	Leckwiderstand . . . . .	38
5.4	Serienwiderstand . . . . .	40
5.5	Maximalstromamplitude . . . . .	43
5.6	Relative Maximalstromamplitude . . . . .	45

---

5.7	Membranpotential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$ . . . . .	48
5.8	Steigung der Stromaktivierung $V_s$ . . . . .	51
5.9	Vereinfachte Auswertung entsprechend der Auswertung zur Fallzahlab- schätzung . . . . .	51
5.10	Analyse der Kontrollgruppen . . . . .	53
<b>6</b>	<b>Bewertung und Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>55</b>
6.1	Zusammenfassende statistische Bewertung . . . . .	55
6.2	Biologische Bewertung . . . . .	56
	<b>Literatur</b>	<b>58</b>
	<b>Anhang</b>	
	HF-Exposition und Dosimetrie . . . . .	
	Literaturstudie . . . . .	

## Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden Ionenströme durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle von reifen inneren Haarsinneszellen aus dem Cortischen Organ des Innenohrs von Mäusen auf mögliche Einflüsse einer Mobilfunkbefeldung untersucht. Innere Haarsinneszellen sind die eigentlichen Rezeptorzellen für die Schallwahrnehmung im Innenohr. Ihre Aufgabe ist die Umsetzung einer Schallanregung in die Ausschüttung von Neurotransmitter, der die nachgeschalteten Nervenzellen erregt. Der Einstrom von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen durch die spannungsabhängigen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle löst diese Transmitterausschüttung aus und stellt somit einen essentiellen Schritt in der Signaltransduktion dar.

Da Mobiltelefone bei Benutzung nahe dem Ohr positioniert sind, erreichen die Felder im Innenohr relativ größere Intensitäten als in anderen Teilen des Körpers. Aus diesem Grund wurden die sehr empfindlichen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle unter Befeldung mit der Patch-Clamp Methode untersucht. Die Ableitungen der Ströme erfolgten für drei verschiedene Befeldungsarten, die Mobilfunksignale nach den Standards UMTS, GSM 1800 und GSM 900 simulierten. Für jede Befeldungsart wurden die Zellen randomisiert und verblindet mit Intensitäten entsprechend SAR-Werten von 0,02 W/kg, 0,2 W/kg, 2 W/kg, 20 W/kg oder einer Scheinbefeldung befeldet. Die Messungen erfolgten während einer Vorlaufphase von 5 min, einer Befeldungsphase von 20 min und einer Nachlaufphase von 15 min Dauer.

In einer Abschätzung ergab sich eine Anzahl von 16 Zellen je Befeldungsgruppe für jede Befeldungsart als notwendig, um eine hinreichende statistische Macht zu erreichen. Aus den gemessenen Strömen wurden eine Reihe von elektrophysiologischen Größen gewonnen, die in einer statistischen Analyse auf einen möglichen Befeldungseinfluss untersucht wurden. Das zugrunde gelegte Modell einer Kovarianzanalyse bildete den Verlauf der Zielgrößen über der Zeit in den einzelnen Messphasen nach, wobei versucht wurde, einen möglichst großen Anteil der spezifischen Varianz einer Zelle über verschiedene Einflussgrößen zu erfassen. Für einen Einfluss der Befeldung musste in der statistischen Analyse mindestens die Wechselwirkung von Befeldungsintensität und Befeldungsphase auf dem 5%-Niveau signifikant sein.

In der statistischen Analyse ergaben sich einige, auf dem 5%-Niveau signifikante Einflüsse der Befeldung (5 von insgesamt 36 Tests) auf die elektrophysiologischen Zielgrößen, die sich über drei unterschiedliche Zielgrößen und alle drei Befeldungsarten verteilten. Dabei wurde ein Ergebnis durch einen einzelnen Ausreißerwert einer Zielgröße verursacht. Auch ließen sich diese Ergebnisse nicht systematisch einer Befeldungsintensität oder einer Befeldungsart zuordnen.

Im Gegensatz dazu zeigte sich die ebenfalls aufgezeichnete Proben temperatur in der statistischen Analyse mit dem komplexen Modell signifikant von der Befeldung beeinflusst. Diese signifikanten Ergebnisse traten für alle Befeldungsarten auf, obwohl ein Anstieg während der Befeldung nur für den höchsten SAR-Wert auftrat und mit  $0,2^\circ\text{C}$  an der Auflösungsgrenze der Temperatursonde lag.

Die vereinfachte Analyse, die als Basis der Fallzahlabeschätzung verwendet wurde und innerhalb derer die Zielgrößen über die drei Phase gemittelt wurden, erbrachte für *keine* der

elektrophysiologischen Zielgrößen in einem t-Test im Vergleich zwischen Scheinbefeldung und befeldeten Gruppen einen signifikanten Unterschied (d. h. für alle Tests war  $p > 0,05$ ).

Über eine Analyse der Kontrollgruppen, die für jede Befeldungsart unabhängig gemessen wurden, konnten die natürlichen Schwankungen der Zielgrößen ermittelt werden. Es zeigte sich, dass die für die signifikanten Ergebnisse der statistischen Analyse verantwortlichen Änderungen in den Zielgrößen um mindestens einen Faktor 2 unterhalb der natürlichen Schwankungen lagen.

Im Vergleich zu bereits vorliegenden Studien zu einem möglichen Einfluss von Mobilfunkfeldern auf Ionenströme (Linz et al., 1999; Platano et al., 2007) zeichnet sich die vorliegende Studie durch die Ableitung einer deutlich größeren Anzahl von Zellen mit jeweils längeren Befeldungs- und Ableitdauern sowie durch die Vermeidung von Befeldungsartefakten bei den aufgezeichneten Strömen aus.

Aufgrund der Datenlage kommen die Autoren zu dem Schluss, dass sich kein Hinweis auf einen systematischen, biologisch relevanten Einfluss einer Akutbefeldung bis zu einem SAR-Wert von 20 W/kg auf die Funktionsweise der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle von inneren Haarsinneszellen finden lässt.

---

## Summary

In this study we investigated a possible influence of mobile phone communication electromagnetic fields on ionic currents flowing through  $\text{Ca}^{2+}$ -ion channel of mature inner hair cells in the organ of Corti of mice. Inner hair cells are the primary receptor cells for sound detection in the inner ear. Their task is to transform sound stimulation into the release of neuro transmitter that subsequently excites the afferent nerve fibres contacting the inner hair cells. The transmitter release is triggered by influx of  $\text{Ca}^{2+}$  ions through voltage-gated ion channels and, thus, represents an essential step in the signal transduction process.

Since mobile phones are positioned very close to the ear when in use, the field intensities in the inner ear reach relatively higher values compared with other regions of the body. For this reason the very sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  ion channels were investigated under mobile phone field exposure using the patch-clamp method. Ionic currents through  $\text{Ca}^{2+}$  channels were recorded for three different types of mobile phone fields, simulating signals used according to the three standards GSM 900, GSM 1800 and UMTS. For every type of signal the cells were exposed to fields with intensities corresponding to SAR-values of 0.02 W/kg, 0.2 W/kg, 2 W/kg, 20 W/kg plus a sham exposure. The exposure was randomised and blinded and recording was done for 5 minutes before exposure, during a 20 minutes exposure phase and for 15 minutes after exposure.

It was estimated that a number of 16 cells per field intensity per field type was necessary to achieve a sufficient statistical power. A number of electrophysiological properties were derived from the recorded currents and analysed with a statistical model, whether the exposure could have caused a difference in the recorded currents. The model was based on an analysis of co-variance and described the time course of the electrophysiological properties of the recorded currents in all three different measurement phases. Within the model it was tried to explain as much as possible of the specific variance in the data of a given cell by the estimated effects of intensity, phase, and their interaction among other factors. To indicate a possible effect of the exposure, at least the interaction of field intensity and measurement phase had to be significant with  $p < 0.05$ .

The analysis revealed several (5 out of 36 tests) statistically significant influences of the exposure with p values just under  $p = 0,05$ . These results were distributed over three different electrophysiological properties and over all three types of mobile phone fields. One of the results was caused by a single outlier cell; the remaining significant results were not systematically varying with intensity or field type.

In contrast, the temperature of the specimen which was additionally recorded during the experiments showed a highly statistically significant effect of field exposure, with  $p < 0.0001$  for all three field types and all exposure related effects. It needs to be stressed that these consistent statistically significant results were caused by a temperature increase of as little as  $0.2^\circ\text{C}$  - at the limit of the resolution of the temperature sensor - and occurring only for the highest field intensity corresponding to an SAR-value of 20 W/kg.

The simplified analysis which was the basis for the estimation of the number of required measurements and where the electrophysiological properties were simply averaged within

each measurement phase, indicated no statistically significant effect of field exposure in Dunnett-tests comparing exposed with sham exposed groups.

The natural variability of the electrophysiological properties could be determined by analysing the results for the control groups that were independently measured for all three field types. The results showed that the changes which were responsible for the significant test results of the statistical analysis were at least by a factor of 2 smaller than the natural variability of the data. Therefore, it was concluded that all variations in the electrophysiological properties of the currents were within the normal biological variability of the respective properties.

This study differs from previous studies (Linz et al., 1999; Platano et al., 2007) on the possible influence of mobile phone fields on the function ion channels by providing data of many more cells recorded over a longer time and exposed to the fields over a longer duration. In addition and in contrast to Platano et al. (2007) field artifacts in the current recordings could be avoided.

Based on the presented data the authors conclude, that there is no indication that a systematic, biologically relevant effect of mobile phone field exposure on the function of  $\text{Ca}^{2+}$ -channels in inner hair cells exists in acute exposure with mobile phone fields of SAR-values up to 20 W/kg.

---



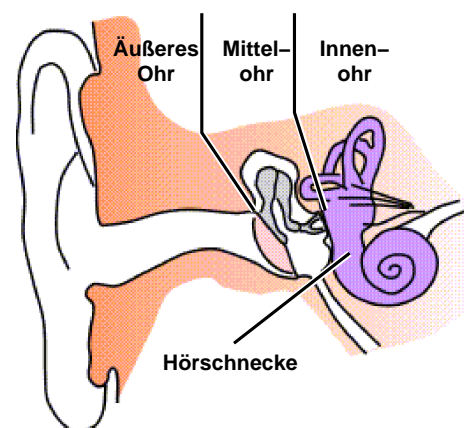
# 1 Einleitender Überblick

In der vorliegende Studie wurde der mögliche Einfluss von elektromagnetischen Hochfrequenzfeldern, wie sie in der Mobiltelefonkommunikation verwendet werden, auf das Hörsystem untersucht. Es wurden innerhalb der Untersuchung Messungen an den primären Sinneszellen, den inneren Haarsinneszellen vorgenommen, die im Innenohr die mechanischen Schallreize in neuronale Signale wandeln. Im Speziellen wurden Ionenströme durch einen für diese Umsetzung essentiell wichtigen spannungsgesteuerten  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanal abgeleitet. Die Ableitungen erfolgten verblindet und randomisiert unter Befeldung mit verschiedenen Befeldungsarten und Befeldungsintensitäten. Die unterschiedliche Befeldungssignale simulierten entsprechend die drei Mobilfunkstandards GSM 900, GSM 1800 und UMTS. Für jede Befeldungsart und -intensität wurden die Messungen an einer Anzahl innerer Haarsinneszellen durchgeführt. Die Messungen erfolgten für fünf Minuten vor, während einer 20 Minuten dauernden Befeldungsphase und für 15 Minuten nach der Befeldungsphase. Anhand der gewonnenen Daten wurde mit einer statistische Analyse geprüft, ob eine Befeldung einen statistisch signifikanten Unterschied in den untersuchten Eigenschaften der gemessenen Ströme hervorgerufen hat. Die Ergebnisse der statistischen Analyse wurden dann auf ihre biologische Relevanz hin bewertet.

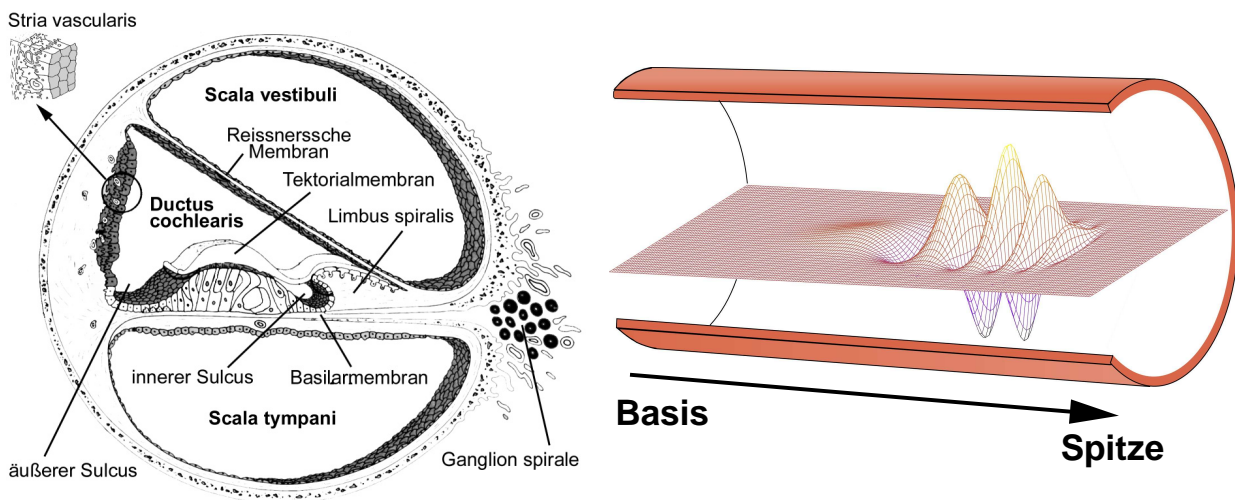
## 1.1 Kurzer Überblick über das Hörsystem

Da innerhalb der Studie vor allem bei der Diskussion der bekannten Literatur zu Untersuchungen im Bereich des Hörsystems die verschiedenen Aspekte des Hörsystems und seine grundsätzliche Funktion von Bedeutung sind, soll hier ein ganz kurzer Abriss über den Aufbau des Hörsystems von Säugern gegeben werden.

Das äußere Ohr mit Ohrmuschel und Gehörgang sammelt den Schall und leitet ihn zum Mittelohr. Mit dem Trommelfell beginnt das Mittelohr, dessen Aufgabe die Anpassung der Schwingungseigenschaften der Schallausbreitung in Luft auf die Eigenschaften der Schallausbreitung im flüssigkeitsgefüllten Innenohr ist (s. Abb. 1). In Luft sind die Druckänderungen vergleichsweise klein bei gleichzeitig relativ großen Teilchenbewegungen. In Flüssigkeiten sind dagegen die Teilchenbewegungen relativ klein, während die Drücke hoch sind. Über die Umsetzung des Schalls über die Mittelohrknöchel wird der Druck durch das Flächenverhältnis Trommelfell/Steigbügel Fußplatte am ovalen Fenster des Innenohres erhöht und so an die Schallleitungseigenschaften in Wasser angepasst, dass die Schallübertragung ins Innenohr ohne große Verluste stattfindet.



**Abbildung 1:** Schematischer Querschnitt durch das Ohr (modifiziert nach Wikimedia Commons, 2003).



**Abbildung 2:** Links: Querschnitt durch die Cochlea mit dem Cortischen Organ auf der Basilarmembran (mod. nach Rauber und Kopsch, 1994). Rechts: Schematische Darstellung der Wanderwelle, die sich von der Basis zur Spitze der Cochlea fortpflanzt (die Auslenkungen sind überhöht dargestellt).

Nach der Weiterleitung ins Innenohr laufen die Schallwellen in der Hörschnecke, der Cochlea, entlang. Die Cochlea wird durch die Basilarmembran in eine obere und untere Hälfte getrennt (s. Abb. 2, linkes Teilbild). Auf der Basilarmembran wird eine sog. Wanderwelle angeregt, deren maximale Auslenkung von der Frequenz des anregenden Schalls abhängt (s. Abb. 2, rechtes Teilbild). Die Steifigkeit der Basilarmembran variiert entlang der Cochlea von hohen Werten nahe der Basis an der Steigbügelfußplatte zu niedrigen Werten in der Spitze der Hörschnecke. Damit entsteht die maximale Auslenkung der Basilarmembran je nach Frequenz an unterschiedlichen Orten. Hohe Frequenzen zeigen ihre maximale Auslenkung an der Basis der Hörschnecke, niedrige Frequenzen in der Spitze. Über diesen Mechanismus können Säuger bis in den Ultraschallbereich unterschiedliche Frequenzen wahrnehmen (beim Menschen: 20-20000 Hz).

Die eigentliche Umsetzung der mechanischen Schwingungen in neuronale Signale findet in einem besonderen Sinnesepithel, dem Cortischen Organ, statt, das sich auf der Basilarmembran befindet und durch die Schwingungen auf und ab bewegt wird. Im Cortischen Organ sitzen umgeben von Stützzellen eine Reihe sog. innerer Haarsinneszellen und drei Reihen äußerer Haarsinneszellen (s. Abb. 3).

Die Haarsinneszellen verfügen auf ihrer Oberseite über Zilien (s. Abb. 4 für eine innere Haarsinneszelle), die durch die Schallschwingung hin und her bewegt werden und in deren Spitze durch die mechanische Auslenkung spezielle Ionenkanäle, die sog. Transduktionskanäle, öffnen.

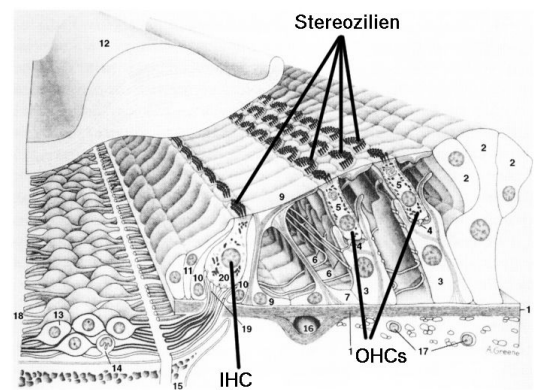
Die Transduktionskanäle lassen positiv geladene Ionen in die Zelle strömen, die dazu führen, dass die Zellen von ihrem negativen Ruhemembranpotential nach positiv depolarisiert werden. Haarsinneszellen bilden ein graduelles Rezeptorpotential aus und erzeugen selbst kein Aktionspotential. Das Rezeptorpotential wird durch das Zusammenspiel von Transduktionskanälen und repolarisierenden spannungsabhängigen  $K^+$ -Ionenkanälen ge-

formt. Die Transduktionskanäle öffnen nur bei Auslenkung der Zilien in eine Richtung und werden bei Auslenkung in Gegenrichtung geschlossen. Durch die Depolarisation werden spannungsabhängige  $K^+$ -Ionenkanäle geöffnet, die positive  $K^+$ -Ionen aus der Zelle ausströmen lassen und damit das Membranpotential wieder in Richtung des negativen Ruhemembranpotentials ziehen.

Äußere Haarsinneszellen (OHCs) setzen die Änderung der Membranspannung über ein bestimmtes Membranprotein in eine Längenänderung um, die zur Verstärkung der Basilarmembranschwingung bei geringen Schallpegeln (bis ca. 50 dB<sub>SPL</sub>) genutzt wird. Ohne diesen Verstärkungsmechanismus würde die Hörschwelle bei Säugern um 40–50 dB höher liegen.

Innere Haarsinneszellen (IHCs, Abb. 4) dagegen sind die eigentlichen Sinnesrezeptoren, die das Rezeptorpotential in eine Ausschüttung des Botenstoffs Glutamat an den Synapsen mit den Dendriten der Spiralganglien umsetzen. Diese Ausschüttung eines Botenstoffs, Exozytose genannt, wird über den Einstrom von  $Ca^{2+}$ -Ionen angestoßen. Die  $Ca^{2+}$ -Ionen strömen durch spannungsabhängige  $Ca^{2+}$ -Ionenkanäle ein, die sich in der Membran an der Basis der inneren Haarsinneszellen befinden. Die Ionenkanäle werden durch die Änderung des Rezeptorpotentials geöffnet und sind beim Ruhemembranpotential von ca. -70 mV bis -75 mV geschlossen.

Der ausgeschüttete Botenstoff löst dann auf den nachgeschalteten ableitenden Nervenfasern postsynaptische Potentiale aus, die auf den Spiralganglien zu den ersten Aktionspotentialen führen. Danach schließen sich verschiedene Verarbeitungsstufen im Hirnstamm an, bevor die akustische Information im auditorischen Cortex verarbeitet wird. Zusätzlich existieren von zentralen auditorischen Zentren herabziehende Nervenfasern, die die auditorische, neuronale Verarbeitung zum Teil bis in die Cochlea hinein beeinflussen.

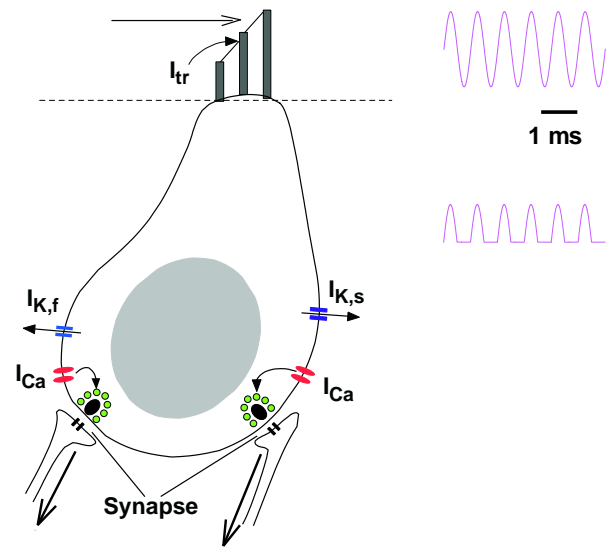


**Abbildung 3:** Das Cortische Organ mit einer Reihe innerer Haarsinneszellen (IHCs) und drei Reihen äußerer Haarsinneszellen (OHCs) (mod. nach Kiang, 1984).

## 1.2 Spannungsgesteuerte $Ca^{2+}$ -Kanäle

Die in dieser Studie untersuchten Ionenkanäle gehören zu den spannungsgesteuerten,  $Ca^{2+}$ -permeablen Ionenkanälen. Ionenkanäle sind porenbildende Membranproteine, die aufgrund verschiedener Stimuli wie z. B. bestimmte chemische Reize von der extra- oder intrazellulären Seite, mechanische Reize oder Änderungen des Membranpotentials für bestimmte Ionenarten permeabel werden. Die Ionenströme verändern dadurch den elektrischen Erregungszustand der Zellen. Im Falle des  $Ca^{2+}$ -Ions wird die biologische Wirkung häufig nicht über die elektrischen Eigenschaften einer Zelle, sondern über die chemische Signalwirkung vermittelt.

**Abbildung 4:** Schematische Darstellung einer inneren Haarsinneszelle mit Stereozilien und den verschiedenen Ionenkanälen. Der einlaufende Schallreiz lenkt die Zilien am oberen Pol der Haarzelle aus, nur die Auslenkung in positiver Richtung führt zu einem Ioneneinstrom  $I_{tr}$  durch den Transduktionskanal. Zur Repolarisation dienen die  $K^+$ -Ströme  $I_{K,f}$  und  $I_{K,s}$ . Der  $Ca^{2+}$ -Strom  $I_{Ca}$  stößt die Exozytose an den Synapsen an.



Spannungsgesteuerte Ionenkanäle werden durch Änderungen des Membranpotentials geöffnet bzw. auch wieder geschlossen. Innerhalb des porenbildenden Kanalproteins gibt es geladene Aminosäure-Seitenketten, die auf Potentialänderungen hin ihre Position ändern, was zum Öffnen bzw. Schließen des Kanals führt.

Viele der spannungsgesteuerten Kanäle sind selektiv für eine bestimmte Ionensorte und leiten andere Ionen sehr viel schlechter. Das gilt auch für die spannungsgesteuerten  $Ca^{2+}$ -Kanäle, die einen Selektivitätsfilter für  $Ca^{2+}$ -Ionen in der porenbildenden, membranüberbrückenden Untereinheit des Kanals, der  $\alpha_1$ -Untereinheit, besitzen.

Neben dieser zentralen Untereinheit gibt es bei spannungsgesteuerten  $Ca^{2+}$ -Kanälen noch verschiedene akzessorische Untereinheiten. Man kennt 10 verschiedene Gene für die  $\alpha_1$ -Untereinheit spannungsgesteuerter  $Ca^{2+}$ -Kanäle, die in drei Familien ( $Ca_v1$ ,  $Ca_v2$ ,  $Ca_v3$ ) eingeteilt werden können. Die  $\alpha_1$ -Untereinheiten in inneren Haarsinneszellen sind zu über 90%  $Ca_v1.3$ -Untereinheiten, die zur  $Ca_v1$ -Familie (oder Klasse der L-Typ- $Ca^{2+}$ -Ströme) gehören (Platzer et al., 2000). Über die molekulare Natur der akzessorischen Untereinheiten der vollständigen Kanalkomplexe in inneren Haarsinneszellen ist noch nichts bekannt.

## 2 Literaturübersicht

Zu Beginn des Projekts wurde die vorhandene Literatur gesichtet und in einer Literaturstudie bewertet. Diese Studie ist dem Abschlussbericht als Anhang beigefügt. Die nachfolgende Literaturübersicht bezieht sich deshalb nur auf Literatur, die zum damaligen Zeitpunkt noch nicht veröffentlicht oder - in wenigen Fällen - nicht bekannt war.

### 2.1 Messungen von otoakustischen Emissionen

Im Folgenden werden einige Untersuchungen vorgestellt, die als Methode die Messung von sog. otoakustischen Emissionen (OAEs) verwenden. Dabei wird die mechanische Funktion der äußeren Haarsinneszellen getestet. Diese reagieren auf eine Schallwelle zeitlich synchron mit einer Längenänderung, die — so wird vermutet — leise Schallsignale unterhalb von ca. 40-50 dB<sub>SPL</sub> im Innenohr auf der Basilarmembran so verstärkt, dass sie von den inneren Haarsinneszellen detektiert werden können. Leise kurze Klicksignale lösen sog. transient evozierte OAEs (TEOAEs) aus, die als breitbandige zeitlich verzögerte Schallsignale aus dem Innenohr mit empfindlichen Mikrofonen im Gehörgang aufgezeichnet werden können.

Da die äußeren Haarsinneszellen nur bei sehr kleinen Schallamplituden eine Verstärkung liefern können, geht die Verstärkung bei mittleren Pegeln in die Sättigung. Durch dieses Verhalten wird die Kennlinie der Basilarmembranschwingungen *nichtlinear* und erzeugt harmonische Verzerrungen, die subjektiv wahrgenommen, aber auch als Distorsionsprodukt OAEs (DPOAEs) ebenfalls im Gehörgang aufgezeichnet werden können. Zur Anregung des Distorsionsprodukts werden zwei Sinustöne im Frequenzverhältnis  $f_2/f_1 \approx 1,05-1,2$  verwendet, die über die nichtlineare Kennlinie eine Reihe von harmonischen Verzerrungen erzeugen, deren stärkste das Distorsionsprodukt bei  $2f_1 - f_2$  ist, das wiederum über ein Mikrofon im Gehörgang aufgezeichnet wird.

Beide Arten von OAE-Messungen stellen etablierte klinischen Diagnoseverfahren dar und reagieren empfindlich auf Störungen der Funktionsweise der äußeren Haarsinneszellen. Das Vorhandensein der OAEs wird dabei als Hinweis auf eine intakte Funktion der äußeren Haarsinneszellen gewertet, eine Abnahme der OAE-Amplitude als entsprechender Hinweis auf eine beeinträchtigte Funktion der äußeren Haarsinneszellen. Dabei lassen sich im Rahmen von Verlaufskontrollen zum Teil Fehlfunktionen der äußeren Haarsinneszellen nachweisen, *bevor* es zu einem messbaren Hörverlust kommt (z. B. bei der Verlaufskontrolle von hochwirksamen, aber potentiell ototoxisch wirkenden Medikamenten wie Aminoglykoside oder Zytostatika).

Janssen et al. (2005) bestimmten DPOAEs an 28 Probanden (je 14 Frauen und Männer) vor während und nach der Befeldung mit einem GSM 900-simulierenden Signal, das über eine kleine Antenne an einem Mobiltelefon-Dummy abgestrahlt wurde. Da es zu einem direkten Übersprechen der Felder auf das DPOAE-Messgerät kam, musste das GSM 900-Signal so modifiziert werden, dass die Pausen zwischen den einzelnen Pulsen des GSM-Signals von ca. 4 ms auf ca. 24 ms erhöht wurden. In diesen Pausen wurde dann das Stimulationssignal der OAE-Messungen angeboten und die Verzerrungsproduk-

te über 1000 Wiederholungen, die nicht durch Übersprechen beeinflusst waren, gemittelt. Janssen et al. (2005) legten besonderen Wert auf eine hohe Reproduzierbarkeit der DPOAE-Ergebnisse. Die Autoren erreichten in einer Pilotuntersuchung bei den verwendeten höheren Anregungspegeln und entsprechend hohem Signal-Rausch-Abstand der OAEs von  $\geq 30$  dB für wiederholte Messungen eine Standardabweichung der eigentlichen DPOAE-Pegel von deutlich unter 0,5 dB bis hinunter zu 0,1 dB.

Die Untersuchung selbst wurde für vier verschiedene Pegelkombinationen der Anregungssignale und bei drei verschiedenen Frequenzen von  $f_2$  ( $f_1 = f_2/1.2$ ) durchgeführt. Für alle 28 Probanden wurde je acht Messungen durchgeführt, in denen sich vier Scheinbefeldungen mit vier realen Befeldungen abwechselten. Die Befeldungsdauer richtete sich dabei nach der Dauer der DPOAE-Messungen und lag bei ca. drei Minuten. Als SAR-Wert wurden für die Befeldung 0,1 W/kg angegeben. Die Befeldung erfolgte für die Probanden verblindet.

Ein Vergleich der Differenzen der DPOAE-Pegel zwischen aufeinander folgenden Befeldungen und Scheinbefeldungen zeigte in einer ersten Analyse keinerlei Abhängigkeit von der Befeldung. Jedoch ergab sich für die Gruppe der weiblichen Probanden beim höchsten Anregungspegel von 60 dB<sub>SPL</sub> und  $f_2 = 3750$  Hz ein signifikanter Unterschied zwischen Befeldung und Scheinbefeldung. Bei den männlichen Probanden ergab sich für keine der zwölf Pegel- und Frequenzkombinationen ein signifikanter Unterschied.

Da die DPOAE-Pegel von Janssen et al. (2005) einen leicht ansteigenden Trend zeigten, wurde ein Polynom dritter Ordnung an die Daten angepasst und die Differenz der Daten zu diesem Polynom noch einmal analysiert. Dabei zeigte sich ebenfalls für den höchsten Anregungspegel eine signifikante Korrelation der Differenzen mit der Befeldung. Während der Befeldung lagen die DPOAE-Pegel relativ zur Anpassung etwas *höher* als während der Scheinbefeldung. Allerdings waren die Differenzen mit weniger als 0,5 dB extrem klein und die signifikante Korrelation war auch nur bei dem höchsten Anregungspegel von 60 dB — und damit dem besten Signal-Rausch-Abstand — überhaupt sichtbar. Die Autoren konnten einen rein technischen Effekt, z. B. eine Wechselwirkung zwischen Expositionsanlage und DPOAE-Messgerät über ein Blindmessung an einem Modellkopf, ausschließen. Eine Erklärung für den gefundenen Einfluss konnten die Autoren nicht liefern. Sie kommen aber zu dem Schluss, dass der Effekt aufgrund der geringen Größe (nur wenige Zehntel eines dB) wahrscheinlich keine physiologische Bedeutung hat.

Zur Bewertung der Studie von Janssen et al. (2005) ist noch anzumerken, dass aufgrund der Tatsache, dass sowohl das Anregungssignal als auch die vom Innenohr ausgesandten OAEs über das Mittelohr geleitet werden, sich selbst minimale Änderungen in der Schallleitungseigenschaft des Mittelohrs doppelt auswirken. Es ist nicht ausgeschlossen, dass hier auch minimale thermische Wirkungen das Mittelohr (also Trommelfell und Gehörknöchelchen mit der Paukenhöhle) in seiner Schallleitungseigenschaft beeinflussen könnten, und so während der Befeldung zu dem gefundenen Effekt führen. Außerdem ist im eigentlichen Sinne kein Kontrollexperiment durchgeführt worden, bei dem es nur eine Scheinbefeldung gab, um auszuschließen, dass die gefundenen Variationen eine andere Ursache haben könnten als die Befeldung.

Um einen möglichen Einfluss von Mobilfunkfeldern auf die Funktion des Innenohres zu erfassen, wurden in einer Arbeit von Parazzini et al. (2005) ebenfalls DPOAEs bestimmt. Die Befeldung erfolgte mit je sechs Probanden doppelt-blind jeweils für GSM 900 und GSM 1800 Signale über ein Mobiltelefon, dessen Ausgangsleistung über einen Computer auf die maximale Leistung geregelt wurde (2 W für GSM 900, 1 W für GSM 1800). Die DPOAE-Messungen erfolgten direkt vor und direkt im Anschluss an eine zehnmündige Befeldungsphase. Die Messungen wurden mit einer Befeldung und einer Scheinbefeldung an zwei aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Die Autoren bestimmten mit Messungen an einem Modellkopf einen maximalen SAR-Wert von 0,4 W/kg für die GSM 900-Signale und 0,2 W/kg für die GSM 1800-Signale.

Die über der Frequenz hochaufgelösten DPOAEs wurden von Parazzini et al. (2005) so analysiert, dass sie zwei unterschiedliche Beiträge zum Verzerrungsprodukt trennen konnten. Alle Schallsignale erzeugen im Innenohr je nach Frequenz an unterschiedlichen Orten die maximale Auslenkung der Basilarmembran (s. Abschnitt 1.1 zur Wanderwelle). Die hohen Frequenzen werden an der Basis der Gehörschnecke, die tiefen Frequenzen in Richtung der Spitze der Schnecke abgebildet. Das Distorsionsprodukt entsteht auf der Basilarmembran an einem Ort, der zwischen den beiden Anregungsfrequenzen nahe bei  $f_2$  liegt. Die Frequenz des Distorsionsprodukts  $2f_1 - f_2$  hat ihre maximale Auslenkung aber an einem Ort, der noch jenseits von  $f_2$  Richtung Spitze der Gehörschnecke liegt. Von dort wird ein Teil der Schallenergie reflektiert und überlagert sich mit dem eigentlichen Distorsionsprodukt im Mittelohr. Über eine mathematische Analyse der DPOAEs (Kalluri und Shera, 2001) konnten Parazzini et al. (2005) die beiden relativen Beiträge zum gemessenen Distorsionsprodukt quantifizieren.

Eine statistische Analyse der gewonnenen Daten erbrachte jedoch keinen signifikanten Einfluss der Befeldung auf die DPOAEs — weder auf die gemessenen Gesamtpegel noch auf einen der beiden errechneten Einzelbeiträge.

Mit einem analogen Studiendesign benutzte die gleiche Autorengruppe in Paglialonga et al. (2007) TEOAEs zur Erfassung eines möglichen Einflusses von Mobilfunkfeldern auf die Funktionsweise der äußeren Haarsinneszellen. Von 27 Probanden wurden TEOAEs direkt vor und nach einer Befeldungsphase abgeleitet. Die Befeldung erfolgte mit einem handelsüblichen Mobiltelefon für GSM 900- und GSM 1800-Signale und jeweils einer Scheinbefeldung doppelt-blind. Die Leistung des Mobiltelefons wurde per Computer auf die Maximalleistung geregelt. Die Dauer der Befeldungsphase betrug zehn Minuten. Für die Analyse der Daten wurden nicht nur die üblichen Fourierspektren der TEOAEs betrachtet, sondern auch die Zeitsignale der TEOAEs über eine Wavelet-Transformation (Mallat, 1989) in Frequenzbänder zerlegt und nach Energie und Latenz in den einzelnen Frequenzbereichen analysiert. Die Autoren fanden ebenfalls keinen statistisch signifikanten Effekt der Befeldung.

Eine weitere Arbeit von Monnery et al. (2004), in der ebenfalls OAEs benutzt wurden, um einen möglichen Einfluss von Mobilfunkfeldern auf das Hören zu untersuchen, kommt zu dem Schluss, dass die Nutzung von Mobiltelefonen unter normalen Bedingungen keinerlei Effekt auf die Funktionsweise der OHCs hat. Allerdings weist die Studie erhebliche Mängel hinsichtlich der Durchführung und der Darstellung von Methoden und Ergebnissen auf. Die Beschreibung der Exposition lässt den Schluss zu, dass ein Mobiltelefon in

einem Gesprächsmodus verwendet wurde, *ohne* dass die Ausgangsleistung des Telefons kontrolliert wurde und wahrscheinlich ohne, dass gesprochen wurde, da dies die Ableitung der OAEs behindert hätte. Darüberhinaus wird nicht einmal angegeben, welche Art von OAEs (DPOAEs oder TEOAEs) abgeleitet wurden. Insgesamt ist die Studie leider wenig aussagekräftig.

In zwei Untersuchungen wurden OAE-Messungen an Ratten verwendet, um den Einfluss von Mobilfunkfeldern auf das Hörsystem zu überprüfen. Bei den Versuchen mit Tieren können deutlich höhere SAR-Werte verwendet werden, die am oder oberhalb der gültigen Grenzwerte für Menschen liegen.

Galloni et al. (2005) untersuchten an Ratten Langzeiteffekte der Befeldung mit Mikrowellen bei einer Frequenz von 900 MHz. Die Tiere wurde in drei verschiedene Gruppen aufgeteilt, die unterschiedlichen Befeldungen ausgesetzt wurden.

- In der ersten Gruppe wurden die Tiere über fünf Tage je drei Stunden mit einem nominellen SAR-Wert von 1 W/kg mit einem unmodulierten 900 MHz-Mikrowellensignal befeldet. Vier Tiere wurden scheinbefeldet. Von den anderen 14 Tieren wurde sechs mit einer Hornantenne befeldet, die übrigen acht Tiere mit einer kleinen Schleifenantenne, die auch in allen anderen Versuchen zum Einsatz kam. DPOAE-Messungen erfolgten vor der Befeldung, am Ende der Befeldungswoche und nach einem und zwei Tagen nach Beendigung der Befeldung. Es wurden die DPOAES für vier Frequenzen bestimmt.
- In der zweiten Gruppe wurden die Tiere ebenfalls für fünf Tage jeweils drei Stunden pro Tag mit einem GSM 900-Signal befeldet. Der nominelle SAR-Wert lag bei 1 W/kg. Je zwölf Tiere wurden befeldet und zwölf Tiere nur scheinbefeldet. DPOAE-Messungen erfolgten vor der Befeldung, am Ende der Befeldungswoche und nach einem und drei Tagen sowie nach einer Woche nach Beendigung der Befeldung. Es wurden die DPOAEs für drei Frequenzen bestimmt.
- Die dritte Gruppe von Tieren wurde für vier Wochen jeweils an fünf Tagen pro Woche für je zwei Stunden pro Tag einem GSM 900-Feld ausgesetzt, das einem nominellen SAR-Wert von 2 W/kg entsprach. DPOAE-Messungen erfolgten vor der Befeldung, am Ende jeder Befeldungswoche und nach einer und 4 Wochen nach Beendigung der Befeldung. Es wurden die DPOAEs für vier Frequenzen bestimmt und für eine Frequenz sog. DPOAE-Wachstumsfunktionen bestimmt. Bei den Wachstumsfunktionen werden die Pegel der Anregungstöne erhöht und bei konstanter Frequenz das Anwachsen des Distorsionsprodukts aufgezeichnet.

Die Autoren haben außerdem am Ort der Cochlea in einer toten Ratte den SAR-Wert experimentell bestimmt und mit Simulationsrechnungen verglichen. Bei einer nominellen Ausgangsleistung von 1 W für ein unmoduliertes Signal ergab sich am Ort der Cochlea ein SAR-Wert von 4,5 W/kg.

In allen Fällen ergab sich *kein* signifikanter Unterschied in den erhobenen Daten zwischen befeldeten und nicht-befeldeten Tieren.



In einer Folgeuntersuchung wurde von (Parazzini et al., 2007) der Einfluss von Mobilfunkfelder auf die Funktionsweise der äußeren Haarsinneszellen in Kombination mit einem bekanntermaßen ototoxisch wirkenden, aber hochwirksamen Antibiotikum aus der Gruppe der Aminoglykoside, Gentamycin, untersucht. Die Autoren prüften damit die Hypothese, dass eine Vorschädigung der äußeren Haarsinneszellen durch Gentamycin eine mögliche schädliche Wirkung der Mobilfunkfelder verstärken könnte. Es wurden 32 Ratten in vier Gruppen zu je acht Tieren aufgeteilt.

- eine Gruppe wurde scheinbefeldert
- eine Gruppe wurde mit unmodulierten 900 MHz-Mikrowellensignalen entsprechend einem SAR-Wert von 4,42 W/kg (am Ort der Cochlea) befeldert. Die Befeldertung erfolgte an fünf Tagen pro Woche je zwei Stunden pro Tag für vier Wochen.
- eine Gruppe wurde nur mit Gentamycin behandelt
- die letzte Gruppe wurde befeldert und zusätzlich mit Gentamycin behandelt.

DPOAE-Messungen wurden an allen Tieren vor Beginn der Untersuchung jeweils am Ende jeder Behandlungswoche und nach einer bzw. vier Wochen nach Ende der Behandlung durchgeführt. Während der Einfluss von Gentamycin allein und in Kombination mit der Befeldertung eine hochsignifikante Reduktion der DPOAEs ergab, zeigten die Ergebnisse keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Befeldertung. Sowohl die DPOAEs der scheinbefelderten und der nur mit den Mikrowellen befelderten Tiere unterschieden sich nicht. Auch die DPOAEs der nur mit Gentamycin und der mit Gentamycin behandelten und befelderten Tiere waren nicht signifikant unterschiedlich.

In beiden Studien kommen die Autoren zu dem Schluss, dass eine Befeldertung langfristig keinen negativen Effekt auf die Funktionsweise der äußeren Haarsinneszellen zeigt.

## 2.2 Evozierte Potentiale

Neben den Messungen von OAEs ist die Ableitung von evozierten Potentialen eine weitere Methode, um objektive Hörmessungen durchzuführen. Die Methode ist auch klinisch in der Form von Hirnstammableitungen gebräuchlich. In der Fachliteratur werden dafür die Begriffe „brainstem evoked response audiometry“ (BERA) oder „auditory brainstem response“ (ABR) verwendet. Dabei wird das Gehör wiederholt mit Klicks (für eine breitbandige Anregung) oder kurzen Sinustönen (für eine frequenzspezifische Anregung) akustisch stimuliert und über wenige Elektroden auf der Kopfhaut der entstehende Potentialverlauf ähnlich einem EEG abgeleitet. Mittelt man die gemessenen Potentiale zeitlich bezogen auf den Beginn der Stimulation, ergeben sich charakteristische Potentialverläufe in sog. Wellen über der Zeit, die eine hohe Korrelation zur akustischen Anregung zeigen. Einzelne Wellenmaxima und -minima lassen sich dabei verschiedenen Verarbeitungsstufen der Hörbahn zuordnen. Die frühen Wellen repräsentieren die peripheren Verarbeitungsstufen in der Cochlea oder direkt anschließenden Kernen, spätere Wellen gehören zu immer höheren Verarbeitungszentren. Abhängig vom Pegel der Schallsignale verändert sich auch

die Verzögerung der einzelnen Wellen. Je näher der Schallpegel an der Hörschwelle ist, desto größer wird diese Latenzzeit. Klinisch gebräuchliche ABR-Messungen wurden in einigen Untersuchungen in Abschnitt 2.3 verwendet.

Eine Variante der evozierten Potentiale ist die Ableitung eines EEGs unter akustischer Stimulation. Auch hier werden die EEG-Kurven zeitlich gemittelt bezogen auf den Beginn des Schallsignals. Die sich ergebenden Muster der Aktivität der Großhirnrinde sind jedoch deutlich komplexer und erfordern einen höheren Aufwand zur Datenanalyse, da wesentlich mehr Elektroden verwendet und damit gleichzeitig mehrere Potentialverläufe aufgezeichnet werden.

Zu nennen sind hier die Ergebnisse, die in drei Arbeiten von Maby et al. (2004, 2005, 2006) präsentiert wurden. In allen drei Untersuchungen wurden akustisch evozierte cortikale Potentiale abgeleitet. Bei allen drei Veröffentlichungen fällt auf, dass die Parameter des Probandenkollektivs (Alter, Anzahl, Geschlecht) und der Ablauf der Versuche identisch sind, so dass es nicht ausgeschlossen ist, dass die zugrundeliegenden EEG-Daten für alle drei Arbeiten aus denselben Messungen stammen. Die Probanden umfassten neun gesunde Probanden (sechs Frauen, drei Männer, Alter: 21–32 Jahre) und sechs Epilepsiepatienten (zwei Frauen, vier Männer, Alter: 25–39 Jahre). Die Epilepsiepatienten wurden in der Studie untersucht, weil die Autoren überprüfen wollten, ob eine Störung wie die Epilepsie eine erhöhte Empfindlichkeit für Mobilfunkfelder nach sich ziehen könnte.

Für die Untersuchungen wurden akustisch evozierte Potentiale während einer Kontroll- und einer nachfolgenden Befeldungsphase abgeleitet. Diese Messungen wurden dann innerhalb einiger Tage wiederholt, wobei die tatsächliche Messung für die Probanden verblindet und randomisiert erfolgte, d. h. an einem der beiden Messtage enthielt die Befeldungsphase lediglich eine Scheinbefeldung. Zur Befeldung diente ein Mobiltelefon, dessen Ausgangsleistung von einem Computer auf einen SAR-Wert von 1,4 W/kg geregelt wurde. Die evozierten Potentialverläufe wurden dann analysiert und die Differenz zwischen Daten während der Kontroll- und der Befeldungsphase berechnet. Schließlich wurden in den drei Veröffentlichungen mit jeweils verschiedenen Methoden nach signifikanten Unterschieden zwischen den Differenzen gesucht, die eine Scheinbefeldung beinhalteten und denen, die eine Befeldung mit den Mobilfunkfelder beinhalteten.

Die Grundannahme der Autoren war in allen drei Veröffentlichungen, dass Unterschiede zwischen der Scheinbefeldung und der Befeldung mit Mobilfunkfelder in den so gebildeten Differenzen der evozierten Potentialen ausschließlich durch die Befeldung selbst induziert sein müssten. Diese zentrale Annahme ist aber als äußerst problematisch anzusehen. EEG-Daten und damit die evozierten Potentiale sind insgesamt sehr variabel und unterliegen einer Vielzahl von Einflüssen (Schlafmangel, allgemeiner Erregungszustand, Tagesrhythmik, Zyklusphase bei weiblichen Probanden). Die grundsätzliche Annahme, dass die Differenzen der evozierten Potentiale zwischen den Messungen sich nur aufgrund der in einem Fall erfolgten Befeldung ändern, ist daher zumindest als fragwürdig anzusehen. Dies gilt insbesondere für die vergleichsweise geringe Anzahl von gesunden Probanden, für die jeweils lediglich zwei Messungen durchgeführt wurden. Die Zahl der Epilepsiepatienten ist noch geringer als die es Kontrollkollektivs und Autoren diskutie-

ren auch nicht die mögliche Einflüsse des Epilepsiegeschehens und der medikamentösen Therapie auf die beobachtbaren evozierten Potentiale.

Darüberhinaus wiesen die Autoren darauf hin, dass in den Potentialverläufe verschiedene Artefakte sichtbar waren, die durch elektromagnetisches Übersprechen in das EEG-Ableitsystem entstanden sind. Ein Teil der Artefakte ließ sich auf die Netzspannung, ein anderer Teil jedoch auf die Mobilfunkbefeldung zurückführen. Die Artefakte wurden zwar durch eine Filterung nachträglich aus den Potentialverläufen entfernt, es bleibt aber trotzdem die Frage, ob nicht durch dieses Übersprechen Änderungen in den Ableitungen entstanden sind, dies sich durch einfaches Herausfiltern nicht einfach entfernen ließen.

In allen drei Veröffentlichungen kommen die Autoren zu dem Schluss, dass Mobilfunkfelder einen Einfluss gehabt haben könnten, schränken aber gleichzeitig ein, dass die Methoden eventuell nicht geeignet seien, um definitive hinsichtlich möglicher negativer Auswirkungen Aussagen treffen zu können.

### **2.3 Kombinierte Untersuchungen am Gehör**

Sievert et al. (2007) führten eine Reihe von Untersuchungen zur Funktion des Innenohres und möglichen Einflüssen durch Mobilfunkfelder durch. Neben der Ableitung von DPOAEs und evozierten Hirnstammpotentialen wurde auch eine Nystagmografie durchgeführt, die die Funktion des Gleichgewichtsorgans erfasst. Diese Untersuchung zielte zusammen mit einer Thermografie an Felsenbeinpräparaten auch auf mögliche thermische Effekte der Befeldung ab. Vom Gleichgewichtsorgan ist bekannt, dass es durch einseitige, geringe Temperaturerhöhung gereizt werden kann, was sich durch die Auslösung eines Augenfolgereflexes (Nystagmus) bzw. durch Drehschwindel äußern kann.

Sievert et al. (2007) untersuchten 13 Probanden, die über ein fremdgespeistes Mobiltelefon sowohl rechts als auch links befeldet werden konnten. Zur Befeldung wurden 900 MHz als kontinuierliches und als gepulstes Trägersignal verwendet. Nach Messungen an einem Modellkopf sollte der SAR-Wert ca. 2 W/kg am Innenohr betragen.

Die Thermografiemessungen an Felsenbeinpräparaten ergaben keine Temperaturerhöhung von mehr als 0,1 K am Innenohr, weder bei gepulster noch bei kontinuierlicher Befeldung. Die Nystagmografiemessungen an den 26 Ohren der 13 Probanden ergaben keine reproduzierbaren Nystagmen als Folge der Feldexposition. In Einzelfällen unter Befeldung sichtbare Nystagmen waren bei nachfolgenden Wiederholungsmessungen nicht mehr feststellbar.

Im Weiteren wurden von Sievert et al. (2007) sowohl die akustisch evozierten Hirnstammpotentialen (an 24 Ohren) als auch DPOAEs (an 20 Ohren) untersucht. Die Messungen wurden für beide Untersuchungsmethoden sowohl vor, als auch während und nach der Befeldung durchgeführt. Für beide Feldtypen (kontinuierlich und gepulst) ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede durch die Befeldung. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass eine Befeldung akut keinen Einfluss auf das Innenohr hat. Auch thermische Effekte sind nach Ansicht der Autoren aufgrund der Ergebnisse der Thermografie nicht zu erwarten.

Uloziene et al. (2005) führten in ihrer Studie Messungen der TEOAEs und der Audiogramme an 30 hörgesunden Probanden jeweils vor und nach einer Befeldungsphase von zehn Minuten Dauer durch. Die Befeldung wurde über ein handelsübliches Mobiltelefon durchgeführt, dessen Emmissionsleistung per Computer auf die Maximalleistung eingestellt wurde. Je 15 Probanden wurde mit GSM 1800 und GSM 900 doppelt blind befeldet. Es zeigten sich auch hier für beide Untersuchungsmethoden (Audiogramme und TEOAEs) und beide Feldarten keinerlei Unterschiede zwischen Befeldung und Scheinbefeldung.

Mora et al. (2006) untersuchten unter der Verwendung von abgeleiteten akustisch evozierten Hirnstammpotentialen (ABR) und transient evozieren otoakustischen Emissionen (TEOAEs) den Einfluss von Mobilfunkfeldern auf das periphere Hörsystem von 20 erwachsenen gesunden Probanden. Es zeigte sich keinerlei Einfluss der Mobilfunkfelder auf die abgeleiteten ABRs oder TEOAEs. Es ist allerdings festzustellen, dass die Autoren keine genauen Angaben über die Dosimetrie machen. Es wurde ein handelsübliches Mobiltelefon verwendet, das einmal ohne Gespräch und einmal mit 12 je 2,5 min langen Gesprächsphasen über jeweils 30 min betrieben wurde. Vor und nach den Expositionsphasen wurden ABR- und TEOAE-Messungen durchgeführt, während der Exposition zusätzlich TEOAEs bestimmt. Die Unterschiede zwischen den Messungen vor und nach Exposition bzw. zwischen den TEOAE-Messungen während der Exposition und davor und danach zeigten keinen statistisch signifikanten Einfluss der Exposition. Allerdings ist die genaue Art der Befeldung in diesen Experimenten nur schwer nachzuvollziehen. Es wurde offensichtlich ein handelsübliches Mobiltelefon benutzt, über dessen tatsächliche Sendeleistung keine Angaben gemacht wurden. Unklar ist auch, ob das Mobiltelefon während der Phase *ohne* Gespräch sich im Stand-By Modus befand, oder tatsächlich im Gesprächsmodus betrieben wurde. Insofern ist die Studie nur sehr bedingt aussagekräftig.

Ähnliches gilt für die Untersuchung von Oysu et al. (2005), die bei 18 Probanden jeweils vor und nach 15-minütiger Exposition mit einem handelsüblichen Mobiltelefon Hinstammpotentialen bestimmten. Aus der Beschreibung der Expositionsbedingungen ist nicht ersichtlich, ob das Mobiltelefon überhaupt im Gesprächsmodus betrieben wurde oder nur im Standby-Modus. Das Ergebnis der Hirnstammpotentialmessungen, die keinen signifikanten Unterschied zwischen vorher und nachher ausweisen, ist damit wenig aussagekräftig.

Kerekhanjanarong et al. (2005) wählten bei ihren Untersuchungen ein Kollektiv von 98 Mobiltelefonnutzern und untersuchten bei den Probanden das dominante, bevorzugt für die Gespräche benutzte Ohr im Vergleich zum anderen Ohr. Dabei wurden die Probanden nach der täglichen Nutzungsdauer gruppiert. Es wurde kein Zusammenhang zwischen täglicher Nutzungsdauer und Differenzen zwischen dem bevorzugten und nichtbevorzugten Ohr für Mobiltelefonate gefunden. Bei der Gruppe der Vieltelefonierer wurde bei einigen Probanden auf dem dominanten Ohr schlechtere Schwellen gefunden, jedoch war diese Gruppe mit 8 Probanden zu klein, um eine statistisch abgesicherte Aussage zu treffen. Grundsätzlich ist bei dieser Herangehensweise natürlich auch anzumerken, dass etwaige Unterschiede auch schon vor Beginn der Mobiltelefonnutzung bestanden haben können. Da dies nicht erfasst wurde, lassen sich damit die gefundenen Unterschiede nicht einfach auf die Nutzung des Mobiltelefons zurückführen. Um hier eine sicherere Aussage treffen zu können, wären wahrscheinlich deutlich größere Probandenkollektive nötig.

## 2.4 Einzelfallstudien und Umfragen

Davidson und Lutman (2007) untersuchten über eine Umfrage ein Kollektiv von Universitätsstudenten der Universität Southampton auf mögliche Einflüsse des Gebrauchs von Mobiltelefonen auf die Hörfähigkeit. Es konnte kein Einfluss der täglichen Gesprächsdauer oder Gesamtnutzungsdauer auf die subjektiv empfundene Hörfähigkeit, einen Tinnitus oder das Gleichgewichtsempfinden festgestellt werden. Es gab allerdings kein ausreichend großes Kontrollkollektiv. Die Autoren kommen aber zu der Einschätzung, dass innerhalb des Rahmens der Studie zumindest die untersuchten Parameter nicht von der täglichen Dauer oder der Gesamtdauer der Mobiltelefonnutzung abhängen und die damit erfassten subjektiven Beeinträchtigungen wahrscheinlich nicht durch die Nutzung der Mobiltelefone hervorgerufen wurden.

Al-Khlaiwi und Meo (2004) benutzten eine Umfrage unter Studenten der medizinischen Fakultät der Universität in Riad, Saudi-Arabien, um mögliche gesundheitliche Probleme im Zusammenhang mit der Benutzung von Mobiltelefonen zu erfassen. Da *alle* Teilnehmer der Studie ein Mobiltelefon benutzten, gab es kein Kontrollkollektiv. Die innerhalb der Studie gezogenen Schlüsse, dass sich Beschwerden wie Kopfschmerzen, Müdigkeit, Schlafstörungen und Schwindel auf den Gebrauch von Mobiltelefonen zurückführen lassen, sind ohne ein Kontrollkollektiv nicht nachzuvollziehen.

In einer ähnlichen Studie untersuchten Meo und Al-Drees (2005) ebenfalls anhand einer Umfrage, ob Probleme bei der Hör- oder Sehfähigkeit in einen Zusammenhang mit der Benutzung von Mobiltelefonen gebracht werden können. Auffällig ist hier der hohe Anteil von ca. 35% der Befragten, die eine subjektive Beeinträchtigung der Hörfähigkeit angeben. Die Autoren diskutieren diesen hohen Anteil jedoch nicht. Dabei war es egal, ob das Mobiltelefon weniger als fünf Minuten oder mehr als 30 Minuten am Tag verwendet wurde, der gefundene Trend zu einem etwas höheren Anteil bei längerer Nutzungsdauer war nicht statistisch signifikant. Sehstörungen wurden nur von einem geringen Anteil der Befragten - verglichen mit den angegebenen Hörstörungen - angegeben (ca. 5%) und sind ebenfalls *nicht* von der Dauer der Mobiltelefonnutzung abhängig. Einerseits fehlte hier ein Kontrollkollektiv, andererseits wurde das völlige Fehlen eines Einflusses der Dauer der Mobiltelefonnutzung *nicht* weiter in Betracht gezogen. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass durch die Nutzung von Mobiltelefonen eine Beeinträchtigung des Hör- und Sehvermögens hervorgerufen werden kann und empfehlen weitere Untersuchungen und die „vorsichtige“ Nutzung des Mobiltelefons. Die Daten lassen allerdings auch alternativ den Schluss zu, dass die angegebenen, subjektiv empfundenen Beeinträchtigungen des Hör- und Sehvermögens, wenn sie wirklich vorhanden sind, eben *nicht* auf die Nutzung eines Mobiltelefons zurückzuführen sind, da selbst bei einer täglichen Nutzungsdauer von unter fünf Minuten praktisch die gleiche Beeinträchtigung zu finden war, wie bei einer täglichen Nutzungsdauer von mehr als 30 Minuten.

Al-Dousary (2007) beschreibt in einer Fallstudie einen Patienten, der nach häufigem Gebrauch eines Mobiltelefons über subjektiven Hörverlust klagte. Ein Hörverlust ließ sich im Audiogramm auf der für das Mobiltelefon bevorzugten rechten Seite zeigen. Nach einem angeratenen Wechsel des Mobiltelefons auf die linke Seite zeigte sich nach 3 Monaten im Tonaudiogramm ein Hörverlust auf der linken Seite und eine teilweise Erholung auf

der rechten Seite, was sich nach einem weiteren Wechsel des bevorzugten Ohres wiederum umkehrte. Der Autor vermutet einen sensorineuralen, das heißt einen innenohrbedingten oder weiter zentral liegenden, Hörverlust. Dieser Aussage stehen in der Arbeit nicht dokumentierte aber genannte *normale* Befunde von Hirnstammableitungen und Elektrocochleogramm gegenüber, die eben nicht auf einen sensorineuralen Hörverlust hindeuten. Einzig die Tonaudiogramme zeigen Hörverluste von bis zu 40 dB im niedrigen und mittleren Frequenzbereich, die zudem bis auf ein Audiogramm ausschließlich Luftleitungs- und keine Knochenleitungsschwellen zeigen. Jedoch kann man nur aus einem Unterschied zwischen Luftleitungs- und Knochenleitungsschwellen einen ersten Hinweis auf eine mögliche sensorineurale Hörstörung ableiten. Da laut der Untersuchung ein Tympanogramm ebenfalls unauffällig blieb, scheidet auch ein objektiver Luftleitungsschaden eigentlich aus. Die Tonaudiogramme sind jedoch so variabel und so widersprüchlich zu den Ergebnissen der objektiven Hörmessungen, dass fraglich ist, ob der Patient tatsächlich einen objektiv feststellbaren Hörverlust erlitten hat. Der Autor diskutiert diese Frage nicht.

## 2.5 Patch-Clamp-Experimente unter Befeldung

Platano et al. (2007) bestimmten Ströme durch spannungsgesteuerte  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle an kultivierten Neuronen aus der Großhirnrinde von Ratten unter der Befeldung mit unmodulierten 900 MHz und GSM 900-simulierenden Feldern. Die Ströme wurden innerhalb von maximal 3 Messphasen abgeleitet. Eine Messphase bestand aus einer 90 Sekunden dauernden Vorlaufphase, einer 90 Sekunden langen Befeldungsphase und einer ebenfalls 90 Sekunden andauernden Nachlaufphase. Die Gesamtdauer der Messungen betrug damit maximal 13,5 Minuten bei einer Gesamtbefeldungsdauer von 4,5 Minuten. Die Stromableitungen erfolgten in einem zeitlichen Abstand von 30 Sekunden, so dass insgesamt maximal 27 Ableitungen aufgezeichnet wurden.

Die Neuronen wurden aus Rattenhirnen vom embryonalen Tag 18 extrahiert, in Kultur genommen und die Messungen zwischen sechs und 14 Tagen nach Beginn der Kultivierung der Zellen durchgeführt.

Die spannungsabhängigen  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle wurden mit einer sog. Spannungsrampe stimuliert, bei der die Klemmspannung über eine Dauer von 400 ms von -100 mV bis +100 mV durchgeföhren wurde. Der gemessene Strom stellt bis auf den Leckstrom (s. a. Abschnitt 3.3) eine Strom-Spannungs-Beziehung dar.

Die Befeldung mit dem modulierten GSM 900-Signal über einen co-planaren Wellenleiter (Liberti et al., 2004) erzeugte starke Feldartefakte, in Form von Stromspitzen, die dem eigentlichen Messsignal überlagert waren. Diese Feldartefakte traten auch auf, wenn *keine* Zelle abgeleitet wurde, somit konnten die Autoren ausschließen, dass es sich um einen Einfluss der Felder auf die Zellen handelte. Die Autoren diskutierten die möglichen Ursache der Feldartefakte nicht und entfernten sie nachträglich aus den Messsignalen durch eine lineare Interpolation zwischen den artefaktfreien Bereichen der Stromspuren.

Insgesamt wurden nur 13 Zellen abgeleitet, von denen lediglich acht Zellen über die Gesamtdauer von 13,5 Minuten gemessen wurden. Für die unmodulierte 900 MHz-Befeldung wurden drei Zellen über die gesamte Messdauer von 13,5 Minuten und weitere drei Zel-

len für 4,5 Minuten abgeleitet. Bei der GSM 900-Befeldung wurden fünf Zellen über die gesamte Messdauer und zwei weitere nur über die ersten 4,5 Minuten abgeleitet.

In einer statistischen Analyse fanden die Autoren keinen Einfluss der Befeldung auf die Differenz der Stromspuren zwischen den einzelnen Phasen und kommen zu dem Schluss, dass eine Befeldung unter den realisierten Bedingungen akut keinen Effekt auf die Ströme durch spannungsgesteuerte  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle zeigt und auch eine wiederholte Befeldung keinen kumulativen Effekt erzeugt.

Bei der Bewertung der Studie sind mehrere Punkte hervorzuheben.

- bei den Zellen handelt es sich um sich differenzierendes embryonales Gewebe, das innerhalb weniger Tage seine Ionenkanalzusammensetzung ändern kann (D'Angelo et al., 1997).
- in einer solchen Kultur besteht keine Kontrolle über die unterschiedlichen Beiträge von möglichen  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanalsubtypen. Man muss davon ausgehen, dass es sich um sehr heterogene Kanalzusammensetzungen handelt (Iwasaki et al., 2000). Die Autoren diskutieren diesen Punkt nicht und versuchen nicht einmal anzugeben, um welche Kanalsubtypen es sich handeln könnte.
- daher ist die gewählte Zahl der Zellen insgesamt als viel zu gering anzusehen, um eine gesicherte Aussage treffen zu können.
- die nachträgliche Entfernung der Feldartefakte durch eine lineare Interpolation ist nicht akzeptabel, da die Messungen trotzdem durch die Wirkung der Artefakte auf den Messverstärker oder die Vorverstärkerstufe beeinflusst sein könnten.
- es gibt im eigentlichen Sinne keine Kontrollmessung, vollständig ohne Befeldung, die einen Aufschluss darüber liefern könnte, wie das unbeeinflusste Verhalten der Kanäle über der Zeit ist.

Insgesamt weisen die Daten keine ausreichende Qualität auf, um eine gesicherte Aussage treffen zu können.

## 3 Durchführung

### 3.1 Studiendesign

Innerhalb der Studie sollte untersucht werden, ob eine Befeldung mit elektromagnetischen Hochfrequenzfeldern, wie sie in der Mobiltelefonkommunikation verwendet werden, auf die Funktion der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle in inneren Haarsinneszellen von Mäusen einen messbaren Einfluss hat.

Die Befeldung simulierte dabei drei unterschiedliche Mobilfunkkommunikationsarten, wie sie nach den Mobilfunkstandards für GSM 900, GSM 1800 und UMTS verwendet werden.

Für jede Signalart wurden die Zellen während der Messung mit Feldintensitäten befeldet, die SAR-Werten (bezogen auf das Flüssigkeitsvolumen in der Probe) von 0,02 W/kg, 0,2 W/kg, 2 W/kg, 20 W/kg entsprachen (s. Anlage zur Exposition). Zusammen mit einer Scheinbefeldung (sham) ergaben sich damit fünf verschiedene, den Befeldungsintensitäten entsprechende Befeldungsgruppen für jeweils eine Befeldungsart.

Während einer Messung wurden mittels der Patch-Clamp-Methode Ströme durch die  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle der inneren Haarsinneszellen abgeleitet. Die Messung wurde dabei in drei Phasen unterteilt, Vorlauf (5 min), Exposition (20 min), Nachlauf (15 min). Die Messungen erfolgten für jede Befeldungsgruppe randomisiert und verblindet. Die Messungen wurden zunächst für die Befeldungsart UMTS, dann für GSM 1800 und schließlich für GSM 900 durchgeführt.

### 3.2 Patch-Clamp Messungen in der Ganzzellkonfiguration

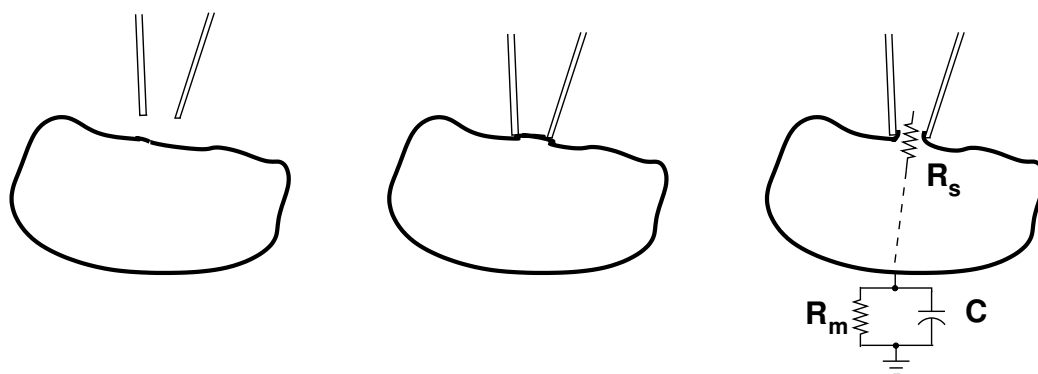
In dem Projekt wurden an inneren Haarsinneszellen aus dem Cortischen Organ von Mäusen elektrophysiologische Ableitungen durchgeführt. Die Messungen wurden mit der Patch-Clamp-Methode (Hamill et al., 1981) im Ganzzellmodus durchgeführt. Dabei wurden Ströme durch die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle der Haarsinneszellen bestimmt.

Bei Patch-Clamp Messungen werden Ströme durch Ionenkanäle in Zellmembranen bestimmt. Hierzu wird die Membran über einen Messverstärker auf bestimmte Spannungen geklemmt und die durch die Ionenkanäle fließenden Ströme können über einen Messverstärker registriert werden. Die zwei Messelektroden befinden sich dabei zum einen in einer dünnen Glaspipette, die mit der Zelle in Kontakt gebracht wird und zum anderen in der das Zellpräparat umgebenden Badlösung.

Für Messungen im Ganzzellmodus werden dünn ausgezogene Glaspipetten (Spitzendurchmesser ca.  $1\ \mu\text{m}$ ) mit einer Lösung gefüllt, die dem intrazellulären Millieu der zu untersuchenden Zellen angepasst ist. An die Pipette wird ein leichter Überdruck angelegt, um die Pipettenöffnung von Verunreinigungen frei zu halten und einen unkontrollierten Kontakt mit der Zellmembran zu verhindern. Dann wird die Pipette mit einem Mikromanipulator unter Mikroskopkontrolle an die Zellmembran herangefahren und durch Anlegen eines leichten Unterdrucks wird die Zellmembran an die Pipette gesaugt (Abb. 5, mittleres Teilbild). In diesem sog. „Cell-Attached“-Modus bildet sich ein sehr hoher elektrischer



Widerstand zwischen Pipette und Membran aus ( $>1\text{G}\Omega$ ). Durch ein leichtes Erhöhen des Unterdrucks an der Pipette kann dann die Zellmembran eingerissen werden, so dass ein elektrischer Zugang zum Zellinneren entsteht. Damit lassen sich die Ströme über die gesamte Zellmembran bestimmen. Die Messung entspricht im Prinzip einer Bestimmung des Membranwiderstandes  $R_m$ , der sich aus verschiedenen Ionenkanalleitfähigkeiten und passiven Leitfähigkeiten zusammensetzt.



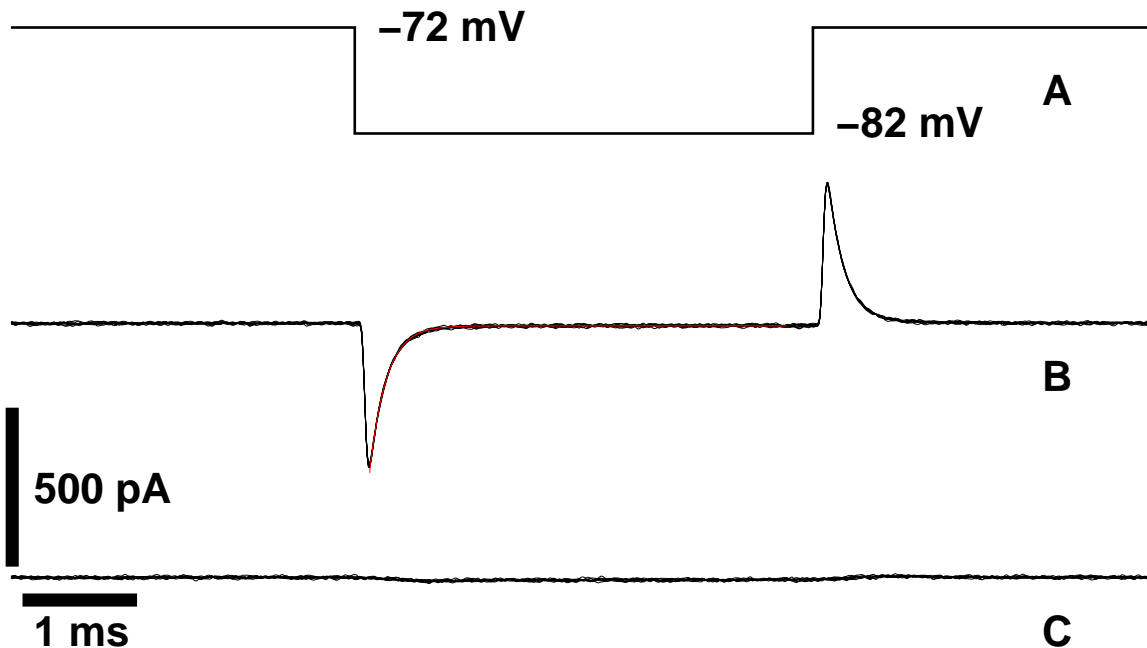
**Abbildung 5:** Schematische Darstellung einer Patch-Clamp Messung. Links: Annäherung an die Zelle. Mitte: Cell-Attached-Konfiguration. Rechts: Ganzzellkonfiguration mit den elektrischen Einflussgrößen, Eingangsserienwiderstand in die Zelle  $R_s$ , Membranwiderstand  $R_m$  und Zellkapazität  $C$ .

### 3.3 Leck- und Serienwiderstand

Die passiven elektrischen Eigenschaften der Ganzzellkonfiguration haben einen direkten Einfluss auf die beobachteten Ströme. Die wesentlichen Größen sind dabei der Leckwiderstand, der Eingangs- oder Serienwiderstand der Pipette in die Zelle  $R_s$  und deren elektrische Kapazität  $C$  (s. Abb. 5).

Bei jedem Spannungsprung (s. Abb. 6, oberes Teilbild) erzeugen der Serienwiderstand in Kombination mit der in Serie liegenden Zellkapazität exponentiell abklingende, kapazitive, transiente Ströme (s. Abb. 6, mittleres Teilbild), die über eine Kompensationsschaltung im Messverstärker von dem Messsignal für die Ströme abgezogen werden (s. Abb. 6, unteres Teilbild).

Der in Abb. 5 angegebene Membranwiderstand  $R_m$  setzt sich aus den parallel geschalteten spannungsabhängigen Widerständen der Ionenkanäle und dem dazu ebenfalls parallel liegenden passiven Leckwiderstand ( $R_L$ ) zusammen. Der passive Leckwiderstand führt zu einem — wenn auch geringen — rein passiven Strom, der das Messergebnis verfälschen kann. Liegt der Leckwiderstand z. B. bei  $1\text{G}\Omega$ , so führt dies bei einer Depolarisation von  $+50\text{mV}$  zu einem Leckstrom von  $+50\text{pA}$ , der als auswärts gerichteter (positiver) Strom den einwärts gerichteten (negativen)  $\text{Ca}^{2+}$ -Strom um genau diesen Wert zu gering erscheinen lässt. Dieser Leckstrom kann vom Messverstärker selbst „online“ abgezogen werden oder aber „offline“ nachträglich herausgerechnet werden. Dazu wird ein sog. „Seal Puls“ verwendet, der bei einem Membranpotential die Zelle um wenige mV hyperpolarisiert, bei



**Abbildung 6:** Teilbild A: Klemmspannung für Spuren in Teilbildern B und C, Sprung vom Haltepotential  $-72\text{ mV}$  auf  $-82\text{ mV}$ , Dauer  $4\text{ ms}$ . Teilbild B: Unkompensierte kapazitive Transienten als Antwort auf den Spannungsprung aus Teilbild A. In rot: Fit einer entsprechenden Exponentialfunktion, über die der Serienwiderstand  $R_s$  und die Kapazität der Zelle  $C$  aus der Klemmzeitkonstante berechnet werden können. Teilbild C: Gleiche Zelle, Transienten über die Ganzzellkompensationschaltung kompensiert. Leckwiderstand:  $1350\text{ M}\Omega$ , Serienwiderstand:  $16,35\text{ M}\Omega$ , Kapazität:  $9\text{ pF}$ , Klemmzeitkonstante:  $145\text{ }\mu\text{s}$

dem *keine* spannungsgesteuerten Kanäle öffnen — hier gilt also  $R_m \approx R_L$ . Der resultierende Strom kann dann als rein passiver Leckstrom betrachtet und zur Berechnung des Leckwiderstands verwendet werden. In Abb. 6 ist der Leckstrom im unteren Teilbild als kleiner, negativer Strom erkennbar.

Der Serienwiderstand hat zwei negative Auswirkungen auf die gemessenen Ströme. Zum einen fällt ein Teil der Klemmspannung über dem Serienwiderstand der Pipette ab, was insbesondere bei großen Strömen der Fall ist. Dadurch wird die tatsächliche Spannung, auf die die Zellen geklemmt werden, verfälscht. Dies ist jedoch nur bei sehr großen Serienwiderständen oder sehr großen Strömen ( $> 1\text{ nA}$ ) von Bedeutung (bei  $100\text{ pA}$  Strom und  $10\text{ M}\Omega$  Serienwiderstand wird die Klemmspannung z. B. um  $1\text{ mV}$  verfälscht). Der zweite negative Einfluss des Serienwiderstandes besteht darin, dass er, zusammen mit der Kapazität der Zelle, die Zeitkonstante bestimmt, mit der der Messverstärker das Potential der Zelle klemmen kann. Bei den typischen hier gefundenen Zellkapazitäten von  $7\text{ pF}$  und einem Serienwiderstand von ca.  $10\text{ M}\Omega$  ergibt sich z. B. eine Zeitkonstante von  $70\text{ }\mu\text{s}$ . Höhere Zeitkonstanten erschweren insbesondere bei schnellen Kanälen die zeitliche Charakterisierung der Aktivierung der Ströme.

Um die negativen Einflüsse des Serienwiderstandes zu minimieren, verfügen die Messverstärker über eine Korrekturschaltung, die abhängig vom gemessenen Strom und dem

eingestellten Serienwiderstand einen Korrekturstrom in die Zelle injiziert. Damit lässt sich der für die Messungen „effektive“ Serienwiderstand nach unten korrigieren. Dies führt allerdings zu einer Erhöhung des Rauschens im Messsignal und kann bei einer Fehlanpassung der Kompensationsschaltung — vor allem bei starker Korrektur — zu einem „Aufschaukeln“ der Korrekturschaltung führen, was in den meisten Fällen zum Verlust des elektrisch dichten Abschlusses der Membran an der Pipette führt und damit das Ende der Messung bedeutet.

Eine solche Fehlanpassung kann während eines Experiments jederzeit durch plötzliche starke Änderungen im Serienwiderstand erfolgen, denn der Serienwiderstand bleibt in der Regel während einer Messung nicht konstant, sondern er kann sich durch Zellorganellen oder anderes Material, das sich in der Pipettenöffnung anlagert oder von dort wieder löst, verändern.

Daher ist zur genauen Charakterisierung eines Ionenstroms ein möglichst geringer (effektiver) Serienwiderstand wünschenswert. Eine bestimmende Größe für den Serienwiderstand ist der Durchmesser der Pipettenspitze. Je größer die Pipettenspitze, desto geringer im Mittel der Serienwiderstand. Allerdings zeigt sich, dass die Sealbildung umso schlechter erfolgt und vor allem die Dauer, über die ein Seal erhalten werden kann, umso geringer ist, je niedriger der Serienwiderstand und damit je größer die Pipettenöffnung ist.

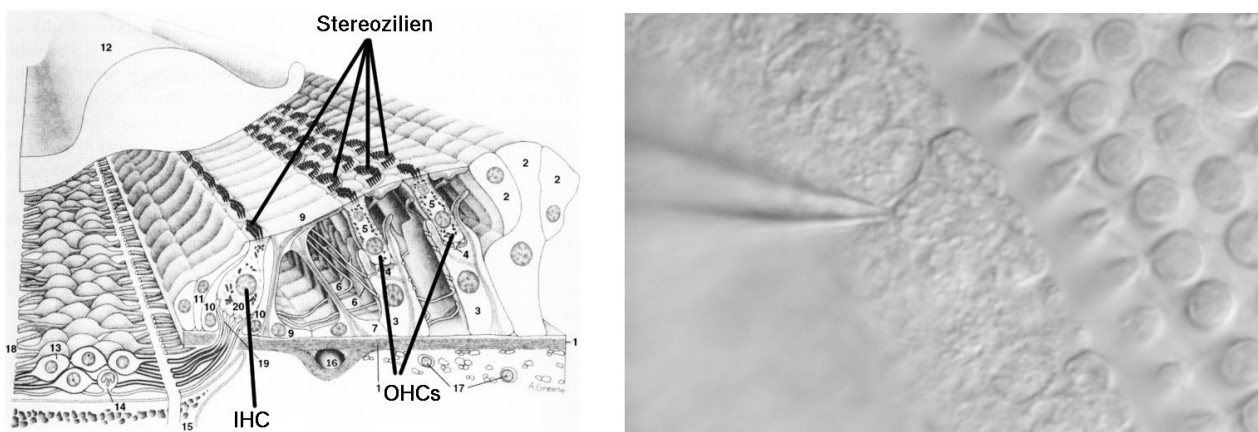
Da es bei der vorliegenden Untersuchung vor allem darum ging, mögliche *Veränderungen* durch eine Befeldung zu erkennen und weniger darum, die Kanaleigenschaften in absoluten Werten genau zu charakterisieren, wurde entschieden, die „effektiven“ Serienwiderstände im Bereich zwischen ca.  $10\text{ M}\Omega$  und  $20\text{ M}\Omega$  zu halten. Die Ströme durch die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle in inneren Haarsinneszellen haben unter den gewählten Messbedingungen eine Amplitude von ca.  $200\text{ pA}$ , womit die Abweichungen in der Klemmspannung sich damit unterhalb von ca.  $2\text{ mV}$  bewegen. Da eine Analyse der Kanalkinetik, also der zeitlichen Entwicklung der Kanalöffnung, von vornherein nicht vorgesehen war, war die Zeitkonstante der Spannungsklemme von nachgeordneter Bedeutung. Deshalb wurden auch nur vergleichsweise moderate Korrekturwerte verwendet, um den effektiven Serienwiderstand in etwa in dem oben erwähnten Bereich von  $10\text{-}20\text{ M}\Omega$  zu halten und andererseits die Messung nicht durch das erwähnte Aufschaukeln der Korrekturschaltung zu gefährden.

Während der Messungen wurde gelegentlich durch Anlegen eines leichten Unter- oder Überdrucks oder durch eine geringfügige Korrektur der Pipettenposition versucht, den Leck- und/oder den Serienwiderstand zu verbessern. Mit Rücksicht auf eine möglichst lange Ableitungsdauer wurden solche Korrekturen nach Beginn der Befeldungsphase nur sehr vorsichtig versucht.

### **3.4 Patch-Clamp Messungen an inneren Haarsinneszellen im Cortischen Organ von Mäusen**

Die Präparate wurden aus dem reifen Innenohr von jungen Mäusen (postnatales Alter:  $18\pm 2$  Tage) akut explantiert. Die Haarsinneszellen lagen innerhalb des Zellverbandes des Cortischen Organ vor, umgeben von Stützzellen (Abb. 7).

Die Annäherung der Patch-Pipette erfolgte unter Überdruck direkt durch die Stützzellen hindurch, die die inneren Haarsinneszellen umgeben (s. a. Pyott et al., 2004). Dadurch entfiel das normalerweise übliche Freilegen der Haarzellen vor Beginn der Messungen. Dieses Vorgehen hatte zwei Vorteile: Einerseits konnte die Zeit bis zum Beginn der Messungen minimiert werden, zum anderen entfiel der mit dem Freilegen verbundene mechanische Stress für die inneren Haarzellen, so dass das gesamte Gewebe besser erhalten werden und die erforderlichen Ableitdauern erreicht werden konnten. Insgesamt vermuten die Autoren, dass die hohe Qualität der Ableitungen zum Teil auf diese Vorgehensweise zurückzuführen war.



**Abbildung 7:** Links: Schematische Darstellung des Cortischen Organs (mod. nach Kiang, 1984). Rechts: Aufsicht auf das Cortische Organ durch das Mikroskop, Fokusebene etwa auf Höhe der Zellkerne der IHC. Die Patch-Clamp Pipette ist in Kontakt mit einer IHC nach ca. 40 Minuten Ableitung in der Ganzzellkonfiguration.

### 3.5 Isolierung der Ionenströme durch $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle der inneren Haarsinneszellen

Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme in inneren Haarsinneszellen (IHCs) stellen zwar einen essentiellen Schritt in der Signaltransduktion beim Hören dar, tragen jedoch nur einen sehr geringen Teil der spannungsgesteuerten Ionenströme bei. Während die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme in Haarsinneszellen typischerweise in der Größenordnung von ca. 100 pA liegen, liegen die Stromamplituden der  $\text{K}^+$ -Ströme mit bis zu 20 nA ca. zwei Größenordnungen darüber.

Um die Ströme durch die  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle optimal zu isolieren, wurden die  $\text{K}^+$ -Ströme zum einen durch Tetraethylammonium (TEA) und 4-Aminopyridin (4-AP) in der Badlösung pharmakologisch blockiert. Zum anderen wurden in der Badlösung  $\text{Ba}^{2+}$ -Ionen statt  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen als Ladungsträger verwendet, für die  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle ebenfalls permeabel sind und die zudem größere Stromamplituden hervorrufen. Darüberhinaus blockieren  $\text{Ba}^{2+}$ -Ionen mögliche Restströme durch  $\text{K}^+$ -Kanäle. Schließlich wurde eine  $\text{Cs}^+$ -basierte intrazelluläre Lösung benutzt, da  $\text{Cs}^+$ -Ionen weitere, nicht über  $\text{Ba}^{2+}$  oder die pharmakologischen Blocker unterdrückte  $\text{K}^+$ -Ströme blockieren können.

Reife innere und äußere Haarsinneszellen von Säugern schwellen — möglicherweise durch den Einstrom von  $\text{Cl}^-$  aus der Badlösung hervorgerufen — schnell an (Zeddies et al., 2000; Cecola und Bobbin, 1992). Durch teilweise Substitution von  $\text{Cl}^-$  mit einem organischen Anion (Lactobionat) in der Badlösung konnten die Präparate über längere Zeiträume stabil gehalten werden (Brandt et al., 2007; Knirsch et al., 2007).

Folgende Lösungen wurden verwendet (alle Angaben in mmol/l):

Badlösung: 70 Lactobionat • NaOH, 40 NaCl, 35 Tetraethylammoniumchlorid (TEA), 15 4-Aminopyridin (4-AP), 10  $\text{BaCl}_2$ , 10 HEPES, 5,6 Glukose und 1  $\text{mgCl}_2$ , eingestellt auf pH 7.4 und 320 mOsm/kg.

Intrazellulärlösung: 105  $\text{Cs}^+$  Methansulfonat, 20 CsCl, 10  $\text{Na}^+$  Phosphokreatin, 5 HEPES, 5 EGTA, 4  $\text{MgCl}_2$ , 4  $\text{Na}_2\text{ATP}$ , 0.1  $\text{CaCl}_2$  und 0,3 GTP, eingestellt auf pH 7,35 und 303 mOsm/kg.

Um eine möglichst große Stromamplitude zu erreichen, wurde  $\text{Ba}^{2+}$  in der Badlösung in einer Konzentration von 10 mmol/l verwendet und nicht entsprechend einer physiologischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration von ca. 1,3 mmol/l.

Die Badlösung wurde über ein Perfusionssystem beständig ausgetauscht, wobei die Durchflussgeschwindigkeit auf 250  $\mu\text{l}/\text{min}$  eingestellt wurde, so dass bei einem Volumen der Badlösung in der Badkammer von ca. 700  $\mu\text{l}$  die Badlösung in etwa alle drei Minuten ausgetauscht wurde.

### 3.6 Ablauf der Messungen und verwendete Messprotokolle

Nach Erreichen der Ganzzellkonfiguration wurden mit einer Zelle zunächst einige Standardprotokolle gemessen, um die Qualität der Ableitung einschätzen zu können. Erst danach wurde das Expositionsprogramm gestartet. Die folgenden Messungen mit einer Gesamtdauer von 40 Minuten unterteilten sich in drei Phasen:

1. Vorlaufphase (Dauer: 5 min)
2. Expositionsphase (Dauer: 20 min)
3. Nachlaufphase (Dauer: 15 min)

Im Abstand von ca. fünf Minuten erfolgten die elektrophysiologischen Messungen der Ströme durch die  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle. Zusätzlich wurde in der letzten Minute vor Beginn und vor dem Ende der Expositionsphase je eine weitere Messung durchgeführt, um mögliche Akutefekte der Befeldung leichter erkennen zu können. Damit ergaben sich 11 Messzeitpunkte bei nominell 0, 4, 5, 10, 15, 19, 20, 25, 30, 35, 40 Minuten. Da bei Patch-Clamp Messungen sich die Messbedingungen kurzfristig ändern können und damit Nachjustierungen der Einstellungen des Messverstärkers notwendig sind, war dieses Zeitraster nicht in allen Fällen genau einzuhalten. Wurde eine Zelle nach Beginn der Expositionsphase verloren, wurde das Präparat verworfen und die Messung mit einem neuen Präparat wiederholt. Es

wurden auch Messungen als abgeschlossen akzeptiert, deren Nachlaufdauer 10 Minuten überschritten hatten und somit nur über 10 Messzeitpunkte verfügten.

Zu jedem Messzeitpunkt wurden mindestens einmal spannungsaktivierte Ströme mit einem sog. Aktivierungsprotokoll aufgezeichnet, aus denen eine Strom-Spannungsbeziehung bestimmt werden konnte. Zusätzlich wurde bei *abgeschalteter* Whole-Cell-Kompensationsschaltung des Verstärkers ein sogenanntes „Seal-Protokoll“ aufgezeichnet, aus dem sich zur Kontrolle Parameter wie die Zellkapazität und der Serienwiderstand der Pipette bestimmen ließen.

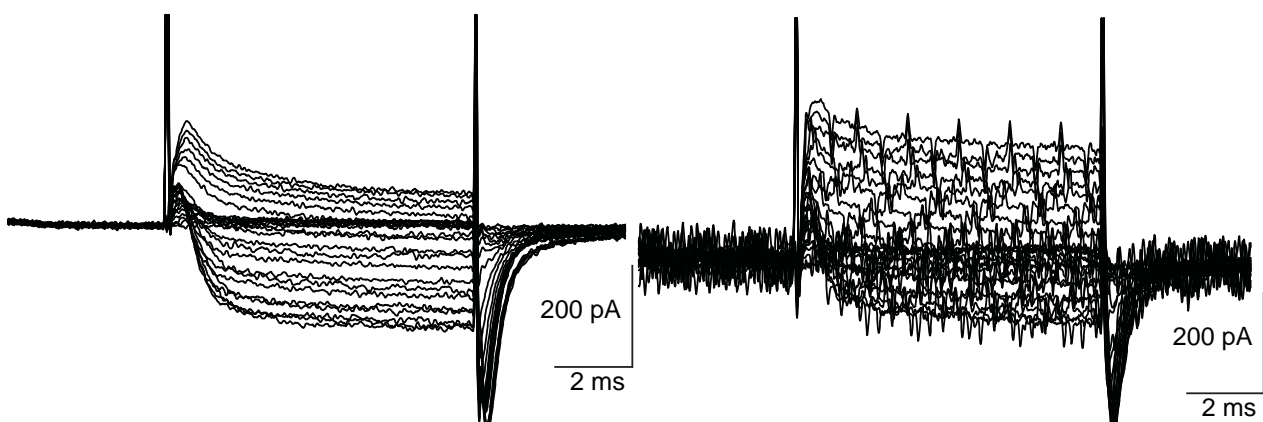
Zur Bestimmung der Strom-Spannungs-Beziehungen wurde ein Aktivierungsprotokoll verwendet, bei dem die Zellen bei einem Haltepotential von  $-72$  mV gehalten und von dort für 8 ms auf ein Testpotential geklemmt wurden, um anschließend wieder auf das Haltepotential geklemmt zu werden. Die Testpotentiale wurden dabei in 26 Schritten von je 5 mV von  $-72$  mV auf  $+53$  mV erhöht (ein Beispiel für dieses Protokoll findet sich in Abb. 12 in Abschnitt 4.1).

### 3.7 Temperaturerfassung

Die Temperatur wurde mit einer faseroptischen Temperatursonde (FISO, FOT-M) erfasst. Die Genauigkeit der Temperaturerfassung betrug  $\pm 0,2^\circ\text{C}$ , bei einer nominellen Temporauflösung von  $0,1^\circ\text{C}$ . Die Temperaturwerte wurden vom Expositionssystem im Abstand von 10 Sekunden aufgezeichnet und zur Auswertung wurden die beiden dem Zeitpunkt der elektrophysiologischen Messung am nächsten liegenden Temperaturwerte gemittelt.

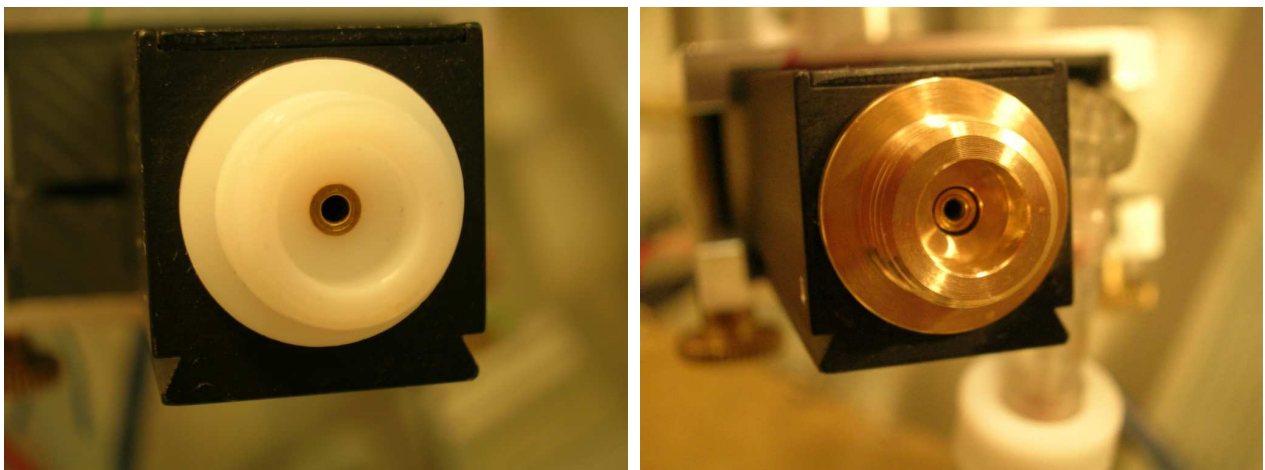
### 3.8 Feldartefakte

Erste Messungen mit einem Präparat und der funktionsfähigen Befeldungsanlage für die UMTS-Befeldung zeigten zunächst deutliche Befeldungsartefakte (Abb. 8), wie sie auch in Platano et al. (2007) bei Messungen mit dem GSM 900-Feldern zu erkennen sind.



**Abbildung 8:** Stromspuren ohne (links) und mit (rechts) Befeldung. Bei den Spuren unter Befeldung (SAR 20 W/kg bei UMTS) zeigen sich Artefakte, die durch eine Demodulation des Feldsignals im Vorverstärker erzeugt werden.

Die Artefakte traten unabhängig davon auf, ob die Pipette sich in Kontakt mit einer Zelle oder sich überhaupt in der Badlösung befand. Die Ursache war also wie bei Platano et al. (2007) ein rein elektromagnetisches Übersprechen auf das Messsystem selbst. Eine Reihe von Tests deutete darauf hin, dass der Grund eine Demodulation des HF-Signals innerhalb der Vorverstärkerstufe des Patch-Clamp Verstärkers war. Der Hersteller des Verstärkers hat diese Erklärung ebenfalls als sehr wahrscheinlich bestätigt, da alle Bauteile innerhalb des Vorverstärkers an sich über keine ausreichend hohe Bandbreite verfügen, um das Feld direkt in den Signalweg einzuschleifen.

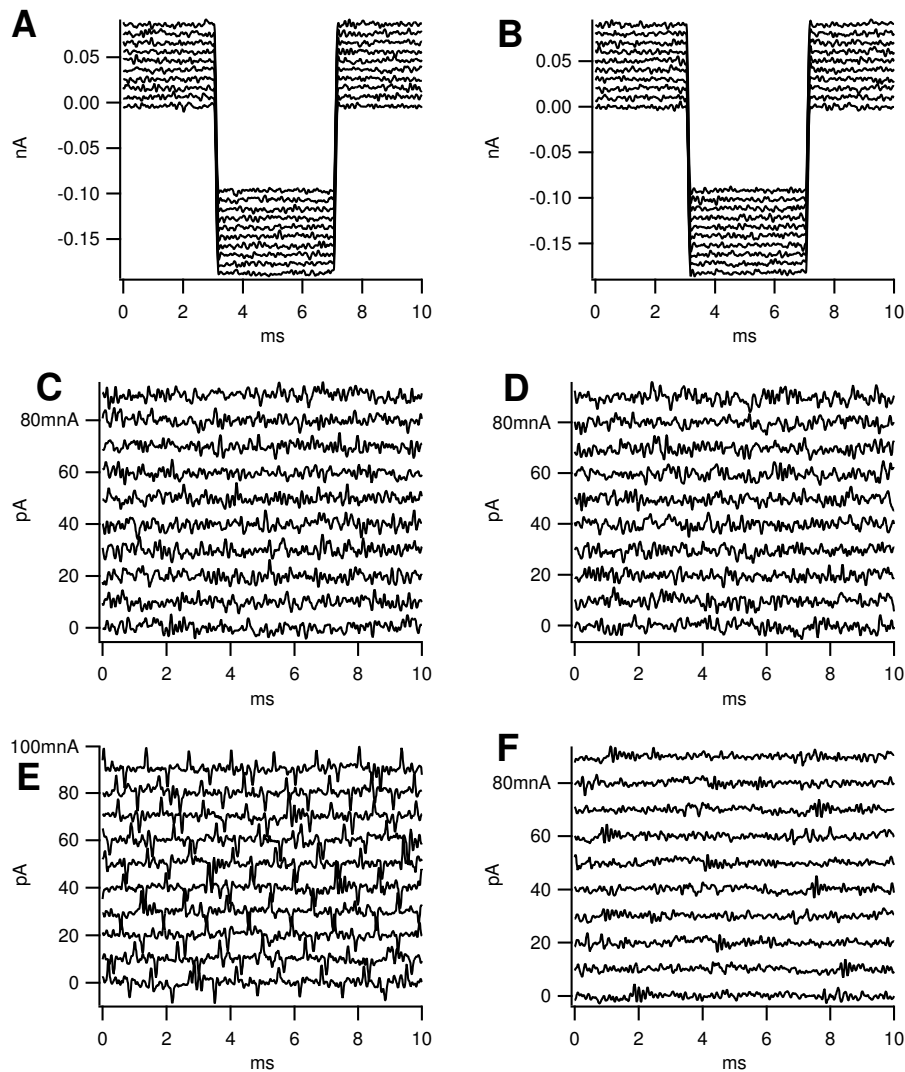


**Abbildung 9:** Vorverstärkerstufe mit Teflon- und Messinganschlussgewinde

### 3.8.1 Modifikation der Vorverstärkerstufe

Zunächst wurde nicht ausgeschlossen, dass der Pipettendraht selbst das Feldsignal in den Verstärker einspeist, weshalb erwogen wurde, das Signal mit einem HF-Durchgangsfiler zwischen Pipettenhalter und Vorverstärker bei 10 MHz tiefpasszufiltern. Der Hersteller des Verstärkers konnte allerdings nicht ausschließen, dass diese Lösung zu zusätzlichen Artefakten bzw. Fehlern bei der Kompensation von kapazitiven Transienten führt. Von einer Modifikation der Signalleitung direkt am Eingang der Vorverstärkerstufe wurde vom Hersteller explizit abgeraten. Tatsächlich ließ sich der Verstärker mit dem Durchgangsfiler nicht betreiben, so dass ein anderer Lösungsweg beschritten wurde.

An der Vorderseite des Vorverstärkers befindet sich ein Teflonanschlussgewinde für den Pipettenhalter, der daran mit einer Überwurfmutter befestigt wird. Das Anschlussgewinde enthält außerdem die Buchse, die den Stecker der Pipettenelektrode elektrisch an den Vorverstärker ankoppelt (s. Abb. 9, linkes Teilbild). Die Gehäuseöffnung im Vorverstärker hat einen Durchmesser von 6,6 mm und ist aufgrund der Materialeigenschaften des Teflons *nicht* hochfrequenzdicht. In Absprache mit der Universität Wuppertal und dem Hersteller des Messverstärkers wurde dann in der mechanischen Werkstatt der Universitäts-Augenklinik Tübingen als Ersatz für das Teflongewinde ein Anschlussgewinde aus Messing hergestellt, das den Vorverstärker nahezu hochfrequenzdicht abschließen sollte (s. Abb. 9, rechtes Teilbild).



**Abbildung 10:** Test der Wirksamkeit der HF-Abschirmung der Vorverstärkerstufe. Jeweils 10 Stromspuren, zur besseren Darstellung um je 10 pA entlang der Ordinate gegeneinander verschoben. A: Verstärkung 20 mit Feld, Sprung auf -10mV; B: Verstärkung 20 ohne Feld, Sprung auf -10mV; C: Verstärkung 100 mit Feld, konstante Spannung; D: Verstärkung 100 ohne Feld, konstante Spannung; E: Verstärkung 100 mit Feld, konstante Spannung, Bad entfernt; F: Verstärkung 100 mit Feld, konstante Spannung, Pipette nicht im Bad (Position wie in E).

Um zu testen, ob die Abschirmung hinreichend war, wurden zunächst Messungen von Strömen gegen die Badelektrode (ohne Zellen) durch eine Pipette mit sehr geringem Öffnungsdurchmesser durchgeführt. Die Pipette wies aufgrund des geringeren Öffnungsdurchmessers einen hohen Eingangswiderstand und damit ein sehr geringes Grundrauschen auf. Ein Spannungssprung von -10 mV erzeugte einen Strom von ca. 150 pA, der im Bereich der Maximalamplitude der zu messenden Bariumströme an den inneren Haarsinneszellen liegt. Dadurch konnten schnell verschiedene Konfigurationen getestet werden, ohne aufwändige Patch-Clamp Messungen an Zellen durchführen zu müssen.



Die Ergebnisse sind in Abb. 10 vergleichend für die folgenden Messkonfigurationen bei einem SAR-Wert von 20 W/kg für UMTS dargestellt:

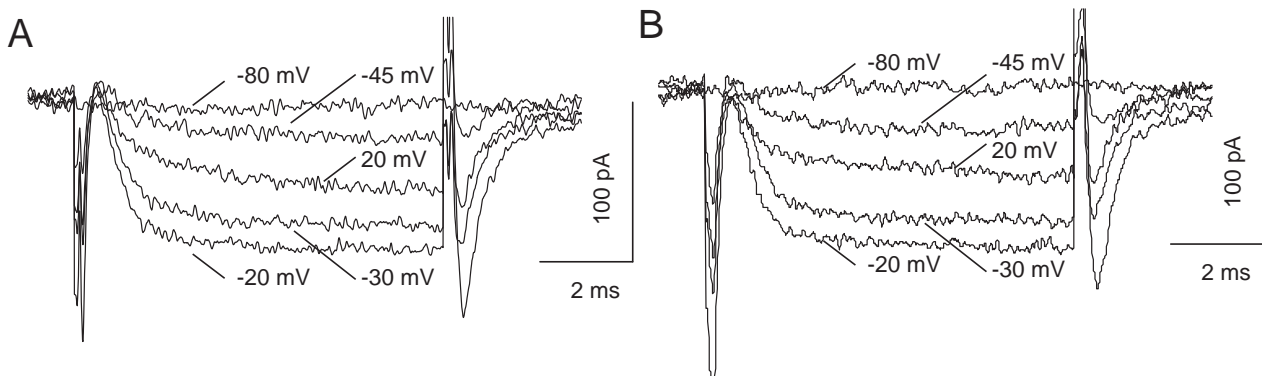
- A: Verstärkung 20 mit Feld, Sprung auf -10mV
- B: Verstärkung 20 ohne Feld, Sprung auf -10mV
- C: Verstärkung 100 mit Feld, konstante Spannung
- D: Verstärkung 100 ohne Feld, konstante Spannung
- E: Verstärkung 100 mit Feld, konstante Spannung, Bad entfernt
- F: Verstärkung 100 mit Feld, konstante Spannung, Pipette nicht im Bad (Position wie in E)

Die angegebenen Verstärkungen beziehen sich auf die Verstärkung des Signals am Patch-Clamp-Verstärker und beeinflussen in den gewählten Konfigurationen lediglich die Auflösung. Maximale Verstärkungsfaktoren unter realen Messbedingungen liegen bei 5 oder 10.

Das Entfernen der Bades aus der Befeldungsanlage (Konfiguration E) führte zu einer deutlichen Erhöhung des nach außen aus dem Wellenleiter gestreuten Feldes, da einerseits die Bündelung des Feldes durch das Elektrolyt fehlte, andererseits keine Absorption des Feldes mehr stattfand. Dadurch erhöhte sich die Feldstärke außerhalb des Wellenleiters deutlich (mind. eine Größenordnung). Die hohen Feldstärken führten zu geringen Artefakten ( $<10$  pA Amplitude) und stellen hier eine wichtige Positivkontrolle dar. Wurde das Bad wieder in die Anlage eingesetzt, so verschwanden die Artefakte (Konfiguration F) bei in etwa gleicher Position der Pipette. In der Konfiguration F war das Hintergrundrauschen besonders gering, da keine elektrisch leitende Verbindung zur Badelektrode bestand, und es lag mit ca.  $0,7$  pA<sub>RMS</sub> deutlich unter dem Rauschen, das während der tatsächlichen Messungen mit ca.  $2$  pA<sub>RMS</sub> als Hintergrundrauschen vorhanden war; selbst geringe Artefakte wären hier leicht erkennbar gewesen.

### 3.8.2 Artefaktfreie Messungen an inneren Haarsinneszellen unter Befeldung

Abschließend wurden zu Testzwecken noch Messungen an inneren Haarsinneszellen unter UMTS-Befeldung durchgeführt. Hierzu wurde eine spezielle Variante des Messprogramms der Universität Wuppertal verwendet, die unverblindet immer eine Befeldung mit dem maximalen SAR-Wert von 20 W/kg durchführte. Als Beispiel sind einige Stromspuren in Abb. 11 vor und während der Befeldung gezeigt. Es lässt sich leicht erkennen, dass die Befeldung bei der modifizierten Vorverstärkerstufe auch bei Messungen an realen Zellen nicht zu erkennbaren Artefakten führte. Insbesondere war es auch unter Befeldung möglich, notwendige Korrekturen an der Kompensation von kapazitiven Transienten am Messverstärker vorzunehmen, was mit den starken Feldartefakten nur schwer oder gar nicht möglich gewesen wäre.



**Abbildung 11:** Stromspuren gemessen an einer inneren Haarsinneszelle ohne (links) und mit (rechts) Befeldung (SAR=20 W/kg, UMTS) mit modifiziertem, abgeschirmten Vorverstärker.

Bei den folgenden Messungen für UMTS- und GSM 1800-Befeldung traten keine feststellbaren Artefakte mehr auf. Bei der GSM 900-Befeldung tauchten bei den ersten Messungen geringe Feldartefakte auf, die, nachdem der Pipettenelektroden draht etwas verkürzt worden war, ebenfalls nicht mehr feststellbar waren.

Die Feldartefakte wurden in dieser Studie durch eine verbesserte Abschirmung der Messelektronik vor deren Entstehung vermieden, im Gegensatz zu z. B. Platano et al. (2007) oder von Maby et al. (2006, 2005, 2004), wo die Artefakte nach Entstehung entweder herausgerechnet oder herausgefiltert wurden.

## 4 Auswertung

### 4.1 Auswertung der elektrophysiologischen Daten

Die Auswertung der elektrophysiologischen Daten wurde automatisiert über das Programm Igor Pro, Version 4.07, (Wavemetrics, Lake Oswego, USA) vorgenommen. Aus den aufgezeichneten Stromspuren wurden Strom-Spannungs-Beziehungen berechnet, aus denen eine Aktivierungskurve bestimmt wurde. An diese Aktivierungskurve wurde eine Boltzmannfunktion angepasst, deren Parameter als Zielgrößen verwendet wurden. Zusätzlich wurden die maximale Stromamplitude, der Leckwiderstand bzw. der Serienwiderstand der Zelle zu jedem Messzeitpunkt bestimmt. Als weitere Zielgröße wurde die *relative* maximale Stromamplitude durch Normierung auf die Stromamplitude des ersten Messzeitpunktes gewonnen, um eine Größe zu gewinnen, die von der individuellen Variabilität der absoluten Stromamplituden unabhängiger ist.

In einem ersten Schritt wurden aus den Stromspuren durch Mittelung über die letzte Millisekunde die Strom-Spannungs-Beziehungen berechnet (s. Teilbilder A und C in Abb. 12). An diese Strom-Spannungs-Beziehungen wurde die folgende Funktion numerisch angepasst.

$$I(t) = \bar{p} \cdot ghk(V) \cdot \left( \frac{1}{1 + e^{(V_{1/2}-V)/V_s}} \right)^2 \quad (1)$$

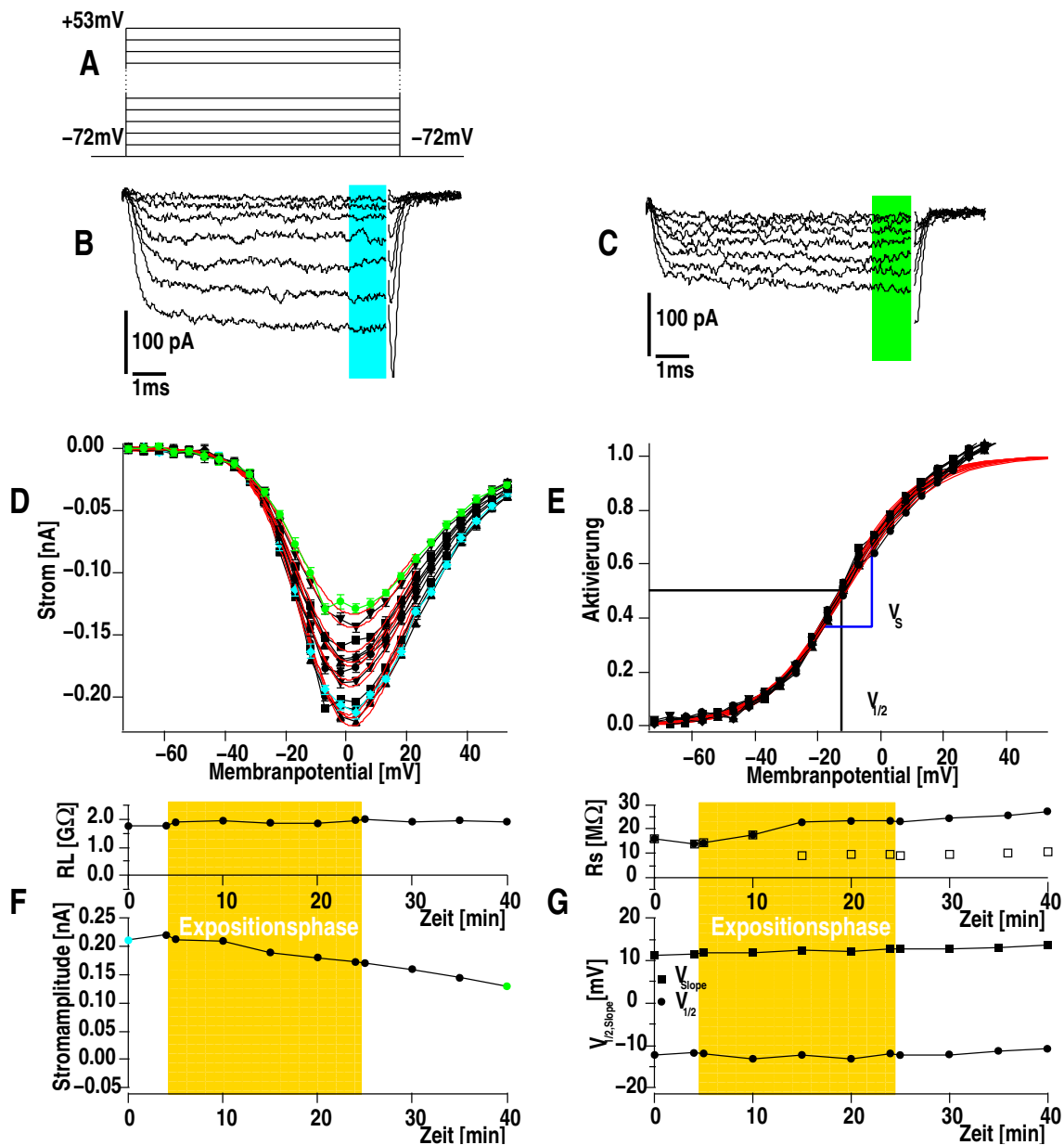
Dabei ist  $\bar{p}$  die maximale Permeabilität, die die Stromamplitude bestimmt. Der Exponentialterm entspricht einer Boltzmannfunktion, die die charakteristische Aktivierung des Ionenstroms durch die unterschiedlichen Spannungen beschreibt. Dabei bestimmt  $V_{1/2}$  die Membranspannung, bei der die Hälfte des Stroms aktiviert ist, und  $V_s$  gibt die Steigung der Aktivierung in diesem Punkt an und damit die Empfindlichkeit des Stroms auf Spannungsänderungen.

Die Funktion  $ghk(V)$  stellt den spannungsabhängigen Anteil der Goldman-Hodgkin-Katz-Beziehung dar:

$$ghk(V) = z^2 \frac{VF^2}{RT} \frac{[Ba^{2+}]_i - [Ba^{2+}]_o e^{-zVF/RT}}{1 - e^{-zVF/RT}} \quad (2)$$

Mit  $z=2$  als Ladung der  $Ba^{2+}$ -Ionen,  $R$  als universelle Gaskonstante,  $F$  als Faradaykonstante,  $T$  als Temperatur in Kelvin und  $V$  als Membranpotential. Mit der intrazellulären ( $[Ba^{2+}]_i$ , angesetzt mit 0,0005 mmol/l) und der extrazellulären ( $[Ba^{2+}]_o=10$  mmol/l)  $Ba^{2+}$ -Konzentration und der Membranspannung waren alle Parameter durch die Messbedingungen festgelegt.

Die Anpassung wurde nicht über den gesamten Kurvenverlauf vorgenommen, da bei Membranpotentialen oberhalb von ca. +20 mV minimale kontaminierende Auswärtsstromkomponenten (nicht vollständig abgezogenes Leck oder minimale  $K^+$ -Restströme) zu einer Verschlechterung der Anpassungsergebnisse führten. In Abb. 12, Teilbild E, sind die angepassten Aktivierungskurven in rot dargestellt. Der physiologisch relevante Bereich der Membranpotentiale für Haarsinneszellen liegt deutlich unterhalb von +20 mV, er



**Abbildung 12:** Stromspuren eines Aktivierungsprotokolls (Spannungprotokoll siehe A) zu Beginn (B) und am Ende einer Messung (C). Der grün bzw. blau hinterlegte Bereich markiert den Zeitbereich, über den die Ströme gemittelt wurden. In Teilbild D sind die Strom-Spannungskurven der Messung zusammen mit den Kurven aus der Anpassung mit einer Boltzmannfunktion (rot) für die Aktivierung über dem Membranpotential aufgetragen. Die Strom-Spannungskurven, die zu den Stromspuren in B und C gehören, sind ebenfalls entsprechend farbig markiert. Im Teilbild E sind die Aktivierungskurven und die Boltzmannfunktionen (in rot) über dem Membranpotential aufgetragen. Die experimentellen Werte wurden hier gewonnen, indem die Stromwerte durch den Term  $\bar{p} \cdot ghk(V)$  dividiert wurden. In Teilbild F ist oben der Verlauf des Leckwiderstands, darunter der Verlauf der Stromamplitude über der Zeit dargestellt. Bei den Stromamplituden sind die Stromamplituden, die zu den Stromspuren aus B und C gehören, entsprechend farbig markiert. Im oberen Teilbild G sind der Verlauf des Serienwiderstands, darunter die Parameter der Boltzmannfunktion ( $V_{1/2}$  und  $V_s$ ) über der Zeit dargestellt. Die offenen Symbole des Serienwiderstands entsprechen den effektiven Serienwiderständen nach Serienwiderstandskorrektur am Patch-Clamp-Verstärker.

reicht in etwa vom Haltepotential bis zur maximalen Stromamplitude. Dies gilt auch im vorliegenden Fall, wo es durch die höhere  $Ba^{2+}$ -Konzentration zu einer Verschiebung der Strom-Spannungsbeziehungen zu positiveren Membranpotentialen kommt.

Als Zielgrößen wurden aus den elektrophysiologischen Ableitungen die folgenden Messgrößen extrahiert:

- die maximale Stromamplitude der Stromspannungsbeziehung
- die *relative* maximale Stromamplitude der Stromspannungsbeziehung (die primäre Zielgröße)
- die Spannung der halbmaximalen Aktivierung
- die Steigung der Boltzmannfunktion

Die Stromamplitude wurde ausgewählt, weil bekannt ist, dass  $Ca^{2+}$ -Ströme sehr empfindlich auf den metabolischen Zustand der Zellen reagieren und über längere Zeit ein Absinken der Stromamplitude zu beobachten ist, wenn der Zustand der Zellen sich verschlechtert (Bean, 1992; Helmchen et al., 1996). Andererseits können bestimmte Pharmaka die Stromamplitude erhöhen oder verringern (z. B. Sinnegger et al., 1997; Koschak et al., 2003). Außerdem lässt sich die Spannung der halbmaximalen Aktivierung des Stroms durch Pharmaka verändern (z. B. Koschak et al., 2003; Sinnegger et al., 1997), wie auch die Steigung der Stromaktivierung (Koschak et al., 2003).

Als elektrophysiologische Einflussgrößen wurden dabei die folgenden Variablen betrachtet:

- der Leckwiderstand
- der Serienwiderstand
- die Temperatur

Im Abschnitt 3.3 wurde dargestellt, dass Serien- und Leckwiderstand auf die Messungen einen direkten Einfluss haben. Der Leckwiderstand beeinflusst dabei zunächst vor allem die Stromamplitude, während der effektive Serienwiderstand vor allem die Lage der Strom-Spannungskurven (charakterisiert durch  $V_{1/2}$ ) beeinflussen kann, da er die effektive Klemmspannung verfälscht. Somit sind beide Größen eigentlich als Einflussgrößen zu betrachten.

Andererseits ist es a-priori nicht auszuschließen, dass die beiden Größen auch direkt durch das Feld beeinflusst werden können und damit ebenfalls Zielgrößen darstellen. Makroskopische Membraneigenschaften, wie z. B. die lokale Temperatur (s. z. B. Holtze et al., 2006) und damit auch eventuell der Phasenzustand der Membran könnten über eine Feldwechselwirkung beeinflusst werden, was sich auf den Leckwiderstand auswirken könnte. Ähnliches gilt für den Serienwiderstand.

Deshalb wurde zuerst geprüft, ob nicht eventuell der Leckwiderstand und der Serienwiderstand selbst von der Befeldung abhingen. Zusätzlich wurde vorab auch überprüft, ob

die Temperatur selbst überhaupt von der Befeldung abhängig war. Die Temperatur wurde in den Experimenten nicht kontrolliert, sondern lediglich aufgezeichnet, deshalb war es möglich, dass sich die Temperatur der Badlösung durch die Befeldung erhöhen konnte.

## 4.2 Fallzahlabschätzung

Anhand einer internen Pilotstudie wurde die Fallzahl auf folgende Weise festgelegt. Für die Planung wurde eine besonders einfache Auswertung angenommen, nämlich dass erst für jede Zelle in jeder Phase der Befeldung die mittlere relative Stromamplitude (primäre Zielgröße) berechnet wurde und mit den Differenzen dieser Mittelwerte zwischen späteren Phasen und der anfänglichen Messung ohne Befeldung die Mittelwerte der verschiedenen Befeldungen mit t-Tests verglichen würden. Durch den Auftraggeber wurde vorgegeben, dass die Wahrscheinlichkeiten der Fehler 1. und 2. Art die üblichen Werte 0,05 und 0,2 (0,3) haben sollten und ein relevanter Unterschied vorläge, wenn die Mittelwerte sich um 50% der Standardabweichung unterschieden. So konnten mit präziseren Messungen kleinere Mittelwertsdifferenzen aufgedeckt werden, was die Bedeutung für lebende Zellen noch offen lässt. Mit mehr als der Hälfte der endgültigen Beobachtungen wurde die Varianz der intraindividuellen Mittelwertsunterschiede zwischen Vorlauf und Befeldung auf  $0.024^2 nA^2$  geschätzt und auf dieser Grundlage berechnet, dass vollständige und gültige Messungen an 16 (13) Zellen je Befeldungsgruppe der geeignete Stichprobenumfang wären. Das Signifikanzniveau wurde dabei durch 4 dividiert, weil jeweils 4 Vergleiche mit der nur einmal durchgeführten Scheinbefeldung, benutzt wurden. Auf Adjustierungen über die drei Befeldungsarten (UMTS, GSM 1800, GSM 900) oder die mehreren Zielgrößen hinweg wurde verzichtet nach den Argumenten, dass erstens diese Ergebnisse keine Adjustierung erfahren würden, wenn sie von verschiedenen Forschergruppen erzielt würden und zweitens kein Teil der Daten für mehrere dieser Tests verwendet wurde.

Die Messungen mussten an einer größeren Anzahl von Zellen begonnen werden, da immer wieder aufgrund der Ableitbedingungen die Messungen vor Ende der regulären Messdauer abgebrochen werden mussten. Die Zahlen der unvollständigen Messungen wurden nach der Befeldung tabelliert. Diese Häufigkeiten wurde mittels eines Generalisierten Linearen Modells untersucht, wobei Poisson-Verteilungen mit Überdispersion und logarithmischer Link-Funktion angenommen wurden. Es wurde geprüft, ob die Raten abgebrochener Messungen sich je nach Befeldungsart und -stärke systematisch unterschieden.

## 4.3 Das statistische Modell

Zur statistischen Modellierung der Daten wurde der Verlauf der Zielgrößen über die Zeit betrachtet, der als linear während jeder Phase angenommen wurde. Mit diesem Modell der Kovarianzanalyse wurde die eine, als stets gleich angenommene Varianz der Messungen geschätzt.

Effekte mit p-Werten von 5% und kleiner wurden diskutiert unter den Aspekten des mehrfachen Testens von immerhin 12 Effekten in jeder Kovarianzanalyse und der Relevanz der Effektstärke in den Einheiten der Zielgröße.

Für die primäre Zielgröße, die relative maximale Stromamplitude, und die drei sekundären Zielgrößen: die maximale Stromamplitude, das halbmaximale Aktivierungspotential  $V_{1/2}$  und die Steigung der Aktivierung  $V_s$ , wurden die folgenden Einflussgrößen und Wechselwirkungen statistisch geschätzt und getestet:

- Befeldungsgruppe, d. h. anfängliche Unterschiede zwischen den Befeldungsgruppen, mit den Intensitäten entsprechend den SAR-Werten, 0, 0,02, 0,2, 2 und 20 W/kg
- Befeldungsphase, d. h. für alle Befeldungsgruppen gleiche Unterschiede zwischen den Erwartungswerten in der zeitlichen Mitte der Befeldungsphasen
- Zeit in Befeldungsphase, d. h. die für alle Befeldungsphasen und -gruppen gleiche Steigung der Zielgröße mit der Zeit
- **Befeldungsgruppe × Befeldungsphase**, d. h. die Wechselwirkung von Befeldungsphase und -gruppe, also ob der mittlere Verlauf der Erwartungswerte in der zeitlichen Phasenmitte sich von Befeldungsgruppe zu Befeldungsgruppe unterscheidet; **der Effekt von primärem Interesse**
- Befeldungsgruppe × Zeit in Phase, d. h. die Wechselwirkung zwischen Befeldungsgruppe und -dauer, also ob die in allen Phasen gleiche Steigung der Zielgröße über die Zeit sich von Befeldungsgruppe zu Befeldungsgruppe unterscheidet
- Befeldungsphase × Zeit in Phase, d. h. die Wechselwirkung zwischen Befeldungsphase und -dauer, also ob sich die für alle Gruppen gleiche Steigung der Zielgröße über die Zeit von Phase zu Phase der Befeldung unterscheidet
- **Befeldungsgruppe × Befeldungsphase × Zeit in Phase**, d. h. die Dreifachwechselwirkung von Befeldungsphase, -gruppe und -dauer oder ob sich die Steigungen der Zielgröße über die Zeit sich von Befeldungsgruppe zu Befeldungsgruppe unterschiedlich über die Phasen hinweg veränderte; **der Effekt von sekundärem Interesse**
- Zelle[Befeldungsgruppe](random), d. h. zufälliger Effekt der Zelle genestet unter die Befeldungsgruppe, also die individuellen Achsenabschnitte der einzelnen Zellen, wobei für die Abweichungen vom Mittelwert einer jeden Befeldungsgruppe eine eigene Normalverteilung angenommen wird, so dass Gruppenunterschiede nicht durch diese biologische Variabilität erklärt werden;
- Zeit × Zelle[Befeldungsgruppe](random), d. h. zufällige Wechselwirkung der Zeit seit Beginn des Experiments mit der Zelle genestet unter die Gruppe, also eine für jede Zelle andere, zwischen den Zellen einer Befeldungsgruppe als normalverteilt angenommene Steigung des linearen Trends, der unabhängig von der Befeldungsphase gilt
- Leckwiderstand, d. h. der Koeffizient einer als linear angenommenen Abhängigkeit der Zielgröße vom Leckwiderstand

- effektiver Serienwiderstand, d. h. der Koeffizient einer als linear angenommenen Abhängigkeit der Zielgröße vom Serienwiderstand
- Temperatur, d. h. der Koeffizient einer als linear angenommenen Abhängigkeit der Zielgröße von der Temperatur.

Lediglich signifikante Wechselwirkungen von mindestens der Phase *und* der Befeldungsgruppe deuten auf einen möglichen Einfluss der Befeldung auf die Zielgrößen hin. Die Zellen können sich z. B. schon in der Vorlaufphase je nach Befeldungsgruppe unterscheiden und dürften diesen Unterschied dann auch über die gesamte Messung beibehalten, dies wäre aber kein Unterschied, der durch die Befeldung hervorgerufen worden wäre.

Die Effekte von Temperatur, effektivem Serienwiderstand und Leckwiderstand zur Zeit der einzelnen Messung und der individuellen Zelle und ihrem langsamen Unbrauchbarwerden wurden berücksichtigt, um so viel wie möglich von der Varianz zu erklären und also mit einer geringen Messvarianz geringe Effekte der Befeldung aufdecken zu können. Hier liegt der Vorteil des komplizierteren statistischen Modells. Während in der einfachen Auswertung nur eine Varianz vorkommt, wird die Gesamtvarianz in der Kovarianzanalyse zerlegt in erklärte Varianz, zufällige Varianz zwischen den individuellen Zellen (biologische Variabilität) und Residuenvarianz („Messfehler“ im Quadrat). Während die Trennschärfe der statistischen Tests von der Residuenvarianz abhängt, sind die Effekte der Befeldung mit der Varianz zwischen den Individuen zu vergleichen, um ihre Relevanz zu beurteilen. Deswegen wurde die biologische und experimentelle Varianz zusätzlich auch noch geschätzt, indem alle Kontrollgruppen zusammen mit obigem Modell analysiert wurden. Dabei wurde die natürliche Varianz berechnet als Differenz der gesamten zufälligen Varianz minus Varianz durch Messfehler.

Als erstes wurde getestet, ob die Einflussgrößen Leckwiderstand, Serienwiderstand und Temperatur selbst durch die Befeldung beeinflusst wurden. Eine mögliche Temperaturerhöhung *durch* die Befeldung kann auch thermische Effekte nach sich ziehen. Auch die anderen beiden Parameter könnten selbst von der Befeldung beeinflusst werden und somit indirekte Effekte der Befeldung auf die beobachteten Zielgrößen vermitteln.

Zusätzlich wurde die Auswertung wie bei der Fallzahlabeschätzung durchgeführt, wobei nach Teilentblindung die Unterschiede zur Kontrollgruppe mit Dunnett's Test untersucht wurden, um die Ergebnisse gegen Fehlinterpretation wegen multiplen Testens abzusichern.

Fast genau die gleiche Interpretation hat in der eingehenderen Auswertung der F-Test auf die Wechselwirkung von Befeldungsphase und Befeldungsgruppe.

Ergaben sich bei den Tests Ergebnisse, deren p-Werte für eine oder beide Wechselwirkungen von Interesse unter 0,05 lagen, so wurde der Effekt der Befeldung für diese Wechselwirkung abgeschätzt durch die Abweichungen von parallelen zeitlichen Verläufen — schließlich sollten sich Unterschiede vor allem in der mittleren Befeldungsphase zeigen. Dabei wurde die größte Differenz zur Kontrollgruppe gesucht. Die Differenzen wurden über die Parameter ermittelt, die diese Wechselwirkung innerhalb des Modells beschrieben. Die Wechselwirkung „Gruppe×Phase“ wurde innerhalb des Modells über Parameter abgebildet, nämlich die Unterschiede zu einer Beschreibung, bei der für jede Gruppe die



Erwartungswerte in der Mitte einer jeden Phase des Experiments die gleichen Differenzen aufweisen. Der maximale Effekt einer Befeldung im Vergleich zur Kontrolle für diese Wechselwirkung wurde durch Bildung der Differenz zwischen diesem Parameter der Kontrollgruppe und den Parametern der anderen Gruppen berechnet. Die Wechselwirkung „Gruppe×Phase×Zeit in Phase“ wurde über die Steigungen beschrieben, die die Veränderung der Zielgröße für jede Gruppe innerhalb jeder Phase mit dem Verlauf der Zeit erfasst. Auch hier wurden als Parameter die Abweichungen von einem Modell geschätzt, bei dem die Abfolge der Steigungen von Phase zu Phase in jeder Gruppe die gleichen Differenzen aufweist. Wiederum wurde die maximale Differenz zum Parameter für die Kontrollgruppe gesucht. Da die lineare Anpassung auf den zeitlichen Mittelpunkt einer Phase bezogen war, ergab sich der maximale Effekt dieser Wechselwirkung durch die Befeldung auf die Zielgröße, indem diese Steigung mit der halben Phasendauer multipliziert wurde.

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm JMP (SAS Institute) in der Version 6.0 durchgeführt.

## 5 Ergebnisse

Im folgenden werden die aus den elektrophysiologischen Daten gewonnenen Ergebnisse dargestellt und auf Befeldungseffekte hin untersucht. Für jede Zielgröße wurde das statistische Modell angepasst. Die wesentliche Einflussgröße war die Befeldungsintensität kodiert in der Befeldungsgruppe entsprechend dem jeweiligen SAR-Wert.

Zusätzlich wurde die Auswertung durchgeführt, wie sie für die Fallzahlabeschätzung durchgeführt wurde.

Neben der statistischen Analyse wurde das statistische Modell zusätzlich verwendet, um eine mittlere Vorhersage für die Daten zu berechnen und zusammen mit den Daten darzustellen. Dazu wurden die Schätzwerte für die Parameter des Modells verwendet sowie die Messbedingungen (Befeldungsart, -gruppe und Zeitpunkt). Für die statistische Analyse wurden innerhalb des Modells für die Einflussgrößen Leckwiderstand, Serienwiderstand sowie Temperatur für *jeden* Zeitpunkt die jeweils *gemessenen* Werte verwendet. Um für die graphische Darstellung für jede Befeldungsart und -gruppe eine einfach zu interpretierende, mittlere Vorhersage zu erhalten, wurden dagegen für den Leckwiderstand, den Serienwiderstand und die Temperatur durchgehend die folgenden Werte eingesetzt:

Leckwiderstand	1550 M $\Omega$
Serienwiderstand	13,75 M $\Omega$
Temperatur	24 °C

Diese Werte sind die gerundeten Mittelwerte aller Messwerte der entsprechenden Größen über alle in der Auswertung verwendeten Zellen. Als letzter Punkt der Ergebnisdarstellung wird eine Analyse der Daten der Kontrollgruppen vorgestellt. Diese Analyse lieferte ein Maß für die natürliche Variabilität der Daten, das in der abschließenden Diskussion (Abschnitt 6.2) benutzt wurde, um die gefundenen Ergebnisse zu bewerten.

### 5.1 Qualitätskriterien und Zellzahlen

Um eine ausreichende Qualität der Messergebnisse sicherzustellen, wurden die folgende Kriterien für die Messungen aufgestellt:

- der Leckwiderstand sollte mehr als 300 M $\Omega$  betragen. Zellen mit einzelnen Messpunkten mit weniger als 300 M $\Omega$  Leckwiderstand wurden akzeptiert, solche mit mehreren Messpunkten mit  $R_L < 300$  M $\Omega$  wurden verworfen.
- der unkorrigierte Serienwiderstand einer Zelle sollte nur in Einzelfällen über 50 M $\Omega$  liegen.

Zunächst wurde eine ausreichende Anzahl von Zellen in allen Befeldungsgruppen gemessen. Danach wurde *ohne* Entblindung eine Rohdatenauswertung vorgenommen und für den Fall, dass einzelne Messungen nicht den obigen Kriterien entsprachen, diese wiederholt. Diese Wiederholungsmessungen waren ebenfalls randomisiert und verblindet.

	UMTS	GSM 1800	GSM 900
Ableitungen von Zellen	224	191	237
befeldete Zellen	133	119	136
vollständig befeldete Zellen	100	101	104
vollständige auswertbare Zellen	82	80	78

**Tabelle 1:** Übersicht über die Gesamtzahl der gemessenen Zellen für die drei verschiedenen Befeldungsarten

Gruppe	vollständige Zellen			abgebrochene Zellen		
	UMTS	GSM 1800	GSM 900	UMTS	GSM 1800	GSM 900
0,02 W/kg	19	16	16	13	5	8
0,2 W/kg	16	16	16	11	12	5
2 W/kg	15	16	15	9	9	18
20 W/kg	16	16	16	13	4	14
Sham	16	16	15	5	9	13

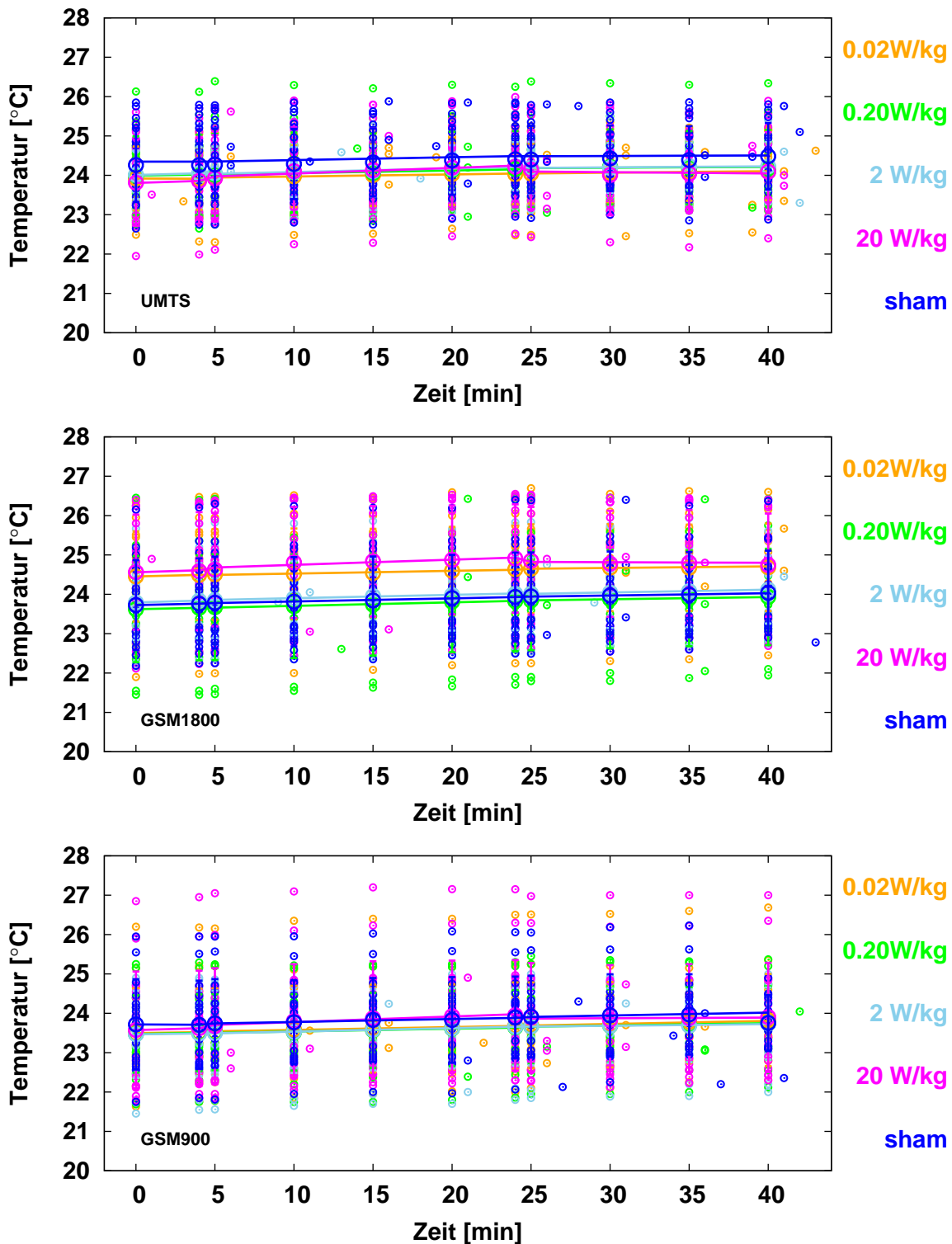
**Tabelle 2:** Übersicht über die Zahl der in die Auswertung eingegangenen Zellen aufgeteilt auf die verschiedenen Befeldungsgruppen für die drei Befeldungsarten

In Tab. 1 sind die Zahlen der in den Experimenten abgeleiteten Zellen, der befeldeten Zellen, der bis zum Ende der 20 Minuten dauernden Expositionsphase gemessenen, und der auswertbaren bis zum Ende der 40 Minuten dauernden Messung angegeben.

In Tab. 2 sind die Zahlen der vollständig gemessenen Zellen für die verschiedenen Befeldungsgruppen angegeben. Außerdem sind in Tab. 2 die Zellzahlen für die Zellen angegeben, die zwar befeldet wurden, aber entweder nicht über die gesamte Befeldungsphase oder bis zur minimal akzeptierten Gesamtdauer von 35 Minuten abgeleitet werden konnten. Es zeigten sich keine signifikanten systematischen Unterschiede je nach Befeldungsart (p-Wert 0.41) und Befeldungsintensität (p-Wert 0.91).

## 5.2 Temperatur

Als erste Zielgröße, deren Ergebnisse hier dargestellt werden sollen, wurde die Temperatur gewählt. Die thermische Wirkung von Mikrowellenfeldern, wie sie in der Mobilfunkkommunikation eingesetzt werden, ist bekannt. Bei den in den Experimenten verwendeten SAR-Werten von 0,02 W/kg, 0,2 W/kg, 2 W/kg und 20 W/kg, bezogen auf das Volumen in der Badkammer, ist zumindest für die höchste Befeldungsgruppe nicht auszuschließen, dass es während der Befeldungsphase trotz der laufenden Perfusion zu einer leichten Temperaturerhöhung in der Badkammer kommen konnte. In der Anlage zur Exposition wurde für die Befeldung entsprechend einem SAR-Wert von 20 W/kg eine Temperaturerhöhung von maximal 0,2°C für GSM 1800 und GSM 900, sowie maximal 0,4°C für UMTS beschrieben.



**Abbildung 13:** Verlauf der Temperatur in °C über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten. Die Befeldungsarten (UMTS, GSM 900, GSM 1800) sind in den einzelnen Grafiken indiziert. Die Originaldaten sind farblich nach Gruppen mit kleinen Symbolen dargestellt. Die einzelnen Farben kodieren die Befeldungsgruppe und sind am Rand markiert. Die Mittelwerte sind in den entsprechenden Farben als offene Kreise mit Standardabweichungen symbolisiert. Die durchgezogenen Linien stellen die Vorhersage des Modells dar (Erläuterungen siehe Text).

In Abb. 13 sind die über die Temperatursonde gemessenen Temperaturen über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten aufgetragen. Die Temperaturwerte wurden im Abstand von zehn Sekunden aufgezeichnet und die beiden den Messzeitpunkten am nächsten liegenden Temperaturwerte wurden gemittelt. Die Einzelwerte sind den Gruppenmittelwerten hinterlegt. Die Mittelwerte über die Befeldungsgruppen sind mit den Standardabweichungen als offene Symbole dargestellt. Darüber liegen als durchgezogene Kurven die Vorhersagen des statistischen Modells.

Die Temperaturen der Messungen bewegten sich im Bereich von ca. 21-27°C, wobei die meisten Messungen im Temperaturbereich von 23-25°C stattfanden. Für alle Messungen war ein leichter Temperaturanstieg (etwa 0,3°C) über die Zeitdauer der Experimente festzustellen. Der Grund hierfür lag in der relativ großen Abwärme der elektronischen Geräte in dem Versuchsraum und dem damit verbundenen Temperaturanstieg über der Zeit.

In der statistischen Analyse lässt sich dieser Temperaturanstieg mit voranschreitender Zeit daran erkennen, dass alle Einflüsse, die die Befeldungsphase beinhalten, auf dem 5% Niveau signifikant sind. Die Befeldungsphase ist vermengt (confounded) mit dem Voranschreiten der Zeit innerhalb der Messungen und damit dem Temperaturanstieg.

### Zielgröße: Temperatur

Einflussgröße/Wechselwirkung	p-Wert		
	UMTS	GSM 1800	GSM 900
Gruppe	0,62	0,067	0,96
Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
Zeit in Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
<b>Gruppe × Phase</b>	<b>&lt; 0,0001*</b>	<b>&lt; 0,0001*</b>	<b>&lt; 0,0001*</b>
Gruppe × Zeit in Phase	0,45	0,94	0,59
Phase × Zeit in Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
<b>Gruppe × Phase × Zeit in Phase</b>	<b>&lt; 0,0001*</b>	<b>&lt; 0,0001*</b>	<b>&lt; 0,0001*</b>
Leckwiderstand	0,33	0,54	0,30
effektiver Serienwiderstand	0,95	0,35	0,67

**Tabelle 3:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die Zielgröße Temperatur, mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. P-Werte, die auf eine befeldungsabhängige signifikante Wechselwirkung (fettgedruckt) hindeuten, sind fettgedruckt hervorgehoben.

Bei der statistischen Analyse (Tab. 3) ergab sich darüberhinaus für alle Befeldungsarten auf dem Niveau 0,05 eine signifikante Wechselwirkung der Befeldungsgruppe und der Phase (alle p-Werte  $< 0,0001$ ). Die Unterschiede der Temperatur von Phase zu Phase war also je nach Befeldungsintensität verschieden. Der Effekt war allerdings nur bei der höchsten Befeldungsintensität von 20 W/kg zu erkennen, dafür dann schon in den Daten einer einzelnen Messung. Einige Beispiele dafür sind für die UMTS-Befeldung die unterste Kurve sowie bei der GSM 900-Befeldung die oberste Temperaturkurve (jeweils die Rohdatensätze). Während der Befeldungsphase stieg die Temperatur um ca. 0,2°C an, und fiel danach auch wieder ab. Für alle anderen Befeldungsintensitäten ergab sich kein solcher Anstieg der Temperatur während der Befeldungsphase. Mit diesem Ergebnis

ist es nicht völlig auszuschließen, dass ein thermischer Effekt zumindest für den höchsten bei der Befeldung verwendeten SAR-Wert auftreten kann. Aus dem gleichen Grund ergaben sich P-Werte  $< 0,0001$  für alle drei Befeldungsarten für die Wechselwirkung von Befeldungsgruppe mit der Phase und der Zeit in der Phase (dem Effekt von sekundärem Interesse).

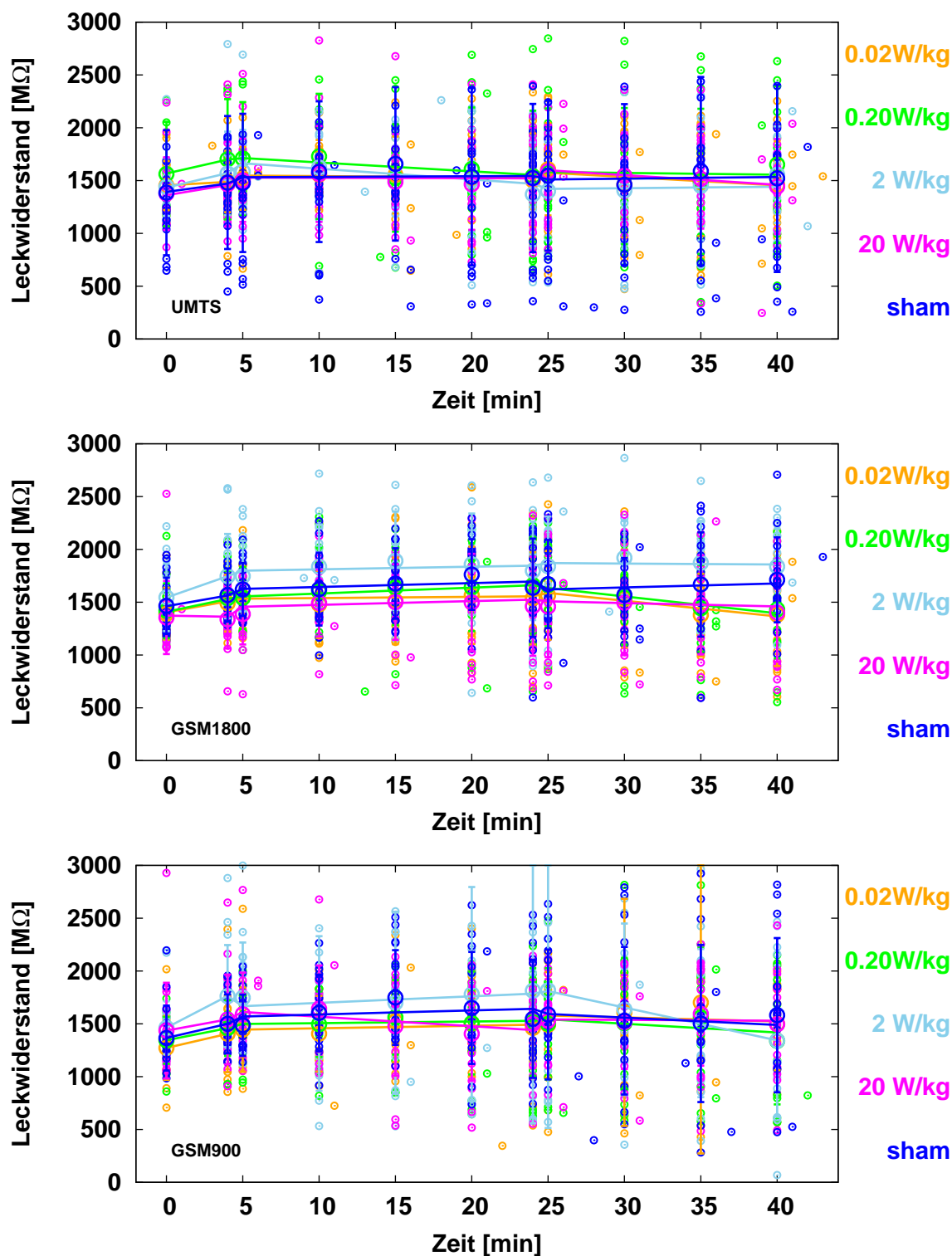
Der Anstieg der Temperatur für die höchste Befeldungsintensität liegt im Rahmen der Messgenauigkeit der Temperatursonde und befindet sich in Übereinstimmung mit der Bestimmung des SAR-Wertes in der Anlage „HF-Dosimetrie und Exposition“ zu diesem Bericht.

### 5.3 Leckwiderstand

Eine weitere Größe, die einen Einfluss auf die Messergebnisse, insbesondere auf die mittlere Maximalstromamplitude haben kann, ist der Leckwiderstand. Vorab sollte festgehalten werden, dass während der Messungen bei einem starken Absinken des Leckwiderstandes mitunter versucht wurde, durch ein Anlegen eines leichten Unter- oder Überdrucks an die Pipette den Leckwiderstand zu verbessern. Insofern war der Leckwiderstand nicht nur von den beschriebenen Einflussgrößen abhängig. In Abb. 14 sind die gemessenen Leckwiderstände über der Zeitdauer der Messung aufgetragen. Die Einzelwerte sind den Mittelwerten und Modellvorhersagen hinterlegt. Die Mittelwerte sind als offene Symbole mit den Standardabweichungen dargestellt und darüber die Modellvorhersagen als durchgezogene Linien.

Der Verlauf des Leckwiderstands war im Prinzip über alle Befeldungsarten und -intensitäten ähnlich. Im Mittel lag der Leckwiderstand bei etwa  $1550 \text{ M}\Omega$  mit allerdings recht großen Streuungen, die mit der voranschreitenden Zeit in den Experimenten weiter anstiegen. Insbesondere lässt sich feststellen, dass der Mittelwert des Leckwiderstands von der ersten bis zur zweiten Messung ein wenig anstieg und danach mindestens bis zum Ende der Befeldungsphase im Mittel eher konstant blieb. Erst zum Ende der Messungen hin sanken die Mittelwerte des Leckwiderstands etwas ab, in einzelnen Befeldungsgruppen deutlich (Befeldungsgruppe entsprechend SAR-Werten von  $0,02$ ,  $0,2 \text{ W/kg}$  und bei der Scheinbefeldung bei GSM 1800 und der Befeldungsgruppe entsprechend einem SAR-Wert von  $20 \text{ W/kg}$  bei GSM 900). Die UMTS-Daten allerdings zeigten einen sehr homogenen, über alle Befeldungsgruppen praktisch konstanten Verlauf des Leckwiderstands. Für die GSM 1800-Befeldung zeigte die Befeldungsgruppe, deren Intensität einem SAR-Wert von  $2 \text{ W/kg}$  entsprach, einen im Mittel deutlich höheren Leckwiderstand von ca.  $1700 \text{ M}\Omega$ .

In der statistischen Analyse (Tab. 4) zeigte sich, dass mehrere untersuchte Einflüsse auf dem 5% Niveau signifikant waren. Allerdings stellten die meisten dieser Einflüsse direkt oder indirekt die voranschreitende Zeitdauer innerhalb des Experiments dar. Dies gilt für den Einfluss der Befeldungsphase und den Einfluss von „Befeldungsphase  $\times$  Zeit in Phase“, die für alle Befeldungsarten mit  $p < 0,05$  signifikant waren. Der Einfluss der „Zeit in der Befeldungsphase“ war nur für die Befeldungsart GSM 1800 auf dem 5% Niveau signifikant. Darin spiegelt sich die schon anhand der graphischen Darstellung erwähnte ver-



**Abbildung 14:** Verlauf des Leckwiderstands in  $M\Omega$  über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten. Die Befeldungsarten (UMTS, GSM 900, GSM 1800) sind in den einzelnen Grafiken indiziert. Die Originaldaten sind farblich nach Gruppen mit kleinen Symbolen dargestellt. Die einzelnen Farben kodieren die Befeldungsgruppe und sind am Rand markiert. Die Mittelwerte sind in den entsprechenden Farben als offene Kreise mit Standardabweichungen symbolisiert. Die durchgezogenen Linien stellen die Vorhersage des Modells dar (Erläuterungen siehe Text).

**Zielgröße: Leckwiderstand**

Einflussgröße/Wechselwirkung	p-Wert		
	UMTS	GSM 1800	GSM 900
Gruppe	0,94	0,033 *	0,80
Phase	0,0002*	< 0,0001*	0,0043*
Zeit in Phase	0,094	0,017 *	0,052
<b>Gruppe×Phase</b>	0,86	0,89	0,74
Gruppe×Zeit in Phase	0,91	0,45	0,97
Phase×Zeit in Phase	0,0026*	< 0,0001*	0,0003*
<b>Gruppe×Phase×Zeit in Phase</b>	0,17	0,082	0,086
effektiver Serienwiderstand	0,035 *	0,32	1,0
Temperatur	0,030 *	0,31	0,98

**Tabelle 4:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die Zielgröße Leckwiderstand, mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. Die beiden Wechselwirkungen von Interesse sind fettgedruckt hervorgehoben.

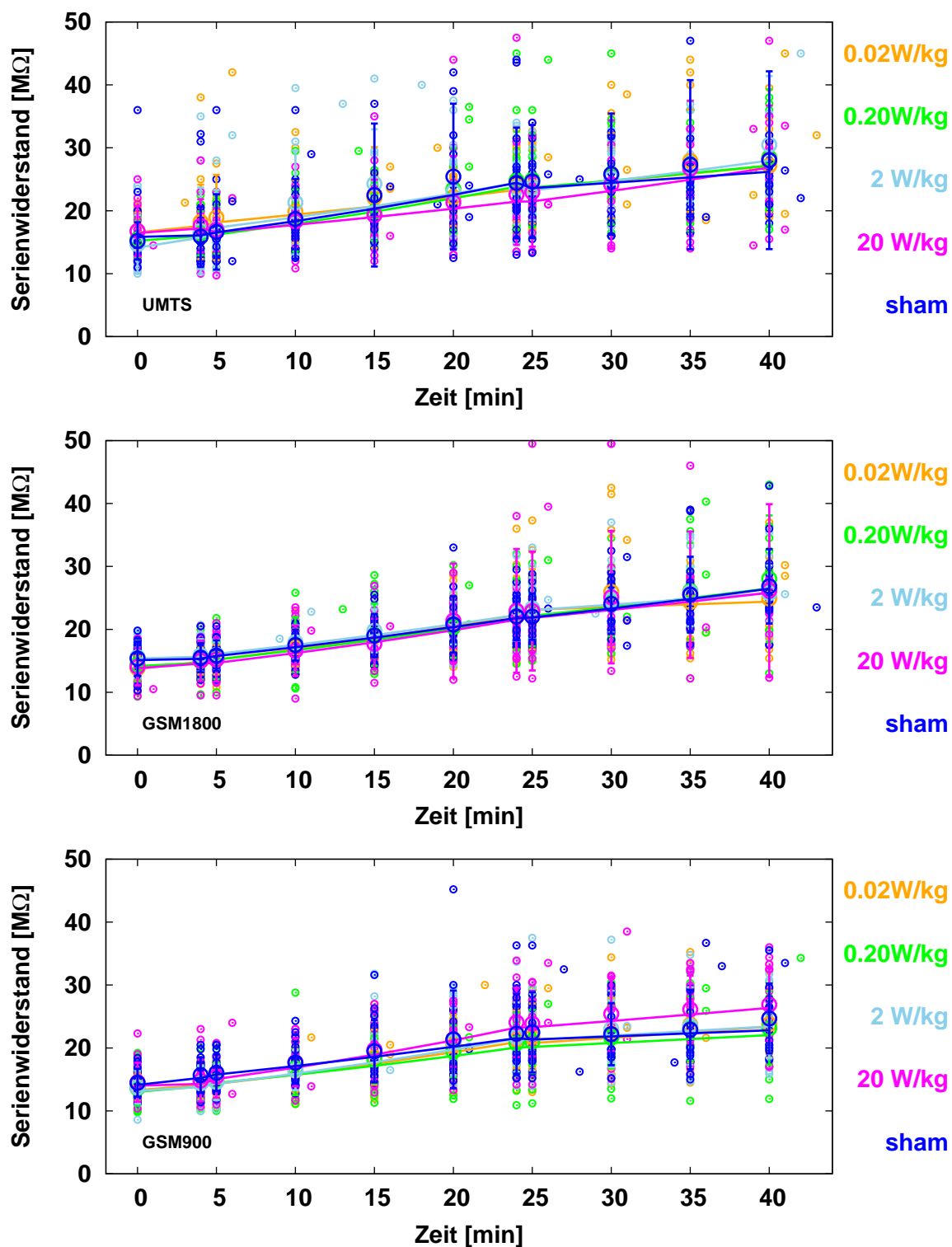
stärkte Abnahme des Leckwiderstands einiger Befeldungsgruppen für GSM 1800 wider. Ein weiterer Einfluss, der mit einem  $p$ -Wert  $< 0,05$  signifikant war, war die Befeldungsgruppe für die GSM 1800 Befeldung. Dies lässt sich durch die Befeldungsgruppe erklären, die mit einer Intensität entsprechend einem SAR-Wert von 2 W/kg befeldet wurde, die einen insgesamt erhöhten Leckwiderstand aufweist. Da dieser im Mittel höhere Leckwiderstand auch schon vor Beginn der Befeldungsphase bestand, ist dies *kein* Effekt der Befeldung, was sich auch dadurch widerspiegelt, dass die beiden kombinierten Einflüsse „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase“ und „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase×Zeit in Phase“ für *alle* Befeldungsarten  $p$ -Werte  $> 0,05$  zeigten, also als nicht signifikant anzusehen sind. Mit anderen Worten, die Befeldung selbst zeigt innerhalb des Modells *keinen* auf dem 5%-Niveau statistisch signifikanten Effekt auf den Leckwiderstand.

Der Serienwiderstand und die Temperatur zeigten innerhalb der statistischen Analyse nur für die UMTS-Befeldung einen signifikanten ( $p=0,035$  und  $p=0,030$ ) Einfluss auf den Leckwiderstand. Da die Leckwiderstände für die UMTS-Befeldung insgesamt über alle Befeldungsgruppen einen sehr ähnlichen Verlauf nehmen, wird vermutet, dass beide  $p$ -Werte ein Zufallsergebnis darstellen.

## 5.4 Serienwiderstand

Der Serienwiderstand ist, wie in Abschnitt 3.3 beschrieben, eine wichtige Einflussgröße, die sowohl die Lage der Aktivierungskurven, als auch die Steilheit der Aktivierung der Ionenströme über der Membranspannung beeinflussen kann, wenn auch — wie schon in Abschnitt 3.3 ausgeführt — aufgrund der niedrigen Gesamtstromamplitude eher in geringem Maße. Während der Messungen wurde ein zu hoher Serienwiderstand über eine Korrekturschaltung effektiv verringert und der effektive Serienwiderstand wurde als Einflussparameter für die folgenden Tests verwendet. Für den Test der Einflüsse der Befeldung auf den Serienwiderstand wurden jedoch die *nicht-korrigierten* Serienwiderstände als





**Abbildung 15:** Verlauf des Serienwiderstands in  $M\Omega$  über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten. Die Befeldungsarten (UMTS, GSM 900, GSM 1800) sind in den einzelnen Grafiken indiziert. Die Originaldaten sind farblich nach Gruppen mit kleinen Symbolen dargestellt. Die einzelnen Farben kodieren die Befeldungsgruppe und sind am Rand markiert. Die Mittelwerte sind in den entsprechenden Farben als offene Kreise mit Standardabweichungen symbolisiert. Die durchgezogenen Linien stellen die Vorhersage des Modells dar (Erläuterungen siehe Text).

Zielgröße betrachtet. Auch hier muss allerdings festgehalten werden, dass im Rahmen der Experimente bei einem zu starken Anstieg des Serienwiderstandes versucht wurde, durch Anlegen von leichtem Unter- oder Überdruck an die Pipette oder vorsichtiges Verändern der Pipettenposition den Serienwiderstand innerhalb der Messung zu verringern. Damit gilt, ebenso wie in Abschnitt 5.3 für den Leckwiderstand beschrieben, dass der Serienwiderstand nicht ausschließlich durch die im statistischen Test verwendeten Einflussgrößen beeinflusst wurde.

In Abb. 15 sind die Serienwiderstände in  $M\Omega$  über der Zeitdauer der Experimente aufgetragen. Die Einzelwerte sind als kleine Symbole den Mittelwerte hinterlegt. Die Mittelwerte sind mit den Standardabweichungen als offene Symbole aufgetragen, und darüber die Vorhersagen des Modells als durchgezogene Linien dargestellt. Es lässt sich feststellen, dass die Serienwiderstände mit zunehmender Zeitdauer von einem Anfangswert von im Mittel um die  $15 M\Omega$  auf Mittelwerte von etwa  $25-30 M\Omega$  anstiegen. Wie beim Leckwiderstand stieg allerdings die Standardabweichung der Rohwerte mit der Dauer der Experimente stark an. Es muss nochmals betont werden, dass hier die *nicht-korrigierten* Serienwiderstände betrachtet werden, der Mittelwert der *korrigierten* effektiven Serienwiderstände lag bei  $13,75 M\Omega$ .

#### Zielgröße: Serienwiderstand

Einflussgröße/Wechselwirkung	p-Wert		
	UMTS	GSM 1800	GSM 900
Gruppe	0,97	0,92	0,56
Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
Zeit in Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
<b>Gruppe×Phase</b>	<b>0,0036*</b>	0,79	0,63
Gruppe×Zeit in Phase	0,71	0,81	1,0
Phase×Zeit in Phase	0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
<b>Gruppe×Phase×Zeit in Phase</b>	0,079	0,053	0,80
Temperatur	0,85	0,77	0,017 *
Leckwiderstand	0,059	0,80	0,95

**Tabelle 5:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die Zielgröße Serienwiderstand, mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. P-Werte, die auf eine befeldungsabhängige signifikante Wechselwirkung (fettgedruckt) hindeuten, sind fettgedruckt hervorgehoben.

Die statistische Analyse (Tab. 5) ergab auf dem 5%-Niveau signifikante Ergebnisse vor allem für Einflussgrößen, die direkt oder indirekt auf das Voranschreiten der Zeit zurückzuführen sind („Befeldungsphase“, „Zeit in Befeldungsphase“ oder die Wechselwirkung der beiden). Für die GSM 900-Befeldung war zusätzlich die Wechselwirkung mit der Temperatur ( $p=0,017$ ) signifikant. Bei der UMTS-Befeldung zeigte allerdings auch „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase“ einen signifikanten ( $p=0,0036$ ) Einfluss auf die Serienwiderstände der UMTS-Befeldung, so als ob das Anschalten der Befeldung mit der Intensität entsprechend einem SAR-Wert von  $20 W/kg$  nur bei dieser Befeldungsart den Serienwiderstand absenkte. Als maximaler Effekt (s. Abschnitt 4.3) trat die größte Differenz zum Verlauf des

Serienwiderstands in der Kontrollgruppe mit -4% während der Befeldungsphase für die Gruppe auf, die mit einer Intensität von 20 W/kg befeldet wurde. Der Variationskoeffizient war für den Serienwiderstand mit 11% mehr als doppelt so groß. Die biologische Relevanz dieses Effekts wird in Abschnitt 6.2 diskutiert.

Es muss hier noch einmal hervorgehoben werden, dass der Serienwiderstand *nicht* ausschließlich durch die in den statistischen Tests erfassten Einflussgrößen beeinflusst wurde, sondern in einem gewissen Rahmen durch den Experimentator versucht wurde, diesen Wert aktiv möglichst gering zu halten (s. Abschnitt 3.3).

## 5.5 Maximalstromamplitude

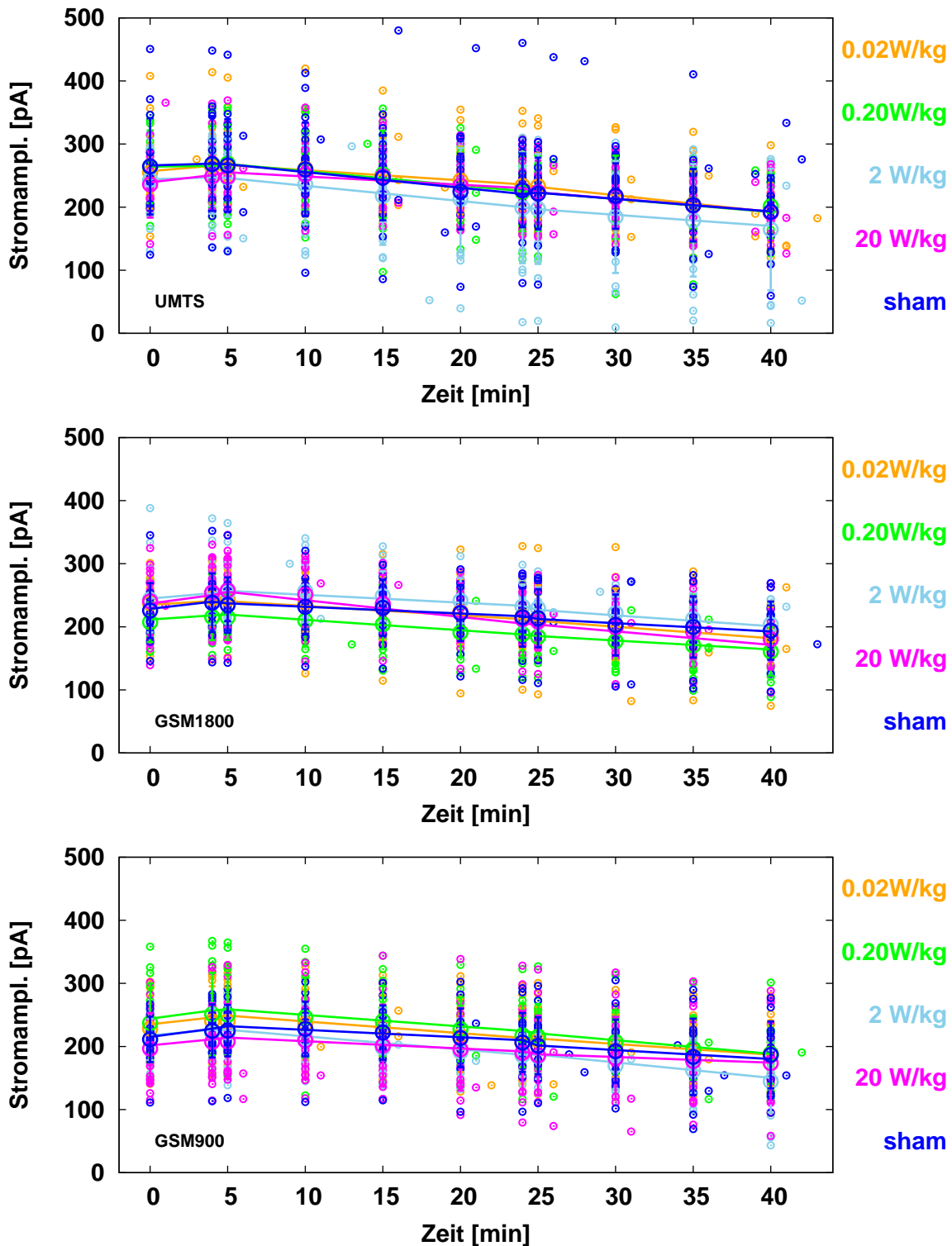
Eine Zielgröße war die maximale Stromamplitude bzw. der Verlauf dieser Größe über der Zeitdauer der Messungen. Von  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanälen ist bekannt, dass sie in der Regel eine Verringerung der Stromamplitude (einen sog. „Run-Down“) mit fortlaufender Ableitdauer zeigen, insbesondere dann, wenn der metabolische Zustand der Zellen nicht optimal ist (Bean, 1992). Durch die Verwendung von Phosphokreatin und ATP in der Intrazellulärlösung kann der Run-Down verringert werden (Helmchen et al., 1996), aber die Ströme durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle sind immer noch empfindlich gegenüber metabolischem Stress jeglicher Art (Bean, 1992).

In Abb. 16 sind die gemessenen Maximalstromamplituden über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten aufgetragen. Die Mittelwerte sind mit den Standardabweichungen als offen Symbole dargestellt. Darüber liegen als durchgezogene Kurven die Vorhersagen des statistischen Modells.

An den Daten lässt sich der schon erwähnte Run-Down der Stromamplitude erkennen, der aber im Mittel maximal ca. 30% vergleichsweise gering ausfiel, dies insbesondere angesichts der Gesamtzeitdauer der Messungen von bis zu 40 min. Außerdem zeigten die Stromamplituden eine erhebliche Streuung, die im Wesentlichen auf die großen Unterschiede in der Stromamplitude *zwischen* den Zellen zurückzuführen war.

Hinsichtlich möglicher Befeldungseffekte lässt sich festhalten, dass es für keine Befeldungsart eine Gruppe gab, innerhalb derer ein drastischer Unterschied in der mittleren Stromamplitude oder ein verstärkter Run-Down zu verzeichnen gewesen wäre. Lediglich bei einzelnen Zellen nahm die Stromamplitude über die Messdauer stark ab. Den stärksten Abfall der Stromamplitude zeigte eine Zelle der UMTS-Befeldungsgruppe, deren Befeldungsintensität einem SAR-Wert von 2 W/kg entsprach. Die Stromamplitude dieser Zelle nahm schon kurz nach Beginn der Messungen sehr stark ab und zeigte zum Ende der Messung nur noch einen sehr geringen Strom. Die Zahl dieser Zellen war so gering (insgesamt zwei Zellen bei UMTS, je eine Zelle bei GSM 1800 und GSM 900), dass eine gesonderte statistische Auswertung nicht vorgenommen wurde.

Bei der statistischen Analyse (Tab. 6) zeigten sich verschiedene, auf dem 5% Niveau signifikante Einflüsse. Die Befeldungsgruppe (also die Intensität der Felder) führte in keinem Test zu einem signifikanten Einfluss.



**Abbildung 16:** Verlauf der Maximalstromamplitude über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten. Die Befeldungsarten (UMTS, GSM 900, GSM 1800) sind in den einzelnen Grafiken indiziert. Die Originaldaten sind farblich nach Gruppen mit kleinen Symbolen dargestellt. Die einzelnen Farben kodieren die Befeldungsgruppe und sind am Rand markiert. Die Mittelwerte sind in den entsprechenden Farben als offene Kreise mit Standardabweichungen symbolisiert. Die durchgezogenen Linien stellen die Vorhersage des Modells dar (Erläuterungen siehe Text).

**Zielgröße: Maximale Stromamplitude**

Einflussgröße/Wechselwirkung	p-Wert		
	UMTS	GSM 1800	GSM 900
Gruppe	0,64	0,11	0,16
Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
Zeit in Phase	0,0025*	0,081	0,34
<b>Gruppe×Phase</b>	0,25	0,10	0,12
Gruppe×Zeit in Phase	0,69	0,75	0,54
Phase×Zeit in Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
<b>Gruppe×Phase×Zeit in Phase</b>	0,18	0,098	0,65
Leckwiderstand	< 0,0001*	< 0,0001*	1
effektiver Serienwiderstand	0,0015*	0,028 *	0,70
Temperatur	0,16	0,013 *	0,0060*

**Tabelle 6:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die Zielgröße Maximalstromamplitude, mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. Die beiden Wechselwirkungen von Interesse sind fettgedruckt hervorgehoben.

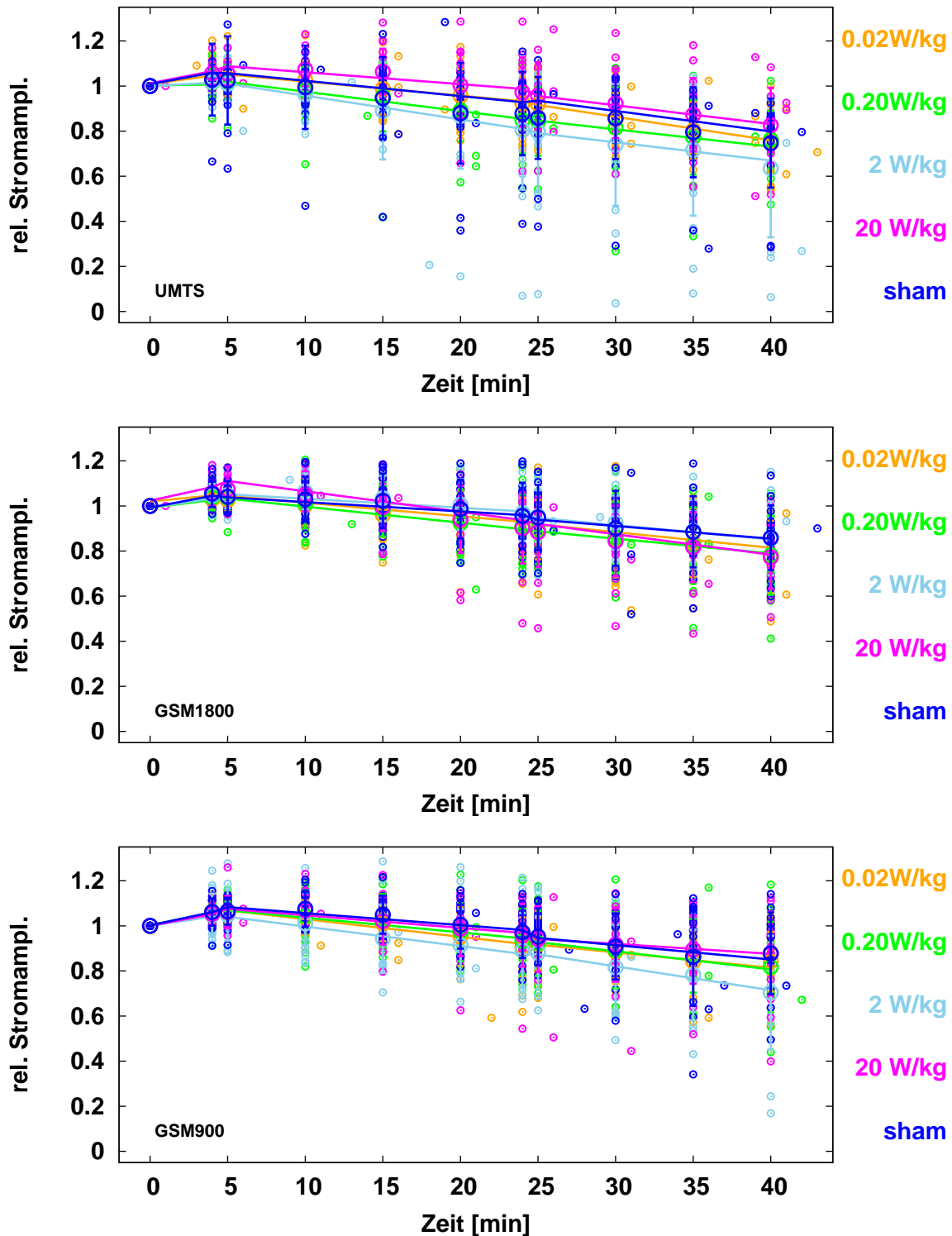
Für alle drei Befeldungsarten dagegen zeigte die Befeldungsphase einen auf dem 5% Niveau signifikanten Einfluss. Die Befeldungsphase ist vermengt (confounded) mit dem Voranschreiten der Zeit innerhalb der Messungen und damit mit dem Voranschreiten des Run-Downs. Die Kombination der verschiedenen vermengten Effekte bildet den für die einzelne Zelle nicht-linearen bzw. nicht-monotonen Trend über die Zeit nach.

Der Einfluss von Leckwiderstand und Serienwiderstand waren auf diesem Niveau nur bei der UMTS- und GSM 1800-Befeldung signifikant. Die Temperatur zeigte einen signifikanten Einfluss bei der GSM 1800 und GSM 900 Befeldung.

## 5.6 Relative Maximalstromamplitude

Die absoluten Stromamplituden zeigten eine große Streuung zwischen den individuellen Zellen. Da die Streuung schon in der Vorlaufphase vorhanden war, also nicht mit der Befeldung oder dem Run-Down begründet werden kann, wurde versucht, ein Maß für den Verlauf der Stromamplitude über der Zeitdauer des Experimentes zu finden, das weniger von den Unterschieden zwischen den individuellen Zellen abhing. Hierfür wurden die Maximalstromamplituden auf den jeweils ersten Wert der Messungen eines Experiments normiert und somit die relativen Maximalstromamplituden gewonnen. In Abb. 17 sind die Ergebnisse für die relative Maximalstromamplitude über der Zeit zusammen mit den Vorhersagen des zugehörigen statistischen Modells und den Gruppenmittelwerten dargestellt.

Die Ergebnisse zeigen einen ähnlichen Verlauf wie für die Maximalstromamplitude. Deutlich zu erkennen ist ein leichter Anstieg der Stromamplitude innerhalb der ersten fünf Minuten der Messungen. Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt ist die Zunahme der intrazellulären Konzentration von Phosphokreatin und ATP bedingt durch den weitgehenden Austausch des intrazellulären Milieus durch die Pipettenlösung während der ersten Minuten in der Ganzzellkonfiguration. Für die restliche Dauer der Messungen kann man



**Abbildung 17:** Verlauf der relativen Maximalstromamplitude über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten. Die Befeldungsarten (UMTS, GSM 900, GSM 1800) sind in den einzelnen Grafiken indiziert. Die Originaldaten sind farblich nach Gruppen mit kleinen Symbolen dargestellt. Die einzelnen Farben kodieren die Befeldungsgruppe und sind am Rand markiert. Die Mittelwerte sind in den entsprechenden Farben als offene Kreise mit Standardabweichungen symbolisiert. Die durchgezogenen Linien stellen die Vorhersage des Modells dar (Erläuterungen siehe Text).

davon ausgehen, dass die Zusammensetzung des intrazellulären Milieus durch die Pipettenlösung konstant gehalten wurde (Sakmann und Neher, 1995). Insgesamt streuten die Ergebnisse weniger als die Ergebnisse für die Maximalstromamplituden.

Die statistische Analyse (Tab. 7) lieferte zunächst in Übereinstimmung mit den Ergebnissen für die Maximalstromamplitude kleine p-Werte für alle Einflüsse, die sich direkt oder indirekt auf das Voranschreiten der Zeit zurückführen lassen. Darüberhinaus zeigte sich der Leckwiderstand in allen Fällen als signifikant auf dem 5%-Niveau und zusätzlich der effektive Serienwiderstand für die UMTS-Befeldung und die Temperatur bei der GSM 1800-Befeldung.

<b>Zielgröße: Relative maximale Stromamplitude</b>			
<b>Einflussgröße/Wechselwirkung</b>	<b>p-Wert</b>		
	<b>UMTS</b>	<b>GSM 1800</b>	<b>GSM 900</b>
Gruppe	0,30	0,74	0,40
Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
Zeit in Phase	0,0093*	0,34	0,68
<b>Gruppe × Phase</b>	0,054	<b>0,014 *</b>	0,27
Gruppe × Zeit in Phase	0,44	0,66	0,62
Phase × Zeit in Phase	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
<b>Gruppe × Phase × Zeit in Phase</b>	0,15	0,42	0,79
Leckwiderstand	0,0004*	< 0,0001*	< 0,0001*
effektiver Serienwiderstand	0,0018*	0,073	0,48
Temperatur	0,43	0,0003*	0,64

**Tabelle 7:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die Zielgröße relative Maximalstromamplitude, mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. P-Werte, die auf eine befeldungsabhängige signifikante Wechselwirkung (fettgedruckt) hindeuten, sind fettgedruckt hervorgehoben.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen für die Maximalstromamplitude waren für die relative Maximalstromamplitude bei der GSM 1800-Befeldung die Einflüsse der Befeldungsgruppe je nach der Befeldungsphase verschieden ( $p=0,014$ ). Ursache hierfür war der Verlauf der relativen Maximalstromamplitude für die Befeldungsgruppe mit der Intensität entsprechend einem SAR-Wert von 20 W/kg. Direkt nach Beginn der Befeldungsphase stieg die Maximalstromamplitude im Mittel etwas stärker an, um dann im Verlaufe der Messung etwas stärker abzusinken als bei den anderen Befeldungsgruppen. Diese Befeldungsgruppe enthielt allerdings auch die eine Zelle der Befeldungsart GSM 1800, die zu einem recht frühen Zeitpunkt einen starken Run-Down zeigte, was im Mittel zu dem etwas stärkeren Absinken der Werte über der Messdauer führte. Dies drückt sich auch im Effekt aus (s. Abschnitt 4.3): Die größte Differenz der mittleren relativen Maximalstromamplitude zum Verlauf in der Kontrollgruppe ergibt sich mit -0,049 für die Nachlaufphase in der Gruppe, deren SAR-Wert 20 W/kg betrug. Die Standardabweichung der Residuen („Messfehler“) betrug für diese Modellanpassung 0,044 und war damit betragsmäßig geringfügig kleiner als der maximale Effekt. Die biologische Relevanz des Effekts wird in Abschnitt 6.2 diskutiert.

Die vereinfachte Auswertung, die zur Fallzahlplanung verwendet wurde, ergab mittlere Differenzen zwischen den Mittelwerten über die Befeldungsphase und den Mittelwerte der Vorlaufphase von -3% (Scheinbefeldung), -3% (0,02 W/kg), -7% (0,2 W/kg), -1% (2 W/kg) und +0.5% (20 W/kg) bei GSM 1800. Keine der Differenzen zum mittleren Effekt der scheinbefeldeten Gruppe war in einem der drei Niveau-5%-Dunnett-Tests statistisch signifikant.

## 5.7 Membranpotential der halbmaximalen Aktivierung $V_{1/2}$

Das Membranpotential der halbmaximalen Aktivierung,  $V_{1/2}$ , charakterisiert die Lage der Aktivierungskurve des Stroms auf der Membranpotentialachse. Die Ergebnisse der Experimente sind in Abb. 18 für alle drei Befeldungsarten als kleine Symbole für alle Einzelergebnisse über der Zeitdauer des Experiments aufgetragen. Die Mittelwerte der Ergebnisse sind als offene Symbole mit den zugehörigen Standardabweichungen dargestellt. Die Vorhersagen des statistischen Modells sind als durchgezogene Linien darüberegelegt.

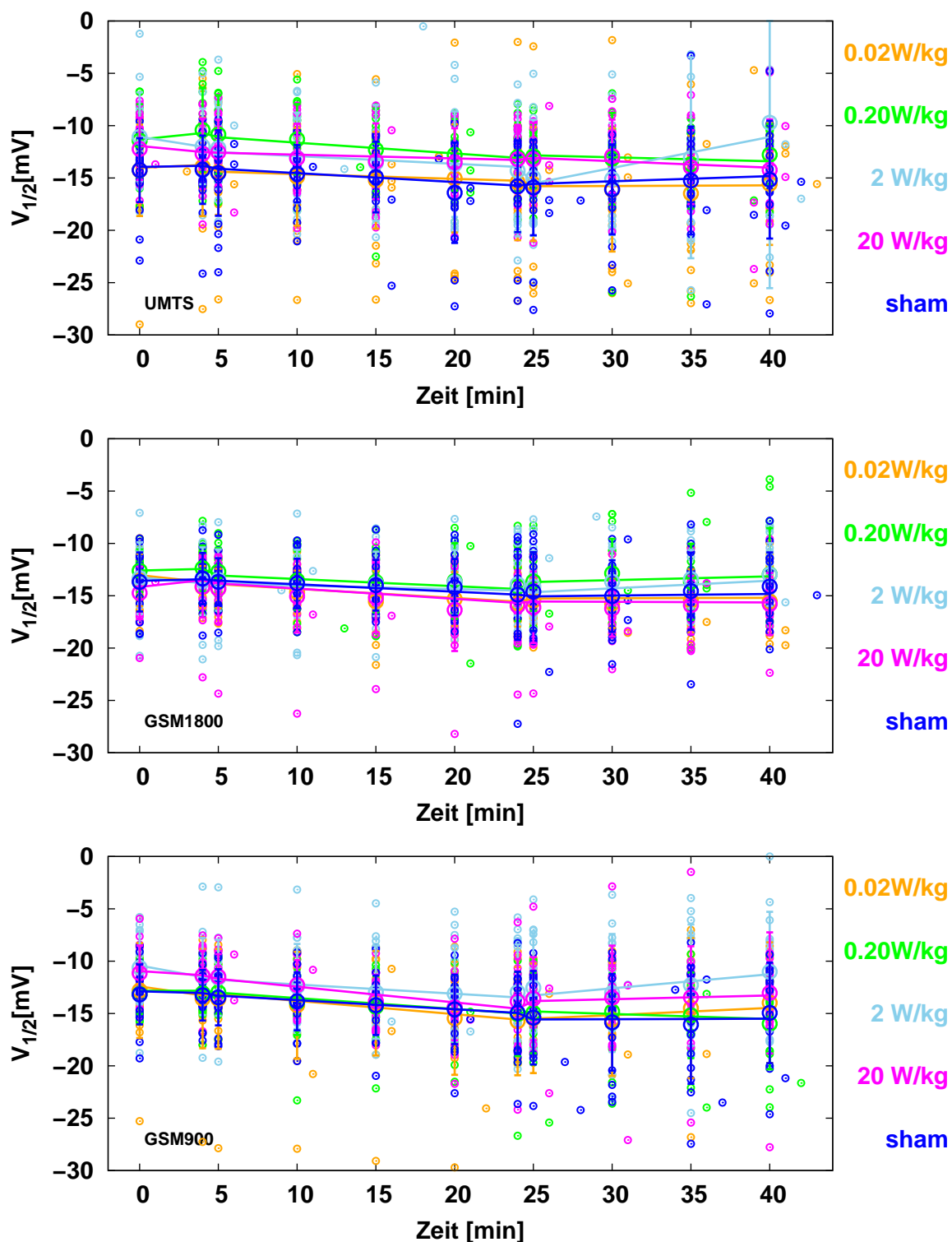
Die Daten zeigten für alle drei Befeldungsarten eine recht große Streuung und lagen zu Beginn der Messungen zwischen -10 mV und -15 mV. Im Verlauf der Messungen verringerte sich  $V_{1/2}$  im Mittel um wenige mV und gegen Ende der Messungen liegen die Werte von  $V_{1/2}$  eher um -15 mV und niedriger. Allerdings gab es einzelne Gruppen, bei denen sich der Mittelwert von  $V_{1/2}$  nicht deutlich verringerte bzw. während der letzten Messungen des Experiments wieder anstieg (s. Befeldungsgruppen deren Intensitäten 2 W/kg für alle drei Befeldungsarten und 0,02 W/kg für GSM 1800 entsprachen). Außerdem unterschieden sich die Mittelwerte zwischen einigen Gruppen deutlich, wie z. B. bei der UMTS-Befeldung. Allerdings traten diese absoluten Unterschiede schon mit Beginn der nicht-befeldeten Vorlaufphase auf und blieben über die gesamte Zeitdauer der Messungen in etwa konstant, so dass diese absoluten Unterschiede in den Mittelwerten nicht auf die Befeldung zurückgeführt werden können.

Die Ergebnisse der statistischen Analyse (Tab. 8) zeigten für alle Befeldungsarten signifikante Einflüsse mit p-Werten < 0,05 für die Einflussgrößen Befeldungsphase, für den Leck- und den Serienwiderstand. Hier ist hervorzuheben, dass sowohl der Leck- als auch der Serienwiderstand sich für alle Befeldungsarten als signifikante Einflussgröße für die Spannung der halbmaximalen Aktivierung zeigten (p < 0,0001 in *allen* Fällen), was den bekannten messtechnischen Einfluss (s. Abschnitt. 3.3) auf die Lage der Aktivierungskurven widerspiegelt.

Die Temperatur war auf dem 5%-Niveau für die GSM 1800-Befeldung eine signifikante Einflussgröße und ebenso die Einflussgröße Befeldungsphase  $\times$  Zeit in Phase für die GSM 900-Befeldung.

Ein einzelner Ausreißer in der Nachlaufphase verursachte signifikante UMTS-Befeldungseffekte, die verschwanden, wenn die betreffenden Messergebnisse in der statistischen Analyse nicht berücksichtigt wurden (UMTS 2 in der Tabelle). Der Ausreißer befand sich in der Befeldungsgruppe, deren Intensität 2 W/kg entsprach und ist dort durch den schon mehrfach erwähnten starken Run-Down genau einer Zelle entstanden. Durch die niedrige Stromamplituden waren die Daten so stark verrauscht, dass sie hier bei





**Abbildung 18:** Verlauf des Membranpotentials der halbmaximalen Stromaktivierung  $V_{1/2}$  über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten. Die Befeldungsarten (UMTS, GSM 900, GSM 1800) sind in den einzelnen Grafiken indiziert. Die Originaldaten sind farblich nach Gruppen mit kleinen Symbolen dargestellt. Die einzelnen Farben kodieren die Befeldungsgruppe und sind am Rand markiert. Die Mittelwerte sind in den entsprechenden Farben als offene Kreise mit Standardabweichungen symbolisiert. Die durchgezogenen Linien stellen die Vorhersage des Modells dar (Erläuterungen siehe Text).

den Anpassungen der Aktivierungskurven sehr große Werte für das Membranpotential der halbmaximalen Aktivierung lieferten. Zu erwähnen ist, dass die UMTS-Befeldung für die beiden Wechselwirkungen von Interesse („Befeldungsgruppe×Befeldungsphase“ und „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase×Zeit in Phase“) weder auf die Maximalstromamplitude noch auf die relative maximale Stromamplitude einen signifikanten Einfluss zeigte. Damit lässt sich der signifikante Test auf das Absinken der Stromamplitude zurückführen, die selbst *nicht* statistisch signifikant auf einen Einfluss durch die Befeldung zurückgeführt werden kann.

**Zielgröße: Membranpotential der halbmaximalen Stromaktivierung  $V_{1/2}$**

Einflussgröße/Wechselwirkung	p-Wert			
	UMTS	UMTS 2	GSM 1800	GSM 900
Gruppe	0,14	0,14	0,49	0,32
Phase	0,0006*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
Zeit in Phase	0,64	0,23	0,29	0,0066*
<b>Gruppe×Phase</b>	0,80	0,87	0,12	<b>0,037 *</b>
Gruppe×Zeit in Phase	0,91	0,68	0,46	0,97
Phase×Zeit in Phase	< 0,0001*	0,0022*	< 0,0001*	< 0,0001*
<b>Gruppe×Phase×Zeit in Phase</b>	<b>0,0004*</b>	0,16	0,36	<b>0,046 *</b>
Leckwiderstand	< 0,0001	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
effektiver Serienwiderstand	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
Temperatur	0,16	0,37	0,011 *	0,55

**Tabelle 8:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die Zielgröße Membranpotential der halbmaximalen Aktivierung  $V_{1/2}$ , mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. P-Werte, die auf eine befeldungsabhängige signifikante Wechselwirkung (fettgedruckt) hindeuten, sind fettgedruckt hervorgehoben.

Für diese Zielgröße zeigte sich allerdings auch für die GSM 900-Befeldung, der Einfluss von „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase“ (p-Wert=0,037) und „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase×Zeit in Phase“ (p-Wert=0,046) als auf dem 5%-Niveau signifikant. Ursache hierfür war, dass die Werte für  $V_{1/2}$  in der Befeldungsphase bei der Befeldung entsprechend einem SAR-Wert von 20 W/kg und 2 W/kg mit etwas anderen Steigungen als den drei anderen Intensitäten verliefen, aber vor allem bei einer Befeldung mit den Intensitäten entsprechend einem SAR-Wert von 0,02 W/kg und 2 W/kg nach Ende der Befeldungsphase leicht anstiegen. Die maximalen Effekte (s. a. Abschnitt 6.2) lagen hier in der Nachlaufphase bei der Intensität, die einem SAR-Wert von 2 W/kg entsprach, für die Wechselwirkung „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase“ bei 1,0 mV und für die Wechselwirkung „Befeldungsgruppe×Befeldungsphase×Zeit in Befeldungsphase“ bei 1,25 mV. Die Standardabweichung der Residuen („Messfehler“) hatte einen Wert von 1,5 mV und war damit größer als die größten Effekte. Die biologische Relevanz dieser Effekte wird in Abschnitt 6.2 diskutiert.

## 5.8 Steigung der Stromaktivierung $V_s$

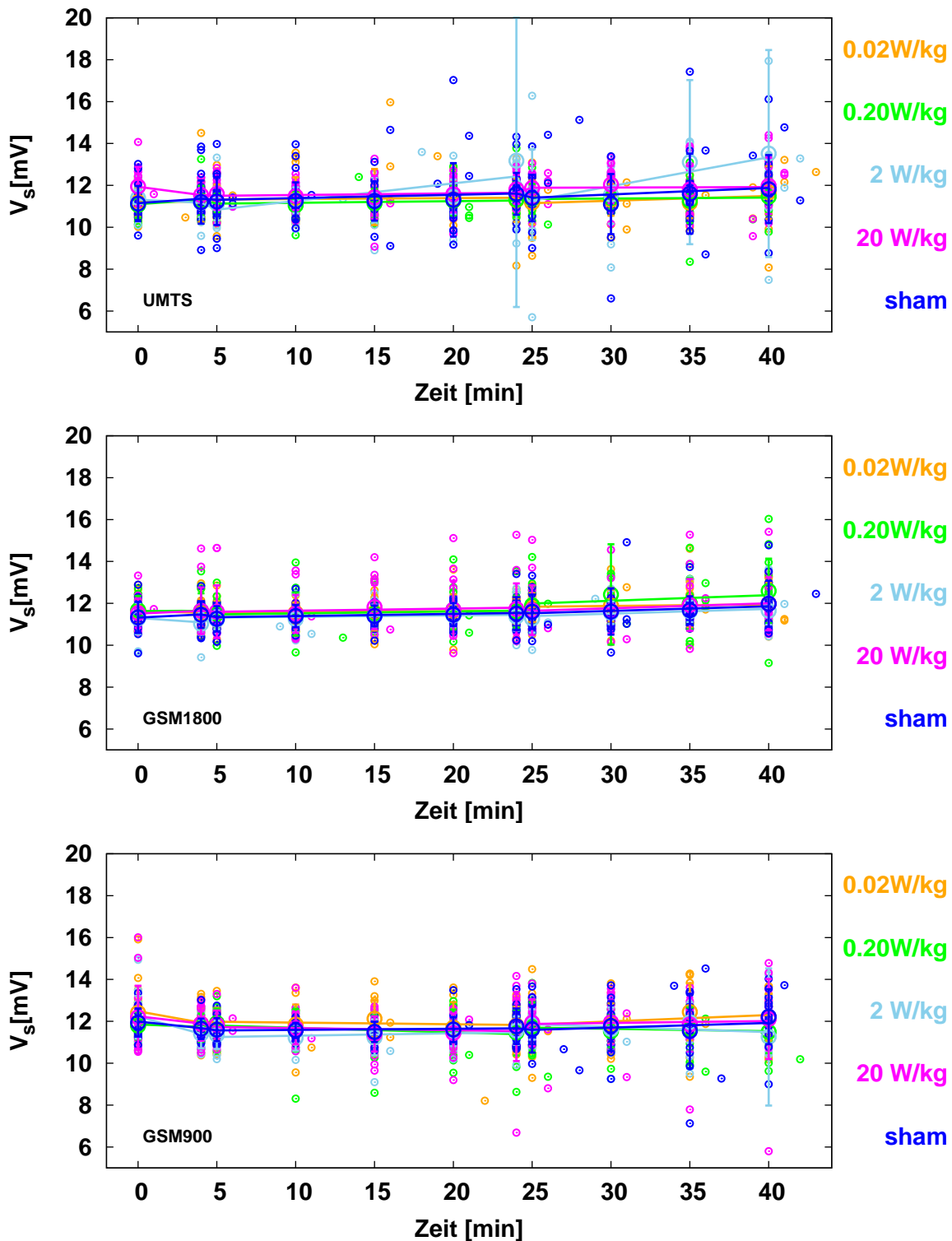
Der Parameter der Steigung der Stromaktivierung,  $V_s$ , gibt an, wie empfindlich die Ionenkanäle auf Spannungsänderungen reagieren, d. h. wieviele mV der Strom benötigt, um einen bestimmten Anteil vom Zustand „nicht-aktiviert“ nach „aktiviert“ zu überführen.

Die Ergebnisse der Messungen sind in Abb. 19 in mV als kleine Symbole über der Zeitdauer der Experimente für alle Befeldungsarten aufgetragen. Die Mittelwerte mit den Standardabweichungen sind als offene Symbole dargestellt und die Vorhersagen des statistischen Modells als durchgezogene Linien darübergerlegt. Die Daten zeigten für alle Befeldungsarten und -gruppen eine hohe Konstanz, die Standardabweichungen liegen bis auf wenige Ausnahmen unterhalb von einem mV. Allerdings stiegen auch hier die Standardabweichungen mit zunehmender Messdauer an. Bei der UMTS-Befeldung traten in der Befeldungsgruppe, deren Intensität einem SAR-Wert von 2 W/kg entsprach, bei der Zelle, die einen starken Abfall der Stromamplitude zeigte, bei den sehr niedrigen Stromamplituden Probleme bei der Anpassung der Aktivierungskurven auf, da die Stromwerte vom Hintergrundrauschen beeinflusst waren (s. a. Abschnitte 5.5 und 5.7). Auf den Parameter  $V_s$  hatte dies einen relativ starken Einfluss, da die Werte ansonsten eine sehr geringe Streuung zeigten. Die genannte Zelle führte deshalb für die Befeldungsgruppe, deren Intensität einem SAR-Wert von 2 W/kg entsprach, zu einigen „Ausreißerwerten“ bei der Anpassung der Aktivierungskurven, die sich an den großen Standardabweichungen dieser Befeldungsgruppe erkennen lassen.

Bei der statistischen Analyse (Tab. 9) zeigten wieder vor allem die Einflussgrößen, die direkt oder indirekt ein Voranschreiten der Zeit beinhalten, signifikante Einflüsse mit p-Werten  $< 0,05$ . Dies galt für die GSM 1800 und GSM 900-Befeldung für den Einfluss der Befeldungsphase sowie den Einfluss von „Zeit in Phase“ und „Befeldungsphase  $\times$  Zeit in Phase“ für die GSM 900-Befeldung. Außerdem war der Leckwiderstand für alle drei Befeldungsarten signifikant mit  $p < 0,05$ . Der Serienwiderstand war lediglich für GSM 1800 auf dem 5%-Niveau signifikant.

## 5.9 Vereinfachte Auswertung entsprechend der Auswertung zur Fallzahlabschätzung

Analog zur Auswertung für die Fallzahlabschätzung wurde zusätzlich eine vereinfachte Analyse für die elektrophysiologischen Zielgrößen relative maximale Stromamplitude, Spannung der halbmaximalen Stromaktivierung und der Steigung der Stromaktivierung durchgeführt. Hierfür wurden für jede Befeldungsgruppe die Messwerte für die jeweilige Phase gemittelt, und dann Differenzen gebildet zwischen den Mittelwerten der Befeldungs- und der Vorlaufphase, sowie zwischen den Mittelwerten der Nachlauf- und der Vorlaufphase. Diese Mittelwertdifferenzen wurden dann mit denen der Kontrollgruppe in einem t-Test auf Unterschiede untersucht, die auf dem 5%-Niveau signifikant waren, wobei die Unterschiede mit einer Dunnett's Korrektur wegen multiplen Testens gegen die Kontrollgruppe abgesichert wurden. Für die untersuchten elektrophysiologischen Zielgrößen relative maximale Stromamplitude, Spannung der halbmaximalen Stromaktivierung und Steigung der



**Abbildung 19:** Verlauf der Steigung der Stromaktivierung  $V_s$  über der Zeitdauer der Messung für die drei Befeldungsarten. Die Befeldungsarten (UMTS, GSM 900, GSM 1800) sind in den einzelnen Grafiken indiziert. Die Originaldaten sind farblich nach Gruppen mit kleinen Symbolen dargestellt. Die einzelnen Farben kodieren die Befeldungsgruppe und sind am Rand markiert. Die Mittelwerte sind in den entsprechenden Farben als offene Kreise mit Standardabweichungen symbolisiert. Die durchgezogenen Linien stellen die Vorhersage des Modells dar (Erläuterungen siehe Text).

**Zielgröße: Steigung der Stromaktivierung  $V_s$** 

Einflussgröße/Wechselwirkung	p-Wert		
	UMTS	GSM 1800	GSM 900
Gruppe	0,27	0,45	0,50
Phase	0,066	< 0,0001*	< 0,0001*
Zeit in Phase	0,30	0,22	0,0005*
<b>Gruppe × Phase</b>	0,69	0,13	0,76
Gruppe × Zeit in Phase	0,65	0,66	0,41
Phase × Zeit in Phase	0,51	0,17	0,0003*
<b>Gruppe × Phase × Zeit in Phase</b>	0,90	0,96	0,083
Leckwiderstand	0,0082*	0,0024*	0,014 *
effektiver Serienwiderstand	0,10	0,0022*	0,24
Temperatur	0,92	0,37	0,54

**Tabelle 9:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die Zielgröße Steigung der Stromaktivierung  $V_s$ , mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. Die beiden Wechselwirkungen von Interesse sind fettgedruckt hervorgehoben.

Stromaktivierung ergab sich für *keine* der drei Befeldungsarten ein *signifikanter* Einfluss der Befeldung (d. h., es galt jeweils  $p > 0,05$ ).

## 5.10 Analyse der Kontrollgruppen

Da die Scheinbefeldung für jede Befeldungsart unabhängig durchgeführt wurde, lässt sich anhand der Daten für diese scheinbefeldeten Gruppen abschätzen, wie die „normale“ Variabilität der Daten unter diesen Bedingungen ist.

Zunächst wurden die Daten für die scheinbefeldeten Zellen der drei Befeldungsarten in der gleichen statistischen Analyse verglichen wie die Daten für jede einzelne Befeldungsart. Als Befeldungsgruppe wurde hier die Befeldungsart angenommen. Die Ergebnisse sind als p-Werte für die jeweilige Zielgröße für die jeweiligen Einflussgrößen oder Wechselwirkungen von Einflussgrößen untereinander in Tab. 10 dargestellt.

Es treten zwar verschiedene mit  $p < 0,05$  signifikante Wechselwirkungen auf, allerdings betrifft keine davon den Einfluss der Gruppe, wie es zu erwarten war. Die überwiegende Zahl der mit  $p < 0,05$  signifikanten Einflüsse betrifft das explizite oder implizite (in Form der Abhängigkeit von der Phase) Voranschreiten der Zeit.

Damit konnte die Gruppenzugehörigkeit aus dem Modell für die Kontrollgruppen entfallen und das statistische Modell vereinfacht werden. Mit dem so vereinfachten Modell wurden die Analysen wiederholt. Ein Ergebnis dieser Analysen mit den Kontrollgruppen waren die Varianzen der Residuen bzw. die zugehörigen Standardabweichungen der Residuen.

Für die Tests mit dem obigen vollständigen Modell (mit Gruppen und individuellen Variationen der Zellen) stellt die Varianz der Residuen den „Messfehler“ dar, während in dem Modell ohne Gruppen *und* ohne Berücksichtigung der Variation der individuellen Zellen die Varianz der Residuen als die Summe aus Varianz durch Messfehler plus natürliche

Einflussgröße/Wechselw.	p-Wert						
	T	R <sub>L</sub>	R <sub>s</sub>	I	I <sub>rel</sub>	V <sub>1/2</sub>	V <sub>s</sub>
Gruppe	0,19	0,86	0,26	0,17	0,94	0,80	0,68
Phase	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*	0,0002*	0,11
Zeit in Phase	<0,0001*	0,020	<0,0001*	0,67	0,94	0,41	0,30
<b>Gruppe×Phase</b>	0,12	0,67	0,30	0,35	0,41	0,68	0,60
Gruppe×Zeit in Phase	0,23	0,91	0,91	0,60	0,86	0,82	0,34
Phase×Zeit in Phase	0,0022*	0,023 *	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*	0,50
<b>Gruppe×Phase×Zeit in Phase</b>	0,073	0,47	0,17	1,00	0,99	0,93	0,78
Leckwiderstand	0,027 *	—	0,14	0,021 *	0,068	<0,0001*	0,41
effektiver Serienwiderstand	0,023 *	0,028 *	—	0,0049*	0,0033*	0,0065*	0,40
Temperatur	—	0,089	0,23	0,21	0,93	0,69	0,48

**Tabelle 10:** Ergebnisse der F-Tests auf die aufgelisteten Effekte auf die angegebenen Zielgrößen der Kontrollgruppen, mit \* sind die Testergebnisse gekennzeichnet, die mit  $p < 0,05$  signifikant sind. Die beiden Wechselwirkungen von Interesse sind fettgedruckt hervorgehoben.

Variabilität angesehen werden muss. Über die Differenz der Varianzen lässt sich ein Maß für die natürliche Variabilität der jeweiligen Zielgröße bestimmen.

In Tab. 11 sind die zu beiden Modellvarianten (mit und ohne Berücksichtigung der Gruppen) gehörenden Standardabweichungen der Residuen (als Wurzeln aus den Varianzen) für die entsprechenden Zielgrößen aufgelistet. Die Werte für die einfachere Modellvariante *ohne* Berücksichtigung der individuellen Zellvariabilität und der Gruppenzugehörigkeit waren deutlich größer als bei dem vollständigen Modell. Zusätzlich sind in der dritten Spalte die aus den ersten beiden Spalten errechneten Standardabweichungen zwischen den Zellen angegeben. Diese Werte können als normale, natürliche Schwankungen der elektrophysiologischen Größen betrachtet werden.

Zielgröße	Standardabweichung		
	Messfehler (vollst. Modell)	Messfehler und nat. Variab. (vereinfachtes Modell)	nat. Variabilität
Temperatur T [°C]	0,052	1,01	1,01
Leckwiderstand R <sub>L</sub> [MΩ]	192	562	528
Serienwiderstand R <sub>s</sub> [%]	11,8	25,2	22,1
max. Stromamplitude I [nA]	0,016	0,057	0,055
rel. Maximalstromampl. I <sub>rel</sub>	0,068	0,18	0,17
Pot. der halbmax. Akt. V <sub>1/2</sub> [mV]	1,53	3,21	2,82
Steigung der Akt. V <sub>s</sub> [mV]	0,73	1,06	0,77

**Tabelle 11:** Auflistung der Standardabweichungen der Residuen aus den F-Tests für die Kontrollgruppen. Die Werte für den Messfehler und die gesamte aus Messfehler und natürlicher Variabilität zusammengesetzte Variabilität ergaben sich aus einer Anpassung des vollständigen Modells bzw. des vereinfachten Modells ohne Berücksichtigung der Gruppenzugehörigkeit und der individuellen Variabilität der Zellen. Die natürliche Variabilität (dritte Spalte) wurde als Wurzel aus der Differenz der Quadrate der Werte aus den beiden ersten Spalten berechnet. Die Werte sind in den Einheiten der Zielgröße angegeben, beim Serienwiderstand ist der Variationskoeffizient in Prozent angegeben. Die Werte für den „Messfehler“ in dieser Tabelle sind geringfügig anders als die entsprechenden Werte in den Abschnitten 5.4, 5.6 und 5.7, da es sich um eine andere Untergruppe der Daten — die Ergebnisse der drei Kontrollgruppen — handelt.

## 6 Bewertung und Diskussion der Ergebnisse

### 6.1 Zusammenfassende statistische Bewertung

Die statistische Auswertung zielte vor allem darauf ab, festzustellen, ob die untersuchten Zielgrößen hinsichtlich der kombinierten Wechselwirkungen von

- Befeldungsgruppe×Befeldungsphase
- Befeldungsgruppe×Befeldungsphase×Zeit in Phase

auf dem 5% Niveau signifikant waren. Bei insgesamt sechs untersuchten elektrophysiologischen Zielgrößen ergaben sich für je sechs statistische Tests, also für eine Gesamtzahl von 36 statistischen Tests, insgesamt fünf signifikante Wechselwirkungen:

- Befeldungsgruppe×Befeldungsphase für die Zielgröße Serienwiderstand bei der UMTS-Befeldung ( $p=0,0036$ )
- Befeldungsgruppe×Befeldungsphase für die Zielgröße der relativen maximalen Stromamplitude bei der GSM 1800-Befeldung ( $p=0,014$ )
- Befeldungsgruppe×Befeldungsphase×Zeit in Phase für die Zielgröße der Spannung der halbmaximalen Stromaktivierung für die UMTS- ( $p=0,004$ ) und die GSM 900-Befeldung ( $p=0,046$ )
- Befeldungsgruppe×Befeldungsphase für die Zielgröße der Spannung der halbmaximalen Stromaktivierung für GSM 900-Befeldung ( $p=0,037$ )

In dem einen Fall für die Wechselwirkung von Befeldungsgruppe und -phase auf die Spannung der halbmaximalen Stromaktivierung bei der UMTS-Befeldung ließ sich statistische Signifikanz auf einen Ausreißer (s. Abb. 18 und Tab. 8) in den Messwerten zurückführen, der durch das frühzeitige, starke Absinken der Stromamplitude genau einer Zelle bedingt war; ohne diese Zelle ergab sich keine signifikante Wechselwirkung mehr (Tab. 8).

Die verbleibenden vier signifikanten Ergebnisse verteilten sich, ohne eine Systematik zu zeigen, auf die drei Befeldungsarten. Dem stehen drei elektrophysiologischen Zielgrößen gegenüber, die in keinem der Tests auf eine Wechselwirkung der Befeldung auf die Zielgrößen ein auf dem 5% Niveau signifikantes Ergebnis lieferten.

Wie sich die Befeldung in einer systematischen Weise in den statistischen Tests als signifikanter Einfluss widerspiegeln konnte, zeigte sich bei der Zielgröße Temperatur. Über die bekannte thermische Wechselwirkung ergaben sich für *alle* Befeldungsarten und *beide* Wechselwirkungen von Interesse  $p$ -Werte  $<0,0001$ . Dies ist insofern bemerkenswert, da eine Temperaturerhöhung durch die Befeldung nur in der Befeldungsgruppe mit dem höchsten SAR-Wert von 20 W/kg auftrat und mit 0,2°C deutlich kleiner war als die Standardabweichung der Temperaturmittelwerte, die bei etwa 1°C lag.

Ein weiteres Beispiel für einen systematischen — in diesem Fall befeldungsunabhängigen — Einfluss auf die Zielgrößen stellten die Ergebnisse für die Spannung der halbmaximalen

Stromaktivierung  $V_{1/2}$  dar. Sowohl der Leckwiderstand als auch der Serienwiderstand zeigten als Einflussgrößen für alle Befeldungsarten einen signifikanten Einfluss mit  $p < 0,0001$ . Zusätzlich ergab die vereinfachte Auswertung, wie sie auch schon für die Fallzahlplanung verwendet wurde, für *keine* der getesteten elektrophysiologischen Zielgrößen relative Maximalstromamplitude, Spannung der halbmaximalen Stromaktivierung und Steigung der Stromaktivierung einen auf dem 5%-Niveau signifikanten Einfluss der Befeldung für alle drei Befeldungsarten.

Insgesamt zeigten die statistisch signifikanten Einflüsse, die in Zusammenhang mit der Befeldung auftraten, keinen systematischen Zusammenhang mit der Befeldungsintensität, traten nicht für alle untersuchten Zielgrößen auf und erschienen nur jeweils bei einer Befeldungsart. Vergleicht man diese statistisch signifikanten Ergebnisse mit dem zu erwartenden thermischen Einfluss der Befeldung bei der Zielgröße Temperatur oder mit den Einflüssen des Leck- und Serienwiderstandes bei der Zielgröße des Membranpotentials der halbmaximalen Aktivierung des Stroms, die jeweils in *allen* statistischen Tests für *alle* Befeldungsarten mit  $p < 0,0001$  statistisch signifikant waren, so lässt dies den Schluss zu, dass die wenigen signifikanten Ergebnisse in Zusammenhang mit der Befeldung Zufallsergebnisse darstellen. Dies wird zudem durch die vereinfachte Auswertung unterstützt, die in keinem Fall eine statistisch signifikante Differenz mit  $p < 0,05$  zu den Ergebnissen der scheinbefeldeten Kontrollgruppe lieferte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Ergebnisse der statistischen Analyse keine Hinweise auf einen systematischen, signifikanten Zusammenhang zwischen Befeldung und den untersuchten Zielgrößen lieferte.

## 6.2 Biologische Bewertung

Bei der Fallzahlabeschätzung wurde eine hohe Genauigkeit der Daten gefordert, so dass geringe Änderungen als statistisch signifikant erkannt werden konnten. Wie schon im Abschnitt 6.1 festgestellt wurde, ergaben sich keine systematischen mit einer bestimmten Befeldungsintensität oder Befeldungsart einhergehenden signifikanten Einflüsse der Befeldung auf die Daten. Einige der signifikanten Einflüsse ergaben sich sehr wahrscheinlich durch einzelne oder wenige Ausreißerzellen in den Daten, die aufgrund der ansonsten sehr homogenen Ergebnisse die Verläufe der Mittelwerte einzelner Gruppen relativ stark beeinflussen konnten. Die gefundenen signifikanten Ergebnisse sind zudem z. T. durch relativ geringe Änderungen der Zielgrößen zwischen den einzelnen Gruppen hervorgerufen worden. Die Empfindlichkeit der Messungen lässt sich daran erkennen, dass die statistischen Tests signifikante Ergebnisse lieferten, wenn die Effekte größer als der halbe Messfehler waren.

Für zwei Zielgrößen, die Maximalstromamplitude und das Membranpotential der halbmaximalen Aktivierung, zeigen die Daten schon in der Vorlaufphase relativ große Differenzen zwischen den Mittelwerten, die auch über die gesamte Zeitdauer der Messung bestehen bleiben. Hier zeigte sich, dass z. B. für diese zwei Zielgrößen die biologische Variabilität erheblich sein konnte. Um eine abschließende Bewertung vornehmen zu können, müssen



diese Effekte im Vergleich zu den natürlichen Variationen der gemessenen elektrophysiologischen Werte betrachtet werden.

Zur Bewertung der gefundenen signifikanten Abweichungen der Zielgrößen kann die Analyse der Kontrollgruppen herangezogen werden. Hier zeigte sich, dass die Kontrollgruppen — wie zu erwarten war — keinen signifikanten Unterschied bezogen auf ihre Gruppenzugehörigkeit aufwiesen — womit sie scheinbefeldet wurden, war demnach irrelevant. Dadurch konnte das Modell für die Kontrollgruppen vereinfacht werden, indem alle Wechselwirkungen mit der Einflussgröße der Gruppenzugehörigkeit entfernt wurden. Aus beiden Modellen ließ sich die natürliche Variabilität der Daten berechnen.

Betrachtet man die Effekte der Befeldung, die zu den mit  $p < 0,05$  signifikanten F-Tests führten, ergibt sich für die Zielgröße der relativen maximalen Stromamplitude bei dem signifikanten Ergebnis für die GSM 1800-Befeldung ein maximaler Effekt von  $-0,049$ . Im Vergleich zur natürlichen Variabilität für diese Zielgröße von  $0,17$  (Tab. 11) ist diese Differenz also um mehr als den Faktor 3 kleiner. Ein ähnliches Bild ergibt sich für die signifikanten Testergebnisse der Zielgröße des Potentials der halbmaximalen Aktivierung des Stroms. Hier lagen die maximalen Effekte für die Wechselwirkung „Gruppe $\times$ Phase $\times$ Zeit“ in Phase bei  $1,25$  mV bzw. bei  $1,0$  mV für die Wechselwirkung „Gruppe $\times$ Phase“ ebenfalls deutlich unterhalb der natürlichen Variabilität von  $2,8$  mV (Tab. 11). Ein analoges Bild ergibt sich für den Serienwiderstand mit einem Effekt von  $-4\%$  und einer natürlichen Variabilität von  $22\%$ . Deshalb ist davon auszugehen, dass die gefundenen signifikanten Testergebnisse keine biologisch relevanten Einflüsse repräsentieren.

Verglichen mit den bekannten Patch-Clamp Messungen unter Mobilfunkbefeldung von Linz et al. (1999) (s. a. Literaturstudie im Anhang) und Platano et al. (2007) wurden in der vorliegenden Studie wesentlich mehr Zellen über deutlich längere Befeldungs- und Ableitdauern untersucht. Die vorliegenden Ergebnisse liefern keinen Hinweis, dass eine Befeldung mit einer der drei getesteten Befeldungsarten bei den verwendeten Intensitäten einen physiologisch relevanten Einfluss auf die gemessenen Ströme durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkanäle von inneren Haarsinneszellen hat. Über Langzeiteffekte können mit den hier durchgeführten Untersuchungen keine Aussagen gemacht werden.

## Literatur

- Al-Dousary, S. H. (2007). "Mobile phone induced sensorineural hearing loss," *Saudi Med. J.* **28**, 1283–1286.
- Al-Khlaiwi, T., und Meo, S. A. (2004). "Association of mobile phone radiation with fatigue, headache, dizziness, tension and sleep disturbance in Saudi population," *Saudi Med. J.* **25**, 732–736.
- Bean, B. P. (1992). "Whole-cell recording of calcium channel currents," *Methods Enzymol.* **207**, 181–193.
- Brandt, N., Kuhn, S., Münkner, S., Braig, C., Winter, H., Blin, N., Vonthein, R., Knipper, M., und Engel, J. (2007). "Thyroid hormone deficiency affects postnatal spiking activity and expression of Ca<sup>2+</sup> and K<sup>+</sup> channels in rodent inner hair cells," *J. Neurosci.* **27**, 3174–3186.
- Cecola, R., und Bobbin, R. (1992). "Lowering extracellular chloride concentration alters outer hair cell shape," *Hear. Res.* **61**, 65–72.
- D'Angelo, E., de Filippi, G., Rossi, P., und Taglietti, V. (1997). "Synaptic activation of Ca<sup>2+</sup> action potentials in immature rat cerebellar granule cells in situ," *J. Neurophysiol.* **78**, 1631–1642.
- Davidson, H., und Lutman, M. (2007). "Survey of mobile phone use and their chronic effects on the hearing of a student population," *Int. J. Audiol.* **46**, 113–118.
- Galloni, P., Lovisolò, G. A., Mancini, S., Parazzini, M., Pinto, R., Piscitelli, M., Ravazzani, P., und Marino, C. (2005). "Effects of 900 MHz electromagnetic fields exposure on cochlear cells' functionality in rats: Evaluation of distortion product otoacoustic emissions," *Bioelectromagnetics* **26**, 536–547.
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., und Sigworth, F. J. (1981). "Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches," *Pflügers Archiv* **391**, 85–100.
- Helmchen, F., Imoto, K., und Sakmann, B. (1996). "Ca<sup>2+</sup> buffering and action potential-evoked Ca<sup>2+</sup> signaling in dendrites of pyramidal neurons." *Biophys. J.* **70**, 1069–1081.
- Holtze, C., Sivaramakrishnan, R., Antonietti, M., Tsuwi, J., Kremer, F., und Kramer, K. D. (2006). "The microwave absorption of emulsions containing aqueous micro- and nanodroplets: A means to optimize microwave heating," *J. Colloid Interface Sci.* **302**, 651–657.
- Iwasaki, S., Momiyama, A., Uchitel, O. D., und Takahashi, T. (2000). "Developmental changes in calcium channel types mediating central synaptic transmission," *J. Neurosci.* **20**, 59–65.

- Janssen, T., Boege, P., von Mikusch-Buchberg, J., und Raczek, J. (2005). "Investigation of potential effects of cellular phones on human auditory function by means of distortion product otoacoustic emissions," *J. Acoust. Soc. Am.* **117**, 1241–1247.
- Kalluri, R., und Shera, C. A. (2001). "Distortion-product source unmixing: A test of the two-mechanism model for DPOAE generation," *J. Acoust. Soc. Am.* **109**, 622–637.
- Kerekhanjanarong, V., Supiyaphun, P., Naratricoon, J., und Laungpitackchumpon, P. (2005). "The effect of mobile phone to audiologic system," *J. Med. Assoc. Thai.* **88 Suppl. 4**, S231–234.
- Kiang, N. Y. S. (1984). "Peripheral neural processing of auditory information," in *Handbook of Physiology, Sensory Processes*, herausgegeben von I. Darian-Smith, J. M. Brookhart, und V. B. Mountcastle, Band III, 640, American Physiological Society, Bethesda MD.
- Knirsch, M., Brandt, N., Braig, C., Münkner, S., Kuhn, S., Schug, N., Knipper, M., und Engel, J. (2007). "Persistence of  $\text{Ca}_v1.3 \text{Ca}^{2+}$  channels in mature outer hair cells supports outer hair cell afferent signalling," *J. Neurosci.* **27**, 6442–6451.
- Koschak, A., Reimer, D., Walter, D., Hoda, J.-C., Heinzle, T., Grabner, M., und Striessnig, J. (2003). " $\text{Ca}_v1.4\alpha1$  subunits can form slowly inactivating dihydropyridine-sensitive L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels lacking  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent inactivation," *J. Neurosci.* **23**, 6041–6049.
- Liberti, M., Apollonio, F., Paffi, A., Pellegrino, M., und D'Inzeo, G. (2004). "A coplanar-waveguide system for cells exposure during electrophysiological recordings," *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.* **52**, 2521–2528.
- Linz, K., von Westphalen, C., Streckert, J., Hansen, V., und Meyer, R. (1999). "Membrane potential and currents of isolated heart muscle cells exposed to pulsed radio frequency fields," *Bioelectromagnetics* **20**, 497–511.
- Maby, E., Jeannès, R. L. B., Liégeois-Chauvel, C., Gourevitch, B., und Faucon, G. (2004). "Analysis of auditory evoked potential parameters in the presence of radiofrequency fields using a support vector machines method," *Mod. Biol. Eng. Comput.* **42**, 562–568.
- Maby, E., Le Bouquin Jeannès, R., und Faucon, G. (2006). "Scalp localization of human auditory cortical activity modified by GSM electromagnetic fields," *Int. J. Radiat. Biol.* **82**, 465–472.
- Maby, E., Le Bouquin Jeannès, R., Faucon, G., Liégeois-Chauvel, C., und De Sèze, R. (2005). "Effects of GSM signals on auditory evoked responses," *Bioelectromagnetics* **26**, 341–350.
- Mallat, S. G. (1989). "Multifrequency channel decompositions of images and wavelet models," *IEEE Trans. ASSP* **37**, 2091–2110.
- Meo, S. A., und Al-Drees, A. M. (2005). "Mobile phone related-hazards and subjective hearing and vision symptoms in the Saudi population," *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* **18**, 53–57.

- Monnery, P., Srouji, E., und Bartlett, J. (2004). "Is cochlear outer hair cell function affected by mobile telephone radiation?" *Clin. Otolaryngol.* **29**, 747–749.
- Mora, R., Crippa, B., Mora, F., und Dellepiane, M. (2006). "A study of the effects of cellular telephone microwave radiation on the auditory system in healthy men," *Ear Nose Throat J.* **85**, 162–3.
- Oysu, C., Topak, M., Celik, O., Yilmaz, H. B., und Sahin, A. A. (2005). "Effects of the acute exposure to the electromagnetic field of mobile phones on human auditory brainstem responses," *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* **262**, 839–843.
- Paglalunga, A., Tognola, G., Parazzini, M., Lutman, M. E., Bell, S. L., Thuroczy, G., und Ravazzani, P. (2007). "Effects of mobile phone exposure on time frequency fine structure of transiently evoked otoacoustic emissions," *J. Acoust. Soc. Am.* **122**, 2174–2182.
- Parazzini, M., Bell, S., Thuroczy, G., Molnar, F., Tognola, G., Lutman, M., und Ravazzani, P. (2005). "Influence on the mechanisms of generation of distortion product otoacoustic emissions of mobile phone exposure," *Hear. Res.* **208**, 68–78.
- Parazzini, M., Galloni, P., Piscitelli, M., Pinto, R., Lovisolo, G. A., Tognola, G., Ravazzani, P., und Marino, C. (2007). "Possible combined effects of 900 mhz continuous-wave electromagnetic fields and gentamicin on the auditory system of rats," *Rad. Res.* **167**, 600–605.
- Platano, D., Mesirca, P., Paffi, A., Pellegrino, M., Liberti, M., Apollonio, F., Bersani, F., und Aicardi, G. (2007). "Acute exposure to low-level CW and GSM-modulated 900 MHz radiofrequency does not affect Ba<sup>2+</sup> currents through voltage-gated calcium channels in rat cortical neurons," *Bioelectromagnetics* **Jul. 9**, Epub ahead of print.
- Platzer, J., Engel, J., Schrott-Fischer, A., Stephan, K., Bova, S., Zheng, H., Chen, H., und Striessnig, J. (2000). "Congenital deafness and sinoatrial node dysfunction in mice lacking class d L-type Ca<sup>2+</sup> channels," *Cell* **102**, 89–97.
- Pyott, S. J., Glowatzki, E., Trimmer, J. S., und Aldrich, R. W. (2004). "Extrasynaptic localization of inactivating calcium-activated potassium channels in mouse inner hair cells," *J. Neurosci.* **24**, 9469–9474.
- Rauber, A., und Kopsch, F. (1994). *Anatomie des Menschen, Bd. 3, Nervensystem*, Thieme, Stuttgart.
- Sakmann, B., und Neher, E., Herausgeber (1995). *Single-Channel Recording*, Plenum Press, New York, 2. Auflage.
- Sievert, U., Eggert, S., Goltz, S., und Pau, H. W. (2007). "Wirkung elektromagnetischer Felder des GSM-Mobilfunksystems auf auditives und vestibuläres Labyrinth und Hirnstamm," *Laryngorhinootologie* **86**, 264–270.

- Sinnegger, M. J., Wang, Z., Grabner, M., Hering, S., Striessnig, J., Glossmann, H., und Mitterdorfer, J. (1997). "Nine L-type amino acid residues confer full 1,4-dihydropyridine sensitivity to the neuronal calcium channel  $\alpha_{1A}$  subunit," *J. Biol. Chem.* **272**, 27686–27693.
- Uloziene, I., Uloza, V., Gradauskiene, E., und Saferis, V. (2005). "Assessment of potential effects of the electromagnetic fields of mobile phones on hearing," *BMC Public Health* **5**, 39.
- Wikimedia Commons (2003). "Ear-anatomy-text-small.png," Wikimedia Commons, ein freies Dokument nach der GNU Free document license, Version 1.2.
- Zeddies, D., Dong, Q., und Siegel, J. (2000). "Rapid swelling of hair cells in isolated cochleas perfused with standard culture media," in *Proceedings of the ARO midwinter meeting*, Association for Research in Otolaryngology, abstract #5029.

## Danksagung

Wir danken Herrn Prof. Dr.-Ing. Volkert Hansen, Herrn Dr.-Ing. Joachim Streckert, Herrn Dipl.-Ing. Abdessamad El Ouardi, Frau Dipl.-Ing. Tina Reinhardt und Herrn Dr.-Ing. Andreas Bitz für die Konstruktion, Herstellung, und die sehr gute Zusammenarbeit beim Betrieb der drei Befeldungsanlagen.

Wir danken Frau Sylvia Kasperek, ohne deren exzellente technische Unterstützung und die gleichbleibend hohe Qualität der Präparate die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen wäre.

Herrn Klaus Vollmer, der mit seinen technischen Fertigkeiten bei der Modifikation der Vorverstärkerstufe die Studie buchstäblich gerettet hat, gilt unser besonderer Dank.

Prof. Dr. med. Dr. h. c. mult. H.-P. Zenner danken wir für die Bereitstellung der hervorragenden Infrastruktur im Hörforschungszentrum Tübingen.

---

# **Anhang**

## **HF-Exposition und Dosimetrie**





# **HF-Exposition und Dosimetrie**

**zum BfS – Forschungsprojekt**

**" Einfluss hochfrequenter elektromagnetischer Felder  
der Mobilfunkkommunikation auf Sinnesorgane**

**A. Das Hörsystem "**

Auftraggeber:

Universitätsklinikum Tübingen

Physiologisches Institut Abt. II, Medizinische Fakultät

Dr. Engel

Geissweg 3, 72076 Tübingen

Auftragnehmer:

Bergische Universität Wuppertal

Lehrstuhl für Theoretische Elektrotechnik

Prof. Dr.-Ing. Volkert Hansen

Rainer-Gruenter-Str. 21, 42119 Wuppertal

## **Abschlussbericht**

### **November 2007**

Autoren:

Dr.-Ing. Andreas Bitz

Dipl.-Ing. Abdessamad El Ouardi

Dipl.-Ing. Tina Reinhardt

Dr.-Ing. Joachim Streckert

Der Abschlussbericht fasst die bisherigen Berichte zusammen und ersetzt diese.



## Einleitende Bemerkungen

Für 'in vitro'-Experimente zum Einfluss hochfrequenter elektromagnetischer Felder der Mobilfunkkommunikation auf das Hörsystem wurden im Rahmen des Forschungsprojektes drei Expositionseinrichtungen, basierend auf dem Prinzip der Finnleitung, konzipiert, aufgebaut, sowie messtechnisch und dosimetrisch analysiert. Untersuchungsobjekte sind Haarzellen aus dem Corti-Organ von Mäusen, die in einem speziell geformten, mit extrazellulärer Lösung gefüllten Probengefäß 'in vitro' exponiert und mit Hilfe der 'patch clamp'-Methode vermessen wurden.

In der ersten Versuchsphase ab November 2005 erfolgte die Exposition mit einem generischen UMTS-Signal gemäß dem FDD-Standard [Ndoumbè et al. 2004] bei einer Frequenz von 1,97 GHz, in den beiden nachfolgenden Versuchsphasen mit generischen GSM-Signalen [Schüller et al. 2000] bei Frequenzen von 900 und 1800 MHz. Die Anlage für 1800 MHz wurde der Universität Tübingen am 24.5.2006 auf Abruf übergeben, die Auslieferung der 900 MHz-Anlage erfolgte am 7.12.2006. Die gewohnte Handhabung der bisher vorhandenen physiologischen Apparatur konnte trotz Integration des Feldapplikators in allen Fällen nahezu unverändert erhalten bleiben.

## Zusammenfassung

In der UMTS-Anlage wurde bei der maximal gewünschten spezifischen Absorptionsrate von 20 W/kg nach 30 Minuten eine Erwärmung der extrazellulären Lösung im Probengefäß (Füllmenge 3 ml) von 1,2 °C gemessen. Da die Menge der Lösung im Probengefäß nach Überstellung der Anlage an die Partner in Tübingen aufgrund von Vorversuchen auf 0,75 ml reduziert wurde, was eine deutliche Verringerung der Verlustleistung zur Folge hat, lässt sich bei der höchsten Dosis von 20 W/kg, für die eine mittlere HF-Leistung von  $P_{in} = 18$  mW einzuspeisen ist, anhand der während der Experimente aufgenommenen Messprotokolle über die Expositionsdauer von ca. 20 Minuten endgültig eine Temperaturerhöhung von höchstens 0,4 °C in der Zellflüssigkeit angeben. Bei diesem Wert sind die Beiträge durch die Hochfrequenz-Exposition einerseits und durch Umgebungstemperaturschwankungen andererseits noch nicht voneinander separiert.

Die berechnete Variation der SAR bei Verschiebung der 'patch clamp'-Elektrode über den möglichen Aufenthaltsbereich der Zellen beträgt ca. +/- 10%.

In der 1800 MHz-Anlage wird zur Erzielung der maximal gewünschten Spezifischen Absorptionsrate von 20 W/kg, bezogen auf das Volumen der extrazellulären Lösung im Probengefäß von 0,75 ml, eine eingespeiste HF-Leistung von  $P_{in} = 19$  mW (äquivalente Dauerstrich-Leistung) benötigt. Damit wurde nach 30-minütiger Exposition der Lösung ein Temperaturanstieg von 0,15 °C gemessen (Maximalwert, danach keine weitere Temperaturerhöhung).

In der 900 MHz-Anlage beträgt die HF-Speiseleistung zur Erzielung der höchsten Absorptionsrate  $P_{in} = 50$  mW. Der maximale Temperaturanstieg nach 30-minütiger Exposition mit 20 W/kg (Füllmenge 0,75 ml) wurde zu 0,2 °C gemessen.



## UMTS-Anlage

### 1.1 Prinzipieller Aufbau, Wellentypen und Grunddimensionierung der UMTS-Expositions- vorrichtung

Bild 1 zeigt schematisch den vorhandenen physiologischen Messaufbau vor Implementierung der HF-Expositionsanlage. Teile des Corti-Organs einer Maus, die die zu untersuchenden inneren Haarzellen enthalten, werden präpariert und *in vitro* in einem speziell geformten, mit extrazellulärer Lösung gefüllten Plastikgefäß untersucht, indem eine dünne 'patch clamp'-Elektrode aus Glas mit einer der Haarzellen kontaktiert und der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenstrom zwischen Zellinnerem und Umgebung gemes-

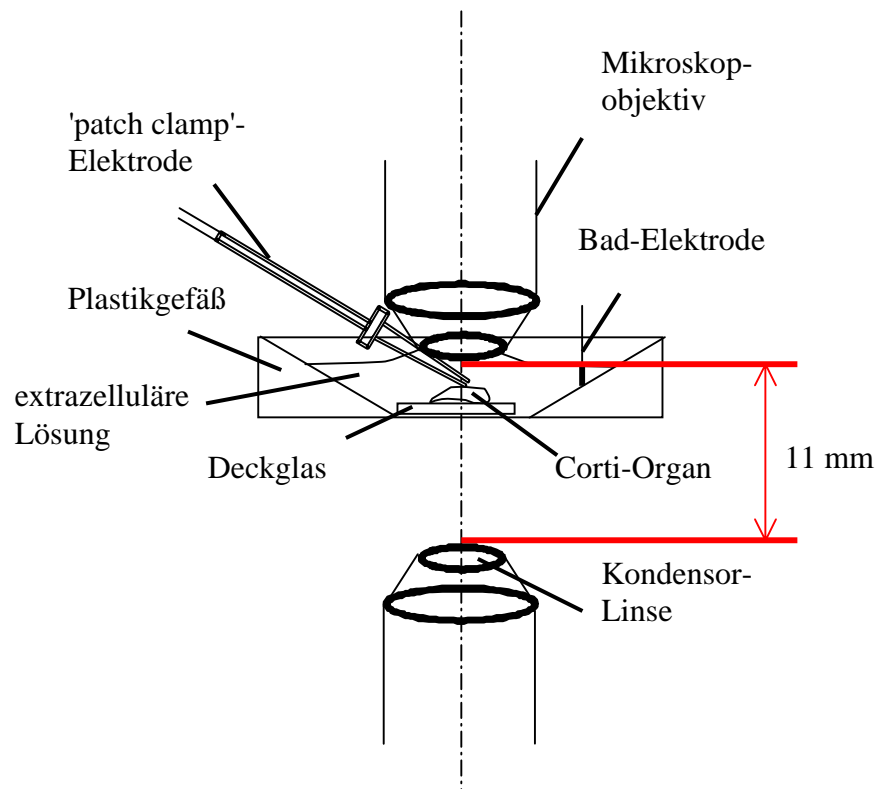


Bild 1: Versuchsaufbau ohne Expositionseinrichtung

sen wird. Die Haarzellen können sich in einem Bereich von 4 mm Durchmesser befinden. Das Probengefäß hat einen Glasboden, auf den ein zusätzliches Deckglas mit der Zellprobe aufgelegt wird. Zur Beobachtung des Kontaktierungsvorgangs kommt ein Wasserimmersionsmikroskop mit 3,6 mm Arbeitsabstand zum Einsatz. Unterhalb des Probengefäßes ist eine Kondensatorlinse mit 6,8 mm Arbeitsabstand montiert, die den Lichtstrahl zur Beleuchtung der Zellen fokussiert.

Das wesentliche Problem bei der Entwicklung einer HF-Expositionsanlage bestand darin, dass zwischen Mikroskopobjektiv und Kondensatorlinse, die wegen ihrer metallischen Gehäuse unbedingt außerhalb des Expositionsfeldes platziert werden müssen, ein Bereich von nur ca. 11 mm Höhe für die Beaufschlagung mit dem HF-Feld zur Verfügung steht. Als Lösung wurde eine teilgeschirmte Finnleitung entwickelt, deren Querschnitt und Leerfeld in Bild 2 gezeigt sind (Der englische Begriff "finline" für eine derartige Wellenleitung wird hier durchgängig mit "Finnleitung" übersetzt). Im Prinzip handelt es sich um eine Rechteckhohlleitung, an deren Seitenwänden zwei Metallstege ("Finnen") befestigt sind, sodass sich in dem Schlitz zwischen den Finnen eine Welle mit sehr hoher elektrischer Feldstärke ausbreitet.

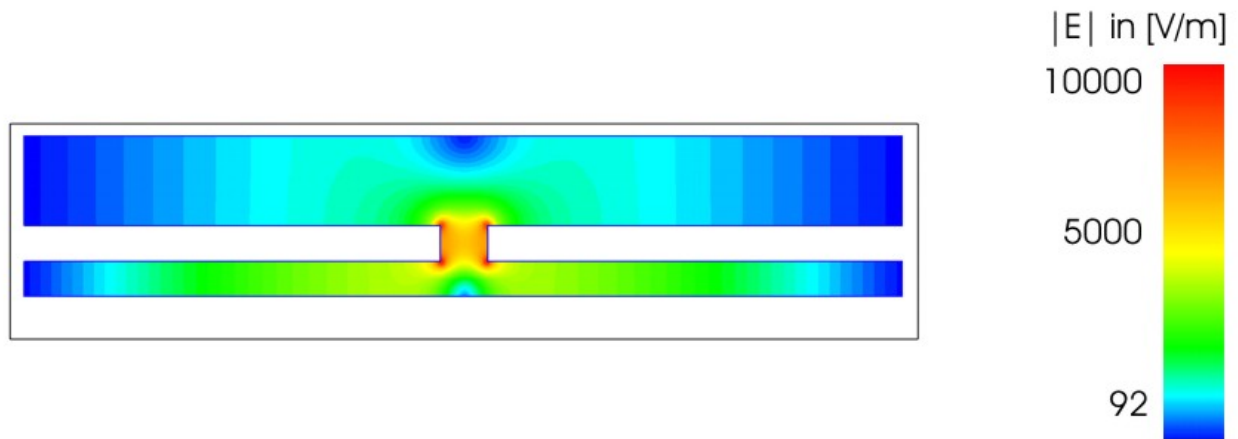


Bild 2: Betrag der elektrischen Feldstärke im Querschnitt der leeren UMTS-Finnleitung ( $P_{in} = 1 \text{ W}$ )

Das Probengefäß wird durch eine kreisrunde Öffnung im Deckel der Struktur mittig auf die Finnen aufgesetzt, um mit dem aus dem Schlitz austretenden Feld die Haarzellen zu exponieren (vgl. Bild 3).

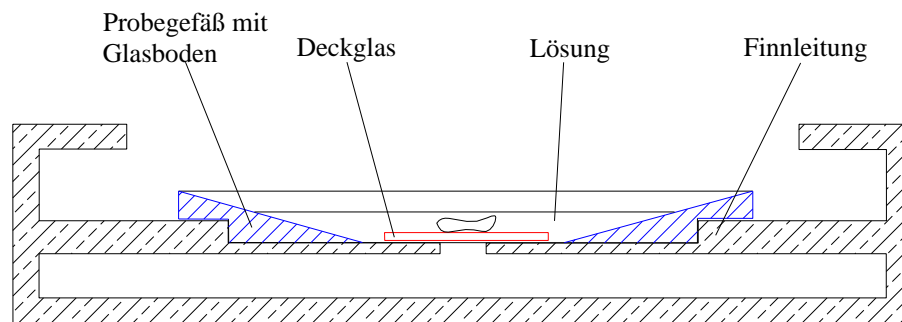


Bild 3: Finnleitung mit Kreisöffnung und Probengefäß

Die Festlegung der in Bild 4 eingetragenen Dimensionierungsparameter der Finnleitung setzt u. a. die Kenntnis aller Wellentypen der Struktur voraus. Dazu wurde das zugehörige Eigenwertproblem gelöst, dessen Ergebnis in Bild 5 dargestellt ist. Ferner dürfen die Außenabmessungen nicht beliebig groß gewählt werden, um die Integrierbarkeit in den physiologischen Messaufbau zu gewährleisten.

Für die in Tabelle I angegebenen Dimensionen ist bei der Expositionsfrequenz  $f = 1,97 \text{ GHz}$  nur die gewünschte Finnwelle ausbreitungsfähig; die beiden nächsthöheren Wellentypen, die den Hohlleitungsmoden in den durch die Finnen separierten Kammern entsprechen, haben Grenzfrequenzen größer als  $1,97 \text{ GHz}$ .

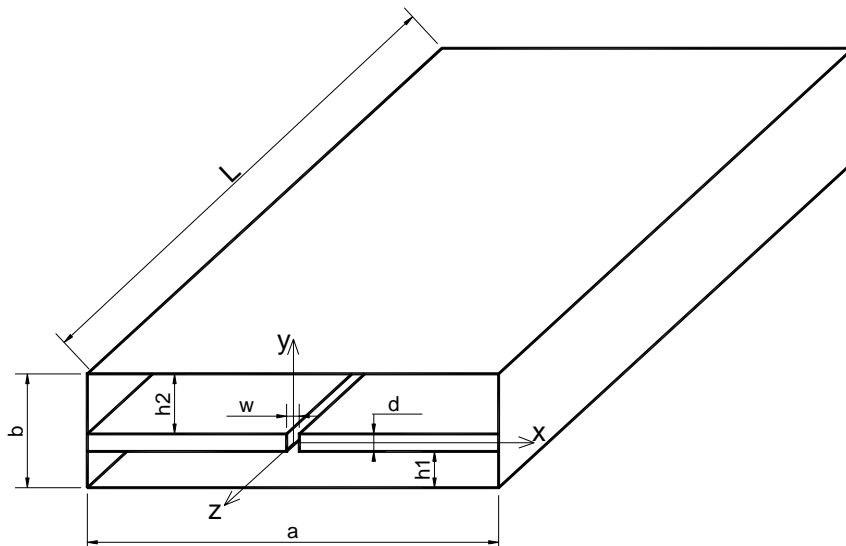


Bild 4: Dimensionierungsparameter der Finnleitung mit horizontal angeordneten Finnen

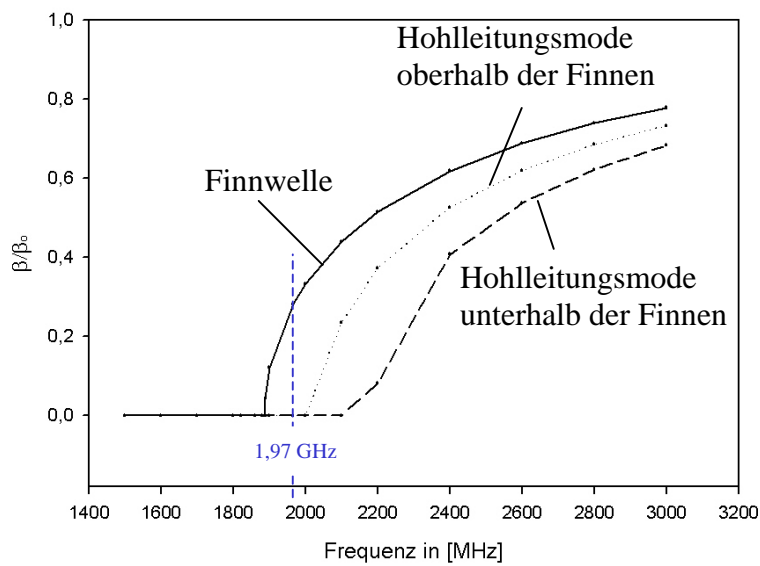


Bild 5: Normierte Eigenwerte der Finnwelle und der beiden Hohlleitungsmoden in der UMTS-Finnleitung

Frequenz	a [mm]	b [mm]	$h_1$ [mm]	$h_2$ [mm]	d [mm]	w [mm]	L [mm]
1966 MHz	74	13,5	3	7,5	3	4	500

Tabelle I: Endgültige Dimensionierungsparameter der verwendeten UMTS-Finnleitung

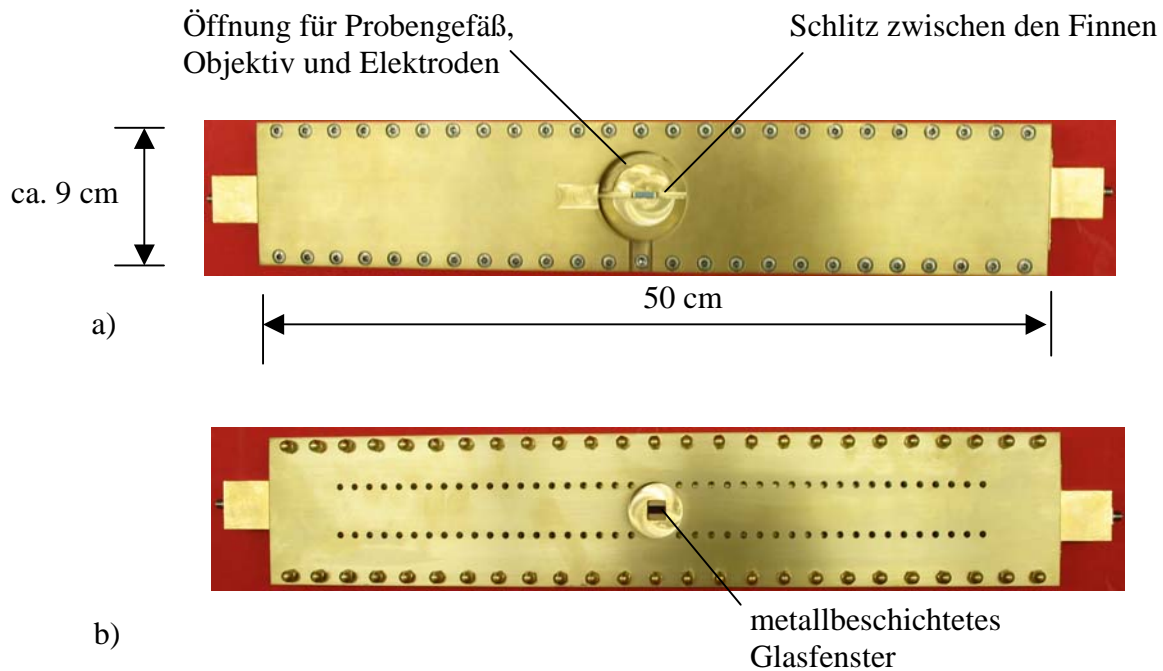


Bild 6: Aufgebaute UMTS-Finnleitung aus Messing  
a) Ansicht von oben; b) Ansicht von unten

Bild 6 zeigt Fotografien von zwei Ansichten der aus Messing aufgebauten UMTS-Expositionseinrichtung. Rechts und links sind die mit SMA-Buchsen versehenen Koaxial-Finnleitungs-Adapter erkennbar. In der Mitte der Oberseite befindet sich die kreisrunde Öffnung zum Einsatz des Probengefäßes sowie zur Einführung des Mikroskopobjektivs, der 'patch clamp'- und der Bad-Elektrode und der beiden Kanülen zur Zu- und Abführung der extrazellulären Lösung. Die Einfräsung an der Unterseite gewährleistet den erforderlichen geringen Abstand der Kondensorlinse zum Probengefäß. Die rechteckige Öffnung ist durch ein metallbeschichtetes Glasfenster (PGO, CEC010S) hochfrequenzdicht verschlossen.



## 1.2 Anregung der Finnwelle in der UMTS-Expositionseinrichtung

Die HF-Speisung der UMTS-Expositionseinrichtung erfolgt aus Symmetrierungsgründen gleichzeitig von beiden Seiten durch Koaxialkabel, die über Adapter, bestehend aus je einer koaxialen Konusleitung und einem Koplantarleitungsstück der Länge  $l_{KPL} = \lambda/4$  ( $\lambda$ : Leitungswellenlänge), Leistung in die Welle der Finnleitung einkoppeln. In Bild 7 ist ein Adapter schematisch dargestellt.

Der sowohl durch Rechnung als auch mit einem S-Parameter-Messplatz bestimmte Reflexionsfaktor eines Übergangs liegt bei ca.  $-8$  dB. Wegen der zu erwartenden deutlich höheren Reflexionen am Probengefäß wurde kein weiterer Aufwand zur Reduzierung dieses Wertes investiert.

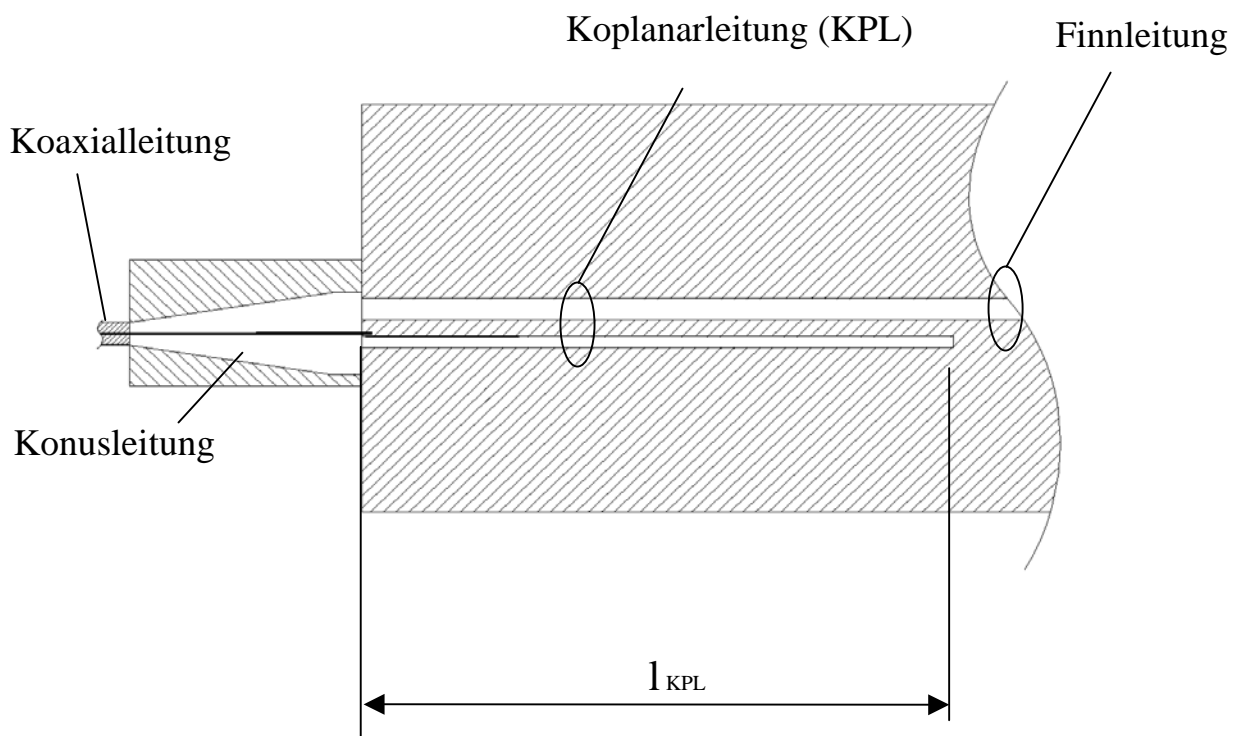


Bild 7: Koaxial-/Finnleitungs-Adapter, bestehend aus Konusleitung und Koplanar-Transformator





### 1.3 Feldverteilung und Dosimetrie bei der UMTS-Anlage

Die Feldverteilungen in den Expositionseinrichtungen wurden einerseits numerisch mit Hilfe der Finite-Differenzen-Methode bzw. der Finiten Integrationstechnik im Zeitbereich [Taflove and Hagness 2000, Bitz 2004, CST 1994, CST 2005] auf der Basis detaillierter Computermodelle der Finnleitungen und des eingebrachten physiologischen Messaufbaus analysiert und andererseits durch Messungen an den Originalleitungen verifiziert. Da die zur Verfügung stehenden Feldsonden (Schmid & Partner Engineering AG, ER3DV6 und BUW, Monopolsonde) nicht unmittelbar in den Schlitz zwischen den Finnen eingebracht werden können, wurde die elektrische Feldstärke im Zentrum des Probengefäßes und durch die in Bild 6b) sichtbaren Löcher gemessen. Bild 8 zeigt beispielhaft den über eine Lochreihe gemessenen Verlauf der elektrischen Feldstärke bei 1,97 GHz an der UMTS-Finnleitung mit eingesetztem Probengefäß mit Lösung (rote Kurve). Die Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Rechnung (blaue Kurve) ist im Rahmen der numerischen Modellierung und der Genauigkeit der eingesetzten Messsysteme (Schmid & Partner Engineering AG, EA-SY4 V4.0 und Agilent Power Meter E4417A) sehr zufriedenstellend. Auch die Resultate aller weiteren durchgeführten Vergleiche zwischen Messungen und Rechnungen rechtfertigen die Vorgehensweise, messtechnisch nicht zugängliche Parameter durch die entsprechenden numerischen Ergebnisse zu charakterisieren.

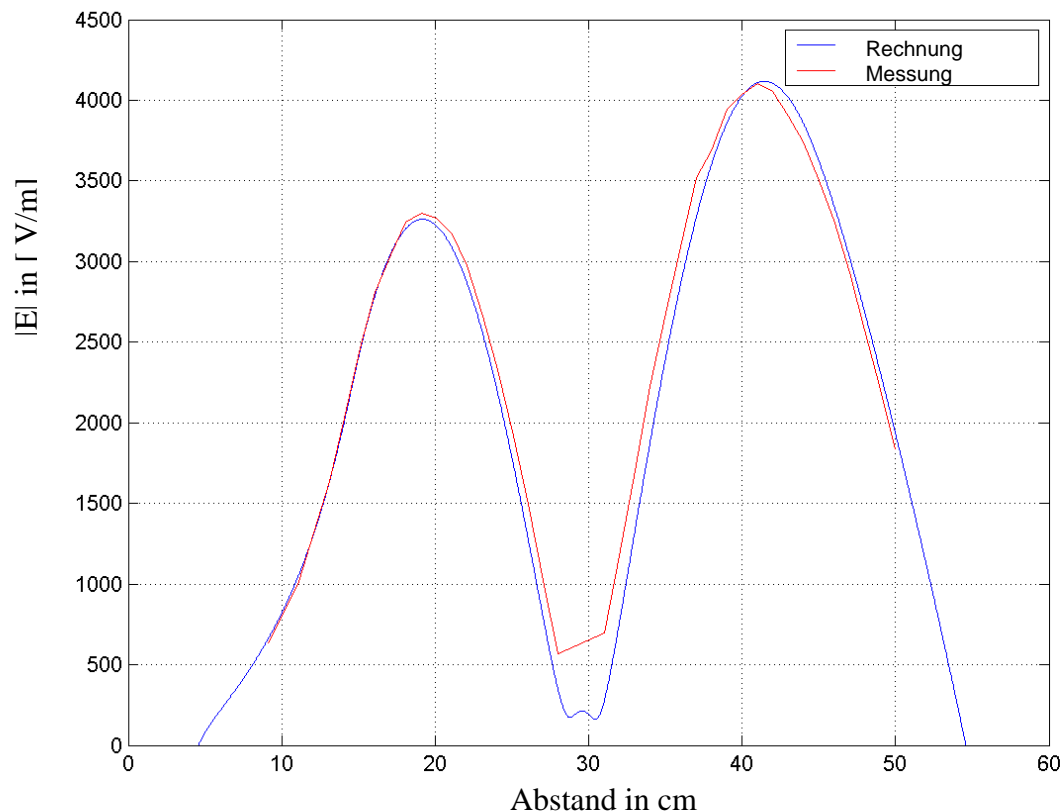


Bild 8: Vergleich gemessener und berechneter elektrischer Feldstärken ( $P_{in} = 2 \text{ W}$ ) in der UMTS-Finnleitung

In Bild 9 ist das für die numerischen Rechnungen verwendete 3D-Computermodell des Probengefäßes und seiner unmittelbaren Umgebung dargestellt.

Bild 10 zeigt die Verteilung des Betrags der elektrischen Feldstärke im mit 3 ml extrazellulärer Lösung gefüllten Probengefäß über die Ebene, in der sich die zu untersuchenden Haarzellen befinden. Aus den Ergebnissen der im Bereich des Probengefäßes mit einer inhomogenen räumlichen Auflösung von 0,1 bis 0,5 mm durchgeführten Berechnungen kann eine Variation des Expositionsfeldes bei Verschiebung der 'patch clamp'-Elektrode über den Aufenthaltsbereich der Zellen von  $\pm 5\%$  abgeschätzt werden.

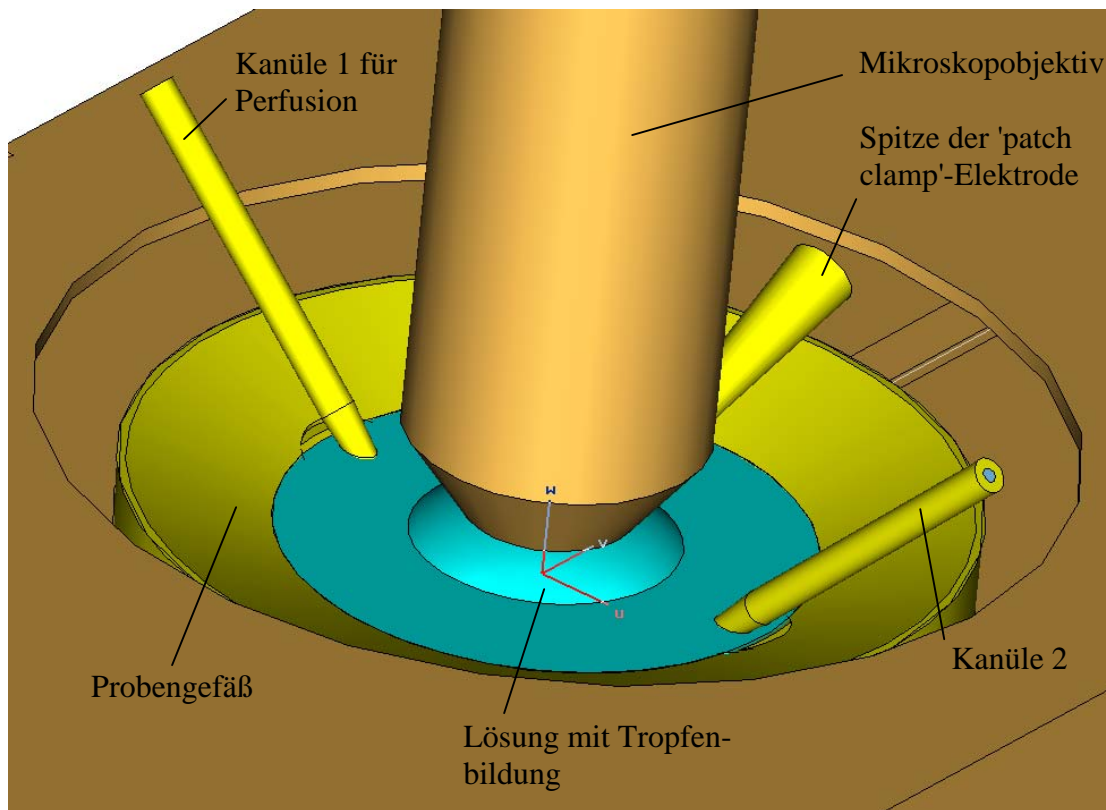


Bild 9: Computermodell für das Probengefäß und seine Umgebung (UMTS-Anlage)

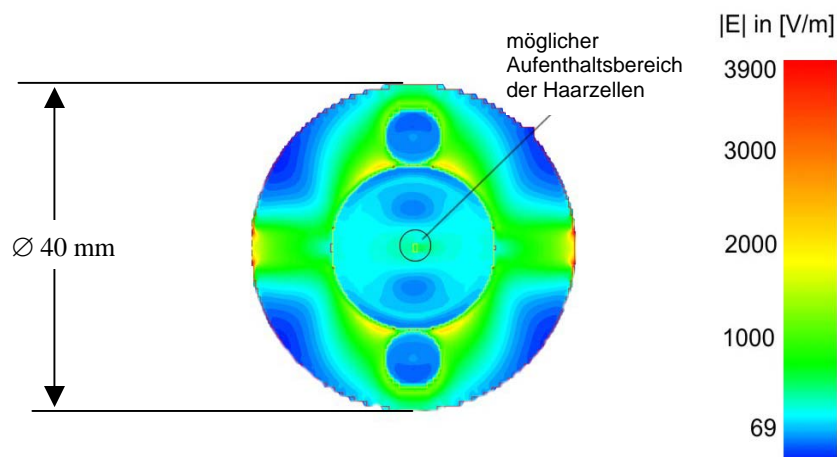


Bild 10: Betrag der elektrischen Feldstärke am Boden des Probengefäßes ( $P_{in} = 1 \text{ W}$ ; UMTS-Anlage)

Um zu untersuchen, welche Leistung in die Expositionsanlage eingespeist werden muss, um den maximal gewünschten SAR-Wert von  $20 \text{ W/kg}$  zu erreichen, wurden weitere numerische Berechnungen sowie Temperaturmessungen durchgeführt. Aus dem berechneten Phasor  $\vec{E}$  der elektrischen Feldstärke kann die Spezifische Absorptionsrate über

$$SAR = \frac{1}{2} \frac{\kappa}{\rho} |\vec{E}|^2$$

bestimmt werden, wobei  $\kappa$  und  $\rho$  die elektrische Leitfähigkeit bzw. die Dichte der Lösung bezeichnen.



Aus der Anfangssteigung der gemessenen zeitlichen Temperaturänderung infolge der Absorption des hochfrequenten Feldes folgt die SAR zu

$$SAR = c \frac{dT}{dt}$$

mit der spezifischen Wärme  $c$  der Lösung und der momentanen Temperatur  $T$ . Bild 11 zeigt den prinzipiellen Verlauf einer entsprechenden Messkurve.

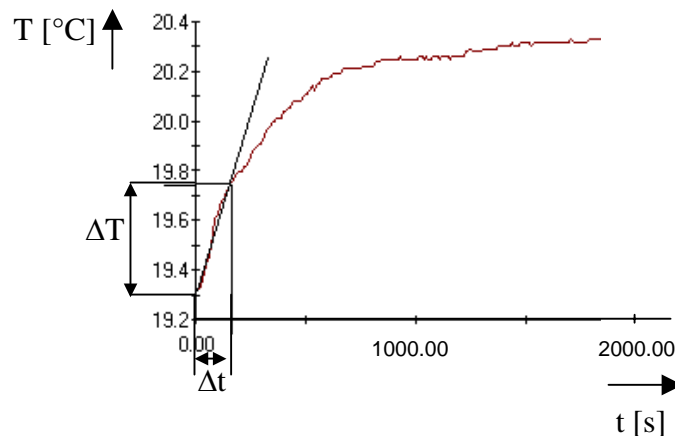


Bild 11: Messung des zeitlichen Temperaturverlaufs in der Lösung bei HF-Exposition

Die Temperatur wurde mit einem faseroptischen Sensor (FISO, FOT-M) gemessen. In der Regel wird zur Bestimmung der SAR abweichend von Bild 11 eine Messzeit von maximal 60 s verwendet. Längere Messzeiten dienen dazu, die im eingeschwungenen Zustand zu erwartenden Temperaturen zu ermitteln.

Die Auswertung aller durchgeführten Rechnungen und Messungen bei 1,97 GHz ergab, dass eine Exposition mit einer SAR von 20 W/kg im mit 3 ml Lösung gefüllten Probengefäß nach einer halben Stunde zu einer Erwärmung der Lösung um 1,2 °C führt. Für die den experimentellen Erfordernissen angepasste, später ausschließlich verwendete Lösungsmenge von 0,75 ml liegt der während der Expositionsdauer von ca. 20 Minuten protokollierte Temperaturanstieg aber unter 0,4 °C. Auch dieser Wert ist nicht in voller Höhe der Hochfrequenz-Exposition zuzuschreiben, da die Temperaturschwankungen der Umgebung nicht herausgerechnet wurden. Mit den vorliegenden Messprotokollen für die Scheinexpositionsphasen (HF-Signal "aus") ließe sich nötigenfalls eine weitergehende Abschätzung vornehmen.

Ein Mittelwert der SAR von 20 W/kg im mit 0,75 ml Lösung gefüllten Probengefäß wird bei einer in die Wellenleitung eingespeisten zeitlich gemittelten Gesamtleistung von  $P_{in} = 18$  mW (beidseitig 9 mW) erreicht. Aus diesem Zusammenhang wurden auch die zur Erzielung der anderen SAR-Werte (2; 0,2; 0,02 W/kg) erforderlichen Eingangsleistungen sowie die zugehörigen Signalgenerator-Einstellungen bestimmt.

Die numerisch ermittelte Standardabweichung des applizierten SAR-Wertes beträgt ca. 10 %, wenn die 'patch clamp'-Elektrode über den möglichen Aufenthaltsbereich der Zellen bewegt wird.



## 1.4 UMTS-Signalquelle

Die UMTS-Exposition sollte nach den Vorgaben des BfS mit dem vor einigen Jahren in einem Arbeitskreis der Forschungsgemeinschaft Funk e.V. (FGF) durch Vertreter von Netzbetreiberfirmen, Bundesbehörden und Universitäten unter Mitwirkung des Berichters definierten generischen UMTS-Testsignal [Ndoumbè et al. 2004] erfolgen, das die wesentlichen technischen Spezifikationen des FDD-Betriebs einschließlich der schnellen Leistungsregelung ('inner loop power control') berücksichtigt. Einige Charakteristika des Zeitverlaufs dieses Signals, insbesondere das gewählte Schema zur Leistungsvariation, sind in Bild 12 dargestellt. Zur Erzeugung dieses Signals wird ein Signalgenerator (BUW, GUS 6960S) verwendet, der an der Bergischen Universität entwickelt worden ist [Glaschachers et al. 2002] und für dieses Experiment mit einer Fernsteuerung zur Einstellung des Ausgangspegels ausgerüstet wurde.

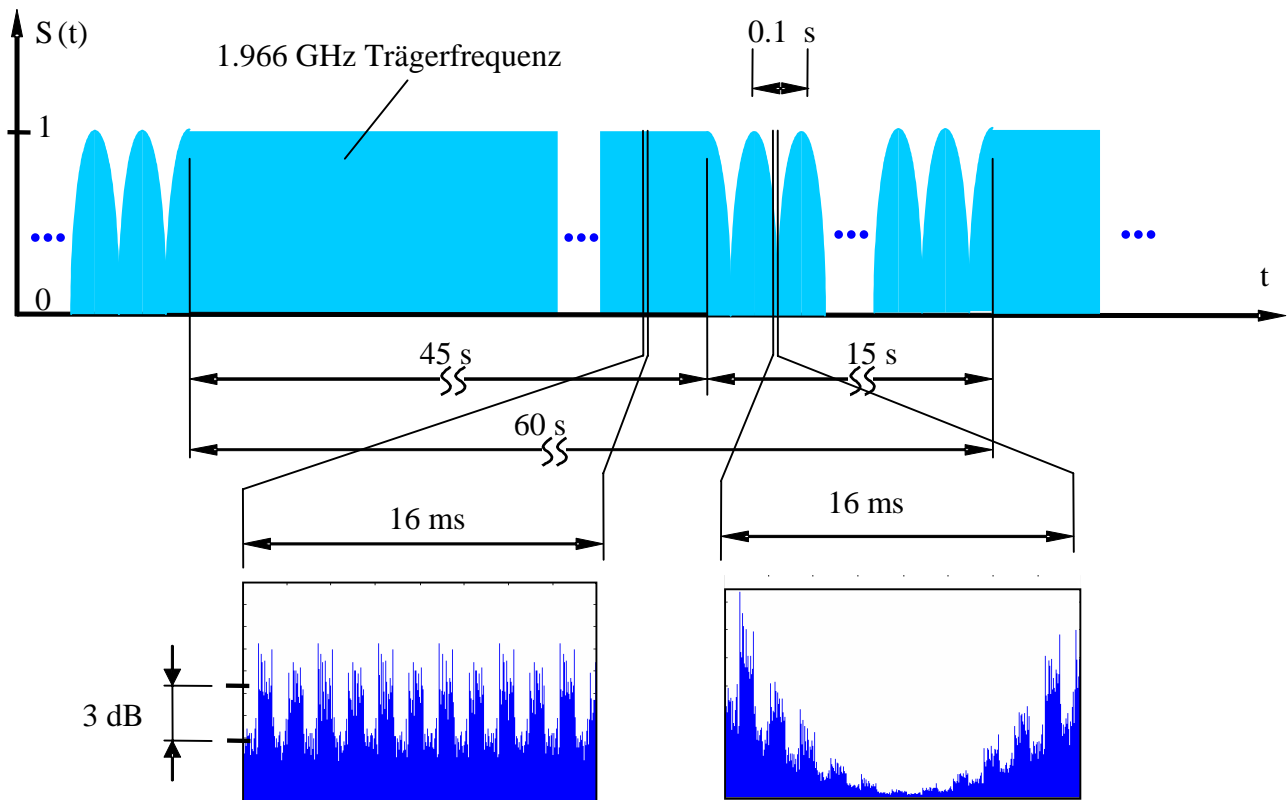


Bild 12: Zeitverlauf des mit 1 Minute periodischen generischen UMTS-Testsignals  
(Skizze: G. Schmid, ARC Research Seibersdorf)

Zur Anhebung des Signalpegels auf die zur Erzielung der gewünschten SAR-Werte erforderliche Leistung muss dem Generator ein Verstärker nachgeschaltet werden. Dieser Leistungsverstärker muss in der Lage sein, das UMTS-Signal möglichst linear zu verarbeiten (Crest-Faktor  $\geq 8$  dB, Bandbreite: 5 MHz), damit Signalverfälschungen vermieden werden. Es wurde ein Spezialverstärker (BEKO, UMTS10) mit einer CW-Nennleistung von 10 W eingesetzt, der vom Bichter gemeinsam mit einem Verstärkerproduzenten konzipiert wurde.



## GSM-Anlagen

### 2.1 Prinzipieller Aufbau der GSM-Expositionsvorrichtungen

Die GSM-Expositionskammern basieren wie die UMTS-Expositionsvorrichtung auf einer so genannten Finnleitung.

Bild 13 und 14 zeigen die mit MICROWAVE STUDIO™ [CST 2005] berechneten Feldverteilungen der allein ausbreitungsfähigen Finnwellen für die endgültige Dimensionierung der beiden Leitungen mit den Parametern gemäß Tabelle II.

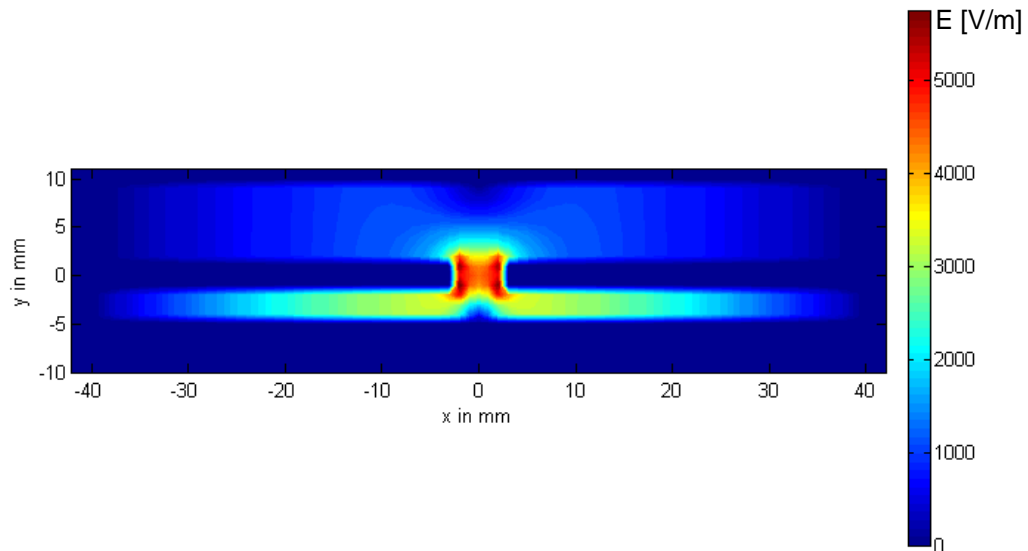


Bild 13: Betrag der elektrischen Feldstärke im Querschnitt der 1800 MHz-Finnleitung (Eingespeiste HF-Leistung:  $P_{in} = 1 \text{ W}$ )

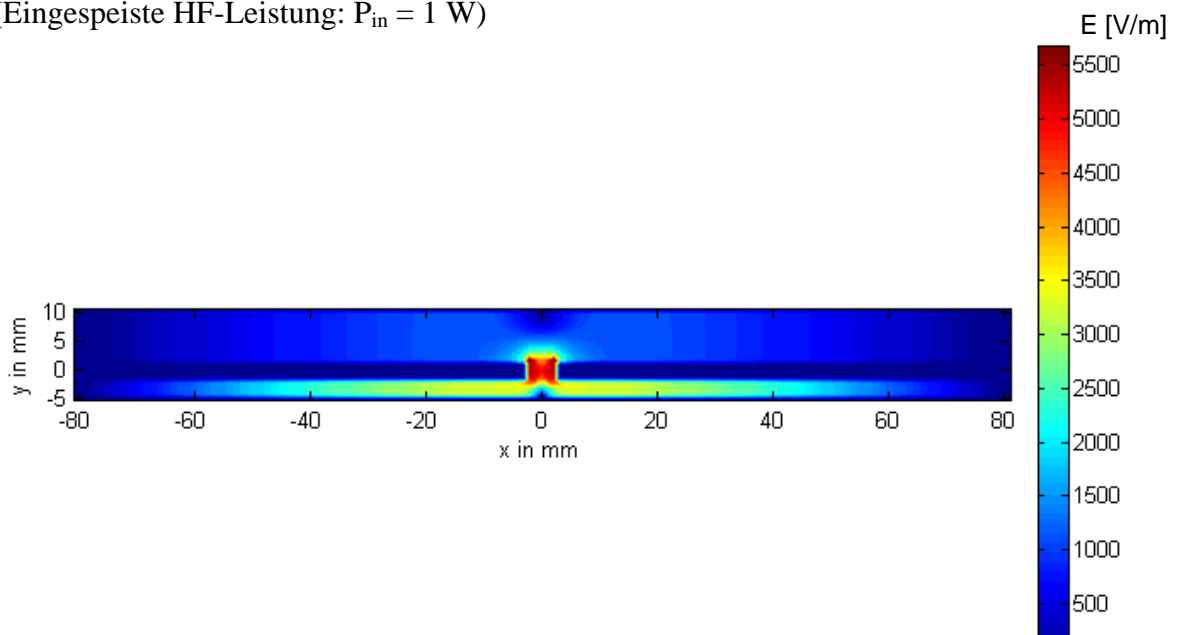


Bild 14: Betrag der elektrischen Feldstärke im Querschnitt der 900 MHz-Finnleitung (Eingespeiste HF-Leistung:  $P_{in} = 1 \text{ W}$ )

Frequenz	a [mm]	b [mm]	$h_1$ [mm]	$h_2$ [mm]	d [mm]	w [mm]	L [mm]
1800 MHz	80,8	14,1	3	8,1	3	4,4	500
900 MHz	160	14,5	3	8,5	3	4,0	500

Tabelle II: Endgültige Dimensionierungsparameter der verwendeten GSM-Finnleitungen



Die tatsächliche Länge der Finnen kann von der auf 500 mm begrenzten Gesamtlänge der Expositionskammern nach unten abweichen (siehe z.B. Bild 17).

Im Prinzip unterscheidet sich die Expositionsvorrichtung für die Frequenz 1800 MHz nicht wesentlich von der UMTS-Anlage, dagegen musste die Breite  $a$  der GSM900-Finnleitung gegenüber der UMTS-Expositionskammer mehr als verdoppelt werden.

Wieder ist das Feld wie gewünscht jeweils im Schlitz zwischen den beiden Finnen konzentriert.

## 2.2 HF-Speisung der GSM-Expositionseinrichtungen

Zur Anregung der Finnwelle wird bei der GSM 1800 MHz-Anlage das gleiche Prinzip benutzt wie bei der UMTS-Frequenz 1,97 GHz (vgl. Bild 7). Die Abmessungen der verwendeten Koplanarleitungen und des konischen Übergangs wurden wieder durch numerische Rechnungen und Messungen bestimmt.

Bei der GSM 900 MHz-Anlage kann aufgrund der beschränkten Längsausdehnung der Wellenleitung in Relation zur Wellenlänge nicht das gleiche Konzept wie bei den Frequenzen für UMTS und GSM1800 verwendet werden. Die Anregung der Finnwelle erfolgt hier über ein Symmetrierglied in Koaxialleitungstechnik, das eine  $\lambda/2$ -Umwegleitung enthält (Bild 15). Die dadurch am Ausgang des Symmetrierers um  $180^\circ$  phasenverschobenen TEM-Wellen regen eine Welle auf der nachfolgenden Zweidrahtleitung an, die nach der Strecke  $L_d$  in die Finnwelle transformiert wird.

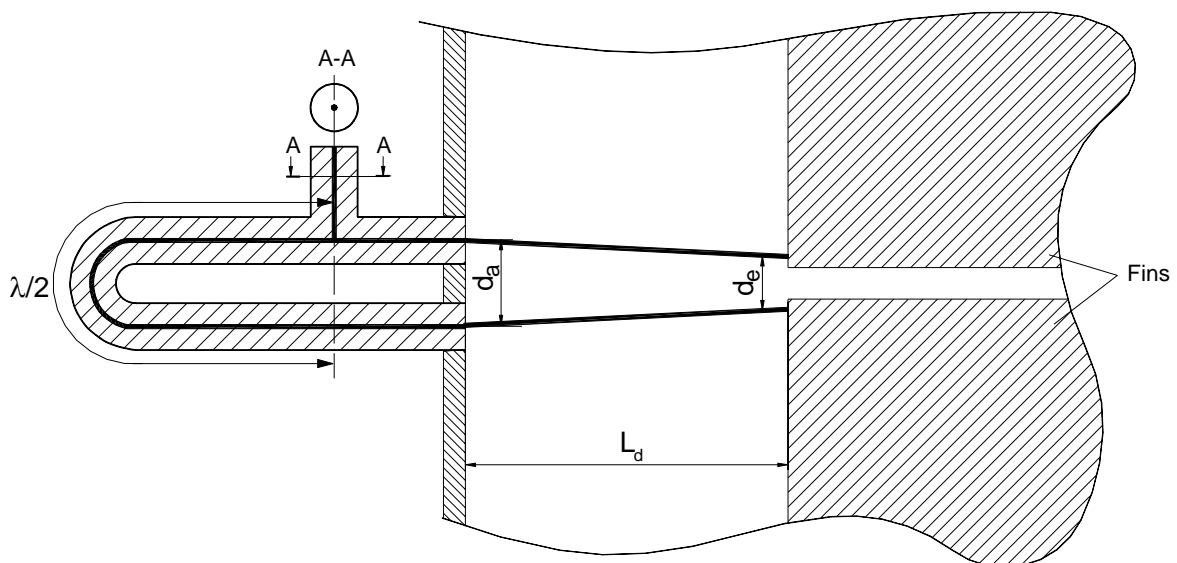


Bild 15: Übergang von einem Symmetrierer auf die GSM900-Finnleitung über eine Zweidrahtleitung

Aus konstruktiven Gründen variiert der Abstand  $d$  zwischen den beiden Leitern der Zweidrahtleitung. Der Abstand  $L_d$  zwischen dem Kurzschluss und den beiden Finnen wurde rechnerisch optimiert, um den Reflexionsfaktor zu verbessern. Bild 16 stellt den Reflexionsfaktor  $S_{11}$  in Abhängigkeit von  $L_d$  dar.

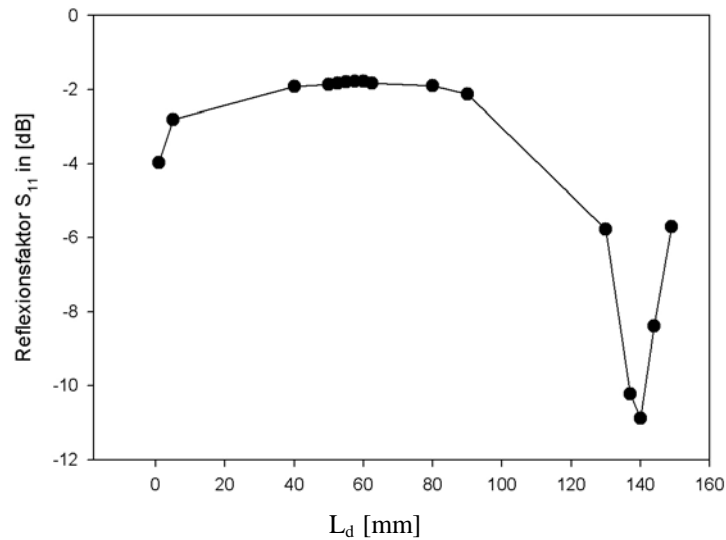


Bild 16: Reflexionsfaktor  $S_{11}$  in Abhängigkeit vom Abstand  $L_d$  für  $d_a = d_e = 6$  mm und  $f = 900$  MHz

Bei  $L_d = 140$  mm erreicht man den geringsten Reflexionsfaktor von ca.  $-11$  dB. Für den Fall variablen Abstandes ( $d_a \neq d_e$ ) ergibt sich für den Reflexionsfaktor keine nennenswerte Abweichung zu dem Fall mit konstantem Abstand.

Bild 17 zeigt die 900 MHz-Expositionseinrichtung bei geöffnetem Deckel, sodass die Zweidrahtleitungen und die Finnen sichtbar werden. Die Symmetrierer befinden sich außerhalb der völlig spiegelbildlich aufgebauten Expositionskammer.

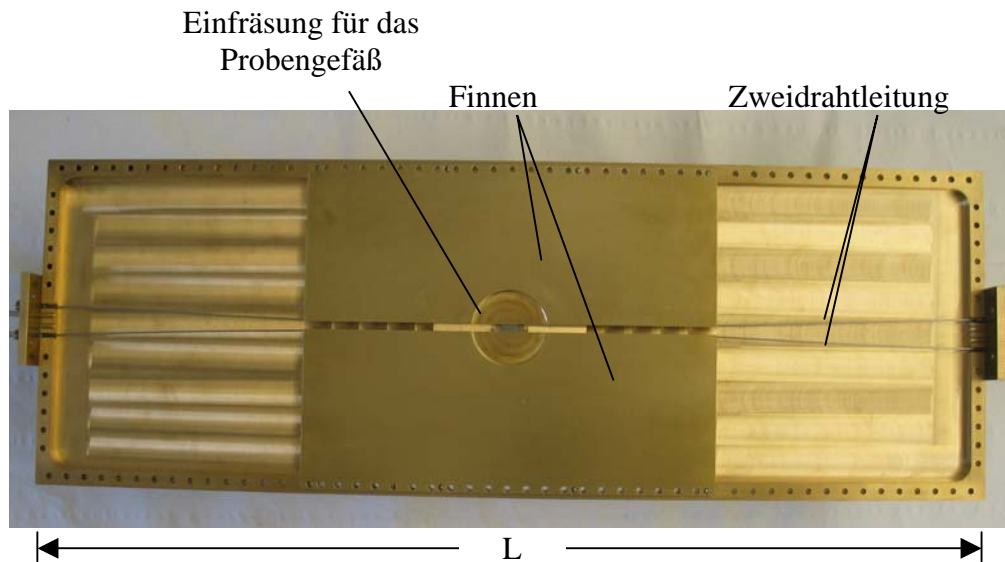


Bild 17: Innenansicht der aus Messing gefertigten GSM900-Expositionseinrichtung



In Bild 18 und 19 sind die beiden mit Deckeln und Teilen des Speisernetzwerks versehenen Expositionseinrichtungen zu sehen.



Bild 18: Aufsicht der GSM1800-Expositionseinrichtung

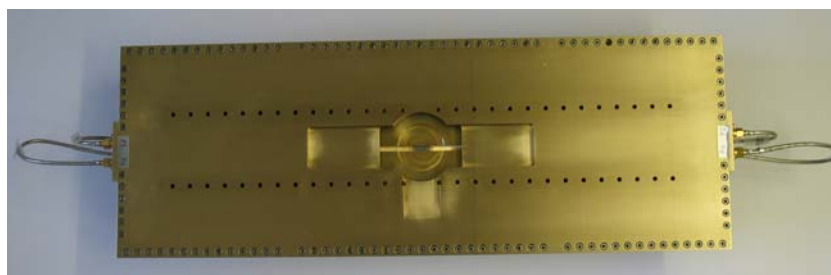


Bild 19: Aufsicht der GSM900-Expositionseinrichtung

### 2.3. Feldverteilung und Dosimetrie bei den GSM-Anlagen

Nachfolgend werden Ergebnisse der numerischen Feld- und SAR-Berechnungen angegeben, die auf dem in Bild 20 dargestellten 3D-Computermodell für das Probengefäß und seiner unmittelbaren Umgebung basieren. Aufgrund von Änderungen des Aufbaus weicht das Modell vom entsprechenden für die UMTS-Expositionseinrichtung verwendeten leicht ab (vgl. Bild 9).



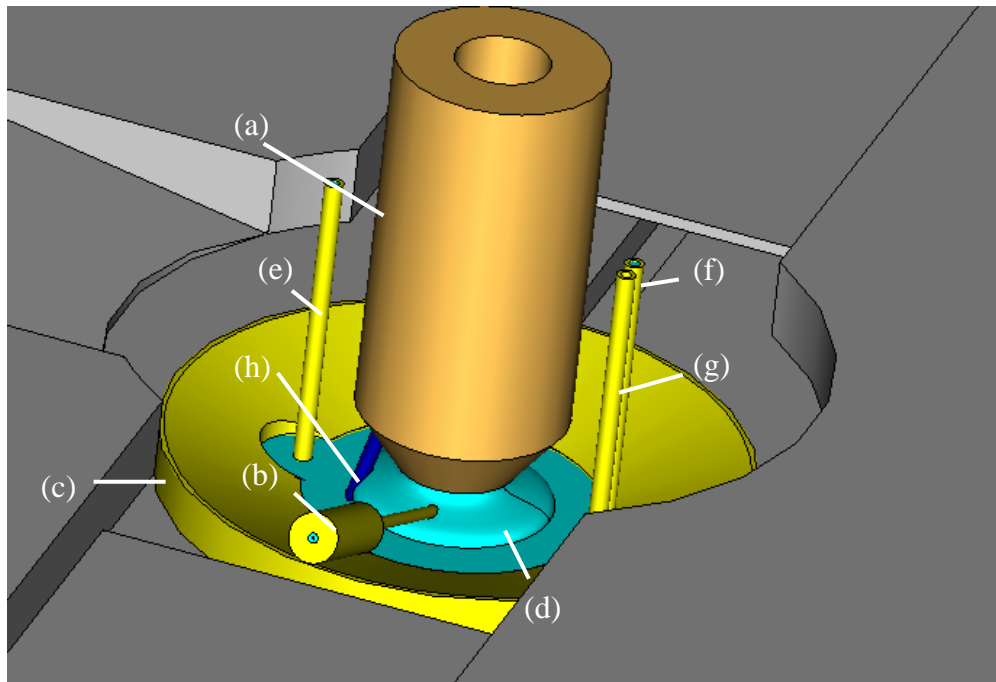


Bild 20: Computermodell zur Berechnung der Feldverteilung im Bereich des Probengefäßes.  
(a) Mikroskop-Objektiv, (b) 'patch-clamp'-Elektrode, (c) Probengefäß, (d) Lösung mit Tropfenbildung, (e),(f) Kanülen für Perfusion, (g) Anschlussdraht für Badelektrode, (h) Glasfaser-Sonde zur Temperaturmessung während der Experimente.

Die Bilder 21 und 22 zeigen für die GSM-Anlagen die Verteilungen des Betrags der elektrischen Feldstärke im mit 0,75 ml extrazellulärer Lösung gefüllten Probengefäß in der Schnittebene, in der die zu untersuchenden Haarzellen platziert werden (räumliche Auflösung wie im UMTS-Fall). Die Einspeisung des HF-Feldes erfolgt symmetrisch von beiden Enden der Expositionseinrichtungen. Für die Simulationen wurde für jede Seite eine Speiseleistung von  $P_{in} = 0,5 \text{ W}$  angesetzt.

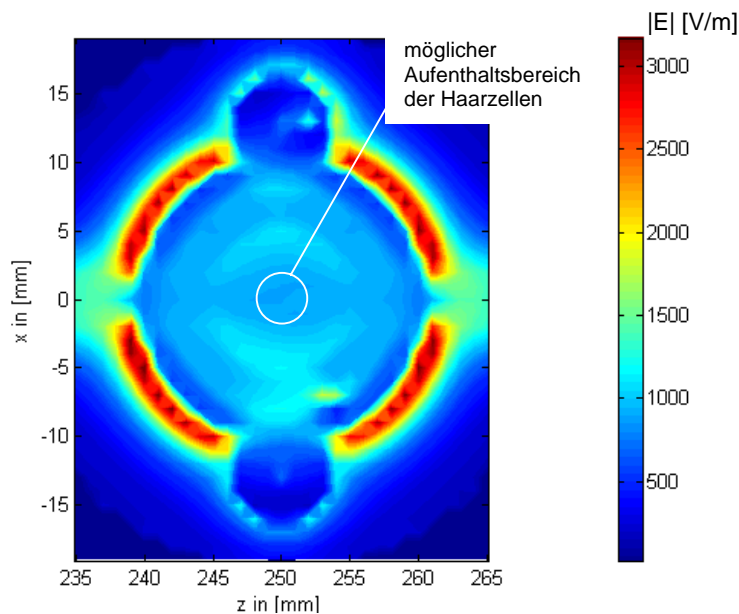


Bild 21: Elektrische Feldverteilung am Boden des Probengefäßes ( $f = 1800 \text{ MHz}$ ,  $P_{in} = 1 \text{ W}$ )

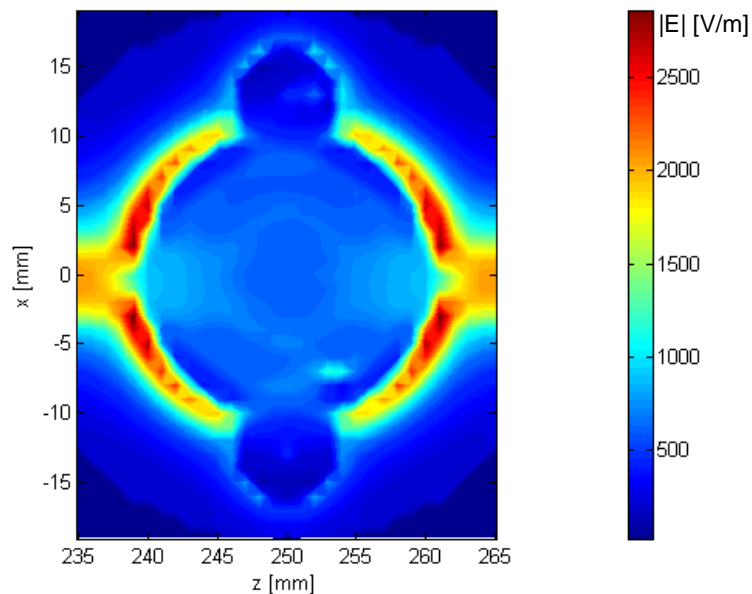


Bild 22: Elektrische Feldverteilung am Boden des Probengefäßes ( $f = 900 \text{ MHz}$ ,  $P_{\text{in}} = 1 \text{ W}$ )

Es ist erkennbar, dass die Feldverteilungen in der Flüssigkeit und insbesondere im Aufenthaltsbereich der Haarzellen, der einen Durchmesser von ca. 4 mm hat, sehr homogen sind. Die Feldüberhöhungen am Rand des Probengefäßes treten nicht in der Flüssigkeit auf.

Durch Kontrollmessungen, wie in Abschnitt 1.3 gezeigt, konnte wieder eine gute Übereinstimmung des axialen Feldverlaufs zu den Rechenergebnissen festgestellt werden.

Die Bestimmung der zur Erzielung der vorgegebenen SAR-Werte benötigten Speiseleistungen erfolgte ebenfalls anhand von numerischen SAR-Berechnungen. In den Bildern 23 und 24 sind die den Feldverteilungen aus Bild 21 und 22 entsprechenden lokalen Spezifischen Absorptionsraten gezeigt, für die Darstellung jeweils bezogen auf eine Gewebemasse von  $30 \mu\text{g}$ .

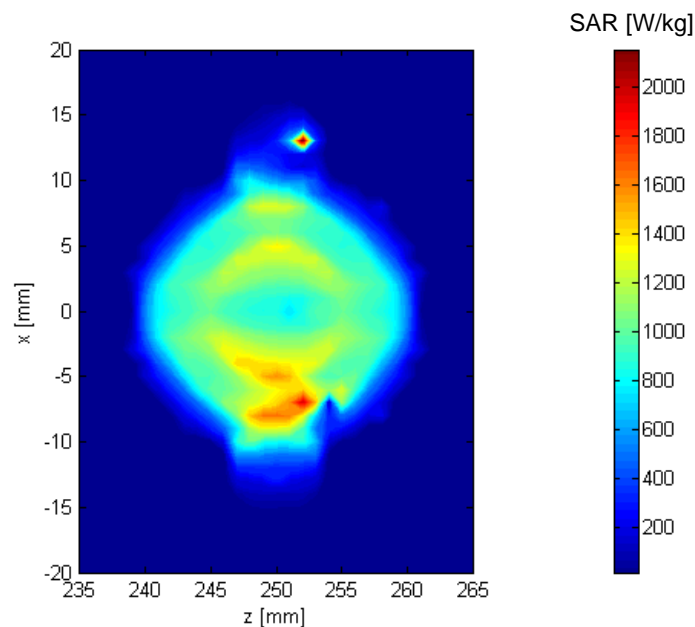


Bild 23: SAR-Verteilung am Boden des Probengefäßes ( $f = 1800 \text{ MHz}$ ,  $P_{\text{in}} = 1 \text{ W}$ )

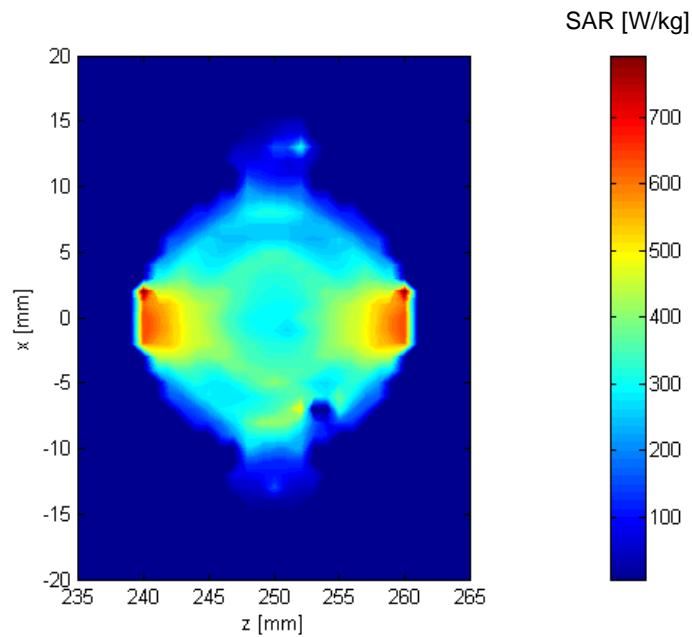


Bild 24: SAR-Verteilung am Boden des Probengefäßes ( $f = 900 \text{ MHz}$ ,  $P_{\text{in}} = 1 \text{ W}$ )

Der bei 1800 MHz auf das gesamte Volumen der Flüssigkeit von 0,75 ml bezogene maximal gewünschte SAR-Wert von 20 W/kg wird für eine mittlere Gesamt-Eingangsleistung von  $P_{\text{in}} = 19,3 \text{ mW}$  erreicht. Ausgehend von diesem Wert können die Speiseleistungen für die anderen Dosierungen bestimmt werden.

Bei der Frequenz  $f = 900 \text{ MHz}$  benötigt man für  $\text{SAR} = 20 \text{ W/kg}$  eine Eingangsleistung von  $P_{\text{in}} = 50 \text{ mW}$ .

Durch zusätzliche Kontrollmessungen wurde überprüft, ob bei der maximal eingestellten SAR eine unzulässige Temperaturerhöhung infolge der HF-Exposition in der Probenflüssigkeit auftritt oder nicht.

Tabelle III gibt die Messergebnisse für die Temperaturerhöhung wieder. Der angegebene Wert wird innerhalb von 30 Minuten erreicht und steigt danach nicht weiter an.

Frequenz [MHz]	$P_{\text{in}}$ [mW] bei $\text{SAR} = 20 \text{ W/kg}$	$\Delta T$ [°C]
1800	19,3	< 0,15
900	50,0	< 0,2

Tabelle III: Temperaturerhöhung in der Lösung bei  $\text{SAR}_{\text{max}}$  (GSM900 und GSM1800)



## 2.4. GSM-Signalquelle

Die Exposition erfolgt gemäß der Leistungsbeschreibung des Auftraggebers nach dem GSM-Standard. Dazu wurde das in einem Arbeitskreis der FGF definierte generische GSM-Testsignal [Schüller et al. 2000] mit der Trägerfrequenz 900 MHz bzw. 1800 MHz verwendet. Das Signal wird erzeugt, indem das sinusförmige Trägersignal eines Signal-Generators (Rohde & Schwarz SMT 06) mit dem externen niederfrequenten GSM-Signal moduliert wird (Modulator GMT@Uni-Wuppertal, BS 825F).

Im Bild 25 ist der Zeitverlauf des generischen GSM-Signals dargestellt, das die wesentlichen Puls-  
wiederholfrequenzen des GSM-Systems von 1733 Hz, 217 Hz, 8,3 Hz und 2 Hz enthält.

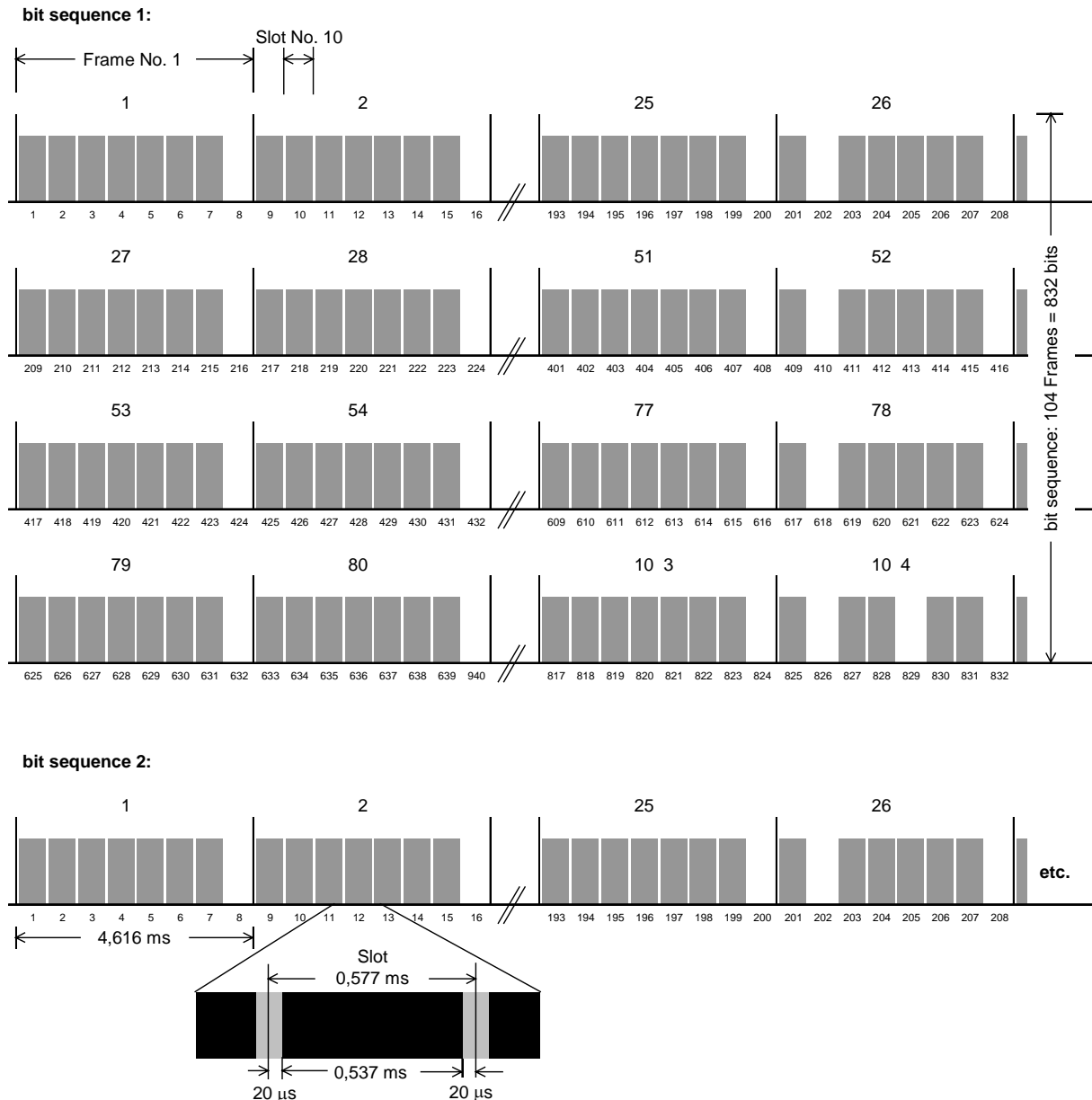


Bild 25: Zeitverlauf des generischen GSM-Modulationssignals

Die Leistung in den einzelnen 'bursts' (HF-Impulsen) muss gegenüber den angegebenen äquivalenten Dauerstrichleistungen mit dem Kehrwert des Tastverhältnisses (hier ca. 7 : 8) bewertet werden, um die gewünschten mittleren Leistungen zu erhalten.

Die erforderliche Anhebung der Signalpegel bei den Frequenzen 900 MHz und 1800 MHz erfolgte mit den 10 W-Leistungsverstärkern PA 910 und PA 1810 von SSB Electronic.



## Gesamtaufbau der Expositionsanlagen

Für die gesamte Apparatur wurden zusätzlich zu den eigentlichen Expositionseinrichtungen jeweils die bereits beschriebenen Hochfrequenz-Sender, bestehend aus Signalgenerator, Modulator (bei GSM) und Leistungsverstärker, sowie diverse Koaxialleitungsbauteile, ein Temperaturmessgerät (FISO, FOT-M) und ein PC für die Fernsteuerung des Signalgenerators und für die Datenerfassung verwendet (s. Bild 26).

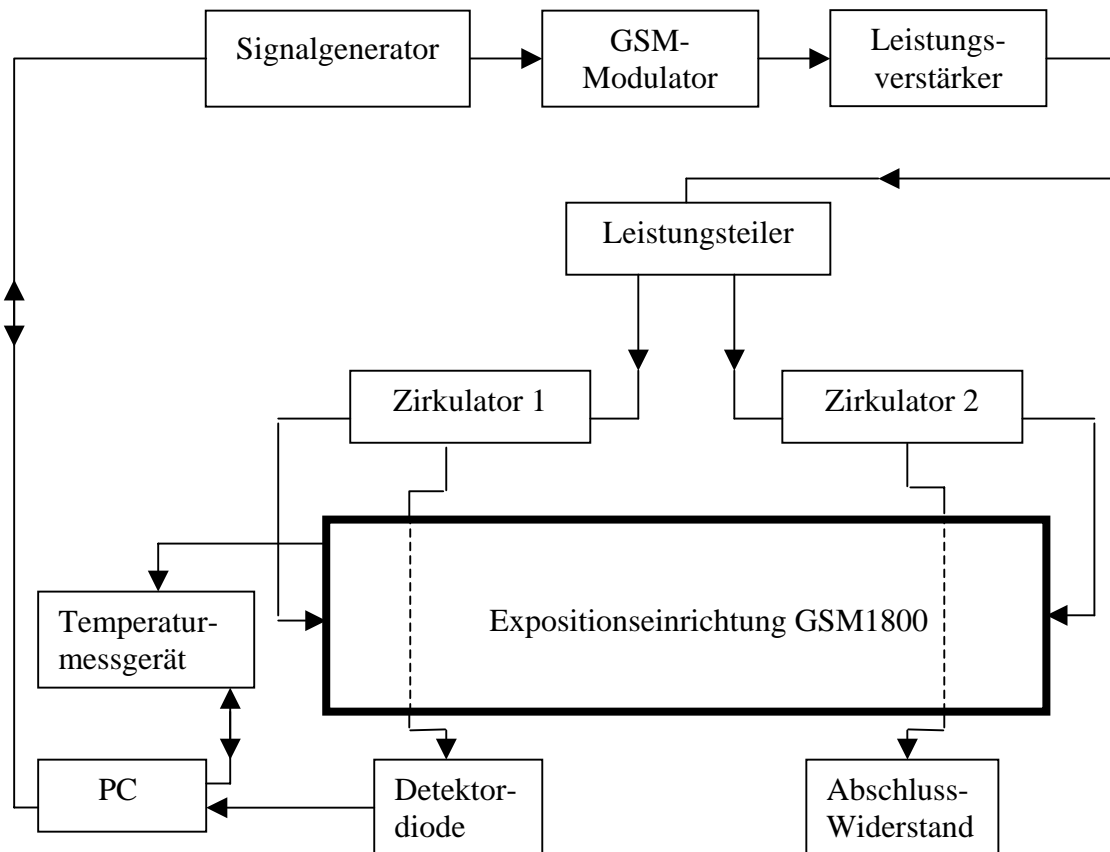


Bild 26: Schema der gesamten Expositionsanlage am Beispiel GSM1800

Da die Speisung aus Symmetrierungsgründen beidseitig erfolgte, enthält das Speisernetzwerk einen 1:1-Leistungsteiler (Meca, 802-2-1.500V) und - weil aufgrund des Einsetzens von Probengefäß, Elektroden und Mikroskopobjektiv der Eingangsreflexionsfaktor relativ hoch ist - zwei Zirkulatoren (Valvo, VAT 524), deren jeweils drittes Tor mit einem 50  $\Omega$ -Widerstand (Meca, 400-7) bzw. mit einer Detektordiode (Agilent 423B) zur Feldkontrolle abgeschlossen ist. Die Detektordiode wandelt das Hochfrequenzsignal in ein Niederfrequenzsignal um, das dem PC zugeführt und gespeichert wird. Die Komponenten sind über semi-flexible Koaxialleitungen (Huber + Suhner, SUCOFORM) miteinander verbunden und an der Unterseite der Wellenleitungen montiert (Bild 27).

Bei den Anlagen für UMTS und GSM1800 ist die Längendifferenz der speisenden Koaxialleitungen auf die benötigte 180°-Phasendifferenz der Signale für die beiden Eingänge der Expositionseinrichtung abgestimmt.

Bei der Anlage für 900 MHz wurden noch zwei weitere Leistungsteiler (Meca, 802-2-1.500V) eingesetzt, um das in Abschnitt 2 beschriebene Einspeisungskonzept zu realisieren.

Während aller Phasen der 'patch clamp'-Experimente wurden die Verläufe der Temperatur in der Probenflüssigkeit mit einem faseroptischen Sensor gemessen und vom PC registriert.

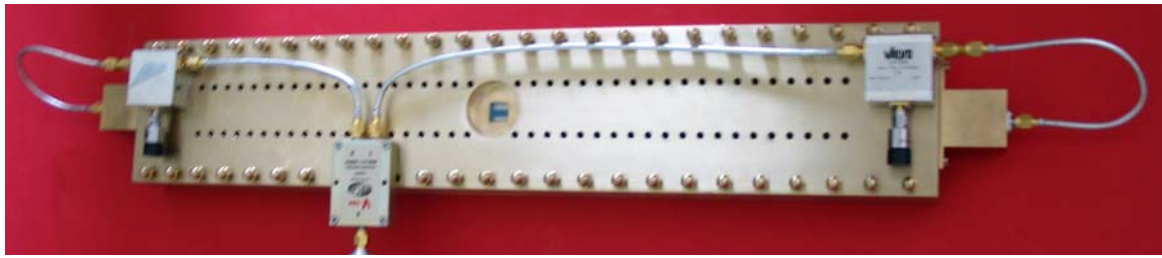


Bild 27: Speisernetzwerk zur beidseitigen Anregung der Finnleitung am Beispiel der UMTS-Anlage

Der PC steuert den Versuchsablauf verblindet, d.h. im Rahmen einer Messreihe von z.B. 100 seriellen Einzelmessungen werden die fünf geforderten Expositionsstärken (20 W/kg, 2 W/kg, 0,2 W/kg, 0,02 W/kg und 0 W/kg (sham)) mit gleicher Häufigkeit, aber in verwürfelter Reihenfolge und ohne dass das Bedienungspersonal Kenntnis von der aktuellen Exposition hat, appliziert. Die Verblindung kann nur mit Hilfe eines an der BUW vorhandenen Dekodierprogramms aufgelöst werden. Diese Dekodierung wird/wurde jeweils erst nach der physiologischen Auswertung einer Messreihe vorgenommen.

Die Bilder 28 und 29 zeigen Fotografien der in Tübingen montierten Expositionsanlagen.

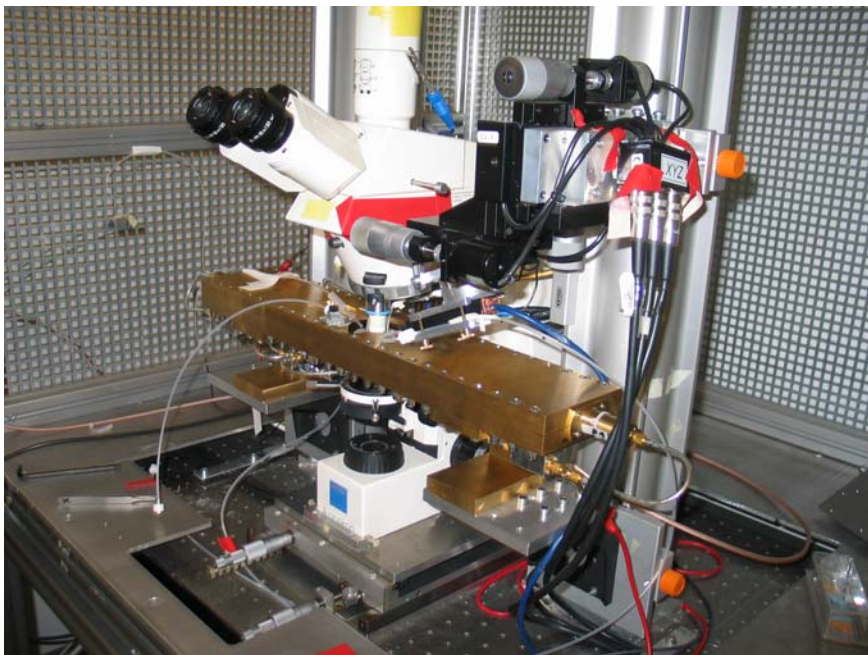


Bild 28: Montierte Expositionsanlage für GSM1800 (ähnlich UMTS)

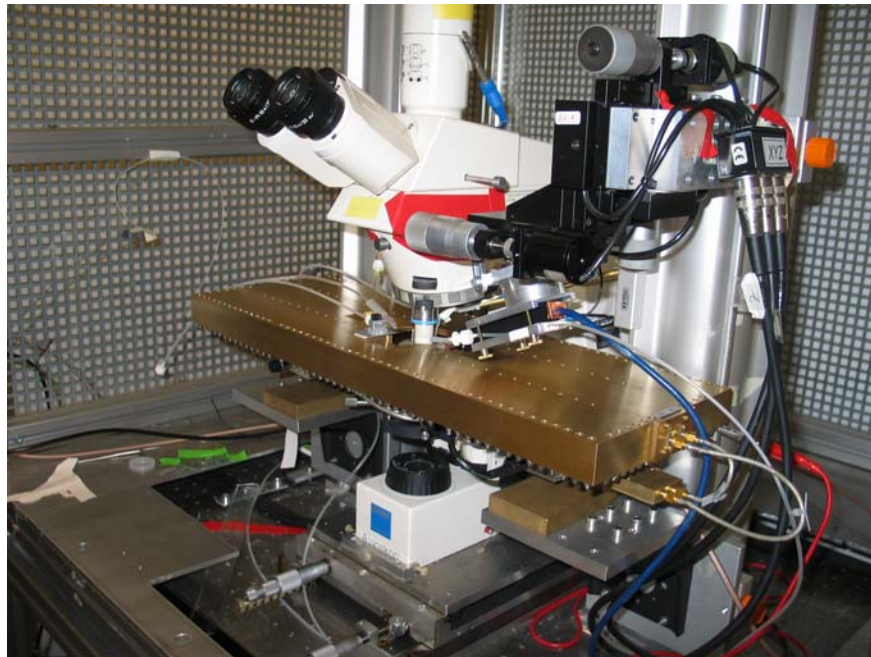


Bild 29: Montierte Expositionsanlage für GSM900

## Literatur

Bitz, A.: Numerische Feldberechnung im biologischen Gewebe: Exposition von Personen, Tieren und isolierten biologischen Systemen in elektromagnetischen Feldern. Dissertation, Bergische Universität Wuppertal, 2004.

CST GmbH: The MAFIA Collaboration, Version 3.20, Darmstadt, 1994.

CST GmbH: MICROWAVE STUDIO™ Version 5.12, Darmstadt, 2005.

Glasmachers, A., Streckert, J., Gencol, S., Rozic, D., Ndoumbè Mbonjo Mbonjo, H., Bitz, A., Hansen, V.: UMTS signal source for RF bioelectromagnetic studies. 24th BEMS Annual Meeting, Québec, Canada, June 2002, 63-64.

Ndoumbè Mbonjo Mbonjo, H., Streckert, J., Bitz, A., Hansen, V., Glasmachers, A., Gencol, S., Rozic, D.: A generic UMTS test signal for RF bio-electromagnetic studies. *Bioelectromagnetics*, Vol. 21, No. 6, pp. 415-425, 2004.

Schüller, M., Streckert, J., Bitz, A., Menzel, K., Eicher, B.: Proposal for generic GSM test signal. Proc. 22<sup>st</sup> BEMS Annual Meeting, Munich, Germany, 2000, 122-123.

Taflove, A., Hagness, S.C.: Computational Electrodynamics: The Finite-Difference Time-Domain Method. 2nd Edition, Artech House, London, 2000.





# **Anhang**

## **Literaturstudie**



**Literaturstudie zum BfS-Projekt:  
„Einfluss hochfrequenter  
elektromagnetischer Felder der  
Mobilfunkkommunikation auf Sinnesorgane.  
A. Das Hörsystem.“**

Dr. Stefan Münkner  
Dr. Jutta Engel  
Physiologisches Institut Abt. II und  
Tübinger Hörforschungszentrum  
Universität Tübingen  
Gmelinstr. 5  
72076 Tübingen

30.09.2004

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Kurzbeschreibung des Projekts</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>2</b>
3.1	Messung otoakustischer Emissionen . . . . .	2
3.2	Messungen akustisch-evozierter Hirnstammpotenziale (ABRs) .	4
3.3	Bestimmung von Ordnungsschwellen unter Feldeinfluss . . . . .	7
3.4	EEG-Messungen während auditorischer Tests . . . . .	9
3.5	Patch-clamp Messungen unter Mobilfunkbefeldung . . . . .	12
<b>4</b>	<b>Abschließende Bewertung</b>	<b>13</b>
	<b>Literatur</b>	<b>14</b>

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

## 1 Kurzbeschreibung des Projekts

Im Rahmen des Projekts soll der mögliche Einfluss von hochfrequenten elektromagnetischen Wechselfeldern auf  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme der inneren Haarsinneszellen von Mäusen bestimmt werden.

Die inneren Haarsinneszellen (IHZ) befinden sich im Corti-Organ in der Schnecke des Innenohres und stellen bei Säugern die eigentlichen Sinneszellen dar, die die Auf- und Abbewegungen der durch das akustische Signal hervorgerufenen Wanderwelle auf der Basilarmembran in Ausschüttung von Neurotransmitter umsetzen.

Dieser Prozess umfasst mehrere Einzelschritte:

1. durch die Wanderwellenbewegung werden die Zilien an der Oberseite der IHZ abgeschert, wodurch die Transduktionskanäle öffnen
2. durch die Transduktionskanäle strömen  $\text{K}^+$  Ionen ein, die die IHZ depolarisieren und zu einem Rezeptorpotenzial führen
3. am basolateralen Ende der IHZ öffnen spannungsabhängige  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle
4. die einströmenden  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen lösen die Ausschüttung von Neurotransmitter aus (wahrsch. Glutamat, z. B. Glowatzki und Fuchs, 2002; Nordang et al., 2000)

Parallel werden durch das Rezeptorpotenzial  $\text{K}^+$ -Kanäle geöffnet, die die IHZ in Richtung des Ruhemembranpotenzials hyperpolarisieren. Dieser Prozess läuft mit einer hohen zeitlichen Präzision ab, so dass die auf dem auditorischen Nerven ableitbaren Aktionspotenziale bis zu Frequenzen von einigen kHz zeitlich an den akustischen Reiz gekoppelt sind (sog. „phase locking“, siehe z. B. Palmer und Russell, 1986). Ein zentrales Element in dieser Verarbeitungskette stellen die spannungsgesteuerten  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle dar, die über den  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom die eigentliche Transmitterausschüttung anstoßen.

In Platzer et al. (2000) konnten die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme in den IHZ von Mäusen molekular identifiziert werden. Sie fließen zu mehr als 90 % durch L-Typ Kanäle vom Typ  $\text{Ca}_V 1.3$ . Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme der IHZ weisen für L-Typ Kanäle einige Besonderheiten auf:

- ein sehr niedriges Aktivierungspotenzial

- sehr schnelle Aktivierungszeitkonstanten ( $<1$  ms)
- geringe Inaktivierung

Diese Eigenschaften ermöglichen eine

- hohe Sensitivität der Säugerohren auch bei niedrigen Pegeln
- hohe zeitliche Präzision (Stichwort „phase locking“)
- Erhaltung dieser Eigenschaften auch bei Dauerstimulation

Die Eigenschaften der  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle in den IHZ stellen also eine Spezialisierung auf die Funktion im auditorischen System hin dar.

Bei der Benutzung von Mobiltelefonen ist das Ohr durch seine Nähe zum Mobiltelefon relativ hohen Feldstärken ausgesetzt. Deshalb soll innerhalb dieses Forschungsprojektes der Einfluss hochfrequenter elektromagnetischer Wechselfelder, wie sie von Mobiltelefonen ausgesendet werden, auf die Eigenschaften der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme in inneren Haarsinneszellen untersucht werden. Die Ströme sollen vor, während und nach — verblindeter — Feldexposition/Blindexposition über Ganzzelleitungen mit der patch-clamp Methode (Hamill et al., 1981) abgeleitet werden.

## 2 Einleitung

Die nachfolgende Literaturstudie beschränkt sich auf Untersuchungen, die sich entweder direkt oder indirekt auf einen möglichen Einfluss von Mobilfunkfeldern auf die auditorische Verarbeitung beziehen, oder aber Ionenströme unter Mobilfunkbefeldung untersuchen (hier möglichst mit der patch-clamp Methode).

## 3 Literaturübersicht

### 3.1 Messung otoakustischer Emissionen

Gemessen an der Zahl der Veröffentlichungen im Bereich der Mobilfunkfelder umfassen die Untersuchungen, die sich direkt mit der auditorischen Verarbeitung befassen, überraschenderweise nur wenige Arbeiten.

Ozturan et al. (2002) verwendeten otoakustische Emissionen (OAEs) zur Untersuchung des Einflusses von Mobilfunkfeldern auf das Gehör. OAEs sind Töne, die durch aktive Prozesse in den *äußeren* Haarsinneszellen im Innenohr erzeugt und im Gehörgang nachgewiesen werden können (z. B. Kemp,

1986). Sind die OAEs verringert, geht man davon aus, dass die aktiven Prozesse (und damit die äußeren Haarsinneszellen) im Innenohr in ihrer Funktion beeinträchtigt sind.

Von Ozturan et al. (2002) wurden Distorsionsprodukt-otoakustische Emissionen (DPOAEs) sowie transient evozierte otoakustische Emissionen (TEOAEs) an 30 normalhörenden Probanden (17 männl., 13 weibl.) jeweils vor und nach Befeldung bestimmt. Die Befeldung erfolgte über eine Dauer von 10 Minuten mit einem *unmodifizierten* GSM-Mobiltelefon (Panasonic GD 600, Panasonic, UK, Markteinführung ca. 1998), das an das rechte Ohr der Probanden gehalten wurde. Das Protokoll der Messung sah folgendermaßen aus:

1. Messung von TEOAEs und DPOAEs
2. 10 Minuten Pause
3. Wiederholung der Messung
4. Befeldung für 10 Minuten
5. Messung von TEOAEs und DPOAEs
6. 10 Minuten Pause
7. Wiederholung der Messung

Jede der Messungen wurde im Abstand von 10 Minuten jeweils vor und nach Befeldung wiederholt. Die Wiederholung vor der Befeldung ergab eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sowohl für die TEOAEs als auch die DPOAEs. Alle Probanden wurden bei jeder Messung den Mobilfunkfeldern ausgesetzt; es gab keine Verblindung.

Verglichen wurden die frequenzbezogenen Mittelwerte der Messungen über alle Probanden. Ein statistischer Test ergab für beide Typen von OAEs *keinen* signifikanten Unterschied zwischen den Mittelwerten der Messungen vor und nach Befeldung. Die Wiederholung der Messung nach der Befeldung im Abstand von 10 min war ursprünglich vorgesehen, um eine mögliche Erholung nach einer nachweisbaren Veränderung der OAEs durch die Befeldung zu erfassen.

Der Schwachpunkt der Studie ist die fehlende Dosimetrie. Das Mobiltelefon wurde lediglich für 10 Minuten im aktivierten Zustand ans rechte Ohr gehalten. Die Probanden waren angewiesen, nicht zu sprechen, um mögliche rein akustische Einflüsse auf die nachfolgend bestimmten OAEs auszuschließen.

Die Sendeleistung von Mobiltelefonen hängt im Normalbetrieb von der Güte der Verbindung zur Basisstation ab, die wiederum von vielen Faktoren beeinflusst werden kann. Die Autoren konnten nicht einmal mittlere Werte für die Sendeleistung des Mobiltelefons angeben. Aus der Studie geht auch nicht hervor, ob wirklich eine Verbindung hergestellt wurde. Hinzu kommt, dass im

GSM-Standard vorgesehen ist, dass Mobiltelefone bei Stille (wie in dieser Studie) in einen „Discontinuous Transmission“ (DTX) Modus umschalten, bei dem nur ein mit 2 Hz getaktetes Signal zur Aufrechterhaltung der Verbindung zur Basisstation gesendet wird. Dies dient der Reduktion der Störung von anderen Sendekanälen und spart gleichzeitig Energie. Die tatsächliche Sendeleistung wird durch DTX in etwa um den Faktor 100 reduziert.

Grundsätzlich ist mit einem *unmodifizierten* Mobiltelefon eine definierte Befeldung im Sinne einer genauen Kontrolle der experimentellen Parameter nicht möglich. Unter diesen Bedingungen lässt sich mit der geringen Anzahl der Versuchspersonen in diesem Experiment keine sichere Aussage treffen, dazu bedarf es eher Zahlen in der Größenordnung von epidemiologischen Studien.

In einer weiteren Arbeit (Kizilay et al., 2003) wurde der Einfluss von Mobilfunkfeldern auf die DPOAEs von jungen Ratten (ab Tag 2 nach der Geburt) und adulten Ratten untersucht. Im Unterschied zu Ozturan et al. (2002) wurde die Befeldung jedoch über einen Zeitraum von 30 Tagen jeweils auf eine Stunde am Tag ausgedehnt. Der Vergleich der OAEs jeweils vor und nach Befeldung erbrachte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zu einer Kontrollgruppe mit einer Blindbefeldung. Dies gilt für beide Altersgruppen von Tieren.

Allerdings gilt auch hier wie für Ozturan et al. (2002), dass die Feldexposition nicht kontrolliert wurde. Es wurde ebenfalls ein unmodifiziertes GSM-Mobiltelefon (Ericsson GH 688, Markteinführung 1996) zur Befeldung verwendet. Die Autoren positionierten das Mobiltelefon senkrecht im Zentrum des Röhrenkarussells, in dem die Tiere während der Befeldung untergebracht waren. Zur Befeldung wurde das Mobiltelefon aktiviert, ob dabei eine Verbindung aufgebaut wurde, geht aus der Studie nicht hervor. Ansonsten gelten die gleichen Einschränkungen wie bei Ozturan et al. (2002).

### **3.2 Messungen akustisch-evozierter Hirnstammpotenziale (ABRs)**

In drei Arbeiten wurde der Einfluss von Mobilfunkfeldern auf so genannte akustisch-evozierte Hirnstammpotenziale (*auditory brainstem response*, ABR) untersucht. ABRs stellen Summenaktionspotenziale dar, die durch akustische Reize im Hörnerven und im Mittelhirn hervorgerufen werden. Die Reize sind kurze Klicks oder Tonpulse und die Antworten werden durch Mittelung im Zeitbereich von vielen ( $\geq 1000$ ) einzelnen ABRs erzeugt. Dabei ergeben sich im Zeitverlauf der ABRs mehrere sog. Wellen (Maxima im Verlauf der evozierten Potenziale über der Zeit, mit römischen Ziffern gekennzeichnet), die umso stärker gegenüber dem akustischen Reiz verzögert sind, je zentraler die Verarbeitungsstufen der auditorischen Verarbeitung sind, aus dem das zugehörige Summenpotenzial stammt. Zusätzlich vergrößern sich die Latenzzeiten, wenn der Pegel der Signale verringert wird. ABRs stellen ein Standardinstrument in der klinischen Diagnose von Schwerhörigkeiten dar.



In einer als „Preliminary note“ gekennzeichneten Veröffentlichung bestimmten Kellényi et al. (1999) bei 9 Probanden beidseitig ABRs nach einer 15 minütigen Exposition (einfach verblindet) mit einem computergesteuerten Mobiltelefon und verglichen die ABR-Ergebnisse zwischen dem exponierten und dem nicht exponierten Ohr. Die Spitzensendeleistung des Mobiltelefons betrug bei der Befeldung 2 W. Die ABR-Ergebnisse auf dem nicht exponierten Ohr entsprachen bekannten Referenzwerten aus der Literatur. Für die Welle V fanden sie eine um 0,207 ms erhöhte Latenz bei dem exponierten Ohr, die einem Hochtonhörverlust von etwa 15-18 dB entsprechen würde. Für drei Probanden wurden daraufhin in einem Zusatzexperiment audiometrische Messungen direkt vor und nach einer Befeldung durchgeführt. Auch hier geben die Autoren einen Hörverlust von ca. 20 dB auf dem exponierten Ohr an, *ohne* dass die Probanden einen subjektiv spürbaren Hörverlust angeben konnten.

Dieser letzte Punkt ist besonders problematisch innerhalb der Studie, da ein *einseitiger* Hörverlust von 20 dB subjektiv zu einer deutlichen Lateralisation des Höreindrucks zum besser hörenden Ohr führen sollte. 20 dB interaurale Pegeldifferenz ist im Freifeld bei z. B. 4 kHz der maximal erreichbare Pegelunterschied bei genau seitlichem Schalleinfall (Middlebrooks und Green, 1991). Die Schwelle für die interaurale Pegeldifferenz liegt bei nur etwa 1 dB (Middlebrooks und Green, 1991). Deshalb ist unklar, warum die Probanden dennoch von keinerlei Hördefiziten berichteten. Hinzu kommt, dass Symptome dieser Art in der Literatur außer in dieser Arbeit nicht beschrieben wurden. Die Problematik wurde von den Autoren nicht weiter diskutiert. Als mögliche Ursache für die Ergebnisse wird von den Autoren eine lokale Temperaturerhöhung durch den hohen Flüssigkeitsgehalt insbesondere um die ÄHZ des Cortischen Organs vermutet und weitere Untersuchungen angemahnt. Bisher ist keine Studie bekannt, die die vorgestellten Messungen (insbesondere die Hörmessungen) hätte reproduzieren können.

Arai et al. (2003) bestimmten neben ABRs auch *auditory response recovery-functions* (ABR-Rs) und *middle latency responses* (MLRs) jeweils vor und nach Befeldung mit einem Mobiltelefon. *Auditory brainstem response recovery-functions* (ABR-Rs) werden durch Doppelstimulation mit zwei Signalen hintereinander hervorgerufen. Abhängig von dem zeitlichen Abstand der Stimuli voneinander verringert der erste Stimulus die Amplitude der Wellen in der ABR des zweiten. Erst bei entsprechend großem Stimulusabstand erreichen die ABR-Amplituden des zweiten Stimulus die Vergleichswerte.

Von MLRs spricht man bei evozierten Potenzialen mit Latenzzeiten von etwa 20-70 ms. MLRs werden von thalamo-cortikalen Projektionen und dem temporalen auditorischen Cortex erzeugt und sind also eher mit Ereignis-korrelierten EEG-Messungen vergleichbar.

Zur Befeldung wurde ein modifiziertes Mobiltelefon (Matsushita, P97-7051-0) verwendet, das - über einen Stimulator gesteuert - mit einer definierten Leis-

tung sendete (0,8 W bei den in Japan üblichen 800 MHz). Insgesamt 15 Probanden (10 männl., 5 weibl.) hielten das Mobiltelefon zur Befeldung für 30 Minuten in normaler Gesprächshaltung an ihr rechtes Ohr. Alle Probanden wurden unverblindet den Feldern ausgesetzt. Zur Auswertung wurden die gemessenen ABRs, ABR-Rs, und MLRs zwischen den Situationen vor und nach der Befeldung verglichen.

Die gezeigten Daten der ABRs, ABR-Rs und MLRs stimmen gut mit bisher publizierten Daten aus verschiedenen Veröffentlichungen zu ABRs überein. Die Auswertung ergab keinerlei statistisch signifikanten Unterschied durch die erfolgte Befeldung. Die Autoren konnten keine Erklärung für die Diskrepanzen zu der Arbeit von Kellényi et al. (1999) angeben, sahen sich aber in Übereinstimmung mit dem Ergebnis von Ozturan et al. (2002), die keinen Effekt auf die bestimmten OAEs fanden.

In der dritten Arbeit bestimmten Bak et al. (2003) den Einfluss von Mobilfunkfeldern auf ABRs vor und nach je 20 Minuten andauernder Befeldung auf dem rechten und dem linken Ohr. Es wurde bei drei verschiedenen Frequenzen (450 MHz, ca. 900 MHz und ca. 1800 MHz, den in Polen üblichen Frequenzen) befeldet, wobei eine Gruppe von insgesamt 45 Probanden auf die drei Frequenzen aufgeteilt wurde. Zur Befeldung diente ein unmodifiziertes Mobiltelefon, dessen Sendeleistung mit einem zusätzlichen Messinstrument im Abstand von 15 cm von der Antenne bestimmt wurde (angegebene Messwerte  $S=50-150 \text{ mW/m}^2$ ). Die Sendeleistung wurde jedoch nicht von den Experimentatoren kontrolliert oder vorgegeben. Aus den Ergebnissen der drei ABR-Messungen (vor Befeldung, nach Befeldung rechts, nach Befeldung links) ließen sich keinerlei Einflüsse auf die abgeleiteten ABRs erkennen. Auch eine Reihe von statistischen Tests erbrachte keinerlei signifikante Einflüsse der Mobilfunkfelder auf die Messergebnisse. Problematisch ist auch in dieser Studie die schlechte Kontrolle der Befeldungsleistung.

Zwar kontrollierten Kellényi et al. (1999) und Arai et al. (2003) die Sendeleistung des Mobiltelefons — anders als in den Untersuchungen von Bak et al. (2003) oder Kizilay et al. (2003) und Ozturan et al. (2002). Die tatsächliche Feldexposition und -absorption im betreffenden Gewebe kann allerdings außerhalb von besonderen Messständen nicht genau kontrolliert werden, da bereits die genaue Orientierung des Telefons zum Probanden und auch mögliche Absorber/Reflektoren in der Umgebung (z. B. Möbel, Messgeräte oder u. U. auch die anwesenden Experimentatoren selbst) die genaue Feldausbreitung beeinflussen können.

### 3.3 Bestimmung von Ordnungsschwellen unter Feldeinfluss

Maier et al. (2004) verwendeten ein psychoakustisches Testverfahren, um die mögliche Beeinflussung von kognitiven Prozessen durch Mobilfunkfelder zu erfassen. Hierzu bestimmten die Autoren sog. „Ordnungsschwellen“.

Es wurden 11 Probanden *nacheinander* rechts und links akustische Signale (Frequenzgehalt nicht angegeben) von 1 ms Dauer über Kopfhörer vorgespielt. Auf welcher Seite der Stimulus zuerst angeboten wurde, wurde zufällig gewählt. Die Probanden mussten angeben, auf welcher Seite sie den Stimulus zuerst wahrgenommen hatten. Bei korrekten Antworten wurde der zeitliche Abstand der Stimuli verringert, bei falschen Antworten erhöht. Nach 200 angebotenen Stimuluspaaren wurde die Messung beendet und die Messung nach einer 50 minütigen Pause wiederholt.

Der gesamte Messvorgang wurde an einem anderen Tag wiederholt. An einem der beiden Messtage wurden die Probanden in der Pause über ein programmierbares Mobiltelefon (Motorola 920) im Abstand von 4 cm vom Kopf befeldet ( $S=1\text{mW/m}^2$ ).

Zur Ermittlung der Messwerte berechneten Maier et al. (2004) zunächst eine punktweise Differenzkurve des Verlaufs der Einzelwerte der Zeitabstände, die sich während der 200 Präsentationen der Stimuluspaare ergaben. Das Integral über diese Differenzkurve ergab dann die eigentliche „Schwelle“; von den Autoren „resulting order threshold“ (resOT) genannt. Die von den Autoren berechneten Werte ergeben tendenziell schlechtere resOTs nach der Befeldung. Die gesamte Veröffentlichung weist allerdings erhebliche methodische Mängel im Design der Studie, der Durchführung, der Auswertung und der Darstellung auf. Im folgenden sollen nur die wichtigsten Punkte kurz angeschnitten werden.

Psychoakustische Messungen erfordern eine gewisse Lernphase, bevor die Ergebnisse stabil sind. Insbesondere zu Beginn sind große Schwankungen bei den Messergebnissen nicht unüblich. Hier wurden die vier ersten Messungen vollständig in die Auswertung übernommen.

Bei adaptiven Messverfahren, wie sie hier angewendet werden (z. B. Levitt, 1971; Kaernbach, 1991), wird abhängig von der Antwort der Probanden der nächste Stimulusparameter eingestellt. Dabei ist es wichtig, in welchem Verhältnis die Schrittweite zur Regulierung der Parameter zur Größe der erreichten Schwelle steht. Maier et al. (2004) verwendeten bei Stimulusabständen von mehr als 100 ms eine Schrittweite von 3 ms bzw. 1 ms bei geringeren Abständen. Bei korrekten Antworten wurden die Stimulusabstände um diese Schrittweite verringert, bei falschen Antworten um den dreifachen Wert erhöht. Das Problem hierbei ist, dass die geringsten Stimulusabstände, für die korrekte Antworten hinreichend oft (und nicht nur zufällig) erzielt wurden, bei etwa 100 ms lagen. Bei diesen Schwellenwerten ist mit Schrittweiten von 1-3 ms

nicht zu erwarten, dass eine große Änderung in der Detektionswahrscheinlichkeit mit einer Änderung des zeitlichen Abstands der Stimuli einhergeht. Damit ist aber das konkrete Antwortverhalten stark stochastisch, bis zu einer deutlichen Änderung der Wahrnehmung nach einer Reihe weiterer Schritte. Dadurch verlängert sich zum einen direkt die Gesamtdauer einer Messung, zum anderen hat dies einen Einfluss auf die resOT, so wie sie von den Autoren berechnet wurde (s. u.). In den in Maier et al. (2004) gezeigten Beispielen für den Verlauf einer Messung verbringt der Proband die Hälfte der Zeit, um überhaupt in den Bereich zu kommen, in dem falsche Antworten auftreten können. In der Regel werden in solchen Experimenten insbesondere zu Beginn der Messung deutlich größere Schrittweiten gewählt und auch am Ende der Messung sollten die Schrittweiten nicht zu gering gewählt sein (siehe z. B. Münkner et al., 1996, für eine monaurale Messung von Dauerunterschiedsschwellen).

Sehr problematisch ist in diesem Fall auch die Definition der „Schwelle“ (hier „resulting order threshold“) als Integral über den Verlauf der Differenzwerte zwischen den Messungen vor und nach der Relaxationsphase. In der Regel wird in psychoakustischen Messungen mit adaptiven Verfahren dann von einer „Schwelle“ gesprochen, wenn die Wahrscheinlichkeit, den Messparameter zu erhöhen, gleich der Wahrscheinlichkeit ist, ihn zu verringern. Damit pendelt der Messparameter um den so definierten Schwellenwert, der je nach Verfahren einer bestimmten mittleren Detektionswahrscheinlichkeit entspricht (siehe z. B. Green und Swets, 1974; Levitt, 1971; Kaernbach, 1991). Als Messergebnis wird dann z. B. der Mittelwert über eine feste Anzahl von Umkehrpunkten mit der kleinsten Schrittweite für den Messparameter berechnet.

Maier et al. (2004) betrachteten jedoch den Verlauf der gesamten Kurve, die sich als Differenz zwischen den Messkurven vor und nach Relaxationsphase ergab. Nach der Signalentdeckungstheorie stellt der Verlauf der einzelnen Messung einen durch die Antworten gesteuerten stochastischen Prozess dar, wobei durch die adaptive Steuerung der Messparameter sich während der Messung auch die Richtig-Antwort-Wahrscheinlichkeiten ändern. Das Integral über eine Differenz zweier solcher Messkurven ist bis auf einen Faktor gleich dem Mittelwert und unterliegt damit ebenfalls einer Stochastik. Der Vergleich zweier einzelner solcher Mittelwerte ist damit gar nicht zulässig, das gesamte Verfahren ohne eine ausreichende Zahl von Messungen, die eine korrekte statistische Auswertung ermöglichen, praktisch ohne Aussagekraft. Tatsächlich wurde laut Definition der Autoren für eine „resOT“ je Proband lediglich genau eine „resOT“ pro Befeldungssituation bestimmt.

Man kann sich den Einfluss von den stochastischen Schwankungen auch an folgendem Gedankenexperiment verdeutlichen. Ein geringer Unterschied in dem Verlauf zu Beginn der Messung kann dazu führen, dass eine Art Phasenverschiebung im Kurvenverlauf auftritt, *obwohl* die Messungen am Ende praktisch ideal um den gleichen Schwellenwert/Messwert pendeln könnten. Das Integral über die Differenz der Kurven wäre damit jedoch deutlich ver-

scheiden von Null und vollständig davon abhängig, in welcher der Messungen der Unterschied wann auftrat.

Dass das Integral außerdem von dem Bereich der Messungen bis zum Erreichen des eigentlichen Schwellenbereichs dominiert werden kann und durch die zu kleine Schrittweite der Anteil der Messkurven im eigentlichen Schwellenbereich viel zu niedrig ist, ist hier ein weiterer Kritikpunkt.

Verdeutlichen lässt sich die Gesamtproblematik an den Beispielen in den Kurven aus Fig. 3A und 3B der Veröffentlichung. Beide Kurven *nach* der Relaxationsphase zeigen eigentlich einen gut übereinstimmenden Verlauf, mit einer flachen Plateauphase gegen Ende der Messung bei ca. 100 ms — unabhängig von der Feldexposition. Die zugehörigen Differenzkurven sind jedoch deutlich unterschiedlich, weil sich die jeweiligen Messungen *vor* der Relaxationsphase stark unterscheiden (die Kurve vor der nicht-befeldeten Relaxationsphase zeigt eine deutliche Tendenz zu höheren Messwerten). Dies kann jedoch nicht durch die *danach* durchgeführte Befeldung erklärt werden.

Zusätzlich sind in der Darstellung der Ergebnisse viele Punkte unklar. Ein gravierender Punkt ist, dass entgegen der Definition der Autoren der „resOT“ als Integral über die Differenzkurven, in Fig. 4A und Fig. 4B zwar die Achsen mit „resOT“ beschriftet sind, aber offensichtlich einfach das Integral über die Einzelmesskurven nach der Relaxationsphase über dem Integralwert der jeweiligen Kurve nach der Relaxationsphase aufgetragen wurde. Die Bedeutung dieser Werte wird von den Autoren nicht erläutert. Außerdem sprechen die Autoren schon von einer „order threshold“, wenn eigentlich nur ein einzelner während des Messverlaufs eingestellter Parameterwert gemeint ist.

In der Diskussion werden drei Veröffentlichungen zitiert, in denen laut Aussage der Autoren von einer Veränderung der *Bluttemperatur* berichtet wird. Tatsächlich wurden in den zitierten Arbeiten in zwei Fällen der *Blutdruck* (in einem Fall zusätzlich zum Blutfluss) untersucht und in einem Fall Ableitungen von EEGs vorgenommen, aber in keinem Fall die *Bluttemperatur* bestimmt.

Die Arbeit von Maier et al. (2004) ist insgesamt mit so erheblichen Mängeln behaftet, dass sie nicht zu einer Bewertung von möglichen Einflüssen von Mobilfunkfeldern auf Menschen herangezogen werden kann.

### 3.4 EEG-Messungen während auditorischer Tests

Es existieren keine weiteren Arbeiten, die direkt den Einfluss von Mobilfunkfeldern auf die auditorische Verarbeitung untersuchen. Eine Reihe von Publikationen hat jedoch bei EEG-Untersuchungen neben dem Ruhe-EEG auch EEG-Ableitungen während der Lösung kognitiver Aufgaben vorgenommen, darunter auch auditorische Diskriminations- oder Gedächtnisaufgaben. Die Tests sollen dabei lediglich zu einer reproduzierbaren kognitiven Beanspruchung in einem bestimmten Experiment führen, die eigentliche Aufgabe ist in der Regel nicht

entscheidend. Die Bewertung dieser Arbeiten ist jedoch aufgrund der großen Schwankungen der Ergebnisse und der daraus resultierenden geringen Reproduzierbarkeit grundsätzlich nicht einfach, was sich im folgenden an einigen Arbeiten exemplarisch darstellen lässt.

In Krause et al. (2000) und Krause et al. (2004) wurde mit dem gleichen Messverfahren der Einfluss einer Mobilfunkbefeldung auf EEG-Ableitungen in Zusammenhang mit einem auditorischen Gedächtnistest untersucht. In der zweiten Studie sollten die Ergebnisse der ersten Studie überprüft werden. Die Befeldung erfolgte in beiden Fällen über ein computergesteuertes Mobiltelefon, das direkt in Kopfnähe angebracht wurde. In Krause et al. (2004) wurden die SAR-Werte im Gewebe mit einem Simulationsprogramm berechnet. In Krause et al. (2000) erfolgte eine einfach verblindete Exposition, in Krause et al. (2004) eine doppelte Verblindung. Die Befeldung wurde für jeden Probanden entweder in der ersten oder der zweiten Hälfte der Tests durchgeführt (Dauer des Tests ca. 60 min, Dauer der Befeldung ca. 30 min).

Während der Tests wurden die „event-related desynchronisation/synchronisation“ (ERD/ERS) in einzelnen Frequenzbereichen des abgeleiteten EEGs bestimmt. Synchronisation bezieht sich dabei auf die Zunahme der Amplituden, Desynchronisation auf eine Abnahme der Amplituden im EEG. Die einzelnen Frequenzbereiche in den EEGs werden dabei unterschiedlichen kognitiven Prozessen zugeordnet (Aufmerksamkeit, semantische Gedächtnisleistungen etc.).

Über Signifikanztests wurde dann der Einfluss der Befeldung auf die gemessenen EEGs, ERDs, und ERSs bestimmt. Dabei zeigte sich, dass alle acht in Krause et al. (2000) signifikanten Einflüsse in Krause et al. (2004) kein ausreichendes Signifikanzniveau erreichten. Dagegen zeigten sich in Krause et al. (2004) einige neue signifikante Einflüsse, die in Krause et al. (2000) nicht signifikant waren. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Effekte von elektromagnetischen Feldern auf EEGs und die Leistung in Gedächtnisaufgaben aus bisher unbekanntem Gründen variabel und nicht einfach zu bestätigen sind. Diese möglicherweise prinzipielle Schwierigkeit beim Nachweis von Effekten durch Mobilfunkfelder über EEG-Messungen wird durch zwei weitere Arbeiten unterstützt. In Koivisto et al. (2000a) wurde ein Effekt von Mobilfunkfeldern auf die Reaktionszeiten in einem kognitiven Gedächtnistest gefunden, der in einer aufwändigeren Folgestudie (Haarala et al., 2004) jedoch nicht bestätigt werden konnte. Die Autoren diskutieren die Möglichkeit, dass entweder die Effekte tatsächlich nicht vorhanden sind, oder dass sie so gering sind, dass sie mit den angewendeten Methoden nicht sicher zu erfassen sind.

Croft et al. (2002) fanden einen — wenn auch geringen — Effekt in den EEG-Kurven von Probanden, die mit GSM Mobilfunkfeldern befeldet wurden. Die EEGs wurden abgeleitet, während die Probanden eine auditorische Diskriminationsaufgabe lösten. Die Befeldung wurde einfach verblindet mit einem

*unmodifizierten* Mobiltelefon durchgeführt. Die Dauer der Befeldung betrug ca. 60 min, die Leistung des Telefons konnte nur auf 3-4 mW abgeschätzt werden. Die Autoren diskutieren ihre Ergebnisse, die teilweise im Widerspruch zu anderen Arbeiten stehen (z. B. Eulitz et al., 1998), unter dem Gesichtspunkt, dass in ihrem Fall deutlich länger als in den anderen Studien befeldet wurde, und dass sie über aufwändigere Analysen versucht haben, das Signal-Rausch-Verhältnis zu optimieren. Der letzte Punkt würde zu der Argumentation von Haarala et al. (2004) passen, dass Effekte, wenn sie auftreten, schwer nachzuweisen sein könnten. In der Diskussion wird von Croft et al. (2002) auch versucht, die gefundenen Effekte in Beziehung zu anderen externen Einflüssen auf EEGs zu stellen, und sie schätzen ab, dass die gefundenen Einflüsse auf das EEG in der Größenordnung der Einflüsse einer starken Tasse Kaffee oder des Schließens der Augen liegen. Unbefriedigend ist in der Studie von Croft et al. (2002) jedoch die Befeldung über ein unmodifiziertes Mobiltelefon, dessen Sendeleistung in keiner Weise kontrolliert werden konnte.

Aus dem gleichen Labor stammt eine weitere Arbeit von Hamblin et al. (2004), in der ebenfalls in einem auditorischen Diskriminationstest der Einfluss von Mobilfunkfeldern auf Ereignis-korrelierte Potenziale bestimmt wurde. Die Feldexposition wurde über ein modifiziertes Mobiltelefon deutlich besser kontrolliert. Die Ergebnisse zeigen ebenfalls Hinweise auf eine Beeinflussung von den ermittelten Ereignis-korrelierten Potenzialen durch die Befeldung. Allerdings finden Hamblin et al. (2004) auch eine *Erhöhung* der im Experiment ebenfalls mitbestimmten Reaktionszeiten. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu anderen Arbeiten (z. B. Preece et al., 1999; Koivisto et al., 2000a,b) wo in ähnlichen Versuchen eher eine *Verringerung* der Reaktionszeiten gefunden wurde. Allerdings ließen sich die Ergebnisse von Koivisto et al. (2000a) durch die Replikationsstudie (Haarala et al., 2003b) nicht bestätigen (s. o.). Hamblin et al. (2004) diskutieren diese Diskrepanzen in Hinblick auf mögliche Unterschiede in den Wahrnehmungsmodalitäten (visuell/auditorisch), der konkreten kognitiven Aufgabe und der Expositionsdauer.

Ein weiteres Beispiel für die grundsätzlichen Probleme bei der Durchführung dieser Art der Experimente ist auch die Arbeit von Haarala et al. (2003a), in der mittels Positronen-Emissionstomographie (PET) versucht wurde, den Einfluss von Mobilfunkfeldern auf den lokalen zerebralen Blutfluss zu erfassen. Zwar zeigt sich in der Arbeit eine Erhöhung des lokalen Blutflusses im auditorischen Cortex nach Befeldung durch ein Mobiltelefon, allerdings können die Autoren für diese Erhöhung aufgrund von Simulationen der Feldverteilungen im Kopf der Probanden keinen ursächlichen Zusammenhang mit der Feldexposition erkennen. Tatsächlich sollten andere Hirnregionen stärkeren Einflüssen unterworfen sein. Die Autoren schließen nicht aus, dass Arbeitsgeräusche des zur Befeldung verwendeten Mobiltelefons (z. B. Batteriegeräusche) für eine akustische Stimulation während der Befeldung verantwortlich waren und damit die erhöhte Durchblutung des auditorischen Cortex ausgelöst haben könnten.

Insgesamt ist der Bereich des Einflusses von Mobilfunkfeldern auf die Ergebnisse von EEG-Messungen schwer zu beurteilen. Die Effekte sind schlecht zu reproduzieren, selbst innerhalb desselben Labors. Ob gesundheitliche Probleme entstehen können, vorausgesetzt die Effekte lassen sich bestätigen, ist zur Zeit ebenfalls nicht abschließend zu bewerten. Im Zusammenhang mit der durchzuführenden Studie bleibt festzuhalten, dass im Bereich der auditorischen Verarbeitung kein konsistentes Bild erkennbar ist.

### 3.5 Patch-clamp Messungen unter Mobilfunkbefeldung

Es konnte nur eine Veröffentlichung in einem referierten Journal gefunden werden, in der patch-clamp Messungen von Ionenströmen unter dem Einfluss von Mobilfunkfeldern beschrieben wurden. Es fanden sich auch keine Arbeiten, in denen extra- oder intrazelluläre elektrophysiologische Ableitungen in Schnitten oder narkotisierten Tieren unter Feldeinfluss beschrieben wurden.

Linz et al. (1999) untersuchten den Einfluss von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf die Ströme von L-Typ  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanälen vom Typ  $\text{Ca}_V 1.2$  in isolierten Herzmuskelzellen von Meerschweinchen und Ratten. Die Befeldung erfolgte über Rechteckhohlleiter mit gepulsten Mikrowellensignalen, die denen des GSM-Standards entsprechen, bei Frequenzen von 900 MHz und 1800 MHz. Zusätzlich wurde eine kontinuierliche Befeldung mit 180 MHz (Polizeifunk) getestet. Die Dosimetrie wurde über Simulationsrechnungen durchgeführt, so dass die Befeldung mit genau definierten Feldparametern erfolgte. Die maximale Befeldungsdauer betrug ca. 3 min. Es wurde mit unterschiedlichen SAR-Werten befeldet, die z.T. über den für Mobiltelefonen erlaubten Grenzwerten lag.

Die Ströme wurden in patch-clamp Ableitungen in der Ganzzellkonfiguration bei Temperaturen von 24°C und 36°C gemessen. Als Parameter wurden neben den Strom-Spannungskurven der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme auch die Ruhepotentiale der Zellen, Aktionspotentiale (ausgelöst durch kurze Strominjektionen) und z. T.  $\text{K}^+$ -Ströme erfasst.

In der Auswertung bestimmten Linz et al. (1999) die Parameter der Aktivierung und der Inaktivierung der ermittelten  $\text{Ca}^{2+}$ -Ströme (Potenzial der halbmax. Aktivierung/Inaktivierung, max. Stromamplitude des  $\text{Ca}^{2+}$ -Stroms), sowie für die Aktionspotentiale die Dauer und die max. Depolarisation. Bei der Ableitung der  $\text{K}^+$ -Ströme wurden langsame Spannungsrampen benutzt und in der Auswertung die sich ergebenden Stromkurven miteinander verglichen.

Als Ergebnis stellen die Autoren fest, dass sich keiner der bestimmten Parameter unter Feldeinfluss veränderte. Auch bei einer anderen Temperatur ergab sich das gleiche Bild.



## 4 Abschließende Bewertung

Derzeit ist die Datenlage zu möglichen Einflüssen von Mobilfunkfeldern auf das Hörsystem eher unbefriedigend.

Die OAE-Messungen Ozturan et al. (2002); Kizilay et al. (2003) erlauben aufgrund der unzureichenden Dosimetrie keine ausreichenden Rückschlüsse, da in beiden Fällen unmodifizierte Mobiltelefone zur Befeldung verwendet wurden. Zwei der drei durchgeführten Studien zu möglichen Einflüssen von Mobilfunkfeldern auf ABR-Ableitungen zeigen keinen akuten Zusammenhang zwischen Befeldung und ABR-Ergebnissen, die dritte Studie findet einseitig messbare Hörverluste, die aber von den Probanden subjektiv nicht beschrieben werden. Außer der Arbeit von Maier et al. (2004), deren Aussagen aufgrund der angesprochenen methodischen Mängel praktisch nicht verwendbar sind, existieren keine weiteren Untersuchungen aus dem Bereich der Psychoakustik.

Der Bereich der EEG-Messungen bei kognitiven Prozessen mit auditorischen Tests zeigt sehr inkonsistente Ergebnisse. Gefundene signifikante Einflüsse von Mobilfunkfeldern lassen sich zum Teil innerhalb des gleichen Labors bei erneuten Untersuchungen nicht bestätigen. Und auch im Vergleich zwischen verschiedenen Autoren finden sich Widersprüche in den Ergebnissen. Ob die gefundenen Einflüsse, sollten sie sich bestätigen lassen, gesundheitliche oder kognitive Beeinträchtigungen nach sich ziehen, kann noch nicht abschließend beurteilt werden. Es lässt sich jedoch festhalten, dass die bisher gefundenen Effekte eher klein sind.

Das Ergebnis der  $\text{Ca}^{2+}$ -Strom Messungen an Herzmuskel-Zellen mit der patch-clamp Methode zeigt, dass zum einen diese Messungen unter Befeldung möglich sind und zum anderen keine Einflüsse auf die Eigenschaften der Ströme des untersuchten Ionenkanals festgestellt werden konnten. Die untersuchten Kanäle dienen jedoch nicht der Neurosekretion wie in den Haarzellen des Corti-Organs und zeigen insgesamt andere Eigenschaften (starke Inaktivierung, relativ hohe Aktivierungspotenziale) als die  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle in den inneren Haarzellen, so dass sich die Ergebnisse nicht einfach übertragen lassen.

## Literatur

- Arai, N., Enomoto, H., Okabe, S., Yuasa, K., Kamimura, Y., und Ugawa, Y. (2003). "Thirty minutes mobile phone use has no short-term adverse effects on central auditory pathways," *Clin. Neurophysiol.* **114**, 1390–1394.
- Bak, M., Sliwinska-Kowalska, M., Zmyslony, M., und Dudarewicz, A. (2003). "No effects of acute exposure to the electromagnetic field emitted by mobile phones on brainstem auditory potentials in young volunteers," *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* **16**, 201–208.
- Croft, R. J., Chandler, J. S., Burgess, A. P., Barry, R. J., Williams, J. D., und Clarke, A. R. (2002). "Acute mobile phone operation affects neural function in humans," *Clin. Neurophysiol.* **113**, 1623–1632.
- Eulitz, C., Ullsperger, P., Freude, G., und Elbert, T. (1998). "Mobile phones modulate response patterns of human brain activity," *Neuroreport* **9**, 3229–3232.
- Glowatzki, E., und Fuchs, P. A. (2002). "Transmitter release at the hair cell ribbon synapse," *Nat. Neurosci.* **5**, 147–154.
- Green, D. M., und Swets, J. A. (1974). *Signal Detection Theory and Psychophysics*, Krieger, New York.
- Haarala, C., Aalto, S., Hautzel, H., Julkunen, L., Rinne, J. O., Laine, M., Krause, B., und Hämäläinen, H. (2003a). "Effects of a 902 MHz mobile phone on cerebral blood flow in humans: A PET study," *Neuroreport* **14**, 2019–2023.
- Haarala, C., Björnberg, L., Ek, M., Laine, M., Revonsuo, A., Koivisto, M., und Hämäläinen, H. (2003b). "Effect of a 902 MHz electromagnetic field emitted by mobile phones on human cognitive function: A replication study," *Bioelectromagnetics* **24**, 283–288.
- Haarala, C., Ek, M., Björnberg, L., Laine, M., Revonsuo, A., Koivisto, M., und Hämäläinen, H. (2004). "902 MHz mobile phone does not affect short term memory in humans," *Bioelectromagnetics* **25**, 452–456.
- Hamblin, D. L., Wood, A. W., Croft, R. J., und Stough, C. (2004). "Examining the effects of electromagnetic fields emitted by GSM mobile phones on human event-related potentials and performance during an auditory task," *Clin. Neurophysiol.* **115**, 171–178.
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., und Sigworth, F. J. (1981). "Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches," *Pflügers Archiv* **391**, 85–100.
- Kaernbach, C. (1991). "Simple adaptive testing with the weighted up-down method," *Perception and Psychophysics* **49**, 227–229.

- Kellényi, L., Thuróczy, G., Faludy, B., und Lénárd, L. (1999). "Effects of mobile GSM radiotelephone exposure on the auditory brainstem response (ABR)," *Neurobiology (Bp)* **7**, 79–81.
- Kemp, D. T. (1986). "Otoacoustic emissions, travelling waves and cochlear mechanisms," *Hear. Res.* **22**, 95–104.
- Kizilay, A., Ozturan, O., Erdem, T., Kalcioğlu, M. T., und Miman, M. C. (2003). "Effects of chronic exposure of electromagnetic fields from mobile phones on hearing in rats," *Auris Nasus Larynx* **30**, 239–245.
- Koivisto, M., Krause, C. M., Revonsuo, A., Laine, M., und Hämäläinen, H. (2000a). "The effects of electromagnetic field emitted by GSM phones on working memory," *Neuroreport* **11**, 1641–1643.
- Koivisto, M., Revonsuo, A., Krause, C., Haarala, C., Sillanmaki, L., Laine, M., und Hämäläinen, H. (2000b). "Effects of 902 MHz electromagnetic field emitted by cellular telephones on response times in humans," *Neuroreport* **11**, 413–415.
- Krause, C. M., Haarala, C., Sillanmaki, L., Koivisto, M., Alanko, K., Revonsuo, A., Laine, M., und Hämäläinen, H. (2004). "Effects of electromagnetic field emitted by cellular phones on the EEG during an auditory memory task: A double blind replication study," *Bioelectromagnetics* **25**, 33–40.
- Krause, C. M., Sillanmaki, L., Koivisto, M., Haggqvist, A., Saarela, C., Revonsuo, A., Laine, M., und Hämäläinen, H. (2000). "Effects of electromagnetic field emitted by cellular phones on the EEG during a memory task." *Neuroreport* **11**, 761–764.
- Levitt, H. (1971). "Transformed up-down methods in psychoacoustics," *J. Acoust. Soc. Am.* **49**, 467–477.
- Linz, K., von Westphalen, C., Streckert, J., Hansen, V., und Meyer, R. (1999). "Membrane potential and currents of isolated heart muscle cells exposed to pulsed radio frequency fields," *Bioelectromagnetics* **20**, 497–511.
- Maier, R., Greter, S. E., und Maier, N. (2004). "Effects of pulsed electromagnetic fields on cognitive processes - a pilot study on pulsed field interference with cognitive regeneration," *Acta Neurol. Scand.* **110**, 46–52.
- Middlebrooks, J. C., und Green, D. M. (1991). "Sound localization by human listeners," *Annu. Rev. Psychol.* **42**, 135–159.
- Münkner, S., Kohlrausch, A., und Püschel, D. (1996). "Influence of fine structure and envelope variability on gap-duration discrimination thresholds," *J. Acoust. Soc. Am.* **99**, 3126–3137.

- Nordang, L., Oestreicher, E., Arnold, W., und Anniko, M. (2000). "Glutamate is the afferent neurotransmitter in the human cochlea," *Acta Oto-Laryngol.* **120**, 359–362.
- Ozturan, O., Erdem, T., Miman, M. C., Kalcioglu, M. T., und Oncel, S. H. (2002). "Effects of the electromagnetic field of mobile telephones on hearing," *Acta. Otolaryngol.* **122**, 289–293.
- Palmer, A. R., und Russell, I. (1986). "Phase locking in the cochlear nerve of the guinea-pig and its relation to the receptor potential of inner hair-cells," *Hear. Res.* **24**, 1–15.
- Platzer, J., Engel, J., Schrott-Fischer, A., Stephan, K., Bova, S., Zheng, H., Chen, H., und Striessnig, J. (2000). "Congenital deafness and sinoatrial node dysfunction in mice lacking class d L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels," *Cell* **102**, 89–97.
- Preece, A. W., Iwi, G., Davies-Smith, A., Wesnes, K., Butler, S., Lim, E., und Varey, A. (1999). "Effect of a 915-MHz simulated mobile phone signal on cognitive function in man," *Int. J. Rad. Biol.* **75**, 447–456.