

# In vivo Experimente unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunkkommunikation A. Langzeituntersuchungen

M. Stohrer (Vortragender)

- Kognition
- Blut-Hirn-Schranke
- CA1-Neuronen

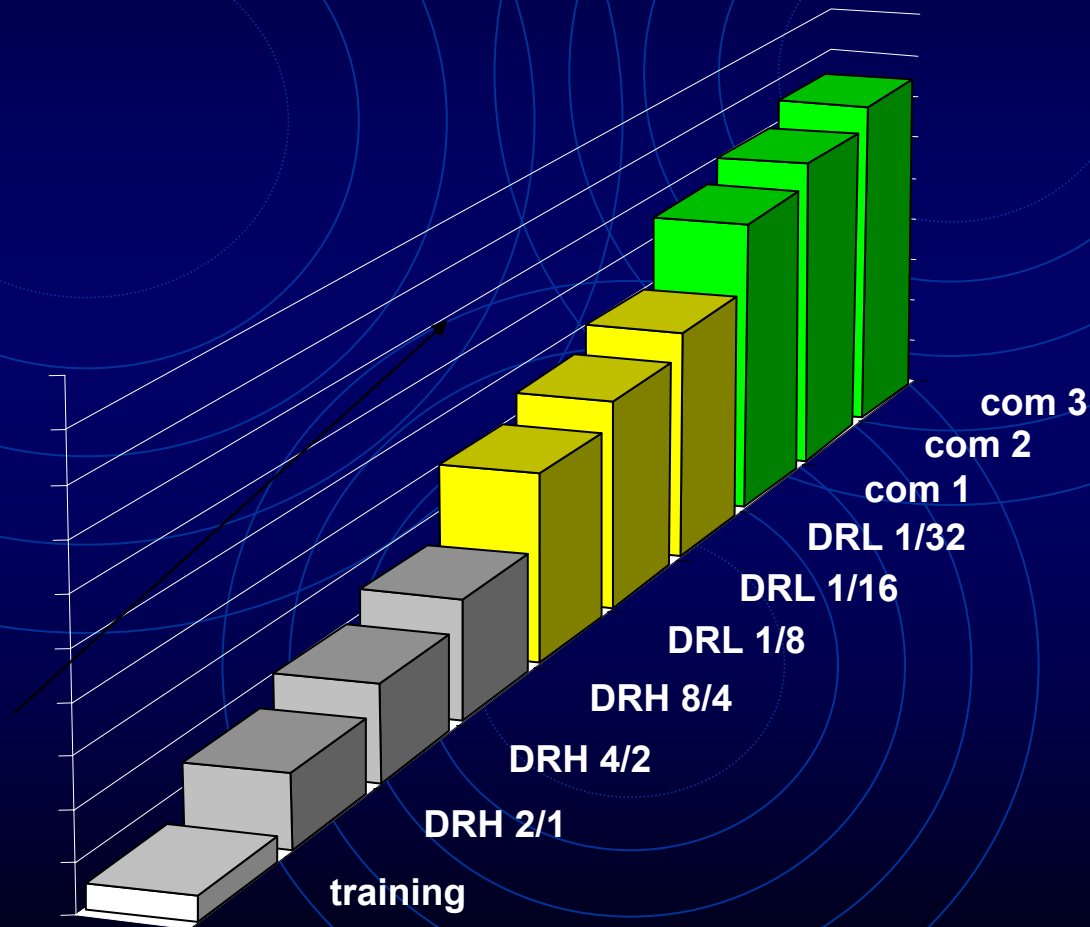
# Aufbau der Skinner-Boxen zur Erfassung der Kognition



# bisher verwendete Test-Sequenz mit ansteigenden Schwierigkeitsstufen

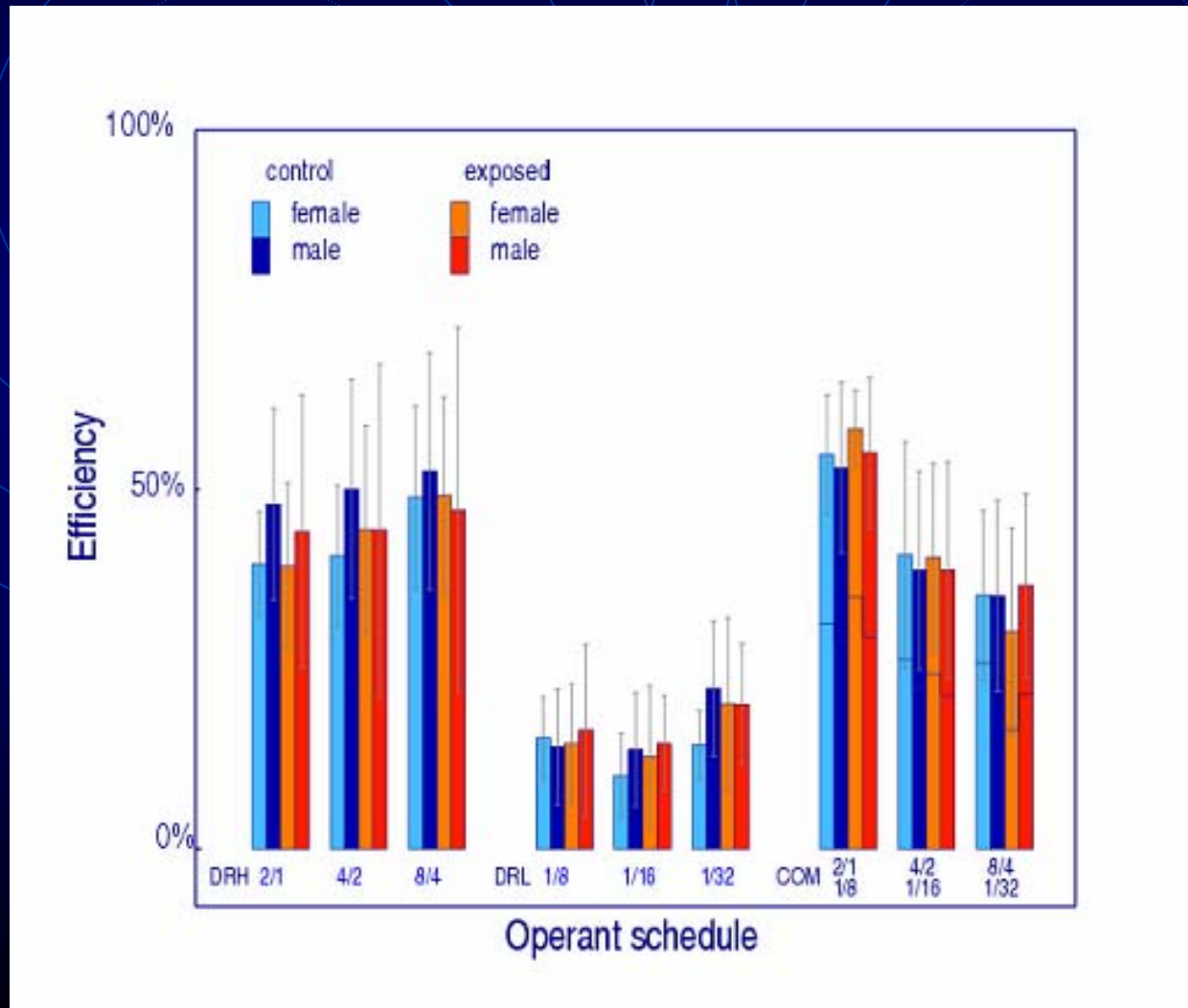
DRH 2/1 = Belohnung nach 2 Hebeldrücken pro Sekunde

DRL 1/8 = Belohnung nach Wartezeit von mindestens 8 Sekunden zwischen 2 Hebeldrücken



Ergebnisse aus:

M. Bornhausen and H. Scheingraber: Prenatal exposure to 900 MHz, cell-phone electromagnetic fields had no effect on operant-behavior performances of adult rats. *Bioelectromagnetics* 21:566-574, 2000



# Literaturübersicht zur Planung einer Studie als Positivkontrolle für den Kognitionstest

Übersicht tierexperimenteller Studien positiver DHA Wirkungen auf das Lernverhalten sowie unsere Studie

Testmodell	Spezies, Alter (Wo)	N	Dosis / Tag (mg DHA/kg KGW)	Behandlungsdauer (Wochen)	Autor
Labyrinth	Maus, 3 u. 60	7	1000, 2000	20	Lim und Suzuki, 2000
Labyrinth	Ratte, 10	7	300	10	Gamoh et al., 2001
Labyrinth	Maus, 12	9	500, 1000, 2000	16	Lim und Suzuki, 2002
Labyrinth	Maus, 38	5-7	2000	8	Sugimoto et al., 2002
Gedächtnis/ Lernen	Ratte, 8	4	1000	5	Takeuchi et al., 2002
Gedächtnis/ Lernen	Ratte, 8	15	200	17	Catalan et al., 2002
Skinner-Box, Hole-Board, Labyrinth (Water-Maze), Social-Discrimination	Ratte, 4	12	600	14	unsere Studie

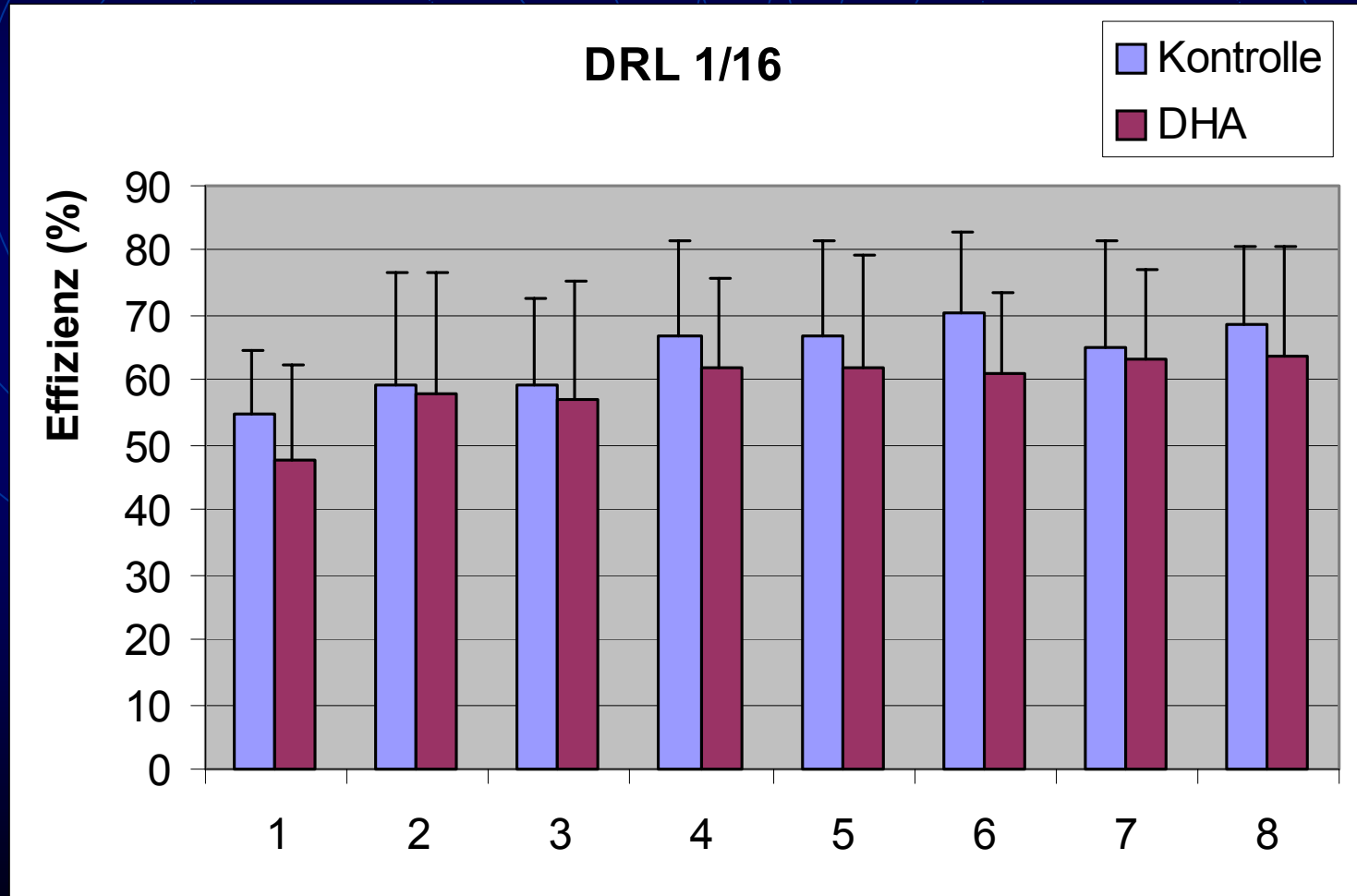
# Testsequenz in der DHA-Studie

## DHA = Docosahexaensäure

- Training - Training
- DRH 2/1 - DRH 4/2 - DRH 8/4
- DRL 1/16 - DRL 1/8
- 8 Wiederholungen: DRL 1/16

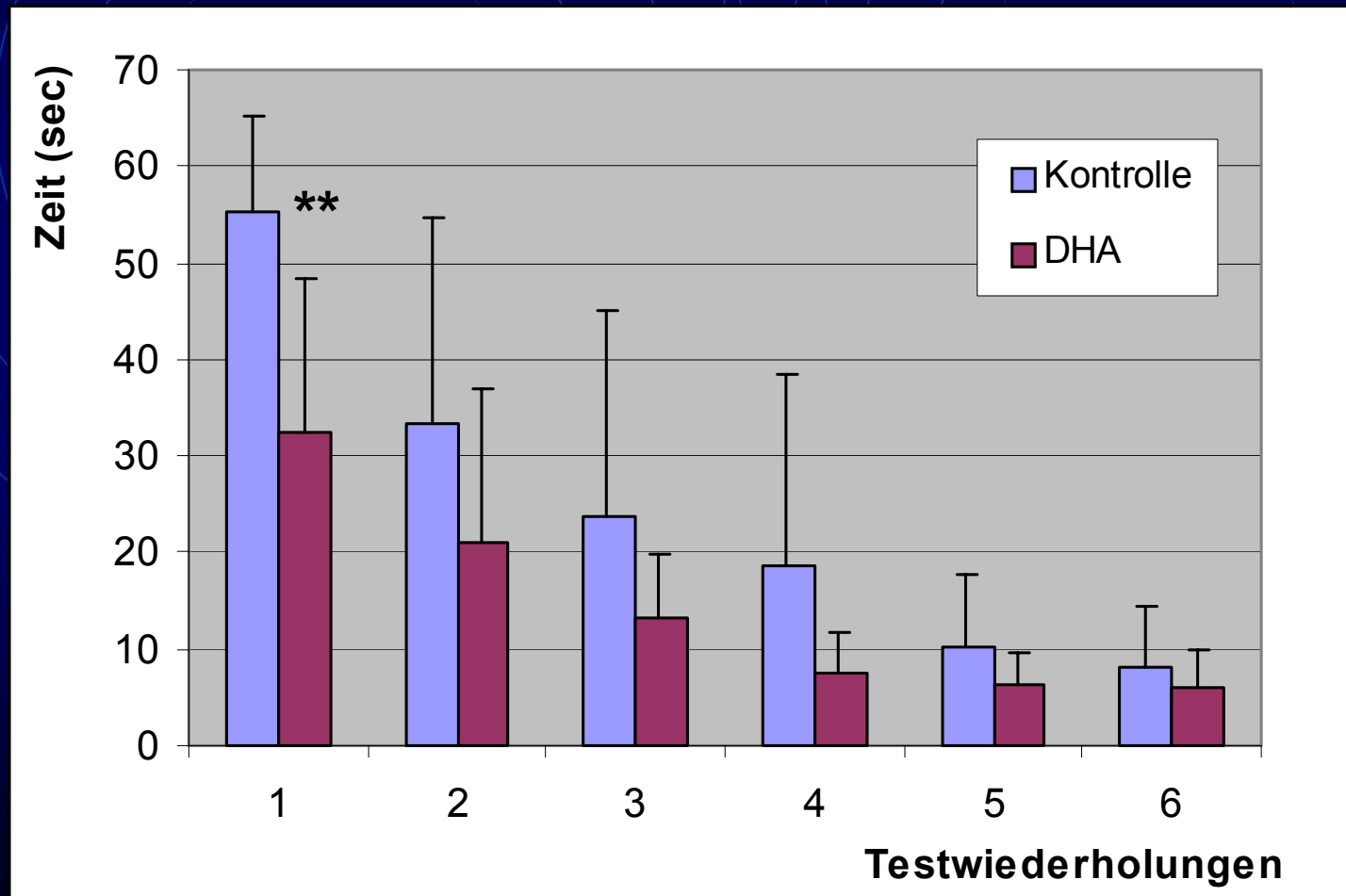
# Ergebnisse der DHA-Studie:

keine Wirkung im Kognitionstest



# Ergebnisse im Water-Maze-Test:

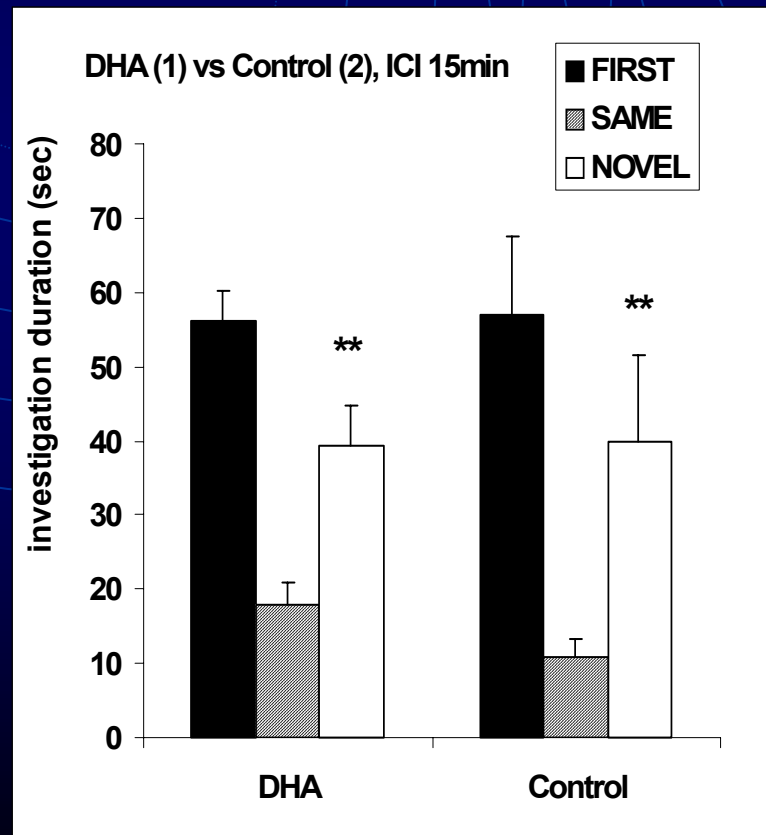
signifikante Verbesserung nach DHA-Gabe





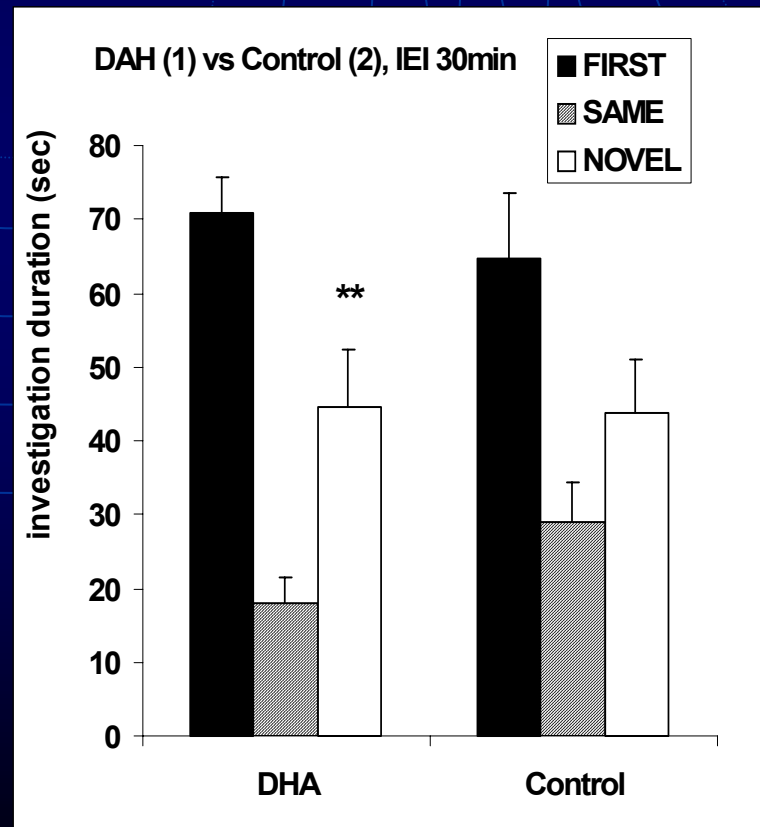
# Ergebnisse im Social Discrimination Procedure -Test:

Positivkontrolle der Unterscheidungsfähigkeit nach kurzer Zeit (15 min)



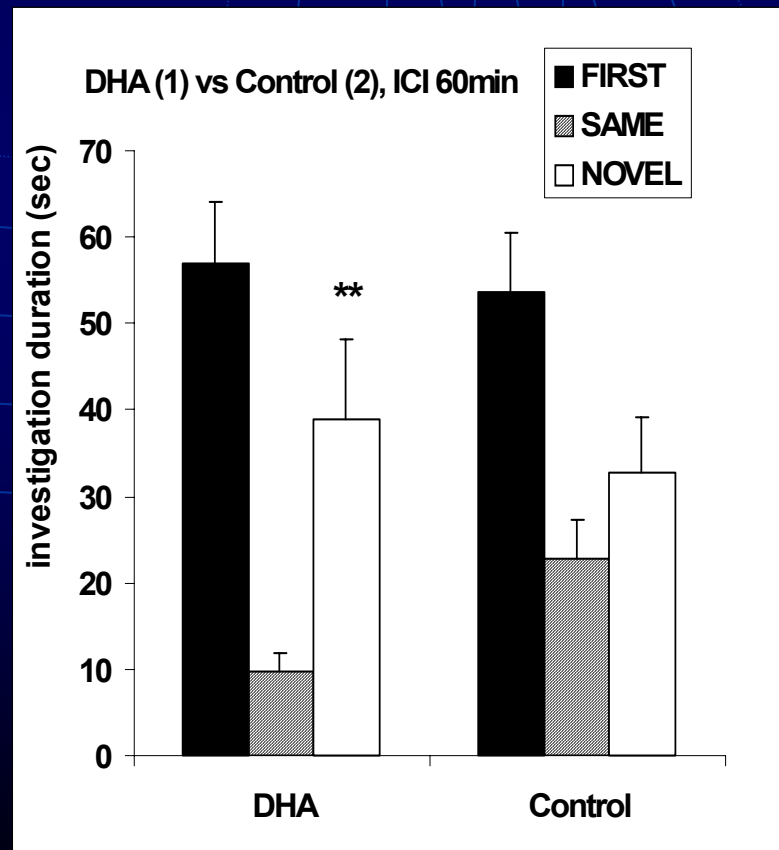
# Ergebnisse im Social Discrimination Procedure -Test:

signifikante Verbesserung nach DHA-Gabe (30 min)



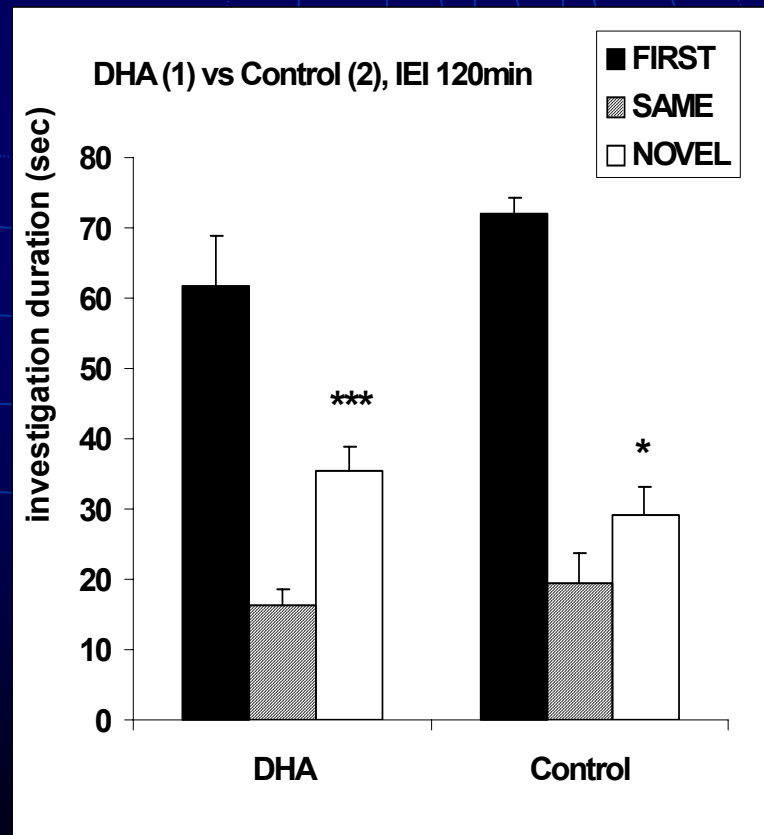
# Ergebnisse im Social Discrimination Procedure -Test:

signifikante Verbesserung nach DHA-Gabe (60 min)



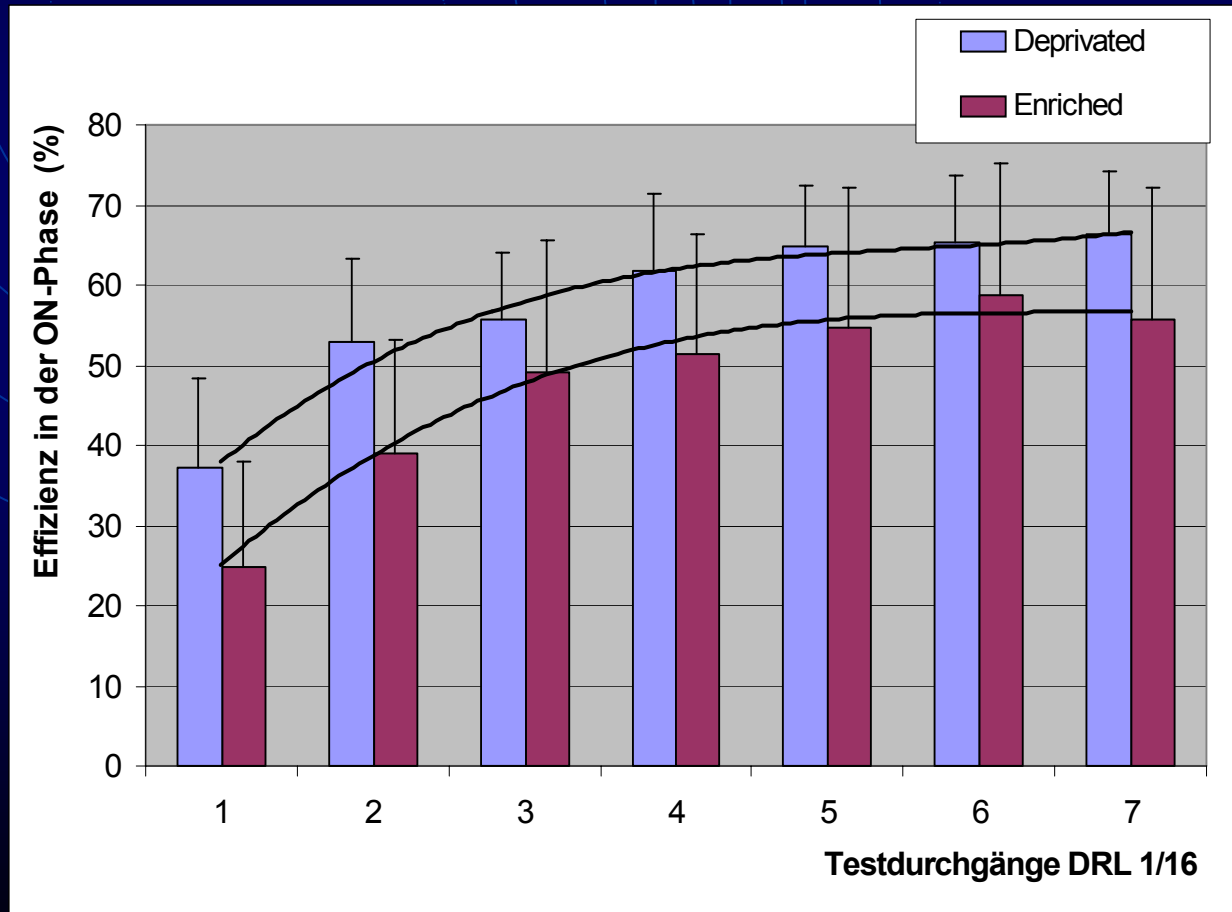
# Ergebnisse im Social Discrimination Procedure -Test:

signifikante Verbesserung nach DHA-Gabe (120min)



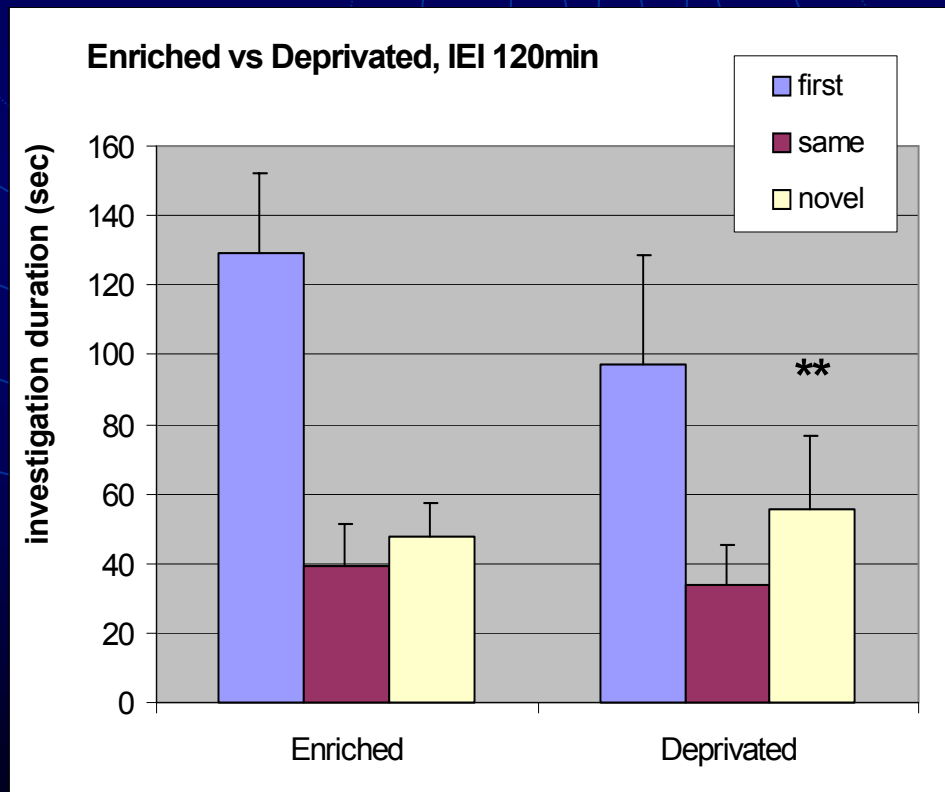
# Ergebnisse einer weiteren Studie als Positivkontrolle für den Kognitionstest: Social Deprivation versus Environmental Enrichment

signifikanter Unterschied zwischen Deprived und Enriched

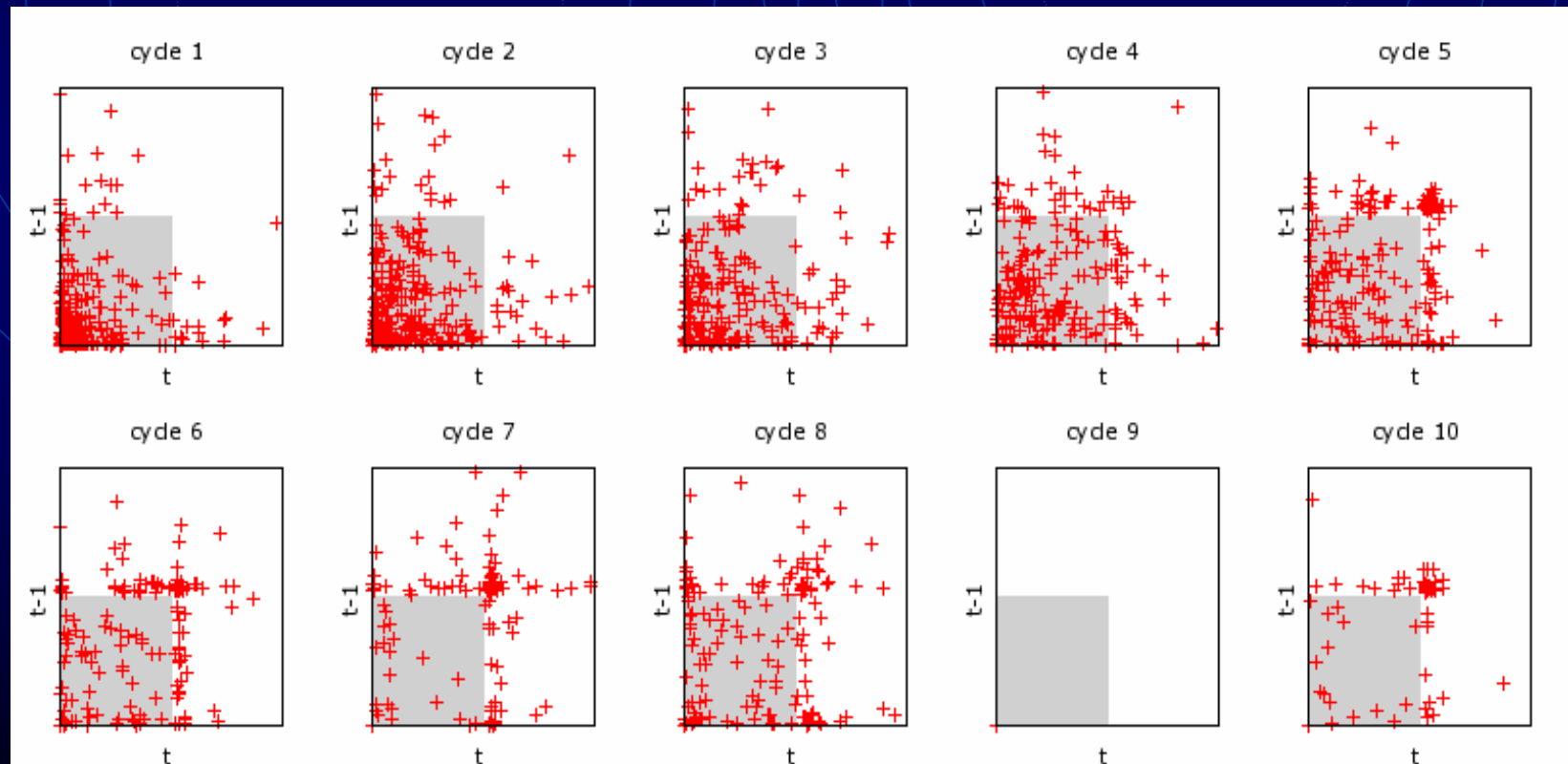


# Ergebnisse nach Social Deprivation versus Environmental Enrichment im Social Discrimination Procedure-Test

signifikanter Unterschied zwischen Deprivated und Enriched

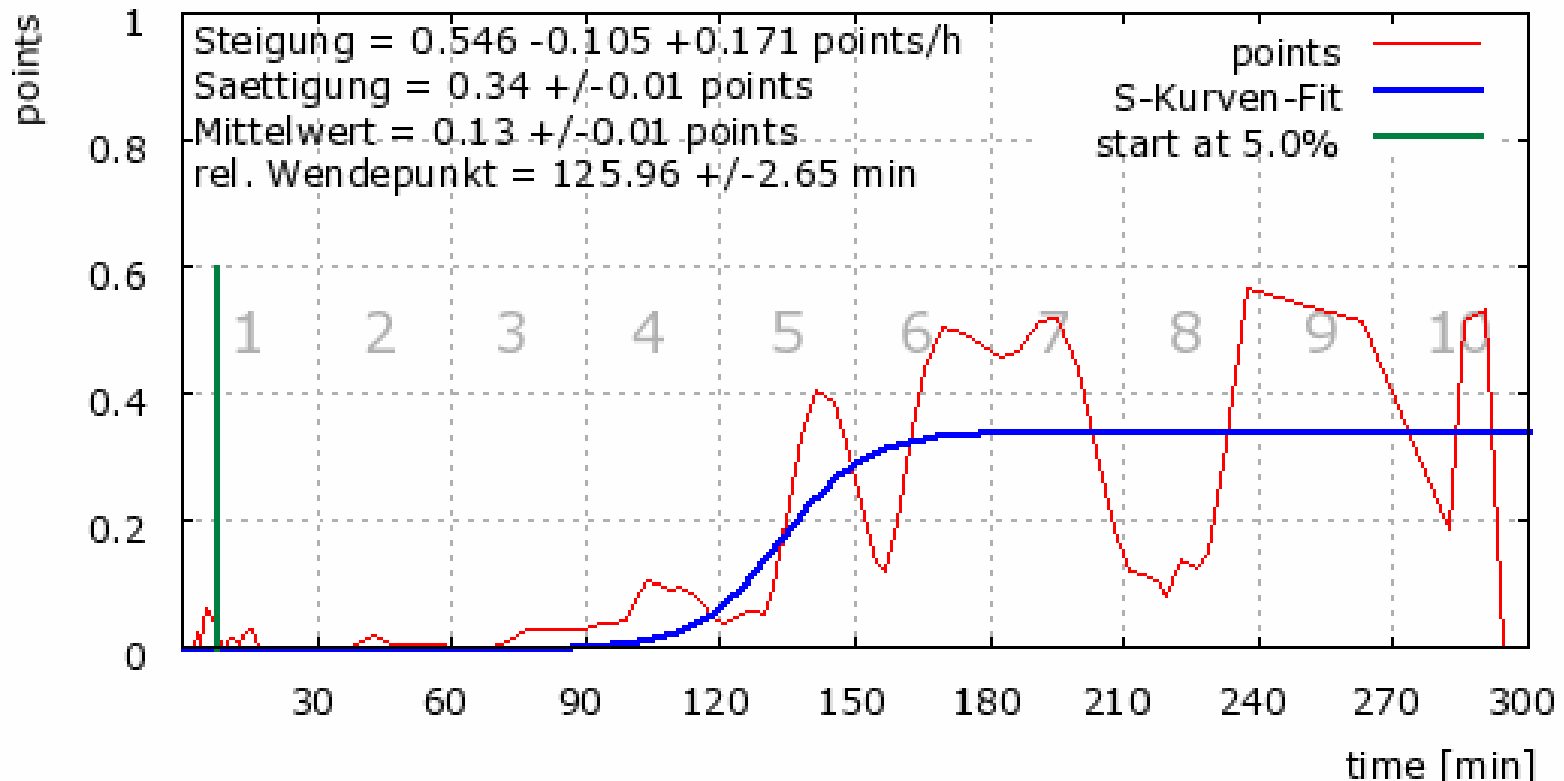


Beispiel für die Vorselektion eines Tieres der Elterngeneration in einer Testnacht (DRL 1/16 über 10 Zyklen): dieses Tier (1/07) war unter den besten 10% und wurde daher ausgeschlossen



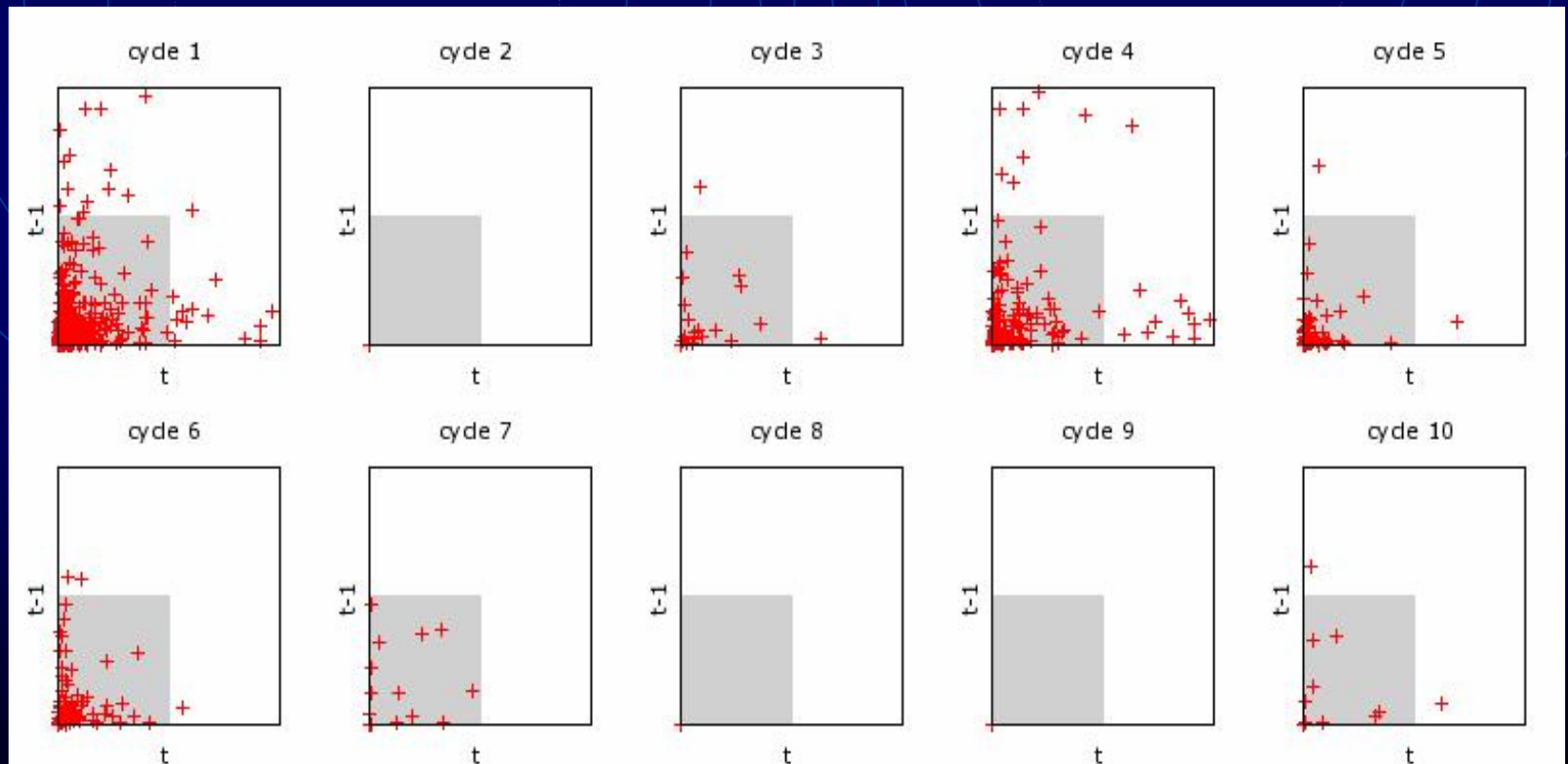
# Auswertung des Kognitionstest des Tieres 1/07: Steigung, Sättigung, rel. Wendepunkt der Lernkurve

05-08-01 07 DRL16



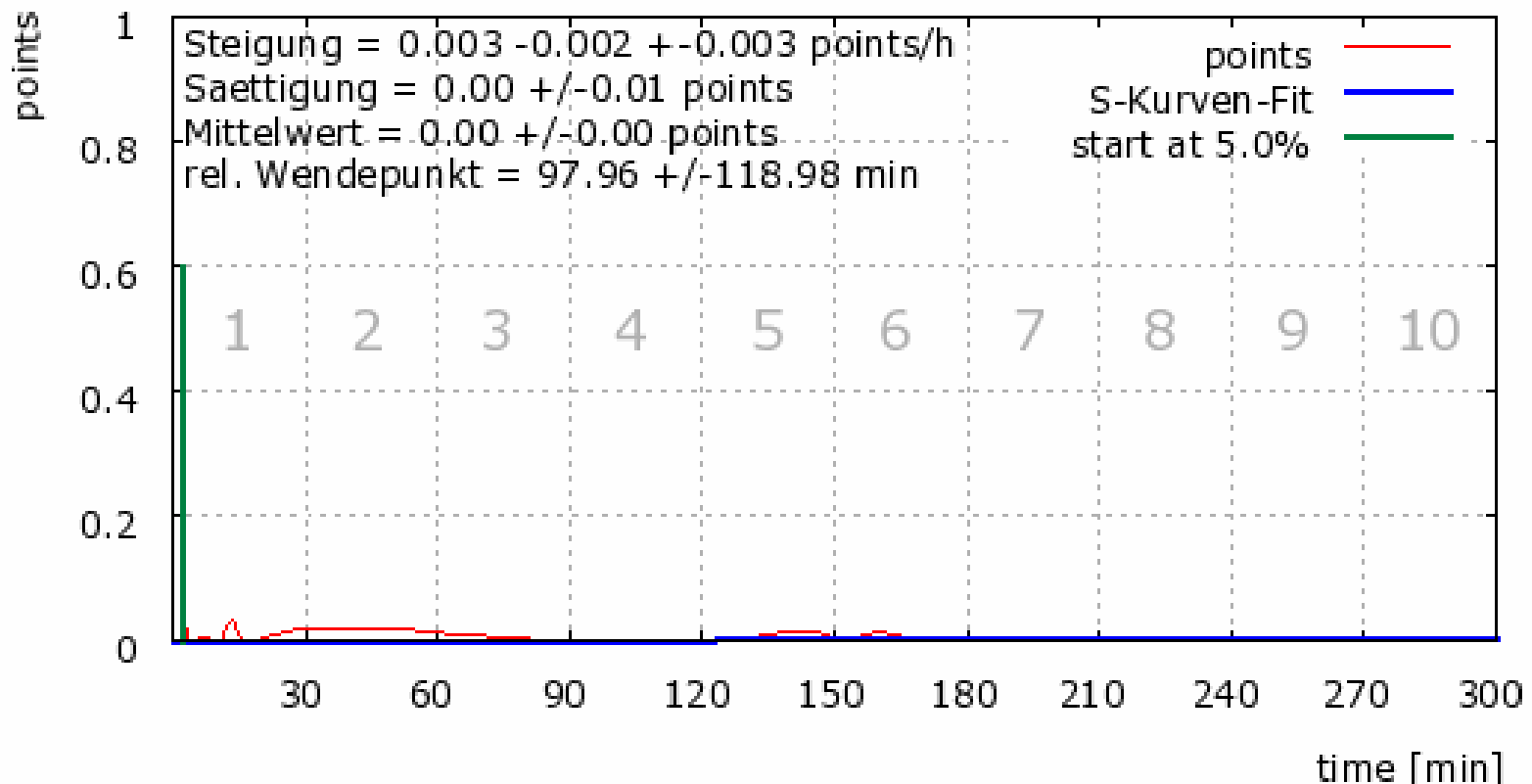


Beispiel für die Vorselektion eines Tieres der Elterngeneration in einer Testnacht (DRL 1/16 über 10 Zyklen): dieses Tier (31/07) war unter den schlechtesten 10% und wurde daher ausgeschlossen

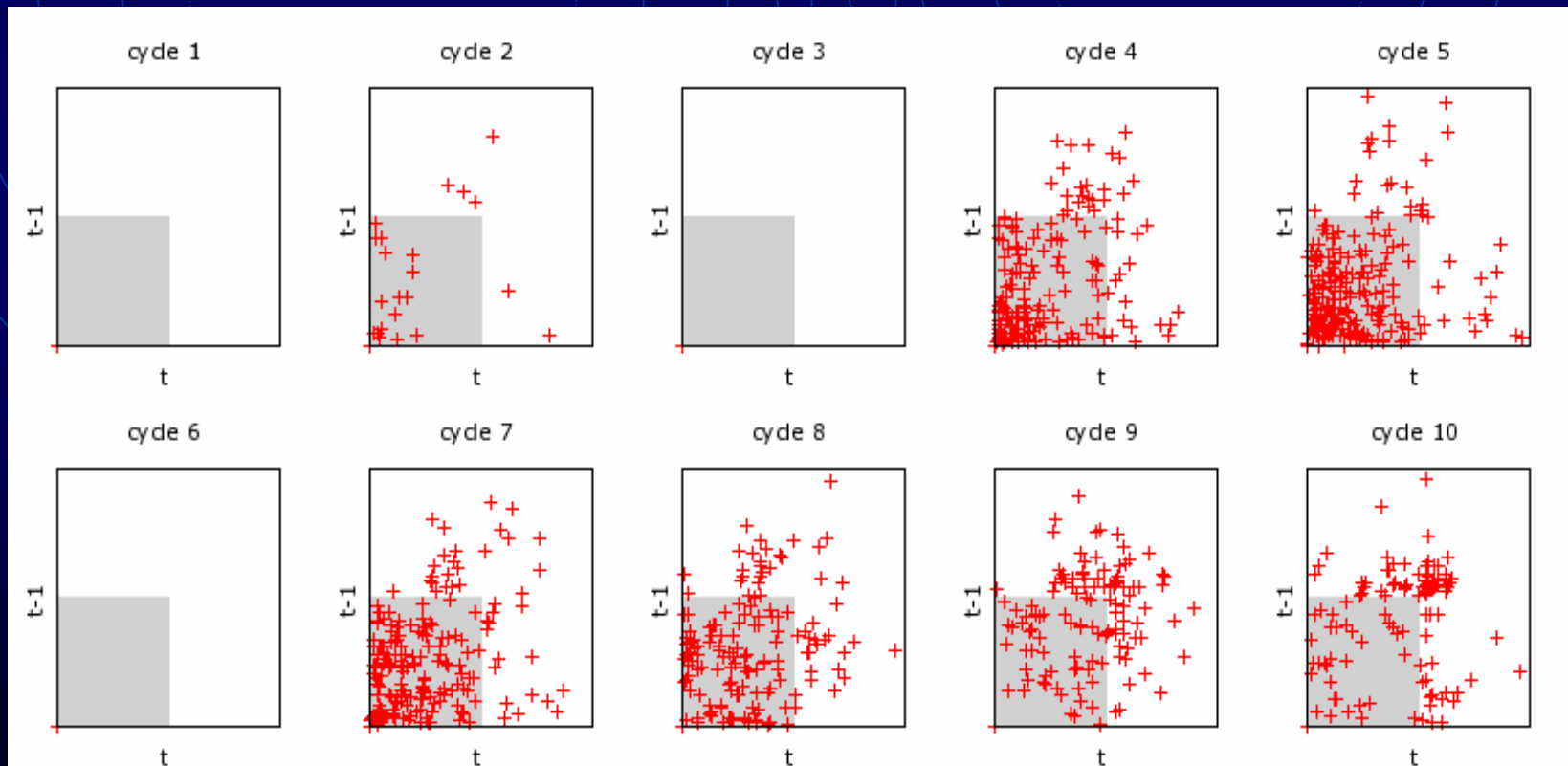


# Auswertung des Kognitionstest des Tieres 31/07: Steigung, Sättigung, rel. Wendepunkt der Lernkurve

05-07-31 07 DRL16

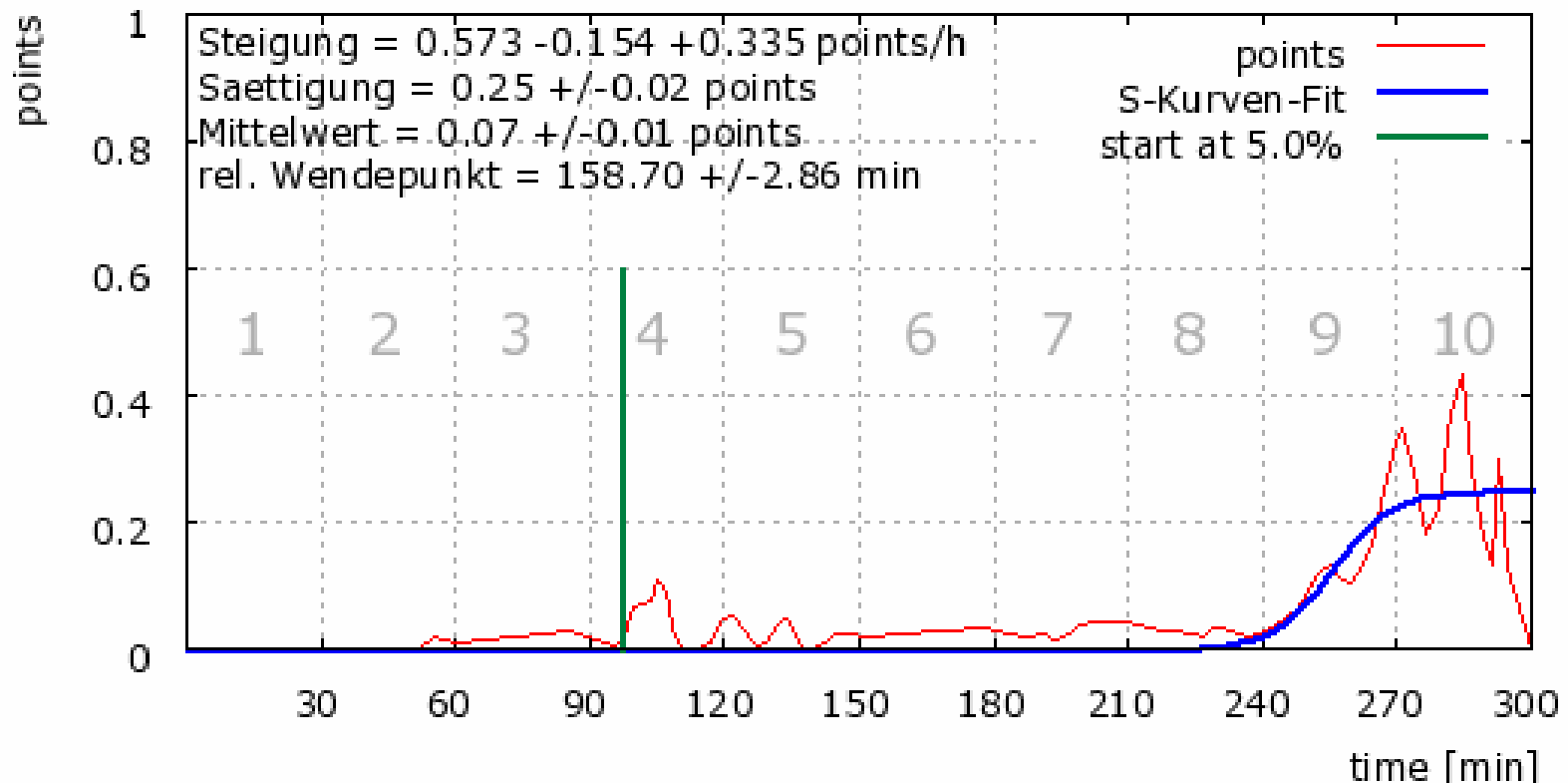


Beispiel für die Vorselektion eines Tieres der Elterngeneration in einer Testnacht (DRL 1/16 über 10 Zyklen): dieses Tier (3/01) war unter den besten 10% und wurde daher ausgeschlossen



# Auswertung des Kognitionstest des Tieres 3/01: Steigung, Sättigung, rel. Wendepunkt der Lernkurve

05-08-03 01 DRL16



# Blut-Hirn-Schranke (BHS)

Die Art und die Intensität der Verbindung der Endothelzellen, welche die Blutgefäße auskleiden, ist entscheidend für die Durchlässigkeit der Gefäßwände für viele im Blut gelöste Substanzen. Die Permeabilität vor allem für wasserlösliche Stoffe ist im Gehirn außerordentlich gering. Somit entsteht eine ausgeprägte Barrierefunktion der Blutgefäßwände im Gehirn, die als Blut-Hirn-Schranke (BHS) bezeichnet wird.

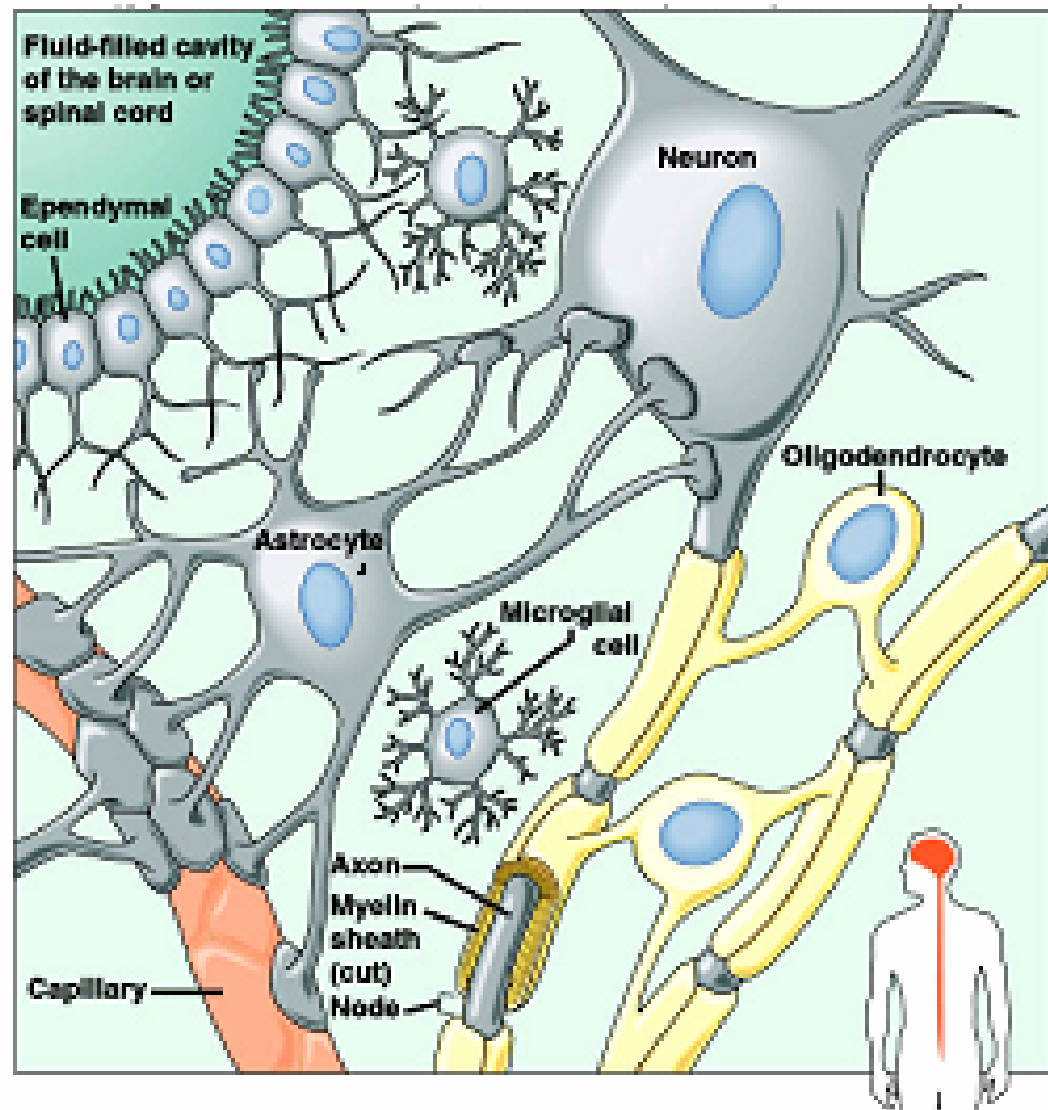
# Blut-Hirn-Schranke (BHS)

Diese Barriere wird durch interzelluläre Adhäsionsstrukturen zwischen den Endothelien, den tight junctions, erzeugt. Sie sind noch nicht endgültig strukturell aufgeklärt, bestehen jedoch vor allem aus Lipoiden und Proteinen wie den Transmembranproteinen Occludin und Claudin (Kniesel and Wolburg, 2000).

# Blut-Hirn-Schranke (BHS)

Die Integrität der Blut-Hirn-Schranke ist eine wesentliche Grundbedingung für die uneingeschränkte Funktion des Gehirns, da sie einerseits eine konstante Zusammensetzung des die Nervenzellen umgebenden Mikromilieus gewährleistet und andererseits dadurch neuroprotektiv wirkt, dass sie die Nervenzellen vor zahlreichen, im Blut vorkommenden toxischen Stoffen abschirmt. Dies ist besonders wichtig in Anbetracht der Tatsache, dass abgestorbene Nervenzellen in der Regel nicht wieder ersetzt werden können. Eine Beschleunigung der Sterbensrate von Nervenzellen infolge einer defekten BHS würde zur vorzeitigen Demenz führen.

# BHS





# Literatur: potentieller Einfluss der EMF auf die BHS

Die Messung der Blut-Hirn-Schranke nach elektromagnetischer Befeldung erfolgte bisher über die Bestimmung der Extravasation externer Marker oder interner Serumbestandteile. In zahlreichen Studien wurde nach elektromagnetischer Befeldung eine Öffnung der Blut-Hirn-Schranke sowohl in vitro (Schirmacher et al., 2000, Leszczynski et al., 2002) als auch in vivo beschrieben (Frey et al., 1975; Oscar and Hawkins, 1977; Merritt et al., 1978; Sutton and Carrol, 1979; Albert and Kerns, 1981; Lin and Lin, 1982; Goldman et al., 1984; Williams et al., 1984; Neubauer et al., 1990; Moriyama et al., 1991; Persson et al., 1992; Salford et al., 1994, Salford et al., 2003). Andererseits wurde auch in vielen Studien keine Öffnung der Blut-Hirn-Schranke gefunden (Preston et al., 1979; Gruenau et al., 1982; Ward et al., 1982; Fritze et al., 1997a).

# BHS: eigene Untersuchungen

Bei den vorgesehenen Methoden sind im Gegensatz zu den publizierten Untersuchungen zwei wesentliche Weiterentwicklungen geplant, die dazu beitragen sollen, pathophysiologisch relevante und eindeutige Ergebnisse zu erarbeiten, selbst dann, wenn nur kleinste Schädigungen der BHS durch die Befeldung auftreten sollten. Einerseits soll die Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke **quantitativ als unidirektionale Influxkonstante ( $K_{in}$ )** gemessen und berechnet werden und andererseits soll mit Hilfe von „**Challenge**“-**Versuchen** auch eine sehr geringe Öffnung der Blut-Hirn-Schranke nachweisbar werden.

# BHS-Messung als unidirektionale Influxkonstante

Zur Erfassung der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke wird die „unidirektionale Influx-Konstante“ ( $K_{in}$ ) einer Referenzsubstanz bestimmt, und auf folgende Weise berechnet:

$$K_{in} = \frac{C_{br} - C_i}{T \int_0^T C_{pl}(t) dt}$$

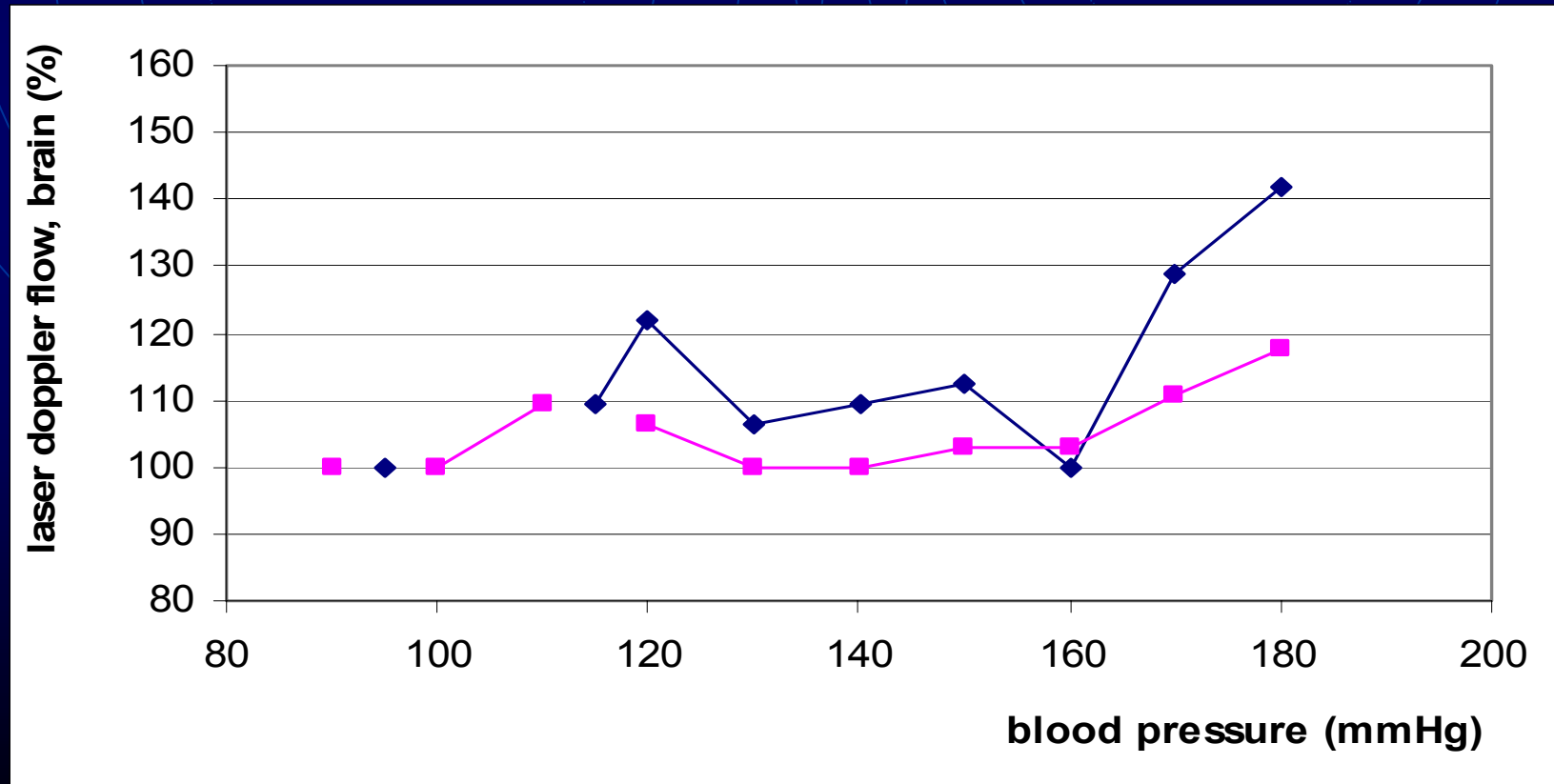
$C_{br}$  = Tracer-Radioaktivität pro Einheit Gehirnmasse

$C_{pl}$  = Tracer-Radioaktivität pro Einheit Plasmavolumen

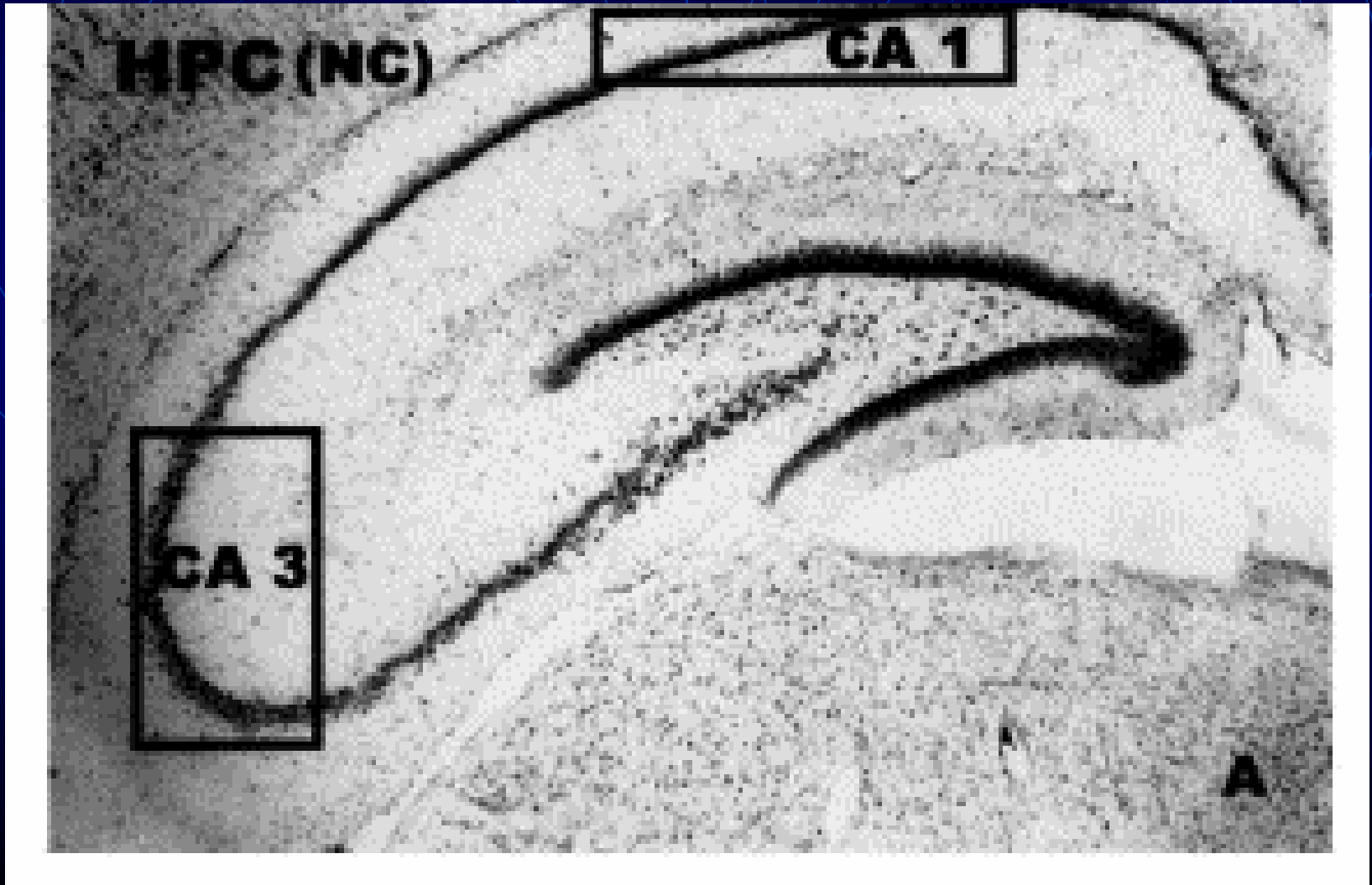
$C_i$  = Tracer-Radioaktivität im Gefäßbett in der untersuchten Hirnprobe

# Beispiel für Challenge-Bedingungen während der Messung der BHS:

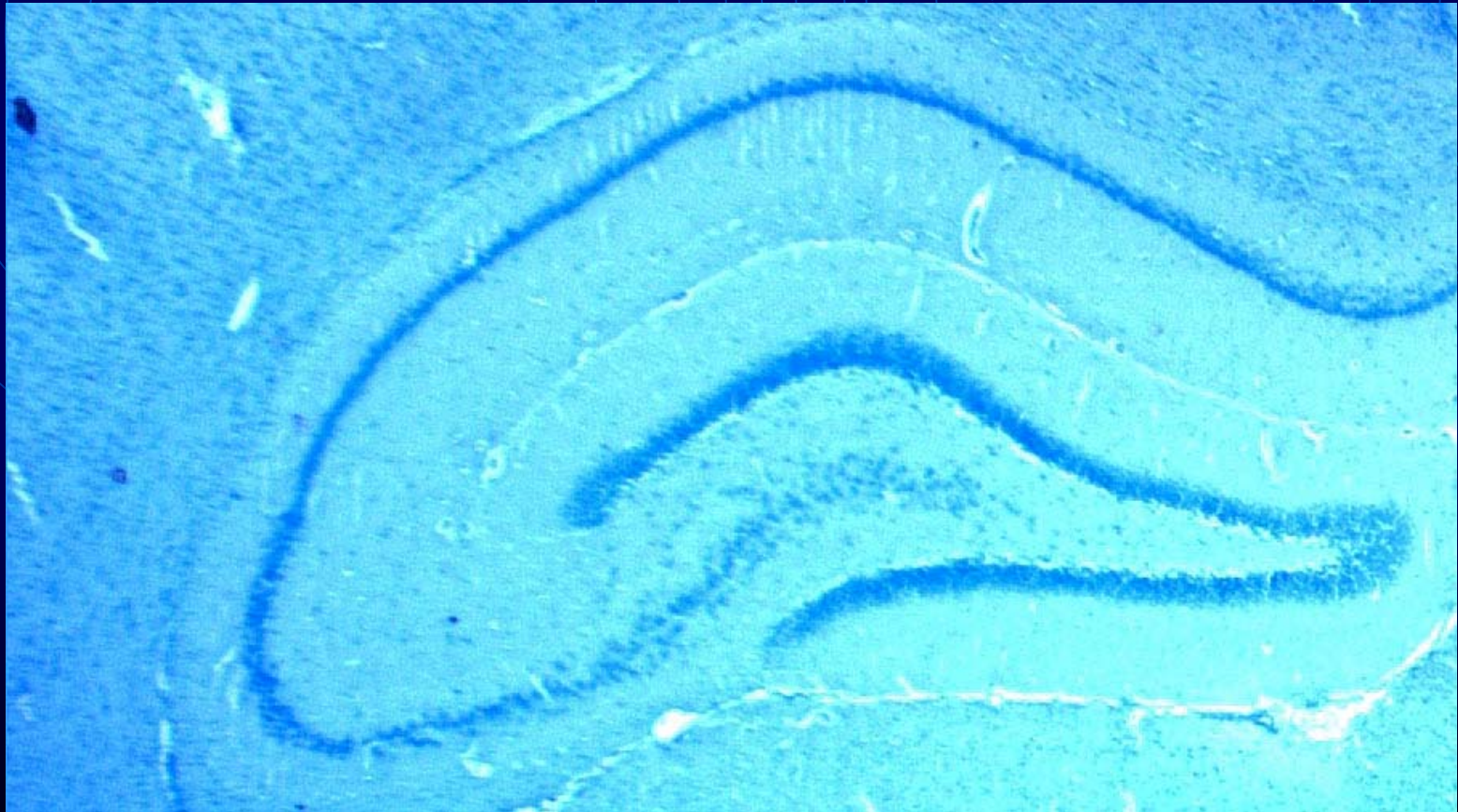
Ein Problem bei der Anwendung einer Blutdruckerhöhung als Challenge ist die Autoregulation der Hirndurchblutung - hier in zwei Versuchen gemessen -



Besonders empfindliche Neuronen sind die CA1-Neuronen im Hippocampus



# Vorarbeiten zur quantitativen stereologischen Untersuchung der CA1-Neuronen



# Vorarbeiten zur quantitativen stereologischen Untersuchung der CA1-Neuronen

Infolge EMF – Schädigung könnte die Zahl der CA1-Neuronen abnehmen

