

Aus dem Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung,
Veterinärwissenschaftliches Departement
der Tierärztlichen Fakultät München
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. M. H. Erhard

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. M. H. Erhard

**Untersuchungen zum Einfluss einer chronischen Exposition in
hochfrequenten elektromagnetischen Feldern von zwei
Mobilfunkstandards (GSM und UMTS) auf die humorale
Immunantwort von Ratten (*Rattus norvegicus*)**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Catrin Kahlfeld
aus Sigmaringen

München 2009

meinen Eltern

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichtersteller: Univ.-Prof. Dr. Erhard
Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Aigner
Prof. Dr. Deeg

Tag der Promotion: 17. Juli 2009

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	3
1. Mobilfunk unter Gesundheitsaspekten	3
1.1. Definition elektromagnetischer Felder	3
1.2. Basisstationen und Sendemasten	4
1.3. Verwendete Frequenzen	4
1.4. Biologische Wirkungen hochfrequenter Strahlung	5
1.5. Wirkungen auf den Organismus	5
2. Wirkung von Stress auf das Immunsystem	8
3. Immunsystem	10
3.1. Antigene	11
3.1.1. Ovalbumin	12
3.1.2. Huhn Immunglobulin Y	13
3.2. Lipopeptid als Adjuvans	14
III. Tiere, Material und Methoden	16
1. Tiere und Haltungsbedingungen	16
1.1. Expositionseinrichtung	16
1.2. Tierhaltung	19
1.3. Versuchstiere	21
2. Versuchsaufbau	22
3. Versuchsdurchführung	23
3.1. Gewinnung der Blutproben	23
3.2. Immunisierung und Boosterung	23
3.3. Verarbeitung der Blutproben	24
4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	24
4.1. Verwendete Chemikalien und deren Zusammensetzung	25
4.2. Prinzip der durchgeführten ELISA-Systeme	25
4.3. Nachweis von Gesamt IgG	26
4.4. Nachweis von OVA und Huhn IgY	27
4.5. Berechnung der Konzentration bzw. des Titers	28
4.5.1. Gesamt IgG	28
4.5.2. OVA und Huhn IgY	28
5. Statistische Auswertung	29

IV. Ergebnisse	30
1. Ergebnisse Gesamt IgG	30
1.1. Einfluss der Exposition	30
1.1.1. Generation F0a	30
1.1.2. Generation F0b	32
1.1.3. Generation F2	33
1.2. Einfluss von Zeit und Gruppe	35
2. Ergebnisse anti Huhn IgY	38
2.1. Einfluss der Exposition	38
2.1.1. Generation F0a	38
2.1.2. Generation F0b	40
2.1.3. Generation F2	41
2.2. Einfluss von Zeit und Gruppe	43
3. Ergebnisse anti OVA	46
3.1. Einfluss der Exposition	46
3.1.1. Generation F0a	46
3.1.2. Generation F0b	48
3.1.3. Generation F2	49
3.2. Einfluss von Zeit und Gruppe	51
V. Diskussion	55
1. Diskussion der Methoden	55
1.1. Tierauswahl	55
1.2. Haltungsbedingungen	55
1.3. Blutentnahme	56
1.4. Futter	56
1.5. Lichtregime	56
1.6. Antikörper	57
2. Diskussion der Ergebnisse	57
2.1. Gesamt IgG	57
2.2. anti Huhn IgY	58
2.3. anti OVA	59
2.3.1. Einfluss von Zeit und Gruppe	59
2.3.2. Einfluss der Exposition	59
3. Gesamtdiskussion	60
VI. Zusammenfassung	62
VII. Summary	64
VIII. Literaturverzeichnis	66

IX. Verzeichnis der benutzten Abkürzungen	76
Lebenslauf	78
Danksagung	79

I. Einleitung

Heutzutage findet der Mobilfunk immer weitere Verbreitung. Gleichzeitig wachsen in der Bevölkerung aber auch Ängste und Befürchtungen vor möglichen negativen Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit. In der Literatur finden sich diesbezüglich widersprüchliche Aussagen.

Unter diesem Aspekt wurde in dieser Studie, gefördert über das Bundesamt für Strahlenschutz, ein Hauptaugenmerk auf das Immunsystem von Ratten gelegt, wobei es sich um ein Teilprojekt des vom Bundesamt für Strahlenschutz in Auftrag gegebenen Forschungsvorhabens „In vivo-Experimente unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunkkommunikation“ handelte. Weitere Arbeitsgruppen untersuchten das Stressgeschehen, die Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke, die Lernfähigkeit, Anzahl und Dichte von CA1-Neuronen im Hippokampus sowie Reproduktions- und Entwicklungsparameter von Ratten unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunkkommunikation.

Das Immunsystem fungiert als körpereigenes Abwehrsystem, das durch kurzzeitigen Stress stimuliert, durch länger andauernden Stress aber in seiner Funktion beeinträchtigt werden kann. Die chronische Exposition im elektromagnetischen Feld stellt unter Umständen einen permanenten Stressor dar, der zu einer Immunsuppression führen könnte.

In der vorliegenden Studie wurden im Tierversuch drei Generationen weiblicher WISTAR-Ratten kontinuierlich chronisch exponiert. Dies geschah durch eine ungepulste Bestrahlung von einer Basisstation unter Fernfeldbedingungen entweder für den GSM-Standard oder für den UMTS-Standard. Eine dritte Gruppe diente als Kontrolle und war deshalb unbefeldet. Der angestrebte SAR-Wert für die Befeldung lag bei 0,4 W/kg Lebendgewicht, da es sich hierbei um den gesetzlich festgelegten Grenzwert für beruflich exponierte Menschen handelt (26. BImSchV, 1996).

Zur Untersuchung der humoralen Immunantwort wurde jedem Tier subkutan ein Antigencocktail injiziert und die daraufhin induzierten Antikörperkonzentrations- bzw. Titeranstiege mittels ELISA gemessen und verglichen. Anhand des Vergleichs der

I. Einleitung

Antikörperkonzentrationen bzw. der Titer exponierter und nicht-exponierter Tiere sollte festgestellt werden, ob ein möglicher Einfluss des elektromagnetischen Feldes auf das Immunsystem vorliegt.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, potentielle Einflüsse auf das humorale Immunsystem durch hochfrequente elektromagnetische Felder nachzuweisen. Diese Erkenntnisse sollen dazu beitragen, die Risiken des Gebrauchs von Mobiltelefonen zu be- oder widerlegen.

II. Literatur

1. Mobilfunk unter Gesundheitsaspekten

1.1. Definition elektromagnetischer Felder

Elektromagnetische Felder kommen weltweit vor. Sie sind sowohl natürlichen als auch technischen Ursprungs. So erzeugen z.B. elektrische Felder bei Gewittern Blitze und das Magnetfeld der Erde bewirkt, dass sich eine Kompassnadel immer nach Norden ausrichtet. Elektrisches Feld und magnetisches Feld sind gekoppelt, denn immer wenn elektrischer Strom in einem elektrischen Feld fließt, entsteht ein magnetisches Feld (Biot-Savart-Gesetz). Zusammen bilden sie ein elektromagnetisches Feld (EMF) (Health and electromagnetic fields, 2005).

Elektromagnetische Felder bestehen aus einer Serie von Wellen, die mit einer bestimmten Frequenz (Anzahl von Schwingungen pro Sekunde) und einer bestimmten Wellenlänge schwingen. Diese elektromagnetischen Wellen benötigen kein Medium, um sich auszubreiten. Sie bewegen sich im Vakuum unabhängig von ihrer Frequenz mit Lichtgeschwindigkeit fort. Dabei handelt es sich um Transversalwellen, was bedeutet, dass ihre Ausbreitungsrichtung senkrecht zur Schwingungsrichtung des elektromagnetischen Feldes steht. Elektromagnetische Wellen sind sich ausbreitende Schwingungen des EMFs. Dabei stehen das elektrische und das magnetische Feld senkrecht aufeinander und haben ein festes Größenverhältnis.

Um die Stärke einer Hochfrequenzstrahlung anzugeben, verwendet man entweder die elektrische (Einheit: Volt pro Meter, V/m) oder die magnetische Feldstärke (Einheit: Ampere pro Meter, A/m) oder auch die Leistungsflussdichte (Einheit: Watt pro Quadratmeter, W/m^2), die das Produkt aus elektrischer und magnetischer Feldstärke darstellt.

Die Stärke eines elektrischen Feldes nimmt mit größer werdendem Abstand von der Quelle ab. Sie kann durch Mauern, Gebäude und andere Materialien abgeschirmt werden. Auch die Stärke eines magnetischen Feldes nimmt mit zunehmender Entfernung ab, doch wird sie durch Mauern oder Gebäude nur geringgradig abgeschirmt (Bundesamt für Strahlenschutz, 2005b).

1.2. Basisstationen und Sendemasten

Das Mobilfunknetz ist in sogenannte Funkzellen eingeteilt. Jede Funkzelle wird von einer ortsfesten Mobilfunkanlage, dem Sendemasten, versorgt. Funktürme und Sendemasten sind ortsfeste Sendeanlagen im Sinne der 26. Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (26. BImSchV in der Fassung vom 16. Dezember 1996). Der Sendemast kommuniziert mit Hilfe elektromagnetischer Felder mit den mobilen Endgeräten, also den Handys. Wie viel Leistung von einem Sendemast abgestrahlt wird, hängt von der Größe der Funkzelle und der Anzahl der Personen, die gleichzeitig ihr Handy benutzen, ab (Bundesamt für Strahlenschutz, 2005d).

1.3. Verwendete Frequenzen

Unterschiedliche Strahlungen haben unterschiedliche Frequenzen. Im elektromagnetischen Spektrum finden sich die hochfrequenten elektromagnetischen Felder im Frequenzbereich zwischen etwa 100 Kilohertz (kHz = 1.000 Hz) und 300 Gigahertz (GHz = 1.000.000 Hz). Hertz (Hz) ist die Einheit für die Frequenz, also für die Anzahl der Schwingungen pro Sekunde.

Frequenz und Wellenlänge elektromagnetischer Felder sind fest miteinander verbunden. So ist die Wellenlänge bei hohen Frequenzen klein, bei niedrigen Frequenzen dagegen groß. Je höher die Frequenz ist, desto energiereicher ist die Strahlung. Die Wellenlänge der hochfrequenten elektromagnetischen Felder liegt zwischen 3 km und 1 mm (Bundesamt für Strahlenschutz, 2005b).

Radio, Fernsehen und Mikrowellen nutzen Frequenzen im Bereich von 450 bis 2500 MHz (Ahlbom und Feychting, 2003). Für den Mobilfunk wird der GSM-Standard (Global System for Mobile Communications) und die UMTS-Technik (Universal Mobile Telecommunication System) genutzt. Der Frequenzbereich für GSM liegt um 900 MHz (D-Netz) bzw. um 1800 MHz (E-Netz) und für UMTS zwischen 1900 und 2170 MHz (Bundesamt für Strahlenschutz, 2005c).

1.4. Biologische Wirkungen hochfrequenter Strahlung

Die Wirkung von hochfrequenter Strahlung auf biologische Systeme ist von mehreren Faktoren abhängig.

Unterschiedliche Frequenzen bewirken unterschiedliche Eindringtiefen. So dringen elektromagnetische Felder der Rundfunk-Mittelwelle im Megahertzbereich 10 bis 30 cm tief in das Gewebe ein, während die Strahlung des Mobilfunks mit Frequenzen um 1 Gigahertz nur wenige Zentimeter tief eindringt.

Auch die Resonanz spielt eine Rolle. Sie ist abhängig von der Körpergröße. Ist der Körper so groß wie die halbe Wellenlänge der Strahlung, befindet er sich im „Resonanzbereich“ und nimmt daher viel Strahlungsenergie auf. Bei einem 1,70 m großen Menschen liegt der „Resonanzbereich“ bei Frequenzen um 70 bis 110 MHz, bei Kindern zwischen 200 und 400 MHz und bei den sehr viel kleineren Mäusen im Bereich einiger GHz.

Hochfrequente Strahlung hat einen Einfluss auf Wassermoleküle im Gewebe: Wassermoleküle sind elektrische Dipole. Sie richten sich also im ständig wechselnden Feld aus und schwingen im Takt der angelegten Frequenz. Dabei reiben sie aneinander, was zu Wärmebildung führt. Durch die Fähigkeit der Thermoregulation kann der Körper diese Wärme ausgleichen. Solange die Thermoregulation nicht gestört ist und die Strahlung unter einem bestimmten Stellenwert bleibt, muss mit keinen Auswirkungen auf die Gesundheit gerechnet werden (Bundesamt für Strahlenschutz, 2004, 2005a).

Als Maß für die vom Körper aufgenommene Energie steht die Spezifische Absorptions-Rate (SAR). Sie gibt die Leistung (Energie/Zeiteinheit) an, die pro Kilogramm Gewebe absorbiert wird und wird in Watt/kg angegeben (Bundesamt für Strahlenschutz, 2004, 2005a).

1.5. Wirkungen auf den Organismus

Studien über mögliche Wirkungen elektromagnetischer Strahlungen wurden schon viele durchgeführt. Oft ist aber eine wissenschaftliche Bewertung der gefundenen Ergebnisse schwierig. Auch sind die Ergebnisse häufig widersprüchlich: So fanden einige Studien ernsthafte gesundheitliche Gefährdungen, andere Studien wiederum

konnten keinerlei Effekte oder sogar positive Einflüsse auf die Gesundheit oder das Allgemeinbefinden nachweisen (Röösli et al., 2003).

Röösli et al. (2003) bewerten in ihrer Übersichtsarbeit experimentelle Studien an Menschen sowie epidemiologische Untersuchungen, die Effekte von Strahlungsemitenten im hochfrequenten Bereich (Definition nach Röösli et al.: ca. 100 kHz bis 10 GHz) untersuchten. Sie postulieren, dass hochfrequente elektromagnetische Strahlung bei hoher Intensität zu einer Erwärmung des Gewebes führt und infolge dessen gesundheitsschädigend wirken kann. Dieses wird in der Gesetzgebung berücksichtigt und führte dazu, dass die ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection) Richtwerte ableitete, die eine schädliche Erwärmung des Körpergewebes verhindern. Diese Richtwerte wurden unter anderem auch in Deutschland als Grenzwert übernommen (für die Mobilfunkfrequenz 41 V/m (900 MHz) bzw. 58 V/m (1800 MHz)).

Laut Röösli et al. (2003) sprechen einzelne Ergebnisse von Studien für einen möglichen Einfluss von Hochfrequenzstrahlung auf die Hirnströme, das Schlafverhalten, das Auftreten von Leukämien und Lymphomen sowie Hirntumoren und einer Elektrosensibilität. Als „nicht beurteilbar“ wird hingegen ein Zusammenhang zwischen Hochfrequenzstrahlung und gesundheitlichen Wirkungen auf das Hormonsystem, das Immunsystem, das Herz-Kreislauf-System, das psychische Befinden, das Auftreten von Brustkrebs, Augen- sowie Hodentumoren, Aborte und Genotoxizität beurteilt, da diesbezüglich bislang nur einzelne Studien mit wenig Aussagekraft existieren. Diese Studien wiesen methodische Schwächen sowie teilweise widersprüchliche Ergebnisse auf. Ein Zusammenhang zwischen Hochfrequenzstrahlung und Mortalität oder weiteren Tumoren wird als „unwahrscheinlich“ erachtet, da in mehreren Studien keine Korrelation festgestellt werden konnte (Röösli et al., 2003).

Nageswari et al. (1991) setzten männliche Kaninchen 3 Monate lang 3 Stunden täglich, 6 Tage in der Woche einer Strahlung von 2,1 GHz und 5 mW/cm² aus. Sie stellten fest, dass die Anzahl der peripheren T-Lymphozyten zwar im Gegensatz zur Kontrollgruppe erniedrigt war, deren Funktion aber nicht beeinträchtigt wurde (Nageswari et al., 1991). In einer Studie an Frauen, die über einen Zeitraum von mindestens zwei Jahren elektromagnetischen Feldern ausgesetzt waren, konnte gezeigt werden, dass die Lymphozytenfraktionen negativ beeinflusst wurden. Die Strahlung lag im Bereich von 500 KHz – 3 GHz und wurde durch einen Radiosender

in der näheren Umgebung der Wohnorte der Frauen verursacht (Boscolo et al., 2001).

Tuschl et al. (2006) setzten menschliche Blutzellen intermittierend acht Tage lang einer Strahlung von 1950 MHz und einem SAR-Wert von 1 mW/g aus, d.h. auf fünf Minuten Bestrahlung folgte je eine zehnmünütige Pause. Sie konnten dabei keinerlei Einflüsse u.a. auf die Cytokinproduktion feststellen (Tuschl et al., 2006).

In einer Studie aus dem Jahr 2006 wurde der Einfluss von EMF auf die Differenzierung von B-Zellen und die Antikörper (AK)-Produktion untersucht. Dafür wurden weibliche Mäuse Fernfeldbedingungen ausgesetzt (GSM, 900 MHz, SAR 2 W/kg, 2 Stunden pro Tag, 5 Tage in der Woche, 4 Wochen lang). Um eine Antigen-spezifische Immunantwort zu erreichen, wurde den Tieren intraperitoneal (i.p.) eine Lösung aus Ovalbumin (OVA) (1 µg/Maus), Wasser und dem Kompletten Freund's Adjuvans verabreicht. Eine Woche später erhielten sie i.p. eine Lösung aus OVA, Wasser und dem Inkompletten Freund's Adjuvans. Direkt im Anschluss an die Immunisierung wurden die Tiere dem Feld ausgesetzt. Nach Ablauf der vier Wochen wurden die Mäuse getötet und die IgM- und IgG-Konzentrationen mittels Sandwich-ELISA ermittelt. Dabei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der exponierten und der nicht exponierten Gruppe beobachtet werden (Nasta et al., 2006).

Im Rahmen des Deutschen Mobilfunk Forschungsprogramms (DMF) (Fachbereich Strahlenschutz und Gesundheit, 2008) wurden in einer Studie für das Immunsystem relevante Zellen hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (EMF) exponiert. Das Überleben, die Vermehrungsfähigkeit, der Zellzyklus, die Induktion von Stressproteinen oder die Konzentrationen reaktiver Sauerstoffverbindungen wurden dabei nicht beeinflusst. Untersuchungen an Hörzellen ergaben keinen Einfluss einer Exposition mit hochfrequenten EMFs auf Hörzellen. Das DMF erwartet deshalb keine akuten negativen Auswirkungen auf das Hörsystem.

Weitere Studien des DMF (Fachbereich Strahlenschutz und Gesundheit, 2008) können die Hypothese einer Schädigung der Blut-Hirn-Schranke durch hochfrequente EMFs insgesamt nicht stützen. In diesen Studien herrschten sowohl chronische Ganzkörperexpositionen als auch lokale akute Expositionen am Kopf. Des Weiteren konnten keine Hinweise auf die Förderung von Tumoren unter Langzeitexposition oder auf einen Einfluss auf die Fortpflanzung und Entwicklung in

Tiermodellen festgestellt werden (Fachbereich Strahlenschutz und Gesundheit, 2008).

Das DMF stellt anhand von nationalen Teilstudien fest, dass das Risiko von Handynutzern, an einem Hirntumor oder Akustikusneurinom zu erkranken, bei einer Nutzungsdauer von weniger als 10 Jahren nicht erhöht ist. Die Daten einer Langzeitnutzerguppe (Mobiltelefonnutzung für mehr als 10 Jahre) müssen allerdings noch ausgewertet werden. Da vor allem Krebserkrankungen eine lange Latenzzeit haben, die Mobilfunktechnik aber erst vergleichsweise kurz verbreitet genutzt wird, sieht das DMF allerdings weiteren Forschungsbedarf bei Langzeitwirkungen über einen Zeithorizont von ca. 10 Jahren (Fachbereich Strahlenschutz und Gesundheit, 2008).

2. Wirkung von Stress auf das Immunsystem

Das Immunsystem steht als körpereigenes Abwehrsystem in ständigem Kontakt mit seiner Umwelt. Dabei reagieren zelluläre und humorale Immunfaktoren sowohl mit exogenen, als auch mit endogenen antigenen Strukturen. Die Immunantwort wird dabei von endogenen Faktoren, denen der Organismus gleichzeitig ausgesetzt ist, wie z.B. dem Stressgeschehen, beeinflusst. Zwischen Stressreaktionen und dem Immunsystem besteht demnach eine enge wechselseitige Beziehung. So kann akuter, kurzzeitiger Stress stimulierend auf das Immunsystem wirken, während chronischer Stress zu einer Immunsuppression führen kann (z.B. Dhabhar und McEwen, 1997, 1999).

Selye definiert Stress als unspezifische Antwort des Körpers auf jegliche Bedrohung (Selye, 1976). Die schädlichen Stimuli bezeichnet er als Stressoren, die Antwort des Organismus auf einen Stressor als Stress oder Stressantwort. Die Stressantwort ist in 3 sich überlappende Phasen unterteilt: in die Phase 1 oder Alarmreaktion, in die Phase 2 - die Phase des Widerstands und in die Phase 3 – die Phase der Erschöpfung. Vorausgesetzt die Einwirkung des Stressors hält an, durchläuft jeder Organismus jede einzelne dieser Phasen. In der Phase 1 werden die Katecholamine aus dem Nebennierenmark ausgeschüttet. Wenn der Reiz weiterhin bestehen bleibt, werden in der zweiten Phase Glukokortikoide aus der Nebennierenrinde sezerniert und es wird versucht, einen Zustand der Gewöhnung zu erreichen. Wenn der

schädigende Reiz sehr stark ist, über einen längeren Zeitraum einwirkt und der Körper ihm nicht mehr standhalten kann, wird die dritte Phase erreicht. Das Resultat ist der Tod des Organismus (Freeman, 1987; Frank und Griffin, 1989).

Laut Maier und Watkins (1998) handelt es sich bei Stress um einen internen oder externen Stimulus, durch den sowohl die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse als auch das sympathische Nervensystem aktiviert werden. Dadurch wird eine physiologische Veränderung oder auch Adaptation bewirkt in deren Folge der Organismus die Bedrohung bewältigen kann.

Die Aktivierung des Stress-Systems führt zu einer Veränderung des Verhaltens und der physiologischen Regelvorgänge des Körpers, in deren Folge die Fähigkeit des Organismus, die Homöostase zu erhalten verbessert wird und sich seine Überlebenschancen erhöhen (Tsigos und Chrousos, 2002).

Brake (1988) ist der Meinung, dass Stressoren allgegenwärtig sind. Da sich ein Organismus jedes Mal neu auf diese einstellen muss, ist das Leben eine permanente Aneinanderreihung von Anpassungsreaktionen. Ein gewisses Maß an Stress ist daher unumgänglich. Darüber hinaus kann es sogar für eine gesunde Entwicklung förderlich sein, da Stressbewältigung die Resistenz gegenüber Stress erhöhen kann und keine Spätfolgen nach sich zieht („Eu-Stress“). Andererseits wirkt sich Stress, der eine Antwort über einen langen Zeitraum erfordert, schädigend auf den Organismus aus („Dys-Stress“) (Ladewig, 1987).

In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass Stress das Immunsystem beeinflusst. Stressoren, die das Immunsystem beeinflussen können, sind z.B. Schlafentzug und Immobilisierung (Velazquez-Moctezuma et al., 2004), sozialer Stress (Veränderung der Gruppenhaltung, Isolierung, Gruppengröße, usw.), Geräusche, Futter- und Wasserentzug und Transport (Manser, 1992). El-Lethey et al. (2003) verursachten bei Hühnern chronischen Stress, indem sie den Tieren entweder Futter entzogen, ihnen das Stresshormon Kortikosteron verfütterten oder sie auf Stangen hielten. Sie konnten nachweisen, dass durch diesen chronischen Stress sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunantwort reduziert war. So zeigten die Tiere u.a. niedrigere Antikörpertiter gegen rote Blutzellen des Schafes oder gegen das Tetanus-Toxoid (El-Lethey et al., 2003).

Wie hinlänglich bekannt, bewirkt Stress eine ACTH (Adreno-Corticotropes-Hormon)-Ausschüttung aus der Hypophyse, in deren Folge vermehrt Glukokortikoide in der Nebennierenrinde gebildet werden. Diese besitzen unter anderem eine

proteinkatabole Wirkung. Bedingt durch die Hemmung der Proteinbiosynthese, führen Glukokortikoide zu einer verminderten Synthese entzündungsfördernder Substanzen und wirken somit entzündungshemmend. Darüber hinaus wird die Antikörperproduktion vermindert und die zelluläre Immunabwehr unterdrückt; es besteht demnach eine immunsuppressive Wirkung. Länger dauernder Stress bewirkt eine Atrophie des Thymus und der Lymphknoten (Möstl, 2000; Sapolsky et al., 2000).

Auch das Geschlecht spielt bei der Fähigkeit, auf Pathogene zu reagieren, eine Rolle. So zeigen männliche Tiere eine schwächere Immunkompetenz als ihre weiblichen Artgenossen. Man geht davon aus, dass Östrogene das Immunsystem stärken, während Androgene einen negativen Effekt haben könnten. Hinlänglich bewiesen ist dies aber noch nicht (Klein, 2000).

Pilegaard und Madsen (2004) stellten bei ihren Untersuchungen an Ratten fest, dass weibliche Tiere auf eine Ovalbumin (OVA)-Gabe einen höheren Antikörpertiter zeigten als männliche (Pilegaard und Madsen, 2004).

3. Immunsystem

Die Funktion des Immunsystems besteht darin, fremde Antigene aufzuspüren und unschädlich zu machen (Manser, 1992).

Das Immunsystem lässt sich in zwei große Untereinheiten gliedern: in die angeborene unspezifische Abwehr – auch nicht adaptives Immunsystem genannt - und in die erworbene spezifische Abwehr, die man auch als adaptives Immunsystem bezeichnet. Diese Gliederung hat aber nur theoretischen Wert, denn alle Anteile des Immunsystems greifen ineinander und keines kann isoliert funktionsfähig sein. Das nicht adaptive Immunsystem ist dadurch gekennzeichnet, dass es schnell auf einen Stimulus reagieren kann, dafür aber nicht spezifisch ist und die Reaktion nur kurz andauert. Die Aktivierung des adaptiven Immunsystems nimmt dagegen deutlich mehr Zeit in Anspruch, es ist aber spezifisch und die Reaktion dauert länger an (Saalmüller, 2006).

Die spezifische Immunabwehr wird durch die T- und die B-Lymphozyten erreicht. Sowohl T- als auch B-Lymphozyten differenzieren sich aus pluripotenten Stammzellen aus dem Knochenmark. Die Differenzierung der T-Lymphozyten findet im Thymus statt, die der B-Lymphozyten bei den meisten Tieren im Knochenmark. Die reifen Lymphozyten gelangen über die Blutgefäße zu lymphoiden Organen, wo sie bei Antigenkontakt aktiviert werden und an das entsprechende Antigen binden können (Manser, 1992; Göbel und Kaspers, 2005).

B-Lymphozyten repräsentieren die humorale Immunreaktion des adaptiven Immunsystems. Auf einen Stimulus hin wandeln sie sich in Plasmazellen um. Diese Plasmazellen produzieren dann die Antikörper (Manser, 1992).

Wenn B-Lymphozyten das erste Mal in Kontakt mit einem Antigen kommen, werden bevorzugt IgM-Antikörper gebildet. Es handelt sich dabei um die so genannte Primärantwort. Bei wiederholtem Antigenkontakt findet ein Antikörper-Klassenwechsel von IgM zu einem anderen Antikörper-Isotypen statt (=Sekundärantwort). Hierbei kommt es zu einem direkten Kontakt zwischen T-Helferzellen, dendritischen Zellen (DZ) und B-Lymphozyten. Cytokine, die von diesen Zellen freigesetzt werden, bewirken den Klassenwechsel (Göbel und Kaspers, 2005).

3.1. Antigene

Um die Reaktionsfähigkeit des Immunsystems zu studieren, haben in Studien unterschiedlichste Antigene Verwendung gefunden. Sowohl Konno et al. (1993) als auch Strasser et al. (1997) verwendeten rote Blutzellen von Schafen, die sie Ratten intraperitoneal injizierten: Konno et al. (1993) untersuchten den Effekt einer proteinfreien Diät und einer restriktiven Fütterung bei Wistar-Ratten und bei Buffalo-Ratten auf das Immunsystem, indem sie unter anderem die Anzahl der gebildeten Antikörper gegen rote Blutzellen von Schafen verglichen. Strasser et al. (1997) untersuchten die Altersabhängigkeit der Immunkompetenz: Sie verglichen die Fähigkeit Ratten unterschiedlichen Alters, Antikörper gegen injizierte rote Blutzellen von Schafen zu bilden.

Um das Stressgeschehen von Hühnern zu beurteilen, verabreichten El-Lethey et al. (2003) Hühnern u.a. ein Tetanus-Toxoid, rote Blutzellen des Schafes und

Bestandteile des *Mycobacterium tuberculosis*. Auch Shanks et al. (1994) verabreichten Mäusen rote Blutzellen von Schafen.

Shu et al. (2001) immunisierten Schafe mit *Streptococcus bovis* um ein geeignetes Adjuvans für eine Impfung zu ermitteln. Erhard et al. (2000c) immunisierten Legehennen mit den Antigenen humanes Serumalbumin, rekombinantes bovines Somatotropin oder humanes IgG. Hasselquist et al. (2007) injizierten Knutts (*Calidris canutus*) (einem Zugvogel) Diphtherie- und Tetanusantigene um herauszufinden, ob die Belastung dieser Vögel während ihres Fluges zu einer Beeinträchtigung ihrer Immunantwort führt.

In der vorliegenden Studie wurden die Antigene Ovalbumin (OVA) und Huhn Immunglobulin Y (IgY) verwendet.

3.1.1. Ovalbumin

Das Protein Ovalbumin (OVA) hat eine molekulare Masse von rund 43 kDa und stellt somit ein Vollantigen dar. Wegen des phylogenetischen Abstands zwischen Vögeln und Säugetieren verursacht eine Verabreichung von OVA bei Säugetieren eine gute Immunantwort. OVA wurde bereits für zahlreiche Studien verwendet. So verwendeten Knippels et al. (1998) OVA, um die Möglichkeit einer oralen Sensibilisierung gegenüber Nahrungsmittelproteinen zu testen. Sie stellten fest, dass bei jungen (4 bis 6 Wochen alten) männlichen Brown Norway-Ratten, die entweder per Magensonde oder ad libitum per Trinkwasser mit OVA konfrontiert wurden, bei wöchentlicher Blutentnahme erst ab Tag 21 Antikörper (IgG) gegen OVA messbar waren (Knippels et al., 1998). In einem weiteren Versuch, der ähnlich aufgebaut war, stellten Knippels et al. (1999) fest, dass vor einer Verabreichung von OVA keine Antikörper gegen OVA nachweisbar waren (Knippels et al., 1999).

Darüber hinaus zogen Knippels et al. (1999) verzögerte Hypersensitivitätstests (delayed hypersensitivity tests) heran, um die zelluläre Immunantwort von Ratten auf OVA zu untersuchen. Dabei injizierten sie in ein Ohr OVA, in das kontralaterale PBS und verglichen die daraufhin entstandene Schwellung (Knippels et al., 1999).

Auch Pilegaard und Madsen (2004) verabreichten Ratten oral OVA, um ein Modell zu testen, mit dem man Allergene in Lebensmitteln eruieren kann (Pilegaard und Madsen, 2004).

Jarrett et al. (1976) verabreichten Ratten oral oder intradermal OVA und untersuchten dann deren IgE-Produktion (Jarrett et al., 1976). Auch Bazin und Platteau (1976) beobachteten die IgE-Produktion von Ratten, nachdem sie diesen oral oder intraperitoneal (i.p.) OVA verabreichten (Bazin und Platteau, 1976).

Takano et al. (2007) injizierten weiblichen Mäusen i.p. OVA in Kombination mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ als Adjuvans. Zehn Tage später verabreichten sie dies ein weiteres Mal. Die Tiere wurden 7 Tage nach der Immunisierung getötet und die IgG-Titer gemessen. Takano et al. (2007) stellten fest, dass die IgG-Titer im Serum 15 bis 17mal höher waren als bei den unbehandelten Kontrolltieren.

In einer Studie von Alizadeh et al. aus dem Jahr 2007 wurden 6 Wochen alte Mäuse in 2 Gruppen unterteilt: eine erhielt 4 Tage lang oral 5 mg OVA gelöst in sterilem destilliertem Wasser um eine orale Toleranz zu erzeugen. Die zweite Gruppe erhielt nur Wasser. Alle Tiere wurden an Tag 28 und Tag 49 i.p. mit 100 μg OVA immunisiert. Eine Woche nach der letzten Immunisierung wurden die Tiere getötet und u.a. die IgG-Titer gemessen: Bei den mit OVA gefütterten Tieren waren die IgG-Titer niedriger als bei den mit Wasser gefütterten Tieren (Alizadeh et al., 2007).

Knippels et al. (2000) verabreichten Ratten i.p. 0,5 ml einer Lösung aus 0,2 mg OVA/ml in steriler Kochsalzlösung an Tag 0, 2, 4, 7, 9 und 11. An Tag 28 entnahmen sie den Tieren Blut. In diesem war im Gegensatz zu Blutproben, die vor Versuchsbeginn gezogen wurden, IgG-Titer gegen OVA nachweisbar (Knippels et al., 2000).

Vaz et al. (1970) immunisierten i.p. Mäuse mit OVA und dem Adjuvans $\text{Al}(\text{OH})_3$. Sie stellten fest, dass die IgG1-Titer an Tag 21 höher waren als an den Tagen 7 bis 9 (Vaz et al., 1970).

In einer Studie von Lauterslager et al. (2002) erhielten weibliche Mäuse u.a. i.p. oder s.c. OVA mit einem Adjuvans. Später wurden sie als Boosterung oral mit OVA konfrontiert. Lauterslager et al. (2002) konnten im Wesentlichen keinen signifikanten Unterschied zwischen subkutaner und intraperitonealer Immunisierung in Hinsicht auf die IgG-Antwort feststellen.

3.1.2. Huhn Immunglobulin Y

Wegen des phylogenetischen Abstands verursacht eine Verabreichung von Huhn Immunglobulin Y (IgY) analog zu OVA bei Säugetieren eine verstärkte immunogene

Aktivität (Gassmann et al., 1990). IgY besteht aus zwei schweren (H) und zwei leichten (L) Ketten und hat eine molekulare Masse von rund 180 kDa (Sun et al., 2001).

IgY stellt das funktionelle Äquivalent des Antikörpers IgG der Säuger und wahrscheinlich den evolutionären Vorgänger der Antikörper IgG und IgE der Säuger dar (Warr et al., 1995). Seine potentiellen Anwendungsmöglichkeiten wurden bereits in den unterschiedlichsten Studien untersucht.

Erhard et al. (2000a) verabreichten Kälbern zwischen dem zweiten und dem 14. Lebenstag zweimal täglich oral IgY und untersuchten den daraus resultierenden Effekt auf Neugeborenenenddurchfall.

Zhen et al. (2009) behandelten Kühe, die an durch *Staphylococcus aureus* verursachter klinischer Mastitis litten, 6 Tage lang intramammär IgY oder Penicillin. Sie konnten nachweisen, dass die Verabreichung von spezifischem IgY eine alternative Mastitistherapie darstellt (Zhen et al., 2009).

Otake et al. (1991) verfütterten an Ratten, die mit Karies verursachenden *Streptococcus mutans* infiziert waren, IgY. Dieses wurde zuvor gegen *Streptococcus mutans* präpariert. Otake et al. (1991) konnten nachweisen, dass diese passiv immunisierten Ratten weniger Karies-induzierte Läsionen aufwiesen als die Kontrolltiere. Hatta et al. (1997) untersuchten den Effekt einer Mundspülung, die mit *Streptococcus mutans*-spezifischem IgY versetzt war, auf den Besiedlungsgrad der menschlichen Mundhöhle mit *Streptococcus mutans*.

In ihrer Übersichtsarbeit stellen Mine und Kovacs-Nolan (2002) dar, dass sich die orale Gabe von IgY als erfolgreiche Behandlung bei den verschiedensten Infektionen des Gastrointestinaltrakts erwiesen hat (z.B. bovines und humanes Rotavirus, bovines Coronavirus, *Salmonella* spp).

3.2. Lipopeptid als Adjuvans

Ein Adjuvans stellt eine essentielle Komponente der meisten Impfungen dar (Janeway und Medzhitov, 2002).

In dieser Studie wurde das Lipopeptid Pam₃-Cys-Ser-(Lys)₄ (PCSL) verwendet. Dabei handelt es sich um ein synthetisches bakterielles Lipopeptid von *Escherichia coli* (Kellner et al., 1992; Heumann et al., 2003). Lipopeptide haben den Vorteil, dass

sie nicht toxisch sind, kein Fieber erregen und keine Gewebeschäden verursachen, wenn sie injiziert werden (Bessler und Jung, 1992).

Kellner et al. (1992) immunisierten Mäuse mit einem Hapten und verglichen verschiedene Adjuvantien. Dabei stellte sich PCSL als das Potenteste heraus.

Um den Einfluss von zwei unterschiedlichen Haltungssystemen u.a. auf die humorale Immunantwort von Legehennen zu untersuchen, injizierten Erhard et al. (2000b) Hennen zweimal im Abstand von 4 Wochen s.c. humanes IgG in Verbindung mit 0,25 mg PCSL. Eine Kontrollgruppe erhielt statt PCSL physiologische Kochsalzlösung. Ein immunstimulierender Effekt des Adjuvans PCSL konnte festgestellt werden (Erhard et al., 2000b).

In einer weiteren Studie von Erhard et al. (2000c) wurde die Wirkung verschiedener Adjuvantien auf das humorale Immunsystem von Hennen untersucht. Auch hier erwies sich PCSL als geeignetes Adjuvans (Erhard et al., 2000c). Des Weiteren wurde in einer Studie von Hofmann et al. (1996) PCSL als geeignetes Adjuvans bei der Immunisierung von Hühnern beurteilt.

III. Tiere, Material und Methoden

1. Tiere und Haltungsbedingungen

Die Untersuchungen „In Vivo-Experimente unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunkkommunikation–A. Langzeituntersuchungen“ wurden im Auftrag des Bundesamts für Strahlenschutz (Kz: St.Sch 4415) durchgeführt und unter dem Aktenzeichen Az: 55.2-1-54-2531-91-04 durch die Regierung von Oberbayern als Tierversuch genehmigt. Es handelt sich um ein Gemeinschaftsprojekt des Lehrstuhls für „Physiologie“ und des Lehrstuhls für „Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung“ der Tierärztlichen Fakultät der LMU München, sowie dem Lehrstuhl für Hochfrequenztechnik und dem Klinikum rechts der Isar der TU München. Die Untersuchungen zum „Potentiellen Einfluss der elektromagnetischen Felder auf das Immunsystem“ wurden am Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung der LMU durchgeführt.

1.1. Expositionseinrichtung

Die Tiere wurden unter Standardlaborbedingungen bei einer Raumtemperatur von $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit von $60\pm 15\%$ gehalten.

Das Lichtprogramm bestand aus einer zwölfstündigen Tag- und einer ebenso langen Nachtphase. Die Tagphase dauerte von 7.00 Uhr mitteleuropäischer Winterzeit bis 19.00 Uhr an, die Nachtphase dementsprechend von 19.00 bis 7.00 Uhr. Zur Beleuchtung wurden jeweils vier Glühbirnen der Marke Dulux® EL Longlife R80, Osram, Deutschland und zwei Glühbirnen der Marke Osram Concentra PAR 38 Flood, 120 W, Osram, Deutschland verwendet. Die Lichtintensität betrug während der Tagphase durchschnittlich 65 ± 15 Lux, während der Nachtphase 0 Lux.

Die Tiere waren in drei Versuchsgruppen aufgeteilt: eine GSM-exponierte (900 MHz), eine UMTS-exponierte (1966 MHz) und eine unbefeldete SHAM-Gruppe. Die Exposition erfolgte in drei identischen, vollklimatisierten Expositionskammern (370 x 370 x 370 cm), die mit Hochfrequenzabsorbermaterial (Carbonabsorber in Form von Pyramidenabsorbern am Boden und hinter den Parabolspiegeln, Keilabsorbern an

den Wänden, Flachabsorbern am Türgriff und unter den Gängen) ausgekleidet waren. Die Wände der Kammern bestanden aus Verbundplatten, d.h. aus einem Pressspankern auf den beidseits ein 0,5 cm starkes Stahlblech aufgeklebt wurde. Dadurch ergaben sich elektromagnetisch vollständig abgeschirmte Kammern.

Die Kammern wurden von der Firma BSS Braden Shielding Systems, Tulsa, OK, USA gebaut und durch die Firma Emc (Technik&Consulting GmbH, Stuttgart, Deutschland) aufgebaut.

Der GSM-Generator wurde von der Firma Rohde & Schwarz (München, Deutschland) hergestellt, der UMTS-Generator von der Gesellschaft für Medizin und Technik (GMT Wuppertal, Deutschland). Die Verstärker der originären Generatorfrequenzen stammten von der Firma BONN Elektronik GmbH (Ottobrunn, Deutschland). Die Exposition in der jeweiligen Kammer erfolgte mittels eines Parabolspiegels aus Stahlblech mit einem Durchmesser von 3,20 m und einer Brennweite von 1,12 m (siehe Abb. 1).

Die Stellplätze des Regals waren aufgrund inhomogener Feldeigenschaften der das EMF-Signal abstrahlenden Parabolspiegel farblich (rot, gelb bzw. grün) markiert. Auf den roten Plätzen fand keine homogene, und auf den Gelben nur wenig ausreichende Bestrahlung statt. Nur auf den grünen Plätzen herrschte eine homogene Feldverteilung unter Fernfeldbedingungen, d.h. das elektrische und das magnetische Feld standen vertikal zueinander. Damit durften nur die grünen Plätze belegt werden. In der Kontrollkammer ergaben sich dadurch 56 Stellplätze und in der UMTS- und der GSM-Kammer jeweils 40 Stellplätze.

Der angestrebte SAR-Wert lag bei 0,4 W/kg und die durchschnittliche Tagesbefeldung lag bei über 95%. Die Befeldung wurde mit dem Öffnen der Türen automatisch unterbrochen und konnte erst nach Verlassen der Kammer manuell wieder in Betrieb genommen werden, um eine Exposition von Menschen auszuschließen.

Es erfolgte eine kontinuierliche pränatale und chronische, postnatale Befeldung der Generationen F0, F1 und F2.

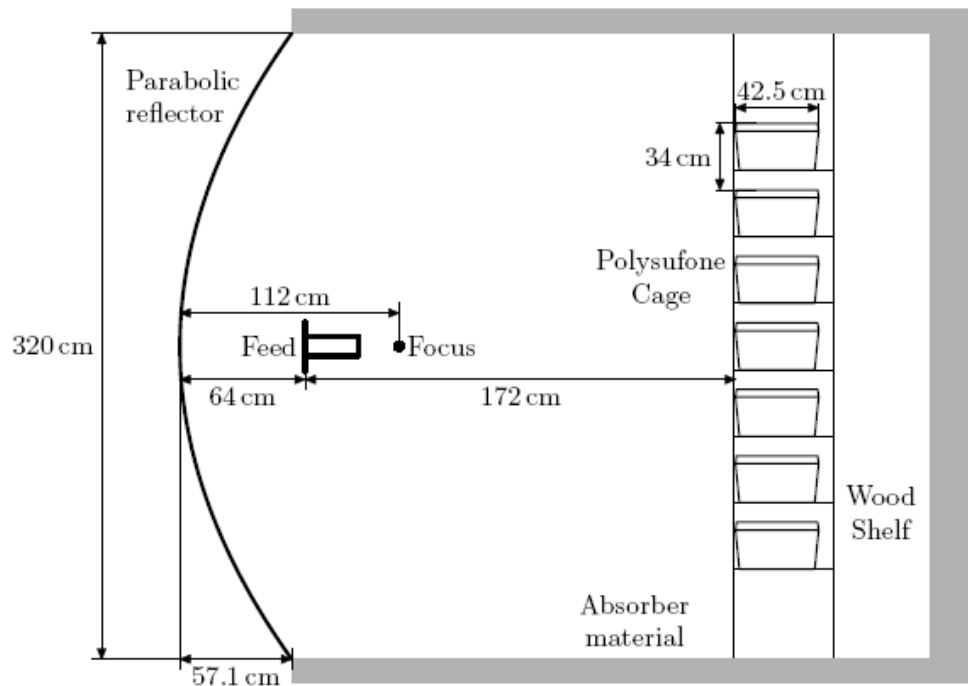


Abb. 1: Schematische Seitenansicht der Expositionskammern (nach Alfagame et al., 2005)

Die Käfige wurden in den Expositionskammern jeweils auf einem Holzregal mit je sieben Etagen untergebracht.

Die Käfige wurden routinemäßig einmal wöchentlich durch ihre Standplätze rotiert, um eventuelle Unterschiede in der Bestrahlungs- und Beleuchtungsintensität auszugleichen.

Die Expositionsdauer der einzelnen Generationen ist aus Tabelle 1 ersichtlich, die Versuchstierzahlen und deren Aufteilung in die jeweiligen Gruppen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tab. 1: Expositionsdauer der einzelnen Generationen

Generation	Expositionsdauer
F0b-Gruppe 1	~4 Monate
F0b-Gruppe 2	~4 Monate
F0a-Gruppe 1	~10 Monate
F0a-Gruppe 2	~10 Monate
F2-Gruppe 1	~5 Monate
F2-Gruppe 2	~5 Monate

Tab. 2: Versuchstierzahlen mit Gruppeneinteilung

	GSM	UMTS	SHAM	Gesamttierzahl
F0b-Gruppe 1	15	13	15	43
F0b-Gruppe 2	12	11	18	41
F0a-Gruppe 1	14	14	18	46
F0a-Gruppe 2	9	12	17	38
F2-Gruppe 1	21	21	21	63
F2-Gruppe 2	21	21	21	63
Gesamttierzahl	92	92	110	294

1.2. Tierhaltung

Die Tierhaltung und die Versuche fanden unter den üblichen hygienischen Bedingungen statt, d.h. jede Person, die die Räumlichkeiten betrat, wechselte die Schuhe und zog sich nach Händereinigung und -desinfektion Kittel, Mundschutz, Haube und desinfizierte Latexhandschuhe über.

Die Tierkäfige der Firma Techniplast (Techniplast Deutschland GmbH, Hohenpeißenberg, Deutschland) bestanden vollständig aus Polycarbonat. Sie setzten sich aus einer Unterschale vom Makrolon Typ III H (H= erhöht, 425 x 266 x 185 mm) und einem Kunststoffdeckel zusammen, wodurch sich die Maße 425 x 266 x 190 mm bei einer Bodennutzfläche von 800 cm² ergaben. Im Deckel und an den Schmalseiten der Käfige befanden sich mehrere ca. 1 cm große Belüftungslöcher.

Täglich wurden die Tiere adspektorisch und einmal wöchentlich auch manuell auf Krankheitsanzeichen untersucht. Auch das Gewicht wurde einmal wöchentlich ermittelt und dokumentiert, um eventuelle Erkrankungen möglichst frühzeitig erkennen zu können.

Der gesamte Tierbestand wurde monatlich koproskopisch parasitologisch untersucht und bei Bedarf (dreimalig im Versuchszeitraum wegen festgestellten Syphacia-Befalls) mit mediziertem Futter (altromin 1324, Flubenol 5%ig, Altromin GmbH, Lage, Deutschland) behandelt.

Als Futter wurde Haltungsfutter für Ratten und Mäuse (altromin 1324, Altromin, Lage, Deutschland) verwendet (siehe Tab. 3). Dieses stand ad libitum zur Verfügung. Muttertiere bzw. Jungtiere bekamen von der Paarung bis zum Absetzen der Jungtiere energiereiches Zuchtfutter (altromin 1314, Altromin GmbH, Lage, Deutschland).

Tab. 3: Futterzusammensetzung altromin 1324 bzw. in Klammern altromin 1314

Inhaltsstoffe	Anteil in %	Inhalt je kg
Rohprotein	19 (22,3)	
Rohfett	4 (5)	
Rohfaser	6 (4,5)	
Rohasche	7 (6,5)	
Ca	0,9	
P	0,7	
Vitamin A		15000 I.E.
Vitamin D3		600 I.E.
Vitamin D		75 mg
Cu		5 mg

Die Wasserversorgung (kommunales Leitungswasser) erfolgte ad libitum über Kunststoffflaschen mit einem Fassungsvermögen von 500 ml. Die Flaschen besaßen

Gummistopfen mit Tränkenippeln aus Glas. Der Wasserwechsel wurde viermal wöchentlich durchgeführt.

Der Versorgungszustand der Tiere mit Futter und Trinkwasser wurde täglich kontrolliert, der Wasserwechsel erfolgte gekoppelt an den Käfigwechsel. Vier Mal pro Woche wurden die Käfige ausgemistet [und gewechselt], wobei einmal die Einstreu in Form von Weichholzgranulat (altromin Animal Bedding Granular, Altromin GmbH, Lage, Deutschland) nur entfernt und der Käfig sofort mit frischer Einstreu wiederbefüllt wurde und dreimal der Käfig ausgetauscht und in der Käfigwaschanlage gereinigt wurde.

Als Beschäftigungsmöglichkeiten wurden jedem Käfig eine autoklavierte Papprolle, einige Zellstoffstreifen (ungebleichte Qualität, Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG, Garbsen, Deutschland) und pro Tier ein Espenholz-Nagehölzchen (Fa. ABEDD LAB & VET Service GmbH, Wien, Österreich; Größe S 4 x 1,6 x 1cm) beigegeben.

1.3. Versuchstiere

Die Elterntiergeneration (sog. F₋₁- Generation) des Zuchtstammes WISTAR, Rj:HAN wurden vom Versuchstierzüchter Janvier (Le Genest-St-Isle, Frankreich) bezogen und in drei Expositionsgruppen unterteilt (GSM, UMTS, SHAM) gehalten. Bei den Versuchstieren (F₀-, F₁-, F₂-Generation) handelte es sich jeweils um eigene Nachzuchten. Zur Verpaarung wurden jeweils eine männliche und eine weibliche Ratte in einem Käfig zusammengesetzt. Aus der Verpaarung der Tiere der F₋₁-Generation entstand die Generation F₀. Aus versuchstechnischen Gründen erfolgte eine Aufteilung der Generation F₀ in die Untergruppen F_{0a} und F_{0b}, welche wiederum in 2 Gruppen unterteilt wurden. Es ergaben sich dadurch die Versuchsgruppen F_{0a}-Gruppe 1, F_{0a}-Gruppe 2, F_{0b}-Gruppe 1 und F_{0b}-Gruppe 2. Aus den Verpaarungen der Generation F₀ ging die Generation F₁ hervor. Für die Nachzucht der Generation F₀ wurden ausschließlich Tiere der Versuchsgruppe F_{0a} verwendet. Die Versuchsgruppe F_{0b} wurde nicht reproduziert. Aus der Verpaarung der Generation F₁ ging die Generation F₂ hervor.

Die Tiere wurden in den entsprechenden Expositionskammern geboren und zeitlebens in denselben gehalten. Bis zu ihrem 21. Lebenstag verblieben die Jungtiere beim Muttertier, anschließend wurden sie nach Geschlechtern getrennt in untereinander unverwandten Gruppen zu je drei Tieren (Weibchen) bzw. zu je zwei Tieren (Männchen) gehalten. Alle Tiere wurden am 21. Lebenstag mittels eines subkutan in der Nackenregion implantierten Transponders (Alvic®-Tranponder, Alvetra GmbH, Neumünster, Deutschland) individuell gekennzeichnet.

Für die Untersuchung des Immunsystems wurden ausschließlich weibliche Tiere herangezogen, um eventuelle geschlechtsspezifische Unterschiede auszuschließen. Die Generation F1 ging in diesen Versuch nicht mit ein.

Zum jeweiligen Versuchsbeginn war das Alter der Tiere zwischen den Gruppen gleich, da der zeitlich versetzte Versuchsbeginn mit dem zeitlich versetzten Geburtstermin korrespondierte.

2. Versuchsaufbau

Der Versuchsablauf war bei allen Versuchsgruppen identisch. Um einen basalen Ausgangswert (0-Wert) zu erhalten, erfolgte am Tag 0 die erste Blutentnahme. Am Tag 7 wurde die Immunisierung durchgeführt. Die zweite Blutentnahme erfolgte am Tag 14. Eine Boosterung fand am Tag 28 statt und eine dritte Blutentnahme am Tag 35.

Die Untersuchungen der Immunantwort der F0b-Generation wurden am 30.11.2005 begonnen und erstreckten sich bis zum 08.02.2006. Die Tiere der F0a-Generation wurden vom 19.07.2006 bis 27.09.2006 immunisiert und beprobt; in der F2-Generation lag der Zeitraum zwischen 18.10.2006 und 27.12.2006 (siehe Tab. 4).

Schema des Versuchablaufs:

- 1. Blutentnahme: d 0
- Immunisierung: d 7
- 2. Blutentnahme: d 14
- Boosterung: d 28
- 3. Blutentnahme: d 35

Tab. 4: Zeitplan

Generation	Zeitplan des Versuchs
F0b-Gr.1	30.11.2005 – 04.01.2006
F0b-Gr.2	05.01.2006 – 08.02.2006
F0a-Gr. 1	19.07.2006 – 23.08.2006
F0a-Gr. 2	23.08.2006 – 27.09.2006
F2-Gr. 1	18.10.2006 – 22.11.2006
F2- Gr. 2	22.11.2006 – 27.12.2006

3. Versuchsdurchführung

Die Tiere wurden sowohl zur Blutentnahme, als auch zur Immunisierung von einer dritten Person in ihren Käfigen in den Untersuchungsraum gebracht, so dass den Blutnehmenden nicht bekannt war, aus welcher Kammer die Tiere stammten.

3.1. Gewinnung der Blutproben

Die Blutentnahme aus einer Schwanzvene (Vv. coccygeae) fand am wachen Tier statt, das von einem Helfer in einem Restraîner fixiert wurde. Dazu wurde zunächst der Schwanz zur Durchblutungsförderung mittels warmen Wassers (ca. 30 Sekunden bei ca. 40°C) in einer Plastikflasche angewärmt. Anschließend wurde ein Stauschlauch aus einem Perfusionsbesteck (Tro-Venaset®, Trodger Medical GmbH, Hamburg, Deutschland) angelegt und das Blut gestaut. Das Blut wurde mittels vom Konus abgebrochener Kanülen (BD Microlance™3, 24G, 0,55 x 25mm bzw. 23G, 0,6 x 30 mm, Becton Dickinson GmbH, Deutschland) aus der Schwanzvene entnommen und in 1,5 ml fassenden eppendorf®-Cups aufgefangen. Jedem Tier wurden pro Blutentnahme ca. 0,5 ml Blut entnommen.

3.2. Immunisierung und Boosterung

Zur Immunisierung und Boosterung wurde eine Suspension bestehend aus den Antigenen Ovalbumin (OVA) und Hühner IgY, sowie Pam₃-Cys-Ser-(Lys)₄ als

Lipopeptid-Adjuvans, gelöst in PBS (pH 7,2), verwendet. Jedem Tier wurden jeweils 100 µg OVA, 100 µg Hühner IgY und 100 µg Pam₃-Cys-Ser-(Lys)₄ injiziert. Das Injektionsvolumen betrug 0,2 ml pro Tier und wurde subkutan in der Flanke appliziert.

3.3. Verarbeitung der Blutproben

Die Blutproben wurden ca. 30 Minuten nach der Blutentnahme für 10 min bei 2000 g und 4°C zentrifugiert (Heraeus Biofuge stratos, Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Deutschland), das Serum in 0,5 ml fassende eppendorf®-Cups abpipettiert und dieses erneut für 5 min bei 4000 g und 15°C zentrifugiert. Danach wurde das Serum in 0,2 ml fassende eppendorf®-Cups abpipettiert. Von dieser Nativprobe wurden je 10 µl in bereits vorbereitete, mit je 90 µl PBS (pH 7,2) befüllte Cups eingespült (je 3 Aliquots) und durchgemischt (Vortex-Genie 2, Scientific Industries).

Die 1:10 verdünnten Aliquots und der Rest der Nativproben wurden bis zur weiteren Verwendung bei -20°C eingefroren.

4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Insgesamt wurden drei verschiedene ELISA-Tests verwendet. Dabei wurde das Ratten-Gesamt IgG, anti Huhn IgY IgG-Antikörper und anti OVA IgG-Antikörper bestimmt.

4.1. Verwendete Chemikalien und deren Zusammensetzung

Beschichtungspuffer (pH 9,6):	3,11 g Natriumcarbonat (Merck KG aA, Darmstadt, Deutschland), 6 g Natriumhydrogencarbonat (Merck KG aA, Darmstadt, Deutschland), Monodest ad 1 Liter
PBS (pH 7,2):	Natriumchlorid (Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, Holland) 8 g, Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) 1,45 g, Kaliumdihydrogenphosphat (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) 0,20 g, Kaliumchlorid (Merck KG aA, Darmstadt, Deutschland) 0,20 g, Monodest ad 1 Liter
PBS-Tween (pH 7,2):	500 µl Tween 20 in 1 l PBS
TMB-Puffer (pH 5,0):	Natriumacetat (Merck KG aA, Darmstadt, Deutschland) 8,20 g, Citronensäure-Monohydrat (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) 3,15 g, Monodest ad 1 Liter
TMB	60 mg 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidin (Sigma, Taufkirchen, Deutschland), 10 ml Dimethylsulfoxid (Sigma, Taufkirchen, Deutschland)
1-molare H ₂ SO ₄	27,8 ml 96-prozentige H ₂ SO ₄ , Monodest ad 500 ml (Merck KG aA, Darmstadt, Deutschland)
Magermilchpulver (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland), 1-prozentig	
TMB-Substrat	10 ml warmer TMB-Puffer + 322 µl TMB-Stock + 3 µl H ₂ O ₂ /Platte
Wasserstoffperoxid (Perhydrol® 30% H ₂ O ₂ , E. Merck, Darmstadt, Deutschland)	

4.2. Prinzip der durchgeführten ELISA-Systeme

A - Beschichtung:

Der Antikörper Goat- α -Rat-IgG (Sigma R5130) bzw. die Antigene OVA (Grade V: Sigma A5503) und Huhn IgY (Bio Trend 003-0102) werden über Nacht bei 4°C an die 96 Kavitäten fassende Mikrotiterplatte (Nunc-Immuno Plate, Nunc A/S, Roskilde, Dänemark) gebunden.

B - Blockierung:

Freie Bindungsstellen der Platte werden mit Magermilchpulver-Lösung besetzt.
Inkubation: 37°C 1h

C - Probenauftrag:

Die gesuchten Antikörper werden an die Beschichtung gebunden. Inkubation: 37°C
1h

D - Konjugat:

Antikörper, die den gesuchten Stoff erkennen (Goat- α -Rat-IgG) und mit Peroxidase gekoppelt sind, binden an den Komplex. Inkubation: 37°C 1h

E - Substrat:

TMB-Substrat wird in einem Puffer auf die Kavitäten gegeben. Wasserstoffperoxid aktiviert die Peroxidase, das Substrat wird umgesetzt und bewirkt einen Farbumschlag zu blau. Inkubation: im Dunklen (das Substrat ist lichtempfindlich) bei Raumtemperatur 10 min

F - Stopplösung:

1-molare Schwefelsäure (H₂SO₄) hemmt die Aktivität der Peroxidasen und bewirkt einen Farbumschlag zu gelb. Die Intensität der Gelbfärbung kann bei 450 nm photometrisch gemessen werden.

4.3. Nachweis von Gesamt IgG

A - Beschichtung:

Um eine Konzentration von 5 μ g/ml Goat α Rat-IgG zu erhalten, werden 50 μ l Stock (Sigma R5130) in 10 ml Beschichtungspuffer pro Platte gemischt. Davon werden je 100 μ l mittels Dispensierpipette (Finnpipette®, Labsystems 4540) in jede Kavität pipettiert und bei 4°C über Nacht inkubiert.

B - Blockierung:

Nach dem Waschen der Platten mit PBS-Tween (Auto Plate Washer, ELX 405, Bio-Tek Instruments, INC., USA), erfolgt die Blockierung durch Zugabe von je 200 μ l

1%igem Magermilchpulver (200 mg Milchpulver in 20 ml PBS pro Platte). Danach werden die Platten eine Stunde bei 37°C inkubiert.

C - Probenauftrag:

Die Platten werden wiederum gewaschen.

Als Blank wird PBS-Tween verwendet. Die Proben und der Pool werden 1:1000 verdünnt (5 µl der 1:10 vorverdünnten Proben in 495 µl PBS-Tween) und jeweils 100 µl in die entsprechenden Kavitäten pipettiert (Finnpipette). Als Standard dienen 1,45 µg/ml Ratte IgG (Sigma I 4131), der als log₂-Verdünnung eingesetzt wurde. Danach erfolgt eine einstündige Inkubation bei 37°C.

D - Konjugat:

Nach erneutem Waschen wird als Konjugat Goat α Rat-IgG-POD (Sigma A9037-1ml) in einer Konzentration von 1:50.000 verwendet, je 100 µl in jede Kavität pipettiert und erneut eine Stunde bei 37°C inkubiert.

E - TMB:

Die Platten werden nochmals gewaschen und anschließend je 100 µl TMB-Substrat zugefügt. Nach 10 Minuten Reaktionszeit in Dunkelheit wird je 50 µl 1molare H₂SO₄ als Stopplösung zugegeben und die Extinktion bei 450 nm gemessen (Absorptionsmessgerät GENios, Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim, Deutschland) (Referenzwellenlänge bei 595 nm).

4.4. Nachweis von OVA und Huhn IgY

Der chronologische Ablauf des Nachweises von OVA und Huhn IgY entspricht weitestgehend dem des IgGs. Deshalb erfolgt hier nur eine zusammenfassende Darstellung, Unterschiede zum IgG-Nachweis sind eingefügt.

1. Beschichtung: 5 µg/ml OVA (Grade V: Sigma A5503) bzw. Huhn IgY (Bio Trend 003-0102)
2. Inkubation bei 4°C über Nacht
3. Waschen
4. Probenauftrag und log₂-Verdünnung: Proben der geboosterten Ratten werden 1:1.000 (5 µl 1:10 vorverdünnte Probe in 495 µl PBS-Tween), Proben von

ungeimpften und einmal geimpften Tieren werden 1:100 verdünnt (50 µl 1:10 vorverdünnte Probe in 450 µl PBS-Tween). Bei den Generationen F0a und F2 werden alle Proben 1:500 verdünnt (10 µl 1:10 vorverdünnte Probe in 490 µl PBS-Tween).

Als Standard wird ein Ratten-Serum-Pool in einer Verdünnung von 1:100 verwendet. Dieser wurde am 09.03.06, drei Wochen nach der Boosterung, gewonnen.

5. Inkubation bei 37°C eine Stunde
6. Waschen
7. Konjugat: 1:20.000 Goat α Rat-IgG-POD
8. Inkubation bei 37°C eine Stunde
9. Waschen
10. TMB-Substrat-Gabe
11. H₂SO₄-Gabe
12. Messung

4.5. Berechnung der Konzentration bzw. des Titers

Die Berechnung der Konzentration bzw. des Titers erfolgt mit Hilfe des Software-Programms Microwin 2000 (Mikrotek Laborsysteme GmbH, Overath, Deutschland), welches die optische Dichte (OD) der Proben ermittelt.

4.5.1. Gesamt IgG:

Mit Hilfe des Interceptbereichs wird der Mittelwert errechnet.

4.5.2. OVA und Huhn IgY:

Die optimale optische Dichte (OD) wird bei 0,5 festgelegt. Damit wird die ELISAEinheit (E) nach folgenden Formeln errechnet:

$$t = x - (a - L) / (H - L)$$

$$E = b \cdot 2^t$$

Legende:

t: Titer, x: Verdünnungsstufe unterhalb der optimalen OD, a: Optimale OD, L: Extinktion unterhalb der optimalen OD, H: Extinktion oberhalb der optimalen OD, E: ELISAEinheit, b: Vorverdünnung

Aus allen errechneten Standards eines Probendurchlaufs wird der Mittelwert von „t“ errechnet. Mit Hilfe jedes einzelnen Standards (t) einer Platte und des Mittelwert-Standards wird für jede einzelne Platte ein Korrekturfaktor berechnet, mit dem die natürlichen Schwankungen von Platte zu Platte korrigiert werden sollen (Korrekturfaktor = MW Std-t/Std-t). Jedes Ergebnis der Proben, Standards und Pools wird durch Multiplikation mit dem Korrekturfaktor korrigiert. Der Standardwert entspricht dann dem Mittelwert-Standard.

Der korrigierte E-Wert wird in einer logarythmischen Schreibweise dargestellt.

5. Statistische Auswertung

Die biometrische Planung des Versuchs und die Auswahl der statistischen Testverfahren erfolgte anhand eines biometrischen Gutachtens des Instituts für Statistik (StaBLab) der LMU München. Die statistischen Tests wurden mittels des SAS-Systems durchgeführt.

Da eine Unabhängigkeit des Zeitfehlers nicht mehr gegeben war, wurde das so genannte „gemischte Modell“ angewendet. Bei diesem Verfahren wird jedem Tier ein Intercept zugewiesen, was dazu führt, dass die Fehler unabhängig werden. Außerdem wurde jedem Messwert ein Rang zugewiesen, was dazu führt, dass keine Ausreißer auftreten. Im Ergebnisteil werden nur die Ränge zitiert.

Da bei den Daten keine Normalverteilung herrschte, mussten Parameter aus den Daten geschätzt werden. Daraus resultierten die Schätzwerte. Als Basis- oder Bezugszeitpunkt wurde der Tag d 35 bestimmt, da hier die höchsten Konzentrationen bzw. Titer zu erwarten waren. Bei der Expositionsart wurde die scheinexponierte Gruppe als Bezugsgruppe bestimmt. Bei den Gruppen war jeweils die Gruppe 2 die Bezugsgruppe. Die Bezugsgrößen erhielten immer den Schätzwert 0. Darauf folgend wurde ermittelt, wie sich die Zeitpunkte d 0 und d 14, die Gruppen 1 und 2 und die GSM- und UMTS-exponierten Gruppen im Vergleich zum Basiszeitpunkt bzw. zur Basisgruppe verhielten (Schätzwerte) und ob dieser Unterschied eine Signifikanz aufwies.

Die Diagramme wurden mit Hilfe des Programms SigmaPlot 9.0 erstellt. In ihnen sind jeweils Mittelwert und SEM angegeben.

Als signifikant wurde jeweils eine Irrtumswahrscheinlichkeit p von <0,05 akzeptiert.

IV. Ergebnisse

1. Ergebnisse Gesamt IgG

1.1. Einfluss der Exposition

1.1.1. Generation F0a

Im Vergleich der einzelnen Bestrahlungsarten (GSM, UMTS oder SHAM) lässt sich erkennen, dass es in der am längsten exponierten Generation F0a sowohl einen signifikanten Einfluss der Gruppe ($p < 0,0001$) als auch der Zeit ($p < 0,0001$) auf die IgG-Konzentration im Blut der Versuchstiere gibt. Ein möglicher Einfluss der Exposition ist nicht nachweisbar ($p = 0,49$) (s. Abb. 2).

Im Vergleich zur Gruppe zwei (Schätzwert = 0) liegt der Schätzwert der Gruppe eins bei $-60,5609$. Bei der Beurteilung des Zeiteinflusses dient Tag 35 als Basis. Tag 14 erhält somit einen Schätzwert von $-23,2824$, Tag 0 von $-21,3690$. Die Kontrollgruppe dient bei der Beurteilung des Expositionseinflusses als Basis. Für die Exposition mit GSM ergibt sich dadurch ein Schätzwert von $-9,6702$, für die Exposition mit UMTS ein Schätzwert von $10,5225$.

Die Mittelwerte der IgG-Konzentrationen mit Standardfehler sind in Tabelle 5 aufgeführt.

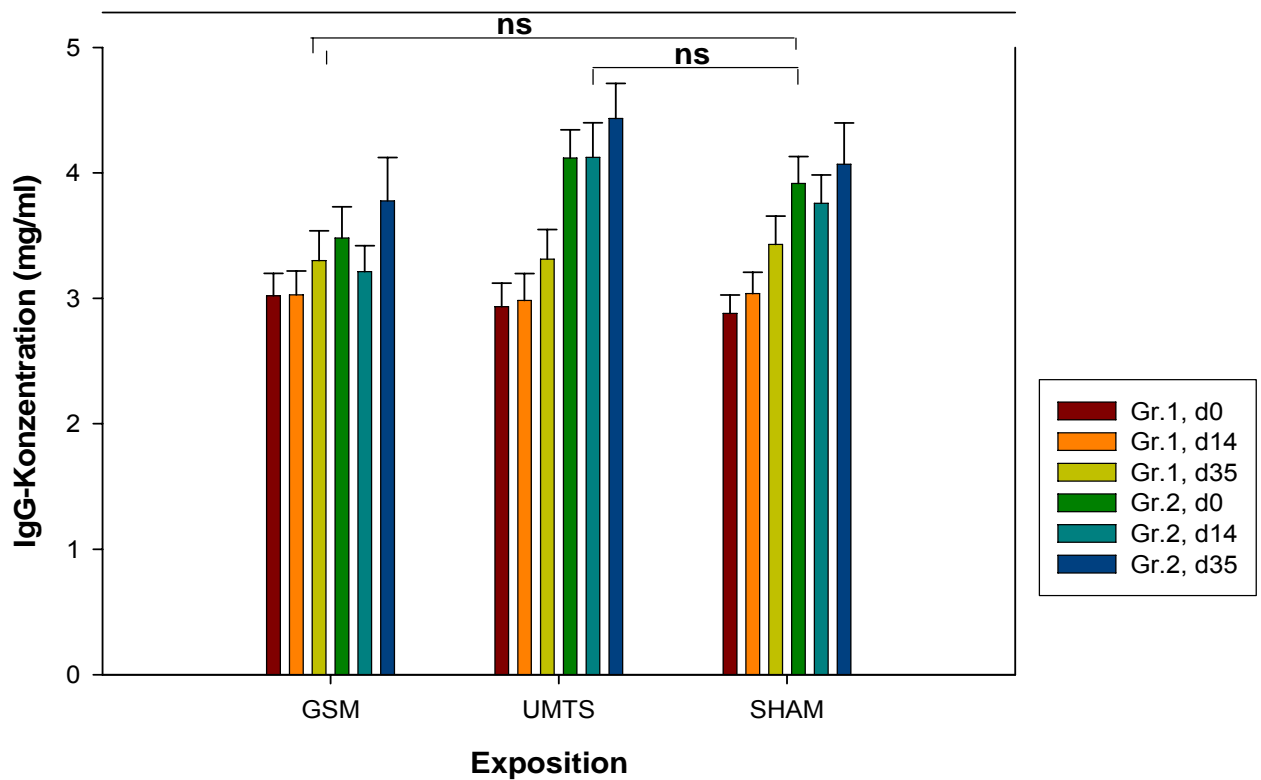


Abb. 2: Einfluss der Exposition auf die Gesamt IgG-Konzentration der Generation F0a. Anordnung der Balken: GSM, UMTS und SHAM jeweils von links nach rechts Gr.1 d0, Gr.1 d14, Gr.1 d35, Gr.2 d0, Gr.2 d14, Gr.2 d35. Mittelwert \pm SEM, n=14 Ratten (F0a-Gr.1 GSM und UMTS), n=18 Ratten (F0a-Gr.1 SHAM), n=9 Ratten (F0a-Gr.2 GSM), n=12 Ratten (F0a-Gr.2 UMTS), n=17 Ratten (F0a-Gr.2 SHAM), nicht signifikant (ns), Bestrahlungsdauer ~10 Monate.

Tab. 5: IgG-Konzentrationen der Generation F0a (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	14	3,02 \pm 0,18	3,03 \pm 0,19	3,30 \pm 0,24	9	3,48 \pm 0,25	3,21 \pm 0,21	3,78 \pm 0,34
UMTS	14	2,93 \pm 0,19	2,98 \pm 0,21	3,31 \pm 0,24	12	4,12 \pm 0,22	4,12 \pm 0,27	4,43 \pm 0,28
SHAM	18	2,88 \pm 0,15	3,04 \pm 0,17	3,43 \pm 0,23	17	3,92 \pm 0,21	3,76 \pm 0,23	4,07 \pm 0,33

1.1.2. Generation F0b

In der Generation F0b gibt es sowohl einen signifikanten Einfluss der Zeit ($p < 0,0001$) als auch der Gruppe ($p = 0,002$). Ein Einfluss der Expositionsart auf die IgG-Konzentration im Blut der Versuchstiere ist wiederum nicht erkennbar ($p = 0,93$) (s. Abb. 3).

Der Schätzwert der Gruppe eins liegt bei 33,5043, wenn Gruppe zwei die Basis darstellt. An Tag 0 beträgt der Schätzwert -107,55, an Tag 14 -72,0952. Im Vergleich zur Kontrollgruppe liegt der Schätzwert der GSM-Exposition bei -3,6289 und ist damit nicht signifikant niedriger ($p = 0,78$). Der Schätzwert der UMTS-Exposition liegt bei -5,0124 und ist auch nicht signifikant niedriger ($p = 0,71$).

Die einzelnen Mittelwerte der IgG-Konzentrationen mit Standardfehler sind Tabelle 6 zu entnehmen.

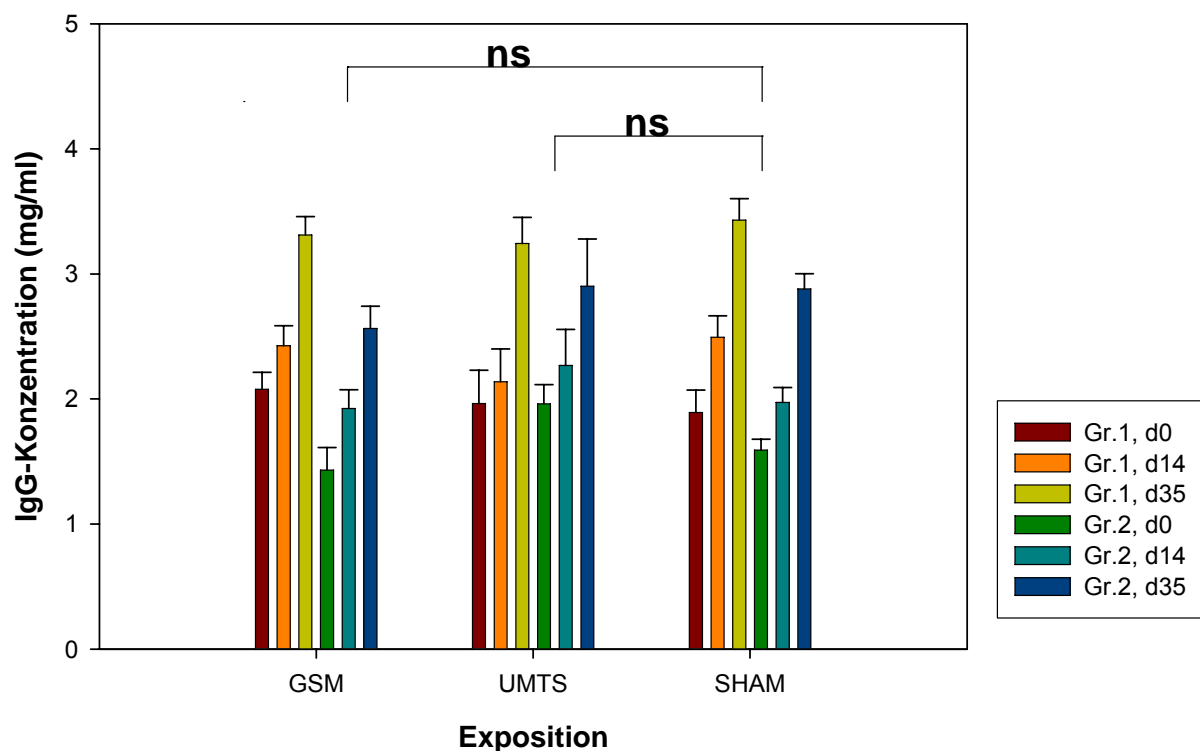


Abb. 3: Einfluss der Exposition auf die Gesamt IgG-Konzentration der Generation F0b. Anordnung der Balken: GSM, UMTS und SHAM jeweils von links nach rechts Gr.1 d0, Gr.1 d14, Gr.1 d35, Gr.2 d0, Gr.2 d14, Gr.2 d35. Mittelwert \pm SEM, $n=15$ Ratten (F0b-Gr.1 GSM und SHAM), $n=13$ Ratten (F0b-Gr.1 UMTS), $n=12$ Ratten (F0b-Gr.2 GSM), $n=11$ Ratten (F0b-Gr.2 UMTS), $n=18$ Ratten (F0b-Gr.2 SHAM), nicht signifikant (ns), Bestrahlungsdauer ~ 4 Monate.

Tab. 6: IgG-Konzentrationen der Generation F0b (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	15	2,08 \pm 0,13	2,43 \pm 0,16	3,31 \pm 0,15	12	1,43 \pm 0,18	1,92 \pm 0,15	2,56 \pm 0,18
UMTS	13	1,96 \pm 0,27	2,14 \pm 0,26	3,24 \pm 0,21	11	1,96 \pm 0,15	2,27 \pm 0,29	2,90 \pm 0,38
SHAM	15	1,89 \pm 0,18	2,50 \pm 0,17	3,43 \pm 0,17	18	1,59 \pm 0,09	1,97 \pm 0,12	2,88 \pm 0,12

1.1.3. Generation F2

In der Generation F2 ist ein Einfluss der Zeit nachweisbar ($p < 0,0001$). Ein Unterschied zwischen den Gruppen besteht nicht ($p = 0,61$). Außerdem gibt es einen möglichen Einfluss aufgrund der Exposition ($p = 0,04$) (s. Abb. 4).

Der Schätzwert für Tag 0 beträgt -145,58, der für Tag 14 -97,4048. Beide sind signifikant niedriger als der Vergleichswert Tag 35 ($p < 0,0001$).

Der Schätzwert für die GSM-Exposition liegt bei 35,9524 und ist gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht ($p = 0,04$). Nicht signifikant verhält sich jedoch die Differenz zwischen Tag 0 und Tag 35 der GSM-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe: diese beträgt bei der GSM-Gruppe 1,01 ng/ml (Differenz zwischen Tag 35 und Tag 0) und bei der Kontrollgruppe 1,09 ng/ml.

Der Schätzwert für die UMTS-Exposition liegt bei -4,4643 und ist gegenüber der Kontrollgruppe nicht signifikant verändert ($p = 0,80$).

Die Mittelwerte der IgG-Konzentrationen mit Standardfehler sind in Tabelle 7 ersichtlich.

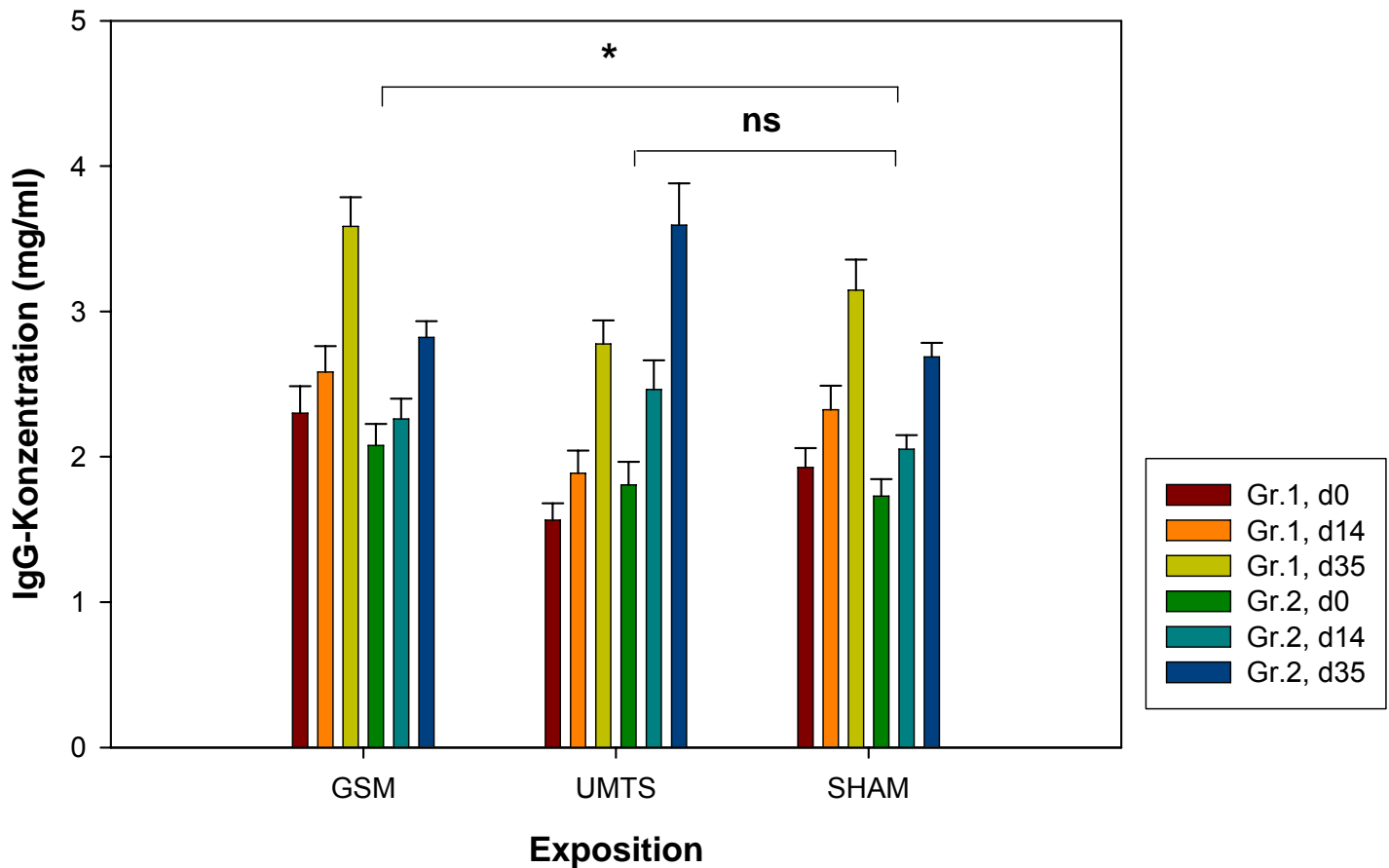


Abb. 4: Einfluss der Exposition auf die Gesamt IgG-Konzentration der Generation F2. Anordnung der Balken: GSM, UMTS und SHAM jeweils von links nach rechts Gr.1 d0, Gr.1 d14, Gr.1 d35, Gr.2 d0, Gr.2 d14, Gr.2 d35. Mittelwert \pm SEM, n=21 Ratten, nicht signifikant (ns), $p < 0,05$ (*), Bestrahlungsdauer \sim 5 Monate.

Tab. 7: IgG-Konzentrationen der Generation F2 (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	21	2,30 \pm 0,19	2,58 \pm 0,18	3,59 \pm 0,20	21	2,08 \pm 0,15	2,26 \pm 0,14	2,82 \pm 0,11
UMTS	21	1,56 \pm 0,12	1,89 \pm 0,16	2,78 \pm 0,16	21	1,81 \pm 0,16	2,46 \pm 0,20	3,59 \pm 0,29
SHAM	21	1,93 \pm 0,13	2,32 \pm 0,17	3,15 \pm 0,21	21	1,73 \pm 0,12	2,05 \pm 0,10	2,69 \pm 0,10

1.2. Einfluss von Zeit und Gruppe

Die Gesamt IgG-Konzentrationen steigen in den Generationen von Tag 0 über Tag 14 bis Tag 35 signifikant an (F0a, F0b und F2 $p < 0,0001$). Sowohl die Gruppen der Generation F0a unterscheiden sich signifikant ($p < 0,0001$), als auch die der Generation F0b ($p = 0,002$). Die Gruppen der Generation F2 unterscheiden sich nicht ($p = 0,61$) (s. Abb. 5, 6 und 7). Die einzelnen Mittelwerte mit Standardfehler sind den Tabellen 8, 9 und 10 zu entnehmen.

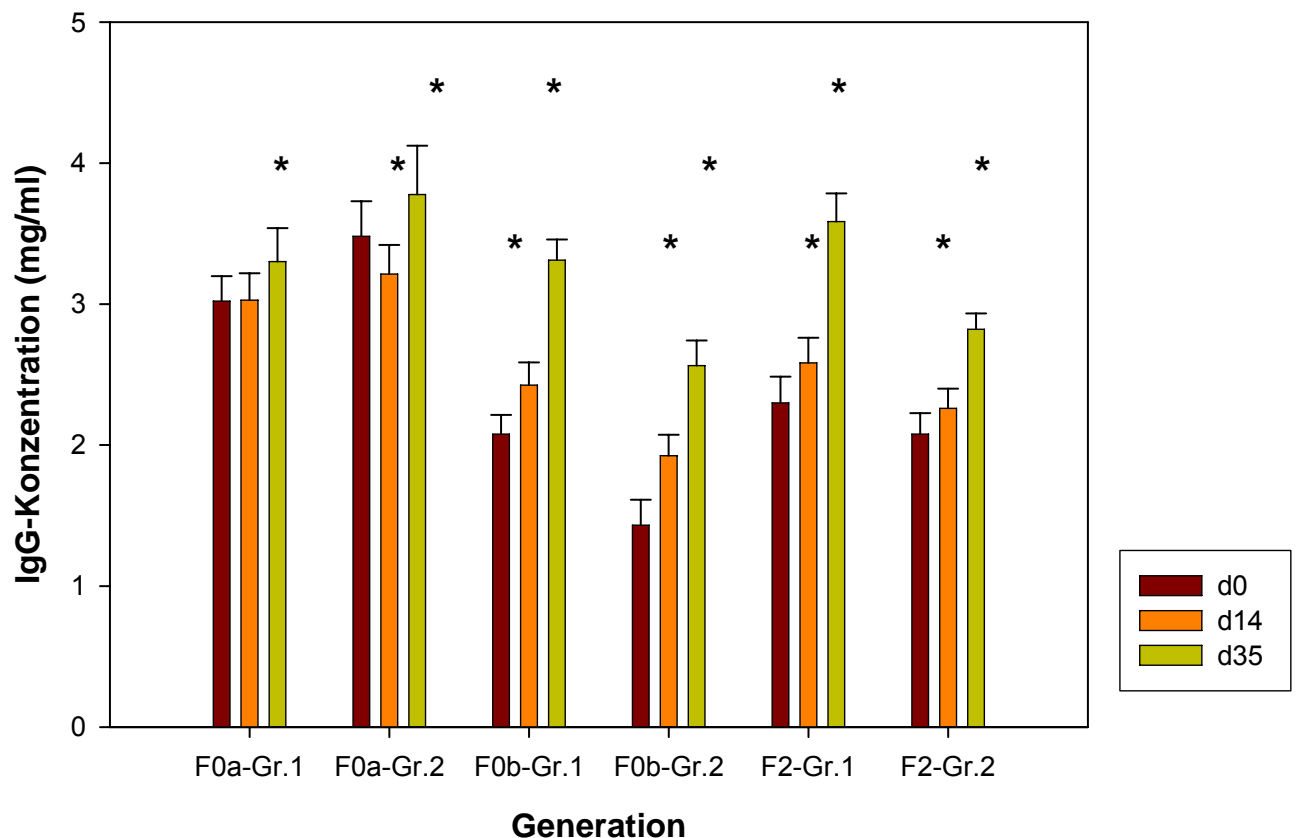


Abb. 5: Gesamt IgG-Konzentrationen der einzelnen Generationen und Gruppen unter GSM-Exposition an Tag 0 (rot), Tag 14 (orange) und Tag 35 (gelb). Mittelwert \pm SEM, $n = 14$ Ratten (F0a-Gr.1), $n = 9$ Ratten (F0a-Gr.2), $n = 15$ Ratten (F0b-Gr.1), $n = 12$ Ratten (F0b-Gr.2), $n = 21$ Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, * = signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert ($p < 0,0001$).

Tab. 8: IgG-Konzentrationen unter GSM-Exposition (Mittelwerte \pm SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	14	9	15	12	21	21
d0	3,02 \pm 0,18	3,48 \pm 0,25	2,08 \pm 0,13	1,43 \pm 0,18	2,30 \pm 0,19	2,08 \pm 0,15
d14	3,03 \pm 0,19	3,21 \pm 0,21	2,43 \pm 0,16	1,92 \pm 0,15	2,58 \pm 0,18	2,26 \pm 0,14
d35	3,30 \pm 0,24	3,78 \pm 0,34	3,31 \pm 0,15	2,56 \pm 0,18	3,59 \pm 0,20	2,82 \pm 0,11

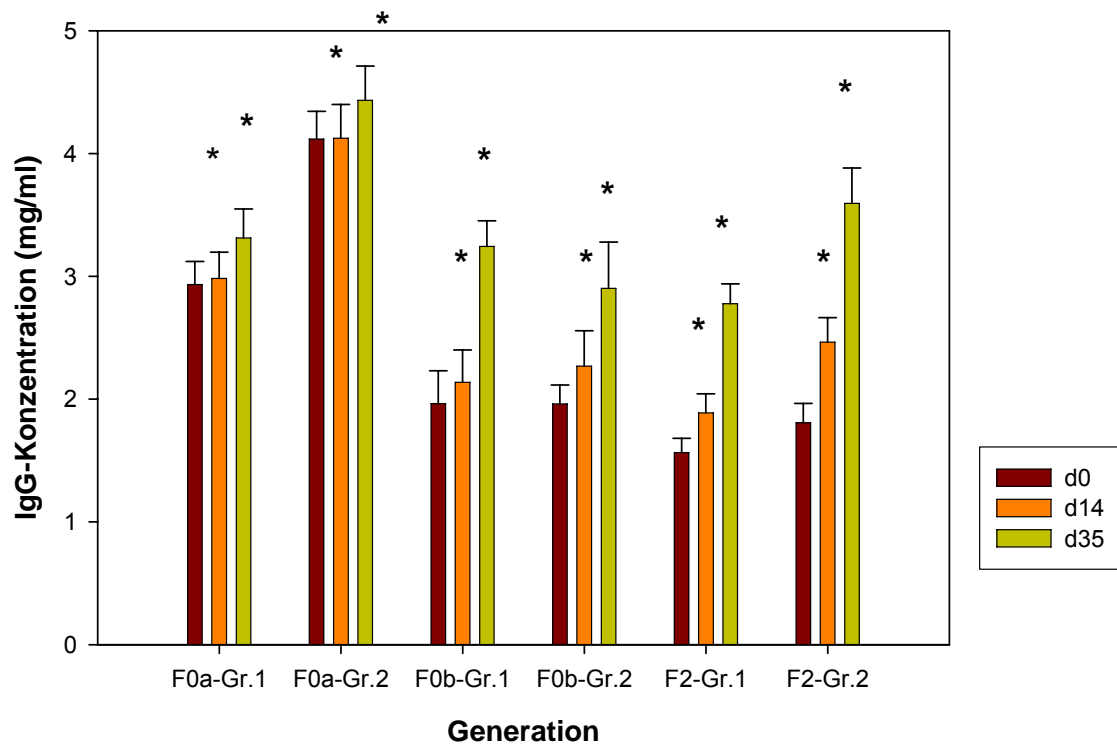


Abb. 6: Gesamt IgG-Konzentrationen der einzelnen Generationen und Gruppen unter UMTS-Exposition an Tag 0 (rot), Tag 14 (orange) und Tag 35 (gelb). Mittelwert \pm SEM, n=14 Ratten (F0a-Gr.1), n=12 Ratten (F0a-Gr.2), n=13 Ratten (F0b-Gr.1), n=11 Ratten (F0b-Gr.2), n=21 Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert (p<0,0001).

Tab. 9: IgG-Konzentrationen unter UMTS-Exposition (Mittelwerte \pm SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	14	12	13	11	21	21
d0	2,93 \pm 0,19	4,12 \pm 0,22	1,96 \pm 0,27	1,96 \pm 0,15	1,56 \pm 0,12	1,81 \pm 0,16
d14	2,98 \pm 0,21	4,12 \pm 0,27	2,14 \pm 0,26	2,27 \pm 0,29	1,89 \pm 0,16	2,46 \pm 0,20
d35	3,31 \pm 0,24	4,43 \pm 0,28	3,24 \pm 0,21	2,90 \pm 0,38	2,78 \pm 0,16	3,59 \pm 0,29

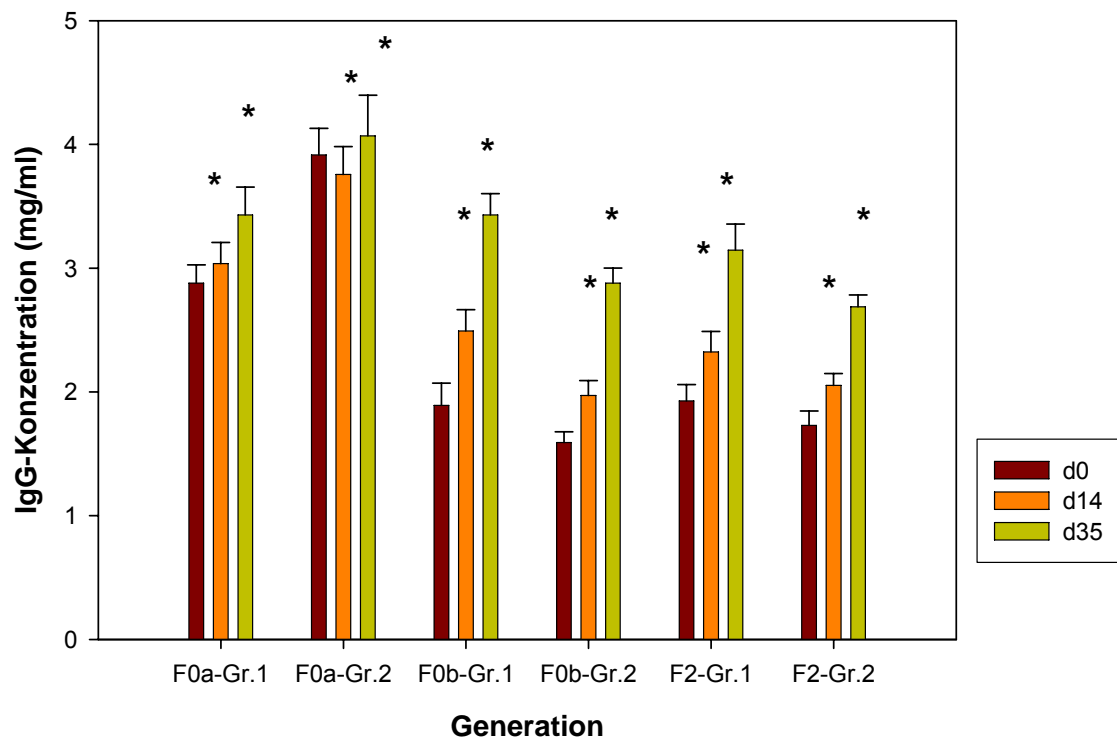


Abb. 7: Gesamt IgG-Konzentrationen der einzelnen Generationen und Gruppen unter Scheinexposition an Tag 0 (rot), Tag 14 (orange) und Tag 35 (gelb). Mittelwert \pm SEM, n=18 Ratten (F0a-Gr.1), n=17 Ratten (F0a-Gr.2), n=15 Ratten (F0b-Gr.1), n=18 Ratten (F0b-Gr.2), n=21 Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert (p<0,0001).

Tab. 10: IgG-Konzentrationen unter Scheinexposition (Mittelwerte \pm SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	18	17	15	18	21	21
d0	2,88 \pm 0,15	3,92 \pm 0,21	1,89 \pm 0,18	1,59 \pm 0,88	1,93 \pm 0,13	1,73 \pm 0,12
d14	3,04 \pm 0,17	3,76 \pm 0,23	2,50 \pm 0,17	1,97 \pm 0,12	2,32 \pm 0,17	2,05 \pm 0,97
d35	3,43 \pm 0,23	4,07 \pm 0,33	3,43 \pm 0,17	2,88 \pm 0,12	3,15 \pm 0,21	2,69 \pm 0,97

2. Ergebnisse anti Huhn IgY

2.1. Einfluss der Exposition

2.1.1. Generation F0a

In der am längsten exponierten Generation F0a ist kein Einfluss der Exposition auf die Produktion von Antikörpern gegen das Antigen Huhn IgY nachweisbar ($p=0,66$) (s. Abb. 8).

Der Schätzwert der GSM-Exposition liegt bei -4,8189. Gegenüber der Kontrollgruppe gibt es keinen signifikanten Unterschied ($p=0,39$). Für die UMTS-Exposition liegt der Schätzwert bei -3,9821. Auch dieser weist keinen signifikanten Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe auf ($p=0,46$).

In Tabelle 11 sind die Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler ersichtlich.

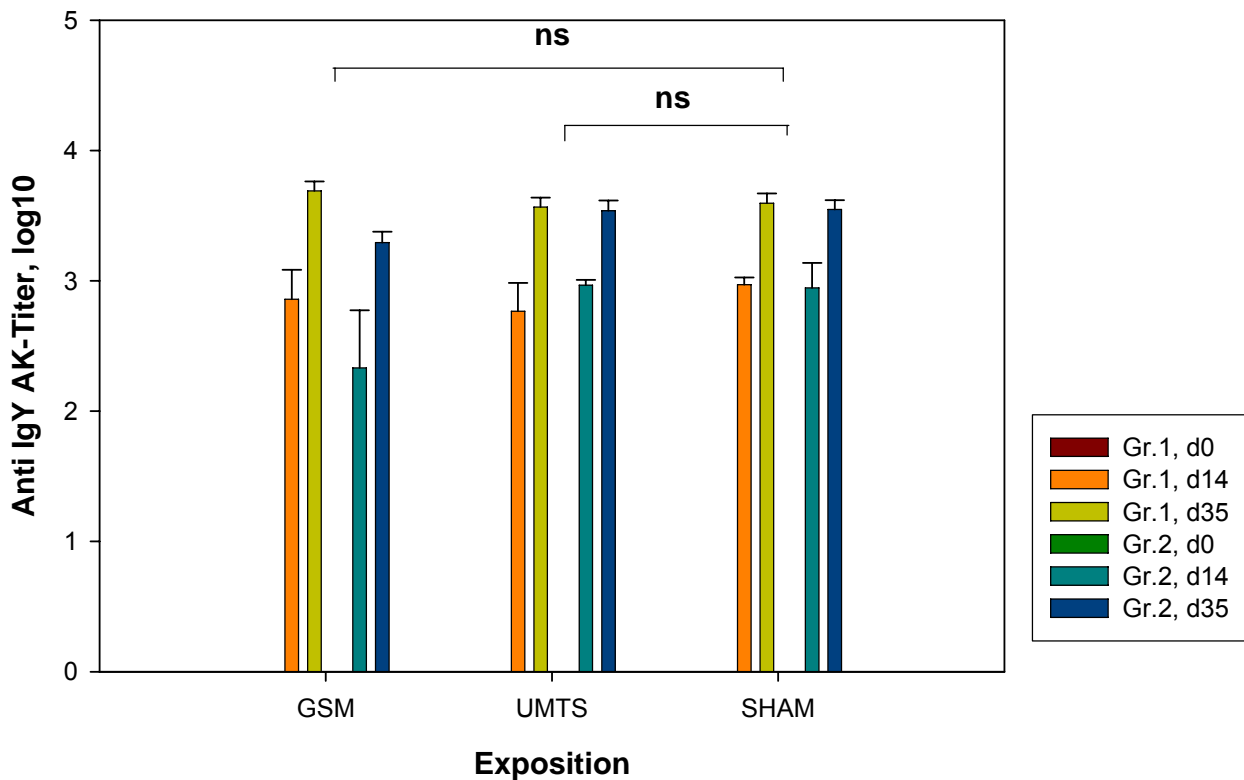


Abb. 8: Einfluss der Exposition auf den Anti IgY AK-Titer (log10) der Generation F0a. Mittelwert \pm SEM, n=14 Ratten (F0a-Gr.1 GSM und UMTS), n=18 Ratten (F0a-Gr.1 SHAM), n=9 Ratten (F0a-Gr.2 GSM), n=12 Ratten (F0a-Gr.2 UMTS), n=17 Ratten (F0a-Gr.2 SHAM), nicht signifikant (ns), an Tag 0 jeweils keine Titer messbar.

Tab. 11: Anti IgY AK-Titer (log10) der Generation F0a (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	14	-	2,86 \pm 0,23	3,69 \pm 0,07	9	-	2,33 \pm 0,44	3,29 \pm 0,08
UMTS	14	-	2,77 \pm 0,22	3,57 \pm 0,07	12	-	2,97 \pm 0,04	3,54 \pm 0,08
SHAM	18	-	2,97 \pm 0,05	3,60 \pm 0,08	17	-	2,95 \pm 0,19	3,55 \pm 0,07

2.1.2. Generation F0b

Auch in der Generation F0b ist kein Einfluss der Exposition auf die Antikörperproduktion erkennbar ($p=0,95$) (s. Abb. 9).

Der Schätzwert der GSM-Exposition liegt bei $-1,6577$. Er ist gegenüber der Kontrollgruppe nicht signifikant verändert ($p=0,75$). Der Schätzwert der UMTS-Exposition liegt bei $-1,1497$ und ist ebenso gegenüber der Kontrollgruppe nicht signifikant verändert ($p=0,83$).

Aus Tabelle 12 sind die Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler zu entnehmen.

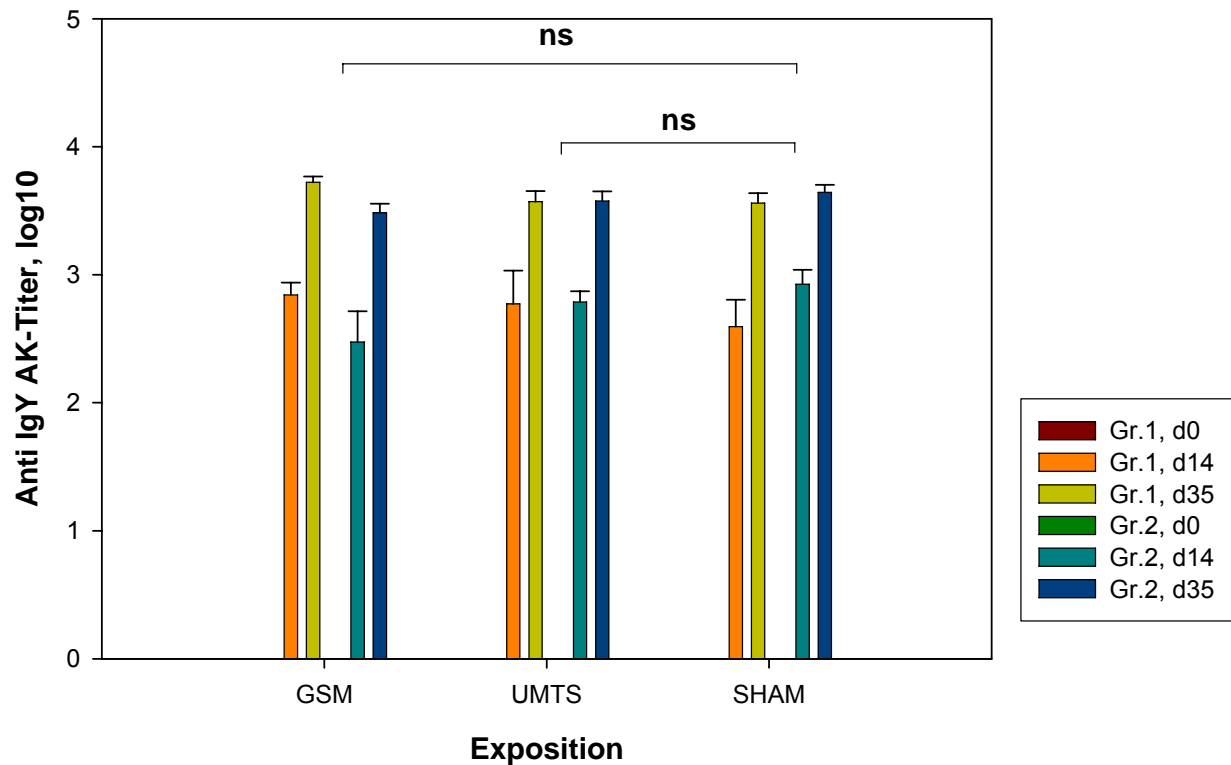


Abb. 9: Einfluss der Exposition auf den Anti IgY AK-Titer (\log_{10}) der Generation F0b. Mittelwert \pm SEM, $n=15$ Ratten (F0b-Gr.1 GSM und SHAM), $n=13$ Ratten (F0b-Gr.1 UMTS), $n=12$ Ratten (F0b-Gr.2 GSM), $n=11$ Ratten (F0b-Gr.2 UMTS), $n=18$ Ratten (F0b-Gr.2 SHAM), nicht signifikant (ns), an Tag 0 jeweils keine Titer messbar.

Tab. 12: Anti IgY AK-Titer (log10) der Generation F0b (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	15	-	2,84 \pm 0,10	3,72 \pm 0,05	12	-	2,47 \pm 0,24	3,48 \pm 0,07
UMTS	13	-	2,77 \pm 0,26	3,57 \pm 0,08	11	-	2,79 \pm 0,08	3,58 \pm 0,07
SHAM	15	-	2,59 \pm 0,21	3,56 \pm 0,08	18	-	2,93 \pm 0,11	3,64 \pm 0,06

2.1.3. Generation F2

Bei der Betrachtung eines möglichen Einflusses der Exposition ist in der Generation F2 keine Signifikanz, jedoch eine Tendenz zu erkennen ($p=0,05$) (s. Abb. 10).

Der Schätzwert der GSM-Exposition liegt bei -18,1508. Er ist gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt ($p=0,02$). Der Schätzwert der UMTS-Generation liegt bei -8,4802. Dieser ist gegenüber der Kontrollgruppe nicht signifikant verändert ($p=0,25$).

In Tabelle 13 sind die Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler dargestellt.

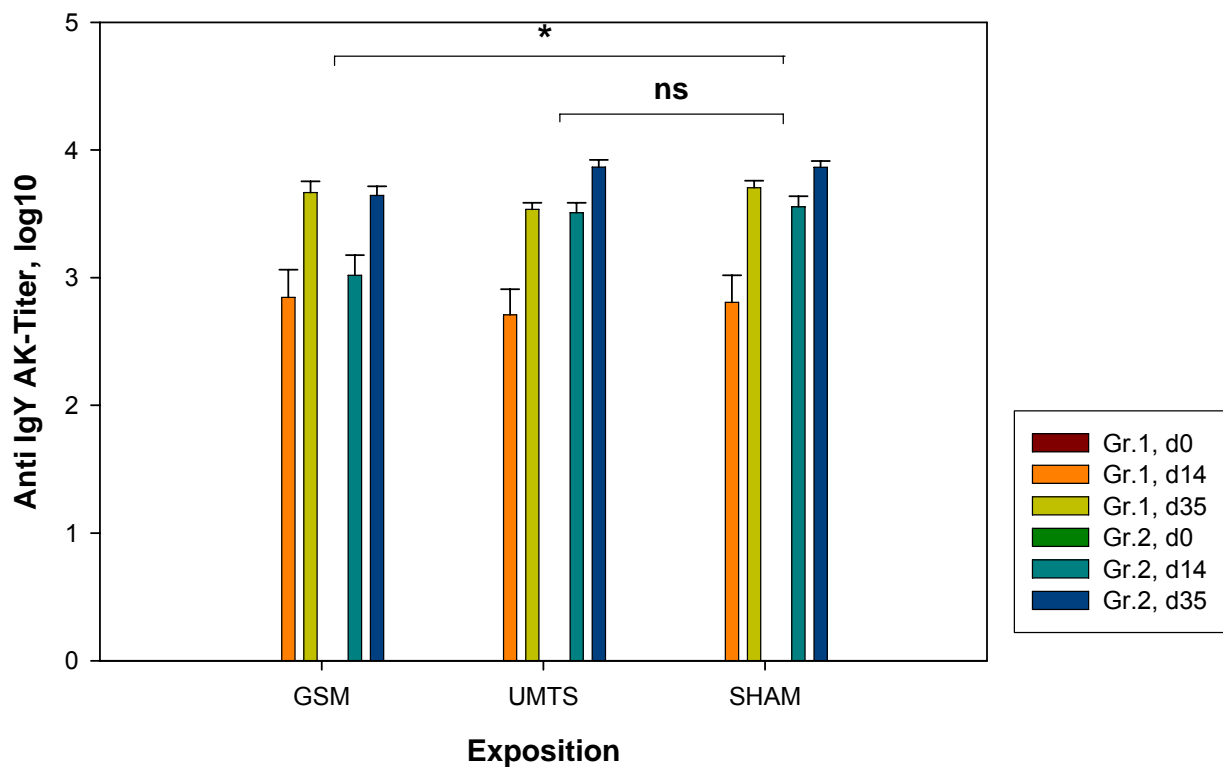


Abb. 10: Einfluss der Exposition auf den Anti IgY AK-Titer (log10) der Generation F2. Mittelwert \pm SEM, n=21 Ratten, nicht signifikant (ns), $p < 0,05$ (*), an Tag 0 jeweils keine Titer messbar.

Tab. 13: Anti IgY AK-Titer (log10) der Generation F2 (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	21	-	2,85 \pm 0,22	3,67 \pm 0,09	21	-	3,02 \pm 0,16	3,64 \pm 0,07
UMTS	21	-	2,71 \pm 0,20	3,54 \pm 0,05	21	-	3,51 \pm 0,08	3,87 \pm 0,06
SHAM	21	-	2,81 \pm 0,21	3,71 \pm 0,05	21	-	3,56 \pm 0,08	3,86 \pm 0,05

2.2. Einfluss von Zeit und Gruppe

Wie in Abb. 11, 12 und 13 ersichtlich, sind an Tag 0 in keiner Generation und in keiner Gruppe Antikörper gegen das Antigen Huhn IgY im Blut der Versuchstiere messbar.

In allen drei Generationen ist ein signifikanter Anstieg der Antikörpertiter von Tag 0 über Tag 14 zu Tag 35 nachweisbar ($p < 0,0001$). Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen besteht nur in der Generation F2 ($p < 0,0001$).

In der Generation F2 liegt der Schätzwert der Gruppe 1 bei -31,8095 und unterscheidet sich damit signifikant von der Gruppe zwei ($p < 0,0001$).

Die Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler sind in den Tabellen 14, 15 und 16 aufgeführt.

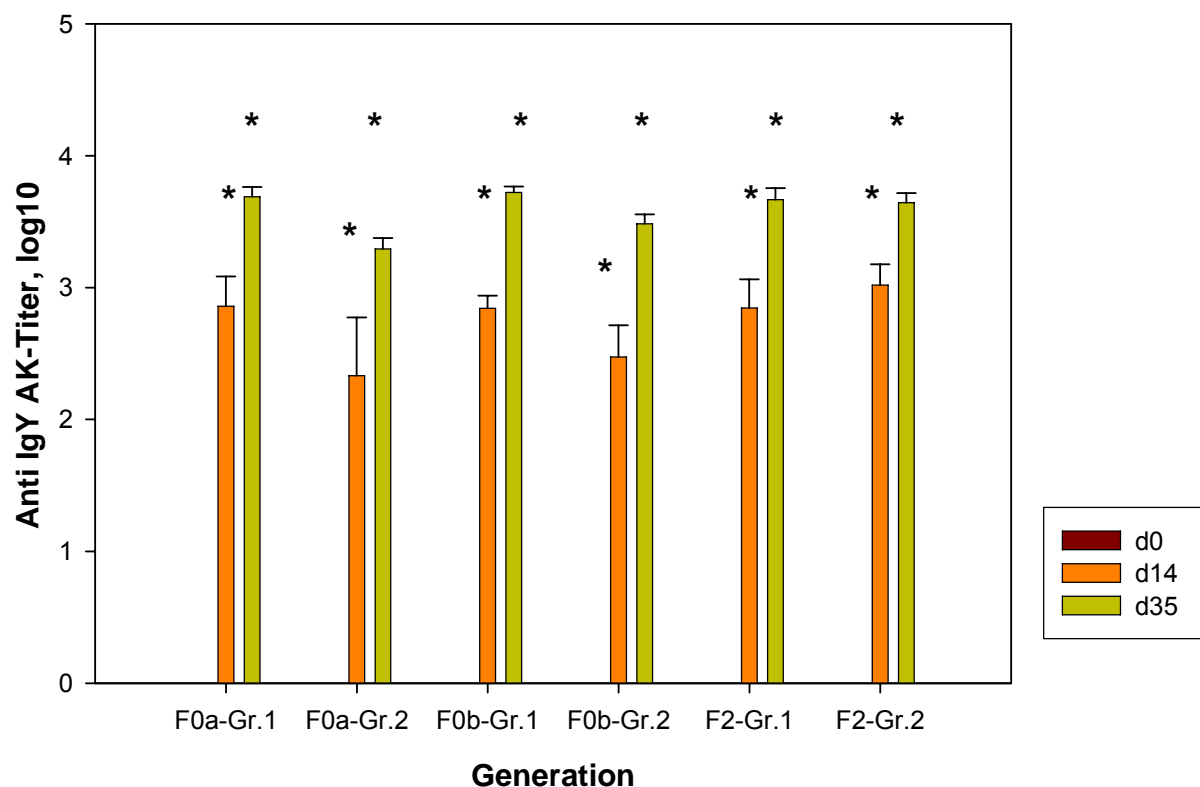


Abb. 11: Anti IgY AK-Titer (log10) der einzelnen Generationen und Gruppen unter GSM-Exposition an Tag 0 (rot) (keine Titer messbar), Tag 14 (orange) und Tag 35 (gelb). Mittelwert \pm SEM, $n=14$ Ratten (F0a-Gr.1), $n=9$ Ratten (F0a-Gr.2), $n=15$ Ratten (F0b-Gr.1), $n=12$ Ratten (F0b-Gr.2), $n=21$ Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert ($p < 0,0001$).

Tab. 14: Anti IgY AK-Titer (log₁₀) unter GSM-Exposition (Mittelwerte ± SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	14	9	15	12	21	21
d0	-	-	-	-	-	-
d14	2,86±0,23	2,33±0,44	2,84±0,09	2,47±0,24	2,85±0,22	3,02±0,16
d35	3,69±0,07	3,29±0,08	3,72±0,05	3,48±0,07	3,67±0,09	3,64±0,07

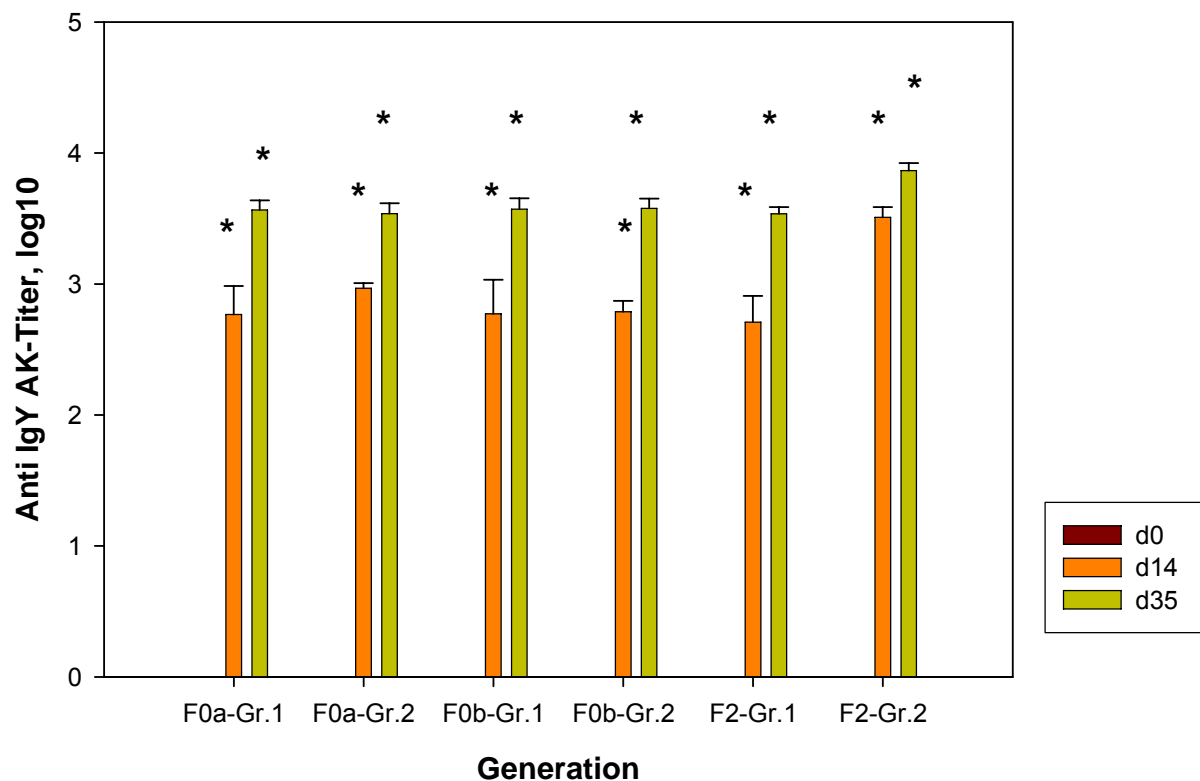


Abb. 12: Anti IgY AK-Titer (log₁₀) der einzelnen Generationen und Gruppen unter UMTS-Exposition an Tag 0 (rot) (keine Titer messbar), Tag 14 (orange) und Tag 35 (gelb). Mittelwert ± SEM, n=14 Ratten (F0a-Gr.1), n=12 Ratten (F0a-Gr.2), n=13 Ratten (F0b-Gr.1), n=11 Ratten (F0b-Gr.2), n=21 Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert (p<0,0001).

Tab. 15: Anti IgY AK-Titer (log₁₀) unter UMTS-Exposition (Mittelwerte ± SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	14	12	13	11	21	21
d0	-	-	-	-	-	-
d14	2,77±0,22	2,97±0,04	2,77±0,26	2,79±0,08	2,71±0,20	3,51±0,08
d35	3,57±0,07	3,54±0,08	3,57±0,08	3,58±0,07	3,54±0,05	3,87±0,06

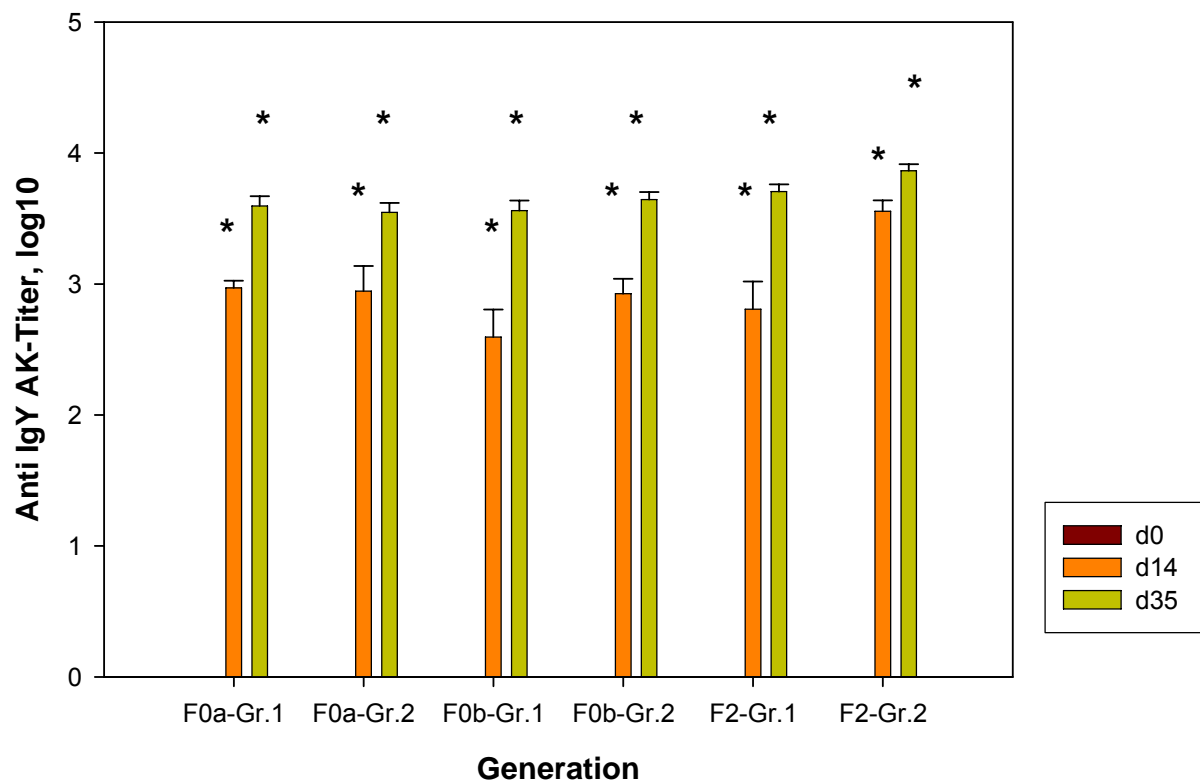


Abb. 13: Anti IgY AK-Titer (log₁₀) der einzelnen Generationen und Gruppen unter Scheinexposition an Tag 0 (rot) (keine Titer messbar), Tag 14 (orange) und Tag 35 (gelb). Mittelwert ± SEM, n=18 Ratten (F0a-Gr.1), n=17 Ratten (F0a-Gr.2), n=15 Ratten (F0b-Gr.1), n=18 Ratten (F0b-Gr.2), n=21 Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert (p<0,0001).

Tab. 16: Anti IgY AK-Titer (log10) unter Scheinexposition (Mittelwerte \pm SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	18	17	15	18	21	21
d0	-	-	-	-	-	-
d14	2,97 \pm 0,05	2,95 \pm 0,19	2,59 \pm 0,21	2,93 \pm 0,11	2,81 \pm 0,21	3,56 \pm 0,08
d35	3,60 \pm 0,08	3,55 \pm 0,07	3,56 \pm 0,08	3,64 \pm 0,06	3,71 \pm 0,05	3,86 \pm 0,05

3. Ergebnisse anti OVA

3.1. Einfluss der Exposition

3.1.1. Generation F0a

In der Generation F0a ist kein Einfluss der Exposition auf die Produktion von Anti OVA-Antikörpern feststellbar ($p=0,69$) (s. Abb. 14).

Der Schätzwert der GSM-Exposition ist 0,7981. Es liegt kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe vor ($p=0,87$). Der Schätzwert der UMTS-Exposition liegt bei 3,9267. Auch hier gibt es keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe ($p=0,40$).

Die einzelnen Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler sind in Tabelle 17 dargestellt.

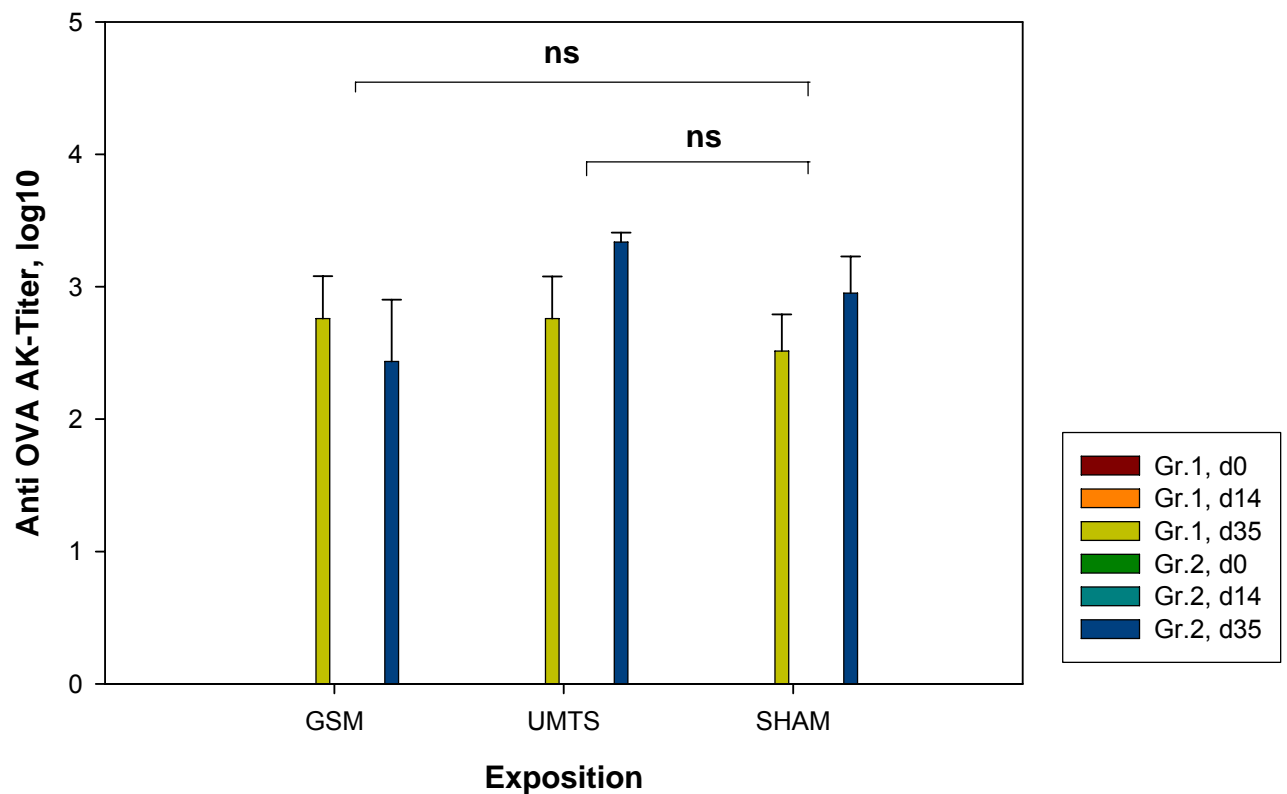


Abb. 14: Einfluss der Exposition auf den Anti OVA AK-Titer (log₁₀) der Generation F0a. Mittelwert ± SEM, n=14 Ratten (F0a-Gr.1 GSM und UMTS), n=18 Ratten (F0a-Gr.1 SHAM), n=9 Ratten (F0a-Gr.2 GSM), n=12 Ratten (F0a-Gr.2 UMTS), n=17 Ratten (F0a-Gr.2 SHAM), nicht signifikant (ns), an Tag 0 und Tag 14 jeweils keine Titer messbar.

Tab. 17: Anti OVA AK-Titer (log₁₀) der Generation F0a (Mittelwerte ± SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	14	-	-	2,76±0,32	9	-	-	2,44±0,47
UMTS	14	-	-	2,76±0,32	12	-	-	3,34±0,07
SHAM	18	-	-	2,51±0,28	17	-	-	2,95±0,28

3.1.2. Generation F0b

Auch in der Generation F0b ist kein signifikanter Einfluss der Exposition auf die Fähigkeit, Antikörper gegen das Antigen OVA zu bilden, feststellbar ($p=0,23$) (s. Abb. 15).

Hier liegt der Schätzwert für die GSM-Exposition bei $-0,6278$, es liegt kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe vor ($p=0,85$). Der Schätzwert der UMTS-Exposition liegt bei $-5,3376$ und auch hier gibt es keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe ($p=0,12$).

In Tabelle 18 sind die Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler aufgeführt.

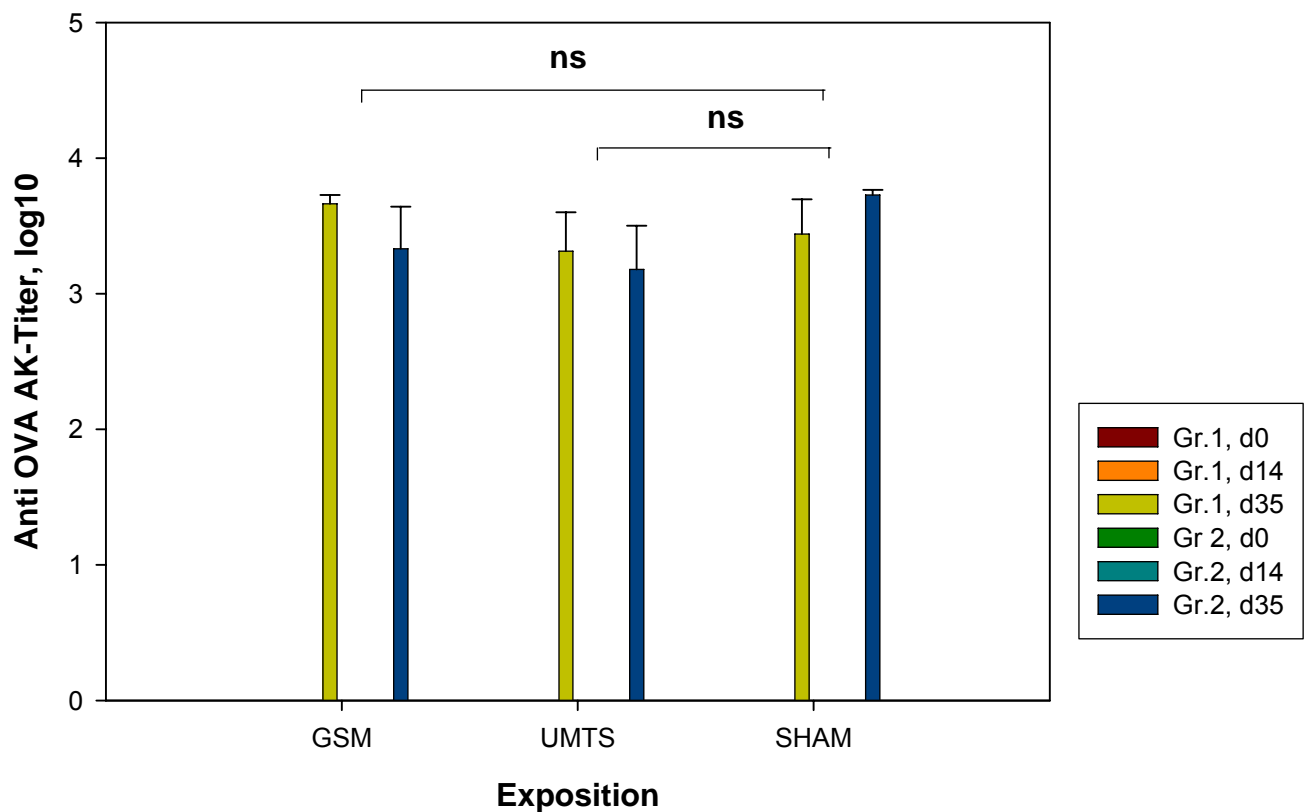


Abb. 15: Einfluss der Exposition auf den Anti OVA AK-Titer (\log_{10}) der Generation F0b. Mittelwert \pm SEM, $n=15$ Ratten (F0b-Gr.1 GSM und SHAM), $n=13$ Ratten (F0b-Gr.1 UMTS), $n=12$ Ratten (F0b-Gr.2 GSM), $n=11$ Ratten (F0b-Gr.2 UMTS), $n=18$ Ratten (F0b-Gr.2 SHAM), nicht signifikant (ns), an Tag 0 und Tag 14 jeweils keine Titer messbar.

Tab. 18: Anti OVA AK-Titer (log10) der Generation F0b (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	15	-	-	3,66 \pm 0,07	12			3,33 \pm 0,31
UMTS	13	-	-	3,31 \pm 0,29	11			3,18 \pm 0,32
SHAM	15	-	-	3,44 \pm 0,26	18		-	3,73 \pm 0,04

3.1.3. Generation F2

In der Generation F2 ist wiederum kein signifikanter Einfluss der Exposition auf den Anti OVA AK-Titer im Blut der Versuchstiere nachweisbar ($p=0,14$). Allerdings ist bei der GSM-Exposition keine Signifikanz, jedoch eine Tendenz zu erkennen ($p=0,05$) (s. Abb. 16). Hier liegt der Schätzwert bei -5,6230. Bei der UMTS-Exposition liegt er bei -3,6151 und unterscheidet sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe ($p=0,21$).

Die Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler sind Tabelle 19 zu entnehmen.

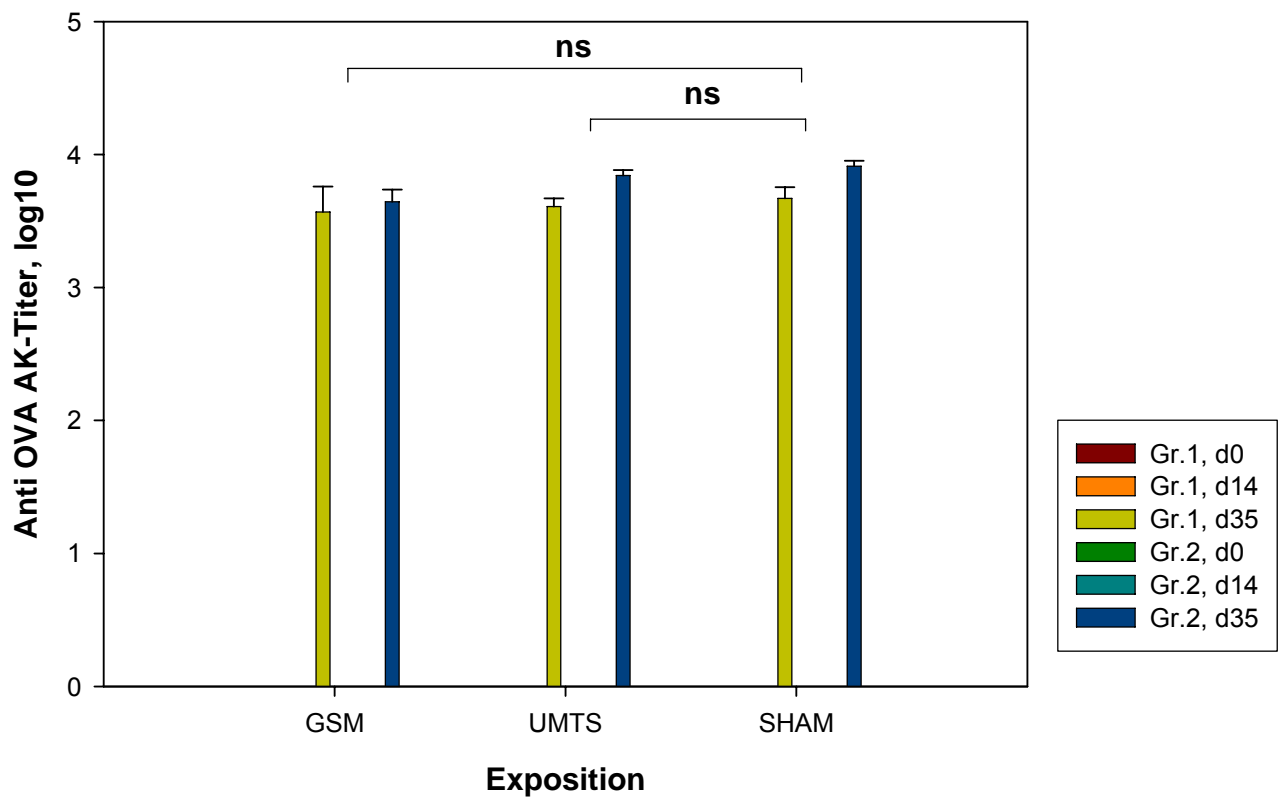


Abb. 16: Einfluss der Exposition auf den Anti OVA AK-Titer (log10) der Generation F2. Mittelwert \pm SEM, n=21 Ratten, nicht signifikant (ns), an Tag 0 und Tag 14 jeweils keine Titer messbar.

Tab. 19: Anti OVA AK-Titer (log10) der Generation F2 (Mittelwerte \pm SEM)

	Gruppe 1				Gruppe 2			
	n	d0	d14	d35	n	d0	d14	d35
GSM	21	-	-	3,57 \pm 0,19	21	-	-	3,64 \pm 0,09
UMTS	21	-	-	3,61 \pm 0,06	21	-	-	3,84 \pm 0,04
SHAM	21	-	-	3,67 \pm 0,08	21	-	-	3,91 \pm 0,04

3.2. Einfluss von Zeit und Gruppe

Bei der Messung der anti OVA AK-Titer im Blut der Versuchstiere sind sowohl an Tag 0 als auch an Tag 14 in keiner Generation und in keiner Gruppe Antikörper nachweisbar. Dies ist in den Abbildungen 17, 18 und 19 dargestellt.

In allen Generationen gibt es einen signifikanten Titeranstieg an Tag 35 ($p < 0,0001$). Sowohl in der Generation F0a ($p = 0,36$) als auch in der Generation F0b ($p = 0,80$) unterscheiden sich die Gruppen nicht signifikant. Dahingegen gibt es in der Generation F2 einen signifikanten Gruppenunterschied ($p = 0,004$).

Der Schätzwert der Gruppe eins liegt bei -6,6772. Er ist signifikant niedriger als der der Gruppe zwei ($p = 0,005$).

Die einzelnen Mittelwerte der Antikörpertiter mit Standardfehler sind in den Tabellen 20, 21 und 22 ersichtlich.

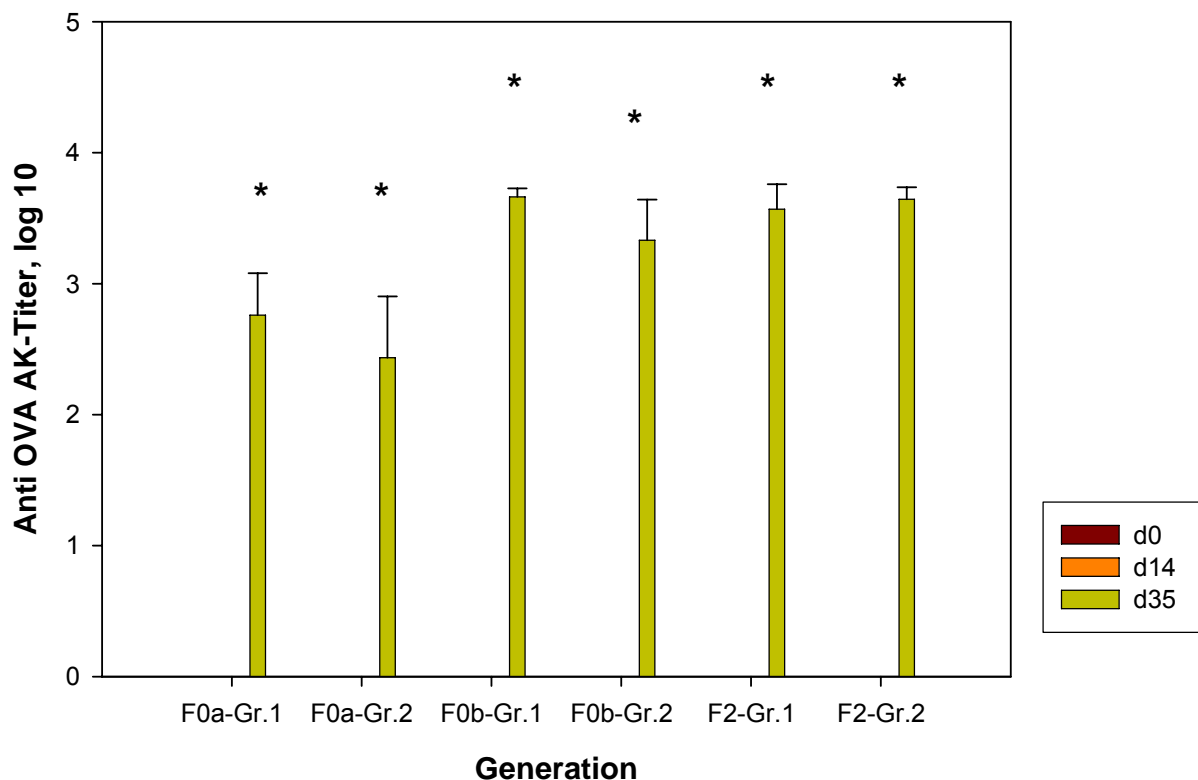


Abb. 17: Anti OVA AK-Titer (log10) der einzelnen Generationen und Gruppen unter GSM-Exposition an Tag 0 (rot), Tag 14 (orange) (an Tag 0 und Tag 14 jeweils keine Titer messbar) und Tag 35 (gelb). Mittelwert \pm SEM, n=14 Ratten (F0a-Gr.1), n=9 Ratten (F0a-Gr.2), n=15 Ratten (F0b-Gr.1), n=12 Ratten (F0b-Gr.2), n=21 Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert ($p < 0,0001$).

Tab. 20: Anti OVA AK-Titer (log10) unter GSM-Exposition (Mittelwerte \pm SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	14	9	15	12	21	21
d0	-	-	-	-	-	-
d14	-	-	-	-	-	-
d35	2,76 \pm 0,32	2,44 \pm 0,47	3,66 \pm 0,07	3,33 \pm 0,31	3,57 \pm 0,19	3,64 \pm 0,09

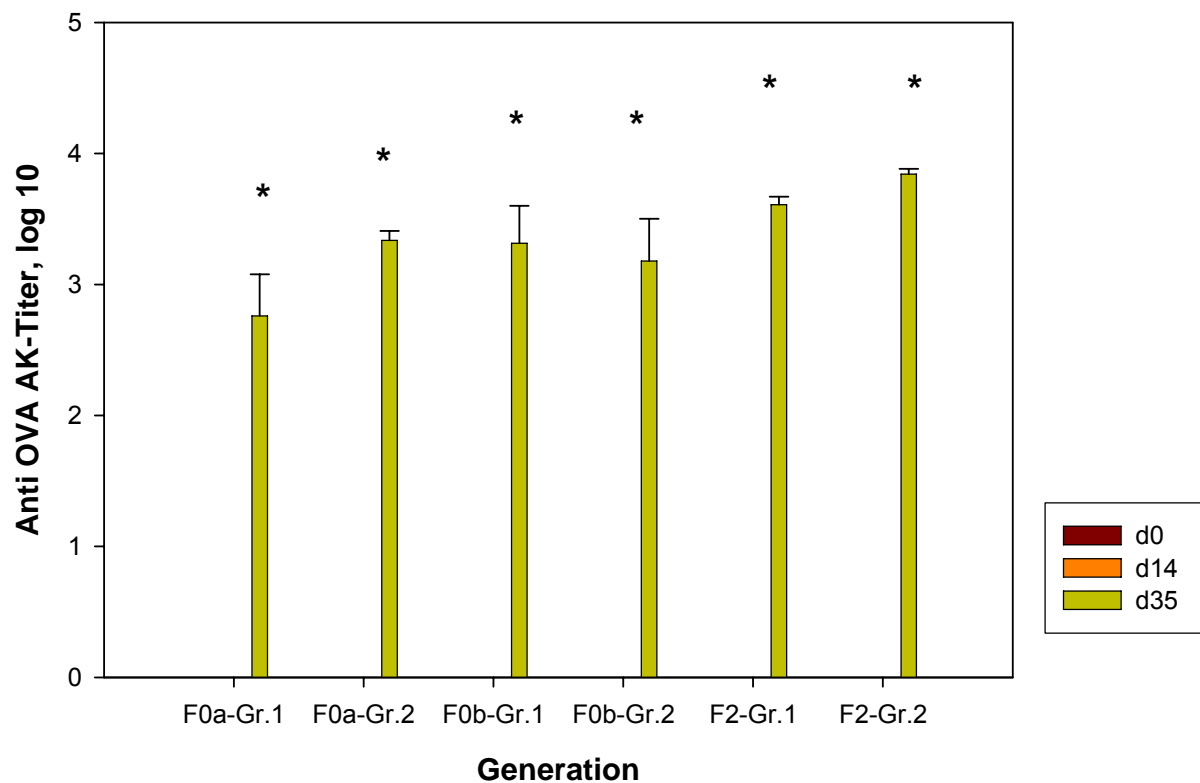


Abb. 18: Anti OVA AK-Titer (log10) der einzelnen Generationen und Gruppen unter UMTS-Exposition an Tag 0 (rot), Tag 14 (orange) (an Tag 0 und Tag 14 jeweils keine Titer messbar) und Tag 35 (gelb). Mittelwert \pm SEM, n=14 Ratten (F0a-Gr.1), n=12 Ratten (F0a-Gr.2), n=13 Ratten (F0b-Gr.1), n=11 Ratten (F0b-Gr.2), n=21 Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert ($p < 0,0001$).

Tab. 21: Anti OVA AK-Titer (log10) unter UMTS-Exposition (Mittelwerte \pm SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	14	12	13	11	21	21
d0	-	-	-	-	-	-
d14	-	-	-	-	-	-
d35	2,76 \pm 0,32	3,34 \pm 0,07	3,31 \pm 0,29	3,18 \pm 0,32	3,61 \pm 0,06	3,84 \pm 0,04

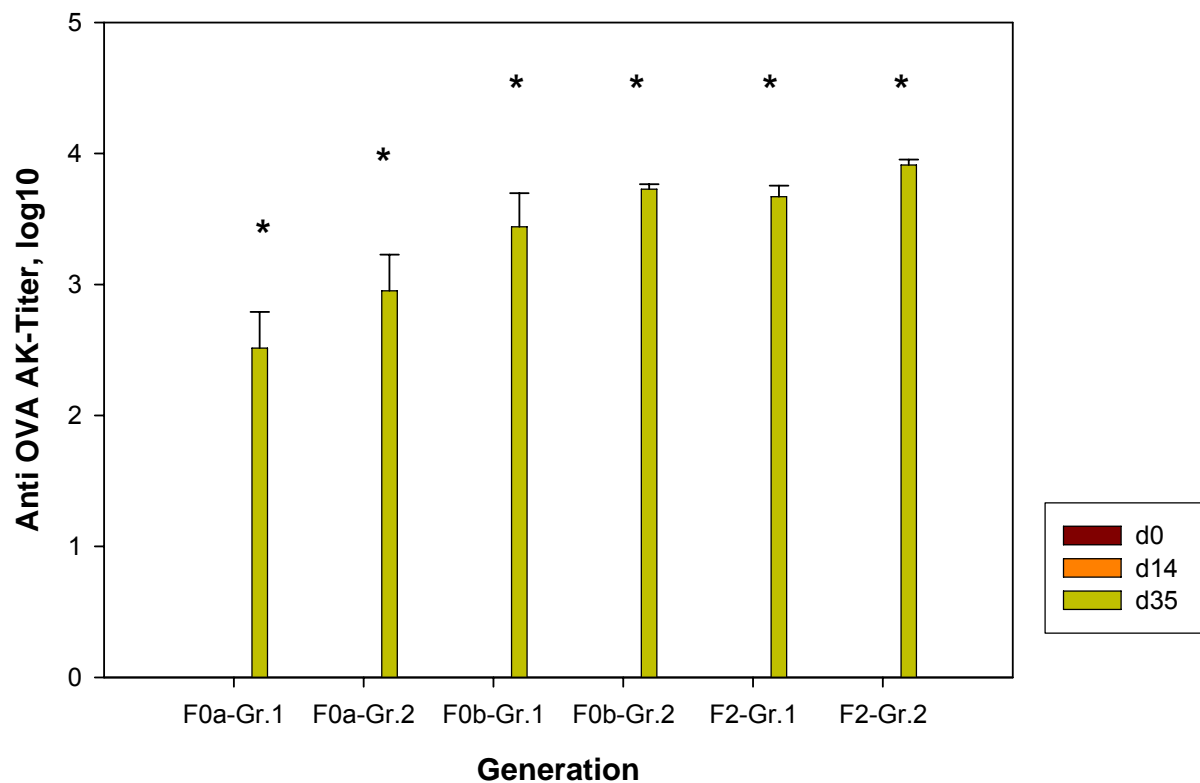


Abb. 19: Anti OVA AK-Titer (log₁₀) der einzelnen Generationen und Gruppen unter Scheinexposition an Tag 0 (rot), Tag 14 (orange) (an Tag 0 und Tag 14 jeweils keine Titer messbar) und Tag 35 (gelb). Mittelwert ± SEM, n=18 Ratten (F0a-Gr.1), n=17 Ratten (F0a-Gr.2), n=15 Ratten (F0b-Gr.1), n=18 Ratten (F0b-Gr.2), n=21 Ratten (F2), Expositionsdauer: F0a ~10 Monate, F0b ~4 Monate, F2 ~5 Monate, gemischtes Modell, *= signifikanter Unterschied zum jeweils davor liegenden Wert (p<0,0001).

Tab. 22: Anti OVA AK-Titer (log₁₀) unter Scheinexposition (Mittelwerte ± SEM)

	F0a-Gr.1	F0a-Gr.2	F0b-Gr.1	F0b-Gr.2	F2-Gr.1	F2-Gr.2
n	18	17	15	18	21	21
d0	-	-	-	-	-	-
d14	-	-	-	-	-	-
d35	2,51±0,28	2,95±0,28	3,44±0,26	3,73±0,04	3,67±0,08	3,91±0,04

V. Diskussion

1. Diskussion der Methoden

1.1. Tierauswahl

In der vorliegenden Untersuchung wurden 294 Wistar-Ratten verwendet. Dabei handelte es sich ausschließlich um weibliche Tiere. Damit wurde der nachgewiesene Einfluss des Geschlechts berücksichtigt und umgangen (Klein, 2000; Pilegaard und Madsen, 2004).

Bei Ratten handelt es sich um häufig verwendete Labortiere. Für diese Untersuchung waren sie besonders geeignet, da sie sich in kurzer Zeit reproduzieren und alle Tiere unter den gleichen Bedingungen gehalten werden konnten. Somit war es möglich, mehrere Generationen in einem angemessenen Zeitrahmen zu untersuchen.

Alle Tiere wurden sowohl im Feld bzw. in der Scheinexposition gezeugt und geboren und befanden sich bis zum Versuchsende in diesem. Eine Langzeitexposition konnte somit sichergestellt werden.

1.2. Haltungsbedingungen

Die Tiere wurden in drei identischen, vollklimatisierten Metallkammern gehalten. Dadurch wurde gewährleistet, dass weder Strahlung aus der Kammer heraus, noch Strahlung in die Kammer hinein gelangen konnte (Bundesamt für Strahlenschutz, 2005b). Dadurch war sichergestellt, dass die generierte Strahlung auch die tatsächlich vorhandene Strahlung war.

In den Expositionskammern befanden sich keinerlei Gegenstände aus Metall. So bestanden z.B. die Käfige vollständig aus Polycarbonat, die Tränkenippel aus Glas und die Regale aus Holz. Dadurch konnte erreicht werden, dass die Strahlung nicht abgeschirmt wurde und stattdessen vollständig auf die Tiere traf (Bundesamt für Strahlenschutz, 2005b).

Durch regelmäßigen Wechsel der Käfigstellplätze konnte sichergestellt werden, dass alle Tiere der gleichen Menge an Strahlung ausgesetzt waren.

Gehalten wurden die Tiere in Dreiergruppen, nur in Ausnahmefällen zu zweit (z.B. wenn ein Tier der Gruppe verstarb) und nie alleine. Dadurch wurde vermieden, dass die normalerweise im Sozialverband lebenden Ratten sozialem Stress ausgesetzt waren und dadurch das Immunsystem beeinflusst wurde (Manser, 1992).

Der Gesundheitszustand der Tiere wurde kontinuierlich überwacht. Dadurch war es möglich zu differenzieren, ob ein AK-Abfall durch eine Erkrankung oder durch die Exposition zustande kam. Darüber hinaus konnte ein erkranktes Tier aus dem Versuch ausgeschlossen werden. Um den Gesundheitsstatus der Tiere nicht zu gefährden, wurden außerdem Hygienemaßnahmen ergriffen und erkrankten Personen der Zutritt zu den Versuchsräumen verwehrt.

1.3. Blutentnahme

Die Blutentnahme war bei allen Tieren problemlos möglich, so dass alle Messwerte bei allen Tieren eruiert werden konnten.

Zur Blutentnahme befanden sich die Tiere in einem Restraîner. Dies stellte für die Tiere eine potentielle Stresssituation dar. Dieser Stress kann aber für unsere Fragestellung als unerheblich betrachtet werden, da er zu kurz war, um einen Einfluss auf die Antikörperproduktion nehmen zu können (Manser, 1992; Saalmüller, 2006).

1.4. Futter

Alle Tiere wurden mit einem ausgewogenen Futter für Nager versorgt, an dem sie sich ad libitum bedienen konnten. Ein Nährstoffmangel oder auch ein Überangebot konnte so weitgehend ausgeschlossen werden und damit auch eine Beeinflussung des Immunsystems, wie es in der Literatur beschrieben ist (Daly et al., 1988; Konno et al., 1993; De Jonge et al., 2002; Shang et al., 2003; Yeh et al., 2003).

1.5. Lichtregime

Das Lichtprogramm wurde so eingerichtet, dass jeden Tag eine zwölfstündige Licht- und eine ebenso lange Dunkelphase herrschten. Daher gab es für die Tiere in den

Kammern keine Jahreszeiten. Diese Quelle eines möglichen Einflusses auf das Immunsystem wurde damit umgangen (Yellon et al., 1999; Mann et al., 2000; Roberts, 2000; Myrianthefs et al., 2003; Majewski et al., 2005; Weil et al., 2006).

1.6. Antikörper

Die Antikörperproduktion bzw. deren Anstieg zu messen, stellt ein einfaches Mittel dar, um die Funktionsfähigkeit des humoralen Immunsystems zu eruieren. Antikörper lassen sich z.B. durch eine Blutentnahme leicht gewinnen und sind mittels ELISA einfach zu messen. Allerdings repräsentieren sie nur einen Teilbereich des Immunsystems und werden erst beeinflusst, nachdem die zellulären Komponenten längst reagiert haben (Manser, 1992; Saalmüller, 2006).

2. Diskussion der Ergebnisse

2.1. Gesamt IgG

Wie zu erwarten war, konnten an allen drei Messtagen IgG-Antikörper gemessen werden.

Der signifikante Konzentrationsanstieg von Tag 0 über Tag 14 bis Tag 35 zeigt, dass die Tiere auf die Impfung reagiert haben und beweist, dass die Methode des Versuchs geeignet war.

Was die signifikanten Unterschiede in den Gruppen der Generationen F0a und F0b bewirkt, ist nicht ersichtlich, da das experimentelle Design in allen Gruppen exakt übereinstimmt. Daher muss es sich hierbei um einen Zufallsbefund handeln.

Ein Einfluss der Exposition auf die IgG-AK-Produktion war weder in der Generation F0a noch in der Generation F0b nachweisbar. Es war aber ein signifikanter Einfluss in der Generation F2 messbar. Hier waren die Werte der GSM-Exposition verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Dieser Effekt war allerdings bei den spezifischen Antikörpertitern gegen Huhn IgY bzw. OVA nicht nachzuweisen (siehe unten). Dies spiegelt die unterschiedlichen Ergebnisse in der Literatur wieder, die

einerseits eine Beeinflussung des Immunsystems durch EMF nachweisen konnten (Nageswari et al., 1991; Boscolo et al., 2001), andererseits aber nicht (Röösli et al., 2003; Nasta et al., 2006; Tuschl et al., 2006; Fachbereich Strahlenschutz und Gesundheit, 2008).

Berücksichtigt werden muss, dass zwar in den mit GSM exponierten Gruppen der Generation F2 höhere AK-Konzentrationen gemessen wurden, die Differenz zwischen dem Ausgangslevel vor der Immunisierung und dem Wert nach der letzten Immunisierung aber gleich war. Darüber hinaus konnten in der zeitlich ähnlich exponierten Generation F0b die Ergebnisse der Generation F2 nicht bestätigt werden.

Unterschiede in den Generationen F0a, F0b und F2 lassen sich durch altersbedingte Unterschiede erklären. Mit zunehmendem Alter steigt die Konzentration des Gesamt IgG, wie es auch in dieser Untersuchung bestätigt wird (die IgG-Konzentrationen der Generation F0a sind am höchsten).

2.2. anti Huhn IgY

An Tag 0 waren bei allen Generationen und Gruppen erwartungsgemäß keine AK gegen Huhn IgY nachweisbar. Da an Tag 14 und 35 AK nachweisbar waren, war die subkutan applizierte Menge an Huhn IgY ausreichend.

Zum Gruppenunterschied in Generation F2 gilt das unter 2.1. gesagte.

Bei der Messung der anti IgY AK-Titer ist ein Einfluss der Exposition tendenziell vorhanden. Bei näherer Betrachtung erkennt man, dass diese Tendenz möglicherweise durch die GSM-Exposition zustande kommt. Hier sind die gemessenen Titer signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Hier zeigt sich ein Widerspruch zu den Ergebnissen, die bei der Betrachtung der IgG AK-Konzentrationen zutage traten. Zwar trat die Beeinflussung bei beiden betrachteten AK-Produktionen in der Generation F2 und beidesmal unter GSM-Exposition auf, aber einmal waren die Werte signifikant erhöht (IgG), das andere Mal signifikant erniedrigt (anti IgY). Wenn dieser Einfluss auf die Exposition zurückzuführen wäre, könnte man erwarten, dass er sich in gleicher Weise auswirkt, also entweder die AK-Produktion anregt oder hemmt. Somit muss man annehmen, dass es sich hierbei um einen Zufallsbefund handelt.

2.3. anti OVA

2.3.1. Einfluss von Zeit und Gruppe

Bei der Messung der anti OVA AK-Titer fällt auf, dass weder an Tag 0, noch an Tag 14 AK messbar waren. Das stimmt mit Beobachtungen von Knippels et al. aus Versuchen aus den Jahren 1998 und 1999 überein. Da an Tag 35 hohe AK-Titer messbar waren, kann davon ausgegangen werden, dass die Menge des applizierten OVAs ausreichend war.

Ein Gruppenunterschied besteht in der Generation F2, was wiederum mit der zeitlichen Differenz und damit nicht exakt identischen Umweltverhältnissen erklärt werden könnte.

2.3.2. Einfluss der Exposition

Auf die Produktion von anti OVA-AK ist kein Einfluss der unterschiedlichen Expositionen messbar, was vergleichbar ist mit Ergebnissen von Tuschl et al. (2006). Diese untersuchten allerdings keine AK, sondern zelluläre Komponenten des Immunsystems (Tuschl et al., 2006). Aber auch Untersuchungen von Nasta et al. (2006) konnten bei ihren Versuchen an Mäusen keinen Einfluss von EMF auf die Produktion von AK gegen OVA nachweisen. Allerdings liegt in der GSM-exponierten Gruppe der Generation F2 eine Tendenz zur Signifikanz vor. Während allerdings in der Generation F0a die anti OVA-Antikörpertiter der GSM und UMTS exponierten Gruppen im Vergleich zur Kontrolle (nicht signifikant) erhöht sind, sind sie bei den Generationen F0b und F2 im Vergleich zur Kontrolle (nicht signifikant) niedriger. Die Tendenz zur Signifikanz in der Generation F2 lässt sich daher in der versuchstechnisch ähnlichen Generation F0b nicht bestätigen, doch nachvollziehen. Auffallend ist allerdings die Parallele zu den anderen beiden untersuchten Parametern, IgG und anti Huhn IgY. Auch bei diesen sind die Generation F2 bzw. die GSM-exponierten Tiere von der Exposition beeinflusst. Während allerdings die spezifischen AK-Titer gegen Huhn IgY und OVA in den GSM-exponierten Gruppen im Vergleich zur Kontrolle erniedrigt sind, verhält es sich bei der IgG-Konzentration umgekehrt: die AK-Konzentration der GSM-Gruppe ist gegenüber der Kontrolle

erhöht. Ein Widerspruch der gefundenen Ergebnisse ist damit offensichtlich: Würde die Art der Exposition einen Einfluss auf die Antikörperkonzentrationen bzw. -titer bewirken, müsste dieser Einfluss in gleicher Weise zutage treten. Die Werte müssten einheitlich entweder erhöht oder erniedrigt sein. Daher muss man annehmen, dass es sich um Zufallsbefunde handeln könnte.

3. Gesamtdiskussion

Ziel dieser Arbeit war die Eruiierung, inwieweit Strahlung, die durch GSM- bzw. UMTS-Generatoren erzeugt wurde, auf die Fähigkeit weiblicher WISTAR-Ratten, Antikörper zu bilden, Einfluss nimmt.

Vorteile bei der Auswertung von AK sind die einfache Gewinnung der Proben, die Möglichkeit der Generierung von AK durch Applikation von spezifischen Antigenen und die verhältnismäßig einfache Messung der AK-Konzentrationen bzw. -Titer. Darüber hinaus lässt sich am Verlauf der Konzentrationen bzw. Titer über einen bestimmten Zeitabschnitt eine begrenzte Aussage über die Funktionsfähigkeit des Immunsystems treffen.

Dabei darf aber nicht außer Acht gelassen werden, dass die AK-Bildung nur einen kleinen Teil des Immunsystems darstellt. Es ist durchaus möglich, dass die Funktionsfähigkeit des Immunsystems bereits eingeschränkt ist, während die AK-Produktion aber noch scheinbar ungestört abläuft. Um also wirklich eine Aussage über den Status des Immunsystems treffen zu können, reicht eine bloße Betrachtung der AK-Produktion nicht aus.

Die hier gezeigten Ergebnisse hinsichtlich der AK-Produktion stimmen mit anderen Studien überein. IgG als körpereigener AK war sowohl an Tag 0, als auch an Tag 14 und Tag 35 messbar. AK gegen die Fremdantigene OVA und Huhn IgY waren bei keinem Tier an Tag 0 messbar, was mit den Vorgaben übereinstimmt (Knippels et al., 1999). Erst an Tag 35 konnte bei allen Tieren ein AK-Titer gegen OVA nachgewiesen werden, was vergleichbar ist mit den Ergebnissen von Knippels et al. aus dem Jahr 1998.

Signifikante Unterschiede in den Gruppen der Generationen können nur durch die zeitliche Differenz mit veränderten Umweltbedingungen erklärt werden. Derartige Effekte konnten aufgrund des Versuchsdesigns nicht ausgeschlossen werden.

Signifikante Einflüsse der Exposition sind nur in der Generation F2 und nur in der GSM-exponierten Gruppe feststellbar. Diese Einflüsse sind jedoch widersprüchlich. Höhere Gesamt IgG-Konzentrationen bzw. AK-Titer stehen auch niedrigeren AK-Titern gegenüber. Da nur wenige signifikante Einzelergebnisse vorliegen, muss davon ausgegangen werden, dass es sich um Zufallsbefunde handeln könnte.

Zum Schluss bleibt zu bemerken, dass die hier gefundenen Ergebnisse nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar sind. Die Wirkung hochfrequenter Strahlung hängt u.a. von der Resonanz des Körpers ab. Da diese bei kleinen Tieren wie etwa Mäusen im Bereich einiger GHz, beim Menschen aber im Bereich von etwa 70 bis 110 MHz liegt, muss dies in die Überlegungen mit einbezogen werden.

VI. Zusammenfassung

Mobiltelefone finden in der heutigen Zeit immer mehr Verwendung und sind deshalb in weiten Teilen der Bevölkerung in häufigem Gebrauch. Deshalb ist auch ein großes Interesse vorhanden, inwieweit die Strahlung der Mobilfunktechnologie die Gesundheit beeinflussen kann. In der Literatur finden sich allerdings sehr widersprüchliche Aussagen. Während manche Autoren in ihren Studien negative Effekte auf Organismen nachweisen konnten, gelang dies in anderen Studien nicht. Das Ziel dieser Arbeit war daher, herauszufinden, ob GSM (Global System of Mobile Communications)- oder UMTS-Strahlung (Universal Mobile Telecommunication System) das humorale Immunsystem in Hinsicht auf die Antikörper (AK)-Produktion beeinflusst.

Insgesamt wurden 294 weibliche Wistar-Ratten entweder einer UMTS- oder einer GSM-Strahlung ausgesetzt oder befanden sich als Kontrollgruppe unter einer Scheinexposition. Alle Tiere wurden im jeweiligen Feld geboren und befanden sich bis zum Versuchsende in diesem. Um eine spezifische AK-Produktion zu erreichen, wurden die Tiere mit den Fremdartigen Huhn Immunglobulin Y (IgY) und Ovarielles Albumin (OVA) und mit dem Adjuvans Pam₃-Cys-Ser-(Lys)₄ an Tag 7 und Tag 28 subkutan immunisiert. An Tag 0, 14 und 35 wurde den Tieren aus einer Schwanzvene Blut entnommen. Diese Blutproben wurden mittels Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA) auf die IgG-Antikörper, anti Huhn IgY und anti OVA untersucht und die ermittelten AK-Konzentrationen bzw. -Titer der verschiedenen Untersuchungsgruppen miteinander verglichen.

In allen Generationen und Gruppen gab es einen signifikanten Konzentrationsanstieg über die Zeit. Dies zeigt, dass die gewählte Versuchsmethode erfolgreich war.

Bei den Ergebnissen fällt auf, dass es relativ häufig Gruppenunterschiede in den einzelnen Generationen gab. So unterschieden sich bei der Betrachtung der IgG-AK die Gruppen der Generationen F0a und F0b und bei Betrachtung der anti Huhn IgY-AK und der anti OVA-AK die Gruppen der Generation F2. Da sich die Untergruppen der Generationen aber im experimentellen Design exakt entsprachen, müssen diese Unterschiede mit den durch die zeitliche Differenz bedingten veränderten Umweltbedingungen erklärt werden. Diese konnten aufgrund des Versuchsdesigns nicht vollkommen ausgeschlossen werden.

Bei der Auswertung der Ergebnisse der Exposition ergaben sich unterschiedliche Bilder: Die Bildung von IgG-AK schien nur in der Generation F2 beeinflusst zu werden ($p=0,04$). Hier bewirkte die Exposition mit GSM signifikant höhere AK-Konzentrationen ($p=0,04$). Die Tiere, die der GSM-Strahlung ausgesetzt waren, bildeten signifikant weniger anti Huhn IgY-AK als die Kontrolltiere ($p=0,02$). Auch die anti OVA-AK-Produktion war nicht durch die Bestrahlung beeinflusst worden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es signifikante Einflüsse nur in der Generation F2 und nur in der GSM-exponierten Gruppe gibt. Diese Einflüsse sind jedoch widersprüchlich: einmal bewirken sie höhere AK-Konzentrationen bzw. -Titer als in der Kontrollgruppe, ein anderes Mal niedrigere oder sind nur tendenziell vorhanden. Aufgrund des Vorliegens von wenigen signifikanten Einzelergebnissen muss davon ausgegangen werden, dass es sich um Zufallsbefunde handeln könnte.

Da sich in dieser Studie keine greifbaren Ergebnisse hinsichtlich einer Beeinflussung des humoralen Immunsystems durch GSM- und UMTS-Exposition ergeben haben, aber dennoch Tendenzen aufgetreten sind, ist es wünschenswert und sinnvoll, wenn in dieser Richtung weitere Studien betrieben werden.

VII. Summary

Influence of chronic exposure to high frequency electromagnetic fields of two technical standards of mobile communications (GSM and UMTS) on humoral immune system in rats (*Rattus norvegicus*)

These days mobile phones are used by many people. Therefore there's a large interest in knowing to what extent radiation of mobile communications is able to influence immune system. However, in literature there are contradictory statements. Whereas some authors were able to show negative effects in organisms in their studies other studies failed. Therefore, the aim of this thesis was to find out whether GSM or UMTS radiation influences humoral immune system regarding the production of antibodies.

294 female Wistar rats were exposed either to UMTS or GSM radiation or were located as control group under sham exposure. Every animal was born in the respective field and was located there until the end of the experiment. In order to reach a specific antibody production animals were immunized subcutaneously with the foreign antigens chicken IgY and OVA and the adjuvant Pam₃-Cys-Ser-(Lys)₄ on day 7 and 28. On day 0, 14 and 35 animals were taken blood from a tail vein. These blood samples were examined by ELISA for the IgG-antibodies, anti chicken IgY and anti OVA and ascertained antibody concentrations respectively titres of each group of examination compared.

There was a significant increase of concentration over time in every generation and every group. This shows that the chosen test method was successful.

In the results it is conspicuous that relatively often there were differences in groups of individual generations. So in viewing the IgG-antibodies the groups of the generations F0a and F0b were different and in viewing the anti chicken IgY antibodies and the anti OVA antibodies, groups of generation F2 were different. But since groups of generations exactly corresponded to the experimental design these differences have to be explained by changed environmental factors go back to temporal difference. Because of the experimental design these could not be completely precluded.

VII. Summary

In evaluation of results of the radiation there established different sights: the formation of IgG-antibodies seemed to be influenced only in generation F2 ($p=0,04$). Here radiation with GSM caused significantly higher antibody concentrations ($p=0,04$). Animals which were exposed to GSM radiation formed significantly less antibodies against chicken IgY than control animals did ($p=0,02$). Anti OVA antibody production wasn't influenced by radiation, too.

In summary it may be said that there are only significant influences in generation F2 and only in the GSM exposed group. However, these influences are contradictory: once they cause higher antibody concentrations respectively titres than in the control group some other time lower ones or exist only in tendency. That's why we have to assume that this is a matter of coincidence findings.

Since there didn't establish concrete results concerning an influence of the humoral immune system by GSM or UMTS radiation but nevertheless there were found tendencies it would be desirable and sensible to pursue further studies in this direction.

VIII. Literaturverzeichnis

Ahlbom A, Feychting M (2003). Electromagnetic radiation. Br Med Bull 68:157-165.

Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu Y, Pulendran B, Palucka K (2000). Immunobiology of dendritic cells. Annu Rev Immunol 18:767-811.

Banchereau J, Steinman RM (1998). Dendritic cells and the control of immunity. Nature 392:245-252.

Bazin H, Platteau B (1976). Production of circulating reaginic (IgE) antibodies by oral administration of ovalbumin to rats. Immunol 30:679-684.

Bessler WG, Jung G (1992). Synthetic lipopeptides as novel adjuvants. Res Immunol 143:548-53.

Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP (1999). Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. Annu Rev Immunol 17:189-220.

Boscolo P, Di Sciascio MB, D'Ostilio S, Del Signore A, Reale M, Conti P, Bavazzano P, Paganelli R, Di Gioacchino M (2001). Effects of electromagnetic fields produced by radiotelevision broadcasting stations on the immune system of women. Sci Total Environ 273:1-10.

Brake JT (1988). Stress of birds, modern poultry management relationship defined. Poultry Adv 11:27-31.

Bundesamt für Strahlenschutz (2003). Broschüre „Arbeitsschutz“. <http://www.bfs.de> (Datum des Zugriffs: 18.9.2007)

Bundesamt für Strahlenschutz (2004). Broschüre „Strahlung/Strahlenschutz. Eine Information des Bundesamtes für Strahlenschutz“. <http://www.bfs.de> (Datum des Zugriffs: 18.9.2007)

Bundesamt für Strahlenschutz (2005a). Broschüre „Biologische und gesundheitliche Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern“. <http://www.bfs.de> (Datum des Zugriffs: 18.10.2005)

Bundesamt für Strahlenschutz (2005b). Broschüre „Grundlagen, Begriffsbestimmungen“. <http://www.bfs.de> (Datum des Zugriffs: 18.9.2007)

Bundesamt für Strahlenschutz (2005c). Broschüre „Moderne Kommunikationsmittel“. <http://www.bfs.de> (Datum des Zugriffs: 18.10.2005)

Bundesamt für Strahlenschutz (2005d). Broschüre „Strahlenthemen: Mobilfunk und Sendetürme“. <http://www.bfs.de> (Datum des Zugriffs: 18.9.2007)

Daly JM, Reynolds J, Thom A, Kinsley L, Dietrick-Gallagher M, Shou J, Ruggieri B (1988). Immune and Metabolic Effects of Arginine in the Surgical Patient. *Ann Surg* 208:512-521.

Dearman RJ, Caddick H, Basketter DA, Kimber I (2000). Divergent Antibody Isotype Responses Induced in Mice by Systemic Exposure to Proteins: a Comparison of Ovalbumin with Bovine Serum Albumin. *Food Chem Toxicol* 38:351-360.

De Jonge WJ, Kwinkkers KL, te Velde AA, van Deventer SJH, Nolte MA, Mebius RE, Ruijter JM, Lamers MC, Lamers WH (2002). Arginine deficiency affects early B cell maturation and lymphoid organ development in transgenic mice. *J Clin Invest* 110:1539-1548.

Dhabhar FS, McEwen BJ (1997). Acute stress enhances while chronic stress suppresses immune function in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav Immun* 11:286-306.

Dhabhar FS, McEwen BJ (1999). Enhancing versus suppressive effects of stress hormones on skin immune function. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1059-1064.

Du Pasquier L, Schwager J, Flajnik M (1989). The immune system of *Xenopus*. *Annu Rev Immunol* 7:251-275.

El-Lethey H, Huber-Eicher B, Jungi TW (2003). Exploration of stress-induced immunosuppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen responses. *Vet Immunol Immunopathol* 95:91-101.

Erhard MH, Leuzinger K, Stangassinger M (2000a). Untersuchungen zur prophylaktischen Wirkung der Verfütterung eines Probiotikums und von erregerspezifischen Kolostrum- und Dotterantikörpern bei neugeborenen Kälbern. *J Anim Physiol a Anim Nutr* 84:85-94.

Erhard MH, Özpınar H, Bilal T, Abbas Y, Kutay C, Eseceli H, Stangassinger M (2000b). The Humoral Immune Response and the Productivity of Laying Hens Kept On the Ground or In Cages. *ATLA* 28:699-705.

Erhard MH, Schmidt P, Zinsmeister P, Hofmann A, Münster U, Kaspers B, Wiesmüller K-H, Bessler WG, Stangassinger M (2000c). Adjuvant Effects of Various Lipopeptides and Interferon- γ on the Humoral Immune Response of Chickens. *Poult Sci* 79:1264-1270.

European Commission. Community research (2005). Health and electromagnetic fields. EU-funded research into the impact of electromagnetic fields and mobile telephones on health. ISBN 92-79-00187-6.

Fachbereich Strahlenschutz und Gesundheit (2008). Ergebnisse des Deutschen Mobilfunk Forschungsprogramms, German Mobile Telecommunication Research Programme (DMF). Bewertung der gesundheitlichen Risiken des Mobilfunks, Health Risk Assessment of Mobile Communications (Stand 15.05.2008). Wirtschaftsverlag NW, Bremerhaven. ISBN 978-3-86509-826-9.

Frank J, Griffin T (1989). Stress and Immunity: a Unifying Concept. *Vet Immunol Immunopath* 20:263-312.

Freeman BM (1987). The stress syndrome. *World's Poultry Sci* 43:15-19.

Gallucci S, Matzinger P (2001). Danger signals: SOS to the immune system. *Curr Opin Immunol* 13:114-119.

Gassmann M, Thömmes P, Weiser T, Hübscher U (1990). Efficient production of chicken egg yolk antibodies against a conserved mammalian protein. *FASEB J* 4:2528-2532.

Glimcher L, Shen FW, Cantor H (1977). Identification of a cell-surface antigen selectively expressed on the natural killer cell. *J Exp Med* 145:1-9.

Göbel T, Kaspers B (2005). Immunabwehr und Blutgruppen. In: v.Engelhardt W, Breves G (Hrsg.). *Physiologie der Haustiere*, 2. Auflage. Enke Verlag, Stuttgart, 213-229. ISBN 3-8304-1039-5.

Hasselquist D, Lindström Å, Jenni-Eiermann S, Koolhaas A, Piersma T (2007). Long flights do not influence immune responses of a long-distance migrant bird: a wind-tunnel experiment. *J Exp Biol* 210:1123-1131.

Hatta H, Tsuda K, Ozeki M, Kim M, Yamamoto T, Otake S, Hirasawa M, Katz J, Childers NK, Michalek SM (1997). Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 31:268-74.

Heumann Didier, Lauener R, Ryffel B (2003). The dual role of LBP and CD14 in response to Gram-negative bacteria or Gram-negative compounds. *J Endotoxin Res* 9:381-384.

Hilton J, Dearman RJ, Sattar N, Basketter DA, Kimber I (1997). Characteristics of Antibody Responses Induced in Mice by Protein Allergens. *Food Chem Toxicol* 35:1209-1218.

Hofmann A, Erhard M, Schmidt P, Bessler W, Wiesmüller H, Zinsmeister P, Stangassinger M, Lösch U (1996). Lipopeptides as adjuvants for the immunisation of laying hens. *ALTEX* 13:26-29.

Janeway CA, Medzhitov R (2002). Innate Immune Recognition. *Annu Rev Immunol* 20:197-216.

Jarrett EEE (1972). Potentiation of Reaginic (IgE) Antibody to Ovalbumin in the Rat Following Sequential Trematode and Nematode Infections. *Immunol* 22:1099-1101.

Jarrett EEE, Haig DM, McDougall W, McNulty E (1976). Rat IgE production II. Primary and booster reaginic antibody responses following intradermal or oral immunization. *Immunol* 30:671-677.

Kellner J, Erhard M, Schraner I, Lösch U (1992). The influence of various adjuvants on antibody synthesis following immunization with an hapten. *Biol Chem Hoppe Seyler* 373:51-5.

Klein SL (2000). The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 24:627-638.

Knippels LMJ, Penninks AH, Spanhaak S und Houben GF (1998). Oral sensitization to food proteins: a Brown Norway rat model. *Clin Exp Allergy* 28:368-375.

Knippels LMJ, Penninks AH, van Meeteren M, Houben GF (1999). Humoral and Cellular Immune Responses in Different Rat Strains on Oral Exposure to Ovalbumin. *Food Chem Toxicol* 37:881-888.

Konno A, Utsuyama M, Kurashima C, Kasai M, Kimura S, Hirokawa K (1993). Effects of a protein-free diet or food restriction on the immune system of Wistar and Buffalo rats at different ages. *Mech Ageing Dev* 72:183-197.

Ladewig J (1987). Endocrine aspects of stress: Evaluation of stress reactions in farm animals. In: Wiepkema, PR (Hrsg): *Biology of stress in farm animals: an integrative approach*. Martinus Nijhoff Publishers.

Leishman AJ, Garside P, Mowat AMCl (1998). Immunological Consequences of Intervention in Established Immune Responses by Feeding Protein Antigens. *Cell Immunol* 183:137-148.

Leslie GA, Clem LW (1969). Phylogeny of immunoglobulin structure and function. III. Immunoglobulins of the chicken. Department of Microbiology, College of Medicine, University of Florida, 1969 (<http://www.jem.org>) (Datum des Zugriffs: 09. Januar 2007).

Maier SF, Watkins LR (1998). Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behaviour, mood, and cognition. *Psychol Rev* 105:83-107.

Majewski P, Adamska I, Pawlak J, Barańska A, Skwarlo-Sońta K (2005). Seasonality of pineal gland activity and immune functions in chickens. *J Pineal Res* 39:66-72.

Mann DR, Akinbami MA, Gould KG, Ansari AA (2000). Seasonal Variations in Cytokine Expression and Cell-Mediated Immunity in Male Rhesus Monkeys. *Cell Immunol* 200:105-115.

Manser CE (1992). *The assessment of stress in laboratory animals*. Research Animals Department, RSPCA, Causeway, Horsham, England.

Mine Y, Kovacs-Nolan J (2002). Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious disease: a review. *J Med Food* 5:159-69.

Möstl E (2000). Spezielle Endokrinologie. In: v.Engelhardt W, Breves G (Hrsg.). Physiologie der Haustiere. Enke Verlag, Stuttgart, 497-514. ISBN 3-7773-1429-3.

Myrianthefs P, Karatzas S, Venetsanou K, Grouzi E, Evagelopoulou P, Boutzouka E, Fildissis G, Spiliotopoulou I, Baltopoulos G (2003). Seasonal variation in whole blood cytokine production after LPS stimulation in normal individuals. *Cytokine* 24:286-292.

Nageswari KS, Sarma KR, Rajvanshi VS, Sharan R, Sharma M, Barathwal V, Singh V (1991). Effect of chronic microwave radiation on T cell-mediated immunity in the rabbit. *Int J Biometeorol* 35:92-97.

Nasta F, Prisco MG, Pinto R, Lovisolo GA, Marino C, Pioli C (2006). Effects of GSM-Modulated Radiofrequency Electromagnetic Fields on B-Cell Peripheral Differentiation and Antibody Production. *Radiat Res* 165:664-670.

Otake S, Nishihara Y, Makimura M, Hatta H, Kim M, Yamamoto T, Hirasawa M (1991). Protection of Rats Against Dental Caries by Passive Immunization With Hen-egg-yolk Antibody (IgY). *J Dent Res* 70:162-166.

Patterson R, Youngner JS, Weigle WO, Dixon FJ (1962). The Metabolism of Serum Proteins in the Hen and Chick and Secretion of Serum Proteins by the Ovary of the Hen. *J Gen Physiol* 45:501-513.

Pilegaard K, Madsen C (2004). An oral Brown Norway rat model for food allergy: comparison of age, sex, dosing volume, and allergen preparation. *Toxicol* 196:247-257.

Roberts JE (2000). Light and immunomodulation. *Ann N Y Acad Sci* 917:435-445.

Romani N, Koide S, Crowley M, Witmer-Pack M, Livingstone AM, Fathman CG, Inaba K, Steinman RM (1989). Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to t cell clones. *J Exp Med* 169:1169-1178.

Rööslı M, Rapp R, Braun-Fahrländer C (2003). Hochfrequente Strahlung und Gesundheit – eine Literaturanalyse. *Gesundheitswesen* 65:378-392.

Saalmüller A (2006). New understanding of immunological mechanisms. *Vet Microbiol* 117:32-38.

Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU (2000). How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocr Rev* 21:55-89.

Schuler G, Steinman R (1985). Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro. *J Exp Med* 161:526-546.

Selye H (1976). Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. *Can Med Assoc J* 115:53-56.

Shang H-F, Tsai H-J, Chiu W-C, Yeh S-L (2003). Effects of dietary arginine supplementation on antibody production and antioxidant enzyme activity in burned mice. *Burns* 29:43-48.

Shanks N, Francis D, Zalcmán S, Meaney MJ, Anisman H (1994). Alterations in central catecholamines associated with immune responding in adult and aged mice. *Brain Res* 666:77-87.

Shu Q, Bird SH, Gill HS, Duan E, Xu Y, Hillard MA, Rowe JB (2001). Antibody Response in Sheep Following Immunization with *Streptococcus bovis* in Different Adjuvants. *Vet Res Commun* 25:43-54.

Steinman RM (1991). The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 9:271-296.

Steinman RM, Cohn ZA (1973). Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. *J Exp Med* 137:1142-1162.

Strasser A, Sonnek U, Niedermüller H (1997). Age-related changes in plasma IgM level after SRBC-stimulation in the rat. *Arch Gerontol Geriatr* 25:277-284.

Sun S, Mo W, Ji Y, Liu S (2001). Preparation and mass spectrometric study of egg yolk antibody (IgY) against rabies virus. *Rapid Commun Mass Spectrom* 15:708-712.

Tsigos C, Chrousos GP (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 53:865-871.

Tuschl H, Novak W, Molla-Djafari H (2006). In vitro Effects of GSM Modulated Radiofrequency Fields on Human Immune Cells. *Bioelectromagnetics* 27:188-196.

Velazquez-Moctezuma J, Dominguez-Salazar E, Cortes-Barberena E, Najera-Medina O, Retana-Marquez S, Rodriguez-Aguilera E, Jiménez-Anguiano A, Cortes-Martinez L, Ortiz-Muñiz R (2004). Differential Effects of Rapid Eye Movement Sleep Deprivation and Immobilization Stress on Blood Lymphocyte Subsets in Rats. *Neuroimmunomodulation* 11:261-267.

Warr GW (1995). IgY: clues to the origin of modern antibodies. *Immunol Today* 16:392-398.

Weil ZM, Martin II LB, Nelson RJ (2006). Photoperiod Differentially Affects Immune Function and Reproduction in Collared Lemmings (*Dicrostonyx groenlandicus*). *J Biol Rhythms* 21:384-393.

Yeh S-L, Shang H-F, Lin M-T, Yeh C-L, Chen W-J (2003). Effects of Dietary Glutamine on Antioxidant Enzyme Activity and Immune Response in Burned Mice. *Nutrition* 19:880-885.

Yellon SM, Fagoaga OR, Nehlsen-Cannarella SL (1999). Influence of photoperiod on immune cell functions in the male Siberian hamster. *Am J Physiol* 276:R97-R102.

Zhen YH, Jin LJ, Li XY, Guo J, Li Z, Zhang BJ, Fang R, Xu YP (2009). Efficacy of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) to bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Vet Microbiol* 133:317-22.

IX. Verzeichnis der benutzten Abkürzungen

A	Ampere
BImSchV	Bundesimmissionsschutzverordnung
d	Tag
DNFB	2, 4-dinitro-1-fluorobenzene
DZ	dendritische Zelle
E	Elisaeinheit
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EMF	Elektromagnetisches Feld
GSM	Global System for Mobile Communications
g	Fallbeschleunigung
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
H ₂ SO ₄	Salzsäure
Hz	Hertz
IgG	Immunglobulin G
IgY	Huhn Immunglobulin Y
IFN	Interferon
i.p.	intraperitoneal
kDa	Kilodalton
KLH	keyhole limpet hemocyanin
l	Liter
LM	Verhältnis Licht zu Dunkelheit
m	Meter
mg	Milligramm
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
MW	Mittelwert
NK	Natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
OD	optische Dichte

IX. Verzeichnis der benutzten Abkürzungen

OVA	ovarielles Albumin (Ovalbumin aus dem Eidotter)
PBS	Phosphat buffered saline
PCSL	Pam ₃ -Cys-Ser-(Lys) ₄
SAR	spezifische Absorptionsrate
s.c.	subkutan
t	Titer
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF	Tumornekrosefaktor
UMTS	Universal Mobile Telecommunication System
V	Volt
W	Watt

Lebenslauf

Name: Catrin Kahlfeld
Geburtsdatum und –ort: 15.07.1979 in Sigmaringen
Familienstand: ledig, 1 Kind
Eltern: Karl-Heinz und Christiane Kahlfeld, geb. Siewert
Geschwister: Carsten, Kerstin, Kristin

Schulische Ausbildung

1986 – 1990: Conradin-Kreutzer-Grund- und Hauptschule Meßkirch
1990 – 1999: Martin-Heidegger-Gymnasium Meßkirch

Berufliche Ausbildung

1999 – 2005: Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Seit Februar 2005: Anfertigung vorliegender Dissertation
14. März 2005: Erlangung der Approbation

Berufliche Aktivitäten

Sommer 1999: Praktikum am Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma in Stuttgart
21.07.2003 – 16.08.2003: freiwilliges Praktikum an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München
Oktober 2005 – März 2006: Hospitanz in der Gemeinschaftspraxis Dres. Döpfmer und Rosenberg in Garching bei München
Oktober 2006 bis März 2007: Hospitanz in der Kleintierpraxis Dr. Ilse Ertl in Unterföhring
Seit April 2007: Assistenztierärztin in der Tierarztpraxis Dres. Berger in Riedlingen

Danksagung

Hiermit möchte ich mich ganz herzlich bedanken:

- bei Herrn Prof. M. Erhard für die Überlassung des Themas, die Endkorrektur der Arbeit und für die konstruktiven Hilfsvorschläge
- bei Frau Dr. Wöhr für die Betreuung und Korrektur der Arbeit und die Hilfe bei zahlreichen Blutentnahmen
- bei allen Projektpartnern für die immer sehr gute Zusammenarbeit
- bei Frau Dr. Christine Engmann für die unermüdliche Unterstützung und Hilfe auch nach ihrem Ausscheiden aus dem Institut
- beim StaBLab und insbesondere bei Frau Ossig für das Erstellen der Statistik
- bei allen Mitarbeitern des Instituts und vor allem den Mitarbeitern aus dem Labor
- bei den Mitarbeitern des Klinikums Rechts der Isar für die Einweisung in die Blutentnahme bei der Ratte
- bei Judith Schreiner für das Begleiten während der gesamten Doktorarbeit, ihre Mitarbeit im Labor und ihr immer offenes Ohr für alle möglichen Probleme und ihr enormes Engagement bei der Vermittlung der Ratten
- bei Janine Schneider für das Holen der Ratten aus den Kammern und ihre Bereitschaft für anregende Gespräche
- bei den vielen ungenannten Helfern, die sogar an Feiertagen bereit waren, uns bei den Blutentnahmen zu helfen
- bei den Tierpflegern
- bei meinen Geschwistern für die zahlreichen Hilfen, wenn es um die Tücken des Computers ging
- ganz besonders bei meinen Eltern, die mir einerseits finanziell zur Seite standen und andererseits immer an mich geglaubt und mich immer unterstützt haben