

Ressortforschungsberichte zur kerntechnischen Sicherheit und zum Strahlenschutz

Auswirkungen wiederholter Exposition mit starken statischen Magnetfeldern des MRI auf die Endpunkte Fortpflanzung und Entwicklung im Tiermodell - Vorhaben 3608S04557

**Universität Duisburg-Essen
Erwin L. Hahn Institut für Magnetresonanz
Institut für Molekularbiologie, Universitätsklinikum**

E. Winterhager

R. Grümmer

M. Ladd

Das Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) und im Auftrag des Bundesamtes für Strahlenschutz (BfS) durchgeführt.

Dieser Band enthält einen Ergebnisbericht eines vom Bundesamt für Strahlenschutz im Rahmen der Ressortforschung des BMU (UFOPLAN) in Auftrag gegebenen Untersuchungsvorhabens. Verantwortlich für den Inhalt sind allein die Autoren. Das BfS übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, die Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter. Der Auftraggeber behält sich alle Rechte vor. Insbesondere darf dieser Bericht nur mit seiner Zustimmung ganz oder teilweise vervielfältigt werden.

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der des BfS übereinstimmen.

BfS-RESFOR-41/11

Bitte beziehen Sie sich beim Zitieren dieses Dokumentes immer auf folgende URN:
urn:nbn:de:0221-201112226819

Salzgitter, Dezember 2011

Abschlussbericht für das Forschungsvorhaben

Auswirkungen wiederholter Exposition mit starken statischen Magnetfeldern des MRT auf die Endpunkte Fortpflanzung und Entwicklung im Tiermodell

Forschungsnehmer:

Universität Duisburg-Essen
Erwin L. Hahn Institut für Magnetresonanz
Institut für Molekularbiologie, Universitätsklinikum

Juli 2011

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

Inhaltsverzeichnis

1. Zielsetzung	4
2. Einleitung	4
3. Methoden	6
3.1 Exposition.....	6
3.1.1 MRT-Systeme.....	6
3.1.2 Bestimmung der magnetischen Flussdichten innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme.....	7
3.1.3 Bestimmung der Beleuchtungsstärke innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme.....	8
3.1.4 Bestimmung der Schallimmissionspegel innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme.....	8
3.1.5 Errichtung der Scheinexpositionsanlage.....	9
3.2 Versuchstiere.....	10
3.2.1 Versuchsgruppen.....	10
3.2.2 Analyse der Spermienqualität.....	12
3.2.2.1 Spermengewinnung.....	12
3.2.2.2 Bestimmung der Spermienkonzentration.....	13
3.2.2.3 Bestimmung der Spermienvitalität.....	13
3.2.2.4 Beurteilung der Spermienmorphologie.....	13
3.2.3 Schwangerschaftsverlauf und Wurfgröße schwangerer weiblicher Mäuse.....	14
3.2.4 Entwicklung und Fertilität von in utero exponierten Mäusen.....	15
3.2.4.1 Entwicklung der in utero exponierten Jungtiere (F1-Generation).....	15
3.2.4.2 Fertilität der in utero exponierten Jungtiere (F1-Generation).....	15
3.3. Statistische Methoden.....	16
4. Ergebnisse	19
4.1 Auswirkungen statischer Magnetfelder auf Hoden, Nebenhoden und Spermienqualität adulter exponierter Männchen.....	20
4.1.1 Gewichte von Hoden, Nebenhoden und Nebenhodenschwanz.....	20
4.1.2 Spermienkonzentration und –vitalität.....	21
4.1.3 Spermienmorphologie.....	22

4.2 Auswirkungen statischer Magnetfelder auf Schwangerschaftsverlauf und Wurfgröße schwangerer weiblicher Mäuse.....	25
4.2.1 Schwangerschaftsrate und Schwangerschaftsdauer.....	25
4.2.2 Wurfgröße und Geschlechterverteilung.....	26
4.2.3 Anteil Lebendgeburten.....	27
4.3 Entwicklung der in utero exponierten Jungtiere.....	28
4.3.1 Größe und Gewicht der Jungtiere.....	28
4.3.2 Fehlbildungen und Ausbildung der Augenanlagen.....	32
4.3.3 Entwicklungsparameter: Zeitpunkt des Augenöffnens.....	33
4.4 Fertilität der in utero exponierten Jungtiere.....	34
4.4.1 Gewichte von Hoden, Nebenhoden und Nebenhodenschwanz.....	34
4.4.2 Spermienkonzentration und –vitalität.....	36
4.4.3 Spermienmorphologie.....	37
4.4.4 Fertilität der in utero exponierten männlichen Mäuse.....	39
4.4.4.1 Schwangerschaftsrate.....	39
4.4.4.2 Anzahl Embryonen und Gewicht von Embryonen und Plazenten.....	40
4.4.5 Fertilität der in utero exponierten weiblichen Mäuse	41
4.4.5.1 Schwangerschaftsrate.....	41
4.4.5.2 Anzahl Embryonen und Gewicht von Embryonen und Plazenten.....	42
5. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen.....	45
Summary and conclusions.....	48
6. Literatur.....	52

Anhang: Literaturstudie

1. Zielsetzung

In dieser Studie wurden die Auswirkungen wiederholter Exposition mit unterschiedlich starken statischen Magnetfeldern bis zu einer Flussdichte von 7 Tesla auf die Spermiogenese bei männlichen adulten Mäusen sowie auf die Schwangerschaft und Embryogenese bei weiblichen Mäusen untersucht. Zudem wurde die Entwicklung und die Fertilität männlicher und weiblicher Mäuse getestet, die während ihrer gesamten Embryonalentwicklung in utero täglich statischen Magnetfeldern ausgesetzt worden waren.

2. Einleitung

Mit fortschreitender technischer Entwicklung steigt die Häufigkeit und Intensität, mit der Menschen magnetischen Feldern ausgesetzt sind. Dies betrifft unterschiedliche Bereiche wie die Industrie, das Transportwesen und physikalische Forschungsbereiche. Die Hauptquelle für die Exposition des Menschen mit starken Magnetfeldern ist jedoch die medizinische Bildgebung mittels Magnetresonanztomographie (MRT). Solche nicht-invasiven bildgebenden Verfahren haben in den letzten Jahren stark an Bedeutung für die klinische Diagnostik gewonnen und werden zunehmend eingesetzt. Allein in den USA wurden im Jahr 2007 über 27 Millionen MRT-Untersuchungen durchgeführt (OECD Health Data 2011). Hier hat sich auch eine rasante Entwicklung im Hinblick auf eine ständige Zunahme der Magnetfeldstärken vollzogen. Die Flussdichte der in der Medizin eingesetzten Systeme stieg stetig von 0,2T über 1,0T und 1,5T, die über die letzten 20 Jahre den Hauptanteil der klinisch eingesetzten Systeme stellten, bis hin zu MRT-Systemen mit einer Flussdichte von 3T, die inzwischen in die medizinische Routinediagnostik Eingang gefunden haben. Hochfeld-MRT-Untersuchungen mit 7 Tesla oder mehr werden bei Menschen seit der Entwicklung solcher Systeme vor etwa 10 Jahren bisher nur zu Forschungszwecken durchgeführt, sollen jedoch auf längere Sicht auch in die klinische Routinediagnostik Eingang finden. Obwohl verschiedene Mechanismen der Interaktion zwischen statischen Magnetfeldern und menschlichem Gewebe vorgeschlagen worden sind (Glover et al. 2007), ist über starke Nebenwirkungen der Exposition mit solch hohen Flussdichten bisher nichts bekannt, es wurden jedoch nur wenige Untersuchungen hierzu durchgeführt (Grimm und Schmitt 2006, Theysohn et al. 2007, Heilmaier et al. 2011).

Ein wichtiger und bisher wenig beachteter Aspekt im Hinblick auf die Exposition mit hoher magnetischer Flussdichte ist ihre Auswirkung auf die Fertilität, den Schwangerschaftsverlauf und die Embryonalentwicklung sowohl bei Patienten als auch beim technischen und medizinischen Personal am MRT (Feychting 2005). Hier besteht Klärungsbedarf, da die MRT-

Bildgebung zunehmend zur pränatalen Diagnose der Embryonalentwicklung, aber auch bei schwangeren Frauen im Hinblick auf Tumordiagnostik und cerebralen Blutflussänderungen sowie zur Beurteilung gynäkologischer Fragestellungen wie z.B. Präeklampsie oder Endometriose eingesetzt wird (Übersichtsartikel: De Wilde et al. 2005).

Gerade die einzelnen Vorgänge in der menschlichen Reproduktion wie Keimzellreifung, Befruchtung, Implantation und Embryonalentwicklung sind durch exogene Faktoren beeinflussbar (Arck et al. 2001, Knackstedt et al. 2005). Statische Magnetfelder interagieren mit sich bewegenden elektrisch geladenen Teilchen wie z.B. Ionen (Schenck 2005); zudem werden Kräfte auf unbewegliche ferromagnetische bzw. stark paramagnetische Gewebebestandteile ausgeübt (Kirschvink et al. 1992). Durch diese Interaktionen könnten z.B. Calcium-abhängige Signalwege (Albertini et al. 2003) oder auch die Anordnung der Phospholipid-Bilayern in Zellmembranen (Tiburu et al. 2001) beeinflusst werden. Solche Einflüsse könnten auch Effekte auf die embryonalen genetischen Programme haben und dadurch Zelldifferenzierungen während der Organogenese stören. Die zum Thema des Einflusses magnetischer Flussdichten auf die Fertilität und Embryonalentwicklung bereits vorhandenen Untersuchungen wurden zu Beginn des hier beschriebenen Projektes in einer Übersicht zusammengestellt. Diese Literaturübersicht ist diesem Abschlussbericht als Anhang angefügt.

Die schnelle Entwicklung dieser Technologie und ihre weit verbreitete Anwendung in der Medizin und auch in anderen Bereichen macht epidemiologische Studien und Grundlagenforschung notwendig, um das Gesundheitsrisiko abschätzen zu können. Um den Kenntnisstand über mögliche Effekte starker Magnetfelder auf die Fertilität und Embryonalentwicklung zu erweitern und mögliche Risiken zukünftig besser abschätzen zu können, wurde in der vorliegenden Studie im Mausmodell untersucht, ob starke magnetische Flussdichten einen Effekt auf die Spermiogenese, die Entwicklung und Implantation des Embryos in die Gebärmutter, auf die Plazentaentwicklung und den Schwangerschaftsverlauf sowie auch auf die postnatale Entwicklung der Nachkommen (Fehlbildungen, Entwicklung, Fertilität) haben können.

3. Methoden

3.1 Exposition

3.1.1 MRT-Systeme

Die Exposition fand in einem 1,5 Tesla (Siemens Magnetom Espree) sowie einem 7 Tesla (Siemens Magnetom 7T) MRT-System statt. Die Exposition der Tiere erfolgte zum einen im Isozentrum der MRT-Systeme, was der Position der Patienten bei der Untersuchung entspricht, sowie zum anderen am Eingang der Röhre seitlich von der Patientenliege, was der Position des medizinischen Personals entspricht. Es wurden weder Gradientenfelder noch Hochfrequenzen zugeschaltet, da der Fokus auf dem Einfluss des statischen Magnetfeldes lag. Bei dem 1,5 Tesla MRT handelt es sich um ein routinemäßig in der medizinischen Bildgebung verwendetes Gerät mit einer Breite von 2 m und einer Länge von 1,25 m (Abb. 1A-C). Der Durchmesser der Öffnung beträgt 70 cm. Das Siemens Magnetom 7T hat eine Breite von 2,4 m und eine Länge von 3,4 m. Die Öffnung hat einen Durchmesser von 60 cm (Abb. 1D-F). Es handelt sich um einen nicht aktiv abgeschirmten Magneten, weshalb eine passive Eisenabschirmung in der Außenwand des MRT-Raums nötig ist. Vor dem Beginn der Versuche wurden die magnetische Flussdichte, die Beleuchtungsstärke und die Schallimmissionspegel an den Expositionsorten gemessen.

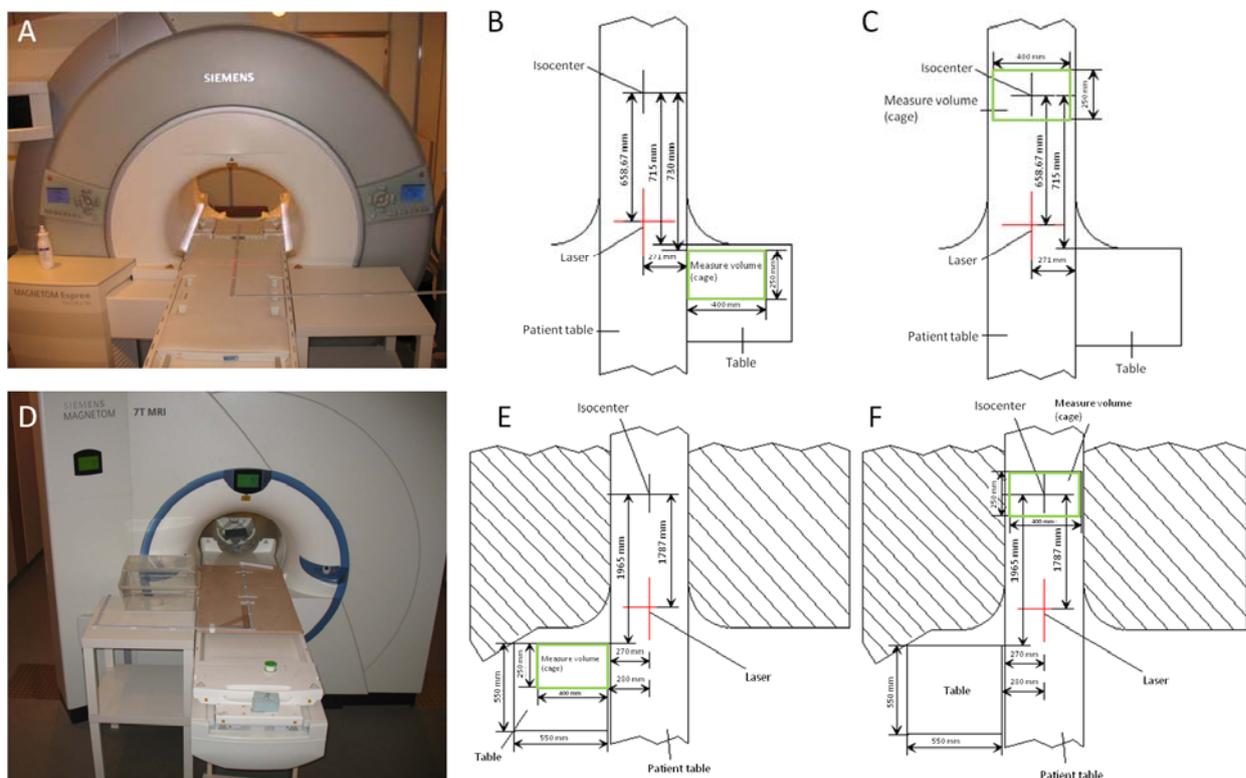


Abb. 1: Positionen der Magnetfeldmessungen im MRT-System und außerhalb. A-C: 1,5T-System, D-F: 7T-System. B, E zeigen die Käfigposition (grün) am Bore-Eingang, C, F im Isozentrum.

3.1.2 Bestimmung der magnetischen Flussdichten innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme

Mit der Bestimmung der magnetischen Flussdichte innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme wurde die Firma MR:comp GmbH (Gelsenkirchen, Deutschland) beauftragt. Zur Messung wurde ein Positioniersystem mit einem axialen Hall-Magnetometer FH 54 (Magnet Physik Dr. Steingroever GmbH, Köln, Deutschland, Genauigkeit = $\pm 2\%$) verwendet. Das Magnetfeld wurde im Bereich beider Käfigpositionen im Scanner und außerhalb des Scanners räumlich erfasst. Die Positionen relativ zum MRT-System können aus Abb. 1 ersehen werden. Im Isozentrum beider Systeme wurden 9 Messpunkte erfasst, entsprechend den Eckpunkten und dem Mittelpunkt der Käfige. Bei beiden MRT-Systemen lagen alle 9 Punkte innerhalb des homogenen Bereichs des Magneten; die magnetische Flussdichte war $1,495\text{T} \pm 0,0009\text{T}$ bzw. $6,979\text{T} \pm 0,0048\text{T}$. Außerhalb der MRT-Systeme wurde das komplette Käfigvolumen in einem kartesischen Gitter mit 50 mm Gitterabstand erfasst, entsprechend 216 Messpunkten ($9 \times 6 \times 4$ Punkte über das Käfigvolumen $40 \times 25 \times 15 \text{ cm}^3$) pro Käfigposition. Jede Messung wurde einmal durchgeführt. Abb. 2 zeigt beispielhaft die magnetische Flussdichte in einer Messebene im Käfig außerhalb der beiden MRT-Systeme. Tabelle 1 zeigt Mittelwert, Minimalwert, Maximalwert und Standardabweichung der magnetischen Flussdichte im Käfig am Geräteeingang für die Messpunkte in den Ebenen 0 und 5 cm oberhalb des Käfigbodens, sprich im Bereich, in dem die Tiere sich vorwiegend aufhalten können.

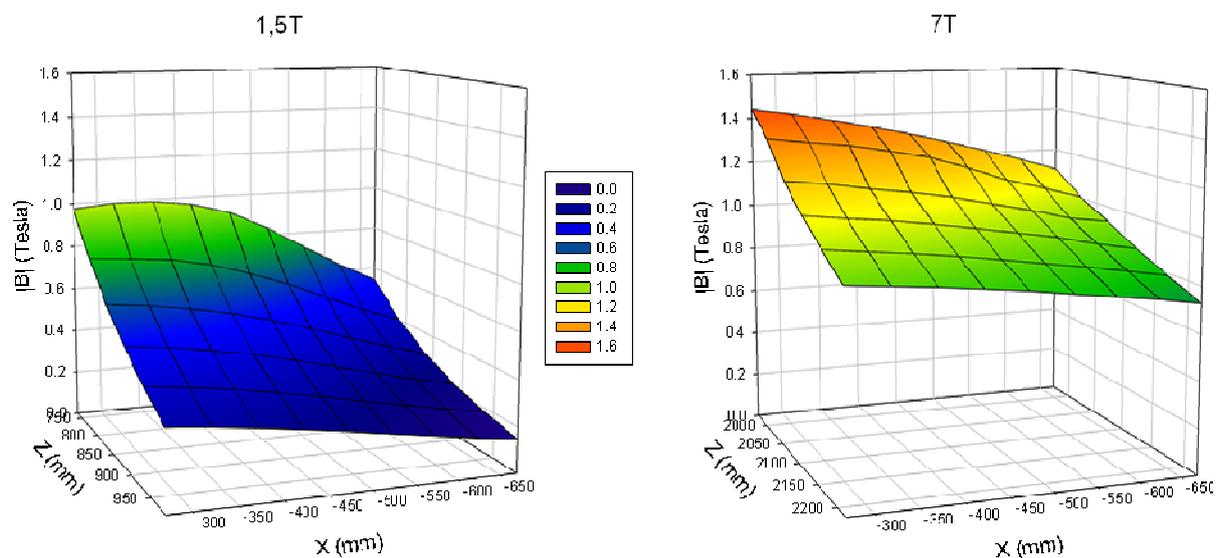


Abb. 2: Magnetische Flussdichte in Höhe des Bodens der Käfige außerhalb der MRT-Systeme für das 1,5T-System (links) und das 7T-System (rechts).

Tabelle 1: Mittelwert, Minimalwert, Maximalwert und Standardabweichung der magnetischen Flussdichte im Käfig am Eingang des Scanners für die Ebenen 0 und 5 cm oberhalb des Käfigbodens.

	Mittelwert	Min	Max	Std
1,5 T	0,4955 T	0,1458 T	0,9964 T	0,2338 T
7 T	1,0456 T	0,7278 T	1,4416 T	0,1821 T

3.1.3 Bestimmung der Beleuchtungsstärke innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme

Mit der Bestimmung der Beleuchtungsstärken innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme und des Scheinexpositionsgerätes wurde die Firma PZT GmbH (Wilhelmshaven, Deutschland) beauftragt. Die Messung der Beleuchtungsstärke wurde mit einem Luxmeter T1 (Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan) einmalig durchgeführt. Gemessen wurde jeweils innerhalb eines der verwendeten Käfige inklusive Deckel, sowohl im Isozentrum der Röhre als auch am Bore-Eingang. Bei 1,5T wurde nur die Beleuchtung des MRT-Systems verwendet, die Raumbeleuchtung wurde abgeschaltet, bei 7T wurden Raumbeleuchtung und Systembeleuchtung eingeschaltet, bei der Scheinexpositionsanlage wurden nur die angebrachten Leucht-Spots der Anlage verwendet. Das Luxmeter funktionierte im Magnetfeld problemlos. Die Ergebnisse der Messungen finden sich in Tabelle 2.

Tabelle 2. Beleuchtungsstärke innerhalb der Käfige an den Expositionsorten.

1,5 T	Bore-Eingang	196 Lux
	Isozentrum	34 Lux
7 T	Bore-Eingang	198 Lux
	Isozentrum	6 Lux
	Scheinexpositionsanlage	
	Zentrum	10 Lux

3.1.4 Bestimmung der Schallimmissionspegel innerhalb und außerhalb der MRT-Systeme

Mit den Schallmessungen wurde die Firma PZT GmbH (Wilhelmshaven, Deutschland) beauftragt. Es wurde am Bore-Eingang und in der Mitte der MRTs und der Scheinexpositionsanlage die Schallimmission gemessen. Das Messmikrofon befand sich dabei in einem Tierkäfig. Der Tierkäfig besteht aus zwei Hartplastik-Teilen: einer unteren und einer oberen Schale. Die Schalen sind mit kleinen Öffnungen versehen, durch die auch das Mikrofonkabel durchgeführt wurde. Zusätzlich wurden Messungen außerhalb des Tierkäfigs

durchgeführt. Das Mikrofonsignal wurde mit einer Abtastrate von 96 kHz als Zeitsignal aufgezeichnet. Damit sind Schallanalysen bis 48 kHz möglich. Die Zeitsignale wurden mit dem Signalanalyseprogramm FAMOS ausgewertet. Zusätzlich wurden auch Messungen mit einem Echtzeit-Sound-Analyzer-Tool durchgeführt. Als Mikrofon wurde ein ¼“ ICP Mikrofon Typ MI17 eingesetzt, nachdem festgestellt wurde, dass die Funktion des Mikrofons in dem hohen statischen Magnetfeld (1,5 Tesla bzw. 7 Tesla) nicht beeinträchtigt wurde. Das Mikrofon wurde über amagnetische Koaxialkabel mit dem zugehörigen Frontend verbunden. Das Frontend und die weitere Messtechnik befanden sich abgeschirmt im zugehörigen Bedienraum. Das ICP Mikrofon ist in einem Frequenzbereich von 20 Hz bis 40 kHz einsetzbar. Alle Messungen wurden einmalig durchgeführt.

Die Geräuschimmission im Scanner-Raum wird vorrangig durch die Cold Heads (Kühlmittelpumpen) und die Raumklimaanlage bestimmt. Die Schallimmission innerhalb des Tierkäfigs wird nochmals durch das schallharte Gehäuse des Käfigs gedämmt, insbesondere ab 500 Hz aufwärts zu höheren Frequenzen. Die Dämmung des Käfigs beträgt im Mittel ca. 10 dB. Mit dem menschlichen Ohr gehört, überwiegen die tieffrequenten rhythmischen Schallanteile der Kühlmittelpumpen und das breitbandige Geräusch der Klimaanlage. Maximal wurde ein A-bewerteter Schallpegel von 54,6 dBPa(A) gemessen (7T, Käfig in der Mitte der Röhre). Signifikante Schallsignale im Ultraschallbereich bis 40 kHz wurden nicht gemessen. Die Ergebnisse der Messung finden sich in Tabelle 3.

Tabelle 3: Schallpegel innerhalb der Käfige an den Expositionsorten.

	L_{eq} (A-bewertet)
1,5 T Bore-Eingang	44 dBA
Isozentrum	49 dBA
7 T Bore-Eingang	53 dBA
Isozentrum	55 dBA
Scheinexpositionsanlage	48 dBA

3.1.5 Errichtung der Scheinexpositionsanlage

Die Scheinexpositionsanlage wurde in Form einer Holzkonstruktion hergestellt. Die Röhre hat einen Durchmesser von 60 cm und eine Länge von 120 cm. Die Lichtintensität sowie die Geräuschkulisse wurden entsprechend den Verhältnissen im MRT-Untersuchungsraum simuliert. Die Schaffung gleicher Geräuschverhältnisse wurde durch Aufzeichnung der MRT-Geräusche

am 7T-MRT auf eine Compact-Disc (CD) ermöglicht. Diese wurde über Lautsprecher wiedergegeben. Die Schallfeldsimulation der Scheinexpositionsanlage wurde optimiert, in dem der Frequenzgang und die Lautstärke des simulierten Schalls an dem tatsächlich gemessenen Schallsignal im 7T-MRT angepasst wurden. Die Lichtverhältnisse wurden durch zwei Leuchtsots am Eingang der Scheinexpositionsröhre erzeugt (10 Lux). Die Maße der Scheinexpositionsanlage sind der Bauskizze in Abb. 3 zu entnehmen.

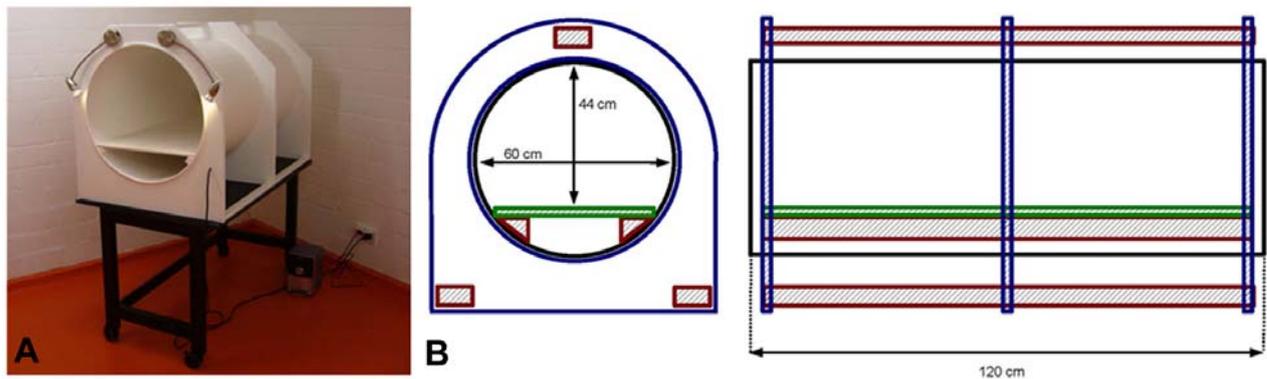


Abb. 3: A) Scheinexpositionsanlage. B) Quer- und Längsansicht und die Maße der Scheinexpositionsanlage.

3.2 Versuchstiere

Für alle Versuche wurden Mäuse des Stamms C57Bl/6J im Alter von 2-6 Monaten verwendet. Diese stammten aus der Zucht des Zentralen Tierlabors des Universitätsklinikums Essen. Die Mäuse wurden zu maximal 5 Tieren pro Käfig in Macrolon Typ 3-Käfigen mit einem Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden, einer Raumtemperatur von 21°C und einer Luftfeuchte von 55% gehalten. Sie erhielten Trockenfutter und Wasser ad libitum. Für alle Tierversuche lag eine Genehmigung der zuständigen Behörde vor (LANUV AZ 8.87-50.10.34.08.303).

3.2.1 Versuchsgruppen

Es wurden jeweils 4 Mäuse zusammen in einem Käfig exponiert/gehalten. Für die MRT-Expositionen wurden alle magnetischen Bestandteile aus den Käfigen entfernt. Die Exposition erfolgte für 75 Minuten täglich über einen Zeitraum von 21 Tagen bei den männlichen Mäusen und über einen Zeitraum von 18 Tagen (Tag 1,5 – 18,5 der Schwangerschaft) bei den schwangeren weiblichen Mäusen.

Es wurden insgesamt sechs verschiedene Versuchsgruppen gebildet. In jeder Versuchsgruppe sollten als geplante Gruppengröße 32 Weibchen und 32 Männchen exponiert werden.

Versuchsgruppe 0: Käfigkontrollen (Abb. 4A)

Die Mäuse dieser Gruppe wurden in den oben beschriebenen Käfigen im Zentralen Tierlabor des Universitätsklinikums Essen gehalten und erhielten keinerlei über die Verpaarung hinausgehenden Behandlungen.

Versuchsgruppe 1: Scheinexposition (Abb. 4B)

In dieser Versuchsgruppe wurden die Mäuse wie die exponierten Tiere behandelt, nur dass sie die entsprechenden Expositionszeiten statt in einem funktionellen MRT in einer Scheinexpositionsanlage verbrachten. Die Käfige wurden manuell an eine definierte zentrale Position innerhalb dieser Scheinexpositionsrohre positioniert, die dem Isozentrum des MRT-Systems entspricht.

Versuchsgruppe 2: Exposition am Eingang der Öffnung des 1,5T-MRT (Abb. 4C)

Für diese Exposition wurden die Käfige mit je 4 Mäusen auf eigens hierzu hergestellten metallfreien Holztischen platziert, so dass sich die Mäuse etwa auf Höhe der Keimzellen (Ovarien bzw. Hoden) des medizinischen Personals befanden.

Versuchsgruppe 3: Exposition im Isozentrum des 1,5T-MRT (Abb. 4C)

Es wurde jeweils ein Käfig mit 4 Mäusen auf die elektrisch einfahrbare Liege gestellt. Ein auf die Mitte des Käfigs fokussiertes Lichtkreuz diente nach dem Einfahren der Liege der automatischen Positionierung des Käfigs im Isozentrum des Magnetfeldes der Röhre.

Versuchsgruppe 4: Exposition am Eingang der Öffnung des 7T-MRT

Ebenso wie für Versuchsgruppe 3 beschrieben, wurden auch für diese Exposition die Käfige auf eigens hierzu hergestellten metallfreien Holztischen neben der Öffnung des MRT platziert. Position entsprechend Abb. 4C.

Versuchsgruppe 5: Exposition im Isozentrum des 7T-MRT

Die Käfige wurden auf eine definierte Stelle der Liege positioniert. Anschließend wurde das Isozentrum der Röhre mittels Laser bestimmt und die Liege elektronisch auf diese Position gefahren. Position entsprechend Abb. 4C.

Die Tiere aller Versuchsgruppen wurden vor und nach der täglichen Exposition im Tierlabor bei den unter Punkt 3.2 (Versuchstiere) genannten Bedingungen gehalten. Mit Ausnahme der

Käfigkontrollen (Versuchsgruppe 0) wurden die Mäuse zur Exposition jeweils in einen neuen Käfig mit 4 Mäusen umgesetzt und nach der Exposition zurückgesetzt.



Abb. 4: A. Käfighaltung, B. Scheinexposition, C. Exposition der Mäuse im Zentrum (Pfeil) und am Eingang (Pfeilspitze) des 1,5T-MRT.

Zur Verblindung der folgenden Auswertungen wurden die Tiere nach erfolgter Exposition von einer Person nummeriert und von einer anderen, die die Zuordnung der Nummern nicht kannte, ausgewertet.

3.2.2 Analyse der Spermienqualität

Die männlichen Mäuse (Alter 2-6 Monate) in den Versuchsgruppen 1-5 wurden 21 Tage lang für jeweils 75 Minuten exponiert. Am Tag der letzten MRT-Exposition wurden die Mäuse sowie die entsprechenden Käfigkontrollen durch zervikale Dislokation getötet und das Körpergewicht bestimmt. Anschließend wurden jeweils Hoden und Nebenhoden entnommen und das Gewicht von Hoden, Kopf (Caput) und Körper (Corpus) des Nebenhodens sowie getrennt davon das Gewicht des Nebenhodenschwanzes (Cauda epididymidis) in Relation zum Körpergewicht ermittelt.

3.2.2.1 Spermengewinnung

Zur Spermengewinnung wurde der Nebenhodenschwanz, in dem die Spermien gespeichert werden, in M16-Medium (Sigma) zerkleinert, so dass die Spermien freigesetzt wurden. Nach 1 Minute wurden größere verbliebene Stücke des Nebenhodens aus der Multiwellkammer entfernt und die Spermien in der Lösung gleichmäßig suspendiert.

3.2.2.2 Bestimmung der Spermienkonzentration

Die Bestimmung der Spermienkonzentration erfolgte mit Hilfe einer Fast-Read-Zählkammer (Schwarz Pharma) und eines mechanischen Zellen-Zählgeräts mit 5 Zähltagen (Fa. VWR).

3.2.2.3 Bestimmung der Spermiovitalität

Zur Bestimmung der Vitalitätsrate wurden 40 µl der Spermienlösung mit 40 µl 0,5%iger Eosinlösung in 0,9% NaCl vermischt. Nicht vitale Spermien zeigten einen durch das Eosin rot angefärbten Spermienkopf, da die Plasmamembran nach Vitalitätsverlust permeabel für das Eosin wird. Nach 5 Minuten Inkubationszeit erfolgte die Auszählung der Spermienzellen ebenfalls in einer Fast-Read-Zählkammer unter einem inversen Mikroskop mit Hilfe eines mechanischen Zellen-Zählgeräts mit 5 Zähltagen (Fa. VWR).

3.2.2.4 Beurteilung der Spermienmorphologie

Zur Beurteilung der Spermienmorphologie wurden 10 µl der unter Punkt 3.2.2.1 beschriebenen Spermien suspension auf Objektträger ausgestrichen. Nach einer Lufttrocknung von 15 Minuten bei Raumtemperatur erfolgte die Färbung der Spermien mit dem SpermacStain Färbekit (MediCult) nach Angaben des Herstellers.

Von jeder Maus wurden randomisiert 2 x 100 Spermien jeder Spermien suspension ausgezählt. Es wurden folgende fünf Gruppen unterschieden: 1) normal entwickelte Spermien sowie Spermien mit 2) Kopf-, 3) Akrosom-, 4) Mittelstück- und 5) Flagellumdefekten. Durch die SpermacStain Färbung sind diese Spermienbestandteile voneinander gut abgrenzbar. Das Akrosom ist dunkel grün, der Nukleus im Spermienkopf rot und Mittelstück und Flagellum hellgrün gefärbt (Abb. 5).

Der Kopf des Spermiums befindet sich bei der Normform in einer fortlaufenden Längsachse mit dem Mittelstück. Er weist eine ovale Grundform auf, die sich in Richtung Akrosom verjüngt (Abb. 5A,B). Als Kopfdefekte wurden nicht normgerecht geformte Köpfe (Eindellungen, rundlich aufgetriebene Köpfe) sowie Lageveränderungen des Kopfes im Vergleich zum Mittelstück definiert (Abb. 5D). Das normgeformte Akrosom liegt sichelförmig und spitz zulaufend dem sich verjüngenden Spermienkopf auf (Abb. 5B). Als Akrosomdefekte wurden deformierte oder zu stark gebogene Sichel sowie Fragmentverluste des Akrosoms definiert (Abb. 5E). Das Mittelstück der Spermien beginnt fortlaufend in der Längsachse des Kopfstückes und ist geradlinig bis leicht konkav oder konvex geformt. Es endet im Übergang zum Flagellum sichtbar durch den kleineren Durchmesser des Flagellums (Abb. 5A). Als Mittelstückdefekte wurden starke Verbiegung kurz vor dem Kopfansatz oder im weiteren Verlauf des Mittelstückes

(Abknicken $> 90^\circ$ oder Aufrollen des Mittelstückes) sowie zystische Erweiterung im Verlauf des Mittelstückes definiert. Das Flagellum schließt sich an das Mittelstück an und bildet dessen Verlängerung. Es ist geradlinig bis konkav oder konvex geformt und teilweise leicht wellenförmig (Abb. 5A). Als Flagellumdefekte wurden Fragmentverluste des Flagellums, zystische Erweiterungen im Verlauf des Flagellums sowie Aufwicklungen des Flagellums (Abb. 5C) definiert.

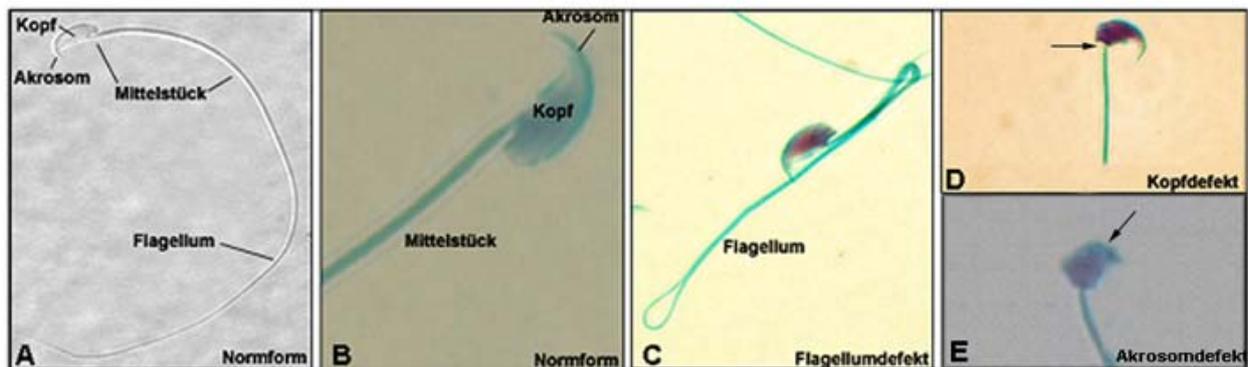


Abb. 5: Aus dem Nebenhodenschwanz extrahierte Spermien. A, B) Normformen, C) Spermium mit einer Aufwicklung des Flagellums, D) Spermium mit einer Lageveränderungen des Kopfes im Vergleich zum Mittelstück (Pfeil), E) Spermium mit Akrosomdefekt (Pfeil).

3.2.3 Schwangerschaftsverlauf und Wurfgröße schwangerer weiblicher Mäuse

Acht Wochen alte weibliche Mäuse wurden zu zweit über Nacht mit jeweils einem Männchen verpaart. Das Vorhandensein eines Vaginalpfropfs am nächsten Morgen wurde als Tag 0,5 der Schwangerschaft (days post coitum = dpc) definiert. Nur die Weibchen, die einen Vaginalpfropf zeigten, wurden in die Versuche eingeschlossen. Die Tiere der Versuchsgruppen 1-5 wurden vom darauffolgenden Tag an, also ab Tag 1,5 pc (post coitum) bis einschließlich Tag 18,5 pc, über den gesamten Verlauf der Schwangerschaft täglich für jeweils 75 Minuten exponiert. Hierbei wurden wie auch bei den Männchen immer 4 Mäuse pro Käfig exponiert. Nach der letzten Exposition an Tag 18,5 pc wurden die Weibchen getrennt und einzeln in Käfigen gehalten.

Pro Versuchsgruppe sollten 32 schwangere Mäuse exponiert bzw. untersucht werden. Da jedoch nicht jede Maus, die einen Vaginalpfropf aufwies, auch schwanger wurde, wurden pro Gruppe zusätzlich mindestens 10 Mäuse mit Vaginalpfropf untersucht / exponiert (s. Tabelle 5). Durch geringere Fallzahlen (s. Tabelle 5) ist die statistische Power in drei diesen Gruppen etwas reduziert, jedoch reichen diese Fallzahlen aus um starke Effekte detektieren zu können; zudem

kann man mit Hilfe der Konfidenzintervalle die Effektstärke unter Einbeziehung der realisierten Fallzahl beurteilen.

Nach der Exposition warfen die schwangeren Mäuse im Zeitraum von 18,5–21,5 dpc. Es wurden Schwangerschaftsdauer, Wurfgröße und Geschlechterverteilung der Jungtiere bestimmt. Zudem wurden die Jungtiere am Tag der Geburt auf makroskopisch sichtbare Fehlbildungen wie Nabelschnurbruch (Omphalozele), Hirnbruch (Enzephalozele) oder Fehlbildungen der Extremitäten (Dysmelien) sowie das Vorhandensein beider Augenanlagen untersucht.

Bei den Weibchen, die bis zum Tag 21,5 pc nicht geworfen hatten, wurde der Uterus entnommen, longitudinal aufgeschnitten und auf das Vorhandensein von sichtbaren Resorptionsstellen untersucht.

3.2.4 Entwicklung und Fertilität von in utero exponierten Mäusen

3.2.4.1 Entwicklung der in utero exponierten Jungtiere (F1-Generation)

Die Jungtiere wurden nach der Geburt einzeln gewogen und die Kopf-Steiß-Länge mit Hilfe eines Lineals gemessen. Die Messung der Kopf-Steiß-Länge erfolgte täglich während der ersten 7 Lebenstage. Die Bestimmung des Gewichtes erfolgte in der ersten Lebenswoche täglich, danach bis zum Tag 21 post partum jeweils zweitägig und von Tag 21 bis Tag 56 ein Mal wöchentlich. Als Entwicklungsparameter wurde zudem der Zeitpunkt des Augenöffnens dokumentiert.

Die Jungtiere wurden 3 Wochen lang gesäugt und danach von der Mutter getrennt.

3.2.4.2 Fertilität der in utero exponierten Jungtiere (F1-Generation)

Nach Erreichen der Geschlechtsreife im Alter von acht Wochen wurden pro Versuchsgruppe jeweils 32-38 weibliche und 29-33 männliche Jungtiere (vgl. Tabelle 5) randomisiert aus den verschiedenen Würfen entnommen und mit unbehandelten Partnern verpaart.

Zur Untersuchung der Fertilität der in utero exponierten Weibchen der F1-Generation wurden jeweils zwei Weibchen mit einem unbehandelten geschlechtsreifen Männchen für einen Zeitraum von maximal 20 Tagen verpaart. Zur Untersuchung der Fertilität der in utero exponierten Männchen der F1-Generation wurde jeweils ein Männchen mit zwei unbehandelten geschlechtsreifen Weibchen für einen Zeitraum von maximal 20 Tagen verpaart.

Innerhalb dieses Zeitraums erfolgte jeden Morgen eine Kontrolle des Vaginalpfropfs. Weibliche Mäuse mit einem Vaginalpfropf (= 0,5 dpc) wurden vom Männchen getrennt und separat in herkömmlicher Käfighaltung gehalten. Nach erfolgter Pfropf-Bildung oder aber spätestens nach 20 Tagen Verpaarung wurden die Männchen getötet und die Spermien wie unter 3.2.2 beschrieben analysiert.

Die Analyse der Embryonen und Plazenten sowie das Vorkommen eventueller Resorptionsstellen, an denen der Embryo intra-uterin abgestorben war, erfolgte in den schwangeren Weibchen an Tag 17,5 pc. Hierzu wurden die schwangeren Weibchen mittels zervikaler Dislokation getötet und der Uterus mit den darin enthaltenen Embryonen, die im Uterus bicornis perlschnurartig aufgereiht sind, entnommen. Die Embryonen wurden gezählt und mit den zugehörigen Plazenten aus dem Uterus herauspräpariert (Abb. 6). Die Plazenten wurden abgetrennt und das Gewicht der Embryonen und der Plazenten bestimmt. Zudem wurden die Embryonen makroskopisch auf Fehlbildungen untersucht.

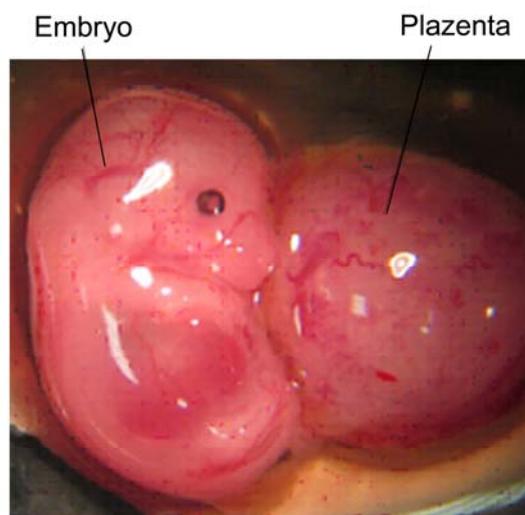


Abb. 6: Embryo mit zugehöriger Plazenta am Tag 17,5 der Schwangerschaft.

3.3. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte im Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie des Universitätsklinikums Essen. Um mögliche Effekte statischer Magnetfelder auf Merkmale exponierter Mäuse zu analysieren, wurden Methoden der deskriptiven und schließenden Statistik angewendet. Zur deskriptiven graphischen Darstellung der Ergebnisse wurden Boxplots (quantitativ stetige Merkmale) und Balkendiagramme (kategoriale Merkmale) erstellt, die einen ersten Überblick der Merkmalsverteilung in den

Gruppen liefern. In den Boxplots wurde die „Box“ durch das 25% und das 75% Perzentil definiert (der Median – das 50% Perzentil – wurde horizontal markiert); die „Whisker“ sind gemäß der Definition von Tukey durch das 1,5-fache des Interquartilsabstands (Länge der „Box“) angegeben.

Es wurden zwischen allen sechs Versuchsgruppen zudem paarweise Vergleiche bezüglich Merkmalsunterschieden durchgeführt. Bei quantitativen stetigen Merkmalen wie der Hodengröße wurden Zwei-Stichproben t-Tests für unabhängige Gruppen angewendet (heterogene Varianzen). Um auf Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung zu testen, wurde der χ^2 -Test bzw. Fishers exakter Test herangezogen. Aus den Ergebnissen der schließenden Statistik wurden zudem Abbildungen erzeugt, die die Punktschätzer und 95% Konfidenzintervalle von Merkmalsunterschieden der paarweisen Vergleiche abbilden, um die Effektstärke möglicher Unterschiede und mögliche Dosis-Wirkungsbeziehungen darzustellen. Die longitudinale Entwicklung der in utero exponierten Jungtiere wurde mit Hilfe eines gemischten linearen Modells analysiert (fester Effekt: Versuchsgruppe, Tag (linear); zufälliger Effekt: Tier („random intercept“)).

In Studien deren Hauptanliegen der Nachweis von Unterschieden ist, kommen häufig Methoden der Kontrolle des Fehlers 1. Art (die bekannteste ist die Bonferroni Prozedur) zum Einsatz, um das Problem der multiple Tests zu adressieren. Eine strenge Kontrolle des Fehlers 1. Art (Annahme eines Effekts, obwohl in Wahrheit kein Effekt vorhanden ist) bei sonst gleichbleibendem Versuchsaufbau resultiert jedoch in einer geringen statistischen Macht („Power“ – der Möglichkeit einen Effekt aufzudecken, wenn er wirklich vorhanden ist) der Studie. Da das Hauptanliegen der vorliegenden Untersuchung das Aufdecken möglicher Effekte statischer Magnetfelder auf Merkmale exponierter Mäuse war (Fokus auf Sicherheit), wurde keine strenge Kontrolle des Fehlers 1. Art vorgenommen. Für eine gewisse Kontrolle des Fehlers 1. Art wurde ein Hinweis auf das Vorliegen eines Effektes des Magnetfeldes nur dann angenommen, wenn sich beobachtbare Unterschiede zu beiden Kontrollgruppen, Käfigkontrollen und scheinexponierte Kontrolltiere, zeigten.

Tabelle 4 liefert Angaben über die statistische Macht („Power“) der Versuchsanordnung mögliche Effekte statischer Magnetfelder auf Merkmale im paarweisen Vergleich entdecken zu können. Da die geplanten Untersuchungen in dieser Form noch nicht durchgeführt worden waren, liegen noch keine belastbaren Daten vor, aus denen die zu erwartende Varianz oder Effekte abschätzbar sind. Aus diesem Grund wurde eine Powerberechnung durchgeführt, die diesen Unsicherheiten Rechnung trägt, indem sie mehrere Szenarien unter Variation von

Effektstärken und Varianzen für eine quantitative Zielgröße im Zwei-Stichproben t-Test für unabhängige Gruppen (heterogene Varianzen) für eine Gruppengröße von n=32 abbildet.

Tabelle 4: Statistische Macht („Power“) von paarweisen Vergleichen für n=32 pro Gruppe^a und variierende Effektstärken und Varianzen im Zwei-Stichproben t-Test.

Standardabweichung in Gruppe 1	Standardabweichung in Gruppe 2	statistische Macht („Power“) ^b in % für einen angenommenen Effekt ^c				
		0,25	0,5	0,75	1,00	1,50
0,5	0,5	50	97	99	99	99
	1,0	23	69	95	99	99
	1,5	14	41	74	93	99
1,0	0,5	23	69	95	99	99
	1,0	16	50	83	97	99
	1,5	12	33	63	86	99

^a für den Fall n=23 (kleinste Fallzahl für den Vergleich exponierter schwangerer Weibchen) rangierte die „Power“ zwischen 9 und 99 %

^b nominelles Signifikanzniveau $\alpha=0.05$ (zweiseitig)

^c Effekte als Mittelwertsunterschied in Einheiten von Standardabweichungen der Gruppen

4. Ergebnisse

Zur Untersuchung eines möglichen Einflusses unterschiedlich starker magnetischer Flussdichten auf die Fertilität und Embryonalentwicklung wurden männliche sowie schwangere weibliche Mäuse zum einen im Isozentrum, zum anderen am Bore-Eingang eines 1,5T- und eines 7T-MRTs exponiert. Generell wurden zu allen Experimenten zwei Kontrollgruppen mitgeführt. Zum einen Käfigkontrollen, bei denen die Tiere keine über die Verpaarung hinausgehenden Behandlungen erfuhren und an ihrem Platz im Zentralen Tierlabor verblieben. Zum anderen scheinexponierte Tiere, die in eine Scheinexpositionsrohre positioniert wurden, in der die Bedingungen bezüglich Lichtintensität und Lautstärke denen im MRT entsprachen (s. 3.1.5), jedoch kein Magnetfeld angelegt wurde. Als signifikant wurde ein Effekt nur dann angesehen, wenn sich statistische Hinweise für einen Effekt im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen zeigten.

Die insgesamt analysierten Tiere pro Gruppe sind in der Übersicht in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Übersicht über die Anzahl analysierter Versuchstiere (SS=Schwangerschaften)

Versuchsgruppe		Weibchen			Jungtiere F1	F1 Männchen				F1 Weibchen		
		adulte Männchen	mit Ppropf	davon schwanger		Analyse Hoden	verpaart	analys. SS	analys. Embryonen	verpaart	analys. SS	analys. Embryonen
0	Käfigkontrollen	32	63	35	178	32	32	53	276	38	30	137
1	Scheinexposition	32	48	32	185	33	33	49	196	32	28	170
2	1,5T Bore-Eingang	32	49	23	95	32	32	47	146	32	25	125
3	1,5T Isozentrum	32	51	26	127	29	29	46	198	34	24	123
4	7T Bore-Eingang	32	42	25	132	33	33	47	196	32	25	122
5	7T Isozentrum	32	58	39	227	33	33	52	200	32	26	118

4.1 Auswirkungen statischer Magnetfelder auf Hoden, Nebenhoden und Spermienqualität adulter exponierter Männchen

4.1.1 Gewichte von Hoden, Nebenhoden-Kopf/Körper und Nebenhodenschwanz

Die Gewichte von Hoden, Nebenhoden-Kopf/Körper und Nebenhodenschwanz wurden bestimmt und in Relation zum jeweiligen Körpergewicht der Mäuse dargestellt. Für die männlichen Mäuse, die über einen Zeitraum von 21 Tagen täglich für 75 Minuten im Isozentrum des 7T-MRT exponiert wurden, zeigte sich ein statistisch signifikanter Hinweis auf eine erhöhtes Hodengewicht im Vergleich zu den Käfigkontrollen ($p=0,006$) (Abb. 7A) sowie zu den scheinexponierten Kontrollen ($p=0,0099$) (Abb. 7B). Ebenso war das Gewicht des Nebenhodenschwanzes in dieser Versuchsgruppe im Vergleich zu den Käfigkontrollen ($p=0,043$) sowie zu den scheinexponierten Kontrollen ($p=0,004$) signifikant erhöht. Die Steigerung des Gewichtes von Nebenhoden-Kopf/Körper erreichte jedoch bei den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren nicht das Signifikanzniveau von $\alpha=5\%$.

Eine tendenzielle Erhöhung der Hoden-, Nebenhoden-Kopf/Körper- und Nebenhodenschwanz-Gewichte zeigte sich auch in den am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere, während die Gewichte bei den im Isozentrum des 1,5T-MRT exponierten Tiere im Vergleich zu allen anderen Versuchs- und den Kontrollgruppen tendenziell erniedrigt waren (Abb. 7).

Zusammengefasst waren somit das Gewicht von Hoden und Nebenhodenschwanz in Relation zum Körpergewicht bei den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten männlichen Mäusen im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen signifikant erhöht.

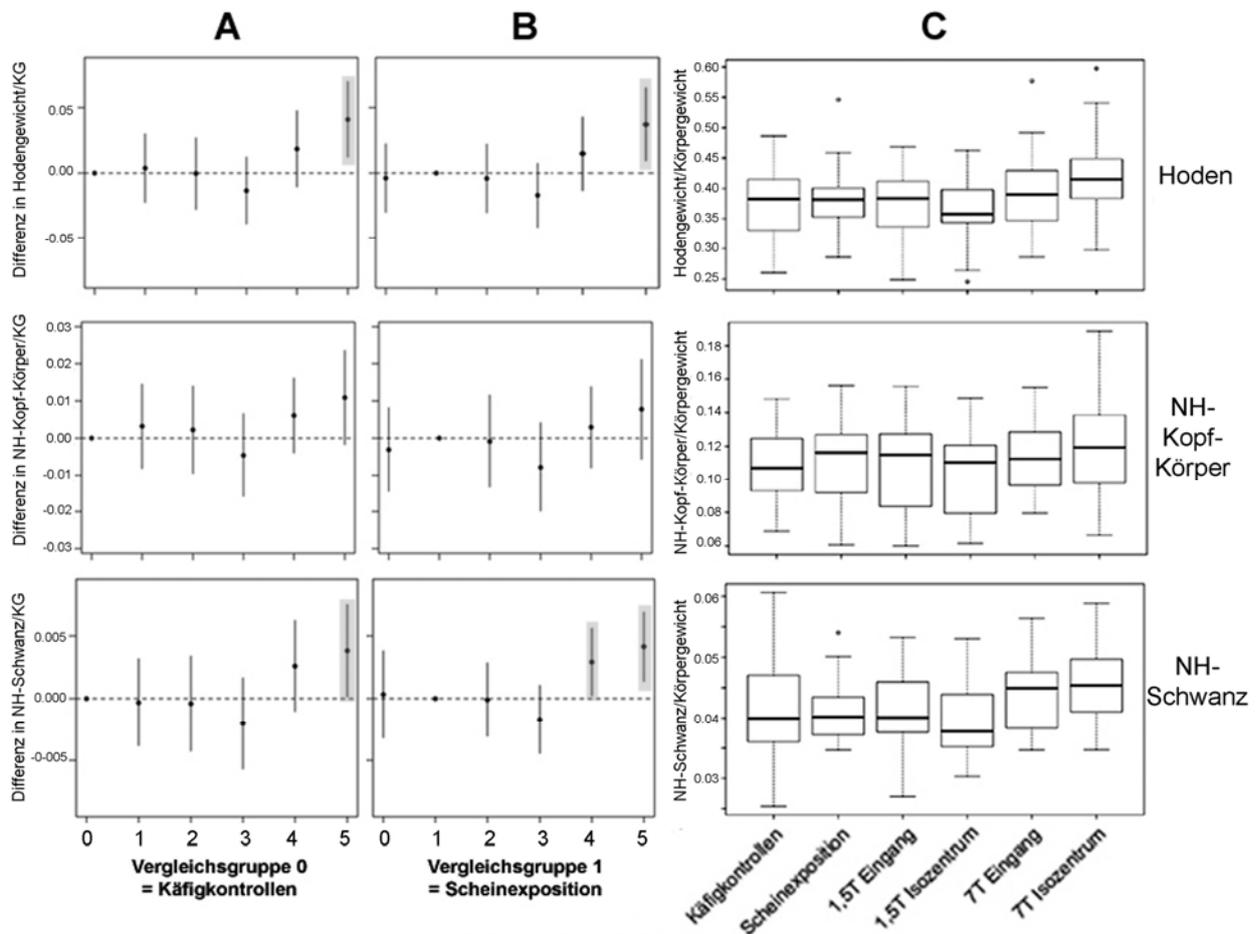


Abb. 7: Gewichte von Hoden, Nebenhoden-Kopf/Körper und Nebenhodenschwanz der unterschiedlichen magnetischen Flussdichten ausgesetzten männlichen Mäuse in Relation zum Körpergewicht (KG). A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen. C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen. 0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.1.2 Spermienkonzentration und -vitalität

In Bezug auf die Spermienkonzentration zeigte sich eine tendenzielle Erhöhung bei den am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere und eine signifikante Erhöhung bei den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Mäusen im Vergleich zur Käfigkontrolle ($p=0,0095$, Abb. 8A) und zur scheinexponierten Kontrollgruppe ($p=0,0171$, Abb. 8B). Diese Steigerung war in denselben Versuchsgruppen zu beobachten für die zuvor Hinweise auf Erhöhungen des Gewichts des Hodens und des Nebenhodenschwanzes beobachtbar waren (vgl. Abb. 7). Im Vergleich zu beiden Kontrollen erniedrigt war dagegen die Spermienkonzentration bei den am Bore-Eingang des 1,5T-MRT exponierten Mäusen ($p<0,05$).

Im Hinblick auf die Spermienvitalität konnten keine Hinweise auf statistisch signifikante Effekte der Magnetfeld-Exposition gefunden werden (Abb. 8A-C).

Zusammenfassend zeigte sich somit eine signifikante Steigerung des Hoden- und Nebenhodenschwanzgewichtes und der Spermienkonzentration bei den im 7T-MRT exponierten männlichen Mäusen im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen. Die Hinweise auf Änderungen im Hodengewicht und der Spermienkonzentration bei Magnetfeldexposition korrelieren jedoch nicht mit einer erhöhten oder erniedrigten Spermienvitalität.

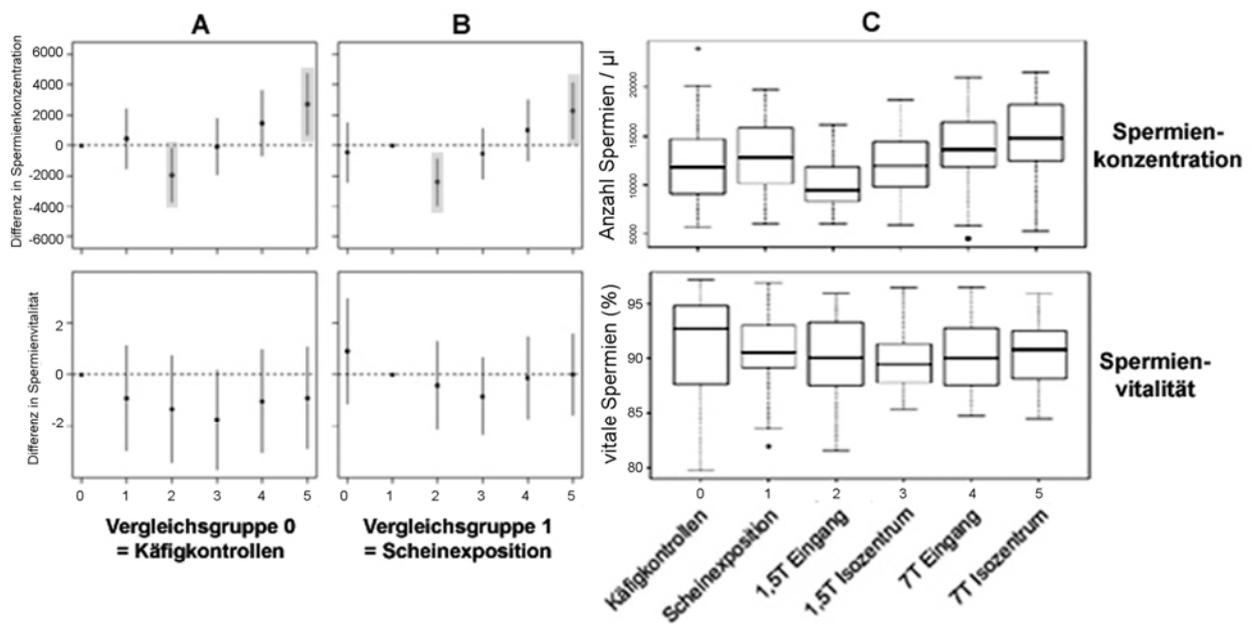


Abb. 8: Spermienkonzentration und -vitalität der unterschiedlichen magnetischen Flussdichten ausgesetzten männlichen Mäuse.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.1.3 Spermienmorphologie

Bei den im Isozentrum des 1,5T- und 7T-MRT sowie den am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere zeigte sich tendenziell ein prozentual höherer Anteil von Spermien mit intakter Morphologie, der aber oberhalb des Signifikanzniveaus von $\alpha=5\%$ lag (Abb. 9A,B). Zudem zeigte sich ein Trend zur Abnahme des Anteils an Mittelstückdefekten im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen, der nur für die im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Mäuse signifikant war ($p=0,031$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, $0,017$ im Vergleich zur Scheinexposition), sowie

eine tendenzielle Abnahme von Akrosomendefekten im Vergleich zu den scheinexponierten Tieren, nicht aber zur Käfigkontrolle, während für Flagellumdefekte kein Hinweis auf Gruppenunterschiede zu beobachten war (Abb. 9A-C). Im Vergleich zu den Kontrollen zeigte sich jedoch eine leichte Erhöhung des Anteils an Spermien mit Kopfdefekten bei den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren, die jedoch oberhalb des Signifikanzniveaus von $\alpha=5\%$ lag (Abb. 9A,B).

Zusammenfassend zeigte die Analyse der Morphologie einzelner Spermienkomponenten somit überwiegend morphologisch intakte Spermien. Nach Magnetfeldexposition nahmen vor allem Mittelstückdefekte ab; diese Abnahme erreichte das Signifikanzniveau von $\alpha=5\%$ bei den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen. Zudem nahm die Anzahl von Spermien mit Akrosomdefekten im Vergleich zu den scheinexponierten Kontrollen ab. Insgesamt gehen somit die in Abb. 8 dargestellten Hinweise auf Erhöhungen der Spermienkonzentration bei Magnetfeldexposition nicht mit Hinweisen auf erhöhte Raten an fehlgebildeten Spermien, sondern tendenziell eher mit einer Erhöhung morphologisch intakter Spermien einher.

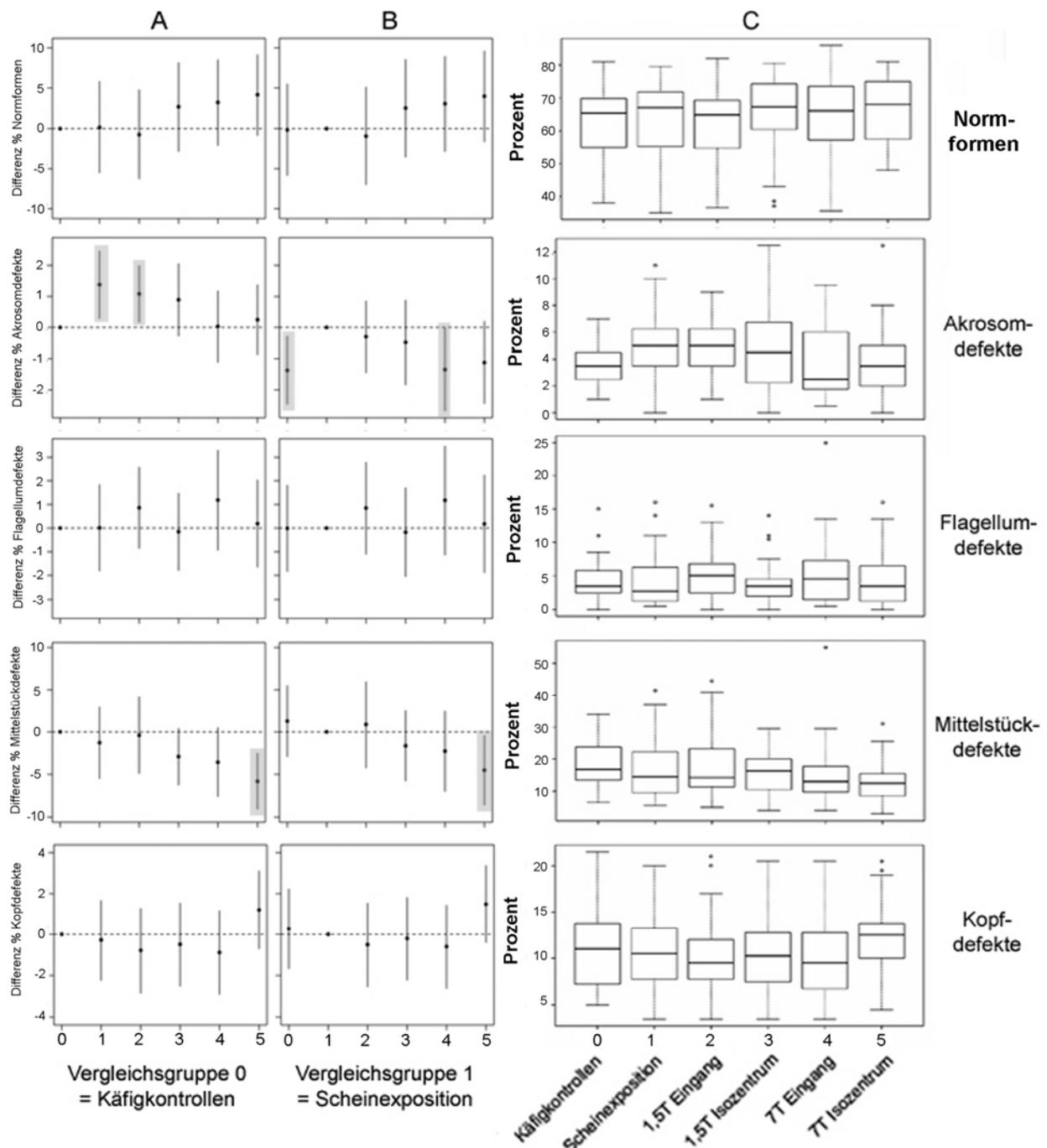


Abb. 9: Anteil der morphologisch normal geformten Spermien sowie der Spermien mit Akrosom-, Flagellum-, Mittelstück- oder Kopfdefekten in den unterschiedlichen magnetischen Flussdichten ausgesetzten männlichen Mäusen.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.2 Auswirkungen statischer Magnetfelder auf Schwangerschaftsverlauf und Wurfgröße schwangerer weiblicher Mäuse

4.2.1 Schwangerschaftsrate und Schwangerschaftsdauer

Die Schwangerschaftsrate ist bei Mäusen trotz des Vorhandenseins eines Vaginalpfropfes hoch variabel. Um eine ausreichend hohe Anzahl schwangerer Weibchen zu erhalten, wurden daher deutlich mehr gepaarte Weibchen mit Vaginalpfropf exponiert als die festgelegte Gruppengröße von 32 Tieren, da nicht alle dieser Weibchen tatsächlich schwanger waren. Nach Auswertung aller Versuche resultierte eine Anzahl tatsächlich schwangerer Weibchen von 23–39 pro Versuchsgruppe, wobei die Gruppengröße bei den mit der stärksten Flussdichte von 7T exponierten Weibchen $n=39$ betrug (vgl. Tabelle 5).

Im Hinblick auf die Schwangerschaftsrate ließen sich keine Hinweise auf einen Effekt der Magnetfeldexposition im Vergleich zu den Käfigkontrollen nachweisen. In der scheinexponierten Kontrollgruppe lag die Schwangerschaftsrate signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($p=0,0166$) sowie auch bei den am Bore-Eingang ($p=0,002$) und im Isozentrum ($p=0,0064$) des 1,5T-MRT und am Bore-Eingang des 7T-MRT ($p=0,0465$) exponierten Tieren, nicht aber im Vergleich zu den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren ($p=0,2622$) (Abb. 10). Somit zeigte sich deskriptiv eine erniedrigte Schwangerschaftsrate in den Tieren, die kleineren magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren. Es fanden sich keine Hinweise auf Effekte der Magnetfeldexposition auf die Dauer der Schwangerschaft. Die Uteri der Weibchen, die trotz Vaginalpfropf nicht geworfen hatten, wiesen in allen Versuchsgruppen keine Resorptionsstellen auf, so dass eine Schwangerschaft nicht vorgelegen hatte.

Zusammenfassend zeigten sich somit keine statistischen Hinweise auf eine Korrelation der Schwangerschaftsrate oder der Schwangerschaftsdauer zur Stärke des Magnetfeldes.

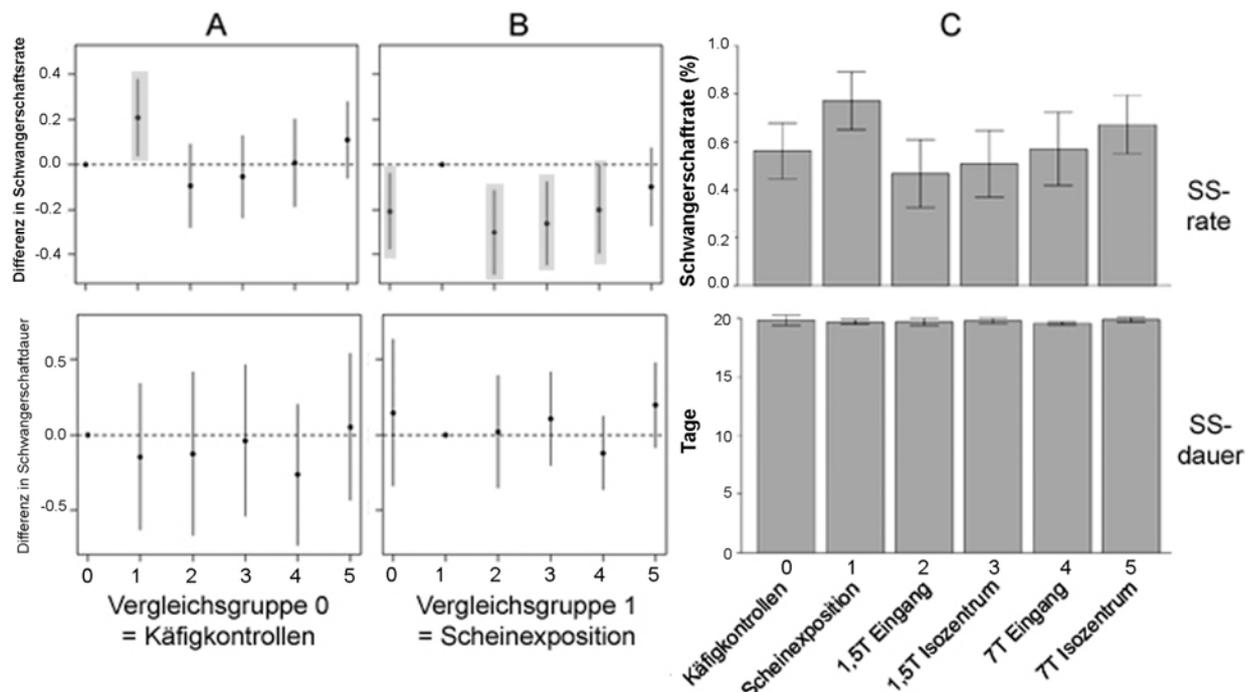


Abb. 10: Schwangerschaftsrate und -dauer bei weiblichen Mäusen, die während der Schwangerschaft unterschiedlich starken magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Darstellung des Mittelwerts und der Standardabweichungen der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.2.2 Wurfgröße und Geschlechterverteilung

Im Hinblick auf die Wurfgröße und das Verhältnis von weiblichen zu männlichen Nachkommen waren keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen zu beobachten. Es zeigte sich somit bezüglich dieser Parameter kein Hinweis auf einen möglichen Einfluss der Magnetfeldexposition (Abb. 11).

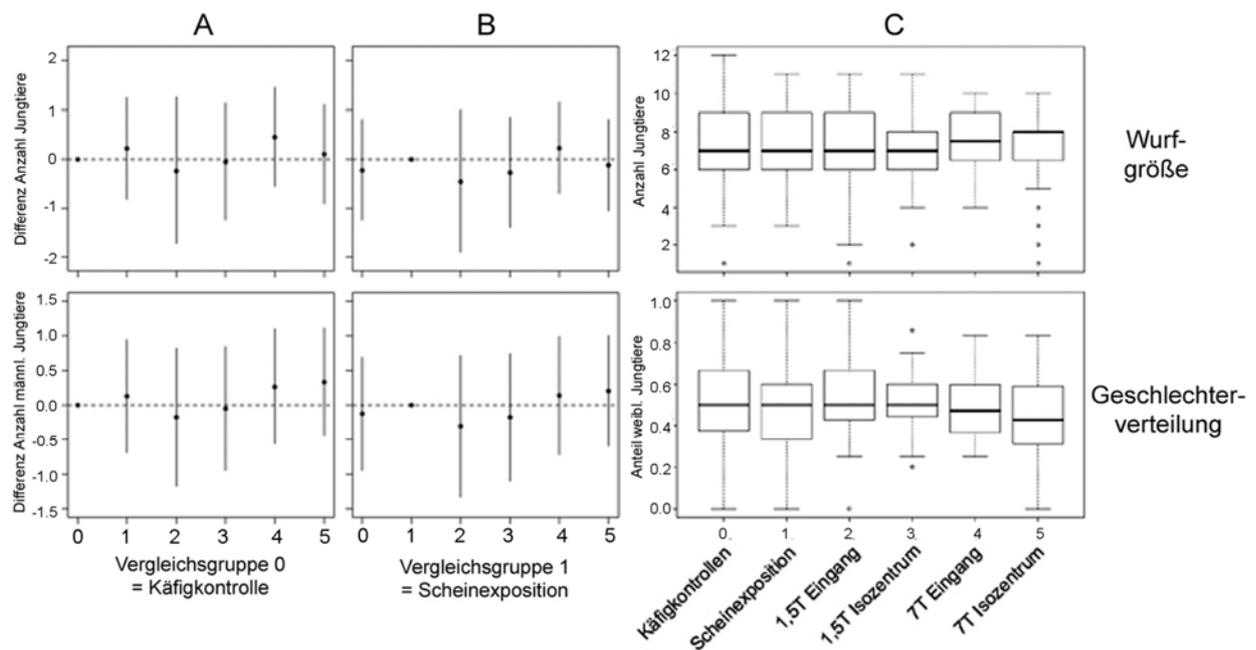


Abb. 11: Wurfgröße und Geschlechterverteilung der Nachkommen innerhalb dieser Würfe weiblicher Mäuse, die während der Schwangerschaft unterschiedlich starken magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet. A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.2.3 Anteil an Lebendgeburten

Der Anteil an Lebendgeburten war in allen exponierten Versuchsgruppen deskriptiv höher als in den beiden Kontrollgruppen. Im Vergleich zu den scheinexponierten Kontrolltieren zeigte sich ein statistischer Hinweis auf einen erhöhten Anteil an Lebendgeburten für die im Isozentrum des 1,5T-MRT ($p=0,0385$) sowie die am Bore-Eingang des 7T-MRT ($p=0,0266$) exponierten Tiere; für die im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tiere zeigte sich eine ähnliche Tendenz ($p=0,0751$) (Abb. 12). Im Vergleich zu den Käfigkontrollen wiesen die den unterschiedlichen Magnetfeldern ausgesetzten Tiere zwar auch eine Tendenz zu einer erhöhten Anzahl an Lebendgeburten auf, jedoch waren alle Effekte nicht signifikant ($p>0,05$). Eine Korrelation zur magnetischen Flussdichte konnte nicht beobachtet werden.

Zusammenfassend zeigte sich somit tendenziell eher ein positiver Effekt der Magnetfeldexposition auf die Anzahl der Lebendgeburten.

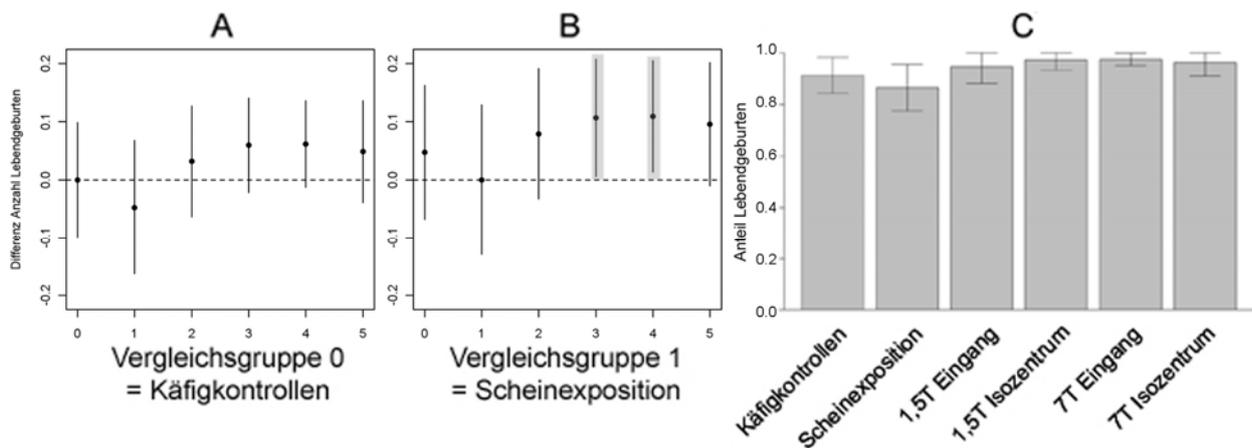


Abb. 12: Anteil an Lebendgeburten an den gesamt geborenen Jungtieren in den Würfen weiblicher Mäuse, die während der Schwangerschaft unterschiedlich starken magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.3 Entwicklung der in utero exponierten Jungtiere

4.3.1 Größe und Gewicht der Jungtiere

In den ersten 7 Tagen postnatal wurde täglich die Scheitel-Steiß-Länge der neugeborenen Nachkommen der Weibchen, die während der Schwangerschaft unterschiedlich starken magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren, bestimmt (Abb. 13). Am Tag der Geburt zeigte sich bei den Nachkommen der am Bore-Eingang des 1,5T-MRT exponierten Mäuse eine erhöhte ($p<0,05$), bei den den Nachkommen der am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Mäuse eine erniedrigte ($p<0,05$) Scheitel-Steiß-Länge im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen. Bei den im Isozentrum beider MRT-Geräte exponierten Tiere konnten keine Unterschiede zu den Kontrollgruppen festgestellt werden (Abb. 13A,B). Im Verlauf der ersten Lebenswoche zeigte sich ein statistischer Hinweis auf ein reduziertes Längenwachstum bei den in utero im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren im Vergleich zu den scheinexponierten Kontrollen ($p=0,019$), nicht jedoch zu den Käfigkontrollen ($p=0,305$). Bei den am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tieren zeigte sich ein statistischer Hinweis auf eine geringere Größenzunahme im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen ($p<0,001$), während kein Hinweis auf einen Effekt des

Magnetfeldes bei den am Bore-Eingang oder im Isozentrum des 1,5T-MRT exponierten Tieren zu beobachten war (Abb. 13C).

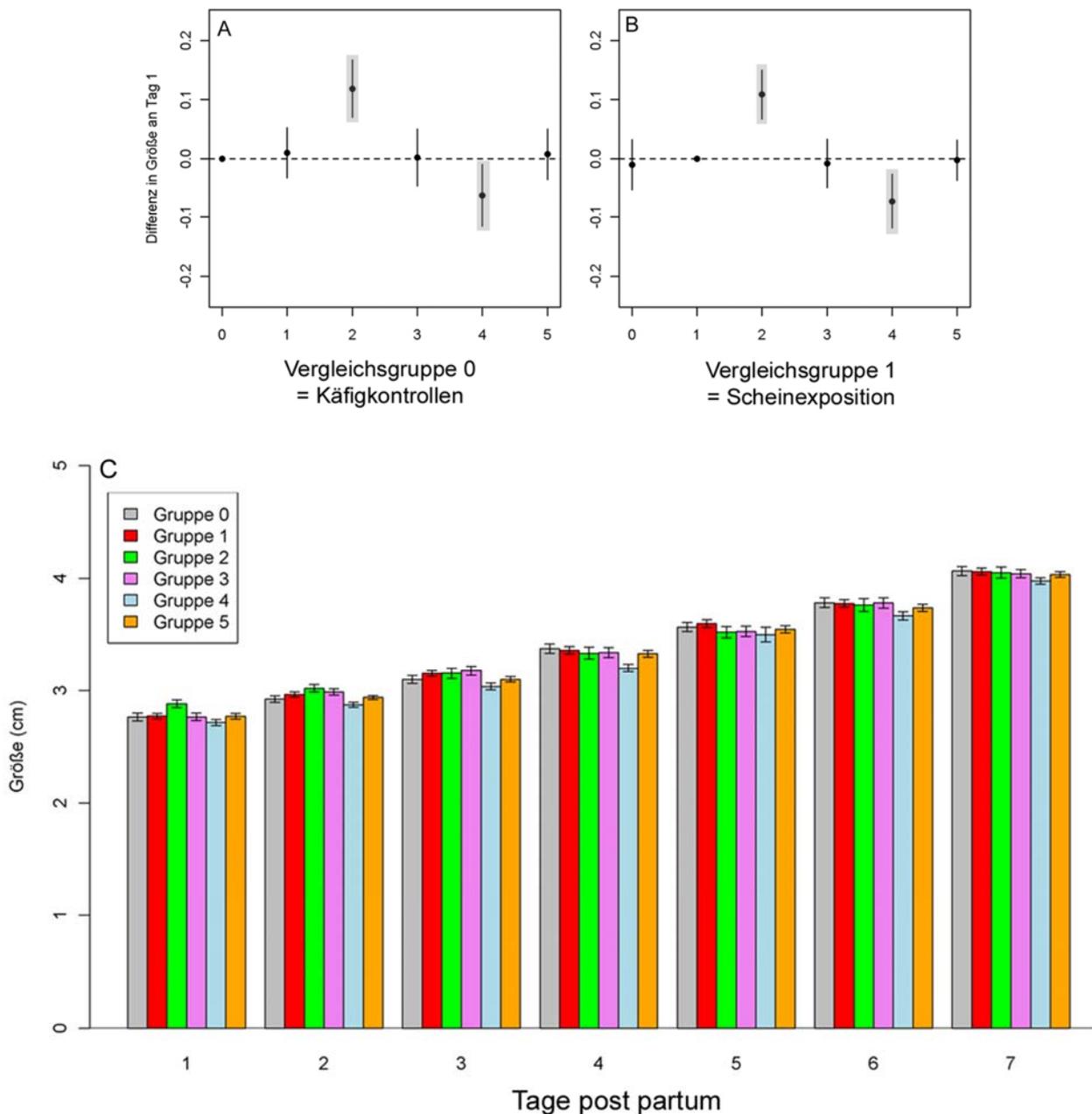


Abb. 13: Scheitel-Steiß-Länge der Jungtiere der Würfe weiblicher Mäuse, die während der Schwangerschaft unterschiedlich starken magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren.

A,B) Größe am Tag der Geburt. Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Die Scheitel-Steiß-Länge wurde einmal täglich während der ersten 7 Lebenstage bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen.

Gruppe 0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

Das Geburtsgewicht der Nachkommen der am Bore-Eingang und im Isozentrum des 1,5T-MRT sowie der am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere war signifikant geringer im Vergleich zu beiden Kontrollen ($p < 0.05$); ein solcher Unterschied war jedoch statistisch nicht für die Nachkommen der im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Mäuse belegbar ($p < 0,05$) (Abb. 14A,B). Das Gewicht jedes Tieres wurde während der ersten 7 Lebenstage einmal täglich, von Tag 9 bis 21 jeden zweiten Tag und dann bis zum Alter von 8 Wochen einmal pro Woche bestimmt (Abb. 14C). Ein zusätzlicher Hinweis auf eine Reduktion des Gewichts über diesen Zeitraum zeigte sich im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen nur für die Nachkommen der am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tieren ($p < 0.05$).

Zusammenfassend wiesen nur die Nachkommen der am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere ein reduziertes Geburtsgewicht und eine reduzierte Größe im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen auf. Es zeigten sich zudem Hinweise auf eine reduzierte Gewichtszunahme während der ersten beiden Lebensmonate bei den am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tieren. Eine Korrelation dieser Ergebnisse zur magnetischen Flussdichte war nicht zu beobachten.

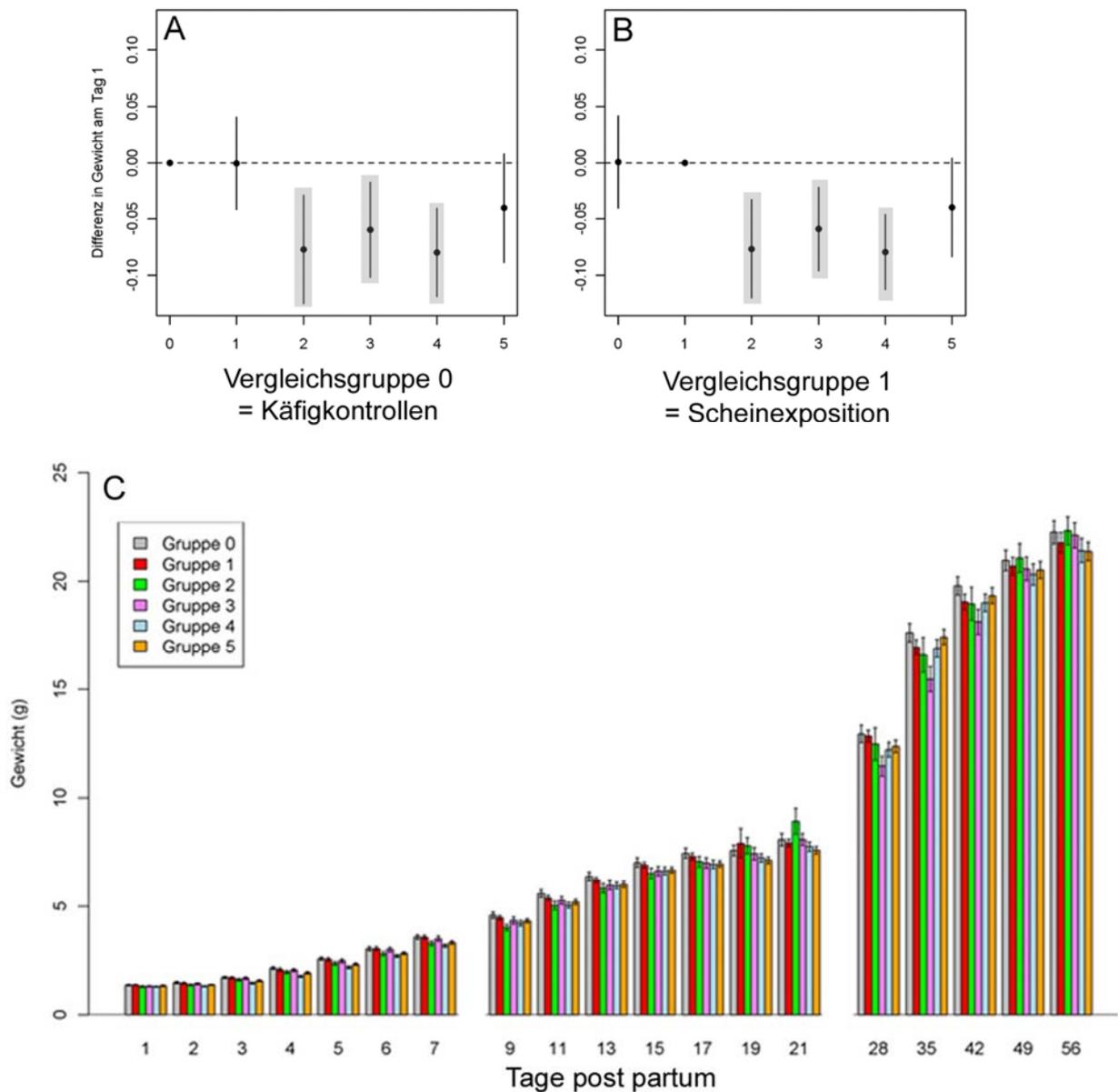


Abb. 14: Gewicht der Jungtiere der Würfe weiblicher Mäuse, die während der Schwangerschaft unterschiedlich starken magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren.

A,B) Gewicht am Tag der Geburt. Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Das Gewicht jeden Tieres wurde während der ersten 7 Lebenstage einmal täglich bestimmt, von Tag 9 bis 21 jeden zweiten Tag und dann bis zum Alter von 8 Wochen einmal pro Woche. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen.

Gruppe 0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.3.2 Fehlbildungen und Ausbildung der Augenanlagen

In keiner der untersuchten Versuchsgruppen traten Fehlbildungen wie Nabelschnurbruch (Omphalozele), Hirnbruch (Enzephalozele) oder Fehlbildungen der Extremitäten (Dysmelien) auf.

Bei Mäusen kommt es vor, dass eine, in seltenen Fällen auch beide, Augen nicht angelegt werden. Diese Fehlbildung der Augen trat auch bei den Mäusen in diesem Projekt auf und wurde daher in den unterschiedlichen Versuchsgruppen ausgewertet. In Abb. 15 ist der Anteil der Mäuse dargestellt, bei denen beide Augen normal angelegt waren. Dieser Anteil lag bei allen Gruppen im Mittel nahe an 100% (Abb. 15 C). Für die verbleibenden Unterschiede zeigte sich eine hohe Varianz zwischen den Versuchsgruppen. Der Anteil der Mäuse mit regelgerechter Augenanlage erwies sich bei den am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere im Vergleich zu den Käfigkontrollen erhöht ($p=0,0139$), im Vergleich zu den scheinexponierten Tieren war jedoch kein statistisch signifikanter Hinweis auf einen Effekt zu erkennen ($p=0,1584$). Umgekehrt zeigten sich für die im Isozentrum des 1,5T- ($p=0,0487$) bzw. des 7T-MRT ($p=0,2174$) exponierten Tiere Hinweise auf eine Reduktion des Anteils der Tiere mit beidseits regulär entwickelten Augenanlagen im Vergleich zu den scheinexponierten Tieren, die im Vergleich zu den Käfigkontrollen jedoch statistisch unauffällig waren ($p>0.05$; Abb. 15).

Zusammenfassend zeigte sich somit kein negativer Effekt der Magnetfeldexposition auf die Anlage der Augen.

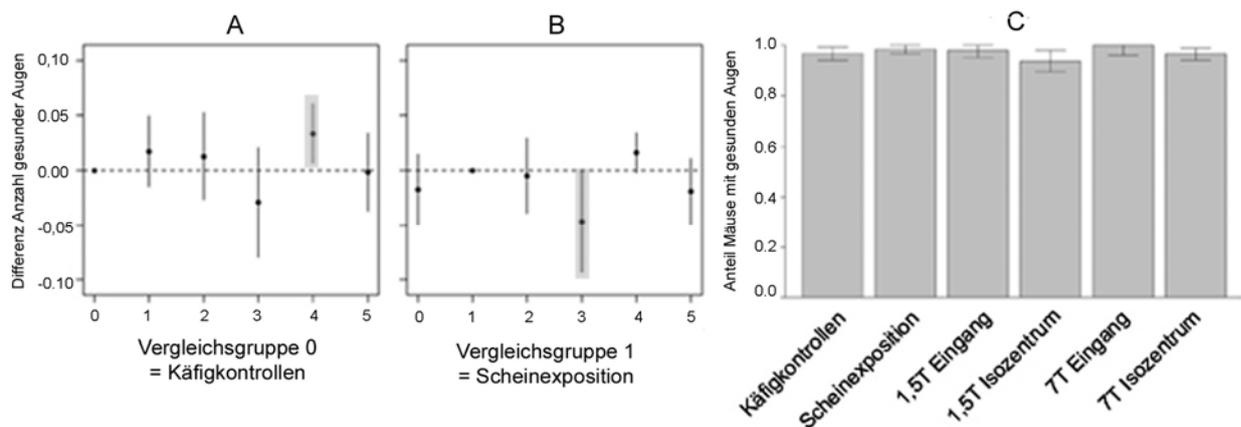


Abb. 15: Anteil der Jungtiere mit regelgerecht ausgebildeten Augenanlagen in den Würfen weiblicher Mäuse, die während der Schwangerschaft unterschiedlich starken magnetischen Flussdichten ausgesetzt waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf dem Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.3.3 Entwicklungsparameter: Zeitpunkt des Augenöffnens

Da als ein Kriterium für den Entwicklungsstand neugeborener Mäuse der Zeitpunkt des Augenöffnens herangezogen wird (Hedrich und Bullock 2004), wurde dieser Parameter bei den Nachkommen der mit unterschiedlichen Flussdichten exponierten Mäusen als Entwicklungskriterium analysiert.

Der Zeitpunkt des Augenöffnens war bei allen Versuchsgruppen im Vergleich zur Käfigkontrolle und zur Scheinexposition verzögert ($p < 0,05$), er lag jedoch auch bei den Käfigkontrollen im Vergleich zu den scheinexponierten Kontrollen signifikant später (Abb. 16). Ein Zusammenhang mit der Flussdichte war nicht zu beobachten, da der Zeitpunkt des Augenöffnens bei den im stärksten Magnetfeld von 7T exponierten Tiere früher lag als der bei den am Bore-Eingang des 1,5T- oder 7T-MRT oder im Isozentrum 7T-MRT exponierten Tiere.

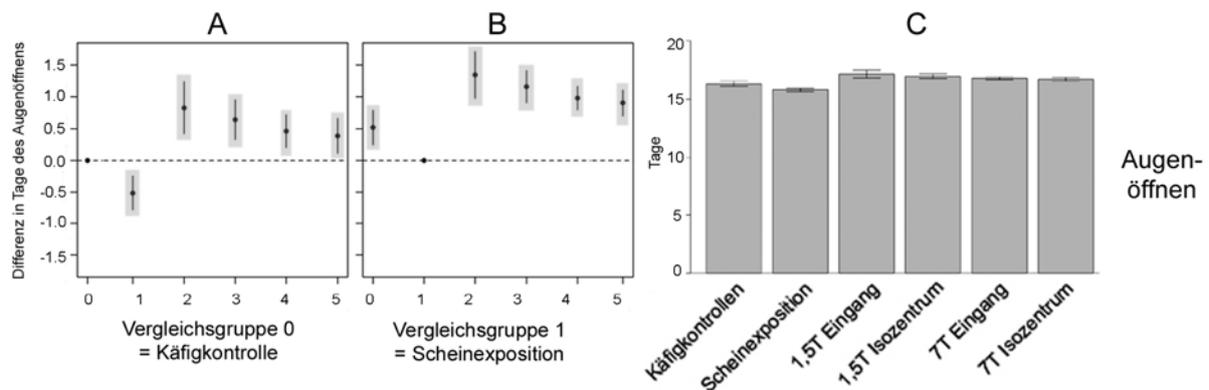


Abb. 16: Darstellung des Zeitpunkts des Augenöffnens als Entwicklungsparameter der in utero mit unterschiedlichen magnetischen Flussdichten exponierten Jungtiere im Vergleich zu den Kontrollen.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

Zusammenfassend zeigte sich eine Verzögerung des Augenöffnens in allen Versuchsgruppen im Vergleich zu beiden Kontrollen. Eine Korrelation zur Stärke des Magnetfeldes zeigte sich jedoch nicht.

4.4 Fertilität der in utero exponierten Jungtiere

4.4.1 Gewichte von Hoden, Nebenhoden-Kopf/Körper und Nebenhodenschwanz

Von den männlichen Mäusen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlich starken Magnetfeldern ausgesetzt gewesen waren, sowie von den Kontrollen wurden nach Abschluss der Verpaarungsphase (s. 4.4.4.1) im Alter von etwa 4 Monaten die Gewichte von Hoden, Nebenhoden-Kopf/Körper und Nebenhodenschwanz bestimmt (Abb. 17).

In Bezug auf das Hodengewicht zeigte sich eine tendenzielle Steigerung bei den im Isozentrum des 1,5T-MRT sowie am Bore-Eingang und im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tiere im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen (allerdings statistisch nicht signifikant zum $\alpha=5\%$ Niveau). Hinweise auf eine Erhöhung des Hodengewichtes in Abhängigkeit vom Magnetfeld waren auch schon bei den adulten exponierten Männchen beobachtet worden (vgl. Abb. 7). Unterschiede im Gewicht des Nebenhodenschwanzes waren bei den in utero exponierten männlichen Mäusen nicht zu beobachten. Der einzige Hinweis auf einen Unterschied zeigte sich in einer Erhöhung des Gewichtes des Nebenhoden-Kopf/Körpers bei den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren im Vergleich zur scheinexponierten Kontrolle ($p=0,0466$), jedoch nicht im Vergleich zur Käfigkontrolle ($p=0,63$) (Abb. 17).

Zusammenfassend zeigt sich somit kein eindeutiger Effekt der Magnetfeldexposition auf das Gewicht von Hoden und Nebenhoden im Vergleich zu beiden Kontrollen.

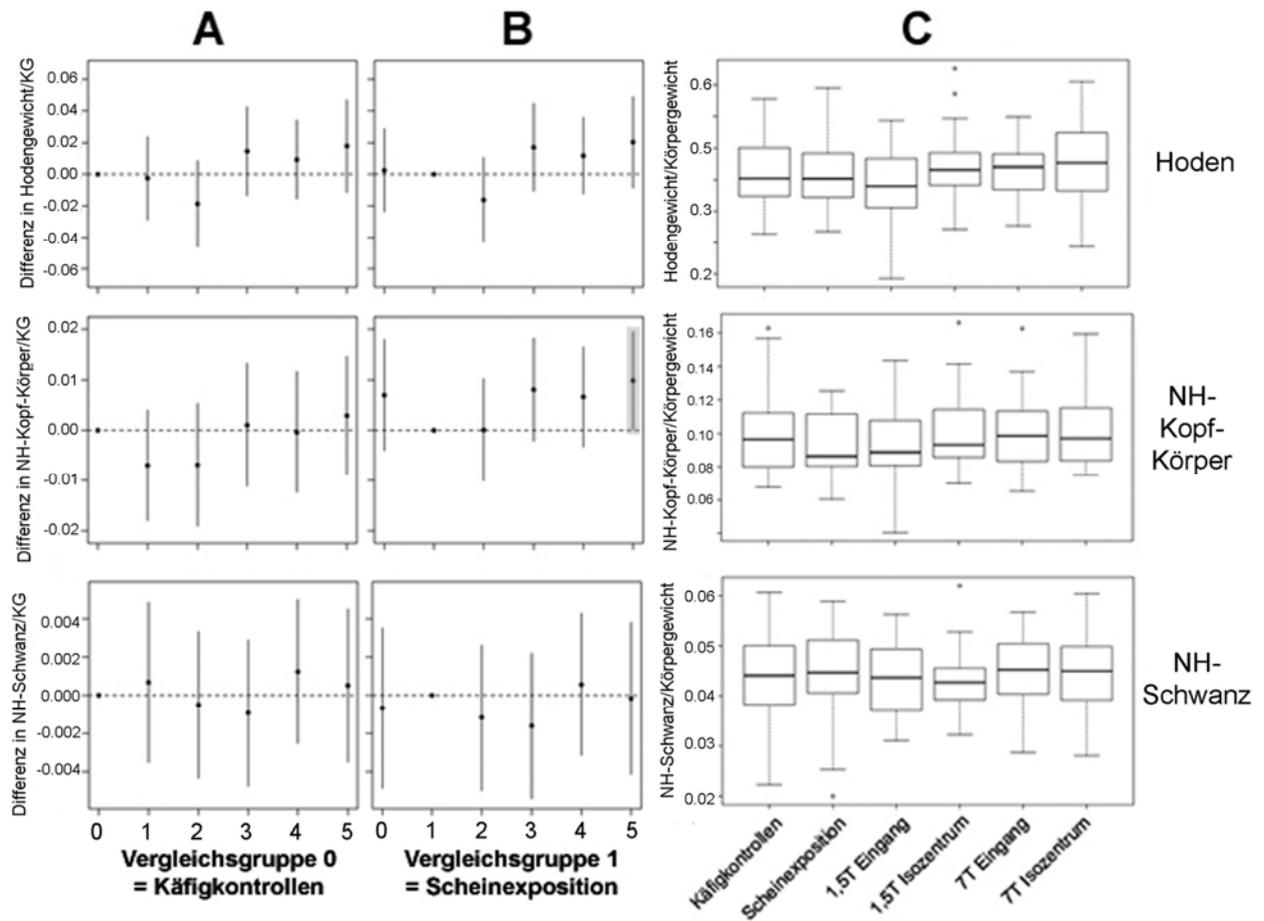


Abb. 17: Gewichte von Hoden, Nebenhoden-Kopf/Körper und Nebenhodenschwanz von den männlichen Mäusen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlich starken Magnetfeldern ausgesetzt gewesen waren, sowie von deren Kontrollen.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

Von denselben Männchen wurden nachfolgend zudem die Spermienkonzentration sowie die Vitalität und die Morphologie der Spermien analysiert.

4.4.2 Spermienkonzentration und -vitalität

Im Gegensatz zu den im adulten Stadium exponierten Männchen konnte hier insgesamt kein Hinweis auf einen Anstieg der Spermienkonzentration in den exponierten Versuchsgruppen beobachtet werden (Abb. 18). Es zeigte sich jedoch ein Hinweis auf einen verminderten Anteil lebensfähiger Spermien in den während ihrer Embryonalentwicklung am Bore-Eingang des 1,5T-MRT ($p=0,0072$) sowie am Bore-Eingang ($p=0,049$) und im Isozentrum ($p=0,038$) des 7T-MRT exponierten Tieren im Vergleich zu den scheinexponierten Tieren, nicht aber für die am Bore-Eingang ($p=0,1828$) und im Isozentrum ($p=0,1715$) des 7T-MRT exponierten Tiere im Vergleich zu den Käfigkontrollen (Abb. 18).

Zusammenfassend zeigte sich zwar tendenziell eine Abnahme des Anteils vitaler Spermien in den exponierten Versuchsgruppen, diese war jedoch nicht signifikant zu beiden Kontrollgruppen und korrelierte nicht zur Stärke des Magnetfeldes.

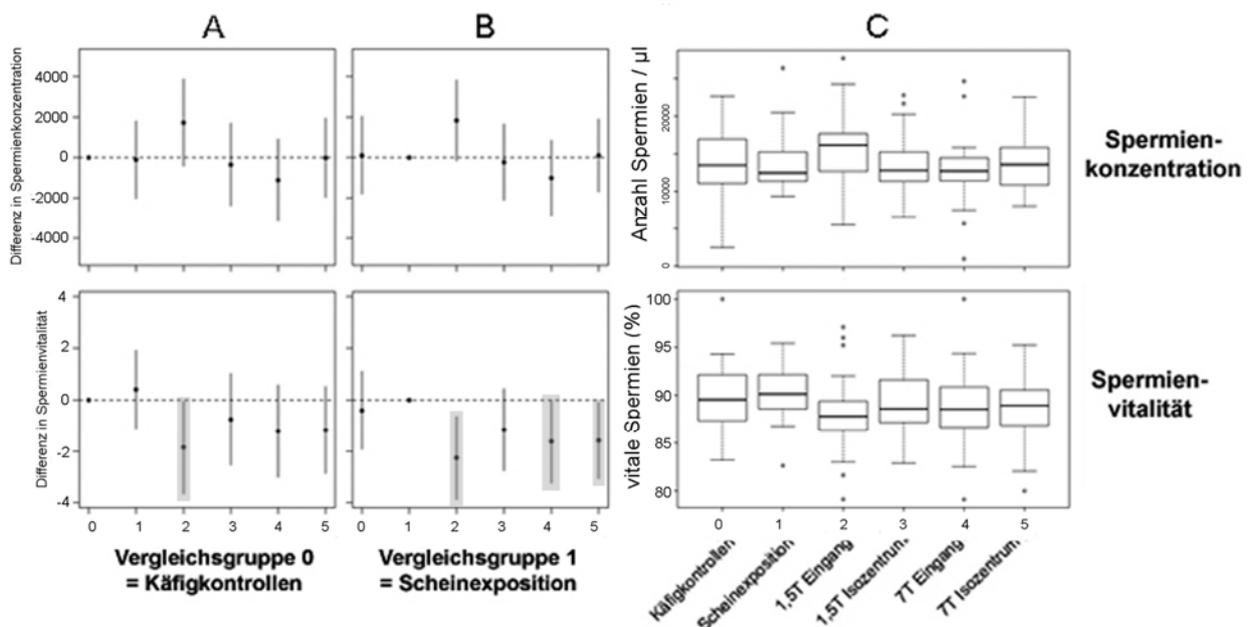


Abb. 18: Spermienkonzentration und -vitalität von den männlichen Mäusen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren, sowie von deren Kontrollen.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.4.3 Spermienmorphologie

Die Analyse der Spermienmorphologie zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede im Bezug auf den Anteil normgeformter Spermien sowie auf den Anteil von Spermien mit Akrosom-, Flagellum- oder Mittelstückdefekten im Vergleich zu den scheinexponierten Kontrolltieren (Abb. 19). Bei den Käfigkontrollen zeigte sich im Vergleich zu allen anderen Versuchsgruppen ein höherer Prozentsatz an Akrosomdefekten, im Gegenzug jedoch ein geringerer Prozentsatz an Flagellumdefekten (Abb. 19)

Bei den am Bore-Eingang ($p=0,0216$) und im Isozentrum des 1,5T-MRT ($p=0,0426$) in utero exponierten Tieren, aber auch bei den Käfigkontrollen ($p=0,0254$) zeigten sich Hinweise auf eine mögliche Steigerung des Prozentsatzes an Spermien mit Kopfdefekten im Vergleich zu den scheinexponierten Kontrolltieren. Diese Erhöhung war deutlich geringer bei den am Bore-Eingang ($p=0,3217$) und im Isozentrum des 7T-MRT ($p=0,2122$) exponierten Tieren.

Zusammenfassend zeigten sich somit keine statistischen Hinweise auf Effekte unterschiedlicher magnetischer Flussdichten auf Variationen in der Spermienmorphologie im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen.

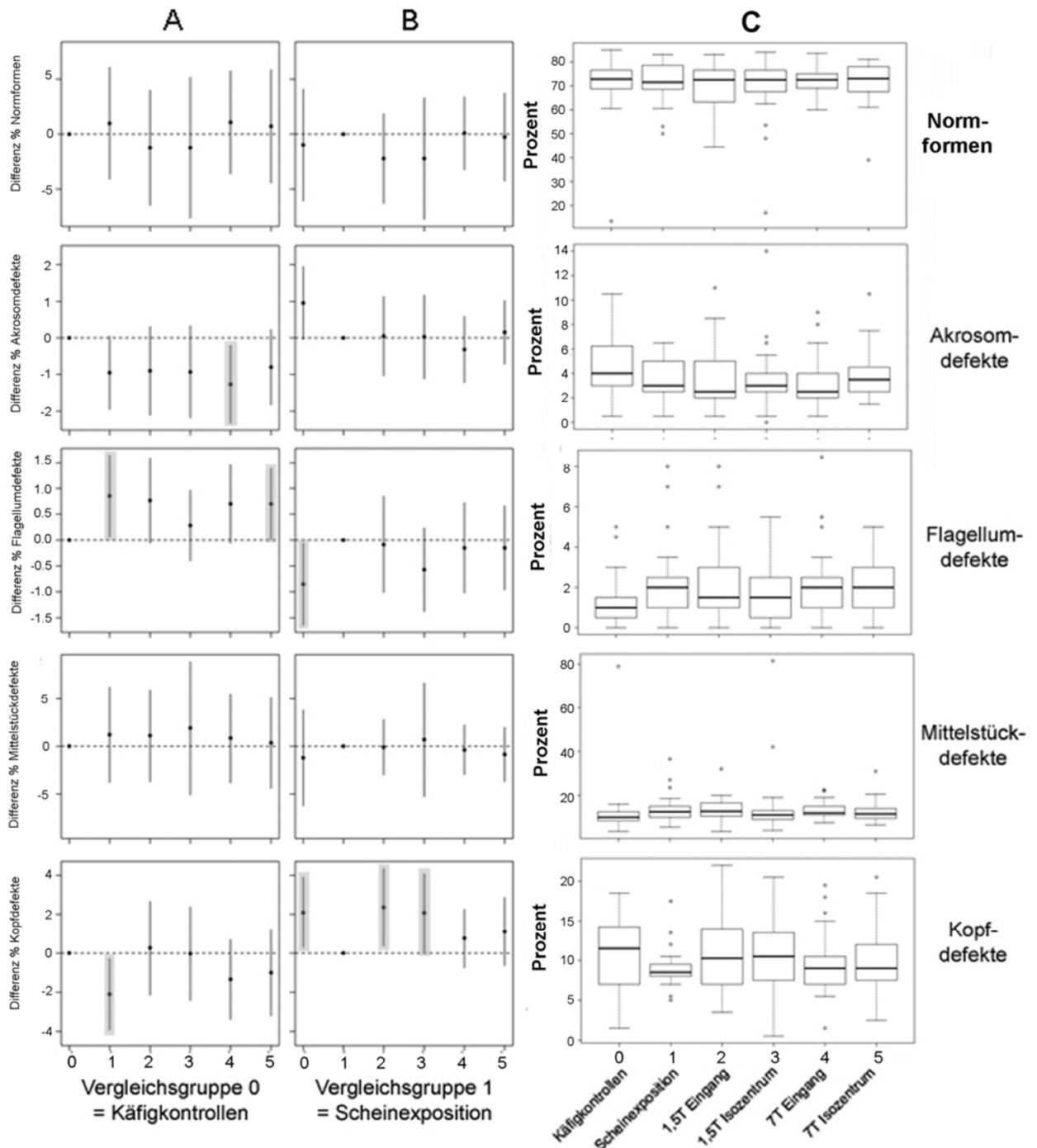


Abb. 19: Anteil der morphologisch normal geformten Spermien sowie der Spermien mit Akrosom-, Flagellum-, Mittelstück- oder Kopfdefekten in den männlichen Mäusen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren, sowie von deren Kontrollen.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = Scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = Scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.4.4 Fertilität der in utero exponierten männlichen Mäuse

4.4.4.1 Schwangerschaftsrate

Die männlichen Mäuse, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren, erwiesen sich als genauso fertil wie die scheinexponierte Kontrollgruppe. Im Hinblick auf die erzeugten Schwangerschaftsraten zeigten sich keine Hinweise auf Unterschiede im Vergleich zu den Schwangerschaftsraten, die durch die Nachkommen der scheinexponierten Kontrolltiere erzeugt wurden (Abb. 20). Im Vergleich zu allen anderen Versuchsgruppen lag die Schwangerschaftsrate nur bei den Nachkommen der Käfigkontrollen höher ($p < 0,05$). Daher ist davon auszugehen, dass die beobachtete Abnahme der Schwangerschaftsrate weniger durch das Magnetfeld als vielmehr durch Stress bedingt war, der durch den Transport und/oder die veränderte Umgebung im MRT bzw. in der Scheinexpositionsanlage ausgelöst wurde.

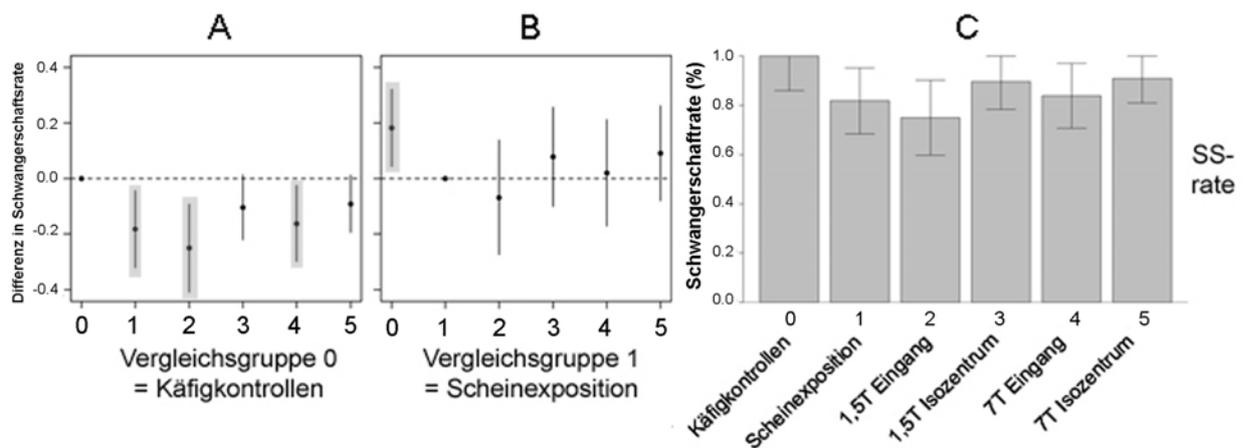


Abb. 20: Schwangerschaftsraten nach Verpaarung von unbehandelten Weibchen mit männlichen Mäusen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf dem Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen. 0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.4.4.2 Anzahl Embryonen und Gewicht von Embryonen und Plazenten

Nach erfolgreicher Verpaarung der männlichen Mäuse, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero Magnetfeldern ausgesetzt gewesen waren, wurden die Weibchen, bei denen sich am Morgen nach der Verpaarung ein Vaginalpfropf gebildet hatte, am Tag 17,5 der Schwangerschaft getötet und die Anzahl der Embryonen, der Anteil der Resorptionsstellen sowie das Gewicht der einzelnen Embryonen und Plazenten bestimmt.

In Relation zur scheinexponierten Kontrollgruppe lag die Anzahl der Embryonen bei den am Bore-Eingang und im Isozentrum des 1,5T-MRT sowie am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere deskriptiv niedriger, dies war jedoch nicht statistisch signifikant ($p > 0,05$). Die Anzahl von Embryonen deren „Väter“ während ihrer Embryonalentwicklung in utero im Isozentrum des 7T-MRT exponiert worden waren, zeigte zur Scheinexpositionskontrolle keinen Unterschied (Abb. 21).

Der Anteil der resorbierten Embryonen von den im Isozentrum des 1,5T-MRT und am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten männlichen Mäusen lag höher als in den scheinexponierten Kontrollen. Diese Steigerung war signifikant für die am Bore-Eingang des 7T-MRT exponierten Tiere im Vergleich zur Scheinexposition ($p = 0,0368$), aber nicht im Vergleich zu den Käfigkontrollen ($p = 0,3047$). Im Gegensatz dazu war der Anteil der resorbierten Embryonen in den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren nicht erhöht. Resorptionen traten jedoch generell nur in einem sehr geringen Anteil von durchschnittlich maximal 4% auf.

Im Vergleich zu der scheinexponierten Kontrollgruppe fanden sich Hinweise einer statistischen Erhöhung des Gewichts der Embryonen bei den im Isozentrum des 1,5T-MRT, am Bore-Eingang und im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tiere, jedoch auch bei den Käfigkontrollen (alle $p < 0,001$). Das Gewicht der durch im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Männchen gezeugten Embryonen entsprach im Mittel dem der Käfigkontrollen, so dass sich keine Hinweise auf einen Zusammenhang zur Stärke des Magnetfeldes andeuteten (Abb. 21). Veränderungen im Gewicht der Plazenten korrelierten in den einzelnen Versuchsgruppen zu den Veränderungen in den Gewichten der Embryonen.

Zusammenfassend zeigt sich kein signifikanter Effekt auf die Anzahl der Embryonen und auf die Resorptionen. Ein erhöhtes Embryonalgewicht im Vergleich zu beiden Kontrollen zeigte sich nur in zwei Versuchsgruppen mit geringerer Flussdichte, so dass hier keine Korrelation zur Stärke des Magnetfeldes hergestellt werden konnte.

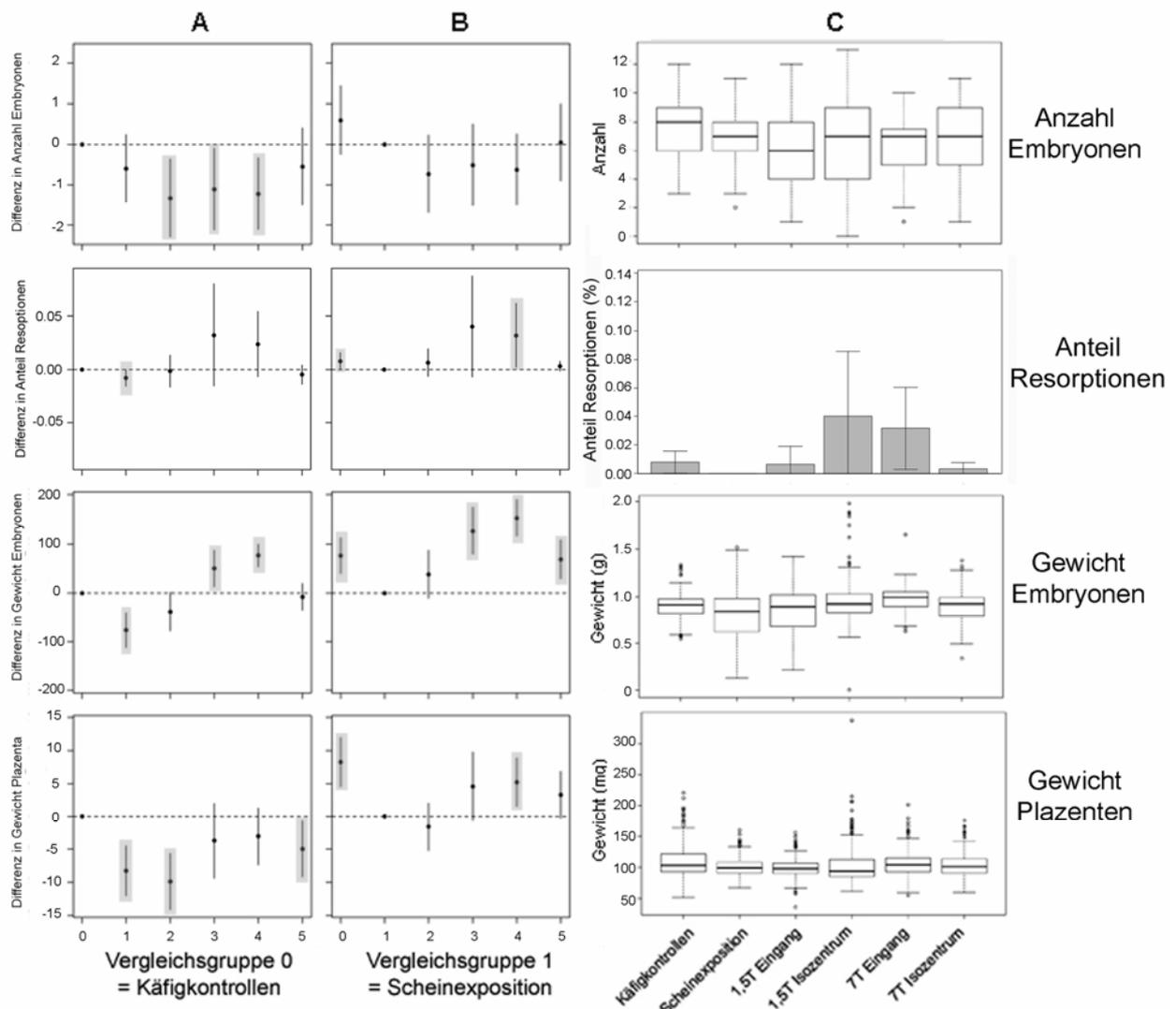


Abb. 21: Anzahl der Embryonen und Anteil der Resorptionsstellen sowie Gewicht von Embryonen und Plazenten die durch männliche Mäuse gezeugt wurden, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen bzw. für den Anteil an Resorptionen Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.4.5 Fertilität der in utero exponierten weiblichen Mäuse

4.4.5.1 Schwangerschaftsrate

Die weiblichen Mäuse, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren, erwiesen sich als genauso fertil wie die Kontrollgruppen. Es fanden sich keine Hinweise auf Unterschiede in den Schwangerschaftsraten

im Vergleich zu den Schwangerschaftsraten der Nachkommen beider Kontrollgruppen (Abb. 22).

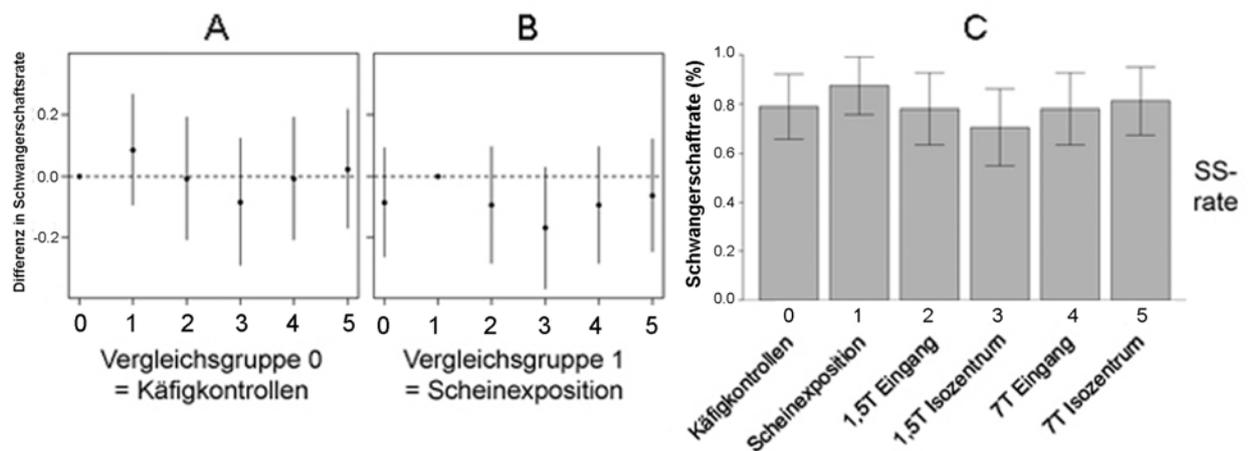


Abb. 22: Schwangerschaftsrate bei weiblichen Mäusen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet. A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Darstellung des Mittelwerts und der Standardabweichungen der Werte der einzelnen Versuchsgruppen.

0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

4.4.5.2 Anzahl Embryonen und Gewicht von Embryonen und Plazenten

Nach erfolgreicher Verpaarung wurden die Weibchen am Tag 17,5 der Schwangerschaft getötet und die Anzahl der Embryonen sowie das Gewicht der einzelnen Embryonen und Plazenten bestimmt.

Es fanden sich keine Hinweise auf Unterschiede in der Anzahl der Embryonen sowie im Anteil der Resorptionsstellen im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen (Abb. 23A,B).

Das Gewicht der Embryonen lag bei den Käfigkontrollen ($p<0,001$), aber auch bei den am Bore-Eingang ($p=0,04$) und im Isozentrum ($p<0,001$) des 1,5T-MRT sowie den am Bore-Eingang des 7T-MRT ($p<0,001$) exponierten Tieren höher im Vergleich zur scheinexponierten Kontrollgruppe. Im Gegensatz hierzu war das Gewicht der Föten der in utero im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Weibchen erniedrigt im Vergleich zu den Käfigkontrollen ($p<0,001$) wie auch zu den scheinexponierten Kontrollen ($p=0,009$) signifikant erniedrigt.

Das Gewicht der Plazenten war in allen Versuchsgruppen im Vergleich zur Käfigkontrolle sowie in den am Bore-Eingang und im Isozentrum des 1,5T-MRT sowie im Isozentrum des 7T-MRT exponierten Tieren im Vergleich zur scheinexponierten Kontrolle signifikant erniedrigt. Ein

Dosis-Wirkungseffekt im Hinblick auf die magnetische Flussdichte konnte jedoch nicht beobachtet werden.

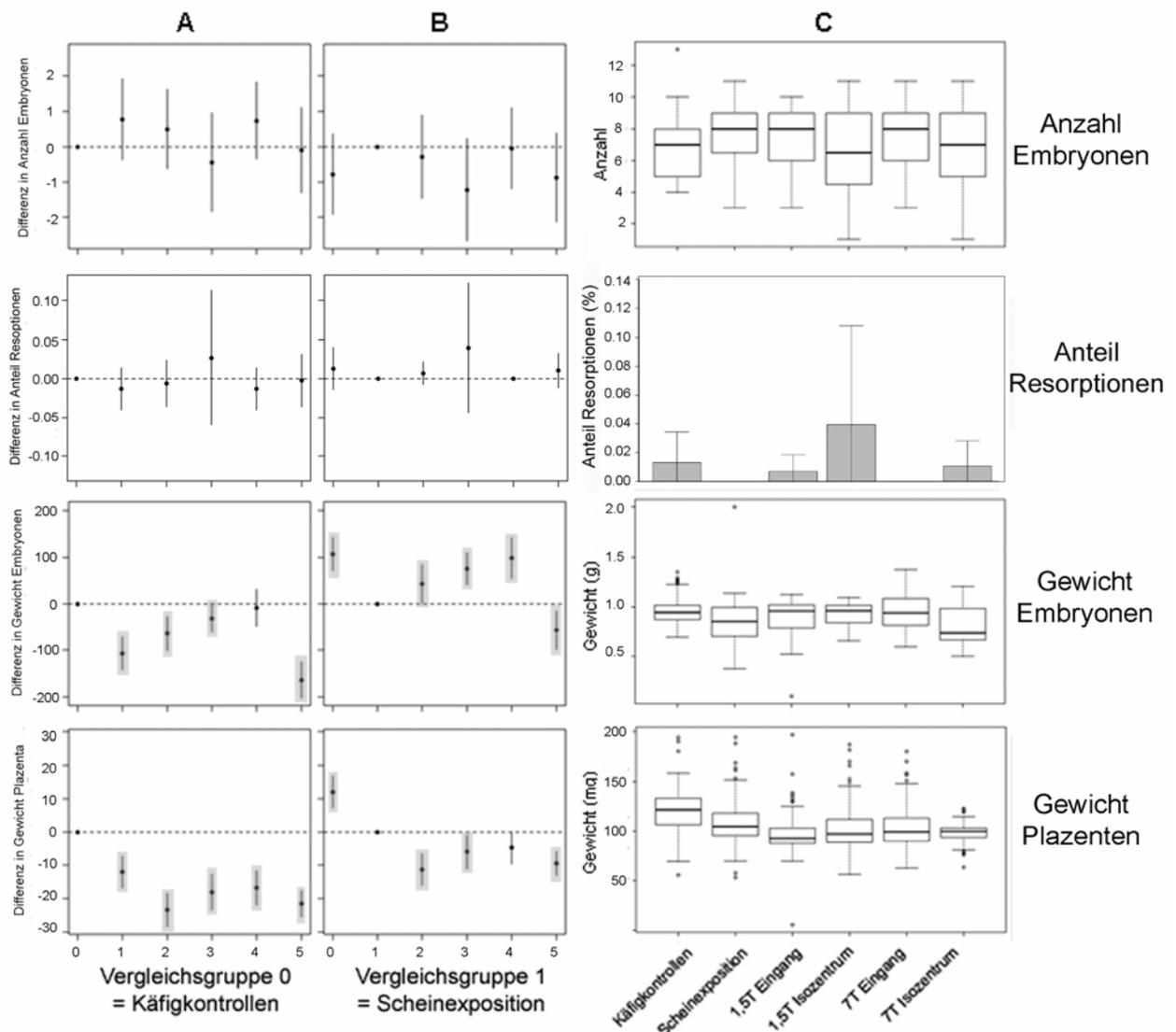


Abb. 23: Anzahl der Embryonen und Anteil der Resorptionsstellen sowie Gewicht von Embryonen und Plazenten in weiblichen Mäusen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero unterschiedlichen Flussdichten ausgesetzt gewesen waren.

A,B) Darstellung der mittleren Differenzen und 95% Konfidenzintervalle der unterschiedlichen Versuchsgruppen im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen. Ein signifikanter Unterschied auf den Niveau $\alpha=5\%$ liegt dann vor, wenn das 95% Konfidenzintervall den Mittelwert der Vergleichsgruppe nicht schneidet (grau markiert). A) Vergleichsgruppe 0 = Käfigkontrollen, B) Vergleichsgruppe 1 = scheinexponierte Kontrollen.

C) Box-Plot Darstellung der Verteilung der Werte der einzelnen Versuchsgruppen bzw. für den Anteil an Resorptionen Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Versuchsgruppen. 0 = Käfigkontrollen, 1 = scheinexponierte Kontrollen, 2 = 1,5T Bore-Eingang, 3 = 1,5T Isozentrum, 4 = 7T Bore-Eingang, 5 = 7T Isozentrum.

Zusammenfassend zeigte sich daher kein Effekt des Magnetfeldes auf die Anzahl der regelgerecht entwickelten Embryonen und der Resorptionen. Föten, deren Mütter während ihrer Embryonalentwicklung in utero im Isozentrum des 7T-MRT exponiert wurden, zeigten jedoch

eine signifikante Reduktion ihres Gewichtes am Tag 17,5 der Schwangerschaft. Zudem konnte eine Senkung des Plazentagewichtes im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen beobachtet werden, die jedoch nicht mit der Stärke des Magnetfeldes korrelierte.

5. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

In dem vorliegenden Projekt wurden die Auswirkungen wiederholter Exposition mit unterschiedlich starken statischen Magnetfeldern bis zu einer Flussdichte von 7 Tesla auf die Spermiogenese bei männlichen adulten Mäusen sowie auf Schwangerschaft und Embryogenese bei weiblichen Mäusen untersucht. Zudem wurde die Fertilität männlicher und weiblicher Mäuse, die während ihrer gesamten Embryonalentwicklung in utero täglich diesen statischen Magnetfeldern ausgesetzt worden waren, getestet. Es wurden 6 Versuchsgruppen untersucht: 1) Käfigkontrollen, 2) scheinexponierte Kontrollen, 3) Exposition am Bore-Eingang und 4) im Isozentrum des 1,5T-MRT, 5) Exposition am Bore-Eingang und 6) im Isozentrum des 7T-MRT. Insgesamt wurden in dieser Studie 895 adulte Mäuse, 944 Jungtiere und 2007 Embryonen analysiert.

Es wurden somit parallel 2 Kontrollgruppen mitgeführt: Käfigkontrollen und scheinexponierte Kontrollen. Um mögliche Effekte statischer Magnetfelder auf Merkmale exponierter Mäuse zu analysieren, wurden Methoden der deskriptiven und schließenden Statistik angewendet. Im Rahmen der schließenden Statistik wurde, bedingt durch die Vielzahl der untersuchten Merkmale und der Vergleiche zu den beiden Kontrollgruppen, eine Vielzahl statistischer Tests durchgeführt. Um mit einer hohen Sensitivität mögliche Effekte statischer Magnetfelder aufzudecken, wurde keine strenge Kontrolle des Fehlers 1. Art vorgenommen. Für eine gewisse Kontrolle des Fehlers 1. Art wurde ein Hinweis auf das Vorliegen eines Effektes des Magnetfeldes nur dann angenommen, wenn sich beobachtbare Unterschiede zu beiden Kontrollgruppen zeigten.

In den einzelnen Versuchsgruppen ergaben sich folgende Hinweise auf Effekte:

- Bei den im Isozentrum des 7T-MRT exponierten adulten männlichen Mäusen zeigte sich eine Erhöhung des Gewichtes von Hoden und Nebenhodenschwanz in Relation zum Körpergewicht; dieses war mit einer erhöhten Spermienkonzentration korreliert. Die Vitalität und der Anteil morphologisch normal geformter Spermien waren nicht beeinflusst. Der Anteil von Spermien mit morphologisch verändertem Mittelstück nach Exposition männlicher Mäuse im Isozentrum des 7T-MRT war sogar erniedrigt. Die Erhöhung des Hodengewichts und des Nebenhodenschwanzes ging mit einer physiologisch intakten Spermiogenese einher. Ein negativer Effekt des statischen Magnetfeldes auf die Spermiogenese konnte somit nicht beobachtet werden.
- Bei den schwangeren Weibchen ließ sich kein Effekt der Magnetfeldexposition auf Schwangerschaftsrate, Schwangerschaftsdauer, Wurfgröße, sowie die Geschlechterverteilung

der Nachkommen nachweisen. Zudem konnte kein Hinweis auf vermehrtes Vorkommen von Fehlbildungen beobachtet werden. Tendenziell war in allen Versuchsgruppen ein positiver Effekt auf die Anzahl der Lebendgeburten in den exponierten Mäusen zu verzeichnen. Es ließ sich somit kein Einfluss von statischen Magnetfeldern auf die Fertilität, die Implantationsrate und den Schwangerschaftsverlauf bei weiblichen Mäusen nachweisen.

- Die Jungtiere, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero am Bore-Eingang oder im Isozentrum des 1,5 MRT oder am Bore-Eingang des 7T-MRT exponiert wurden, zeigten in den ersten acht Wochen nach Geburt Hinweise auf ein statistisch erniedrigtes Körpergewicht. Da dieser Phänotyp jedoch nicht bei den Tieren auftrat, die einer Flussdichte von 7T ausgesetzt waren, war ein Zusammenhang mit der Magnetfeldstärke nicht zu beobachten. Alle in den Magnetfeldern exponierten Tiere wiesen im Vergleich zu beiden Kontrollen ein bis zu einem Tag späteres Öffnen der Augen auf. Im Hinblick auf den Zeitpunkt der Öffnung der Augen, die nur einmal täglich überprüft wurde, wäre eine engmaschigere Kontrolle notwendig, um das genaue statistische Ausmaß der Zeitverzögerung zu ermitteln.
- Die Nachkommen, die während ihrer Embryonalentwicklung in utero statischen Magnetfeldern ausgesetzt waren, erwiesen sich als ebenso fertil wie die Tiere der Kontrollgruppen.
- Bei den männlichen Nachkommen zeigte sich kein Effekt auf das Gewicht von Hoden und Nebenhoden sowie auf die Spermienkonzentration und Spermienmorphologie. Tendenziell war die Spermiovitalität erniedrigt, jedoch zeigte sich hier nur ein Hinweis auf einen Effekt bei den am Bore-Eingang des 1,5T exponierten Mäusen im Vergleich zu beiden Kontrollen, so dass eine Korrelation zur Stärke des Magnetfeldes unwahrscheinlich erscheint.
- Bei den Nachkommen beider Geschlechter war kein Einfluss auf die Fertilität in Hinblick auf Schwangerschaftsraten und die Anzahl der Nachkommen zu verzeichnen.
- Die von in utero exponierten männlichen Mäusen erzeugten Föten zeigten zwar ein erhöhtes Gewicht im Vergleich zu den scheinexponierten Kontrollen, jedoch konnte für diesen möglichen Effekt keine Abhängigkeit zur magnetischen Flussdichte beobachtet werden. Bei den Nachkommen der in utero exponierten weiblichen Mäuse zeigte sich generell ein erniedrigtes Gewicht der Plazenten, das jedoch nur bei Exposition im Isozentrum des 7T-MRTs auch zu einem erniedrigten Gewicht der Embryonen führte, während das Gewicht der Embryonen in allen anderen Expositionsgruppen im Vergleich zur scheinexponierten Kontrolle erhöht war. Die Ursache für das geringere Plazentagewicht kann sowohl auf einem Einfluss bei der weiblichen Gonadenentwicklung als auch auf die korrekte Differenzierung

des Uterus aus den Müllergängen beruhen. Hier sind Untersuchungen an größeren Kohorten mit histologischer Aufarbeitung notwendig, um genauere Aussagen treffen zu können.

Im Wesentlichen konnte somit durch die Magnetfeldexposition ein gesteigertes Hoden- und Nebenhodengewicht und eine erhöhte Spermienkonzentration bei adulten männlichen Mäusen sowie eine Reduzierung des Geburtgewichtes mit leichter Entwicklungsverzögerung in Bezug auf den Zeitpunkt des Augenöffnens bei den in utero exponierten Nachkommen beobachtet werden. Bei den weiblichen in utero exponierten Mäusen war ein reduziertes Plazentagewicht bei den Nachkommen zu beobachten.

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Mäuse das Magnetfeld möglicherweise stärker wahrnehmen als der Mensch bzw. dass Magnetfelder bei Mäusen eine stärkere Stressreaktion hervorrufen können. So konnten wir beobachten, dass die Mäuse im 7T-MRT während der Expositionszeit zum Großteil bewegungslos blieben. Somit könnten die beobachteten Effekte möglicherweise nicht auf das Magnetfeld, sondern auf die durch die Perzeption des Magnetfelds ausgelöste Stresssituation zurückzuführen sein. Die hierdurch bedingte Ausschüttung von Stresshormonen kann auf das Endokrinium und damit auf die Embryonalentwicklung wirken. Dass exogene Stressfaktoren die Embryonalentwicklung beeinflussen können, ist bekannt (Arck et al. 2001, Knackstedt et al. 2005). Somit können in unserem Versuchsansatz trotz der Scheinexpositionskontrolle diese direkten Effekte des Magnetfelds nicht von indirekten, durch Stress verursachten Effekten differenziert werden. Um dies besser bewerten zu können, müssten in Folgeprojekten bei den Mäusen zusätzlich die Stresshormonspiegel gemessen oder der Stressfaktor Magnetfeld z.B. durch Betäubung der Mäuse während der Exposition ausgeschaltet werden.

Im Hinblick auf den Menschen kann von den vorliegenden Untersuchungen auch nach Exposition im starken Magnetfeld nicht von einem negativen Effekt auf die Spermiogenese beim Mann ausgegangen werden. Ebenso besteht kein Anhaltspunkt für eine Störung der Embryoimplantation oder für eine vermehrte Fehlbildung bei den Föten.

Auch wenn die Nachkommen bei drei der exponierten Versuchsgruppen ein reduziertes Geburtsgewicht aufwiesen, so trat dieser Effekt nicht bei den im stärksten Magnetfeld exponierten Tieren auf. Berücksichtigt man zudem, dass Menschen das Magnetfeld möglicherweise anders wahrnehmen als Mäuse und die MRT-Untersuchung bewusst einordnen können, so könnte beim Menschen der Faktor Stress, der durch das Magnetfeld auftreten kann (s.o.), im Vergleich zu den Mäusen deutlich reduziert sein. Es kann daher aus diesen Versuchen

derzeit nicht eindeutig abgeleitet werden, dass es auch beim Menschen unter diesen Bedingungen zu einer intrauterinen Wachstumsretardierung der Föten kommt.

Nur bei den Nachkommen der während ihrer Embryonalentwicklung in utero bei 7T exponierten weiblichen Mäusen wurde ein erniedrigtes Gewicht der Embryonen und Plazenten gefunden. Die Ursache hierfür ist unbekannt. Auch hier muss zunächst geklärt werden, ob dieser Effekt durch den durch das Magnetfeld bedingten Stress oder durch das Magnetfeld selbst ausgelöst wurde (s.o.). Nimmt man jedoch beide in der vorliegenden Studie erhobenen Ergebnisse aus der F1- (in utero exponierte Jungtiere) und F2-Generation (Nachkommen der in utero exponierten Jungtiere) zusammen, kann eine Wirkung der Magnetfelder direkt auf den Embryo bzw. Fötus hinsichtlich einer intrauterinen Wachstumsretardierung, die sich bis in die F2-Generation fortsetzt, bei täglicher Exposition mit hohen Flussdichten nicht ausgeschlossen werden, sofern sich dieser Effekt in Follow-up Studien bestätigen lässt. Einer täglichen Exposition mit solch hohen Flussdichten sind aktuell bei der medizinischen Diagnostik jedoch weder die Patienten noch das medizinische/technische Personal ausgesetzt.

Summary and conclusions

In the present study, the effects of repeated exposure to strong static magnetic fields up to a flux density of 7 Tesla on spermatogenesis in adult male mice as well as on pregnancy and embryogenesis in female mice were studied. In addition, the fertility of male and female mice which were exposed daily to these static magnetic fields throughout their entire embryonic development in utero was investigated. Six experimental groups were examined: 1) cage controls, 2) sham-exposed controls, 3) exposure at the bore entrance and 4) in the isocenter of a 1.5T MRI, 5) exposure at the bore entrance and 6) in the isocenter of a 7T MRI. Overall, 895 adult mice, 944 offspring, and 2007 embryos were analyzed in this study.

Accordingly, two control groups were run in parallel: cage controls and sham-exposed controls. To analyze the possible effects of static magnetic fields on the characteristics of the exposed mice, both descriptive and inferential statistical methods were applied. Due to the large number of examined characteristics and the comparisons to the two control groups, a variety of inferential statistical tests were performed. To detect the possible effects of static magnetic fields with high sensitivity, no rigorous correction for the error of the first kind was undertaken. To achieve a certain degree of correction for the error of the first kind, an indication for the

existence of an effect of the magnetic field was only assumed when differences were observed relative to both control groups.

In the individual experimental groups, the following indications for effects were found:

- Adult male mice exposed in the isocenter of the 7T MRI showed an increase in weight of the testes and the epididymis tail in relation to body weight; this was correlated with an increased sperm concentration. The vitality and the percentage of morphologically normal sperm were not affected. The proportion of sperm with a morphologically altered midpiece was even lowered after exposure of male mice in the isocenter of the 7T MRI. The increase in weight of the testes and of the epididymis tail was associated with a physiologically intact spermatogenesis. A negative effect of the static magnetic field on spermatogenesis could therefore not be observed.
- With regard to the pregnant females, no effect of magnetic field exposure on pregnancy rates, pregnancy duration, litter size, or gender distribution of the offspring could be detected. Moreover, no evidence for the increased incidence of malformations could be observed. In all experimental groups a tendentially positive effect was seen on the number of live births in the exposed mice. Thus, no influence of static magnetic fields on fertility, implantation rate, or the pregnancy outcomes could be demonstrated in female mice.
- The pups which were exposed in utero during their embryonic development at the bore entrance or in the isocenter of the 1.5 MRI or at the bore entrance of the 7T-MRI showed evidence of a statistically lower body weight in the first eight weeks after birth. Since this phenotype did not occur in the animals which were exposed at 7T, a correlation with the magnetic field strength was not observed. All animals exposed to magnetic fields showed a delay in eye opening compared to both controls. With regard to the time point of eye opening, which was checked only once per day, more frequent monitoring would be necessary to determine the exact statistical extent of the time lag.
- The offspring which were exposed in utero to static magnetic fields during their embryonic development were found to be as fertile as the animals in the control groups.
- The male offspring showed no effect, either on the weight of the testes or epididymis or on sperm concentration or sperm morphology. Sperm vitality was tendentially lowered; however, an effect was indicated only in the mice exposed at the bore entrance of the 1.5T MRI compared to both controls, so that a correlation with the strength of the magnetic field appears unlikely.

- An effect on fertility in terms of pregnancy rates or the number of offspring was not observed in the offspring of either sex.
- The fetuses produced by male mice exposed in utero did show an increased weight compared to sham-exposed controls, but no dependence for this potential effect on the magnetic flux density could be observed. The offspring of female mice exposed in utero generally showed a reduced placental weight. However, this led to a reduced weight of the embryos only after exposure at the isocenter of the 7T MRI, while all the other exposure groups showed an increased weight compared to the sham controls. The cause for the reduced placental weight may be based on either an influence on the female gonad development or on the correct differentiation of the uterus from the paramesonephric (Müllerian) ducts. Here, too, studies in larger cohorts with histological analysis would be necessary to make more precise statements.

In quintessence, an increased testicular and epididymal weight and an increased sperm concentration could thus be observed in adult male mice after magnetic field exposure, as well as a reduction in birth weight with mild developmental delay with respect to the time of eye opening in the offspring exposed in utero. In female mice exposed in utero, a reduced placental weight was observed in the offspring.

When interpreting these results it must be considered, however, that the mice may perceive the magnetic field more intensely than humans and that magnetic fields may cause a greater stress response in mice. We observed that the mice in the 7T MRI remained largely immobile during the exposure time. Thus, the observed effects might not be due directly to the magnetic field, but due to the stress situation induced by the perception of the magnetic field. The associated release of stress hormones could thus affect the endocrine system and as a result the embryonic development. That exogenous stress factors can affect embryonic development is known (Arck et al. 2001, Knackstedt et al. 2005). Thus, despite the utilization of sham-exposed controls, our experimental approach cannot differentiate the direct effects of the magnetic field from indirect effects caused by stress. To evaluate these aspects more thoroughly, follow-up projects would have to measure stress hormone levels in the mice or exclude the magnetic field stress factor by anesthetization during exposure.

With regard to humans, a negative effect on spermatogenesis in men after exposure to a strong magnetic field cannot be inferred from any of the presented data. Likewise, no evidence exists for a disruption of embryo implantation or for an increase in fetal malformations.

Even considering that the offspring of three of the exposed test groups showed a reduced birth weight, this effect did not reveal itself in the animals exposed to the strongest magnetic field. Considering also that people may perceive the magnetic field differently from mice and that they can consciously put their perceptions into the context of an MRI scan, stress which can arise due to the magnetic field (see above) may be significantly reduced compared to mice. It can therefore not be clearly deduced from these experiments that intrauterine growth retardation of the fetus would occur in humans under similar conditions.

Only in the offspring of female mice exposed in utero at 7T during their embryonic development, a reduced weight of the placenta and embryos was found. The cause is unknown; also here it must be first clarified whether this effect was triggered by the magnetic field itself or by the stress induced by the magnetic field (see above). Nevertheless, if one takes into account the results observed in the present study both in the F1 generation (pups exposed in utero) and F2 generation (offspring of the pups exposed in utero), an effect of the magnetic fields on the embryo or fetus in terms of intrauterine growth retardation, which continues into the F2 generation, cannot be excluded in the case of daily exposure to high flux densities, but this effect would have to be confirmed in follow-up studies. Nevertheless, during medical diagnostics neither patients nor medical or technical personnel are currently exposed to such high magnetic fields on such a regular basis.

6. Literatur

(nur die im Abschlussbericht aufgeführten Zitate; eine ausführliche Literaturstudie ist als Anhang beigefügt)

- Albertini MC, Accorsi A, Citterio B, Burattini S, Piacentini MP, Ugucioni F, Piatti E (2003) Morphological and biochemical modifications induced by a static magnetic field on *Fusarium culmorum*. *Biochimie*. 85(10):963-70
- Arck PC, Rose M, Hertwig K, Hagen E, Hildebrandt M, Klapp BF (2001). Stress and immune mediators in miscarriage. *Hum Reprod*. 16:1505-11
- De Wilde JP, Rivers AW, Price DL (2005) A review of the current use of magnetic resonance imaging in pregnancy and safety implications for the fetus. *Prog Biophys Mol Biol*. 87(2-3):335-53.
- Feychting M. (2005) Health effects of static magnetic fields--a review of the epidemiological evidence. *Prog Biophys Mol Biol*.87:241-6 Review
- Grimm J, Schmitt F (2006) MR-Tomographie (MRT) bei 7 Tesla. *Medical Solutions März*, 94-100.
- Glover PM, Cavin I, Qian W, Bowtell R, Gowland PA (2007) Magnetic-field-induced vertigo: a theoretical and experimental investigation. *Bioelectromagnetics*. 28(5):349-61.
- Heilmaier C, Theysohn JM, Maderwald S, Kraff O, Ladd ME, Ladd SC. (2011) A large-scale study on subjective perception of discomfort during 7 and 1.5 T MRI examinations. *Bioelectromagnetics*. 2011 May 19. doi: 10.1002/bem.20680. [Epub ahead of print]
- Hedrich H, Bullock GR (eds): *The Laboratory mouse*. Elsevier Academic Press, London, 2004
- Kirschvink JL, Kobayashi-Kirschvink A, Diaz-Ricci JC, Kirschvink SJ (1992) Magnetite in human tissues: a mechanism for the biological effects of weak ELF magnetic fields. *Bioelectromagnetics*. 1992;Suppl 1:101-13.
- Knackstedt MK, Hamelmann E, Arck PC. (2005) Mothers in stress: consequences for the offspring. *Am J Reprod Immunol*. 54:63-9. Review.
- OECD Health Data (2011). Health/Health Care Utilisation/Diagnostic exams. <http://stats.oecd.org>. Accessed on 30 June 2011.
- Schenck (2005) Physical interactions of static magnetic fields with living tissues. *Prog. Biophys. Mol. Biol*. 87: 185-204.
- Theysohn JM, Maderwald S, Kraff O, Moenninghoff C, Ladd ME, Ladd SC (2007) Subjective acceptance of 7 Tesla MRI for human imaging. *MAGMA*. 21(1-2):63-72.
- Tiburu EK, Moton DM, Lorigan GA (2001) Development of magnetically aligned phospholipid bilayers in mixtures of palmitoylstearylphosphatidylcholine and dihexanoylphosphatidylcholine by solid-state NMR spectroscopy. *Biochim Biophys Acta*. 1512(2):206-14.

Einfluss von statischen Magnetfeldern auf die Fortpflanzung (Fertilität, Schwangerschaft, Embryonalentwicklung)

Literatur-Übersicht über den derzeitigen wissenschaftlichen Stand

Erstellt im Auftrag des Bundesamtes für Strahlenschutz

Juli 2008

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Autors wieder und muss nicht mit der Meinung des Auftraggebers (Bundesministeriums für Umwelt-, Naturschutz und Reaktorsicherheit bzw. des BfS) übereinstimmen.

Erstellt von

Prof. Dr. rer. nat. Ruth Grümmer

Institut für Molekularbiologie
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen
Tel.: 0201-723-1636
Fax.:0201-723-5974
Email: ruth.gruemmer@uk-essen.de

Prof. Dr. sc. techn. Mark E. Ladd

Leiter Biomedizinische Bildgebung
Institut für Diagnostische und Interventionelle
Radiologie und Neuroradiologie
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45122 Essen
Tel.: 0201-723-1541
Fax: 0201-723-1595
Email: mark.ladd@uni-duisburg-essen.de

Prof. Dr. rer. nat. Elke Winterhager

Institut für Molekularbiologie
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen
Tel.: 0201-723-4387
Fax.:0201-723-5974
Email: elke.winterhager@uk-essen.de

Inhalt

1.	Vorwort / Foreword.....	4
2.	Einleitung.....	4
3.	Effekte auf die Keimzellentwicklung und Fertilität.....	7
	3.1 Effekte auf die männliche Keimzellentwicklung und Fertilität.....	7
	3.2 Effekte auf die weibliche Keimzellentwicklung und Fertilität.....	8
4.	Effekte auf die Schwangerschaft und Embryonalentwicklung	9
	4.1 Untersuchungen an Säugern.....	9
	4.1.1 statische Magnetfelder.....	9
	4.1.2 MRT	12
	4.2 Untersuchungen an nicht-säugenden Vertebraten.....	14
	4.2.1 statische Magnetfelder.....	14
	4.2.2 MRT	17
5.	Untersuchungen am Menschen.....	18
6.	Zusammenfassung	20
	Summary	21
7.	Schlussfolgerungen.....	22
8.	Literaturverzeichnis.....	23

1. Vorwort

Mit der schnell fortschreitenden technischen Entwicklung werden Menschen in immer stärkerem Maße magnetischen Feldern ausgesetzt. Aufgrund dieser zunehmenden Bedeutung steigt auch die Notwendigkeit der Risikoabschätzung solcher Expositionen. Zu den Risiken statischer Magnetfelder für die verschiedenen Aspekte der Gesundheit des Menschen sind daher in den letzten Jahren eine Reihe von Übersichtsarbeiten erschienen (Feychting 2005, WHO 2006, Health Protection Agency 2008). Die vorliegende Übersicht fokussiert sich speziell auf die bisher durchgeführten wissenschaftlichen Untersuchungen zur Auswirkung statischer Magnetfelder auf die Fertilität und Fortpflanzung.

Foreword

Concomitant with rapid advances in technology, humans are being increasingly exposed to various magnetic fields. Due to the growing prominence of this exposure, it is becoming increasingly necessary to estimate the risks associated with such exposure. The risks for various aspects of human health associated with static magnetic fields have been the subject of a number of recent literature reviews (Feychting 2005, WHO 2006, Health Protection Agency 2008). The present review is focused particularly on the scientific studies which have thus far been performed regarding the effects of static magnetic fields on fertility and reproduction.

2. Einleitung

Mit fortschreitender technischer Entwicklung steigt auch die Häufigkeit und Intensität, mit der Menschen magnetischen Feldern ausgesetzt sind. Dies betrifft unterschiedliche Bereiche wie die Industrie, das Transportwesen, und physikalische Forschungsbereiche. Die Hauptquelle für die Exposition des Menschen mit starken Magnetfeldern ist jedoch die medizinische Diagnose mittels Magnetresonanztomographie. In der klinischen Diagnostik haben nicht-invasive bildgebende Verfahren in den letzten Jahren stark an Bedeutung gewonnen und werden zunehmend eingesetzt. Vor allem im Bereich der Magnetresonanztomographie (MRT) hat sich eine rasante Entwicklung im Hinblick auf eine ständige Zunahme der Magnetfeldstärken vollzogen. Die Flussdichte der in der Medizin eingesetzten Systeme stieg stetig von 0,2T über 1,0T und 1,5T, die über die letzten 20 Jahre den Hauptanteil der klinisch eingesetzten Systeme stellten, bis hin zu 3,0T. Letztere wurden erst in den letzten Jahren verstärkt für die klinische Diagnostik eingesetzt. Hochfeld-MRT-Untersuchungen sind seit der Entwicklung von Systemen mit 7 oder mehr Tesla vor etwa 10 Jahren möglich und beziehen

sich auf die ersten mit 7T, 8T und sogar 9,4T-Systemen gesammelten Erfahrungen. Diese Scanner sind gegenwärtig noch der Forschung vorbehalten, sollen auf längere Sicht jedoch auch in der klinischen Routinediagnostik Eingang finden. Hierbei scheinen sich 7T-Magnete, in denen standardmäßige klinische Gradientenspulen verwendet werden können, zum neuen Standard zu entwickeln (Grimm und Schmitt, 2006). Die Erfahrungen mit der 7T-Bildgebung beim Menschen beschränken sich bisher nahezu ausschließlich auf Untersuchungen von Kopf und Extremitäten. Über schwere Nebenwirkungen ist bisher nichts bekannt, es wurden jedoch kaum Untersuchungen hierzu durchgeführt (Grimm und Schmitt 2006, Theysohn et al. 2007). Die schnelle Entwicklung dieser Technologie und ihre weit verbreitete Anwendung in der Medizin und auch in anderen Bereichen macht epidemiologische Studien und Grundlagenforschung notwendig, um das Gesundheitsrisiko abschätzen zu können.

Ein wichtiger und bisher wenig untersuchter Aspekt im Hinblick auf die Exposition mit hoher magnetischer Flussdichte ist ihre Auswirkung auf die Fertilität, den Schwangerschaftsverlauf und die Embryonalentwicklung sowohl bei Patienten als auch beim technischen und medizinischen Personal am MRT. In den letzten Jahren ist die MRT-Bildgebung zunehmend zur pränatalen Diagnose eingesetzt worden (Quinn et al. 1998, Hubbard et al. 1999, Breyssem et al. 2003, Sohn et al. 2007), vor allem für die Untersuchung der embryonalen Gehirnentwicklung (Übersichtsartikel: De Wilde et al. 2005). Aber auch für Diagnosen bei schwangeren Frauen im Hinblick auf Tumordiagnostik, Veränderungen im cerebralen Blutfluss, Beurteilung der Plazentafunktion (z.B. bei Präeklampsie) oder Endometriose wird die MRT eingesetzt (Übersichtsartikel: De Wilde et al. 2005).

Nach wie vor besteht eine große Unsicherheit bezüglich der biologischen Auswirkung solch starker statischer Magnetfelder auf die Fertilität und die Embryonalentwicklung. Aufgrund der steigenden in der klinischen Diagnostik eingesetzten Flussdichten besteht daher ein Bedarf, die Effekte dieser starken statischen Magnetfelder auf die Reproduktion zu untersuchen. Die einzelnen Schritte der menschlichen Reproduktion wie Keimzellreifung, Befruchtung, Implantation und Embryonalentwicklung sind sehr stör anfällig. Man geht davon aus, dass ca. 20% der Spontanaborte stattfinden, bevor eine klinische Schwangerschaft manifestiert wurde (Wilcox et al. 1988). So könnten durch magnetische Felder beeinflusste Molekülveränderungen, z.B. im Hinblick auf deren Ausrichtung im magnetischen Feld oder auf Störungen von Ladungs-vermittelten Interaktionen, zu einer Störung der an der fetomaternalen Interaktion bei der Embryoimplantation beteiligten Signalkaskaden führen. Es gibt Hinweise darauf, dass statische Magnetfelder mit sich bewegenden elektrisch geladenen Teilchen wie z.B. Ionen interagieren (Schenck 2005). Zudem könnten das im Körpergewebe enthaltene Eisen und Magnetit durch starke Magnetfelder parallel ausgerichtet und durch Gradientenfelder wieder verlagert werden, wodurch Ionenkanäle in Zellen aktiviert werden

könnten (Kirschvink et al. 1992). So gibt es Hinweise aus Studien an Pilzen, dass Calcium-abhängige Signalwege beeinflusst werden könnten (Albertini et al. 2003). Zudem konnte ein Einfluss auf die Anordnung von Phospholipid-Bilayern, aus denen Zellmembranen bestehen, beobachtet werden (Tiburu et al. 2001). Solche Einflüsse könnten auch die fötale Programmierung beeinflussen und dadurch kritische Schritte während der Organogenese stören.

Es stellt sich somit die Frage, ob einzelne Schritte der Fortpflanzung durch die Exposition mit statischen Magnetfeldern beeinflusst werden können. In diesem komplexen Geschehen muss man unterscheiden zwischen

- Effekte auf die männliche / weibliche Keimzellentwicklung und die Befruchtung
- Effekte auf die Einnistung des Embryos in die Gebärmutter
- Effekte auf die Plazentaentwicklung und den Schwangerschaftsverlauf (Aborte, Frühgeburten)
- Effekte auf die Entwicklung des Fötus (Fehlbildungen)
- Effekte auf die Nachkommen (postpartal, Transgenerationseffekte)

Die bisher veröffentlichten Studien untersuchten überwiegend den Einfluss relativ schwacher Magnetfelder auf den Organismus und fokussierten sich zum größten Teil auf Störungen der Embryonalentwicklung.

Zu beachten ist zudem, dass die Organismen bei der Bildgebung im MRT nicht nur statischen Magnetfeldern, sondern auch Gradientenfeldern - und dem damit verbundenen starken Geräuschpegel - sowie Radiofrequenzen – und der damit verbundenen Wärmeentwicklung – ausgesetzt sind. Man weiß, dass sowohl erhöhte Temperaturen (Edwards et al. 2003) als auch Lärm (Brezinka et al. 1997) einen Einfluss auf den Embryo in-utero haben können.

In der vorliegenden Literaturübersicht wurden die bisherigen Befunde zur Auswirkung von statischen Magnetfeldern sowie von der Exposition im MRT (statisches Feld + Gradientenfelder + Radiofrequenzen) auf die Fortpflanzung zusammengestellt.

3. Effekte auf die Keimzellentwicklung und Fertilität

3.1 Effekte auf die männliche Keimzellentwicklung und Fertilität

Zum Einfluss statischer Magnetfelder auf die männliche Fertilität wurden bisher nur einige wenige Studien mit relativ geringen Flussdichten von 0,3 bis 1,5T durchgeführt. Hierzu wurden männliche Mäuse für unterschiedliche Zeiten in den verschiedenen starken Magnetfeldern exponiert und anschließend die Entwicklung und Morphologie der Spermien untersucht. Nach einer Exposition von Ratten bei 128 mT 1 h/Tag über einen Zeitraum von 30 Tagen zeigten Amara et al. (2006) zwar eine verstärkte DNA-Oxidierung im Hoden, konnten aber keinen Effekt auf Spermienzahl und –motilität beobachten. Im Hinblick auf die Spermatogenese konnten auch Withers et al. (1985) nach einer kontinuierlichen Exposition für 66 Stunden bei 0,3T keinen Effekt feststellen. Ebenso zeigten sich keine Effekte auf die Spermienproduktion, -reifung und –motilität nach Exposition bei 0,7T für 1h/Tag oder 24h/Tag Stunden über einen Zeitraum von 10 bzw. 35 Tagen (Tablado et al. 1996). Diese Arbeitsgruppe zeigte jedoch 2 Jahre später mit demselben experimentellen Design eine Zunahme der morphologischen Fehlbildungen des Spermienkopfes bei einer 35tägigen Exposition für 1 oder 24 Stunden/Tag (Tablado et al. 1998), so dass hier bei gleichen Versuchsbedingungen keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt wurden. Bei diesen Arbeiten ist jedoch zu berücksichtigen, dass jeweils nur eine geringe Zahl von Versuchstieren (sechs Mäuse bei Withers et al. 1985, fünf Mäuse bei Tablado et al. 1996 bzw. zehn Mäuse bei Tablado et al. 1998) pro Versuchsgruppe verwendet wurde.

Morphologische Veränderungen in Form von Kopfabnormalitäten an aus Nebenhoden isolierten Spermien wiesen Narra et al. (1996) 16 und 29 Tage nach einer 30-minütigen Exposition mit 1,5T nach. Gleichzeitig war in diesem Versuchansatz die Zahl der Spermien im Hoden signifikant reduziert. Diese Studie ist statistisch besser abgesichert, da insgesamt etwa 240 Mäuse eingesetzt wurde. Es wurde jedoch leider nicht genau differenziert, wie viele hiervon exponiert wurden und wie viele als Kontrolle dienten.

Eine andere Studie benutzte neben dem statischen Feld zusätzlich Radiofrequenzen. Hier konnte in der Arbeit von Prasad et al. (1990), in der isolierte Frosch-Spermien für 1 Stunde bei 0,15T und 4,5T in Kombination mit Radiofrequenzen exponiert wurden, keine Effekt auf die Entwicklung von mit diesen exponierten Spermien befruchteten Oozyten gezeigt werden.

<u>Tabelle 1: Effekte auf Spermio-genese und männliche Fertilität</u>					
Statisches Feld					
Fluss-dichte	Expositions-dauer	untersuchte Parameter	Effekte	Spezies	Referenz
128 mT	1h über 30 d	Spermatogenese	verstärkte DNA-Oxidierung im Hoden, kein Effekt auf Spermio-genese	Ratte	Amara et al. 2006
0,3T	66 h	Spermatogenese	keine	Maus	Whiters et al. 1985
0,7T	1 oder 24 h, 10 oder 35 d	Spermatogenese	kein Effekt auf Produktion, Reifung, Motilität	Maus	Tablado et al. 1996
0,7T	1 oder 24 h, über 35d	Spermatogenese	morphologischen Fehlbildungen des Spermienkopfes	Maus	Tablado et al. 1998
1,5T	30 min	Spermatogenese	Reduzierte Spermienzahl, morphologischen Fehlbildungen des Spermienkopfes	Maus	Narra et al. 1996
Statisches Feld + Hochfrequenz					
0,15T 4,5T	1h	Fertilität	keine Effekte auf Embryonalentwicklung	Frosch	Prasad et al. 1990

3.2 Effekte auf die weibliche Keimzellentwicklung und Fertilität

Zum Einfluss statischer Magnetfelder auf die Entwicklung der Eizellen im weiblichen Eierstock sowie daraus resultierende Effekte auf die Befruchtungsfähigkeit dieser Oozyten und deren Entwicklungspotential wurden bisher keine Studien durchgeführt.

4. Effekte auf die Schwangerschaft und Embryonalentwicklung

4.1 Untersuchungen an Säugern

Statische Magnetfelder können in den unterschiedlichen kritischen Phasen der Fortpflanzung einen Einfluss haben. Dies betrifft die Entwicklung von Präimplantationsembryonen, den Implantationsvorgang und Plazentation, sowie auch die Entwicklung der Embryonen nach der Implantation (Fehlbildungen). Verlässliche Parameter für diese Analysen sind vor allem die Geburtenrate, Größe und Gewicht der Neugeborenen und der Plazenten sowie die morphologische Analyse von Plazenta und Embryonen. Zur Untersuchung der präimplantativen Entwicklung werden meist 2-Zell-Stadien entnommen und deren weitere Entwicklung zur Blastozyste in-vitro beobachtet.

4.1.1 *statische Magnetfelder*

Zur Untersuchung der präimplantativen Entwicklung ist nur eine Studie bekannt. Narra et al. (1996) setzten Embryonen im 2-Zell-Stadium, d.h. am Tag 1 der Schwangerschaft, in vivo einem statischen Magnetfeld von 1,5T für 30 min aus. Die 2-Zell-Stadien wurden den Mäusen danach direkt aus dem Eileiter entnommen und deren Entwicklungspotential in-vitro untersucht. Hierbei zeigte sich im Vergleich zu den Kontrollen eine reduzierte Entwicklung von 2-Zellern zum Blastozystenstadium.

Im Hinblick auf die Embryonalentwicklung zeigten die meisten Studien keine teratogenen Effekte. Eine Exposition bei 0,5-0,7T ab Tag 7 post coitum (dpc) bis zur Geburt hatte keinen Einfluss auf die Wurfgröße und das Gewicht der Embryonen (Tablado et al. 2000). Sikov et al. (1979) setzten schwangere weibliche Mäuse über verschiedene Perioden der Schwangerschaft (vor der Implantation, während der Organogenese, während der Embryonalentwicklung) einem Magnetfeld von 1T aus, konnten aber keinen Effekt auf Wurfgröße, Resorptionen, oder die Entwicklung der Embryonen zeigen. Konermann und Mönig (1986) exponierten schwangere Mäuse ebenfalls bei 1T, jedoch nur an einzelnen Tagen der Schwangerschaft: 7, 10 oder 13 dpc. Sie konnten keine Entwicklungsdefekte im Hinblick auf Gewicht der Embryonen, äußere Fehlbildungen oder Skelettanomalien an Tag 18 post coitum beobachten. Auch zeigten sich keine Auswirkungen der Exposition an Tag 13 pc auf Hirngewicht und Anordnung der kortikalen Neurone 3 Wochen nach der Geburt. Unterstützt werden diese Befunde von Zimmermann und Hentschel (1987), die nach einer kontinuierlichen Exposition bei 3,5T über die gesamte Schwangerschaftsdauer bis 18 dpc keine gesteigerte Anzahl von Fehlbildungen, Entwicklungsverzögerungen oder Resorptionen feststellen konnten.

Auch bei stärkeren Magnetfeldern von 4,7T bzw. 6,3T zeigte die in-utero Exposition keinen Effekt auf die Plazentaentwicklung und Organogenese bei der Maus. Okazaki et al. (2001) benutzten ein statisches Magnetfeld von 4,7T, dem schwangere Mäuse zwei Tage lang von 7,5 – 9,5 dpc ausgesetzt wurden. Bei der Analyse an 18,5 dpc zeigte sich keine gesteigerte Anzahl intrauterin verstorbenen Embryonen oder äußerer Fehlbildungen. Am Tag 16,5 pc wurde eine vorübergehende Erhöhung des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) im Brustbein der fötalen Mäuse gezeigt, die an 18,5 dpc aber nicht mehr nachweisbar war. In einer weiteren Studie zeigten sich nach Exposition von schwangeren Mäusen bei 6,3T während der Periode der Organogenese von 7,5 bis 14,5 dpc für 1h/Tag bei der Analyse an 18,5 dpc keine Effekte auf Wurfgröße, Resorptionen, äußere Fehlbildungen oder Skelettanomalien (Murakami et al. 1992). Während in der Studie von Okazaki et al. (2001) nur 12 Mäuse exponiert wurden, setzten Murakami et al. (1992) 48 exponierte Mäuse und 50 Kontrollmäuse ein, so dass die Aussagen dieser Studie als statistisch signifikant angesehen werden können. Obwohl alle Studien ein unterschiedliches experimentelles Design aufweisen und zudem verschiedene Endpunkte als Untersuchungskriterien herangezogen wurden, kann man aussagen, dass die genannten Studien über die Einwirkung statischer Magnetfelder auf postimplantative Embryonen und Foeten nicht zu augenfälligen Entwicklungsstörungen führten.

In diesen Studien wurden allerdings nicht speziell Einflüsse auf die Plazentaentwicklung oder -funktion untersucht. Dass sich jedoch keine Resorptionen oder Gewichtsverminderungen der Föten bzw. der Neugeborenen zeigten, lässt indirekt darauf schließen, dass unter dem Einfluss der Magnetfelder keine wesentlichen Veränderungen in der Plazentaentwicklung auftraten.

Interessanterweise beschreiben einige Studien Fehlbildungen nach Exposition mit geringeren Flussdichten. Bei einer Untersuchung an Ratten zeigten Mevissen et al. (1994), dass eine Exposition bei 30 mT über die gesamte Dauer der Schwangerschaft von 1 – 20 dpc zu einer Reduktion der Wurfgröße führte. Während keine Steigerung der Fehlbildungen oder Skelettanomalien auftrat, zeigten sich bei den in utero exponierten Tieren jedoch eine erhöhte Ossifikation und ein stärkeres postnatales Wachstum im Vergleich zu den Kontrollen. Saito et al. (2006) exponierten Mäuse in utero bei 0,4T für 60 min an einem Tag im Zeitraum von 7,5 – 14,5 dpc. Die Analyse an 18,5 dpc zeigte keinen Effekt auf das Gewicht von Plazenten und Embryonen und auf Wurfgröße und Anzahl der Resorptionsstellen. Es zeigte sich jedoch, unabhängig vom Schwangerschaftstag der Exposition, ein signifikant gehäuftes Auftreten vor allem von Polydaktylie sowie von gekringelten Schwänzen. Da dies selbst nach Exposition an sehr frühen Schwangerschaftsstadien, d.h. vor der Organogenese auftrat, vermuten die Autoren, dass durch das statische Magnetfeld frühe zelluläre Signalkaskaden gestört wurden, die zu den

Fehlbildungen führten. Während in der Studie von Mevissen et al. (1994) 36 Mäuse exponiert wurden, bestand die Größe der Versuchsgruppe bei Saito et al. (2006) jedoch nur aus 10 Mäusen, so dass die beobachteten Effekte mit höheren Fallzahlen noch abgesichert werden müssten.

Tabelle 2: Effekte auf Embryogenese - statisches Feld					
Flussdichte	Expositions-dauer	untersuchte Parameter	Effekte	Spezies	Referenz
1,5T	30 min im 2-Zell-Stadium	Präimplantations-embryonen	reduziertes Überleben von Präimplantations-embryonen	Maus	Narra et al. 1996
30 mT	1 - 20 dpc	Embryonalentwicklung	Reduktion der Wurfgröße, keine Fehlbildungen und Skelettanomalien, erhöhte Ossifikation, stärkeres postnatales Wachstum	Ratte	Mevissen et al. 1994
0,4T	einmalig 60 min, jeweils an einem Tag von 7,5 - 14,5 dpc	Embryonalentwicklung	keinen Effekt auf Gewicht von Plazenten und Embryonen, Wurfgröße, Resorptionen; aber: gehäufte Fehlbildungen (Polydaktylie, gekringelte Schwänze)	Maus	Saito et al. 2006
0,5 - 0,7T	1h oder 24h, 7dpc bis Geburt	Embryonalentwicklung	keine	Maus	Tablado et al. 2000
1T	Unterschiedliche Perioden während Prä-Implantation, Organogenese, Entwicklung des Fetus, oder über die gesamte Schwangerschaft	Embryonalentwicklung	keine	Maus	Sikov et al. 1979
1T	1h an Tag 7, 10, 13 pc	Embryonalentwicklung, postnatale Entwicklung bis Tag 25 post partum	keine	Maus	Koner-mann und Mönig 1986
3,5T	durchgehend von Tag 0,5 - 18,5 pc	Embryonalentwicklung	keine	Maus	Zimmer-mann und Hentsche I 1987
4,7T	7,5 - 9,5 dpc	Embryonalentwicklung	keine	Maus	Okazaki et al. 2001
6,3T	7,5 - 14,5 dpc, 1h/Tag	Embryonalentwicklung	keine	Maus	Murakami et al. 1992

4.1.2 MRT

Eine andere Gruppe von Studien benutzte kein reines statisches Magnetfeld, sondern die gesamte MRT-Bildgebung (statisches Feld, Gradientenfeld, Radiofrequenzen). Einerseits spiegeln diese Studien im Hinblick auf die diagnostische Bildgebung eher die Realität wider, andererseits können die beobachteten Effekte hier jedoch nicht den einzelnen Komponenten zugeordnet werden.

Chew et al. (2001) exponierten superovulierte Mäuse mit unterschiedlichen Sequenzen bei 1,5T. Anschließend wurden die 2-Zell-Stadien entnommen und auf ihre Kapazität, sich zu Blastozysten zu entwickeln, in-vitro untersucht. In dieser Studie konnte kein Effekt auf das Entwicklungspotenzial der Präimplantations-Embryonen detektiert werden.

Untersuchungen zu teratologischen Effekten führten Tyndall und Mitarbeiter durch, indem sie Mäuse an 7 dpc für 36 Minuten bei 1,5T exponierten. Sie beschrieben einen erhöhten Prozentsatz an Nachkommen mit Fehlbildungen des Auges bei C57BL/6J Mäusen, die jedoch eine bereits zuvor vorhandene genetische Prädisposition für diese Defekte hatten. Dieser Effekt trat sowohl bei Exposition der Tiere im Isozentrum als auch am Eingang zur MRT-Röhre auf (Tyndall und Sulik 1991). Darüber hinaus wurde ein erhöhter Prozentsatz an Embryonen mit reduziertem Kopfumfang und reduzierter Scheitel-Steiß-Länge beobachtet (Tyndall 1993).

Eine reduzierte Scheitel-Steiß-Länge wurde auch von Heinrichs et al. (1988) beschrieben, die schwangere Mäuse ab 8,75 dpc für 16h bei 0,35T exponierten. Neben dieser Wachstumsretardierung, die auf einen Plazentadefekt zurückzuführen sein könnte, konnten jedoch keine Embryotoxizität (keine Resorptionen, keine Totgeburten) und keine Fehlbildungen (Skelettdefekte) festgestellt werden. Rofsky et al. (1994) exponierten schwangere Mäuse an 9,5 dpc für 16 Minuten bei 1,5T und analysierten die Föten an 18dpc. Sie konnten keinen Effekt auf die Wurfgröße, Resorptionen, Embryogewicht, Extremitätenausbildung oder Entwicklung von Auge und Ohr feststellen.

Bei höheren Flussdichten (4,7T) beschrieben Carnes und Magin (1996) nach 8-stündiger Exposition an 9 dpc und/oder 12 dpc eine Reduktion des Gewichtes der Embryonen und eine Reduktion der Scheitel-Steiß-Länge bei Analyse an 18 dpc. Zudem war die postpartale Sterberate erhöht, wenn die Tiere an 9 und 12 dpc exponiert worden waren. Zusätzlich wurden die exponierten Embryonen 50 Tage postpartum, d.h. im adulten Stadium untersucht. Hier zeigte sich eine signifikante Reduktion der Spermienzahl bei den männlichen Nachkommen, die an 12 dpc in utero exponiert worden waren. In einer weiteren Studie dieser Gruppe zeigte sich bei ähnlichem experimentellem Protokoll kein Effekt auf das embryonale Wachstum, wenn die Tiere nur im MRT exponiert wurden, es konnte jedoch eine Wachstumsretardierung beobachtet werden, wenn die Tiere an 9 dpc zusätzlich Ultraschall ausgesetzt wurden (Magin et al. 2000).

Im Gegensatz hierzu fanden Gu et al. (2001) nach 1-stündiger Exposition an 8 dpc bei 0,5T eine erhöhte Rate an in-utero verstorbenen Embryonen bei ihrer Analyse an 18,5 dpc. Auch hier konnten Fehlbildungen des Schwanzes beobachtet werden, zudem traten einzelne Fälle von Hydrocephalus auf. Ein Effekt auf das Gewicht der Föten wurde nicht beobachtet.

Tabelle 3: Effekte auf Embryogenese - MRT					
Flussdichte	Expositionsdauer	untersuchte Parameter	Effekte	Spezies	Referenz
1,5T	3 – 18 min im 2-Zell-Stadium	Entwicklung der Präimplantations-Embryonen	Keine	Maus	Chew et al. 2001
0,35T	16h ab Tag 8,75 pc	Embryonalentwicklung	reduzierte Scheitel-Steiß-Länge, keine Embryotoxizität, keine Teratogenität	Maus	Heinrichs et al. 1988
0,5T	1h an Tag 8 pc	Embryonalentwicklung	erhöhte Embryosterblichkeit, Fehlbildungen (Hydrocephalus, Schwanzanomalien)	Maus	Gu et al. 2001
1,5T	16 min an Tag 9 pc	Embryonalentwicklung	Keine	Maus	Rofsky et al. 1994
1,5T	36 min an Tag 7 pc	Embryonalentwicklung	Fehlbildungen des Auges	Maus	Tyndall und Sulik 1991
1,5T	36 min an Tag 7 pc	Embryonalentwicklung	reduzierte Kopfumfang und Scheitel-Steiß-Länge	Maus	Tyndall 1993
4,7T	8h an Tag 9 und/oder 12 pc	Embryonalentwicklung, postnatale Entwicklung	reduzierte Scheitel-Steiß-Länge, Reduktion der Spermienzahl in adulten Tieren	Maus	Carnes und Magin 1996
4T	9h an 9 dpc und/oder 12 dpc, +/- Ultraschall	Embryonalentwicklung	Wachstumsretardierung nur in Kombination mit Ultraschall	Maus	Magin et al. 2000

Im Vergleich zu den Versuchen mit rein statischen Magnetfeldern scheinen bei Exposition im MRT, d. h. bei der Kombination von statischen Feldern mit Gradientenfeldern und Radiofrequenzen, mehr Fehlbildungen und vor allem ein reduziertes Wachstum der Embryonen aufzutreten als bei Exposition in statischen Magnetfeldern alleine. Es kann hierbei jedoch leider nicht differenziert werden, ob dies auf einen synergistischen Effekt der Komponenten zurückzuführen ist, oder speziell durch eine der Komponente ausgelöst wird.

4.2 Untersuchungen an nicht-säugenden Vertebraten

Zahlreiche Untersuchungen zur Embryonalentwicklung wurden bei Frosch- und Hühnereiern durchgeführt. Da sich diese Spezies ex-utero entwickeln sind die sich entwickelnden Embryonen sehr viel leichter experimentell zugänglich. Andererseits fehlen für die Fortpflanzung beim Säuger eminent wichtige Schritte wie die Implantation und die Plazentation, deren Beeinflussung durch statische magnetische Felder einen erheblichen Effekt auf die Reproduktion haben könnte. Auch wenn die Ergebnisse aus diesen Studien daher nicht unmittelbar auf die Situation beim Menschen übertragbar sind, können sie dennoch Hinweise auf mögliche Entwicklungsstörungen des frühen Embryos geben und werden daher im Folgenden kurz zusammen gefasst.

4.2.1 *statische Magnetfelder*

Viele dieser Untersuchungen wurden mit befruchteten Froscheiern durchgeführt. Ueno et al. (1990) exponierten künstlich befruchtete Frosch-Eier bei 6,34T für 7h während der Furchungsteilungen zur Blastula, und beobachteten danach die weitere Entwicklung über einen Zeitraum von 4Tagen. In einem weiteren Ansatz wurden befruchtete Frosch-Eier für 20h bei 40nT (Ueno et al. 1994), 4,5T (Ueno et al. 1990) bzw. 8T (Ueno et al. 1994) exponiert. In keinem der Experimente wurde ein Effekt auf die Entwicklung der befruchteten Eizellen beobachtet. Ebenso führte eine 7-tägige Exposition bei 0,25T nicht zu Veränderungen in der Entwicklung des Krallenfrosches (*Xenopus laevis*) (Mild et al. 1981). Denegre et al. (1998) wiesen einen Effekt der magnetischen Flussdichte auf die Zellteilung nach. Sie exponierten befruchtete Eier des Krallenfrosches während der ersten drei Furchungsstadien bei Flussdichten bis zu 16,7T. Die Furchungsebenen der 2. und 3. Furchung richteten sich im Gegensatz zu den Kontrollen parallel zum Magnetfeld aus. Der Prozentsatz parallel ausgerichteter Furchungsebenen stieg mit der Zunahme der Flussdichte von 2T bis 16,7T. Dies hatte jedoch keinen Effekt auf die weitere Entwicklung, da sich alle befruchteten Eier normal zu Kaulquappen entwickelten. Ähnliche Beobachtungen machten Eguchi et al. (2006) indem sie befruchtete Frosch-Oozyten während der ersten 3 Teilungen in einem statischen Feld von 8T exponierten. Auch hier zeigte sich eine Veränderung der Achse der 3. Furchungsteilung, aber auch hier hatte dies keinen Effekt auf die weitere Entwicklung. Ein Effekt starker Magnetfelder von bis zu 22T auf die Orientierung des Mitose-Apparates und somit auf die Zellteilung wurde auch von Valles et al. (2002) gezeigt. Insgesamt zeigte sich somit in einigen dieser Versuche zwar ein Effekt auf die Furchungsteilungen der Oozyten, der jedoch nicht zu Fehlbildungen bei den Nachkommen führte.

Andere Untersuchungen exponierten befruchtete Hühnereier in statischen Magnetfeldern. Behr et al. (1991) setzten befruchtete Hühnereier vor Beginn der Inkubation und am Tag 5 der Inkubation für bis zu 75 Minuten statischen Magnetfeldern von 1T bzw. 4T aus. Sie konnten jedoch keinen Effekt im Hinblick auf Embryomortalität, Schlüpfrate und Überleben der Küken beobachten.

Die Auswirkung von statischen Magnetfeldern auf die Entwicklung der Kleinhirnrinde der exponierten Hühnerembryonen untersuchten Espinar et al. (1997). Sie zeigten einen Effekt eines schwachen Magnetfeldes von 20 mT auf die Zellmigration und Differenzierung in der Kleinhirnrinde. Eine einmalige Exposition an Tag 6 der Inkubation führte zu Veränderungen in der Morphologie der inneren und äußeren Körnerschicht an Tag 13, die jedoch, wie im gleichen experimentellen Design durch Untersuchungen an Tag 17 der Inkubation gezeigt wurde, reversibel waren und an Tag 17 nicht mehr nachweisbar waren. Mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass eine kontinuierliche Exposition von Anfang der Inkubation bis Tag 13 bzw. Tag 17 zu einer nachhaltigen Zelldegeneration und einer verzögerten neuronalen Differenzierung der Kleinhirnrinde führte. Effekte auf die Epiphysenentwicklung untersuchten Jove et al. (1999). Sie exponierten befruchtete Hühnereier für 5, 10 oder 15 Tage bei 18mT oder 36mT. Nach 10 bzw. 15 Tagen Exposition zeigten die Embryonen eine beschleunigte Entwicklung im Vergleich zu Kontrollen. Die morphometrische Ausmessung der Epiphysen zeigt jedoch kaum Unterschiede, sie waren aber nach 15 Tagen Exposition etwas kleiner. Dieser Effekt trat bei der Exposition mit 36mT noch etwas stärker hervor, so dass eine Korrelation zu Expositionsdauer und Flussdichte vorhanden zu sein scheint.

Ruggiereo et al. (2004) untersuchten die Chorioallantoismembran von befruchteten Hühnereiern nach 3-stündiger Exposition bei 0,2T. Sie konnten keinen Effekt auf die Gefäßbildung feststellen, aber die Induktion der Angiogenese durch Prostaglandin E1 und durch fötales Kälberserum war nach Exposition reduziert.

Tabelle 4: Effekte auf Embryogenese bei nicht-Säugetern - statisches Feld

Flussdichte	Expositionsdauer	untersuchte Parameter	Effekte	Spezies	Referenz
0,25T	7d	Embryonalentwicklung	keine	Frosch	Mild et al. 1981
40nT, 8T	20h	Embryonalentwicklung	keine	Frosch	Ueno et al. 1994
4,5T 6,34 T	20h 7h	Embryonalentwicklung	keine	Frosch	Ueno et al. 1990
1,74T - 16,7T	wenige Stunden	Furchungsteilungen	2. und 3. Furchungsteilung parallel zum Magnetfeld, kein Effekt auf weitere Entwicklung	Frosch	Denegre et al. 1998
8T	wenige Stunden	Furchungsteilungen	Änderung der Achse der 3. Furchungsteilung, kein Effekt auf weitere Entwicklung	Frosch	Eguchi et al. 2006
17T - 22T		Mitoseapparat	Änderung der Orientierung des Mitoseapparates	Frosch	Valles 2002
20mT	24h an Tag 6, 13 Tage 17 Tage	Embryonalentwicklung der Kleinhirnrinde	Morphologische Veränderungen reversibel nach 1d Exposition, nachhaltiger nach 13 bzw. 17d Exposition	Huhn	Espinar et al. 1997
18mT, 36mT	5 Tage 10 Tage 15 Tage	Embryonalentwicklung der Epiphyse	beschleunigte Embryonalentwicklung, retardiertes Epiphysenwachstum in Abhängigkeit von Flussdichte und Expositionsdauer	Huhn	Jove et al. 1999
1T, 4T	18 - 75 min	Embryonalentwicklung	keine	Huhn	Behr et al. 1991
0,2T	3h	Angiogenese in der Chorioallantois-membran	keinen Effekt auf Angiogenese, aber PGE1 und FCS-induzierte Angiogenese reduziert	Huhn	Ruggiero et al. 2004

4.2.2 MRT

Auch bei den Studien an den nicht-Säugetern Frosch und Huhn wurden Expositionen mit dem gesamt-MRT durchgeführt. Prasad und Mitarbeiter konnten keinen Effekt auf die Entwicklung von befruchteten Froscheiern nach einer 20-minütigen Exposition bei 0,7T (Prasad et al. 1982) oder einer 60-minütigen Exposition bei 4,5T (Prasad et al. 1990) beobachten. Ebenso beobachteten Kay et al. (1988) keinen Effekt auf die Embryogenese beim Frosch nach 1,5T Exposition.

Yip und Mitarbeiter untersuchten den Effekt einer 6-stündigen MRT-Exposition (1,5T) zu Beginn der Inkubation von befruchteten Hühnereiern auf die Embryonalentwicklung einerseits und die embryonale Entwicklung des Zentralnervensystems andererseits. Im Hinblick auf die Embryonalentwicklung führte diese Exposition zu Beginn der Inkubation zu einer erhöhten Mortalitätsrate an Tag 6 der Entwicklung (Yip et al. 1994b). Es konnte jedoch kein Effekt auf das Auswachsen von Nervenzellfortsätzen beobachtet werden (Yip et al. 1994a, 1995).

<u>Tabelle 5: Effekte auf Embryogenese bei nicht-Säugetern - MRT</u>					
Flussdichte	Expositionsdauer	untersuchte Parameter	Effekte	Spezies	Referenz
0,7T	20 min, befruchtete Eizelle oder während Furchungsteilungen	Embryonalentwicklung	keine	Frosch	Prasad et al. 1982
0,15T, 4,5T	60 min, befruchtete Eizelle	Embryonalentwicklung	keine	Frosch	Prasad et al. 1990
1,5T	3 x 1h an 3 Tagen ab Befruchtung	Embryonalentwicklung	keine	Frosch	Kay et al. 1988
1,5T	6h	Embryonalentwicklung	erhöhte Mortalitätsrate	Huhn	Yip et al. 1994b
1,5T	6h	Gehirnentwicklung	keine	Huhn	Yip et al. 1994a
1,5T	6h	Nervenentwicklung	keine	Huhn	Yip et al. 1995

5. Untersuchungen am Menschen

Untersuchungen des Effektes der MRT-Bildgebung auf die Fortpflanzung beim Menschen wurden bisher nur in geringem Umfang durchgeführt. Untersuchungen über die Auswirkung von statischen Magnetfeldern alleine fehlen bisher.

Baker et al. (1994) führten eine 3-Jahres-Follow-up Studie an 20 Kindern durch, die im Rahmen einer MRT-Diagnostik in-utero einer Exposition bei 0,5T ausgesetzt waren. Sie konnten bei diesen Kindern keinen Einfluss auf das Geburtsgewicht, das Hörvermögen und die weitere Entwicklung innerhalb der ersten 3 Lebensjahre feststellen. Kok et al. (2004) untersuchten 35 Kinder im Alter von 1-3 Jahren und 9 Kinder im Alter von 8-9 Jahren, die im 3. Schwangerschaftstrimester bei 1,5T exponiert worden waren. Es konnten keine Effekte bezüglich der neurologischen Entwicklung im Alter von 3 Monaten oder bezüglich des Seh- und Hörvermögens sowie der generellen Entwicklung in den ersten 3 Lebensjahren und im Alter von 8-9 Jahren im Zusammenhang mit der MRT-Untersuchung beobachtet werden.

Myers et al. (1998) untersuchten in einer prospektiven Studie 74 Frauen nach fünf diagnostischen MRT-Untersuchungen bei 0,5T zwischen der 20. und 40. Schwangerschaftswoche und konnten keine Veränderung des intrauterinen Wachstums der Föten feststellen. Die Neugeborenen hatten zwar ein geringeres Geburtsgewicht als die nicht-exponierten Kontrollen, was jedoch durch eine geringere Schwangerschaftsdauer aufgrund einer wahrscheinlich höheren Anzahl vorzeitiger Geburten erklärt wird. In derselben Klinik untersuchten Clements et al. (2000) 20 Kinder nach vier diagnostischen MRT-Untersuchungen zwischen der 20. und 40. Schwangerschaftswoche vor allem im Hinblick auf ihre neurologische Entwicklung bis zum Alter von 9 Monaten. Eine leichte Reduktion der Größe sowie eine etwas stärker ausgeprägte Grobmotorik wurde bei den exponierten Föten beobachtet, ein signifikanter Einfluss der MRT-Exposition auf die neurologische Entwicklung konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

In der Studie von Kanal et al. (1993) wurden schwangere MRT-Mitarbeiterinnen untersucht. In Bezug auf Fertilität, Schwangerschaftsdauer, Geburtsgewicht und Geschlecht der Kinder war keine Korrelation zur MRT-Exposition erkennbar. Schwangere Mitarbeiterinnen, die das MRT bedienen, sind normalerweise nur dem statischen Magnetfeld ausgesetzt, das auch außerhalb des Scannen stets eingeschaltet ist. Wenn die beiden anderen Parameter, Gradientenfelder und Radiofrequenzfelder, während der Bildgebung eingeschaltet werden, verlässt das technische und medizinische Personal üblicherweise den Raum. Da der Einsatz der interventionellen MRT, die ein Verbleiben des Personals am Gerät bedingt, jedoch zunimmt, wird auch die zusätzliche Exposition dieses Personenkreises mit Gradientenfelder und Radiofrequenzen zunehmen.

Nur Myers et al. (1998) und Clements et al. (2000) führten prospektive Studien mit entsprechend rekrutierten Kontrollgruppen durch, jedoch lag die Fallzahl mit 74 (Myers et al. 1998) und 20 (Clements et al. 2000) sehr niedrig. Bei den anderen Untersuchungen handelt es sich um rein retrospektive Studien. Baker et al. (1994) untersuchten zudem nur solche Patientinnen, bei denen vorab bereits mittels Ultraschall ein auffälliger Befund im Hinblick auf intrauterine Wachstumsverzögerung oder Fehlbildungen der Föten oder der Plazenta diagnostiziert worden war. Darüber hinaus wurden nur 20 Patientinnen in diese Untersuchung eingeschlossen, und auch in der Arbeit von Kok et al. (2004) waren es nur 35. Diese Zahlen reichen nicht aus, um verlässliche Aussagen zu machen. Lediglich Kanal et al. (1993) schlossen in ihre epidemiologischen Fragebogen-Erhebung 1421 schwangere Personen ein, von denen 280 an einem MRT-Arbeitsplatz beschäftigt waren.

<u>Tabelle 6: Untersuchungen am Menschen</u>					
<u>MRT-Bildgebung</u>					
Flussdichte	Expositions- frequenz	Schwangerschafts- stadium	untersuchte Parameter	Effekte	Referenz
0,5T	1x	2. und 3. Trimenon	Geburtsgewicht, Gehör nach 8 Monaten, Entwicklung innerhalb 3 Jahre	keine	Baker et al. 1994
0,5T	bis zu 5x	2. und 3. Trimenon	Schwangerschaftsdauer, Geburtsgewicht	Keine	Myers et al. 1998
k.A. (wahrscheinlich 0,5T)	4x	2. und 3. Trimenon	Schwangerschaftsdauer, Geschlecht der Kinder, neurologische und Entwicklungsparameter im Alter von 9 Monaten	Etwas geringere Größe, besser entwickelte Grobmotorik	Clements et al. 2000
1,5T	1x (1-3 Sequenzen)	3. Trimenon	Schwangerschaftsdauer, Geburtsgewicht, neurologische Untersuchung im Alter von 3 Monaten, Entwicklung innerhalb der ersten 3 Jahre und nach 8-9 Jahren	Keine	Kok et al. 2004
<u>Mitarbeiterinnen am MRT (keine direkte Exposition)</u>					
0,15 – 4,7T		1.-3. Trimenon	Fehl- und Frühgeburten, Geburtsgewicht, Geschlecht der Kinder	Keine	Kanal et al. 1993

6. Zusammenfassung

Effekte auf die männliche Fertilität wurden bisher nur bei relativ geringen Flussdichten von 0,3–1,5T untersucht. Von fünf Studien wurde in dreien kein Effekt auf die Spermatogenese gefunden. Die anderen zwei Studien zeigten vor allem morphologische Auffälligkeiten des Spermienkopfes. Ob dies eine Konsequenz für die Fertilität dieser Mäuse hat, wurde jedoch nicht untersucht. Die Fertilität exponierter Spermien wurde bei Säugern bisher nicht untersucht. Nur eine Studie untersuchte die Fertilität bei bis zu 4,5T exponierter Spermien bei Fröschen. Hier konnte kein Einfluss des Magnetfeldes auf die Entwicklung der von mit diesen Spermien befruchteten Oozyten festgestellt werden.

Untersuchungen zum Effekt auf die Keimzellentwicklung (Eizellen) bei weiblichen Tieren fehlen völlig. Hier setzen alle Untersuchungen erst ab der Befruchtung an.

Zwei Studien untersuchten das Entwicklungspotential von befruchteten Eizellen nach in-utero-Exposition bei 1,5T im 2-Zell-Stadium. Während sich nach bis zu 18 Minuten MRT-Bildgebung kein Effekt zeigte, war die Überlebensrate der Präimplantations-Embryonen nach 30 Minuten im statischen Magnetfeld reduziert.

Die weitaus meisten Studien beschäftigen sich mit den Effekten auf die Embryonalentwicklung nach der Implantation bei Flussdichten bis zu 6,3T. Hier zeigte sich in 6 von 8 Studien mit statischen Feldern kein Effekt. In einer Studie wurde eine Reduktion der Wurfgröße beschrieben und ein verstärktes postnatales Wachstum. Letzteres könnte jedoch auch durch die geringere Wurfgröße bedingt sein. Nur in einer Studie wurde ein gehäuftes Auftreten von Fehlbildungen bei einer Flussdichte von 0,4mT beschrieben.

In den Studien mit MRT-Bildgebung zeigten 3 von 8 Arbeiten eine Reduktion im Wachstum von Maus-Embryonen. Fehlbildungen wurden in zwei Studien beschrieben (Fehlbildungen des Auges bzw. des Schwanzes). Somit scheinen bei Exposition im MRT mehr Fehlbildungen und vor allem ein reduziertes Wachstum der Embryonen aufzutreten als bei Exposition in statischen Magnetfeldern alleine.

Bei nicht-säugenden Vertebraten wurde in 9 Studien kein Effekt auf die Embryonalentwicklung festgestellt. Zwei Studien untersuchten die ersten drei Furchungsteilungen der befruchteten Eizelle und konnten Auswirkungen auf die Ausrichtung der Achse bei der 3. Furchungsteilung zeigen, diese schienen jedoch keine Bedeutung für die weitere Entwicklung der Embryonen zu haben.

Im Hinblick auf den Menschen gibt es bisher nur wenige Studien mit geringen Fallzahlen, die mit relativ geringen Magnetfeldern durchgeführt wurden. Hier fehlen bisher systematische Untersuchungen zur Exposition mit starken Magnetfeldern über 1,5T.

Summary

Effects on male fertility have thus far only been studied at relatively low magnetic flux densities of 0.3–1.5T. In 3 of 5 studies no effects on spermatogenesis were found. The other two studies showed primarily morphological abnormalities of the sperm head. Whether these abnormalities had any ramification on the fertility of these mice was not investigated. With respect to the developmental potential of oocytes fertilized with sperm exposed to static magnetic fields, up to now no studies have been performed in mammalia. Only one study has thus far investigated the fertility of exposed frog sperms. No influence of a magnetic field up to 4,5T could be determined on the developmental potential of oocytes fertilized with those exposed sperms.

Examinations of effects on the gametes (ova) of female animals are completely missing. All examinations performed thus far have commenced observations starting with fertilization.

Two studies have examined the developmental potential of fertilized ova after in utero exposition with 1.5T in the 2-cell stage. While up to 18 minutes of MR imaging showed no effect, the survival rate of preimplantation embryos was reduced after 30 minutes of exposure to a static magnetic field.

By far the majority of studies deal with effects on embryonic development after implantation with flux densities up to 6.3T. Six of eight such studies with static magnetic fields showed no effect. One study described a reduction in litter size and faster postnatal growth. The latter, however, might be a consequence of the smaller litter size. In only one study, at a flux density of 0.4mT, could an increased incidence of malformations be found.

In studies with MR imaging, 3 of 6 studies revealed a reduced growth rate of the embryos. Malformations have been described in two studies (malformations of the eye or tail). Thus, more malformations and above all a reduced embryonic growth rate appear to occur after exposure to MR imaging compared to exposure to static magnetic fields alone.

With regard to non-mammal vertebrates, 9 studies could show no effect on embryonic development. Two studies investigated the first three cleavages of fertilized ova and could show effects on the cleavage plane orientation of the third cleavage, but these effects had no apparent impact on the further development of the embryos.

With regard to humans, the very few studies available were carried out with small numbers of subjects and at relatively low magnetic fields. Systematic investigations of exposure with strong magnetic fields above 1.5T are outstanding.

7. Schlussfolgerungen

Die verschiedenen Studien zum Einfluss statischer magnetischer Felder auf die Fortpflanzung zeigen unterschiedliche Resultate. Da sie unterschiedliche experimentelle Protokolle benutzen, sind diese Ergebnisse selbst bei ähnlichen Protokollen schwierig zu vergleichen. Hier sind neue koordinierte Studien unter definierten, vergleichbaren Bedingungen notwendig. Zudem sollten Studien wiederholt durchgeführt werden, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen.

Nicht berücksichtigt wurde in den bisherigen Studien zudem, dass durch die Exposition in einer veränderten Umgebung von der Expositionsbelastung unabhängige Stressfaktoren auf die Tiere einwirken, die zu Magnetfeld-unabhängigen Effekten in allen Bereichen der Reproduktion führen können. Diese Effekte könnten geringere durch die Magnetfelder induzierte Effekte überdecken.

In den meisten bisherigen Studien wurde der Effekt statischer Magnetfeldern auf Fehlbildungen beim Embryo untersucht. Im Hinblick auf Auswirkungen auf die Fertilität gibt es nur wenige Studien, die maximal bei der im Moment in der MRT üblicherweise eingesetzten Flussdichte von 1,5T durchgeführt wurden. Hier fehlen Untersuchungen bei hohen Flussdichten wie 7T, die in Zukunft in der Diagnostik eingesetzt werden sollen.

Wird die MRT-Bildgebung benutzt, ist die Risikoabschätzung für die Reproduktion aufgrund der Kombination verschiedener potentiellen Gefahrenquellen noch komplexer. In diesen Studien besteht eine große Variabilität in der benutzten Flussdichte, Stärke der Gradientenfelder und Radiofrequenzen. Zudem kann eine gleichzeitige oder hintereinander geschaltete Kombination diagnostischer Methoden (MRT + Ultraschall, MRT + Röntgenstrahlen) möglicherweise einen anderen Effekt haben als eine dieser Methode alleine. Dies ist zu beachten, da vor allem im Bereich der interventionellen MRT eine Kombination mit Röntgenaufnahmen angewendet werden kann.

8. Literaturverzeichnis

Albertini MC, Accorsi A, Citterio B, Burattini S, Piacentini MP, Uguccioni F, Piatti E (2003) Morphological and biochemical modifications induced by a static magnetic field on *Fusarium culmorum*. *Biochimie*. 85(10):963-70

Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, Guiraud P, Douki T, Ravanat JL, Favier A, Sakly M, Ben Rhouma K. (2006) Effects of subchronic exposure to static magnetic field on testicular function in rats. *Arch Med Res*. 37(8):947-52

Baker PN, Johnson IR, Harvey P, Gowland PA, Mansfield P. (1994) A three year follow-up of children imaged in utero with echo-planar magnetic resonance imaging. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 170, 32–33.

Behr KP, Tiffe HW, Hinz KH, Lüders H, Friedrichs M, Ryll M, Hundeshagen H (1991) The effect of magnetic resonance treatment on chicken embryos. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 98(4): 149-152.

Breysem, L., Bosmans, H., Dymarkowski, S., Van Schoubroeck, D., Witters, I., Deprest, J., Demaerel, P., Vanbeckevoort, D., Vanhole, C., Casaer, P., Smet, M. (2003). The value of fast MR imaging as an adjunct to ultrasound in prenatal diagnosis. *Eur. J. Radiol.* 13, 1538–1548.

Brezinka, C., Lechner, T., Stephen, K. (1997) The fetus and noise. *Gynäk. Geburt. Rundsch.* 37 (3), 119–129.

Carnes KI, Magin RL (1996) Effects of in utero exposure to 4.7 T MR imaging conditions on fetal growth and testicular development in the mouse. *Magn Reson Imaging*, 14(3): 263-274.

Chew S, Ahmadi A, Goh PS, Foong LC (2001) The effects of 1.5 T magnetic resonance imaging on early murine in-vitro embryo development. *J Magn Reson Imaging*, 13(3): 417-420.

Clements H, Duncan KR, Fielding K, Gowland PA, Johnson IR, Baker PN. (2000) Infants exposed to MRI in utero have a normal paediatric assessment at 9 months of age. *Br J Radiol.* 73(866) 190–194.

De Vita R, Cavallo D, Raganella L, Eleuteri P, Grollino MG, Calugi A. (1995) Effects of 50 Hz magnetic fields on mouse spermatogenesis monitored by flow cytometric analysis. *Bioelectromagnetics*. 16(5):330-4.

De Wilde JP, Rivers AW, Price DL (2005) A review of the current use of magnetic resonance imaging in pregnancy and safety implications for the fetus. *Prog Biophys Mol Biol.* 87(2-3):335-53.

Denegre JM, Valles JM, Lin K, Jordan WB, Mowry KL (1998) Cleavage planes in frog eggs are altered by strong magnetic fields. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95(25): 14729-14732.

Edwards, M.J., Saunders, R.D., Shiota, K. (2003). Effects of heat on embryos and fetuses. *Int. J. Hyperthermia* 19 (3), 295–324.

Eguchi Y, Ueno S, Kaito C, Sekimizu K, Shiokawa K (2006) Cleavage and survival of *Xenopus* embryos exposed to 8 T static magnetic fields in a rotating clinostat. *Bioelectromagnetics*. 27(4):307-13.

Espinar A, Piera V, Carmona A, Guerrero JM (1997) Histological changes during development of the cerebellum in the chick embryo exposed to a static magnetic field. *Bioelectromagnetics*, 18(1): 36-46.

Feychting M (2005) Health effects of static magnetic fields--a review of the epidemiological evidence. *Prog Biophys Mol Biol*. 87(2-3):241-246.

Grimm J, Schmitt F (2006) MR-Tomographie (MRT) bei 7 Tesla. *Medical Solutions März*, 94-100.

Gu Y, Hasegawa T, Yamamoto Y, Kai M, Kusama T (2001) The combined effects of MRI and X-rays on ICR mouse embryos during organogenesis. *J Radiat Res (Tokyo)*. 42(3):265-72.

Health Protection Agency (2008) Static magnet fields. Report of the independent advisory group on non-ionising radiation. Documents of the Health Protection Agency – Radiation, Chemical and Environmental Hazards, May 2008.

Heinrichs WL, Fong P, Flannery M, Heinrichs SC, Crooks LE, Spindle A, Pedersen RA (1988) Midgestational exposure of pregnant BALB/c mice to magnetic resonance imaging conditions. *Magn Reson Imaging*, 6(3): 305-313.

Hubbard AM, Harty MP, States LJ (1999) A new tool for prenatal diagnosis: ultrafast fetal MRI. *Sem. Perinatol*. 23 (6), 437–447.

Jove M, Torrente M, Gilabert R, Espinar A, Cobos P, Piera V (1999) Effects of static electromagnetic fields on chick embryo pineal gland development. *Cells Tissues Organs* 165(2): 74-80.

Kanal E, Gillen J, Evans J., Savit, DA, Shellock FG (1993) Survey on reproductive health among female MR workers. *Radiology* 187, 395–399.

Kay HH, Herfkens RJ, Kay BK (1988) Effect of magnetic resonance imaging on *Xenopus laevis* embryogenesis. *Magn Reson Imaging*, 6(5): 501-506.

Kheifets L, Sahl JD, Shimkhada R, Repacholi MH (2005) Developing policy in the face of scientific uncertainty: interpreting 0.3 microT or 0.4 microT cutpoints from EMF epidemiologic studies. *Risk Anal.* 25(4):927-35.

Kirschvink JL, Kobayashi-Kirschvink A, Diaz-Ricci JC, Kirschvink SJ (1992) Magnetite in human tissues: a mechanism for the biological effects of weak ELF magnetic fields. *Bioelectromagnetics.* 1992;Suppl 1:101-13.

Kok RD, de Vries MM, Heerschap A, van den Berg PP (2004) Absence of harmful effects of magnetic resonance exposure at 1.5 T in utero during the third trimester of pregnancy: a follow-up study. *Magn Reson Imaging*, 22(6):851-4.

Konermann G, Mönig H (1986) Effect of static magnetic fields on the prenatal development of the mouse. *Radiologe*, 26(10): 490-497.

Kowalczyk CI, Robbins L, Thomas JM, Saunders RD (1995) Dominant lethal studies in male mice after exposure to a 50 Hz magnetic field. *Mutat Res.* 328(2):229-37.

Magin RL, Lee JK, Klintsova A, Carnes KI, Dunn F (2000) Biological effects of long-duration, high-field (4 T) MRI on growth and development in the mouse. *J Magn Reson Imaging*, 12(1): 140-149.

Mevissen M, Buntenkotter S, Loscher W (1994) Effects of static and time-varying (50-Hz) magnetic fields on reproduction and fetal development in rats. *Teratology*, 50(3): 229-237.

Mild KH, Sandström M, Lovtrup S (1981) Development of *Xenopus laevis* embryos in a static magnetic field. *Bioelectromagnetics*, 2(2): 199-201.

Murakami J, Torii Y, Masuda K (1992) Fetal development of mice following intrauterine exposure to a static magnetic field of 6.3 T. *Magn Reson Imaging*, 10(3): 433-437.

Myers C, Duncan KR, Gowland PA, Johnson IR, Baker PN (1998) Failure to detect intrauterine growth restriction following in utero exposure to MRI. *Br. J. Radiol.* 71 (845), 549–551.

Narra VR, Howell RW, Goddu SM, Rao DV. (1996) Effects of a 1.5-Tesla static magnetic field on spermatogenesis and embryogenesis in mice. *Invest Radiol.* 31(9):586-90.

Okazaki R, Ootsuyama A, Uchida S, Norimura T (2001) Effects of a 4.7 T static magnetic field on fetal development in ICR mice. *J Radiat Res (Tokyo)*, 42(3): 273-283.

Prasad N, Wright DA, Forster JD (1982) Effect of nuclear magnetic resonance on early stages of amphibian development. *Magn Reson Imaging*, 1(1): 35-38.

Prasad N, Wright DA, Ford JJ, Thornby JI (1990) Safety of 4-T MR imaging: study of effects on developing frog embryos. *Radiology*, 174(1): 251-253.

Quinn TM, Hubbard AM, Adzick NS (1998) Prenatal magnetic resonance imaging enhances fetal diagnosis. *J. Pediatr. Surg.* 33 (4), 553–558.

Rofsky NM, Pizzarello DJ, Weinreb JC, Ambrosino MM, Rosenberg C (1994) Effect on fetal mouse development of exposure to MR imaging and gadopentetate dimeglumine. *J Magn Reson Imaging.* 4(6):805-7

Ruggiero M, Bottaro DP, Liguri G, Gulisano M, Peruzzi B, Pacini S (2004) 0.2 T magnetic field inhibits angiogenesis in chick embryo chorioallantoic membrane. *Bioelectromagnetics.* 25(5):390-6

Saito K, Suzuki H, Suzuki K (2006) Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses. *Reprod Toxicol.* 22(1):118-24.

Schenck (2005) Physical interactions of static magnetic fields with living tissues. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 87: 185-204.

Sikov MR, Mahlum DD, Montgomery LD, Decker JR (1979) Development of mice after intrauterine exposure to direct-current magnetic fields. In: *Biological effects of extremely low frequency electromagnetic fields* (eds. Phillips RD, Gillis MF, Kaune WT, Mahlum DD), pp. 462-473. Springfield, VA: U.S. Department of Energy, National Technical Information Service.

Sohn YS, Kim MJ, Kwon JY, Kim YH, Park YW (2007) The usefulness of fetal MRI for prenatal diagnosis. *Yonsei Med J.* 48(4):671-7.

Tablado L, Pérez-Sánchez F, Soler C (1996) Is sperm motility maturation affected by static magnetic fields? *Environ Health Perspect.* 104(11):1212-1216.

Tablado L, Pérez-Sánchez F, Nunez J, Nunez M, Soler C (1998) Effects of exposure to static magnetic fields on the morphology and morphometry of mouse epididymal sperm. *Bioelectromagnetics,* 19(6): 377-383.

Tablado L, Soler C, Núñez M, Núñez J, Pérez-Sánchez F (2000) Development of mouse testis and epididymis following intrauterine exposure to a static magnetic field. *Bioelectromagnetics.* 21(1):19-24.

Theysohn JM, Maderwald S, Kraff O, Moenninghoff C, Ladd ME, Ladd SC (2007) Subjective acceptance of 7 Tesla MRI for human imaging. *MAGMA.* 21(1-2):63-72.

Tiburu EK, Moton DM, Lorigan GA (2001) Development of magnetically aligned phospholipid bilayers in mixtures of palmitoylstearylphosphatidylcholine and dihexanoylphosphatidylcholine by solid-state NMR spectroscopy. *Biochim Biophys Acta.* 1512(2):206-14.

Tyndall DA, Sulik KK (1991) Effects of magnetic resonance imaging on eye development in the C57BL/6J mouse. *Teratology,* 43(3): 263-275.

Tyndall DA (1993) MRI effects on craniofacial size and crownrump length in C57BL/6J mice in 1.5T fields. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 76(5): 655-660.

Ueno S, Iwasaka M, Shiokawa K (1990) Early embryonic development of *Xenopus laevis* under static magnetic fields up to 6.34 T. *J Appl Phys*, 67(9): 5841-5843.

Ueno S, Iwasaka M, Shiokawa K (1994) Early embryonic development of frogs under intense magnetic fields up to 8 T. *J Appl Phys*, 75(10): 7165-7167.

Valles JM, Wasserman SR, Schweidenback C, Edwardson J, Denegre JM, Mowry KL (2002) Processes that occur before second cleavage determine third cleavage orientation in *Xenopus*. *Exp Cell Res*, 274(1): 112-118.

WHO (2006): Static fields. Environmental health criteria 232. WHO Press.

Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, Armstrong EG, Nisula BC (1988) Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med*. 319(4):189-94.

Withers HR, Mason KA, Davis CA (1985) MR effect on murine spermatogenesis. *Radiology*. 156(3):741-2

Yip YP, Capriotti C, Norbash SG, Talagala SL, Yip JW (1994a) Effects of MR exposure on cell proliferation and migration of chick motoneurons. *J Magn Reson Imaging*, 4(6): 799-804.

Yip YP, Capriotti C, Norbash SG, Talagala SL, Yip JW (1994b) Effects of MR exposure at 1.5 T on early embryonic development of the chick. *J Magn Reson Imaging*, 4(5): 742-748.

Yip YP, Capriotti C, Yip JW (1995) Effects of MR exposure on axonal outgrowth in the sympathetic nervous system of the chick. *J Magn Reson Imaging*, 5(4): 457-462.

Zimmermann B, Hentschel D (1987) Effect of a static magnetic field (3.5 T) on the reproductive behavior of mice, on the embryo and fetal development and on selected hematologic parameters. *Digitale Bilddiagn*. 7(4): 155-161.

| Verantwortung für Mensch und Umwelt |

Kontakt:

Bundesamt für Strahlenschutz

Postfach 10 01 49

38201 Salzgitter

Telefon: + 49 30 18333 - 0

Telefax: + 49 30 18333 - 1885

Internet: www.bfs.de

E-Mail: ePost@bfs.de

Gedruckt auf Recyclingpapier aus 100 % Altpapier.



Bundesamt für Strahlenschutz