

Ressortforschungsberichte zur kerntechnischen Sicherheit und zum Strahlenschutz

Auswirkungen wiederholter Exposition mit starken statischen Magnetfeldern des MRI während der Embryonalentwicklung auf kognitives und emotionales Verhalten bei Mäusen

Universität Heidelberg
Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Mannheim

P. Grass

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-42/11

Bitte beziehen Sie sich beim Zitieren dieses Dokumentes immer auf folgende URN:
urn:nbn:de:0221-201112226829

Salzgitter, Dezember 2011

Prof. Dr. med. Peter Gass

AG Psychiatrische Tiermodelle (Leiter)

Zentralinstitut für Seelische Gesundheit Mannheim / Universität Heidelberg

J 5

68159 Mannheim

**Auswirkungen wiederholter Exposition mit starken statischen
Magnetfeldern des MRI während der Embryonalentwicklung auf kognitives
und emotionales Verhalten bei Mäusen**

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

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung / Summary.....	2
Einleitung.....	3
Material und Methoden.....	5
Ergebnisse.....	13
Diskussion	18
Literatur.....	21

Zusammenfassung

In den letzten Jahrzehnten wurde die Kernspintechologie zunehmend auch bei schwangeren Frauen und in der Gynäkologie zur Diagnostik fetaler Erkrankungen und Störungen benutzt. Diese Technologie gilt generell als sicher. Dennoch erfordert die Entwicklung zunehmend leistungsfähigerer Tomographen mit höheren Feldstärken zur Verbesserung der Diagnostik auch immer wieder eine erneute Evaluation der biologischen Sicherheit. Entsprechende Studien mit Nagern bieten die Möglichkeit, sowohl akute als auch Langzeiteffekte einer Magnetfeldexposition in systematischer Weise zu untersuchen. Dabei können insbesondere Verhaltensanalysen dazu beitragen, auch subtilere Effekte einer Magnetfeldexposition auf das sich entwickelnde fetale Gehirn nachzuweisen. In der vorliegenden Studie wurde das Verhalten von adulten Mäusen untersucht, die während der gesamten Schwangerschaft *in utero* täglich einem statischen Magnetfeld von 7 Tesla Feldstärke ausgesetzt waren. In zahlreichen standardisierten, gut validierten Verhaltenstests sowohl für emotionales Verhalten wie auch für Lernen und Gedächtnis konnten wir keine Verhaltensauffälligkeiten nachweisen. Unsere Ergebnisse bestärken damit die allgemeine Sichtweise auf die MRT als sichere bildgebende Methode in der Schwangerschaft. Nichtsdestotrotz ist angesichts der technischen Weiterentwicklung in klinischer und experimenteller Bildgebung eine fortlaufende Risikoseinschätzung essenziell.

Summary

In the past three decades, magnetic resonance imaging (MRI) has been increasingly used in obstetrics to aid diagnostics of maternal and fetal conditions and has generally been considered a safe imaging method. However, the development of higher-performance systems employing, for example, stronger fields to improve the technique's diagnostic potential, necessitates an ongoing safety evaluation. Rodent studies provide an excellent opportunity to investigate not only acute but also long-term effects of magnetic field exposure in a systematic manner, and a behavioral analysis might help to uncover subtler effects which might result from magnetic field exposure of the vulnerable developing brain. We conducted a comprehensive investigation of emotional and cognitive behavior in adult mice which had been repeatedly exposed to a 7 Tesla static magnetic field *in utero*. Using well-validated tests, we did not observe any adverse behavioral alterations regarding emotional behavior as well as spatial and emotional learning.

1. Einleitung

Seit ihrer Einführung in den 80er Jahren des 20. Jahrhunderts hat die Magnetresonanztomographie (MRT) die Patientenversorgung durch hoch auflösende Bildgebung dramatisch verbessert (1). Neben der Ultraschalluntersuchung ist die MRT das einzige bildgebende Verfahren, das auf ionisierende Strahlung oder die Einbringung radioaktiver Komponenten in den Körper verzichten kann. Die laufende Verbesserung vorhandener Systeme mit dem Ziel, das diagnostische Potenzial des Verfahrens weiter zu erhöhen (2), macht eine ständige Neubewertung von Sicherheit und Risiko erforderlich (3,4). Dies betrifft alle Systemkomponenten, denen ein Patient ausgesetzt ist. Während Maximalwerte für Gradienten- und Radiofrequenzkomponente durch deren besondere physikalische Konsequenzen, nämlich Stimulation peripherer Nerven und Gewebeerwärmung, bestimmt sind, ist die Stärke des statischen Magnetfeldes derzeit eher durch technologische, regulatorische und Kostenfaktoren limitiert als aufgrund bekannter Aspekte von Sicherheit oder Verträglichkeit (5). Da weiterhin die Stärke des vorliegenden statischen Magnetfeldes die Maximalwerte der anderen Komponenten nicht beeinflusst, können potentielle biologische Effekte unabhängig voneinander untersucht und bewertet werden (6). Aufgrund des diamagnetischen Charakters lebenden Gewebes (7) rufen Magnetfelder, auch solche von hoher Stärke, im Allgemeinen aber nur sehr geringe Effekte hervor.

Fragen der Sicherheit einer diagnostischen oder therapeutischen Maßnahme sind von besonderer Bedeutung, wenn es um deren Anwendung bei schwangeren Patientinnen geht, denn in den meisten Fällen profitiert die werdende Mutter von der Untersuchung, während das ungeborene Kind das Risiko mitträgt (8). Nichtsdestotrotz hat die MRT zunehmend Eingang in Gynäkologie und Geburtshilfe gefunden, wobei sie insbesondere zur Klärung uneindeutiger Ergebnisse von Ultraschalluntersuchungen eingesetzt wird (9). Hierbei wird durch ihren Einsatz die Diagnose fetaler Entwicklungsauffälligkeiten (10-12) sowie mütterlicher Erkrankungen unterstützt (13,14). Die Erfassung und Bewertung potentieller mit einer Anwendung der MRT in der Schwangerschaft einher gehender Risiken basiert derzeit vorrangig auf klinischer Erfahrung sowie einigen Follow-up-Beobachtungsstudien (15-17). Während in der klinischen Praxis der Einsatz der MRT im ersten Trimenon aufgrund der in diesem Zeitraum stattfindenden Organogenese zu vermeiden gesucht wird (18), sind bisher keine Risiken oder Nachteile für Mutter und Kind bei der Anwendung von Feldstärken bis 1,5T bei Schwangeren identifiziert worden (19). Im Allgemeinen wird daher empfohlen, die Stärke des statischen Magnetfeldes bei der Untersuchung werdender Mütter auf maximal

1,5T zu begrenzen (20). Aufgrund ethischer Aspekte und strenger Richtlinien bezüglich der Durchführung von Studien in der Schwangerschaft kann jedoch eine vollständige und systematische Erfassung und Bewertung biologischer Effekte und damit verbundener Risiken einer MRT-Exposition *in utero* momentan nur durch Tierstudien geleistet werden.

Es existieren zahlreiche Untersuchungen in verschiedenen Spezies zu den Effekten einer pränatalen Exposition gegenüber Magnetfeldern auf Nervensystem, Herz-Kreislauf-System sowie deren mögliche teratogene oder kanzerogene Wirkung (21). Uneinheitliche Resultate liegen bezüglich der Folgen einer pränatalen Magnetfeldexposition für Spermatogenese, testikuläre und epididymale Entwicklung (22-25) sowie das Vorkommen allgemeiner Entwicklungsstörungen (26-31) bei den Nachkommen vor. Basierend auf beobachteten Wirkungen von Magnetfeldern auf Signalkaskaden in Neuronen im Kortex der Ratte *in vitro* (32) kann vermutet werden, dass durch eine mögliche Beeinflussung von Hirnfunktionen durch die Magnetfeldexposition auch Verhaltensveränderungen hervorgerufen werden könnten. Dies ist insbesondere dann nahe liegend, wenn die Einwirkung während der Hirnentwicklung stattfindet. Da zudem bestimmte Hirnregionen wie zum Beispiel das limbische System nach der Geburt einer raschen Weiterentwicklung unterzogen sind, könnten pränatal induzierte Veränderungen deutliche langfristige Folgen haben, die sich auch auf der Verhaltensebene manifestieren könnten. Angesichts der geringen Anzahl an Studien, die Verhaltenseffekte im Gefolge einer Magnetfeldexposition zum Gegenstand haben, beabsichtigten wir mit vorliegender Untersuchung eine umfassende Charakterisierung basaler ängstlichkeits- und depressionsähnlicher Verhaltensweisen sowie des Lernens nach chronischer pränataler Exposition von C57BL/6 Mäusen gegenüber einem 7T statischen Magnetfeld.

2. Material und Methoden

2.1 Tiere

Adulte Mäuse (C57Bl/6J) wurden in einem 12stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus gehalten und hatten freien Zugang zu Wasser und Futter. Acht Wochen alte Tiere wurden über Nacht verpaart (Mating), mit dem Vorliegen eines Vaginalplugs am nächsten Morgen wurde dieser Tag als 0.5 *post conceptionem* (pc) designiert. Alle Tierexperimente fanden unter Berücksichtigung der entsprechenden gesetzlichen Bestimmungen statt (LANUV G1001/08).

2.2 Magnetfeldexposition und Untersuchungssystem

Von Tag 1.5 pc an wurden trächtige Weibchen einem statischen Magnetfeld von 7T in einem Simatron Magnetom 7T (äußerer Durchmesser 2,4m, Länge 3,4m) am Erwin L. Hahn Institut für Magnetresonanz, Universität Duisburg-Essen, ausgesetzt. Während der Exposition wurden die Käfige auf dem Tisch laserunterstützt positioniert. Nach Bestimmung des Isozentrums wurde der Tisch elektronisch in die entsprechende Position gebracht. Für die Scheinuntersuchung wurde eine Scanneratruppe benutzt, wobei Licht- und Geräuschverhältnisse der tatsächlichen Untersuchungssituation simuliert wurden. In beiden Bedingungen konnten sich die Tiere frei in den Käfigen bewegen. Die Exposition fand täglich bis zum Tag 18.5 pc für 75 min statt. Nach dem Absetzen der Jungen im Alter von 3 Wochen wurden diese in Käfigen von bis zu 6 Tieren gehalten.

2.3 Verhaltensexperimente

Alle Prozeduren fanden in Übereinstimmung mit den in Europa (86/609/EEC) und Deutschland (Deutsches Tierschutzgesetz) geltenden gesetzlichen Bestimmungen statt. Die Experimente wurden im Zentralinstitut für Seelische Gesundheit in Mannheim durchgeführt und waren durch die zuständige Behörde genehmigt worden (Regierungspräsidium Karlsruhe, 35-9185.81/G144/04).

Die Mäuse wurden im Alter von 8 Wochen nach Mannheim überstellt. Nach einer zweiwöchigen Akklimatisierungsphase begannen die Verhaltensexperimente, so dass die Tiere zu diesem Zeitpunkt ca. 10 Wochen alt waren. Es wurden Explorationsverhalten, Lokomotion, Nozizeption, assoziatives Lernen, Arbeitsgedächtnis sowie ängstlichkeits- und depressionsähnliches Verhalten untersucht. Die Reihenfolge der Tests wurde gemäß vorliegender Empfehlungen so gewählt, dass belastendere auf weniger belastende Untersuchungen folgten (33, 34). Um Confounder-Effekte aufgrund vorheriger

Testerfahrungen zu vermeiden, wurden die Tiere in zwei Kohorten im Abstand von ca. 6 Monaten untersucht (Tabelle 1; Kohorte 1: Magentfeldexposition: männliche Tiere n=19, weibliche Tiere n=13; Scheinexposition: männliche Tiere n=13, weibliche Tiere n=13; Kohorte 2: Magentfeldexposition: männliche Tiere n=18, weibliche Tiere n=18; Scheinexposition: männliche Tiere n=18, weibliche Tiere n=15). Die Verhaltenstests fanden während der aktiven Dunkelphase zwischen 7:00 und 19:00 Uhr statt. Die Tiere wurden vor Testbeginn für mindestens 30 min an den Raum und die Anwesenheit des Experimentators gewöhnt. Zwischen den einzelnen Tests wurde ein mindestens 24-stündiges Pausenintervall gewährleistet. Bei allen Verhaltenstests wussten die Untersucher während der jeweiligen Testung nicht über die Gruppenzugehörigkeit der Tiere Bescheid. Das Körpergewicht wurde wöchentlich erhoben. Die Tiere wurden in Einzelhaltung in Macrolon Typ II-Käfigen mit Standardstreu und Nestmaterial (Papiertaschentuch) gehalten und erhielten Futter und Wasser *ad libitum*.

Test	Kohorte 1	Kohorte 2
Novel Cage	X	
Openfield + Novel Object	X	X
Rotarod		X
Elevated O-Maze	X	X
Dark-Light Box	X	X
T-Maze	X	
Hotplate	X	X
Learned Helplessness	X	
Fear Conditioning		X
Porsolt Forced Swim Test	X	

Tabelle 1. Verteilung der Verhaltenstests auf die untersuchten Kohorten

Novel Cage. Der Novel Cage Test (Abb. 1) untersucht exploratives Verhalten der Tiere in einer neuen Umgebung, indem Aufrichtungen (Rearings) gemessen werden. Hierfür werden die Mäuse in einen neuen Macrolon Typ II-Käfig mit einer dünnen Lage frischen Streus für 5 min unter Rotlicht gesetzt und die Rearings erfasst.



Abb. 1 Novel Cage Test

Openfield und Novel Object Exploration. Der Openfield Test (Abb. 2) untersucht Lokomotion und exploratives Verhalten der Tiere nach Einsetzen in eine unbekannte Arena. Die Bewegungen der Tiere in einem quadratischen Openfield (weiß, Maße 50x50 cm, Beleuchtung mit 25 Lux) wurden über einen Zeitraum von 20 min erfasst (Videosystem: CCD IRIS; Sony, Tokyo, Japan). Die Daten wurden mit EthoVision 3.1 (Noldus, Wageningen, Niederlande) analysiert. Die erhobenen Parameter waren: zurückgelegte Gesamtdistanz (in cm), Geschwindigkeit (in cm/s), Entfernung zur Wand (in cm) sowie Zeit im Zentrum (in %; Zentrum definiert als der mind. 10 cm von der Wand entfernte Bereich). Der nachfolgende Novel Object Test erfasst Neophobie durch die Analyse der freien Exploration eines neu in die Arena eingebrachten Objekts. Nach 10 min Openfield wurde das neue Objekt, in diesem Fall ein wassergefüllter 50 ml Falcon-Tube, in die Mitte der Arena gesetzt. Die Objektexploration wurde für 10 min erfasst, indem die mittlere Distanz zum Objekt, die Latenz bis zum ersten Kontakt mit dem Objekt sowie die Gesamtanzahl an Objektkontakten erfasst wurden.

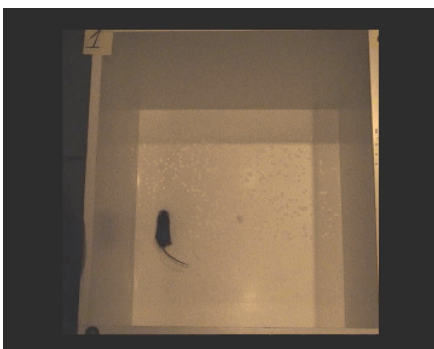


Abb. 2 Open Field Test

Rotarod. Der Rotarod Test (Abb. 3) erfasst die motorischen Fähigkeiten der Tiere. Die Tiere werden auf das rotierende Gerät gesetzt und die Latenz bis zum Herunterfallen wird innerhalb der nächsten 5 min bestimmt, während derer die Geschwindigkeit von 5 auf 25 Rotationen/min erhöht wird.

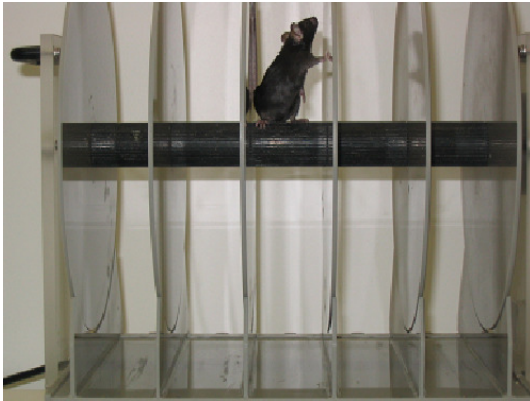


Abb. 3 Rotarod Tests

Elevated O-Maze. Die sog. Elevated O-Maze (Abb. 4) induziert einen Annäherungs-Vermeidungs-Konflikt in den Tieren, wobei ängstliches Verhalten durch das Ausmaß an Vermeidung der erhöhten und exponierten Teile der Rundmaze gemessen wird. Die Maze bestand aus einer grauen Plastikrundbahn (Breite 6 cm, äußerer Durchmesser 46 cm, Entfernung vom Boden 50 cm). Zwei sich 90° gegenüberliegende Bereiche wurden durch 10 cm hohe graue Polyvinylwände geschützt. Die Tiere wurden einen dieser Bereiche eingebracht und 5 min lang beobachtet. Die Versuchsarena wurde mit 25 Lux beleuchtet. Folgende Parameter wurden erfasst: Latenz bis zum ersten Exit in einen ungeschützten Bereich, Gesamtanzahl der Exits, Gesamtzeit in offenen Kompartimenten.



Abb. 4 Elevated O-Maze

Dark-Light-Box. In der Dark-Light-Box (Abb. 5) wird ängstliches Verhalten gemessen, indem das Ausmaß untersucht wird, in dem die Tiere einen aversiv hell beleuchteten Bereich explorieren. Die Dark-Light-Box bestand aus 2 Plastikkammern, die durch eine schmale Öffnung miteinander verbunden waren. Das dunkle Kompartiment maß 20x15 cm und war abgedeckt. Das angrenzende weiße Kompartiment maß 30x15 cm und wurde mit 600 Lux beleuchtet. Die Tiere wurden in den dunklen Bereich gesetzt, die Latenz bis zum ersten Exit in den hellen Bereich, die Anzahl der Exits und die Gesamtzeit im hellen Bereich wurden über 5 min erfasst.



Abb. 5 Dark-Light-Box

T-Maze. Die T-Maze (Abb. 6) ist ein Paradigma zur Beurteilung des räumlichen Arbeitsgedächtnisses. Die Maze bestand aus 2 jeweils 20 cm langen Armen aus weißem Plastik, die T-förmig von einem 40 cm langen Gang abzweigten. Arme und Gang waren 10 cm breit, die umgebenden Wände hatten eine Höhe von 25 cm. Es wurden 2 Trials im Abstand von 1 h durchgeführt. Im Aquirierungstrial von 8 min Dauer wurde einer der kurzen Arme geschlossen gehalten. Im zweiten sog. Retentionstrial, der 3 min dauerte, waren die beiden kurzen Arme geöffnet und für das Tier zugänglich. Die Anzahl der Eingänge in die kurzen Arme sowie die Zeit, die in jedem der kurzen Arme verbracht wurde, wurden erfasst. Die Beleuchtungsstärke betrug 25 Lux.



Abb. 6 T-Maze

Hotplate Test. Um eine veränderte Schmerzempfindlichkeit als Confounder im Fear Conditioning und der Learned Helplessness auszuschließen, wurden alle Mäuse einem Hotplate Test unterzogen (ATLab, Vendargues, Frankreich; Abb. 7). Die Temperatur wurde auf 53°C ($\pm 0.3^\circ\text{C}$) festgesetzt, die Testdauer wurde zur Vermeidung von Verletzungen der Tiere auf 45 s begrenzt. Die Latenz bis zur ersten Reaktion, d. h. Springen oder Lecken der Hinterpfoten, wurde gemessen.



Abb. 7 Hotplate Test

Learned helplessness (Erlernte Hilflosigkeit). In diesem Paradigma (35) werden die Tiere in eine transparente Schockkammer (Abb. 8A) aus Plexiglas (18 cm x 18 cm x 30 cm), gesetzt, die einen Gitterboden aus Edelstahl besitzt (Coulborn, Düsseldorf), durch den die Tiere 360 Fußschocks (je 0.150 mA) an zwei aufeinanderfolgenden Tagen erhielten. Sowohl die Dauer der Schocks (1–3 s) als auch die schockfreien Intervalle (1–15 s) waren nicht vorhersehbar. Vierundzwanzig Stunden nach der zweiten Schockprozedur wurde die erlernte Hilflosigkeit getestet, indem das Verhalten in einer Shuttle Box (Graphic State Notation; Coulborn; Abb. 8B) untersucht wurde. Diese bestand aus zwei gleich großen Bereichen (18 cm x 18 cm x 30 cm) mit einem Gitterboden, durch den ein Strom appliziert werden konnte und einer Signalleuchte. Spontane initiale Shuttlebewegungen zwischen den Kompartimenten wurden während der ersten beiden Minuten mittels einer Infraroteinrichtung gezählt. Das Verhalten wurde in 30 Shuttle-Escape-Trials mit einem Intervall von 30 s zwischen den Trials untersucht. Jeder Trial begann mit einem 5-sekündigen Lichtsignal, das einen nachfolgenden maximal 10 s dauernden Fußschock ankündigte. Die möglichen Verhaltensweisen waren: Avoidance (Vermeidung) in Form eines unmittelbaren Wechsels ins andere Kompartiment als adäquate Reaktion auf das Lichtsignal, Escape als Wechsel ins andere Kompartiment nach Erhalt eines Fußschocks sowie Escape failure, wenn kein Versuch gemacht wurde, den aversiven Umständen auszuweichen. Die gesamte Dauer des Versuchs

belieft sich auf ca. 20 min.

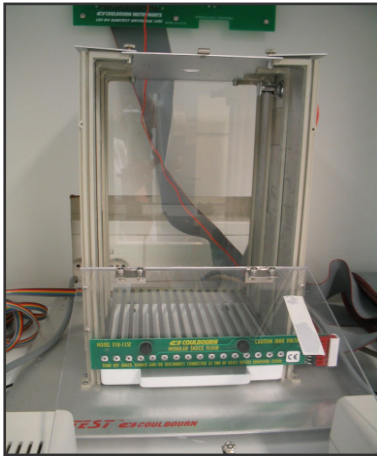


Abb. 8A Schockkammer

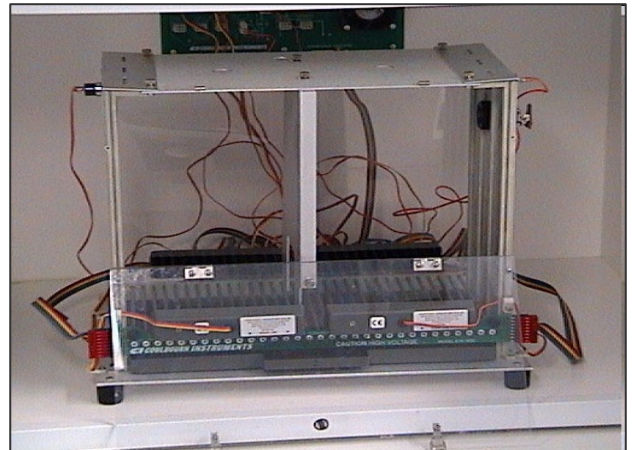


Abb. 8B Shuttle Box

Fear Conditioning. Fear Conditioning ist ein Pavlovsches Konditionierungsverfahren, bei dem Hippokampus- und Amygdala-abhängiges emotionales Lernen untersucht wird. Fear conditioning wurde wie vormals beschrieben (36) durchgeführt. Sowohl für kontextuelles als auch Cue-Conditioning wurden die Mäuse einzeln in die Konditionierungskammer (58 cm x 30 cm x 27 cm; TSE, Bad Homburg; Abb. 9) gesetzt. Nach einer Eingewöhnungszeit von 2 min wurde für 30 s ein diskreter konditionierter Reiz appliziert (Ton mit 2800 Hz; 85 dB). Danach wurde ein unkonditionierter Reiz in Form eines Fußschocks von 2 s Dauer (0.8 mA) appliziert. Vierundzwanzig Stunden nach diesem Training wurde in derselben Kammer die Kontextkonditionierung durch die Messung des Freezings, also des kompletten Fehlens von Bewegungen mit Ausnahme von Atembewegungen, in 10 s-Intervallen über 5 min erfasst. Die Cue-Konditionierung wurde in einem visuell, taktil und olfaktorisch unbekanntem Kontext 48 h nach dem Training durchgeführt, indem die Tiere für 3 min dem Ton ausgesetzt waren und Freezing wie oben beschrieben erfasst wurde.

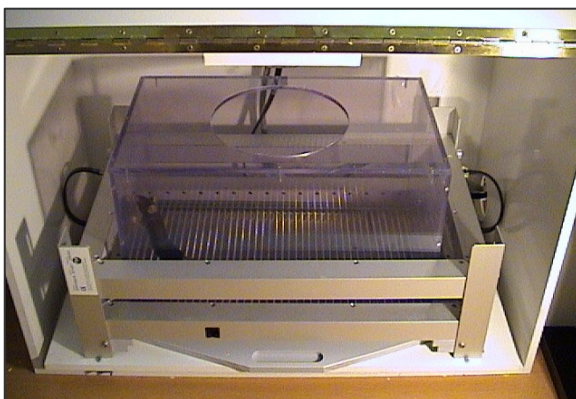


Abb. 9 Konditionierungskammer

Porsolt Forced Swim Test. Der Forced Swim Test (Abb. 10) ist ein Paradigma zur Erfassung von Verzweiflungsverhalten, indem das Ausmaß an Immobilität in einer ausweglosen aversiven Situation gemessen wird. Die Mäuse wurden in einen Glaszylinder (Höhe 23 cm, Durchmesser 13 cm), der bis zu einer Höhe von 12 cm mit 21°C warmem Wasser gefüllt war, verbracht (37). In der 6 min dauernden Testphase wurde videounterstützt (Sony CCD IRIS) erfasst, nach welcher Latenz und in welchem Ausmaß die Tiere immobil waren. Die Datenauswertung erfolgte mit EthoVision 3.0 (Noldus, Wageningen, Niederlande).



Abb. 10 Porsolt Forced Swim Test

2.4 Statistische Auswertung

Die Daten wurden mittels Allgemeiner Linearer Modelle ausgewertet. Die Residuen wurden graphisch untersucht, wenn erforderlich, wurden die Rohdaten mittels Wurzel-, Logarithmus oder Angulartransformation transformiert. Eine ANOVA mit „Geschlecht“ und „Behandlung“ (d.h. Magnetfeldexposition vs. Scheinexposition) als Zwischensubjektfaktoren wurde durchgeführt. „Kohorte“ wurde in das Modell aufgenommen, um Variation aufgrund der verschiedenen Testzeitpunkte in den Fällen zu erfassen, wenn Tests bei Tieren beider Kohorten durchgeführt wurden. Für die Analyse der Körpergewichte sowie der Daten des Porsolt Forced Swim Test wurde eine ANOVA mit Messwiederholung durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit PASW 18.0 für Windows. Die Signifikanzgrenze wurde bei $p < 0.05$ angesetzt.

3. Ergebnisse

3.1 Das Körpergewicht wird durch die Exposition gegenüber einem statischen Magnetfeld von 7T in utero nicht beeinflusst

Es zeigten sich keine Unterschiede in den Körpergewichten der Tiere der beiden Versuchsbedingungen (Abb. 11). Allerdings konnten signifikante Geschlechtsunterschiede erhoben werden (Abb. 11).

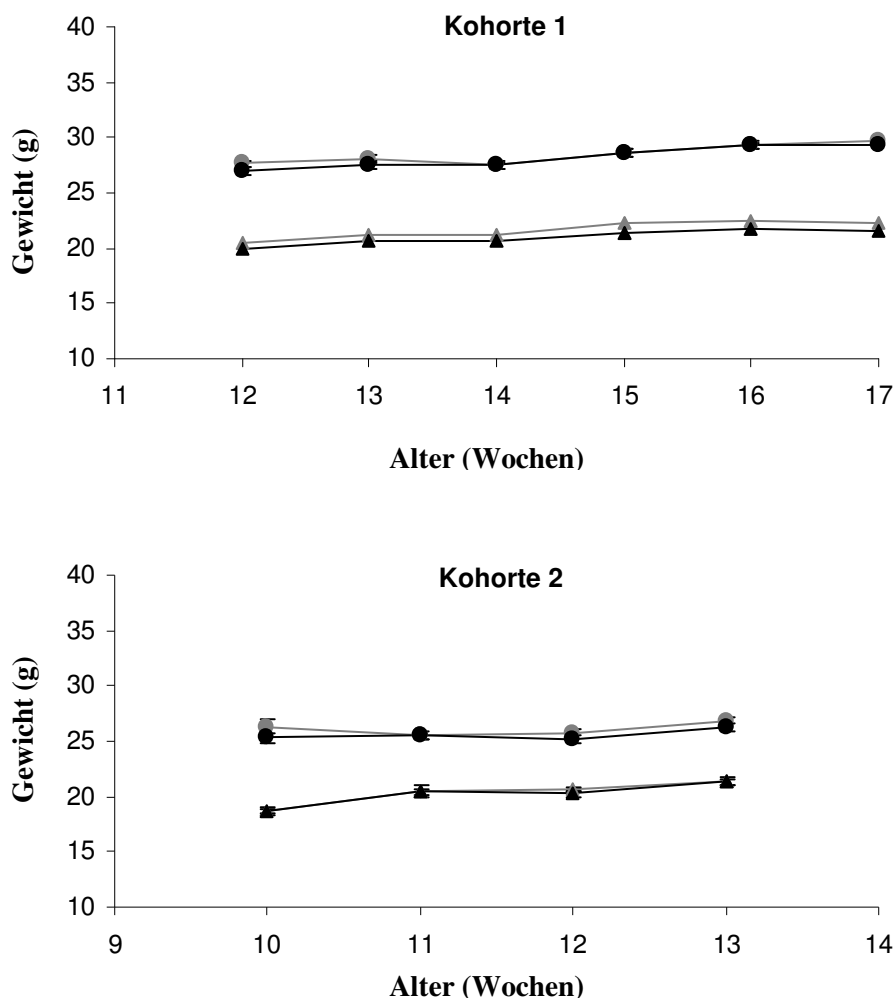


Abb. 11 Körpergewicht der mit einem 7T Magnetfeld exponierten (schwarz) oder scheinexponierten (grau) männlichen (Kreise) und weiblichen (Dreiecke) Mäuse der Kohorten 1 (oben) und 2 (unten). Unterschiede in den Zeitpunkten der Gewichtsbestimmung ergeben sich aus der unterschiedlichen Dauer der Tests in Kohorten 1 und 2.

3.2 Wiederholte pränatale Exposition gegenüber einem 7T statischen Magnetfeld verändert Lokomotion, Exploration und Nozizeption nicht

Es fanden sich keine signifikanten Effekte der Behandlung im Novel Cage Test (Tabelle 2). Jedoch konnte ein signifikanter Effekt des Geschlechts auf die Anzahl der Rearings festgestellt werden ($F_{1,54} = 26.237$, $p < 0.001$), wobei bei Weibchen in einer neuen Umgebung mehr Rearings (59.19 ± 2.43) als bei Männchen (43.47 ± 1.96) verzeichnet wurde.

Im Openfield Test wurden geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der zurückgelegten Entfernung ($F_{1,122} = 5.428$, $p = 0.021$) und der Geschwindigkeit ($F_{1,122} = 5.895$, $p = 0.017$) festgestellt, nicht jedoch solche, die auf die *in utero* Magnetfeldexposition zurückzuführen wären. Weibchen legten längere Strecken zurück als Männchen ($54.23 \text{ m} \pm 1.41$ vs. $52.19 \text{ m} \pm 1.45$), während diese sich schneller bewegten ($8.82 \text{ cm/s} \pm 0.24$ vs. $7.64 \text{ cm/s} \pm 0.23$). Im Novel Object Test zeigte sich ebenfalls ein Geschlechtereffekt bei den Annäherungen an das neue Objekt ($F_{1,122} = 7.447$, $p = 0.007$): Weibchen näherten sich diesem häufiger an als Männchen (24.19 ± 2.59 vs. 14.56 ± 1.34).

Hinsichtlich der motorischen Koordination auf dem Rotarod waren weder Geschlechter- noch Behandlungseffekte festzustellen (Tabelle 2). Bei der Schmerzempfindlichkeit gegenüber thermischen Reizen im Hotplate Test zeigten sich ebenfalls keine Behandlungseffekte (Tabelle 2).

3.3 Wiederholte pränatale 7T Exposition hat keinen Einfluss auf Ängstlichkeitsverhalten

Signifikante Geschlechtereffekte wurden in zwei von drei in der Elevated O-Maze erhobenen Parametern festgestellt, nämlich Latenz zum ersten Exit ($F_{1,122} = 6.763$, $p = 0.01$) und Anzahl der Exits ($F_{1,122} = 5.747$, $p = 0.018$). Hierbei zeigten Weibchen eine kürzere Latenz bis zum ersten Exit ($109.31 \text{ s} \pm 13.71$ vs. $159.57 \text{ s} \pm 12.75$) und bewegten sich öfter ins offene Kompartiment (4.27 ± 0.61 vs. 2.53 ± 0.29).

Test	SMF-exponiert in utero		scheinexponiert		transf.	Effekt von		
	males	females	males	females		SMF	G	SMF * G
Novel Cage Test								
Rearings (n)	44,74 ± 2,26	57,00 ± 3,56	41,62 ± 3,57	61,38 ± 63,00	NT	,841	,000 *	,235
Openfield/Novel Object Test ohne Objekt								
Gesamtdistanz (cm)	4932,43 ± 129,94	5261,69 ± 176,85	4833,79 ± 148,19	5145,27 ± 139,55	NT	,509	,021 *	,755
Geschwindigkeit (cm/s)	9,15 ± 0,21	8,47 ± 0,30	8,80 ± 0,24	8,36 ± 0,26	NT	,299	,017 *	,234
Zeit im Zentrum (%)	20,04 ± 1,01	19,24 ± 0,98	18,86 ± 1,20	19,97 ± 1,20	NT	,877	,850	,466
Wandabstand (cm)	7,44 ± 0,18	7,39 ± 0,16	7,25 ± 0,18	7,36 ± 0,16	NT	,521	,882	,586
mit Objekt								
Gesamtdistanz (cm)	3587,67 ± 154,31	4093,13 ± 264,57	3737,12 ± 146,99	4170,48 ± 219,08	NT	,973	,071	,771
Zeit im Zentrum(%)	9,87 ± 1,21	11,51 ± 2,14	7,32 ± 0,92	10,84 ± 1,67	angular	,392	,140	,402
Wandabstand (cm)	5,82 ± 0,22	5,92 ± 0,38	5,07 ± 0,19	5,89 ± 0,29	lg	,219	,189	,095
Latenz 1. Objektkontakt (s)	31,00 ± 5,54	51,03 ± 18,79	56,23 ± 19,69	31,29 ± 4,90	lg	,912	,726	,277
Objektkontakte (n)	14,35 ± 1,49	16,84 ± 2,50	11,94 ± 1,35	18,75 ± 1,91	NT	,959	,007 **	,335
Rotarod								
Latenz bis zum Fall (s)	138,33 ± 21,44	170,06 ± 18,71	153,61 ± 16,06	174,40 ± 21,99	NT	,618	,185	,781
Elevated O-Maze								
Latenz zum 1. Exit (s)	161,65 ± 15,41	93,45 ± 18,00	157,10 ± 21,36	126,86 ± 20,74	NT	,409	,010 *	,383
Exits (n)	2,54 ± 0,42	3,97 ± 0,67	2,52 ± 0,41	4,61 ± 1,05	lg	,614	,018 *	,896
Zeit in offenen Bereichen (s)	22,03 ± 4,67	27,13 ± 5,10	17,68 ± 2,96	33,18 ± 8,75	sqrt	,854	,053	,445
Dark-Light-Box								
Latenz zum 1. Exit (s)	66,39 ± 11,76	68,52 ± 14,37	98,19 ± 18,03	97,32 ± 20,70	lg	,307	,817	,509
Exits (n)	7,69 ± 0,79	6,19 ± 0,81	5,90 ± 0,67	6,79 ± 0,96	NT	,450	,689	,127
Zeit im hellen Bereich (s)	56,72 ± 6,11	39,00 ± 5,47	48,23 ± 5,31	41,14 ± 5,45	NT	,569	,030 *	,329
T-Maze								
Quotient Entries neu/alt	1,19 ± 0,09	1,21 ± 0,09	1,15 ± 0,12	1,13 ± 0,09	NT	,562	,980	,833
Quotient Zeiten neu/alt	1,14 ± 0,16	1,60 ± 0,36	0,95 ± 0,20	1,24 ± 0,18	lg	,229	,090	,862

Hotplate Test												
Latenz zur 1. Reaktion (s)	20,24 ± 1,79	19,13 ± 1,60	20,26 ± 1,36	18,22 ± 0,99	NT	,786	,319					,748
Learned Helplessness												
Avoidance (n)	0,84 ± 0,30	2,23 ± 0,78	0,85 ± 0,62	0,67 ± 0,28	lg	,162	,172					,424
Escapes (n)	10,68 ± 2,02	18,31 ± 3,11	13,77 ± 3,40	22,17 ± 2,95	NT	,225	,007 **					,892
Escape failures (n)	18,47 ± 2,22	9,46 ± 3,51	15,38 ± 3,59	7,17 ± 3,00	lg	,541	,001 **					,281
Escape-Latenz (s)	7,22 ± 0,59	4,44 ± 1,00	6,29 ± 0,96	4,03 ± 0,83	lg	,528	,001 **					,479
Fear Conditioning												
Freezing im context (%)	36,30 ± 5,18	22,78 ± 4,42	38,67 ± 6,44	30,95 ± 5,18	sqrt	,319	,060					,287
Freezing mit Cue (%)	33,95 ± 4,73	29,32 ± 4,09	24,44 ± 4,53	30,56 ± 5,52	lg	,342	,860					,310
Porsolt Forced Swim Test												
Tag 1 Latenz zur Immobilität (s)	21,99 ± 4,38	42,02 ± 3,63	30,08 ± 5,26	42,32 ± 7,25	lg	,064 T	,000 **					,593
Tag 2 Latenz zur Immobilität (s)	3,06 ± 0,71	10,29 ± 3,32	6,78 ± 1,86	18,75 ± 5,30	lg							
Tag 1 Immobilität (s)	155,96 ± 12,03	135,50 ± 11,30	162,00 ± 5,20	131,95 ± 16,19	angular	,647	,000 **					,821
Tag 2 Immobilität (s)	214,20 ± 8,88	156,74 ± 12,36	201,78 ± 11,83	147,88 ± 9,53	angular							

Tabelle 2. Zusammenfassung der Ergebnisse der Verhaltensuntersuchung von adulten Tieren, die pränatal einem 7T statischen Magnetfeld (SMF) oder einer Scheinbehandlung unterzogen wurden

Es werden untransformierte Daten ± Standardfehler (SEM) angegeben. Die statistische Auswertung ist zusammengefasst in Bezug auf die durchgeführte Transformation (NT = nicht transformiert, sqrt = Wurzeltransformation, lg = logarithmische Transformation, ang = Angulartransformation) sowie die Effekte von SMF-Exposition, Geschlecht (G) und der Interaktion dieser beiden Faktoren (T = Tendenz; * p < 0.05, ** p < 0.01).

In der Dark-Light-Box zeigten sich Geschlechterunterschiede in der Zeit, die im hell beleuchteten Bereich verbracht wurde ($F_{1,122} = 4.793$, $p = 0.030$), wobei für Männchen hier höhere Werte gemessen wurden als für Weibchen ($52.79 \text{ s} \pm 4.10$ vs. $40.02 \text{ s} \pm 3.84$). Keiner der Tests zeigte jedoch ein Einfluss der *in utero* Magnetfeldexposition (Tabelle 2).

3.4 Wiederholte pränatale 7T Exposition hat keinen Einfluss auf depressionsähnliches Verhalten

Im Porsolt Forced Swim war ein Trend für einen Behandlungseffekt bezüglich der Latenz zur Immobilität zu verzeichnen ($F_{1,53} = 3.591$, $p = 0.064$). An beiden Testtagen wiesen magnetfeldexponierte Tiere kürzere Latenzen als solche, die lediglich einer Scheinexposition ausgesetzt waren (Tag 1: $30.13 \text{ s} \pm 3.44$ vs. $35.95 \text{ s} \pm 4.51$; Tag 2: $6.00 \text{ s} \pm 1.52$ vs. $12.53 \text{ s} \pm 2.93$). Erneut zeigten sich zudem Geschlechtereffekte bei Latenz bis zur erstmaligen Immobilität ($F_{1,53} = 14.286$, $p < 0.001$) und der Gesamtdauer an Immobilität ($F_{1,53} = 16.727$, $p < 0.001$). Im Hinblick auf letztere wiesen männliche Mäuse an beiden Tagen höhere Werte auf (Tag 1: $158.41 \text{ s} \pm 7.38$ vs. $133.80 \text{ s} \pm 9.54$, Tag 2: $209.16 \text{ s} \pm 7.10$ vs. $152.49 \text{ s} \pm 7.78$), zudem wurden für Männchen kürzere Latenzen bis zur Immobilität an beiden Tagen gemessen (Tag 1: $25.28 \text{ s} \pm 3.39$ vs. $42.16 \text{ s} \pm 3.87$, Tag 2: $4.58 \text{ s} \pm 0.91$ vs. $14.35 \text{ s} \pm 3.13$). Der Learned Helplessness Test ist ein Verhaltensmodell depressionsähnlichen Verhaltens, wobei die Copingfähigkeit der Tiere in einem stressreichen Szenario beurteilt wird (38). Ein signifikanter Geschlechtereffekt wurde für die Anzahl an Escapes, ($F_{1,53} = 8.023$, $p = 0.007$), Escape-Versagen ($F_{1,53} = 11.249$, $p = 0.001$) und Escape-Latenz ($F_{1,53} = 11.416$, $p = 0.001$) beobachtet, wobei Weibchen mehr Escapes (20.16 ± 2.14 vs. 11.94 ± 1.82), weniger Escape-Versagen (8.36 ± 2.29 vs. 17.22 ± 1.95) und kürzere Escape-Latenzen zeigten ($4.24 \text{ s} \pm 0.64$ vs. 6.84 ± 0.52). Die Magnetfeldexposition *in utero* zeigte keinen Effekt in den untersuchten Parametern der erlernten Hilflosigkeit (Tabelle 2).

3.5 Pränatale 7T Exposition beeinflusst nicht assoziatives und räumliches Lernen

Das Ausmaß an Freezing im Fear Conditioning, welches ein Korrelat assoziativen Lernens ist, wurde nicht durch pränatale Magnetfeldexposition beeinflusst (Tabelle 2). In der T-Maze, einem Paradigma zur Erfassung räumlichen Lernens (39), verbringen Mäuse normalerweise mehr Zeit mit der Exploration des unbekanntes Arms als des bereits bekannten Bereichs. Es konnten keine auf die Behandlung zurückzuführenden Unterschiede bezüglich der Eintritts- und Zeitquotienten zwischen bekanntem und neuem Arm festgestellt werden (Tabelle 2). In beiden Lerntests fanden sich auch keine Geschlechtsunterschiede (Tabelle 2).

4. Diskussion

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde eine Reihe etablierter und gut validierter Tests für die Erfassung von ängstlichkeits-, depressionsähnlichem und Lernverhalten in adulten Mäusen durchgeführt, die *in utero* wiederholt einem starken statischen Magnetfeld von 7T ausgesetzt gewesen waren. Bisher wurden in Tierstudien hauptsächlich morphologische und physiologische Folgen einer derartigen pränatalen Exposition beforscht, während bezüglich möglicher Verhaltensfolgen lediglich Einzelbefunde oder sehr globale Charakterisierungen vorliegen. Da das sich entwickelnde Gehirn besonders empfindlich gegenüber Umwelteinflüssen ist, kann eine genaue Verhaltensanalyse die Identifikation und Bewertung subtilerer Effekte, die ohne deutliches neuroanatomisches Korrelat möglicherweise nicht erkannt werden, erleichtern.

In Bezug auf Lernen, ängstlichkeits- und depressionsähnliches Verhalten konnten keine nachteiligen Folgen einer pränatalen Exposition gegenüber einem 7T statischen Magnetfeld identifiziert werden. Diese Befunde sind angesichts der steigenden Nutzung der MRT bei der Untersuchung von Schwangeren in den letzten drei Jahrzehnten sicher ermutigend. Die Bewertung der MRT als auf diesem Gebiet sicheres Verfahren beruht auf einer kleinen Zahl von Follow-up-Untersuchungen beim Menschen (15-17, 40). Langzeitfolgen beim Menschen sind bisher aufgrund der dafür erforderlichen langen Beobachtungszeit nicht untersucht worden. Im Allgemeinen haben die Untersuchungen am Tier weniger einheitliche Ergebnisse erbracht, als die vorliegenden Humandaten vermuten ließen. High et al. (41) konnten keine negativen Folgen einer Exposition von Ratten *in utero* gegenüber einem 9,4T Magnetfeld für insgesamt 30h während des zweiten und dritten Trimenons feststellen. Jiang et al. (42) untersuchten die Folgen pränataler MRT-Exposition über 40 min/d zwischen dem 12. und 18. Trächtigkeitstag auf die synaptische Ultrastruktur im Hippokampus der Ratte. Die hierbei beobachteten Veränderungen in der Synapsenstruktur wurden als mögliche morphologische Korrelate von Defiziten im räumlichen Lernen bei 2 Monate alten weiblichen Ratten, die dieser Prozedur ausgesetzt waren, angesehen (43). Andererseits fanden Zhu et al. (44) keine Effekte in Bezug auf Neurogenese, Zelltod oder Gedächtnisfunktion. Im Gegensatz zu möglichen Langzeitfolgen wurden akute Verhaltensänderungen infolge einer MRT-Exposition, z. B. das sog. Circling, konsistent in adulten Tieren beobachtet. Diese werden wahrscheinlich durch Stimulation des Vestibularapparates verursacht und unterliegen einer Beeinflussung durch Orientierung und Fixierung der Tiere innerhalb des Magnetfeldes (45-49).

Die Vielzahl an Protokollen und Unterschiede in der zur Verfügung stehenden Technologie sind sicherlich wesentliche Faktor für die Heterogenität der vorliegenden Ergebnisse. Während Patienten, die sich einer MRT-Untersuchung unterziehen, allen Systemkomponenten ausgesetzt sind, haben zahlreiche Studien selektiv nur eine Komponente untersucht, wodurch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse weiter eingeschränkt wird. Auch die hier vorliegende Studie hat auf einen Aspekt, nämlich das statische Magnetfeld, fokussiert. Erstens hat die Stärke des statischen Magnetfelds keinen Einfluss auf die Maxima anderer Komponenten, was eine separate Untersuchung erlaubt (6) und damit die Relevanz unserer Ergebnisse nicht beeinträchtigen sollte. Zweitens existieren für die Stärke des statischen Magnetfeldes keine Beschränkungen, wie dies für Gradienten- und Radiofrequenzkomponente der Fall ist. Daher hilft eine umfassende Verhaltensuntersuchung von Tieren, die *in utero* chronisch einem statischen Magnetfeld hoher Stärke ausgesetzt waren, die Risikoeinschätzung bezüglich des Einsatzes der MRT in der Schwangerschaft zu verbessern (41, 50). Das laute Geräusch, das durch die Kombination des statischen und des Wechsellmagnetfeldes entsteht, bedarf als möglicher Stressor für das ungeborene Kind (51) besonderer Erwähnung. Dieser Aspekt konnte durch den Einsatz lediglich des statischen Magnetfeldes von uns nicht untersucht werden. Pränataler Stress durch Geräusche, die an Intensität in etwas denen einer MRT-Untersuchung entsprechen, haben im Tierexperiment bei den Nachkommen erhöhte Kortikosteron-Werte (52) und Veränderungen im emotionalen Verhalten (53) bedingt und sich nachteilig auf die Immunfunktion (54) ausgewirkt. Während bisher keine entsprechenden negativen Folgen auf Hörvermögen und andere physiologische Parameter beim Menschen identifiziert wurden (17, 55), ist aufgrund der Tierdaten eine weitergehende Untersuchung erforderlich, insbesondere da die Messung der fetalen Lärmexposition sowie auch der Lärmschutz des Feten nicht einfach zu bewerkstelligen sind (56).

Interessanterweise beobachteten wir einen nicht signifikanten Trend der Magnetfeldexposition im Forced Swim Test dergestalt, dass exponierte Tiere längere Latenzen bis zur Immobilität zeigten als unbehandelte Tiere. Ein solches Verhalten kann als aktivere Copingstrategie angesehen werden, die auf einen antidepressiven Effekt hinweisen könnte. Während eine antidepressive Wirkung einer MRT-Exposition bei Mäusen vereinzelt gezeigt wurde (57, 58), muss bedacht werden, dass anders als in jenen Studien in der vorliegenden Untersuchung lediglich ein statisches Magnetfeld benutzt wurde, insbesondere Gradientenfelder waren nicht vorhanden (31). Schließlich ist zu sagen, dass die weiteren Tests zur Erfassung depressionsähnlichen Verhaltens keine Unterschiede ergaben, so dass

eine von diesem Einzelbefund ausgehende Schlussfolgerung sicher verfrüht wäre.

Zusammenfassend zeigen wir das Fehlen nachteiliger Effekte auf Verhalten und Lernen infolge einer wiederholten Exposition gegenüber einem 7T statischen Magnetfeld *in utero* in der Maus. Unsere Ergebnisse bestärken damit die allgemeine Sichtweise auf die MRT als sichere bildgebende Methode in der Schwangerschaft. Nichtsdestotrotz ist angesichts der technischen Weiterentwicklung in klinischer und experimenteller Bildgebung eine fortlaufende Risikoeinschätzung essenziell.

5. Literatur

- [1] Fuchs VR, Sox HC, Jr. Physicians' views of the relative importance of thirty medical innovations. *Health Aff (Millwood)*. 2001;20:30-42.
- [2] Wiesinger F, Van de Moortele PF, Adriany G, De Zanche N, Ugurbil K, Pruessmann KP. Potential and feasibility of parallel MRI at high field. *NMR Biomed*. 2006;19:368-78.
- [3] Coskun O. Magnetic resonance imaging and safety aspects. *Toxicol Ind Health*. 2010;27:307-13.
- [4] Hartwig V, Giovannetti G, Vanello N, Lombardi M, Landini L, Simi S. Biological effects and safety in magnetic resonance imaging: a review. *Int J Environ Res Public Health*. 2009;6:1778-98.
- [5] Shellock FG, Crues JV. MR procedures: biologic effects, safety, and patient care. *Radiology*. 2004;232:635-52.
- [6] Schenck JF. Physical interactions of static magnetic fields with living tissues. *Prog Biophys Mol Biol*. 2005;87:185-204.
- [7] Schenck JF. The role of magnetic susceptibility in magnetic resonance imaging: MRI magnetic compatibility of the first and second kinds. *Med Phys*. 1996;23:815-50.
- [8] Schreiner-Karoussou A. A preliminary study of issues and practices concerning pregnancy and ionising radiation. *Radiat Prot Dosimetry*. 2009;135:79-82.
- [9] Girard N. Fetal MR Imaging. *Eur J Radiol*. 2002;12:1869-71.
- [10] Malinger G, Ben-Sira L, Lev D, Ben-Aroya Z, Kidron D, Lerman-Sagie T. Fetal brain imaging: a comparison between magnetic resonance imaging and dedicated neurosonography. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004;23:333-40.
- [11] Cassart M, Massez A, Metens T, Rypens F, Lambot MA, Hall M, et al. Complementary role of MRI after sonography in assessing bilateral urinary tract anomalies in the fetus. *AJR Am J Roentgenol*. 2004;182:689-95.
- [12] Keller TM, Rake A, Michel SC, Seifert B, Wissner J, Marincek B, et al. MR assessment of fetal lung development using lung volumes and signal intensities. *Eur Radiol*. 2004;14:984-9.
- [13] Leyendecker JR, Gorengaut V, Brown JJ. MR imaging of maternal diseases of the abdomen and pelvis during pregnancy and the immediate postpartum period. *Radiographics*. 2004;24:1301-16.
- [14] Patel SJ, Reede DL, Katz DS, Subramaniam R, Amorosa JK. Imaging the pregnant patient for nonobstetric conditions: algorithms and radiation dose considerations. *Radiographics*. 2007;27:1705-22.
- [15] Baker PN, Johnson IR, Harvey PR, Gowland PA, Mansfield P. A three-year follow-up of children imaged in utero with echo-planar magnetic resonance. *Am J Obstet Gynecol*. 1994;170:32-3.
- [16] Clements H, Duncan KR, Fielding K, Gowland PA, Johnson IR, Baker PN. Infants exposed to MRI in utero have a normal paediatric assessment at 9 months of age. *Br J Radiol*. 2000;73:190-4.
- [17] Kok RD, de Vries MM, Heerschap A, van den Berg PP. 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*. 2004;22:851-4.
- [18] Casele H, Meyer J. The selective use of magnetic resonance imaging in prenatal diagnosis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004;23:105-10.

- [19] Cannie M, Jani J, Dymarkowski S, Deprest J. Fetal magnetic resonance imaging: luxury or necessity? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;27:471-6.
- [20] Wright C, Sibley CP, Baker PN. The role of fetal magnetic resonance imaging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2010;95:F137-41.
- [21] Saunders R. Static magnetic fields: animal studies. *Prog Biophys Mol Biol.* 2005;87:225-39.
- [22] Narra VR, Howell RW, Goddu SM, Rao DV. Effects of a 1.5-Tesla static magnetic field on spermatogenesis and embryogenesis in mice. *Invest Radiol.* 1996;31:586-90.
- [23] Tablado L, Perez-Sanchez F, Soler C. Is sperm motility maturation affected by static magnetic fields? *Environ Health Perspect.* 1996;104:1212-6.
- [24] Tablado L, Perez-Sanchez F, Nunez J, Nunez M, Soler C. Effects of exposure to static magnetic fields on the morphology and morphometry of mouse epididymal sperm. *Bioelectromagnetics.* 1998;19:377-83.
- [25] Tablado L, Soler C, Nunez M, Nunez J, Perez-Sanchez F. Development of mouse testis and epididymis following intrauterine exposure to a static magnetic field. *Bioelectromagnetics.* 2000;21:19-24.
- [26] Carnes KI, Magin RL. Effects of in utero exposure to 4.7 T MR imaging conditions on fetal growth and testicular development in the mouse. *Magn Reson Imaging.* 1996;14:263-74.
- [27] Magin RL, Lee JK, Klintsova A, Carnes KI, Dunn F. Biological effects of long-duration, high-field (4 T) MRI on growth and development in the mouse. *J Magn Reson Imaging.* 2000;12:140-9.
- [28] Mevissen M, Buntenkotter S, Loscher W. Effects of static and time-varying (50-Hz) magnetic fields on reproduction and fetal development in rats. *Teratology.* 1994;50:229-37.
- [29] Murakami J, Torii Y, Masuda K. Fetal development of mice following intrauterine exposure to a static magnetic field of 6.3 T. *Magn Reson Imaging.* 1992;10:433-7.
- [30] Okazaki R, Ootsuyama A, Uchida S, Norimura T. Effects of a 4.7 T static magnetic field on fetal development in ICR mice. *J Radiat Res (Tokyo).* 2001;42:273-83.
- [31] Saito K, Suzuki H, Suzuki K. Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses. *Reprod Toxicol.* 2006;22:118-24.
- [32] Prina-Mello A, Farrell E, Prendergast PJ, Campbell V, Coey JM. Influence of strong static magnetic fields on primary cortical neurons. *Bioelectromagnetics.* 2006;27:35-42.
- [33] van Gaalen MM, Steckler T. Behavioural analysis of four mouse strains in an anxiety test battery. *Behav Brain Res.* 2000;115:95-106.
- [34] McIlwain KL, Merriweather MY, Yuva-Paylor LA, Paylor R. The use of behavioral test batteries: effects of training history. *Physiol Behav.* 2001;73:705-17.
- [35] Reif A, Schmitt A, Fritzen S, Chourbaji S, Bartsch C, Urani A, et al. Differential effect of endothelial nitric oxide synthase (NOS-III) on the regulation of adult neurogenesis and behaviour. *Eur J Neurosci.* 2004;20:885-95.
- [36] Fleischmann A, Hvalby O, Jensen V, Strekalova T, Zacher C, Layer LE, et al. Impaired long-term memory and NR2A-type NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in mice lacking c-Fos in the CNS. *J Neurosci.* 2003;23:9116-22.
- [37] Zörner B, Wolfer DP, Brandis D, Kretz O, Zacher C, Madani R, et al. Forebrain-specific trkB-receptor knockout mice: behaviorally more hyperactive than "depressive". *Biol Psychiatry.* 2003;54:972-82.

- [38] Chourbaji S, Zacher C, Sanchis-Segura C, Dormann C, Vollmayr B, Gass P. Learned helplessness: validity and reliability of depressive-like states in mice. *Brain Res Brain Res Protoc.* 2005;16:70-8.
- [39] Crusio WE, Bertholet JY, Schwegler H. No correlations between spatial and non-spatial reference memory in a T-maze task and hippocampal mossy fibre distribution in the mouse. *Behav Brain Res.* 1990;41:251-9.
- [40] Myers C, Duncan KR, Gowland PA, Johnson IR, Baker PN. Failure to detect intrauterine growth restriction following in utero exposure to MRI. *Br J Radiol.* 1998;71:549-51.
- [41] High WB, Sikora J, Ugurbil K, Garwood M. Subchronic in vivo effects of a high static magnetic field (9.4 T) in rats. *J Magn Reson Imaging.* 2000;12:122-39.
- [42] Jiang ML, Han TZ, Yang DW, Chen MX. Morphological alteration of the hippocampal synapses in rats prenatally exposed to magnetic resonance imaging magnetic fields. *Sheng Li Xue Bao.* 2003;55:705-10.
- [43] Jiang ML, Han TZ, Pang W, Li L. Gender- and age-specific impairment of rat performance in the Morris water maze following prenatal exposure to an MRI magnetic field. *Brain Res.* 2004;995:140-4.
- [44] Zhu C, Gao J, Li Q, Huang Z, Zhang Y, Li H, et al. Repeated exposure of the developing rat brain to magnetic resonance imaging did not affect neurogenesis, cell death or memory function. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;404:291-6.
- [45] Lockwood DR, Kwon B, Smith JC, Houpt TA. Behavioral effects of static high magnetic fields on unrestrained and restrained mice. *Physiol Behav.* 2003;78:635-40.
- [46] Houpt TA, Pittman DW, Barranco JM, Brooks EH, Smith JC. Behavioral effects of high-strength static magnetic fields on rats. *J Neurosci.* 2003;23:1498-505.
- [47] Houpt TA, Pittman DW, Riccardi C, Cassell JA, Lockwood DR, Barranco JM, et al. Behavioral effects on rats of high strength magnetic fields generated by a resistive electromagnet. *Physiol Behav.* 2005;86:379-89.
- [48] Houpt TA, Cassell JA, Riccardi C, Kwon B, Smith JC. Suppression of drinking by exposure to a high-strength static magnetic field. *Physiol Behav.* 2007;90:59-65.
- [49] Houpt TA, Carella L, Gonzalez D, Janowitz I, Mueller A, Mueller K, et al. Behavioral effects on rats of motion within a high static magnetic field. *Physiol Behav.* 2011;102:338-46.
- [50] Repacholi MH. Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics.* 1998;19:1-19.
- [51] Heinrichs WL, Fong P, Flannery M, Heinrichs SC, Crooks LE, Spindle A, et al. Midgestational exposure of pregnant BALB/c mice to magnetic resonance imaging conditions. *Magn Reson Imaging.* 1988;6:305-13.
- [52] Uygur EE, Arslan M. Effects of chronic stress on cognitive functions and anxiety related behaviors in rats. *Acta Physiol Hung.* 2010;97:297-306.
- [53] Nishio H, Kasuga S, Ushijima M, Harada Y. Prenatal stress and postnatal development of neonatal rats--sex-dependent effects on emotional behavior and learning ability of neonatal rats. *Int J Dev Neurosci.* 2001;19:37-45.
- [54] Kay G, Tarcic N, Poltyrev T, Weinstock M. Prenatal stress depresses immune function in rats. *Physiol Behav.* 1998;63:397-402.
- [55] Poutamo J, Partanen K, Vanninen R, Vainio P, Kirkinen P. MRI does not change fetal cardiocographic parameters. *Prenat Diagn.* 1998;18:1149-54.

- [56] De Wilde JP, Rivers AW, Price DL. A review of the current use of magnetic resonance imaging in pregnancy and safety implications for the fetus. *Prog Biophys Mol Biol.* 2005;87:335-53.
- [57] Aksoz E, Aksoz T, Bilge SS, Ilkaya F, Celik S, Diren HB. Antidepressant-like effects of echo-planar magnetic resonance imaging in mice determined using the forced swimming test. *Brain Res.* 2008;1236:194-9.
- [58] Rokni-Yazdi H, Sotoudeh H, Akhondzadeh S, Sotoudeh E, Asadi H, Shakiba M. Antidepressant-like effect of magnetic resonance imaging-based stimulation in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007;31:503-9.

| 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