

**Autoradiographische Untersuchungen zum Einfluss einer
achtwöchigen 50 Hz Magnetfeld-Exposition
auf DNA-Reparatur und mitochondriale DNA-Synthese
verschiedener Zellarten im Gehirn adulter Mäuse**

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
einer Doktorin der Zahnmedizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Katja Füller

aus

Jena

Berichter: Herr Universitätsprofessor
Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Hubert Korr

Herr Professor
Dr.-Ing. Jiri Silny

Tag der mündlichen Prüfung: 29. September 2009

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschul-
bibliothek online verfügbar.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Material und Methoden	7
2.1 Versuchstiere	7
2.2 Radioaktiver Marker	8
2.3 Tierversuche	8
2.3.1 Magnetfeld-Exposition	8
2.3.2 ³ H-Thymidin-Injektion	14
2.3.3 Narkotisierung	14
2.3.4 Fixation der Perfusion	14
2.3.5 Organentnahme und Weiterbehandlung	15
2.4 Herstellung der histologischen Präparate	16
2.4.1 Einbettung in Paraplast	16
2.4.2 Herstellung histologischer Schnitte	17
2.4.3 Färbung der histologischen Schnitte	17
2.5 Herstellung der Autoradiogramme	18
2.5.1 Dunkelkammer	18
2.5.2 Auftragen der Fotoemulsion	19
2.5.3 Exposition der Autoradiogramme	19
2.5.4 Entwicklung und Fixation	20
2.5.5 Zytoplasmagegenfärbung und Eindeckelung	20
2.6 Auswertung der Autoradiogramme	21
2.6.1 Verwendetes computergestütztes Mikroskop	21
2.6.2 Untersuchte Zellarten	21
2.6.3 Auswertungskriterien	21
2.7 Korrekturverfahren	22
2.7.1 Background („Nulleffekt“)	22
2.7.2 Backgroundkorrektur	23
2.7.3 Normierung der Silberkornzahlen	25
2.7.4 β -Selbstabsorption	25
2.8 Statistische Analysen	26

3 Ergebnisse	29
3.1 Charakteristika der histologischen Präparate	29
3.2 Kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkörner	32
3.2.1 Plexus choroideus des Seitenventrikels	32
3.2.2 Plexus choroideus des vierten Ventrikels	38
3.2.3 Neurone der Fascia dentata hippocampi und Endothelzellen des Cortex	41
3.3 Nulleffekt	41
3.4 Messwerte und deren Streubreite	44
3.4.1 Zellkernmarkierung und Zellkernprojektionsflächen der Plexusepithelzellen des Seitenventrikels	45
3.4.2 Zytoplasmamarkierung der Plexusepithelzellen des Seitenventrikels	50
3.4.3 Zellkernmarkierung und Zellkernprojektionsflächen der Plexusepithelzellen des vierten Ventrikels	54
3.4.4 Zytoplasmamarkierung der Plexusepithelzellen des vierten Ventrikels	58
3.4.5 Vergleich zwischen den Werten des Seitenventrikels und denen des vierten Ventrikels	61
3.4.6 Zellkernmarkierung und Zellkernflächen der Granularzellen der Fascia dentata hippocampi	62
3.4.7 Zellkernmarkierung und Zellkernprojektionsflächen der Endothelzellen im Cortex	65
4 Diskussion	67
4.1 Allgemeine Bedeutung der Ergebnisse	67
4.1.1 Informationen aus den kumulativen Häufigkeitsverteilungen	67
4.1.2 Validität und Literaturvergleich der ermittelten Ergebnisse	68
4.1.3 Prinzipielle Interpretation der Ergebnisse	70
4.2 Einfluss der Stärke des Magnetfeldes	73
4.2.1 Einfluss der Stärke des Magnetfeldes auf die UDS	73
4.2.2 Einfluss der Stärke des Magnetfeldes auf den Zellmetabolismus	76

4.3	Einfluss des Zeitpunktes der ^3H -TdR Injektion auf UDS und Zellmetabolismus	78
4.4	Einfluss der Streubreite der Messwerte auf die Aussagen zu UDS und Zellmetabolismus	78
5	Zusammenfassung	83
6	Literaturverzeichnis	87
7	Anhang	99
7.1	Abkürzungsverzeichnis für die Tabellen 7.1-7.10	99
7.2	Messwerte aller Versuchstiere	99
	Danksagung	
	Erklärung zur Datenaufbewahrung	
	Lebenslauf	

1 Einleitung

Zu Beginn des 21. Jahrhunderts lebt der Mensch in einem Zeitalter, in dem es durch den rasanten technischen Fortschritt zur stetigen Zunahme künstlich erzeugter Umwelteinflüsse kommt. Insbesondere Phänomene, die im Zusammenhang mit der Elektrizität auftreten, spielen durch ihre allgegenwärtige Präsenz eine entscheidende Rolle. Überall dort, wo elektrische Ladungen transportiert werden, also wo Strom fließt, entstehen neben elektrischen Feldern auch Magnetfelder (MF), die aufgrund ihrer hohen Durchdringungsfähigkeit kaum abgeschirmt werden können. Die MF-Stärke wird als Flussdichte in der Einheit „Tesla“ [T] beschrieben. Sie nimmt mit steigender Stromstärke zu und mit wachsendem Abstand von der Quelle ab. Im Falle von Wechselstrom werden magnetische Wechselfelder mit einer bestimmten Frequenz [H: 1 „Hertz“ entspricht einer Schwingung pro Sekunde] hervorgerufen. Man unterscheidet nieder- (≤ 30 kHz) und hochfrequente (100 kHz bis 300 GHz) Magnetfelder, wobei bei Werten über 30 kHz von elektromagnetischen Feldern (EMF) gesprochen wird, da ab dieser Frequenz das MF nicht mehr vom elektrischen Feld getrennt werden kann. Das natürliche, statische MF der Erde erreicht Werte zwischen 30 bis 60 μT . Zusätzlich treten niederfrequente MF im Haushalt im Umfeld aller Elektrogeräte und Elektroinstallationen auf, wobei ihre Stärke mit zunehmendem Stromverbrauch bzw. der Nutzung eines Transformators (z.B. TV-/Radio-Gerät) oder Elektromotors (z.B. Staubsauger, Bohrmaschine) ansteigt. Typische Belastungswerte im Nahbereich der Geräte (Abstand 30 cm) liegen in der Größenordnung von 1 μT bis 20 μT (vgl. Silny, 2002, S.35). Hochfrequente EMF werden in der Regel bewusst erzeugt und beispielsweise im Rahmen der TV-/Radiotechnik bzw. des Mobilfunks zur Datenübertragung oder bei Mikrowellengeräten zur Wärmeerzeugung genutzt.

Da elektromagnetische Felder (bzw. Magnetfelder) theoretisch zahlreiche elektrische und elektrochemische Stoffwechselprozesse beeinflussen können, ist ihre biologische Wirkung vielfältig (vgl. Silny, 2002). Die Effekte werden im Wesentlichen durch die Frequenz und Intensität der einwirkenden Felder bestimmt. Allerdings spielen auch physikalische Faktoren, wie Körperform und -größe sowie Erdung und Ausrichtung im Feld

eine entscheidende Rolle. Grundsätzlich unterscheidet man eine sofort eintretende Akutwirkung von der Langzeitwirkung, die erst im Verlauf einer längeren Expositionszeit eintritt. Die genauen Wirkmechanismen konnten jedoch bisher, insbesondere für Langzeitwirkungen, nur unzureichend geklärt werden. Sicher ist, dass – im Gegensatz zu Röntgen, UV- oder Gammastrahlung – elektromagnetische Felder (EMF) keine direkte Ionisation (Auflösung von Atom-/bzw. Molekülbindungen) verursachen können, da das nötige Energieniveau erst ab einer Frequenz von 300 GHz erreicht wird.

Akut auftretende Effekte bestehen im Niederfrequenzbereich vor allem in einer Reizwirkung auf Muskel-, Sinnes- und Nervenzellen, die durch magnetisch induzierte Ströme im Gewebe hervorgerufen werden. Bei hochfrequenten Feldern kommt es durch Absorption vorwiegend zu einer thermischen Wirkung. Da diese Effekte allerdings erst bei MF-Stärken auftraten, die ca. 1000fach höher sind als die der „normalen“ menschlichen Umgebung, sind sich die meisten Wissenschaftler darüber einig, dass bei Einhaltung der gesetzlichen Grenzwerte keinerlei Gesundheitsbeeinträchtigungen durch Akutwirkungen zu erwarten sind (vgl. Silny, 2002). Anders verhält es sich in Bezug auf mögliche Langzeitwirkungen. Hier wurde insbesondere durch einen unlängst publizierten Bericht, der die bisherige Literatur zu den Auswirkungen nieder- und hochfrequenter Felder zusammenfasst (BioInitiative Working Group, 2007), der Eindruck erweckt, dass die Zunahme der elektromagnetischen Emissionen zumindest langfristig erhebliche Gesundheitsgefahren birgt. So sollen niederfrequente MF ab einer Stärke von nur 0,3 μT bereits zu erhöhtem Risiko zur Erkrankung an Kinder-Leukämie führen (z.B. Svendsen et al., 2007). Weiterhin soll es bei Frauen mit einer Langzeitexposition schon ab $\geq 1 \mu\text{T}$ zum magnetfeldbedingtem Ansteigen der Brustkrebsinzidenzen kommen (McElroy et al., 2007). Außerdem gab es Berichte über ein MF-induziertes Risiko zur Erkrankung an M. Alzheimer (z.B. Rösli et al., 2007). Es ist jedoch hervorzuheben, dass die erwähnten Befunde auf epidemiologischen Untersuchungen beruhen, die – generell gesehen – nur auf besondere Korrelationen zwischen MF-Exposition und dem gehäuftten Auftreten der o.g. Erkrankungen hinweisen, nicht aber als schlüssige Beweise für einen kausalen Zusammenhang zu sehen sind. Als Beleg fehlen

vor allem gesicherte und in sich konsistente Vorstellungen über Wirkungsmechanismen.

Im Zusammenhang mit niederfrequenter MF-Exposition (50 Hz) zeigten Lai und Singh (2004), dass hierbei wahrscheinlich sogenannte „freie Radikale“ (reaktionsfreudige und energiereiche molekulare Spaltprodukte mit einem unpaaren Elektron) entstehen, die dann wiederum Einzel- und Doppelstrangbrüche innerhalb der DNA verursachen. Diese können mittels des sogenannten „Comet assay“ (Einzelzellen Gel-Elektrophorese, siehe Olive, 1998) bei isolierten Zellkernen oder Gewebekomponenten nachgewiesen werden. Da dieses in vitro-Verfahren jedoch nicht zwischen DNA-Konformationsänderungen und „richtigen“ Strangbrüchen unterscheiden kann (McCann et al., 1998), bei falscher Analysemethodik falsch positive Ergebnisse liefert (McNamee et al., 2002) und sensibel auf tötungsbedingte prämortale Hypoxiebedingungen (Malyapa et al., 1998; Moulder et al., 1999) reagiert, gab es vermehrt Zweifel an den so gewonnenen Ergebnissen. Ein anderes Nachweisverfahren für DNA-Schäden bietet sich mittels der sogenannten „In situ Nick Translation“ (ISNT)-Methode (Iseki und Mori, 1985; Iseki, 1986). Hierbei werden in Gewebeschnitten Einzel- und Doppelstrangbrüche enzymatisch gekennzeichnet. Bei zusätzlicher Verwendung eines radioaktiven Markers (z.B. ^3H -Thymidintriphosphat) in Verbindung mit einer Autoradiographie – zur Visualisierung der inkorporierten Radioaktivität – wurde es möglich, den Gehalt an Strangbrüchen (semi)-quantitativ und zellartspezifisch zu bestimmen (Rohde, 1999; Korr et al., 2001; Brasnjevic et al., 2008). Es sollte jedoch erwähnt werden, dass auch dieses Verfahren – ähnlich dem „Comet assay“ – anfällig für prämortale hypoxische Zustände ist, wobei solch artefiziell geschädigten Gewebe durchaus im Rahmen statistischer Analysen identifiziert und somit von den Untersuchungen ausgeschlossen werden können.

Neben dem direkten Nachweis von DNA-Schäden gibt es auch die Möglichkeit, diese indirekt zu untersuchen, indem man nukleäre (n)DNA-Reparaturvorgänge analysiert. Diese finden nur dann statt, wenn zuvor ein nDNA-Schaden aufgetreten ist. Ein Großteil der nDNA-Schäden wird im Normalfall unmittelbar nach ihrer Entstehung repariert. Im Zellkern geschieht dies mittels einer sogenannten Exzisionsreparatur, bei der die

geschädigten Nukleotidsequenzen zunächst enzymatisch aus dem DNA-Strang „herausgeschnitten“ werden (z.B. Setlow und Carrier, 1964; Boyce und Howard-Flanders, 1964). Im Anschluss dient der verbliebene intakte DNA-Strang als Matrize zur Neusynthese der nun fehlenden Sequenz. Diese Neusynthese, die unabhängig von der prämitotischen Replikation abläuft, wird als „unscheduled DNA synthesis“ (UDS) bezeichnet (Djordjevic und Tolmach, 1967). Durch Applikation von radioaktiv markiertem Thymidin (^3H -TdR) – einer DNA-spezifischen Base – in Kombination mit der Autoradiographie kann die UDS und damit das Ausmaß der vorangegangenen Schädigung (semi)-quantitativ und zellart-spezifisch nachgewiesen werden (Korr und Schultze, 1989; vgl. auch Brasnjevic et al., 2008). Da UDS ausschließlich und immer im Zusammenhang mit einer nDNA-Reparatur auftritt, kann man zusätzlich direkte Rückschlüsse auf das gesamte DNA-Reparaturvermögen ziehen (Cleaver und Thomas, 1981). Neben den ^3H -TdR-Markierungen im Zellkern kommt es gleichzeitig auch zu zytoplasmatischen Markierungen. Es konnte gezeigt werden, dass es sich hierbei um Neusynthesevorgänge von mitochondrialer (mt)DNA handelt, die im Rahmen der Mitochondrien-Neubildung stattfinden (vgl. Korr et al., 1997b, 1998). Diese Methode bietet somit die Möglichkeit, sowohl nDNA-Schäden als auch den Zellstoffwechsel zu untersuchen. Allerdings können keine Aussagen über persistierende nDNA-Schäden gemacht werden; dafür sollten beispielsweise ISNT-Studien parallel durchgeführt werden.

Die Aachener Forschungsgruppe um Prof. Korr beschäftigt sich seit vielen Jahren mit dem Einfluss niederfrequenter Magnetfelder auf die DNA und den Zellstoffwechsel. Mit der ISNT-Methodik sowie UDS- und mtDNA-Analysen wurde in einem Pilotversuch von 1998 der Effekt einer achtwöchigen, kontinuierlichen 1,5 mT starken 50 Hz MF-Exposition auf verschiedene Gehirn- und Nierenzellarten der adulten Maus untersucht (Schmitz et al., 2004). Für die untersuchten Gehirnzellarten, d.h. Pyramiden-, Glia- und Endothelzellen des Cortex, Neurone der Hippocampusregion CA 1-2 und CA 3 sowie Granularzellen der Fascia dentata, Purkinje- und Granularzellen des Cerebellums und Plexusepithelzellen des IV.Ventrikels fand sich einzig bei den Plexusepithelzellen eine MF-induzierte, signifikant erhöhte nDNA-Schadensrate.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich erneut mit der Untersuchung von Gehirnzellen, da hier ein Schwerpunkt der bisher ermittelten positiven Befunde liegt. Aufgrund der Pilotstudie ergaben sich vor allem folgende Fragen: Treten MF-induzierte DNA-Schäden bei Plexusepithelzellen auch nach geringeren MF-Dosen (1 oder 0,1 mT) auf, d.h. gibt es evtl. eine Dosis-Wirkungsbeziehung? Gibt es Unterschiede zwischen den Plexusepithelzellen des II. und IV.Ventrikels? Inwieweit werden die DNA-Schäden später wieder repariert? Neben Plexusepithelzellen des II. und IV.Ventrikels wurden zur Verifizierung und Konkretisierung der Voruntersuchung erneut Endothelzellen des Cortex und Granularzellen der Fascia dentata hippocampi mituntersucht. Als Untersuchungsmethode kam die bewährte UDS- und mtDNA-Analyse zum Einsatz; die parallel zu dieser Arbeit durchgeführten ISNT-Untersuchungen sind Gegenstand einer eigenständigen Dissertation (Born, 2009).

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um insgesamt 80 männliche Mäuse des Stammes Hannover: NMRI, die zum Todeszeitpunkt ein Alter von ca. 9 Monaten erreicht hatten. Im Alter von ca. 6 Wochen kamen sie von der Fa. River Lab., Sulzfeld, Deutschland in das Institut für Versuchstierkunde des Universitätsklinikums der RWTH Aachen (Direktor Prof. Dr. W. Küpper †). Die Haltungsbedingungen der Tiere sahen wie folgt aus:

- Unterbringung von je fünf Mäusen (Wurfgeschwister) in einem Typ II-Makrolonkäfig mit einer Bodenfläche von 350 cm² (s. Abb. 2.1)
- spezifisch pathogenfreie Umgebungsbedingungen mit Vollklimatisierung und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 %, Tag/Nacht-Wechseltemperaturen von 22/20°C sowie künstlichen Lichtverhältnissen mit automatischem Hell-Dunkel-Wechsel im Zwölfstundensrhythmus
- Fütterung mit Pressfutter Altromin® Nr.1314 und Wasser ad libitum



Abb. 2.1 Haltungsbedingungen der Versuchstiere

Das zuständige Regierungspräsidium Köln hatte die nachfolgend beschriebenen Tierversuche genehmigt.

2.2 Radioaktiver Marker

Zur Markierung der DNA-Reparatursynthese wurde ^3H -Thymidin (^3H -TdR) injiziert, das von der Fa. American Radiolabeled Chemicals Inc. St. Louis, MO (USA) 14 Tage vor Applikation geliefert wurde.

Bei einer spezifischen Aktivität von 2,25 TBq/mmol betrug die entsprechende Aktivität pro Milliliter 74 MBq. Eine Prüfung auf radiochemische Reinheit des ^3H -TdR fand nicht statt, da aus früheren Untersuchungen bekannt war, dass innerhalb von vier Wochen nach Anlieferung und Lagerung in einer mit ca. 4°C temperierten Umgebung keine relevanten radiolytischen Verunreinigungen zu erwarten sind (vgl. auch Rogers, 1979).

2.3 Tierversuche

2.3.1 Magnetfeld-Exposition

Die Tiere wurden in einem separaten Tierversuchsraum über einen Zeitraum von acht Wochen (23.09. - 18.11.2003) kontinuierlich MF-exponiert. Die dabei vorherrschenden Umweltbedingungen (22°C bis 24°C und 55 % relative Luftfeuchtigkeit) waren überwiegend konstant. Zur Beleuchtung des fensterlosen Raumes im 12 Stunden Hell-Dunkel-Rhythmus kamen Leuchtstoffröhren zum Einsatz, die zwischen 20.00 und 8.00 Uhr abgeschaltet wurden. Tagsüber ergab sich somit eine Beleuchtungsintensität von 450 Lux.

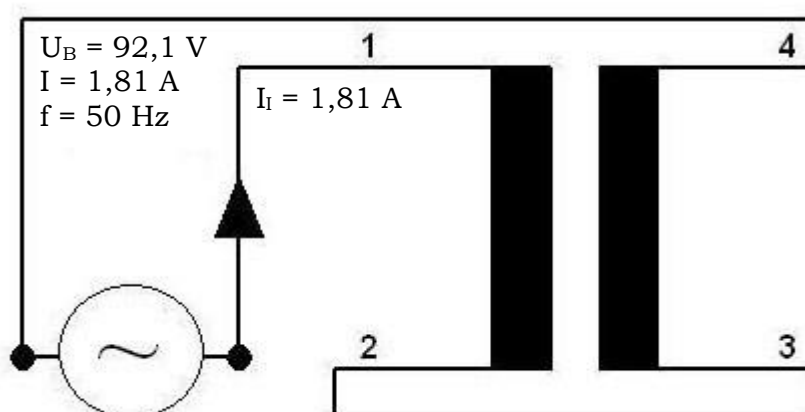
Die Frequenz der magnetischen Felder betrug 50 Hz: Es wurden zwei horizontal gelagerte Helmholtz-Spulenarrangements mit jeweils zwei Spulen verwendet. Der Durchmesser der Spulen betrug im Mittel 74 cm, und der mittlere Abstand innerhalb der einzelnen Helmholtz-Anordnungen lag bei 37 cm. Die Stromversorgung erfolgte aus dem regulären Netz, wobei zwei separate Regeltrenntransformatoren der Firma Philips (Typ 2422) zwi-

schengeschaltet waren. Die Spannung wurde so gewählt, dass bei Spulenanordnung I eine Flussdichte von 1 mT und bei Spulenanordnung II von 0,1 mT vorlag (Abb. 2.2). Die Kontrollmessungen wurden mit einem Feldmessgerät (EM2000 plus Sonde M400 der Fa. Symann & Trebbau, Hannover, Deutschland) durchgeführt. Um die notwendige Konstanz der MF-Flussdichte zu gewährleisten, erfolgten mittels Ampèremeter tägliche Überprüfungen der Stromstärke sowie gegebenenfalls Nachjustierungen.

Anschlussbelegung der Spulen

Spulenanordnung I

$$B = 1 \text{ mT}$$



Spulenanordnung II

$$B = 0,1 \text{ mT}$$

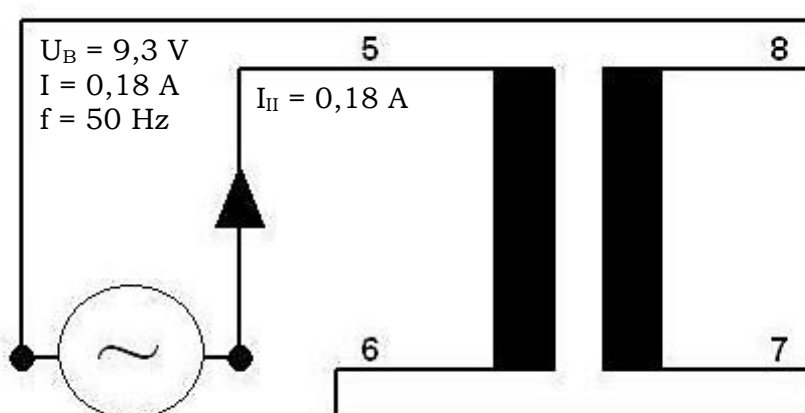


Abb. 2.2 Schematische Darstellung der Spulenanordnungen

Zusätzlich wurde die Flussdichte des allgegenwärtigen statischen Erdmagnetfeldes im Versuchsbereich mittels eines Gaußmeters (Modell 912, RLF Industries, USA) ermittelt; diese betrug bei einer Inklination (Neigung der erdmagnetischen Feldlinien gegenüber der Horizontalen) von 11.5° $47 \mu\text{T}$.

Infolge der räumlich inhomogenen Verhältnisse innerhalb der Helmholtz-Spulenordnungen ergaben sich für die Tiere jeweils unterschiedliche magnetische Flussdichten in Abhängigkeit vom jeweiligen Käfigstandort.

Abb. 2.3 und 2.4 veranschaulichen die entsprechenden Details.

Spulenordnung I:

- Käfig Nr.1: 1,0625 mT
- Käfig Nr.2: 1,0175 mT
- Käfig Nr.3: 1,0450 mT
- Käfig Nr.4: 1,0300 mT
- Käfig Nr.5: 1,0375 mT
- Käfig Nr.6: 1,0375 mT

Spulenordnung II:

- Käfig Nr.1: 0,1053 mT
- Käfig Nr.2: 0,1050 mT
- Käfig Nr.3: 0,1055 mT
- Käfig Nr.4: 0,1085 mT
- Käfig Nr.5: 0,1045 mT
- Käfig Nr.6: 0,1053 mT

Gemittelt lag die MF-Stärke in Spulenordnung I bei 1,03833 mT und in Spulenordnung II bei 0,10567 mT.

Spulenanordnung I - Vorderseite

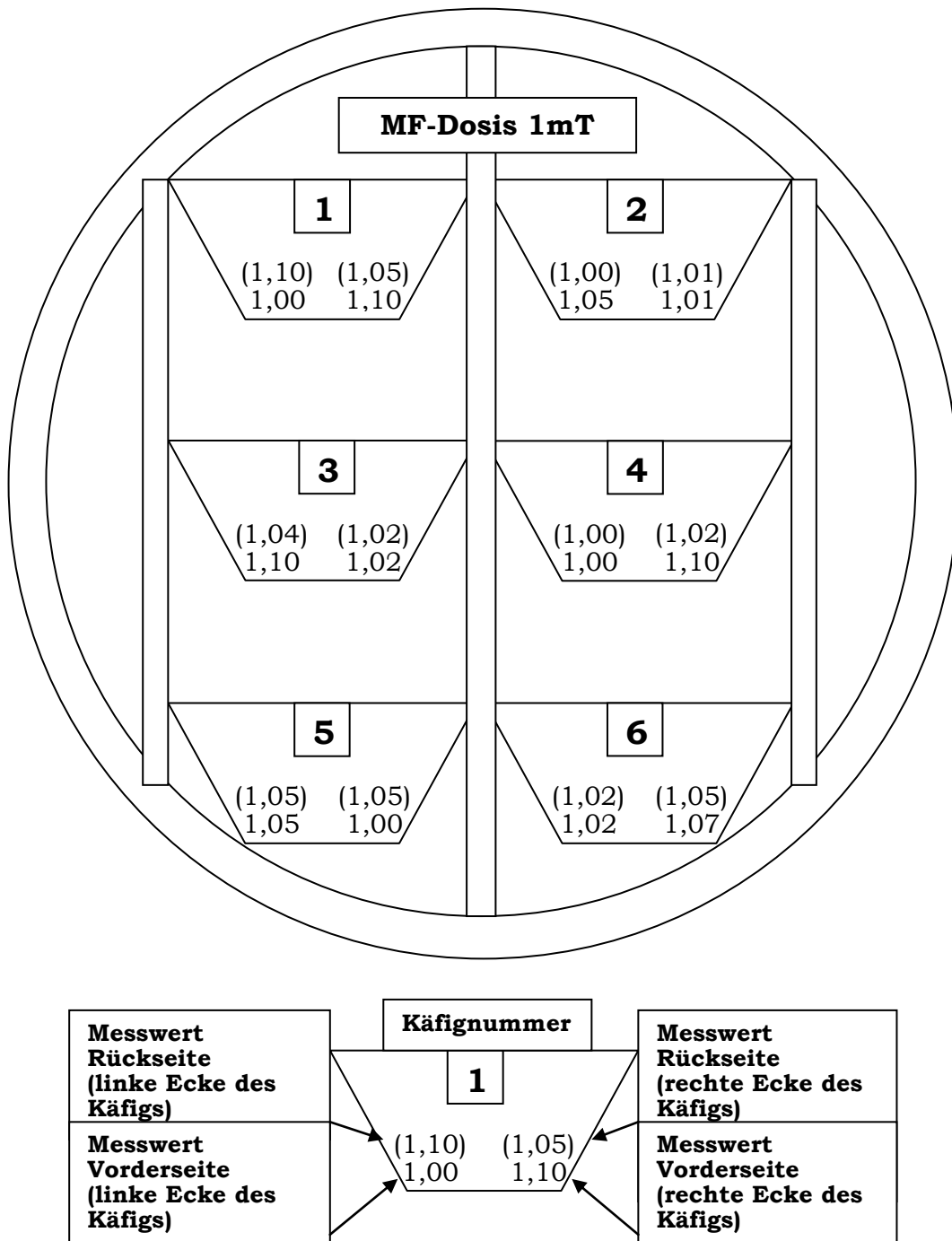


Abb 2.3 Messung des Magnetfeldes bei Spulenanordnung I

Gemessen mit EM 2000, Filter: 2 Hz bis 500 kHz

Trenntrafoeinstellungen: 92,1 V, 50 Hz, 1,81 A

Beschaltung der Spulen: Anschluss 2 ist mit Anschluss 3 verbunden;

Anschluss 1 und Anschluss 4 sind an den Trenntrafo angeschlossen.

Spulenanordnung II - Vorderseite

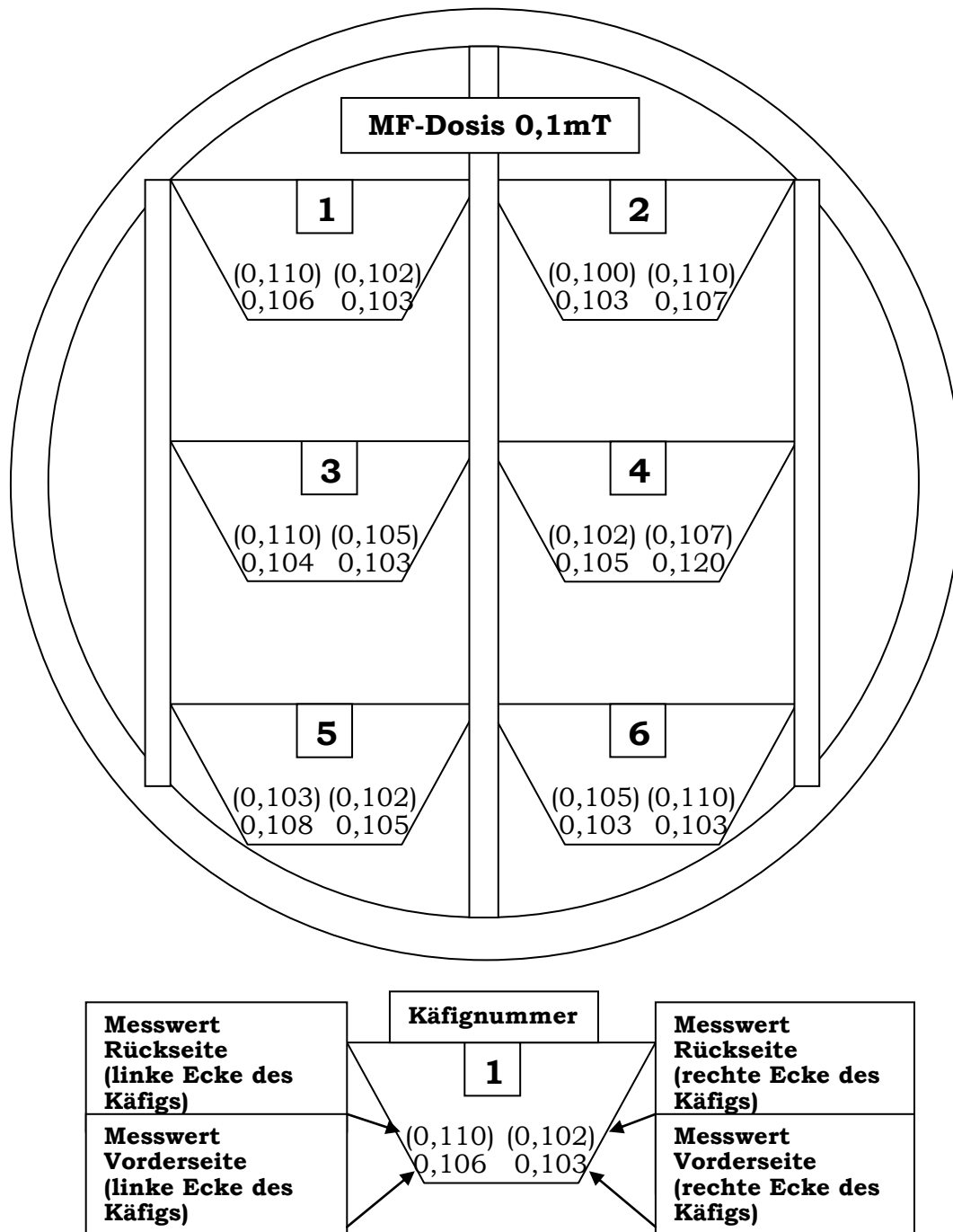


Abb. 2.4 Messung des Magnetfeldes bei Spulenanordnung II

Gemessen mit EM 2000, Filter: 2 Hz bis 500 kHz

Trenntrafoeinstellungen: 92,1 V, 50 Hz, 1,81 A

Beschaltung der Spulen: Anschluss 6 ist mit Anschluss 7 verbunden;

Anschluss 5 und Anschluss 8 sind an den Trenntrafo angeschlossen.

Während des Versuchszeitraumes erfolgte die Haltung der Mäuse in metallfreien Kunststoffkäfigen ohne Wahrung spezifisch pathogenfreier Bedingungen. In einer Spulenordnung befanden sich dabei jeweils sechs Käfige, die mit je fünf Wurfgeschwistern besetzt waren (siehe Abb. 2.5). Die Bezeichnung der Versuchstiergruppen (I und II) wurde analog der entsprechenden Helmholtz-Spulenordnung gewählt, in der die Exposition stattfand. Als Kontrollgruppe (III) dienten 20 Tiere, welche ohne MF-Exposition ebenfalls in Fünfergruppen gehalten wurden. Der komplette Versuchsaufbau befand sich auf Holztischen, wobei Kontroll- und Feldgruppe im Abstand von drei Metern aufgestellt waren. Die MF-Exposition wurde während der acht Wochen nur insofern unterbrochen, dass alle vier Tage eine kurze Reinigungspause erfolgte.

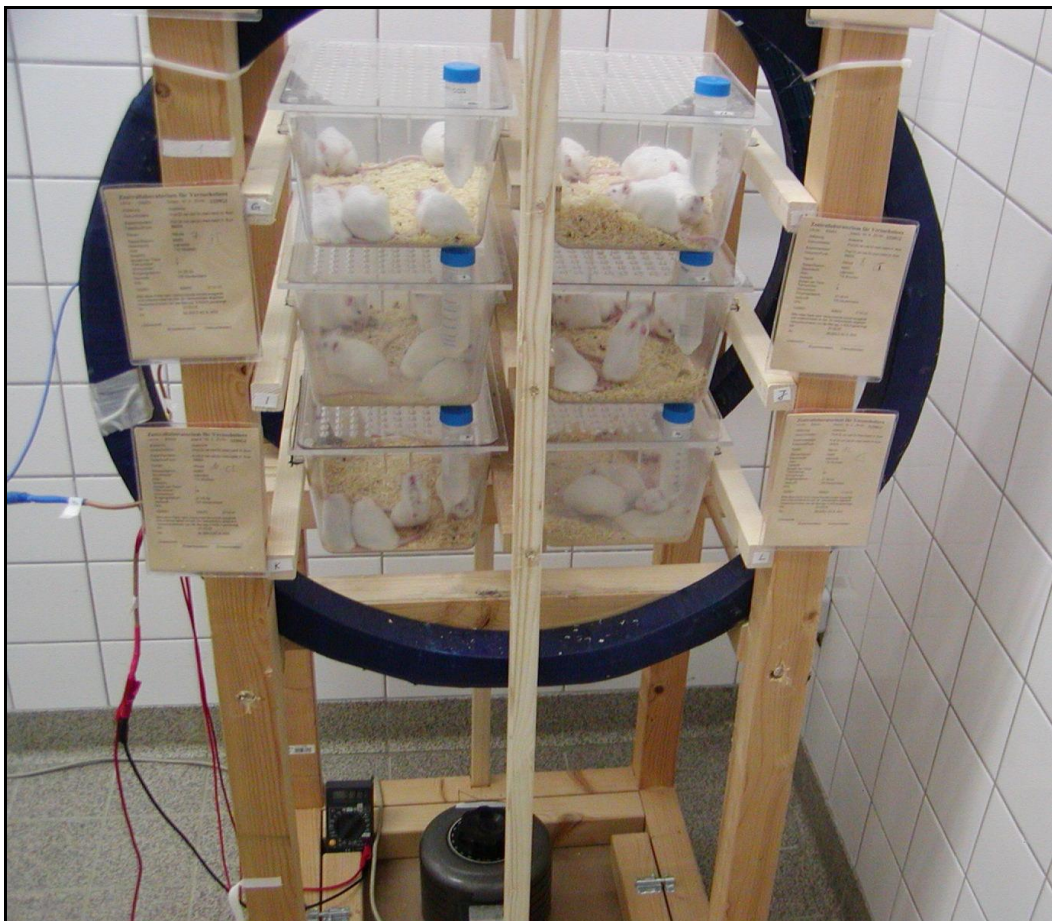


Abb. 2.5 Versuchsaufbau

2.3.2 ^3H -Thymidin-Injektion

Nach Abschaltung des MF wurden die Tiere, gruppenweise zeitlich versetzt, in das Isotopenlabor des Institutes für Anatomie der RWTH Aachen transportiert. Es erfolgte eine Aufteilung der Mäuse in jeweils drei Untergruppen. Die Injektion des ^3H -Thymidin wurde bei Untergruppe A 5 min, bei Untergruppe B 24 h bzw. bei Untergruppe C sieben Tage später vorgenommen. Hierbei erfolgte eine Applikation von 555 kBq pro Gramm Körpergewicht intraperitoneal. Zur Vermeidung einer schmerzhaften Irritation des Peritoneums enthielt die injizierte ^3H -TdR-Lösung NaCl in 0,9%iger Konzentration.

2.3.3 Narkotisierung

Die Narkotisierung der Tiere erfolgte 115 Minuten nach der ^3H -TdR-Injektion mittels einer 10%igen, wässrigen Chloralhydratlösung. Eine intraperitoneale Injektion von 0,005 ml pro Gramm Körpergewicht führte innerhalb von ca. 3 Minuten zum Erlöschen des Cornealreflexes.

2.3.4 Fixation der Perfusion

Nach Überprüfung der Narkosetiefe durch Berührung der Cornea wurde das Abdomen mittels einer Schere eröffnet. Im Anschluss erfolgte die Einführung einer Kanüle in den linken Herzventrikel, wobei zuvor Diaphragma und Perikard durchtrennt werden mussten. Darüber konnten die nachfolgend aufgeführten Perfusionslösungen intrakardial appliziert werden. Um den Durchfluss der Lösungen durch den gesamten Kreislauf zu gewährleisten, wurde die Vena cava inferior durchtrennt. Diese Perfusionsfixation mit den Formalinlösungen führte zum Tod des Versuchstieres.

Über einen Zeitraum von ca. drei bis vier Minuten wurden die Mäuse unter manuell konstant gehaltenem Druck unter Verwendung einer 30 ml-Record-Spritze nacheinander mit folgenden Lösungen perfundiert, wobei die erste Lösung zur Ausspülung des Blutes diente (vgl. Korr et al., 1973).

▪ Thomadex® 40 mit NaCl	20 ml
▪ Formalinlösung 1	20 ml
▪ Formalinlösung 2	20 ml
▪ Formalinlösung 3	30 ml

Im Folgenden wird die Herstellung der verwendeten Formalinlösungen beschrieben:

Stammlösung:

- Lösung von 80 g Paraformaldehyd in 200 ml Aqua dest.
- Erhitzung auf 92 - 95°C
- Hinzugabe von drei Tropfen 10%iger Natronlauge
- Abkühlung

Formalinlösung 1:

- 1 Teil Stammlösung + 9 Teile 0,9%iger Salzsäure (pH 7,2)

Formalinlösung 2:

- 1 Teil Stammlösung + 9 Teile 0,9%iger Salzsäure (pH 7,2)
- Hinzugabe von einem Teil 96%igem Eisessig zu 99 Teilen dieser Mischung

Formalinlösung 3:

- 1 Teil Stammlösung + 4 Teile 0.9%iger Salzsäure (pH 7,2)

2.3.5 Organentnahme und Weiterbehandlung

Nach der Perfusionsfixation wurden verschiedene Organe entnommen:

1. Leber Vorderlappen
2. Niere (meist links)
3. Milz
4. Gehirn

Die Entnahme des Gehirns erfolgte in der Art und Weise, dass zunächst der komplette Kopf jedes Tieres abgetrennt, die Kalotte nach Fellentfernung eröffnet und jedes Präparat in toto für zwei bis sechs Stunden in Formalinlösung 3 eingelegt wurde. Anschließend wurde das Gehirn mēdiosagittal halbiert. Zur Nachfixation verblieben die Gehirnhälften für zwei Wochen in Formalinlösung 3. Danach wurden sie in 70%iges Etha-

nol überführt, wo sie über mehrere Wochen (max. neun Monate) bei ca. 4°C bis zur Einbettung in Paraplast (siehe Kap.2.4.1) verblieben.

2.4 Herstellung der histologischen Präparate

2.4.1 Einbettung in Paraplast

Um mögliche chemographische Prozesse (= Silberkornmarkierung nur durch chemische Reaktionen ausgelöst) zu minimieren, wurde zunächst das zur Fixation verwendete Formalin durch sechsstündige Spülung unter fließendem Leitungswasser ausgewaschen. Nach anschließender dreitägiger Gewebelagerung in 70%igem Ethanol bei 40°C kam es zur Dehydrierung der Präparate mittels einer aufsteigenden Ethanol- und Acetonreihe (siehe Tab. 2.1). Diese war notwendig, damit das nachfolgend verwendete, flüssige Paraplast das Gewebe vollständig durchtränken konnte.

Tab 2.1 Arbeitsschritte vor der Einbettung in Paraplast

Arbeitsschritt	Einwirkzeit
1. 80%iges Ethanol	1 h
2. 96%iges Ethanol	1 h
3. 96%iges Ethanol	1 h
4. 100%iges Ethanol	1 h
5. 100%iges Ethanol	1 h
6. 100%iges Ethanol	1 h
7. Ethanol/Aceton 1:1	1 h
8. Aceton	1 h

Die Einlagerung der Präparate in flüssiges, ca. 60°C warmes Paraplast erfolgte zunächst über einen Zeitraum von ca. drei Stunden, bis keinerlei Luftblasenaufstieg mehr zu beobachten war. Dann wurde das Paraplast erneuert, und nach einer weiteren Einwirkzeit von 15 Stunden erfolgte der Guss der einzelnen Präparate zu Blöcken. Bei Paraplast handelt es sich um ein Paraffin, dessen Eigenschaften sich direkt aus der homologen Alkanreihe herleiten lassen. Es ist somit wachstartig, nicht toxisch, elektrisch isolierend, hydrophob, lipophil, brennbar, geruch- und geschmacklos.

2.4.2 Herstellung histologischer Schnitte

Mittels eines motorbetriebenen Mikrotoms „Leica RM 2005“ (Fa. Leica, Nussloch, Deutschland) und manuell gebrochenen Glas-Messern vom Ralph-Typ („LKB2078 Histo Knife Maker“ Fa. LKB, Bromma, Schweden) wurden in Serie 3 µm dicke, paramediane Sagittalschnitte hergestellt und mit Hilfe von Aqua bidest. auf vorgereinigte Glasobjektträger gebracht; die Objektträger waren zur Bleistift-Beschriftung mit einem Mattschild versehen. Durch kurze Lagerung auf einer bei 38-42°C justierten Heizplatte erfolgte eine Streckung der Gewebeschnitte.

Schließlich wurden die histologischen Schnitte bei 37°C über 12 Stunden, nach Absaugung des überschüssigen Aqua bidest. mit Papierstreifen, im Brutschrank getrocknet.

2.4.3. Färbung der histologischen Schnitte

Da auch Paraffinreste chemographische Effekte verursachen können, wurden die trockenen Präparate mit Xylol sorgfältig entparaffiniert. Anschließend erfolgte die Rehydrierung in einer absteigenden Ethanolreihe (siehe Tab. 2.2), wobei die verwendeten Lösungen jeweils zweimal erneuert wurden.

Tab. 2.2 Rehydrierungsschritte

Lösung	Einwirkzeit
1. Xylol p.a.	3 x 10 min
2. 99%iger Isopropylalkohol	3 x 10 min
3. 96%iges Ethanol	3 x 10 min
4. 70%iges Ethanol	3 x 10 min
5. Aqua bidest.	3 x 10 min

Nun folgte eine Kernfärbung nach der Feulgen-Methode (vgl. Lang und Maurer, 1965):

1. Hydrolyse der Schnitte in 1 n HCl bei 60 ° C zur Demaskierung der intranucleären Aldehydgruppen
2. Hydrolysebeendigung durch Abspülen mit Aqua bidest.
3. Verbringung der Schnitte für 1-2 h in Schiffssches Reagenz, bestehend aus:
 - 12.5 g Paraosanilin
 - 875 ml Aqua bidest.
 - 175 ml 1 n HCl
 - 12,5 g K₂SO₄ (Kaliumsulfat)
4. kurzes Abspülen mit handwarmen Leitungswasser
5. 3-4maliges länger andauerndes Wässern in Aqua bidest.

2.5 Herstellung der Autoradiogramme

2.5.1 Dunkelkammer

Mit Hilfe der Autoradiographie ist man in der Lage, Radioaktivität mittels einer photographischen Filmschicht zu visualisieren. Allerdings besitzt dieses Verfahren ebenfalls Sensibilität gegenüber Licht und speziellen chemischen Reagenzien. Somit muss, insbesondere um unspezifische Markierung durch Licht zu verhindern, der Herstellungsprozess der Autoradiogramme innerhalb einer Dunkelkammer erfolgen.

Eine funktionstüchtige Dunkelkammer sollte folgende Charakteristika aufweisen:

- Raumtemperatur von 20°C und rel. Luftfeuchtigkeit von 55-65 %
- absolute Lichtundurchlässigkeit aller Außenverbindungen (Tür etc.)
- Abschirmung aller elektrischen Geräte gegen Austritt elektrischer Blitze
- Entfernung aller Leuchtstoffröhren
- Entfernung von Belüftungsapparaturen (zur Vermeidung von Staubaufwirbelungen)
- Abdichtung der Abflüsse gegen H₂S-Gasaustritt

2.5.2 Auftragen der Fotoemulsion

Als Fotoemulsion kam die gelförmige K2-Emulsion (Fa. Ilford Ltd., Essex, UK) zum Einsatz. Zu Beginn musste die benötigte Menge bei völliger Dunkelheit abgewogen und geschmolzen (im 42°C warmen Wasserbad) werden. Es war speziell darauf zu achten, dass kein Haut- oder Metallkontakt stattfand, um eine spätere unspezifische Markierung zu verhindern. Dann wurde die nun flüssige Emulsion mit Aqua bidest. im Verhältnis 1:1 verdünnt. Es musste darauf geachtet werden, dass sich beim Umrühren keine Luftblasen bildeten und dass der verwendete Glasstab keinen Kontakt mit der Gefäßwand hatte. Daraufhin wurde die Emulsion durch eine doppelte Mullage filtriert. Das eigentliche Benetzen mit Fotoemulsion ("Dipping") erfolgte in der Art und Weise, dass die histologischen Präparate für einige Sekunden in die Emulsion getaucht, vorsichtig entnommen und abschließend für ca. 1 Stunde aufrecht stehend getrocknet wurden.

2.5.3 Exposition der Autoradiogramme

Nachdem die Objektträger mit Fotoemulsion beschichtet waren, stellte man sie in lichtundurchlässige Expositionskästchen, in denen sie 250 Tage bei konstant 4°C (Kühlschrank) verblieben. Zur Aufnahme und Detektion eventuell vorhandener Feuchtigkeit wurde ein Trocknungsmittel zugegeben, welches zusätzlich einen Farbindikator enthielt („Indi-

cating Drierite“, Fa. Aldrich Chemical Company, Milwaukee/Wisconsin, USA).

2.5.4 Entwicklung und Fixation

Nach Ablauf der Expositionszeit wurden die Expositionsboxen zunächst zwecks Temperaturadaption eine Stunde bei Raumtemperatur gelagert. Anschließend wurden die Boxen in völliger Dunkelheit geöffnet, die dort gelagerten Objektträger für vier Minuten in frisch angesetzten und filtrierten Amidol-Entwickler überführt und schließlich bei 18°C entwickelt. Die detaillierte Zusammensetzung des Entwicklers sah wie folgt aus:

- 1,35 g Amidol (4-Hydroxy-m-Phenylendiammonium-Dichlorid)
- 5,4 g Na₂SO₃ sicc.
- 2,4 ml 10%ige KBr-Lösung
- 300 ml Aqua bidest.

Zur gleichmäßigen Benetzung der Präparate befand sich die Box während des Entwicklungsgeschehens auf einer elektrischen Wippe. Danach wurden die Objektträger mit Aqua bidest. gespült und für zehn Minuten mit 30%iger Natriumthiosulfatlösung fixiert. Abschließend folgte eine erneute, länger andauernde Wässerung zur rückstandslosen Entfernung der Fixationslösung sowie die Trocknung bei Raumtemperatur ohne besondere Hilfsmittel.

2.5.5 Zytoplasmagegenfärbung und Eindeckelung

Die Gegenfärbung des Zytoplasmas erfolgte über ein einminütiges Eintauchen der fixierten Autoradiogramme in eine Lichtgrün-Aqua bidest.-Lösung (1 g/100 ml). Nach zweiminütigem Entfernen von überflüssiger, d.h. nicht gebundener Farbe mittels Wasser, und Lufttrocknung über Nacht erfolgte das Eindeckeln mit Entellan (Fa. Merck, Darmstadt) und Deckgläschen.

2.6 Auswertung der Autoradiogramme

2.6.1 Verwendetes computergestütztes Mikroskop

Zur Auswertung der histologischen Präparate kam ein Mikroskop des Typs „Diaplan“ (Fa. Leitz, Wetzlar, Deutschland) zum Einsatz. Man konnte damit eine 1250fache Vergrößerung erreichen, wobei ein 100fach vergrößerndes Ölimmersionsobjektiv mit einem 12,5fachen Okular sowie einem Distanzring kombiniert wurde.

Die eigentliche Silberkornauszählung und die Größenbestimmung der zugehörigen Kern- und Zytoplasmaflächen fanden am Computer statt. Hierfür wurde das mikroskopische Bild mittels digitaler TBK-Mikroskop-Kamera übertragen und danach durch das Computerprogramm „Diskus“ (Fa. Carl H. Hilgers, Königswinter, Deutschland) bearbeitet.

Das Programm, dessen primäre Aufgaben in der Aufnahme und Dokumentation histologischer Bilder zu sehen ist, bot die Möglichkeit, die zu bestimmenden Gewebeflächen nach manuellem graphischen Festlegen auszumessen; auch ließen sich die verschiedenen Schärfeebenen darstellen und speichern.

2.6.2 Untersuchte Zellarten

In den Gehirn-Autoradiogrammen wurden jeweils vier verschiedene Zellarten untersucht: Epithelzellen des Plexus choroideus aus II. und IV. Ventrikel, Körnerzellen (d.h. kleine Neurone) der Fascia dentata hippocampi sowie neocortikale Endothelzellen.

2.6.3 Auswertungskriterien

Grundsätzlich wurden von jedem Tier und jeder Zellart jeweils 100 sukzessiv folgende Zellen ausgewertet. Bei den Plexusepithelzellen wurde sowohl die Zellkern- als auch die Zytoplasmamarkierung erfasst, während sich die Auswertung bei den Körner- und Endothelzellen auf den Zellkern beschränkte, da hier keine Abgrenzung des Zytoplasmas möglich war. Es wurden auch Zellen in die Auswertungen miteinbezogen,

welche keine Silberkörner enthielten. Lediglich proliferierende Zellen in der S-Phase, die eindeutig anhand ihrer intensiven und nahezu homogenen Schwarzfärbung zu erkennen waren, sowie ihre direkten Nachbarzellen blieben unberücksichtigt. Korrespondierend zu den jeweils analysierten Zellkernmarkierungen wurden auch die Zellkernprojektionsflächen bestimmt. Bei den Plexusepithelzellen berechnete man zusätzlich die Zellkern-umgebenden Zytoplasmaprojektionsflächen.

2.7 Korrekturverfahren

2.7.1 Background („Nulleffekt“)

In sämtlichen Präparaten fanden sich neben spezifisch, d.h. durch die Emission von β -Strahlung des eingebauten ^3H -TdR, entstandenen Silberkörnern auch solche, welche unspezifisch aufgrund von Störfaktoren (z.B. Licht oder spezielle chemische Reagenzien) hervorgerufen wurden. Die Gesamtheit dieser unspezifischen Silberkörner wird als „Nulleffekt“ beziehungsweise „Background“ bezeichnet.

Dafür sind folgende Ursachen möglich:

- fehlerhafter Herstellungsprozess der Autoradiogramme
- falsche und zu lange Lagerung des ^3H -TdR
- falscher Transport und Aufbewahrungsfehler der Photoemulsion

Bevor ein Autoradiogramm überhaupt in die Auswertungen miteinbezogen wurde, prüfte man generell die Backgroundstärke, indem man die Silberkornzahl über gewebehaltigen und gewebefreien Präparatflächen miteinander verglich. War hierbei die Markierung der Flächen ohne Gewebeanschnitte relativ stark, so verzichtete man auf die Analyse und nahm stattdessen ein anderes, weniger „Background“-belastetes Präparat desselben Tieres.

2.7.2 Backgroundkorrektur

Es wurden zwei Verfahren zur Backgroundkorrektur benutzt (vgl. Stillström, 1963, 1965; Korr und Schmidt, 1988, 1989). Dies war nötig, um die Poisson-Gesetzmäßigkeit des radioaktiven Zerfalls und damit auch der Verteilung der Silberkörner zu berücksichtigen, welche sowohl im Falle der spezifischen als auch der unspezifischen Markierung zur Geltung kommt. Entsprechend dieser Poisson-Verteilung gibt es insbesondere bei Tieren mit geringer mittlerer Silberkornzahl eine gewisse, nicht zu vernachlässigende Anzahl an Zellen, bei denen zwar radioaktiv markiertes ^3H -Thymidin zur mtDNA-Synthese bzw. zur nDNA-Reparatur eingebaut wurde; dies spiegelte sich aber nicht durch entsprechende Silberkörner wider. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten dieser Zellen nimmt mit steigender mittlerer Markierungsintensität ab, d.h. bei höheren mittleren Silberkornzahlen wird die Häufigkeit von radioaktiv markierten Zellen ohne Silberkornmarkierung vernachlässigbar gering.

Prinzipiell wurde der Nulleffekt mittels folgender Formel auf statistischem Niveau eliminiert (Stillström, 1963; 1965):

$$X_{\text{korr}} = \frac{1}{PL} \cdot (x_m - x_k)$$

X_{korr} : mittlere korrigierte Silberkornzahl pro Zellkern-/Zytoplasmaprojektionsfläche

PL : Wahrscheinlichkeit echter Markierung

x_m : gemessene mittlere Kornzahl des ^3H -markierten Versuchstieres

x_k : gemessene mittlere Kornzahl des unmarkierten Kontrolltieres (Background)

Die Variable PL wurde folgendermaßen ermittelt:

Falls das arithmetische Mittel der Silberkornzahlen $x_m \geq 3$ war, wurden die PL-Werte mittels einer Formel bestimmt, die May (1991) entwickelt hatte:

$$PL = 1 - \frac{p_m(0)}{p_k(0)}$$

$p_m(0)$: Anteil der silberkornfreien Zellen im ^3H -markierten Versuchstier

$p_k(0)$: Anteil der silberkornfreien Zellen im unmarkierten Kontrolltier

Bei Vorliegen von $x_m < 3$, erfolgte die Bestimmung der PL-Werte nach der computergestützten Methode von Korr und Schmidt (1988,1989).

Hierbei kam es zu softwarebedingten Problemen bei der Berechnung von PL (= PL*), wenn die Häufigkeitsverteilung der ermittelten Silberkörner mehr als ein Maximum aufwies. Zwar konnten auch in diesem Fall mit oben genannter Methode Werte für die Wahrscheinlichkeit spezifisch entstandener Markierung (PL) errechnet werden; allerdings fehlte ihnen dann die nötige Genauigkeit. Somit mussten die Werte auf Basis folgender theoretischer Überlegungen von Schmidt (1990) überprüft werden: Er geht von den unten aufgeführten ableitbaren Zusammenhängen zwischen $p_m(0)$, $p_k(0)$ und PL* aus.

Bei PL*-Berechnungen nach Korr und Schmidt (1988,1989) gilt:

$$PL^* \geq 1 - \frac{p_m(0)}{p_k(0)}$$

D.h. die nach Korr und Schmidt ermittelten PL*-Werte müssen größer/gleich den nach May (1991), ermittelten PL-Werten sein. Sollte diese Bedingung nicht erfüllt sein, so blieben die entsprechenden Zählwerte bei den folgenden statistischen Auswertungen unberücksichtigt.

2.7.3 Normierung der Silberkornzahlen

Nach Abschluss der Background-Eliminierung kam es zur Normierung der entsprechend korrigierten Silberkornzahlen auf einen einheitlichen DNA-Gehalt im Volumen des angeschnittenen Zellkerns. Dies geschah unter der Annahme, dass alle Zellen diploid sind sowie alle Gewebeschnitte eine konstante Dicke von 3 μm besitzen, und wurde nur für Silberkörner über dem Zellkern vorgenommen. Das verwendete Normierungsverfahren (Schmitz, 1994) ermöglicht den direkten Vergleich der nukleären Silberkornzahlen trotz unterschiedlicher Kernflächen und Gewebe. Es geht von den gemittelten Zellkernprojektionsflächen aus und setzt die DNA-Markierungintensität in Bezug zur jeweils im Anschnittsvolumen absolut vorkommenden DNA-Menge.

Die cytoplasmatische Markierung wurde nicht normiert, da die mitochondriale DNA-Menge und die zelluläre Mitochondrienanzahl keine Konstanz aufweist.

2.7.4 β -Selbstabsorption

Das zur Markierung benutzte Tritium besitzt eine sehr geringe β -Emissionsenergie. Dies bedeutet, dass umso mehr β -Teilchen die Photoschicht erreichen und dort zur Bildung eines entsprechenden Silberkorns führen, je geringer die Massendichte des markierten Gewebes ist (vgl. Maurer und Primbsch, 1964; Korr, 1985).

Den unterschiedlichen Zellarten liegen verschiedene Massedichten zugrunde (Korr et al., 1997a). Somit besteht die Notwendigkeit, die entsprechenden ^3H - β -Selbstabsorptions-Koeffizienten zu berücksichtigen. Nur mittels dieses Korrekturverfahrens wird ein objektiver Vergleich der einzelnen Zellarten ermöglicht.

Tabelle 2.3 fasst die in dieser Arbeit verwendeten ^3H - β -Selbstabsorptions-Koeffizienten zusammen, welche für 6 Monate (Endothel- und hippocampale Granularzellen) bzw. 10 Monate alte NMRI-Mäuse (Plexusepithelzellen) erhalten wurden (Korr et al., 1997a).

Tab. 2.3 Relative ^3H - β -Selbstabsorptions-Koeffizienten

Zellart	Zytoplasma	Nucleus
II. Ventrikel / Plexusepithelzellen	1,31	1,34
IV.Ventrikel / Plexusepithelzellen	1,31	1,34
Fascia dentata hippocampi / Granularzellen	---	1,18
Cortex / Endothelzellen	---	1,76

2.8 Statistische Analysen

Zunächst erfolgte die Berechnung von Mittelwerten entsprechender Messwerte und von interindividuellen Streubreiten. Dies betraf die Zellkernprojektionsflächen (KF), die zugehörigen korrigierten plus normierten Silberkornzahlen (KK_{kor}/KK_{norm}) sowie die Silberkorndichten der Zytoplasmaprojektionsflächen (Dichte). Die Berechnungen bezogen sich jeweils auf die einzelnen Versuchstiergruppen (AI bis CIII).

Anschließend erfolgte eine einfaktoriellen Varianzanalyse („generalized linear model“). Im Detail handelt es sich hierbei um ein interferenzstatistisches Testverfahren, das mehrere Gruppenmittelwerte simultan vergleichen kann und signifikante Unterschiede aufzeigt, welche nicht allein durch zufällige Stichprobenschwankungen erklärt werden können, sondern auf den entsprechenden unabhängigen Faktoren beruhen.

Die Varianzanalyse wurde mittels des Computerprogramms SPSS (Version 12.01 für Windows, SPSS, Chicago, IL/USA) freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. C. Schmitz/Department of Psychiatrie and Neuropsychology, an der Universität Maastricht durchgeführt.

MF-Stärke (V1) und ^3H -TdR-Injektionszeitpunkt (V2) wurden als unabhängige Faktoren gewertet; die spezifische Expositionsbox (V4) und das Versuchstiergewicht (V3) stellten Kovarianten dar, und die Zellkernprojektionsfläche (V5), die korrigierte und normierte Silberkornzahl (V6) sowie die Zytoplasmadichte (V7) waren abhängige Variablen, welche einzeln

getestet wurden. Als statistisch signifikant wurde ein Effekt dann angesehen, wenn $p < 0,05$ vorlag.

In Folge wusste man zwar, ob wesentliche Mittelwertsdifferenzen zwischen den verschiedenen Versuchstiergruppen bestehen, nicht aber, welche Gruppen sich unterscheiden. Somit mussten im Anschluss, falls in der Varianzanalyse Signifikanzen gefunden wurden, Paarvergleiche über sogenannte post hoc t-Tests durchgeführt werden. Dabei wurde eine Bonferroni-Korrektur zur Berücksichtigung der bei multiplen Paarvergleichen auftretenden α -Fehler-Kumulierung, miteinbezogen. D.h. das Signifikanzniveau verkleinerte sich auf $\alpha = p/n$ (p = Signifikanzniveau der Varianzanalyse und n = Anzahl der Paarvergleiche). Durchgeführt wurden die t-Tests mit Hilfe des Computerprogramms GraphPadPrism (Version 3.00 für Windows, GraphPad Software, San Diego, California/USA). Schließlich erfolgten noch Regressionanalysen als Funktion der MF-Dosis (unter Einschluss von vergleichbaren Messwerten der Literatur), wobei das lineare und quadratische Regressionsmodell verwendet wurden. Diese Berechnungen erfolgten ebenfalls mit dem zuletzt genannten Computerprogramm, und es galt wiederum $p < 0,05$ als signifikant.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der histologischen Präparate

Die folgenden Abbildungen 3.1 bis 3.4 zeigen Ausschnitte der untersuchten Gehirn-Autoradiogramme nach achtwöchiger MF-Exposition. Sie entstanden im Rahmen der Auswertung mit Hilfe des Computerprogramms „Diskus“ (Fa. Carl H. Hilgers, Königswinter, Deutschland). Der Zellkern und bei den Plexusepithelzellen zusätzlich das Zytoplasma wurden manuell eingekreist und die zugehörige Fläche automatisch ausgemessen. Daraufhin summierte man, innerhalb dieser Flächen in allen darstellbaren Schärfeebenen, die vorhandenen Silberkörner. Es kamen kreisrunde, kleine, einzeln liegende Silberkörner ebenso vor wie zusammengelagerte, asymmetrische Silberkornkonglomerate. Hier wurde aufgrund der Form und Größe auf die Anzahl der einzelnen Körner Rückschluss gezogen. Da bei der Zytoplasmaflächenbestimmung der Plexusepithelzellen nicht immer eine eindeutige Plasmamembran erkennbar war, schuf man in diesen Fällen eine künstliche Grenze mittig zwischen zwei benachbarten Zellen. Dieses Vorgehen hat keinen Einfluss auf die Ergebnisse, da beim Zytoplasma nicht die absoluten Silberkornzahlen relevant sind, sondern die zugehörigen Silberkorndichten (d.h. absolute Silberkornzahl/Zytoplasmaprojektionsfläche).

Bei Abbildung 3.1 handelt es sich um einen Ausschnitt vom Plexusepithel des II. Ventrikels. Man erkennt, dass die Silberkornmarkierung fast ausschließlich über gewebehaltigen Arealen zu finden ist. Die gewebefreien Flächen sind nicht markiert. Präparate, bei denen die zellfreien Bereiche auch Markierungen aufwiesen, wurden von den Auswertungen ausgeschlossen, da man davon ausgehen kann, dass sie einen erhöhten Background aufweisen. Bei den Abbildungen 3.2 und 3.3 handelt es sich um charakteristische Ausschnitte von der Fascia dentata hippocampi und den Endothelzellen des Cortex. In Abbildung 3.4 befinden sich auf der rechten Bildhälfte drei stark markierte Plexusepithelzellen des II. Ventrikels. Hierbei handelt es sich um proliferierende Zellen in der S-Phase der Mitose. Da die intensive Markierung auch in die Bereiche der Nachbarzellen „ausstrahlt“, muss ein ausreichender Sicherheitsabstand (von zwei Nachbarzellen) zu diesen Zellen eingehalten werden.

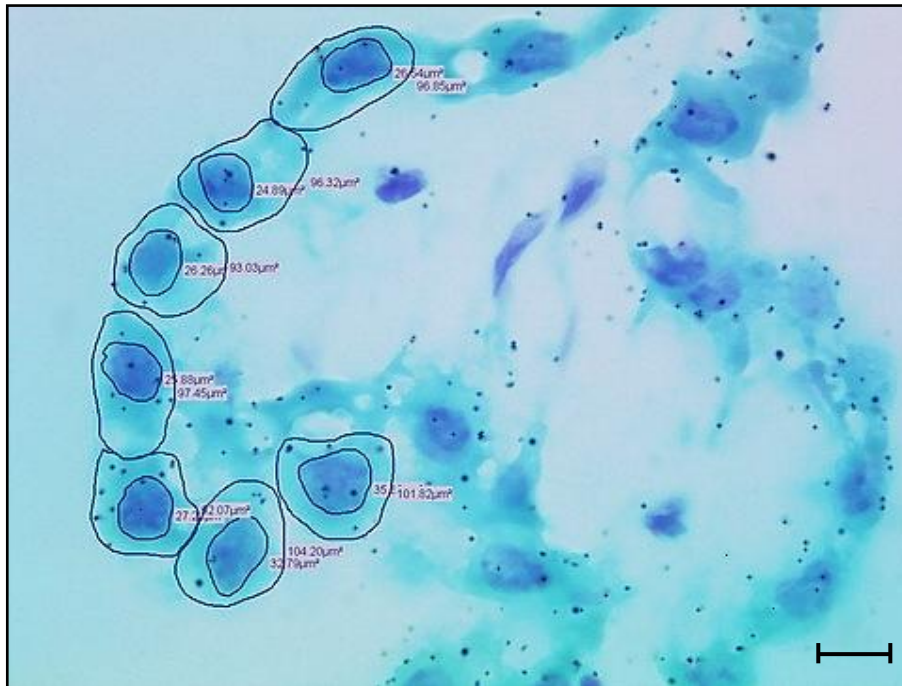


Abb. 3.1

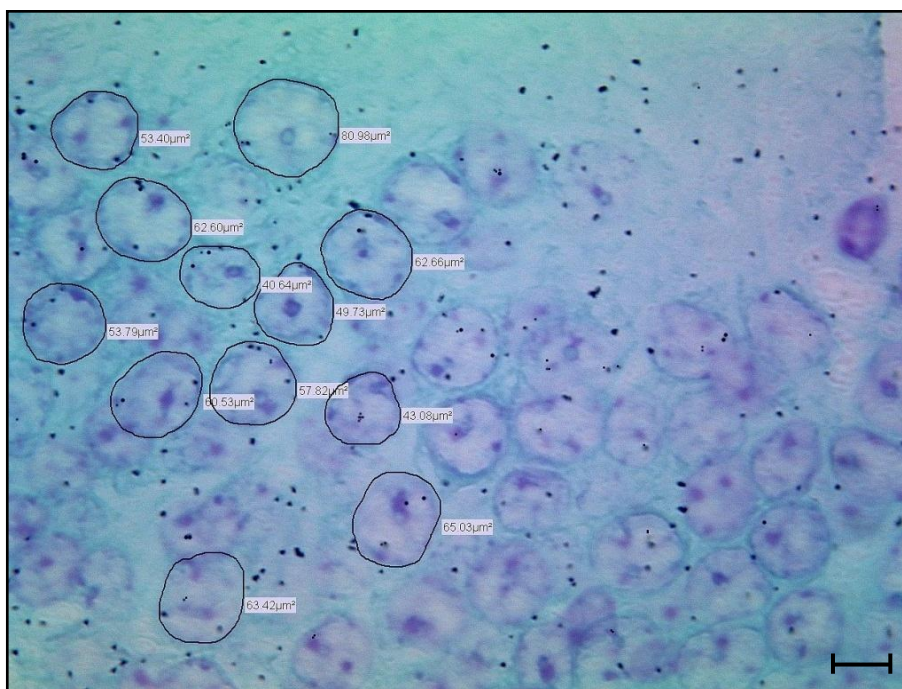


Abb. 3.2

Abb. 3.1 und 3.2 Autoradiogramme mit Ausschnitten vom Plexus choroideus des II. Ventrikels (3.1) und der Fascia dentata (3.2) einer Maus, die über 8 Wochen einem Magnetfeld (MF) von 1 mT ausgesetzt war und der 5 Minuten nach Abschaltung des MF ^3H -TdR injiziert wurde (Gruppe AI). Zur Flächenbestimmung wurden die Zellkerne und das Cytoplasma der Plexusepithelzellen (3.1) bzw. die Zellkerne der Granularzellen (3.2) abgegrenzt. Die Balkenlänge entspricht in allen Abbildungen (3.1-3.4) 10,5 µm. Belichtungszeit aller Autoradiogramme: 250 Tage

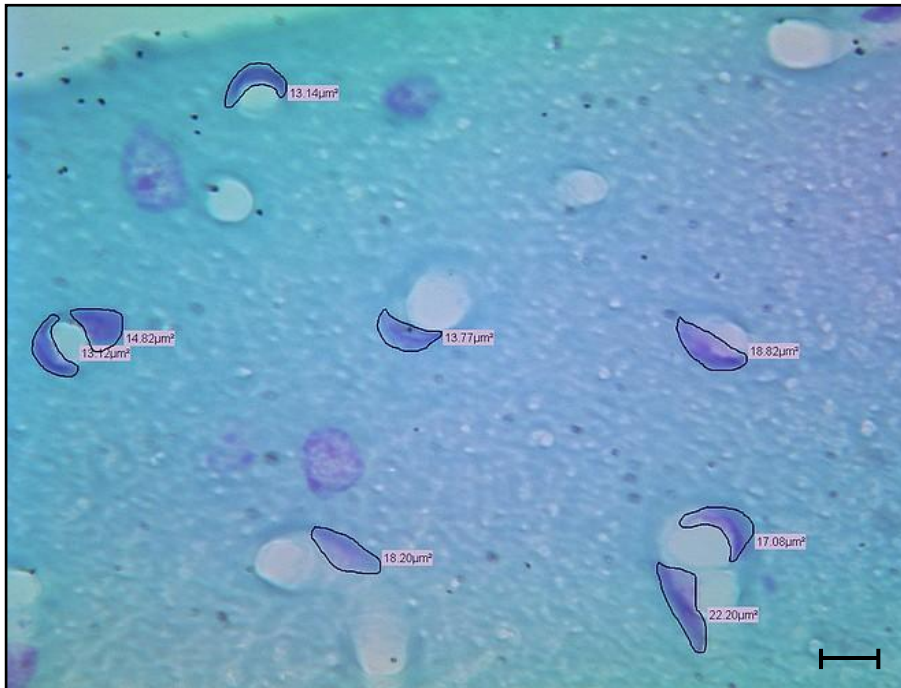


Abb. 3.3

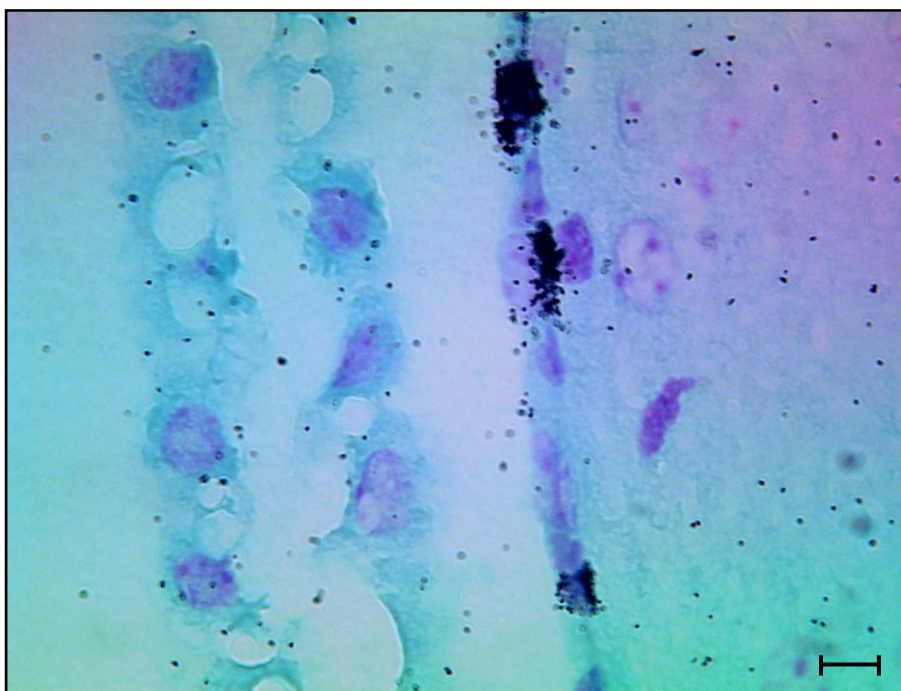


Abb. 3.4

Abb. 3.3 und 3.4 Autoradiogramme mit Ausschnitten aus dem Cortex (3.3) und dem II. Ventrikel mit angrenzendem Nucl. caudatus (3.4) einer Maus, die über 8 Wochen einem MF von 1 mT ausgesetzt war und der 5 Minuten nach Abschaltung des MF ^3H -TdR injiziert wurde (Gruppe AI). In Abb.3.4 sind an der Grenze zwischen Nucl. caudatus und II. Ventrikel drei proliferierende S-Phasezellen der subependymalen Schicht zu erkennen. Abbildungsmaßstab und autoradiographische Belichtungszeit wie Abb. 3.1 und 3.2.

3.2 Kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkörner

Im Folgenden wurden zur Veranschaulichung aller gesammelten Zählwerte zunächst die kumulativen Häufigkeiten der ermittelten Silberkornzahlen in graphischer Form dargestellt. Hierbei entspricht ein Diagramm der Zellkern- bzw. Zytoplasmamarkierung einer Zellart aus einer Versuchstiergruppe (VT-Gruppe) und ein einzelner farbig kodierter Graph einem einzelnen Versuchstier. Vergleicht man verschiedene Diagramme miteinander, so kann man Unterschiede der Markierungsintensität bzw. Streubreite zwischen den einzelnen VT-Gruppen einer Zellart oder zwischen den verschiedenen Zellarten feststellen.

Beim Vergleich der einzelnen Graphen innerhalb eines Diagramms lassen sich tierspezifische Abweichungen im Hinblick auf Links- oder Rechtsverschiebungen innerhalb einer VT-Gruppe erkennen. Diese führten in bestimmten Fällen (s.u.) zum Ausschluss dieses Tieres von den weiteren statistischen Auswertungen.

Da die Diagramme der Neurone aus der Fascia dentata hippocampi gewisse Parallelen zu jenen der Endothelzellen aufweisen, wurden die Beschreibungen für beide Zellarten in einem Abschnitt (s. 3.2.3) zusammengefasst. Die Auswertungen der Plexusepithelzellen von II. und IV. Ventrikel erfolgten aufgrund des erhöhten Umfangs in zwei Abschnitten (s. 3.2.1 und 3.2.2).

3.2.1 Plexus choroideus des Seitenventrikels

Die Abbildungen 3.6 und 3.7 zeigen jeweils sechs Diagramme der kumulativen Häufigkeiten der Silberkornzahl in den Plexusepithelzellen des II. Ventrikels. Die Abbildungen wurden entsprechend der untersuchten VT-Gruppen angeordnet. So wird es möglich, Zusammenhänge zwischen der Silberkornmarkierungen und dem Zeitpunkt der ^3H -TdR-Injektion (5 min, 24 h, 7 d nach Abschaltung des MF; entspricht A, B, C) zu erkennen. Gleichzeitig sind dadurch Unterschiede ersichtlich, die auf die drei verschiedenen MF-Expositions-Dosen (1 mT, 0,1 mT, 0 mT entspricht den Gruppen I, II, III) zurückzuführen sind.

Plexus choroideus Seitenventrikel (VT-Gruppen AI–AIII)

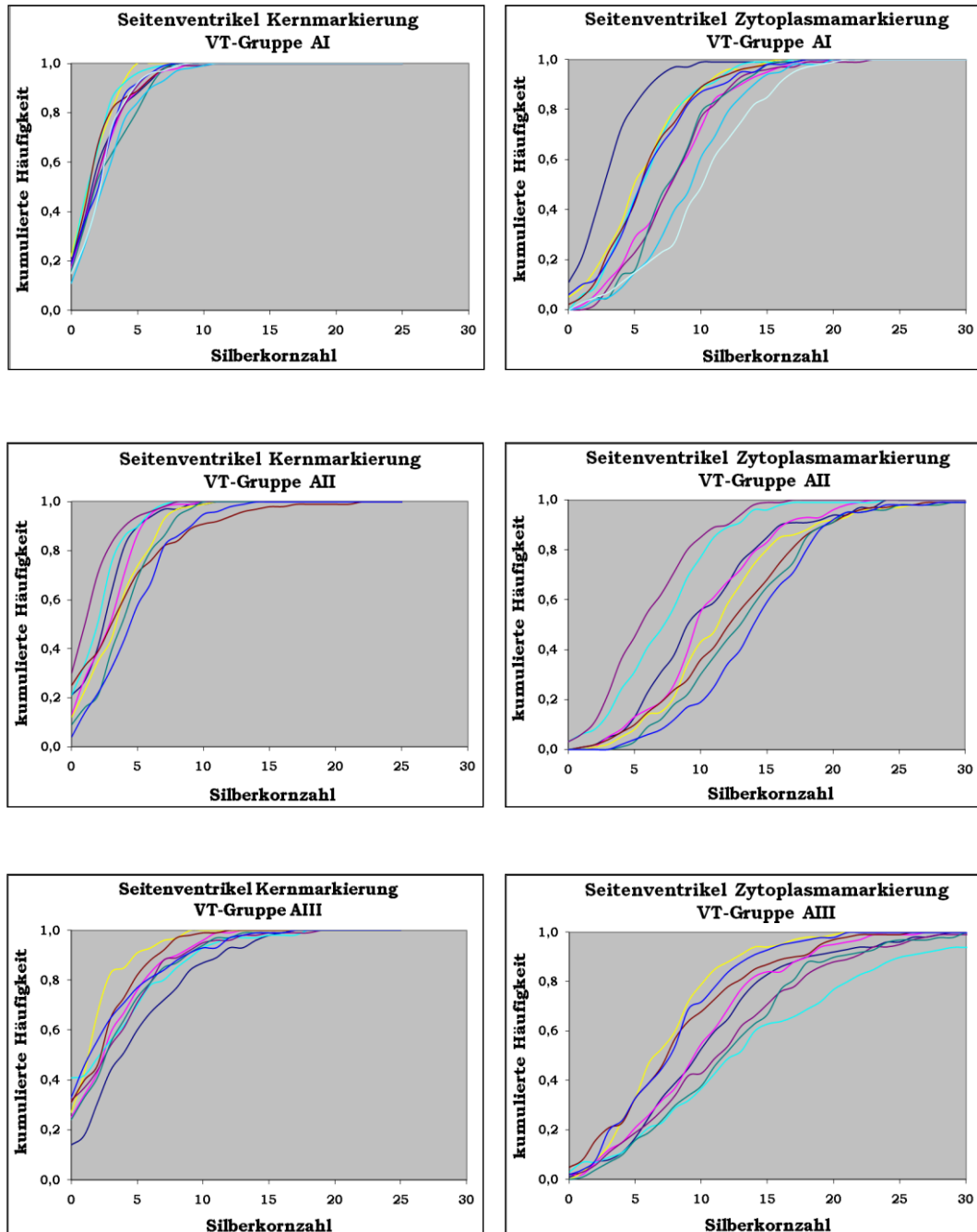


Abb. 3.6 Relative kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkornmarkierungen im Kern und Zytoplasma von Plexusepithelzellen des II. Ventrikels bei den Versuchstieren der Gruppen AI–AIII, d.h. die Injektion des ^3H -TdR fand 5 Minuten nach Abschaltung des MF statt.

I–III: Magnetfelddosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) bzw. 0 mT (III)

Plexus choroideus Seitenventrikel (VT-Gruppen BI/CI/CIII)

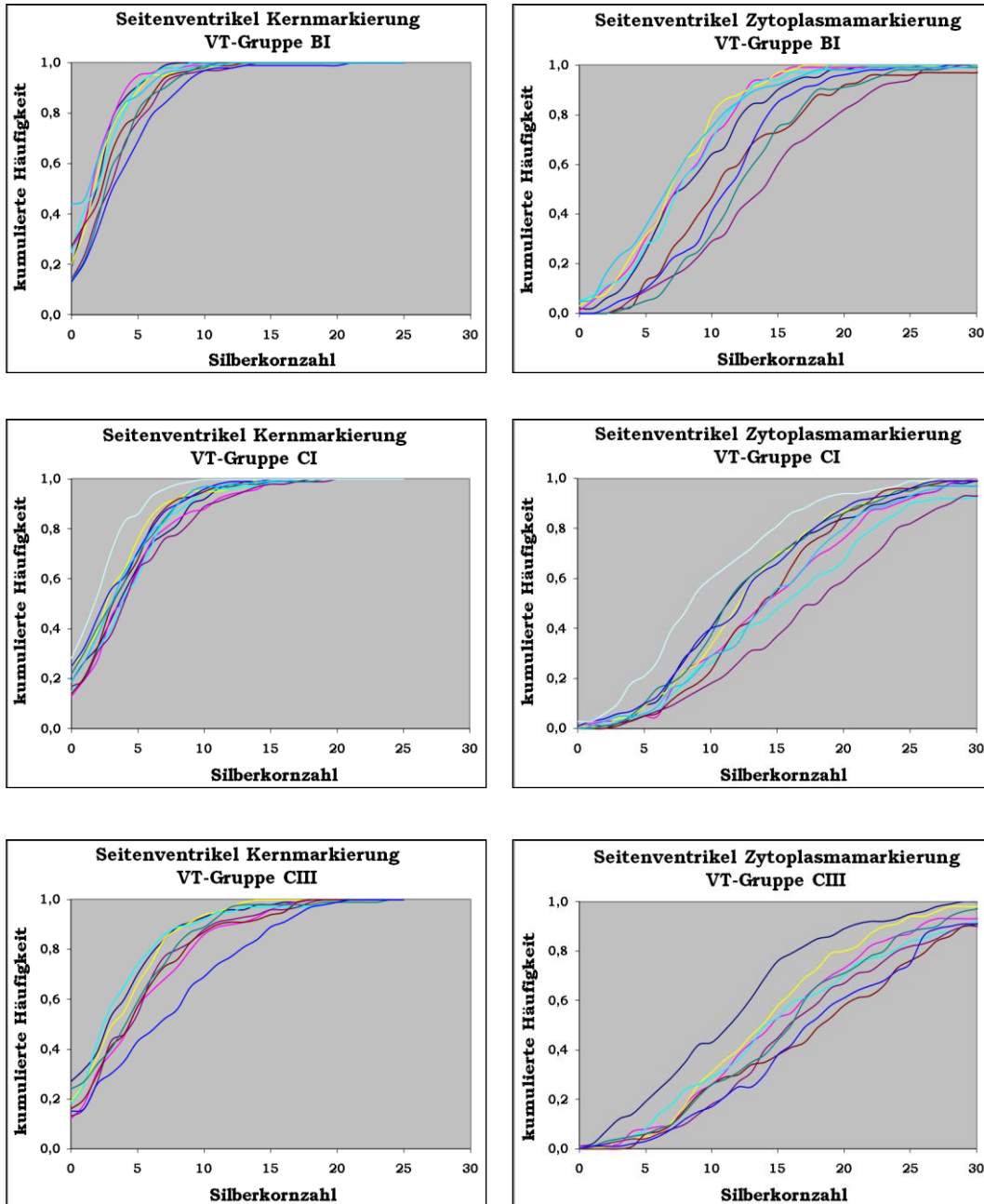


Abb. 3.7 Relative kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkornmarkierungen im Kern und Zytoplasma von Plexusepithelzellen des II. Ventrikels bei den Versuchstieren der Gruppen BI, CI und CIII, d.h. die Injektion des ^3H -TdR fand 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des MF statt.

I und III: Magnetfelddosis, d.h. 1 mT (I) bzw. 0 mT (III)

Insgesamt findet man bei allen VT-Gruppen links, also bei den Diagrammen der Kernmarkierung, enger beieinander liegende Graph-Verläufe als rechts. Dies bedeutet, dass die Streubreite (Variabilität der Silberkornmarkierung zwischen den Tieren) im Zytoplasma größer ist als im Kern. Desweiteren wurden bei allen Tieren mehr Silberkörner im Zytoplasma gefunden als im Kern, was man dadurch erkennt, dass die entsprechenden Diagramme eine stärkere Rechtsverschiebung aufweisen.

Betrachtet man zunächst Abb. 3.6, so ist im Verlauf der VT-Gruppen AI bis AIII eine Tendenz zu zunehmender Rechtsverschiebung mit abnehmender Expositionsdosis erkennbar. Das bedeutet, je geringer die MF-Dosis war, desto stärker ist die Silberkornmarkierung. Ähnliche Graph-Verläufe ergeben sich für die entsprechenden Zytoplasmaamarkierungen. Auch innerhalb von Gruppe C, d.h. bei Vergleich von CI mit CIII (Abb. 3.7), zeigt sich diese Tendenz, und zwar insbesondere bei den Graphen der Kernmarkierung.

Vergleicht man die VT-Gruppen bezüglich der unterschiedlichen Injektionszeitpunkte des ^3H -TdR, also A mit B bzw. C, so finden sich erneut Unterschiede im Kurvenverlauf: Bei den Tieren der Gruppe BI wurden mehr Silberkörner ermittelt als bei AI. Dies wird insbesondere bei den Diagrammen der Zytoplasmaamarkierung deutlich. Jene Rechtsverschiebung setzt sich auch bei Gruppe C verglichen mit B fort. Die Silberkornmarkierung wird also nicht nur mit sinkender Expositionsdosis geringgradig stärker, sondern auch mit Zunahme der Zeit zwischen Abschalten des MF und der Injektion des ^3H -TdR.

Betrachtet man abschließend die Diagramme im Einzelnen, so fällt auf, dass in einigen Fällen die Graphen einzelner Tiere einen von den anderen gruppenzugehörigen Tieren abweichenden Verlauf vorweisen (vgl. Abb. 3.7 VT-Gruppe CIII). Diese Abweichungen betreffen zumeist entweder das Zytoplasma oder den Zellkern und können somit nicht als Artefakt angesehen werden. Mögliche Erklärungen für diesen Sachverhalt befinden sich im Diskussionsteil (Kap. 4.1.3).

Plexus choroideus vierter Ventrikel (VT-Gruppen AI–AIII)

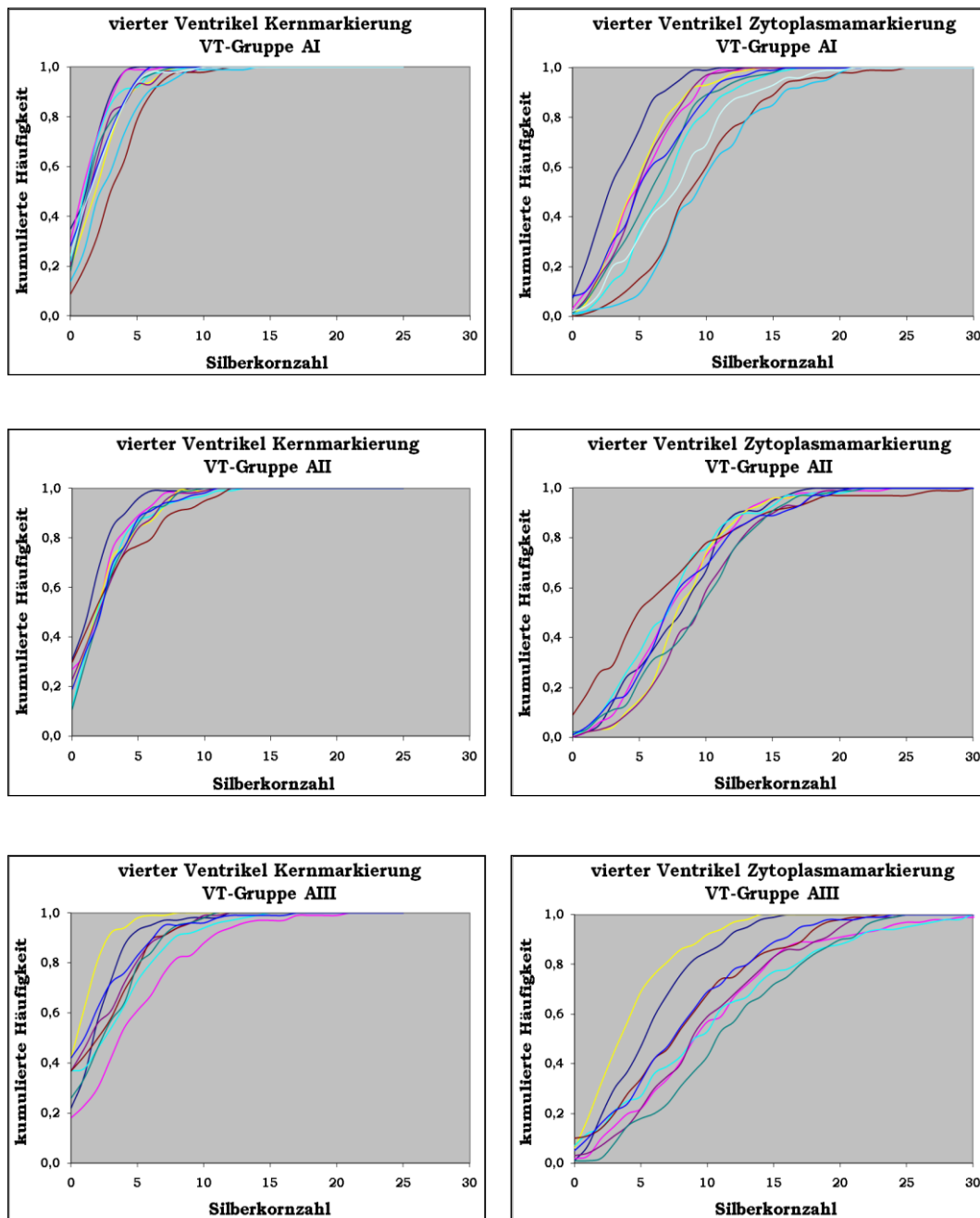


Abb. 3.8 Relative kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkornmarkierungen im Kern und Zytoplasma von Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels bei den Versuchstieren der Gruppen AI–AIII, d.h. die Injektion des ^3H -TdR fand 5 Minuten nach Abschaltung des MF statt.

I–III: Magnetfelddosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) bzw. 0 mT (III)

Plexus choroideus vierter Ventrikel (VT-Gruppen BI/CI/CIII)

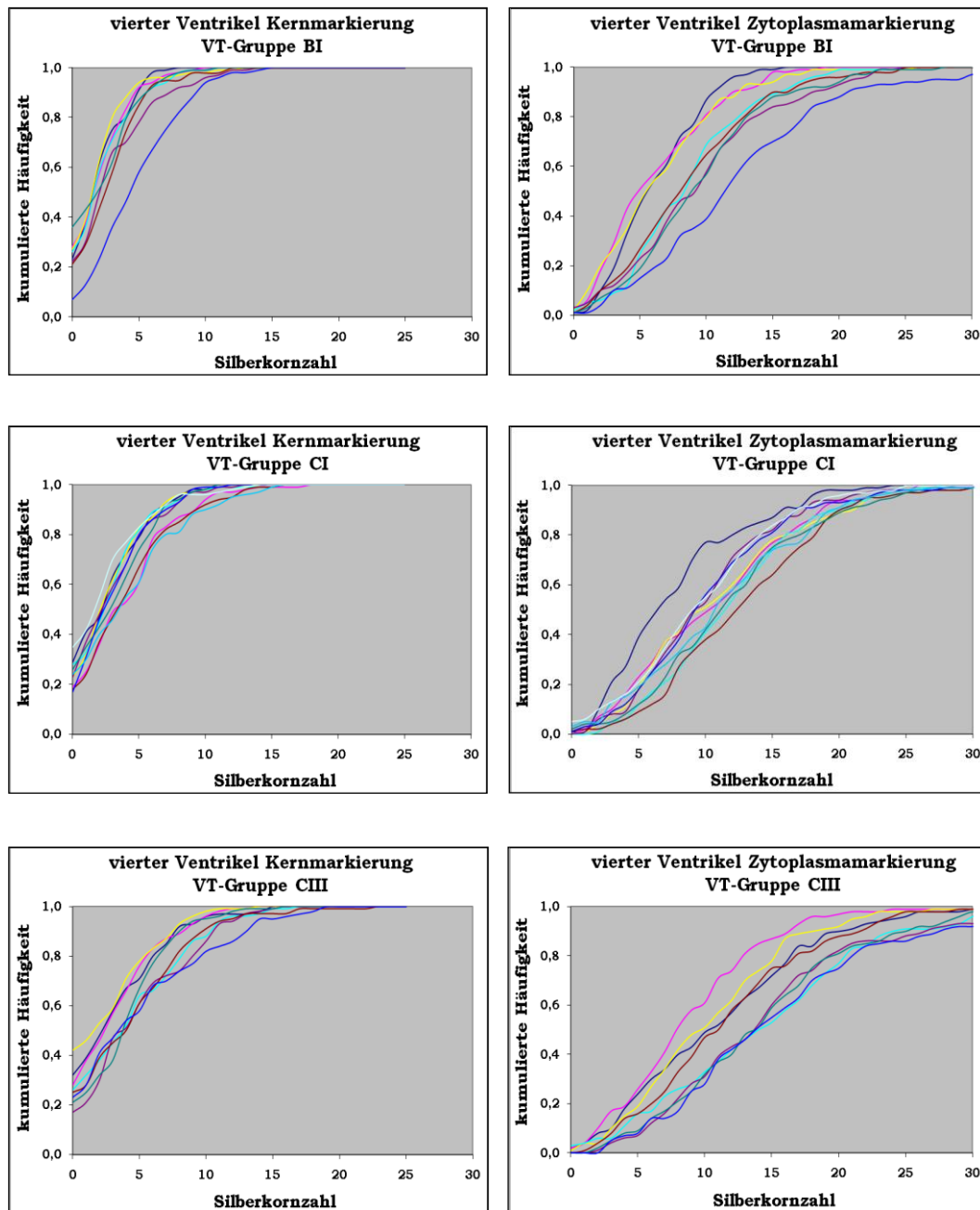


Abb. 3.9 Relative kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkornmarkierungen im Kern und Zytoplasma von Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels bei den Versuchstieren der Gruppen BI, CI und CIII, d.h. die Injektion des ^3H -TdR fand 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des MF statt.

I und III: Magnetfelddosis, d.h. 1 mT (I) bzw. 0 mT (III)

3.2.2 Plexus choroideus des vierten Ventrikels

Die Abbildungen 3.8 und 3.9 zeigen sechs Diagramme der kumulativen Häufigkeiten der Silberkornzahl für die Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels.

Grundsätzlich findet man zwischen den Diagrammen des II. Ventrikels und denen des IV. Ventrikels nur graduelle Unterschiede. Somit sind die Schlussfolgerungen aus Kap. 3.2.1 direkt auf den IV. Ventrikel übertragbar. Ebenso sind Abweichungen einzelner Versuchstiere vom Mittelwert innerhalb einer VT-Gruppe zumeist nur im Kern oder im Zytoplasma anzutreffen und dadurch nicht als artifiziell anzusehen. Einzig die Summationskurven von Versuchstier Nr. 40_03 (vgl. Abb. 3.8 AIII links und rechts gelber Graph) zeigen in beiden Fällen ungewöhnliche Linksverschiebungen, was vermutlich auf einen lokalen Fadingeffekt zurückzuführen ist und damit zum Ausschluss dieses Tieres von weiteren statistischen Berechnungen führte.

Fascia dentata hippocampi (VT-Gruppen AI-AIII/BI/CI/CIII)

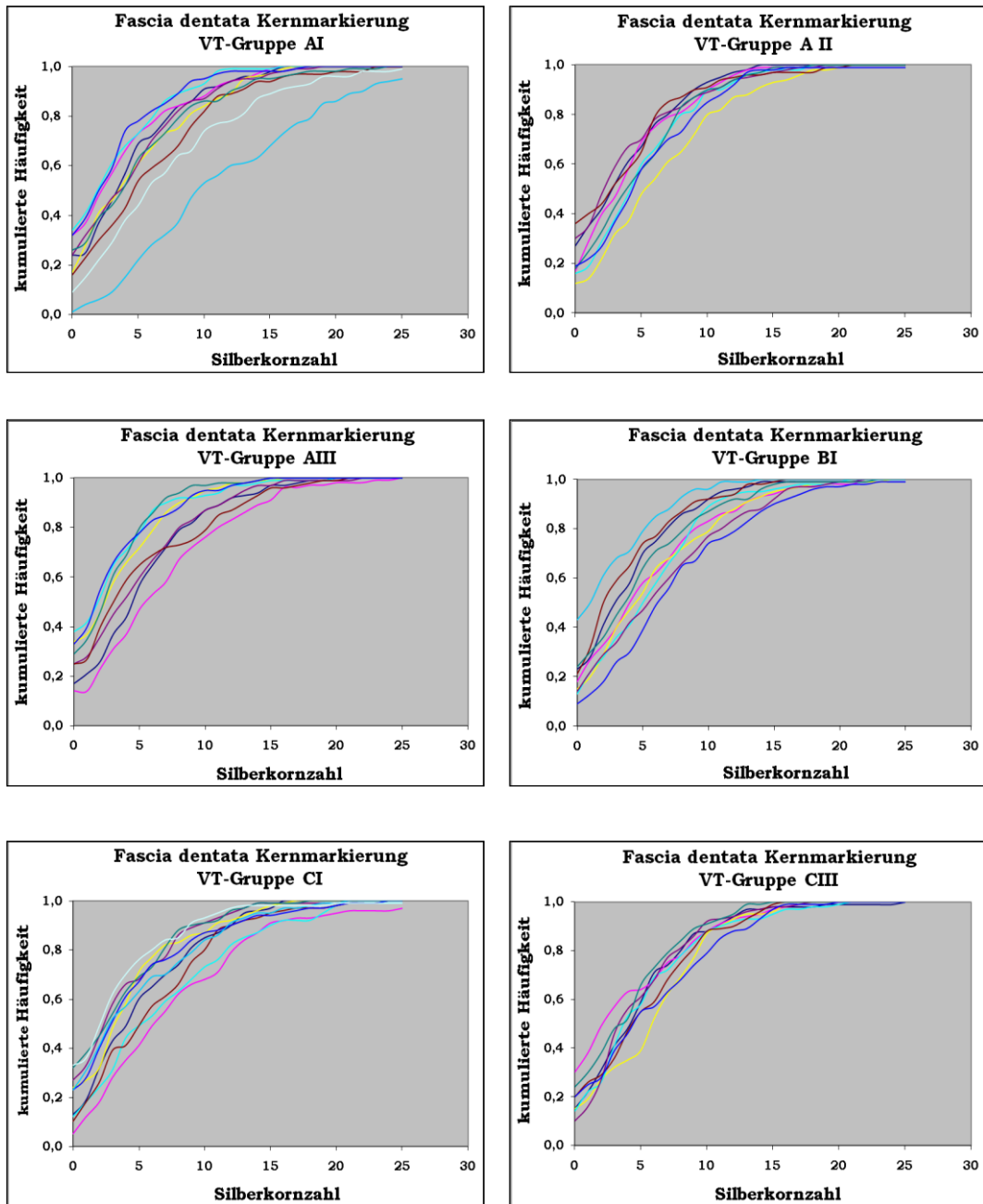


Abb. 3.10 Relative kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkornmarkierungen im Kern und Zytoplasma von Neuronen der Fascia dentata hippocampi bei den Versuchstieren der Gruppen AI-AIII, BI, CI und CIII, d.h. die Injektion des ^3H -TdR fand 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des MF statt.

I und III: Magnetfelddosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) bzw. 0 mT (III)

Endothelzellen Cortex (VT-Gruppen AI-AIII/BI/CI/CIII)

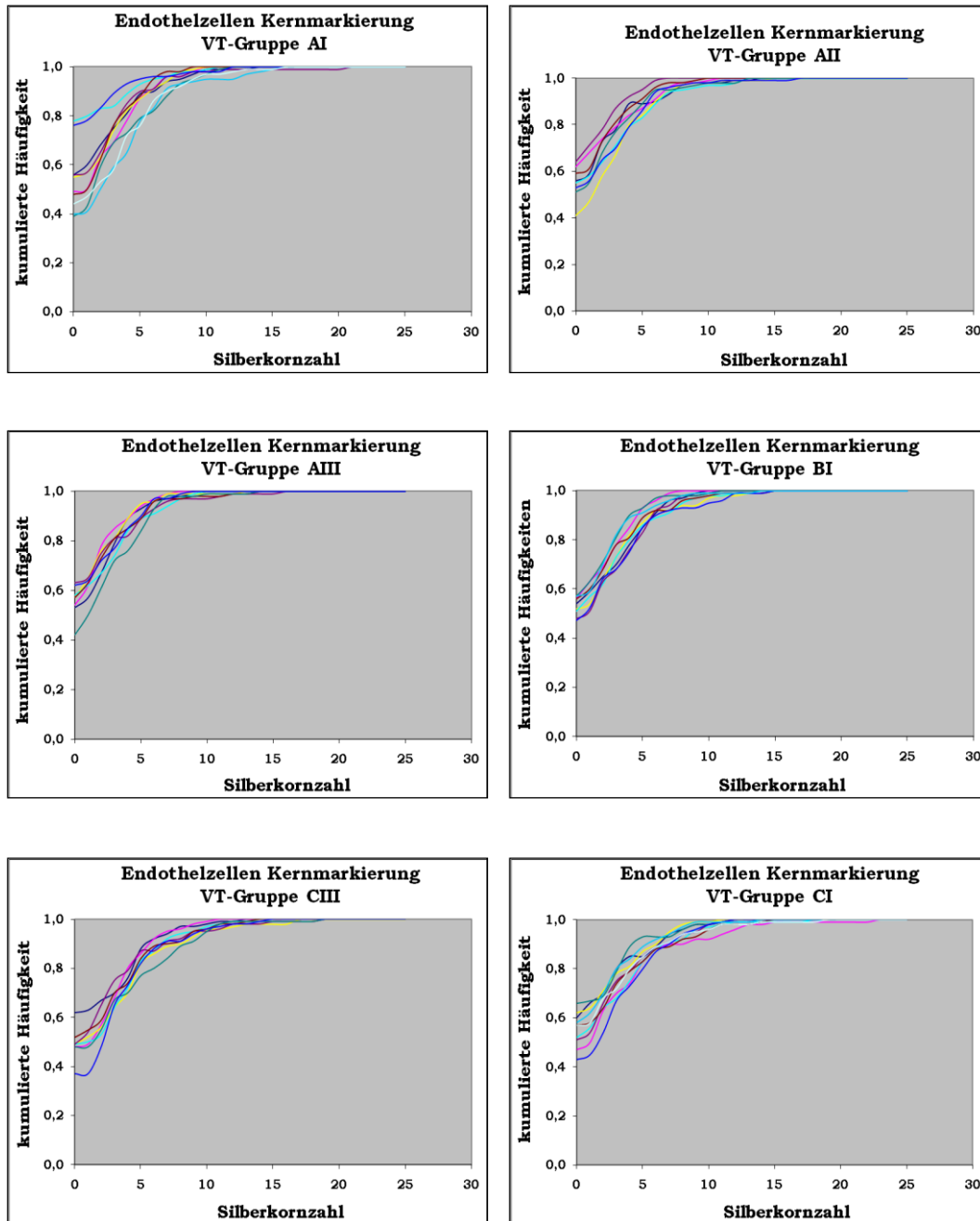


Abb. 3.11 Relative kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkornmarkierungen im Kern und Zytoplasma von Endothelzellen aus dem Cortex bei den Versuchstieren der Gruppen AI-AIII, BI, CI und CIII, d.h. die Injektion des ^3H -TdR fand 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des MF statt.

I und III: Magnetfelddosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) bzw. 0 mT (III)

3.2.3 Neurone der Fascia dentata hippocampi und Endothelzellen des Cortex

Die Abbildungen 3.10 und 3.11 zeigen jeweils sechs Diagramme der kumulativen Häufigkeiten der Silberkornzahl für die Neurone der Fascia dentata hippocampi und die Endothelzellen des Cortex. Es ist darauf hinzuweisen, dass bei beiden Zellarten nur die Kernmarkierung registriert wurde.

Grundsätzlich ähnelt der Kurvenverlauf der Neurone der Fascia dentata (vgl. Abb. 3.10) jenem der Zytoplasmamarkierungen der Plexusepithelzellen. Generell lassen sich im Vergleich der einzelnen VT-Gruppen aber keine offensichtlichen Links- oder Rechtsverschiebungen erkennen. Bei dieser Zellart ist also weder eine Korrelation zwischen der Silberkornmarkierungsintensität und der Stärke der MF-Expositions-Dosis noch eine Abhängigkeit vom Zeitpunkt der ^3H -TdR-Injektion zu erkennen. Bei Betrachtung der einzelnen Graphen fällt einzig eine ausgeprägte Rechtsverschiebung von Tier Nr. 26_03 (vgl. Abb. 3.10 AI blauer Graph) auf.

Auch für die Diagramme der Endothelzellen (vgl. Abb. 3.11) können keine Korrelationen zwischen Silberkornzahl und Injektionszeitpunkt oder MF-Dosis festgestellt werden. Die Ergebnisse aller VT-Gruppen führten zu ähnlichen kumulativen Häufigkeitsverteilungen. Ebenso kommen keine offensichtlichen Einzeltierabweichungen vor. Auffällig ist jedoch bei allen Tieren das gehäufte Auftreten von Zellen ohne Silberkornmarkierung (vgl. Abb. 3.11, Schnittpunkt der Graphen mit der y-Achse); deren Anteil liegt meist bei ca. 60 %. Aus diesem Grund und da keine adäquate Backgroundkorrektur durchgeführt werden konnte (vgl. Kap. 2.7.3), wurden die Ergebnisse der Endothelzellen von den weiteren statistischen Auswertungen ausgeschlossen.

3.3 Nulleffekt

Zur Veranschaulichung des Nulleffektes wurden fünf inaktive, d.h. nicht mit einer ^3H -TdR-Injektion versehene Tiere in den Auswertungen berücksichtigt. In jeder Expositionsbox befanden sich Objektträger mit zwei histologischen Schnitten dieser Tiere, um mögliche Erhöhungen des Backgrounds, zum Beispiel aufgrund von nicht ordnungsgemäßigem Verschluss der Boxen, ersichtlich zu machen.

Die zugehörigen Ergebnisse sowie die Tier-Charakteristika sind in den Tabellen 3.1-3.4 nach Zellarten geordnet dargestellt. Pro Zellart wurden, je nachdem aus wie vielen Expositionsboxen (ARG-Serie) die radioaktiv markierten Schnitte stammten, zwischen acht bis zwölf der inaktiven Kontrolltier-Autoradiogramme ausgewertet. Oftmals waren in einem histologischen Schnitt weniger als 100 Zellen einer Zellart zu finden, so dass beide Schnitte ausgewertet wurden (vgl. 2 VT-Nr. pro ARG-Serie).

Tab. 3.1 Messergebnisse und Charakteristika der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels von inaktiven Kontrolltieren

ARG-Serie	VT-Nr.	G(g)	KK	pk (0)	KF (μm^2)	KC	pk (0)	CF	D SK/ μm^2
T7	69_03 & 70_03	44 & 45	0,17	92	23,74	1,41	62	54,59	0,026
T16	69_03	44	0,09	94	29,29	0,52	77	59,82	0,009
T17	71_03 & 72_03	43 & 52	0,18	96	42,71	0,62	86	54,03	0,011
T18	67_03 & 68_03	47 & 44	0,66	81	39,91	1,56	63	57,28	0,027
T20	71_03 & 72_03	43 & 52	0,31	90	34,44	1,09	80	58,21	0,019
T21	67_03	47	0,15	95	47,04	1,22	76	62,92	0,019
T22	69_03 & 70_03	44 & 45	0,16	96	25,26	0,71	84	49,17	0,014
U4	67_03	47	0,21	93	37,56	0,8	83	57,77	0,014
U14	67_03 & 68_03	47 & 44	0,55	83	29,54	1,35	58	61,38	0,022
MW			0,28					MW	0,018

ARG-Serie: Nr. der Expositionsbox; die Buchstaben beziehen sich auf die Emulsions-Charge; **VT-Nr.:** Versuchstiernummer; **G:** Versuchstiergewicht; **KK:** Silberkörner über dem Zellkern, d.h. Mittelwert von 100 Zellen; **pk(0):** Anzahl von Zellkernen/Zytoplasmaprojektionsfläche ohne Silberkörner; **KF:** Zellkernprojektionsfläche; **KC:** Silberkörner über dem Zytoplasma (Mittelwert von 100 Zellen); **CF:** Zytoplasmaprojektionsfläche; **D:** Dichte, d.h. KC/CF

Tab. 3.2 Messergebnisse und Charakteristika der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels von inaktiven Kontrolltieren

ARG-Serie	VT-Nr.	G(g)	KK	pk (0)	KF (μm^2)	KC	pk (0)	CF	D SK/ μm^2
T6	67_03	47	0,17	96	34,59	0,81	82	57,15	0,014
T7	69_03 & 70_03	44 & 45	0,42	85	29,63	0,77	71	58,74	0,013
T16	69_03	44	0,08	95	28,20	0,66	73	56,00	0,012
T17	71_03 & 72_03	43 & 52	0,59	87	36,85	1,39	72	53,66	0,026
T18	67_03 & 68_03	47 & 44	0,13	97	35,01	0,56	91	51,61	0,011
T20	71_03 & 72_03	43 & 52	0,15	95	37,53	0,78	82	61,13	0,013
T21	67_03	47	0,26	93	41,19	0,71	79	59,68	0,012
T22	69_03 & 70_03	44 & 45	0,21	94	29,62	1,08	72	53,70	0,020
U2	69_03	44	0,30	89	27,90	0,65	74	51,72	0,013
U14	67_03 & 68_03	47 & 44	0,35	90	29,25	0,56	85	51,88	0,011
U16	71_03 & 72_03	43 & 52	0,42	88	38,28	0,77	76	57,05	0,013
U17	67_03 & 68_03	47 & 44	0,30	90	35,74	0,82	83	61,08	0,013
MW			0,28					MW	0,014

Legende s. Tab. 3.1

Tab. 3.3 Messergebnisse und Charakteristika der Neurone der Fascia dentata hippocampi von inaktiven Kontrolltieren

ARG-Serie	VT-Nr.	G(g)	KK	pk (0)	KF (μm^2)
T6	67_03	47	0,43	85	68,61
T7	69_03 & 70_03	44 & 45	0,51	83	64,83
T16	69_03	44	0,70	78	69,84
T17	71_03 & 72_03	43 & 52	0,50	89	70,37
T18	67_03 & 68_03	47 & 44	0,76	84	72,11
T20	71_03 & 72_03	43 & 52	0,45	88	70,26
T21	67_03	47	0,35	91	77,42
T22	69_03 & 70_03	44 & 45	0,35	90	71,13
U4	67_03	47	0,43	84	76,03
MW			0,50		

Legende s. Tab. 3.1

Tab. 3.4 Messergebnisse und Charakteristika der Endothelzellen des Cortex von inaktiven Kontrolltieren

ARG-Serie	VT-Nr.:	G(g)	KK	pk (0)	KF (μm^2)
T6	67_03	47	0,12	94	12,26
T7	69_03 & 70_03	44 & 45	0,34	87	12,54
T16	69_03	44	0,36	89	12,39
T17	71_03 & 72_03	43 & 52	0,36	93	11,78
T18	67_03 & 68_03	47 & 44	0,19	96	13,83
T21	67_03	47	0,22	92	12,74
T22	69_03 & 70_03	44 & 45	0,25	95	14,37
U4	67_03	47	0,15	94	11,94
		MW	0,25		

Legende s. Tab. 3.1

Im Allgemeinen sind die gefundenen Background-Werte als sehr gering einzustufen. So findet man über den Zellkernen der Plexusepithelien von II. und IV. Ventrikel in beiden Fällen im Mittel 0,28 Silberkörner/Zellkern. Noch geringer fiel die Silberkorndichte des Zytoplasmas mit 0,018 bzw. 0,014 Körner/ μm^2 aus. Bei der Fascia dentata und den Endothelzellen betrug die unspezifisch entstandene Markierung mittelwertig 0,5 bzw. 0,25 Körner/Zellkern. Auch bei Betrachtung der einzelnen Werte einer Zellart zeigten sich keine auffälligen Abweichungen. Infolgedessen sind Fehler im Herstellungsprozeß der Autoradiogramme weitestgehend auszuschließen.

3.4 Messwerte und deren Streubreite

Die Tabellen im Anhang bieten einen Überblick über alle relevanten Charakteristika der Versuchstiere (Gewicht und jeweilige Expositionsgruppe) sowie die ermittelten bzw. errechneten Ergebnisse (korrigierte & normierte Silberkornzahl über dem Zellkern bzw. Silberkorndichte des Zytoplasmas). Tiere, deren Werte gelb hinterlegt sind, wurden bei den weiteren statistischen Analysen nicht berücksichtigt, da bei ihnen keine korrekte Backgroundkorrektur durchgeführt werden konnte (vgl. Kap. 2.7.2).

Generell sind vergleichende Aussagen über Abweichungen und Auffälligkeiten der verschiedenen Versuchstiere bzw. VT-Gruppen, lediglich auf Basis dieser Tabellen, allerdings nicht möglich. Zu diesem Zweck wurden die Ergebnisse statistisch mittels Univarianzanalysen und post hoc t-Tests genauer untersucht.

Bei der einfaktoriellen Varianzanalyse („generalized linear model“) wird geprüft, ob einzelne Faktoren (Bestrahlungsdosis, Tiergewicht, Injektionszeitpunkt etc.) einen signifikanten Einfluss auf die Markierungsintensität von Zellkern, Zytoplasma oder die Größe der Zellkernprojektionsfläche ausgeübt haben. Als statistisch signifikant wurde ein Effekt dann angesehen, wenn $p < 0,05$ vorlag.

Falls signifikante Unterschiede zwischen den VT-Gruppen nachweisbar waren, schlossen sich post hoc t-Tests an, um herauszufinden, bei welchen Tiergruppen diese Effekte auftreten.

3.4.1 Zellkernmarkierung und Zellkernprojektionsflächen der Plexusepithelzellen des Seitenventrikels

Tabelle 3.5 gibt eine Übersicht der Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse für die Zellkerne der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels. Untersucht wurden die Mittelwerte der Zellkernprojektionsflächen und der normierten Silberkornzahlen (Dependent Variable). Es ergaben sich in beiden Fällen signifikante Mittelwertdifferenzen, und zwar bei der Silberkornzahl bzgl. der unterschiedlichen MF-Dosen und dem Produkt aus Zeitpunkt mal Dosis und bei der Zellkernprojektionsfläche bzgl. der verschiedenen Injektionszeitpunkte und ebenfalls dem Produkt aus Zeitpunkt mal Dosis (s. Markierung in Tab. 3.5).

Tab. 3.5 Einfaktorielle Varianzanalyse zur Ermittlung von signifikanten Mittelwertdifferenzen bei den Ergebnissen des Zellkerns der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

Dependent Variable: KKnorm.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	196,201(a)	7	28,029	13,513	,000
Intercept	140,168	1	140,168	67,578	,000
Gewicht	1,961	1	1,961	,946	,337
ARGSerie	2,037	1	2,037	,982	,328
Zeitpunkt	5,631	2	2,815	1,357	,270
Dosis	86,866	2	43,433	20,940	,000
Zeitpunkt * Dosis	28,462	1	28,462	13,722	,001
Error	76,743	37	2,074		
Total	13871,057	45			
Corrected Total	272,944	44			

a R Squared = ,719 (Adjusted R Squared = ,666)

Dependent Variable: KF(μm^2)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	165,213(a)	7	23,602	3,121	,011
Intercept	472,236	1	472,236	62,447	,000
Gewicht	2,355	1	2,355	,311	,580
ARGSerie	2,686	1	2,686	,355	,555
Zeitpunkt	60,141	2	30,071	3,976	,027
Dosis	7,541	2	3,771	,499	,611
Zeitpunkt * Dosis	64,723	1	64,723	8,559	,006
Error	279,801	37	7,562		
Total	44673,080	45			
Corrected Total	445,014	44			

a R Squared = ,371 (Adjusted R Squared = ,252)

Zeitpunkt: ^3H -TdR-Injektionszeitpunkt (VT-Gruppe A/B/C)

Dosis: Bestrahlungsdosis, d.h. 1mT (I), 0,1 mT (0,1) oder 0 mT (III).

Die englischen Begriffe wurden der SPSS-Berechnung entnommen und dienen lediglich der Vervollständigung.

Der im Anschluss durchgeführte post hoc t-Test (vgl. Tab. 3.6) bestätigt diese Signifikanzen insbesondere für die Silberkornzahlen des Zellkerns. Hier unterscheiden sich mehrere Gruppen deutlich voneinander.

Tab. 3.6 Post-hoc t-Tests zum paarweisen Vergleich der VT-Gruppen für die Zellkerne der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

Vergleichsgruppen	Zellkern: KK norm.		Kernfläche: KF	
	Mittelwert	p	Mittelwert	p
A I	14.44 ± 0.4062 N=9	0,0068	28.35 ± 1.519 N=9	0,1672
A II	16.83 ± 0.6801 N=7		31.09 ± 0.8464 N=7	
A I	14.44 ± 0.4062 N=9	< 0.0001	28.35 ± 1.519 N=9	0,0982
A III	20.34 ± 0.7189 N=7		31.55 ± 0.5850 N=7	
A I	14.44 ± 0.4062 N=9	0,1233	28.35 ± 1.519 N=9	0,2911
B I	15.60 ± 0.4828 N=4		31.07 ± 1.193 N=4	
A I	14.44 ± 0.4062 N=9	< 0.0001	28.35 ± 1.519 N=9	0,0018
C I	17.32 ± 0.3043 N=10		34.13 ± 0.5978 N=10	
A I	14.44 ± 0.4062 N=9	< 0.0001	28.35 ± 1.519 N=9	0,095
C III	19.57 ± 0.5393 N=8		31.44 ± 0.6765 N=8	
A II	16.83 ± 0.6801 N=7	0,004	31.09 ± 0.8464 N=7	0,6647
A III	20.34 ± 0.7189 N=7		31.55 ± 0.5850 N=7	
A II	16.83 ± 0.6801 N=7	0,2425	31.09 ± 0.8464 N=7	0,9842
B I	15.60 ± 0.4828 N=4		31.07 ± 1.193 N=4	
A II	16.83 ± 0.6801 N=7	0,471	31.09 ± 0.8464 N=7	0,0085
C I	17.32 ± 0.3043 N=10		34.13 ± 0.5978 N=10	
A II	16.83 ± 0.6801 N=7	0,0071	31.09 ± 0.8464 N=7	0,7512
C III	19.57 ± 0.5393 N=8		31.44 ± 0.6765 N=8	
A III	20.34 ± 0.7189 N=7	0,0013	31.55 ± 0.5850 N=7	0,6877
B I	15.60 ± 0.4828 N=4		31.07 ± 1.193 N=4	
A III	20.34 ± 0.7189 N=7	0,0006	31.55 ± 0.5850 N=7	0,0095
C I	17.32 ± 0.3043 N=10		34.13 ± 0.5978 N=10	
A III	20.34 ± 0.7189 N=7	0,3969	31.55 ± 0.5850 N=7	0,9053
C III	19.57 ± 0.5393 N=8		31.44 ± 0.6765 N=8	
B I	15.60 ± 0.4828 N=4	0,0104	31.07 ± 1.193 N=4	0,025
C I	17.32 ± 0.3043 N=10		34.13 ± 0.5978 N=10	
B I	15.60 ± 0.4828 N=4	0,0008	31.07 ± 1.193 N=4	0,7723
C III	19.57 ± 0.5393 N=8		31.44 ± 0.6765 N=8	
C I	17.32 ± 0.3043 N=10	0,0015	34.13 ± 0.5978 N=10	0,0088
C III	19.57 ± 0.5393 N=8		31.44 ± 0.6765 N=8	

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes. **I-III:** Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III). Das Signifikanzniveau lag infolge einer Bonferroni-Korrektur bei $\alpha = 0,05/15 = 0,0033$. Signifikante Werte sind gelb hinterlegt.

Betrachtet man alle VT-Gruppen im Überblick, so fällt auf, dass die höchste Markierungsintensität in den Gruppen ohne MF-Bestrahlung (vgl. AIII und CIII: KK norm. = 20.34 ± 0.7189 und 19.57 ± 0.5393) erreicht wurde. Bei den Tieren, welche die höchste MF-Dosis von 1 mT erhalten hatten, findet man deutlich geringere Silberkornzahlen (vgl. AI/BI/CI: KK norm. = $14.44/15.60$ und 17.32). Ein ähnlicher Wert wurde bei mittlerer MF-Dosis von 0,1 mT ermittelt (vgl. AII: KK norm. = 16.83). Statistisch gesicherte Unterschiede gab es immer dann, wenn Versuchstiere ohne Bestrahlung (III) mit solchen verglichen wurden, die die maximale MF-Dosis erhalten hatten (I). Als Ausnahme hiervon ist die Signifikanz bei AI vs. CI anzusehen. Bei gleicher MF-Dosis von 1 mT fand man bei den Tieren, die nach 7 Tage getötet wurden (CI) deutlich mehr Silberkörner als bei denen, die die ^3H -TdR-Injektion 5 Minuten nach MF-Abschaltung erhalten hatten (AI).

Bei den post hoc t-Tests für die Kernflächen wurde nur eine Signifikanz gefunden. D.h. man fand bei den verschiedenen VT-Gruppen bis auf eine Ausnahme ähnliche Zellkernprojektionsflächen. Einzig bei den Tieren von CI wurden im Vergleich zu jenen von AI deutlich größere Flächen gefunden (vgl. AI vs. CI: $28,35$ & $34,13$; $p = 0,0018$).

Damit ergeben sich in Kurzform insgesamt folgende Zusammenhänge:
Vergleich der Gruppen bzgl. KK norm.: AIII/CIII > AI/BI/CI und CI > AI
Vergleich der Gruppen bzgl. KF: CI > AI

In den Tabellen 3.7 und 3.8 wurden die Streubreiten (d.h. Standardabweichungen als Prozentwerte der zugehörigen Mittelwerte) der normierten Silberkornzahlen und der Zellkernprojektionsflächen für die Plexusepithelzellen des II. Ventrikels dargestellt. Die Anordnung erfolgte gruppenspezifisch.

Generell unterscheiden sich die verschiedenen Streubreiten sowohl bei der Kernmarkierung als auch bei den Kernflächen nur geringgradig. So findet man bzgl. der Kernmarkierung relative Standardabweichungen von 5,27 bis 9,90 % und bei der Kernfläche von 4,54 bis 15,15 %. Die mittlere relative Standardabweichung aller Tiere beträgt bzgl. der Silberkornzahl über dem Kern 7,41% und bzgl. der Kernfläche 7,33 %. Die interindividuellen Schwankungen sind somit bei beiden Messwerten nahezu

identisch. Um mögliche Zusammenhänge zwischen der Streubreite und der MF-Dosis zu erkennen, wurden im Folgenden Mittelwerte für die mit gleicher Dosis exponierten Tiere berechnet (AI, BI, CI). Die mittleren Streubreiten betragen für die Silberkornmarkierung 6,2 % und für die Kernfläche 9,2 %. Der entsprechende Mittelwert der unexponierten VT-Gruppen (AIII und CIII) beträgt im Vergleich dazu 8,0 % und 5,1 %.

Betrachtet man zunächst die Streubreiten der Kernmarkierung im Einzelnen, so fällt auf, dass die Werte von AI und CIII nahezu identisch sind und annähernd mit dem Gesamtdurchschnitt übereinstimmen. Die Tiere der Gruppen BI und CI wiesen die geringsten interindividuellen Schwankungen auf, aber AII sowie AIII die stärksten. Bzgl. der Kernflächenstreubreiten wies AI einen ca. dreifach höheren Wert als die übrigen VT-Gruppen auf.

Generell sind sowohl bei der Silberkornmarkierung als auch bei den Zellkernprojektionsflächen keine klaren Zusammenhänge zwischen dem Ausmaß der interindividuellen Schwankungen und der MF-Stärke zu erkennen.

Tab. 3.7 Streubreiten der normierten Silberkornzahlen für die Zellkerne der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

Streubreiten für KKnorm. beim Seitenventrikel						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	14,44	16,83	20,34	15,60	17,32	19,57
Maximum	16,47	20,68	24,21	16,51	18,72	22,22
Minimum	12,87	15,47	18,78	14,28	15,43	17,80
S_D abs.	1,15	1,67	1,76	0,84	0,91	1,43
S_D (%)	7,96	9,90	8,66	5,36	5,27	7,29

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Mittelwert: Durchschnittswert in der entsprechenden Tiergruppe

Maximum: höchster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

Minimum: kleinster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

SD abs.: absolute Standardabweichung vom Mittelwert

SD (%): relative Standardabweichung = SD abs. / Mittelwert x 100

Tab. 3.8 Streubreiten der Zellkernprojektionsflächen für die Zellkerne der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

Streubreiten für Kernflächen beim Seitenventrikel						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	28,35	31,09	31,55	31,07	34,13	31,44
Maximum	37,96	34,38	34,17	33,39	37,33	34,58
Minimum	22,86	27,67	29,87	28,58	31,31	29,00
SD abs.	4,30	2,07	1,43	2,06	1,79	1,79
SD (%)	15,15	6,67	4,54	6,65	5,25	5,69

Legende s. Tab. 3.7

3.4.2 Zytoplasmamarkierung der Plexusepithelzellen des Seitenventrikels

Zum Vergleich der Zytoplasmamarkierungen der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels verwendete man die zytoplasmatischen Silberkorndichten. Somit wurden die korrigierten Silberkornwerte des Zytoplasmas unter Berücksichtigung des zellartspezifischen $^3\text{H-TdR-}\beta$ -Selbstabsorptions-Koeffizienten (KK korr. $\times$ $^3\text{H-}\beta$) in Bezug zur jeweiligen Zytoplasmafläche gesetzt. Die gruppenspezifischen Mittelwerte der Silberkorndichte wurden wiederum mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse auf signifikante Differenzen hin untersucht (siehe Tab. 3.9). Es gab zwischen den untersuchten VT-Gruppen eindeutige Differenzen bzgl. der unterschiedlichen $^3\text{H-TdR}$ -Injektionszeitpunkte und der verschiedenen MF-Dosen.

Tab. 3.9 Einfaktorielle Varianzanalyse zur Ermittlung von signifikanten Mittelwertdifferenzen bei den Ergebnissen für das Zytoplasma der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

Dependent Variable: Dkor.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,115(a)	7	,016	7,866	,000
Intercept	,025	1	,025	12,079	,001
Gewicht	,000	1	,000	,049	,826
ARGSerie	,000	1	,000	,108	,744
Zeitpunkt	,041	2	,020	9,751	,000
Dosis	,041	2	,020	9,785	,000
Zeitpunkt * Dosis	,001	1	,001	,401	,531
Error	,077	37	,002		
Total	2,617	45			
Corrected Total	,191	44			

a R Squared = ,598 (Adjusted R Squared = ,522)

Zeitpunkt: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt (VT-Gruppe A/B/C)

Dosis: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (0,1) oder 0 mT (III).

Die englischen Begriffe wurden der SPSS-Berechnung entnommen und dienen lediglich der Vervollständigung.

Zur Konkretisierung der Gruppendifferenzen schloss sich erneut ein paarweiser post hoc t-Test an. Dieser bestätigte die Ergebnisse der Varianzanalyse (s. Tab. 3.10), wobei im Vergleich zu den entsprechenden Daten des Zellkerns deutlich weniger relevante Mittelwertunterschiede gefunden wurden.

Betrachtet man die Mittelwerte der Silberkorndichte im Überblick, so fällt auf, dass in den Gruppen CI, BI, AII und AIII sehr ähnliche Werte ermittelt wurden, die im Bereich von 0,2352 Silberkörner/ μm^2 lagen. AI und CIII wiesen im Vergleich dazu stark differierende Silberkorndichten auf. Ähnlich wie bei den Silberkornmarkierungen des Zellkerns wurde der geringste Werte bei AI (0,1485) und der höchste Wert bei CIII (0,3098) erreicht.

Statistisch gesichert ergaben sich in Kurzform folgende Zusammenhänge: Vergleich der Gruppen bzgl. D kor.: AII/CI/CIII > AI

Tab. 3.10 Post-hoc t-Tests zum paarweisen Vergleich der VT-Gruppen für die Zytoplasmamarkierung der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

Vergleichsgruppen	Zytoplasma: D korr.	
	Mittelwert	P
A I	0.1485 ± 0.01575 N=9	0,0022
A II	0.2295 ± 0.01378 N=7	
A I	0.1485 ± 0.01575 N=9	0,0038
A III	0.2284 ± 0.01651 N=7	
A I	0.1485 ± 0.01575 N=9	0,0063
B I	0.2337 ± 0.01159 N=4	
A I	0.1485 ± 0.01575 N=9	0,0002
C I	0.2491 ± 0.01365 N=10	
A I	0.1485 ± 0.01575 N=9	< 0.0001
C III	0.3098 ± 0.01962 N=8	
A II	0.2295 ± 0.01378 N=7	0,9614
A III	0.2284 ± 0.01651 N=7	
A II	0.2295 ± 0.01378 N=7	0,8407
B I	0.2337 ± 0.01159 N=4	
A II	0.2295 ± 0.01378 N=7	0,343
C I	0.2491 ± 0.01365 N=10	
A II	0.2295 ± 0.01378 N=7	0,0063
C III	0.3098 ± 0.01962 N=8	
A III	0.2284 ± 0.01651 N=7	0,8294
B I	0.2337 ± 0.01159 N=4	
A III	0.2284 ± 0.01651 N=7	0,3489
C I	0.2491 ± 0.01365 N=10	
A III	0.2284 ± 0.01651 N=7	0,0081
C III	0.3098 ± 0.01962 N=8	
B I	0.2337 ± 0.01159 N=4	0,5194
C I	0.2491 ± 0.01365 N=10	
B I	0.2337 ± 0.01159 N=4	0,0274
C III	0.3098 ± 0.01962 N=8	
C I	0.2491 ± 0.01365 N=10	0,0188
C III	0.3098 ± 0.01962 N=8	

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Das Signifikanzniveau lag infolge der Bonferroni-Korrektur bei $\alpha = 0,05/15 = 0,0033$.

In Tabelle 3.11 sind die Streubreiten der korrigierten Silberkorndichte des Zytoplasmas für die Plexusepithelzellen des Seitenventrikels dargestellt. Man findet relative Standardabweichungen von 8,59 % (BI) bis 30,00 % (AI).

Die mittlere Standardabweichung der magnetfeldexponierten VT-Gruppen (AI, BI und CI) beträgt 18,3 % und die der nicht-exponierten Gruppen (AIII und CIII) 17,2 %.

Es ist somit erneut keine Zusammenhänge zwischen der Höhe der interindividuellen Schwankungen und der Stärke des verwendeten Magnetfeldes nachweisbar.

Tab. 3.11 Streubreiten der korrigierten Silberkorndichten des Zytoplasmas der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels (unter Berücksichtigung der β -Selbstabsorption)

Streubreiten für D _{korrr.} beim Seitenventrikel						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	0,1485	0,2295	0,2284	0,2337	0,2491	0,3098
Maximum	0,2281	0,2757	0,2939	0,2625	0,3341	0,3738
Minimum	0,0719	0,1743	0,1585	0,2100	0,1986	0,2178
S_D abs.	0,04	0,03	0,04	0,02	0,04	0,05
S_D (%)	30,00	14,71	17,70	8,59	16,44	16,76

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Mittelwert: Durchschnittswert in der entsprechenden Tiergruppe

Maximum: höchster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

Minimum: kleinster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

SD abs.: absolute Standardabweichung vom Mittelwert

SD (%): relative Standardabweichung = SD abs. / Mittelwert x 100

3.4.3 Zellkernmarkierung und Zellkernprojektionsflächen der Plexusepithelzellen des vierten Ventrikels

Auch für die Untersuchungsergebnisse des IV. Ventrikels wurde zunächst eine einfaktorielle Varianzanalyse durchgeführt. In Tabelle 3.12 ist diese für die normierten Silberkornzahlen des Zellkerns und die Mittelwerte der Kernflächen dargestellt. Erneut findet man in beiden Fällen signifikante Effekte. Bei der Silberkornzahl ergaben sich relevante Mittelwertunterschiede in Abhängigkeit vom Injektionszeitpunkt und der MF-Dosis. Desweiteren ließ sich ein Zusammenhang der Markierungsintensität vom Produkt aus Zeitpunkt mal Dosis ableiten. Die Mittelwerte der Kernflächen unterschieden sich auf Basis der unterschiedlichen Injektionszeitpunkte.

Tab. 3.12 (Teil 1) Einfaktorielle Varianzanalyse zur Ermittlung von signifikanten Mittelwertdifferenzen bei den Ergebnissen des Zellkerns der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

Dependent Variable: KKnorm.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	171,087(a)	7	24,441	14,993	,000
Intercept	90,627	1	90,627	55,596	,000
Gewicht	,194	1	,194	,119	,733
ARGSerie	,394	1	,394	,241	,628
Zeitpunkt	22,446	2	11,223	6,885	,004
Dosis	50,274	2	25,137	15,420	,000
Zeitpunkt * Dosis	18,408	1	18,408	11,292	,003
Error	39,123	24	1,630		
Total	9556,047	32			
Corrected Total	210,210	31			

a R Squared = ,814 (Adjusted R Squared = ,760)

Zeitpunkt: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt (VT-Gruppe A/B/C)

Dosis: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (0,1) oder 0 mT (III).

Die englischen Begriffe wurden der SPSS-Berechnung entnommen und dienen lediglich der Vervollständigung.

Tab. 3.12 (Teil 2) Einfaktorielle Varianzanalyse zur Ermittlung von signifikanten Mittelwertdifferenzen bei den Ergebnissen des Zellkerns der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

Dependent Variable: KF(μm^2)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	214,113(a)	7	30,588	2,000	,097
Intercept	258,530	1	258,530	16,903	,000
Gewicht	3,905	1	3,905	,255	,618
ARGSerie	46,843	1	46,843	3,063	,093
Zeitpunkt	120,526	2	60,263	3,940	,033
Dosis	23,756	2	11,878	,777	,471
Zeitpunkt * Dosis	2,710	1	2,710	,177	,678
Error	367,075	24	15,295		
Total	27465,361	32			
Corrected Total	581,188	31			

a R Squared = ,368 (Adjusted R Squared = ,184)

Legende s. Tab 3.12 (Teil 1)

Die zugehörigen post hoc t-Tests sind in Tabelle 3.13 dargestellt. Bei den Mittelwerten der Zellkernprojektionsflächen bestätigte sich das Ergebnis der Varianzanalyse nicht. Es gibt folglich unter Berücksichtigung der Bonferroni-Korrektur keine signifikanten Unterschiede zwischen einzelnen VT-Gruppen.

Im Gegensatz dazu traten bei den normierten Silberkornzahlen über dem Zellkern mehrere Signifikanzen auf. Generell betrachtet, unterschieden sich die Werte im IV. Ventrikel nur unwesentlich von denen des zweiten Ventrikels. D.h. die höchsten Markierungsintensitäten wurden erneut bei den unexponierten VT-Gruppen gefunden (vgl. AIII und CIII: KK norm. = 19.47 und 19.73). Relativ hoch war auch der Wert von CI mit KK norm. = 18.34, während AI, AII und BI deutlich geringere Silberkornmarkierungen lieferten (vgl. AI/AII/BI: KK norm. = 14.25/14.60 und 15.17).

Damit ergaben sich in Kurzform folgende statistisch belegbare Zusammenhänge:

Vergleich der Gruppen bzgl. KK norm.: CI/CIII > AI/AII/BI und AIII > AI

Tab. 3.13 Post-hoc t-Tests zum paarweisen Vergleich der VT-Gruppen für die Zellkerne der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

Vergleichsgruppen	Zellkern: KK norm.		Kernfläche: KF	
	Mittelwert	p	Mittelwert	p
A I	14.25 ± 0.4313 N=7	0,6337	26.30 ± 0.8271 N=7	0,8261
A II	14.60 ± 0.5520 N=4		26.85 ± 2.995 N=4	
A I	14.25 ± 0.4313 N=7	0,0004	26.30 ± 0.8271 N=7	0,0617
A III	19.47 ± 1.018 N=3		29.35 ± 0.8609 N=3	
A I	14.25 ± 0.4313 N=7	0,2156	26.30 ± 0.8271 N=7	0,8609
B I	15.17 ± 0.1471 N=3		26.61 ± 1.866 N=3	
A I	14.25 ± 0.4313 N=7	< 0.0001	26.30 ± 0.8271 N=7	0,0041
C I	18.34 ± 0.4036 N=8		31.83 ± 1.298 N=8	
A I	14.25 ± 0.4313 N=7	< 0.0001	26.30 ± 0.8271 N=7	0,0686
C III	19.73 ± 0.5489 N=7		30.51 ± 1.939 N=7	
A II	14.60 ± 0.5520 N=4	0,0062	26.85 ± 2.995 N=4	0,5202
A III	19.47 ± 1.018 N=3		29.35 ± 0.8609 N=3	
A II	14.60 ± 0.5520 N=4	0,4259	26.85 ± 2.995 N=4	0,9528
B I	15.17 ± 0.1471 N=3		26.61 ± 1.866 N=3	
A II	14.60 ± 0.5520 N=4	0,0003	26.85 ± 2.995 N=4	0,1004
C I	18.34 ± 0.4036 N=8		31.83 ± 1.298 N=8	
A II	14.60 ± 0.5520 N=4	0,0002	26.85 ± 2.995 N=4	0,3095
C III	19.73 ± 0.5489 N=7		30.51 ± 1.939 N=7	
A III	19.47 ± 1.018 N=3	0,0139	29.35 ± 0.8609 N=3	0,2532
B I	15.17 ± 0.1471 N=3		26.61 ± 1.866 N=3	
A III	19.47 ± 1.018 N=3	0,2309	29.35 ± 0.8609 N=3	0,2971
C I	18.34 ± 0.4036 N=8		31.83 ± 1.298 N=8	
A III	19.47 ± 1.018 N=3	0,8158	29.35 ± 0.8609 N=3	0,7170
C III	19.73 ± 0.5489 N=7		30.51 ± 1.939 N=7	
B I	15.17 ± 0.1471 N=3	0,0013	26.61 ± 1.866 N=3	0,0594
C I	18.34 ± 0.4036 N=8		31.83 ± 1.298 N=8	
B I	15.17 ± 0.1471 N=3	0,0008	26.61 ± 1.866 N=3	0,2653
C III	19.73 ± 0.5489 N=7		30.51 ± 1.939 N=7	
C I	18.34 ± 0.4036 N=8	0,0582	31.83 ± 1.298 N=8	0,5741
C III	19.73 ± 0.5489 N=7		30.51 ± 1.939 N=7	

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Das Signifikanzniveau lag infolge der Bonferroni-Korrektur bei $\alpha = 0,05/15 = 0,0033$.

Nachfolgend wurden wiederum die Streubreiten für die normierten Silberkornzahlen und die Zellkernprojektionsflächen bestimmt. Zusammengefasst sind sie in Tabelle 3.14 und 3.15 dargestellt.

Tab. 3.14 Streubreiten der normierten Silberkornzahlen für die Zellkerne der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

Streubreiten für KKnorm. beim vierten Ventrikel						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	14,25	14,60	19,47	15,17	18,34	19,73
Maximum	15,80	15,72	21,33	15,34	20,15	22,61
Minimum	12,83	13,36	17,82	14,88	17,08	18,63
S_D abs.	1,06	0,96	1,44	0,21	1,07	1,34
S_D (%)	7,42	6,55	7,40	1,37	5,82	6,81

Tab. 3.15 Streubreiten der Zellkernprojektionsflächen für die Zellkerne der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

Streubreiten für Kernflächen beim vierten Ventrikel						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	26,30	26,85	29,34	26,61	31,83	30,51
Maximum	28,93	33,19	30,91	30,20	37,96	40,53
Minimum	23,81	19,68	27,94	23,94	25,45	23,97
S_D abs.	2,03	5,19	1,22	2,64	3,43	4,75
S_D (%)	7,70	19,32	4,15	9,91	10,79	15,57

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Mittelwert: Durchschnittswert in der entsprechenden Tiergruppe

Maximum: höchster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

Minimum: kleinster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

SD abs.: absolute Standardabweichung vom Mittelwert

SD (%): relative Standardabweichung = SD abs. / Mittelwert x 100

Als arithmetisches Mittel aller Tiergruppen ergab sich bzgl. der Silberkornzahl eine Streuung von 5,9 % und bzgl. der Kernfläche von 11,24 %. Bezieht man die Mittelwertsberechnung nur auf die mit 1 mT MF-exponierten Gruppen (AI, BI, CI), so ergaben sich Werte von 4,9 % (KKnorm.) und 9,5 % (Kernfläche). Vergleicht man diese mit den Durchschnittswerten der nicht- exponierten Gruppen (AIII und CIII), so sind die inter-

individuellen Schwankungen bzgl. der Silberkornzahl geringfügig größer (7,1 %); Für KF errechnete sich hier 9,9 %.

Generell ist auch bei den Zellkernergebnissen der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels keine klare Korrelation zwischen Expositionsdosis und Streuungsausmaß zu erkennen.

3.4.4 Zytoplasmamarkierung der Plexusepithelzellen des vierten Ventrikels

In Tabelle 3.16 sind die Ergebnisse für die Varianzanalyse der zytoplasmatischen Silberkorndichten des IV. Ventrikels zusammengefasst. Demnach gibt es signifikante Mittelwertunterschiede in Zusammenhang mit den unterschiedlichen Magnetfeldstärken und dem Produkt aus ^3H -TdR-Injektionszeitpunkt mal Bestrahlungsdosis.

Tab. 3.16 Einfaktorielle Varianzanalyse zur Ermittlung von signifikanten Mittelwertdifferenzen bei den Ergebnissen für das Zytoplasma der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

Dependent Variable: Dkorrr.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,054(a)	7	,008	4,364	,003
Intercept	,019	1	,019	10,706	,003
Gewicht	,002	1	,002	1,077	,310
ARGSerie	,007	1	,007	4,119	,054
Zeitpunkt	,000	2	6,574	,037	,963
Dosis	,014	2	,007	4,124	,029
Zeitpunkt * Dosis	,009	1	,009	5,112	,033
Error	,042	24	,002		
Total	1,574	32			
Corrected Total	,096	31			

a R Squared = ,560 (Adjusted R Squared = ,432)

Zeitpunkt: ^3H -TdR-Injektionszeitpunkt (VT-Gruppe A/B/C)

Dosis: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Die anschliessend durchgeführten post hoc t-Tests bestätigten das Ergebnis der Varianzanalyse in zwei Fällen, welche wie zuvor mit gelbem Hintergrund gekennzeichnet sind (s. Tab. 3.17).

Tab. 3.17 Post-hoc t-Tests zum paarweisen Vergleich der VT-Gruppen für die Zytoplasmamarkierung der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

Vergleichsgruppen	Cytoplasma: D korr.	
	Mittelwert	P
A I	0.1574 ± 0.01444 N=7	0,1400
A II	0.1915 ± 0.01094 N=4	
A I	0.1574 ± 0.01444 N=7	0,0030
A III	0.2568 ± 0.01068 N=3	
A I	0.1574 ± 0.01444 N=7	0,0640
B I	0.2242 ± 0.03529 N=3	
A I	0.1574 ± 0.01444 N=7	0,0032
C I	0.2172 ± 0.009047 N=8	
A I	0.1574 ± 0.01444 N=7	0,0039
C III	0.2613 ± 0.02532 N=7	
A II	0.1915 ± 0.01094 N=4	0,0089
A III	0.2568 ± 0.01068 N=3	
A II	0.1915 ± 0.01094 N=4	0,3579
B I	0.2242 ± 0.03529 N=3	
A II	0.1915 ± 0.01094 N=4	0,1177
C I	0.2172 ± 0.009047 N=8	
A II	0.1915 ± 0.01094 N=4	0,0788
C III	0.2613 ± 0.02532 N=7	
A III	0.2568 ± 0.01068 N=3	0,4262
B I	0.2242 ± 0.03529 N=3	
A III	0.2568 ± 0.01068 N=3	0,0390
C I	0.2172 ± 0.009047 N=8	
A III	0.2568 ± 0.01068 N=3	0,9147
C III	0.2613 ± 0.02532 N=7	
B I	0.2242 ± 0.03529 N=3	0,7865
C I	0.2172 ± 0.009047 N=8	
B I	0.2242 ± 0.03529 N=3	0,4359
C III	0.2613 ± 0.02532 N=7	
C I	0.2172 ± 0.009047 N=8	0,1077
C III	0.2613 ± 0.02532 N=7	

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Das Signifikanzniveau lag infolge einer Bonferroni-Korrektur bei $\alpha = 0,05/15 = 0,0033$.

Generell gibt es auch bei den Zytoplasmamarkierungen der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels Parallelen zu denen des II. Ventrikels. Es fällt auf, dass erneut in den Gruppen CI, BI und AII relativ ähnliche Werte auftreten, die mittelwertig bei 0,211 Silberkörner/ μm^2 lagen. Bei AIII und CIII wurden die höchsten Silberkorndichten von 0,2568 und 0,2613 Silberkörner/ μm^2 erreicht. Die geringste Dichte fand man bei AI mit 0,1574.

Statistisch gesichert ergaben sich in Kurzform folgende Zusammenhänge: Vergleich der Gruppen bzgl. D korr.: AIII/CI > AI

In Tabelle 3.18 sind die zugehörigen Streubreiten dargestellt. Man findet relative Standardabweichungen von 5,88 % (AIII) bis 23,74 % (CIII). Die mittlere Standardabweichung der mit 1mT exponierten VT-Gruppen (AI, BI und CI) beträgt 18,6 % und die der nicht-exponierten Gruppen (AIII und CIII) 14,81 %. Generell lässt sich wieder kein deutlicher Zusammenhang zwischen der Höhe der Expositions-dosis und der Streuungsstärke erkennen.

Tab. 3.18 Streubreiten der korrigierten Silberkorndichten des Zytoplasmas der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels (unter Berücksichtigung der β -Selbstabsorption)

Streubreiten für Dkorr. beim vierten Ventrikel						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	0,1574	0,1915	0,2568	0,2242	0,2172	0,2613
Maximum	0,2119	0,2190	0,2767	0,2946	0,2479	0,3635
Minimum	0,1124	0,1681	0,2401	0,1852	0,1845	0,1715
S_D abs.	0,04	0,02	0,02	0,05	0,02	0,06
S_D (%)	22,48	9,89	5,88	22,26	11,02	23,74

A/B/C: ^3H -TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Mittelwert: Durchschnittswert in der entsprechenden Tiergruppe

Maximum: höchster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

Minimum: kleinster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

SD (%): relative Standardabweichung = SD abs. / Mittelwert x 100

3.4.5 Vergleich zwischen den Werten des Seitenventrikels und denen des vierten Ventrikels

Wie bereits mehrfach festgestellt (siehe Beschreibung der kumulativen Häufigkeitsverteilungen und der einzelnen Messwerte), verhalten sich die Ergebnisse des Seitenventrikels nahezu identisch zu denen des vierten Ventrikels. Statistisch abgesichert wird diese Feststellung durch einen paarweisen t-Test, bei denen die entsprechenden Mittelwerte direkt miteinander verglichen wurden (s.Tab. 3.19). Hierbei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Insofern kann man davon ausgehen, dass bei beiden Ventrikeln die gleichen Effekte auftraten.

Tab. 3.19 (Teil 1) Post-hoc t-Tests zum Wertevergleich zwischen den Plexusepithelzellen des II. Ventrikels und denen des IV. Ventrikels

Vergleichsgruppen	Zellkern: KK norm.		Kernfläche: KF	
	Mittelwert	p	Mittelwert	p
A I (II. Ventrikel)	14.44 ± 0.4062 N=9	0,7576	28.35 ± 1.519 N=9	0,2940
A I (IV. Ventrikel)	14.25 ± 0.4313 N=7		26.30 ± 0.8271 N=7	
A II (II. Ventrikel)	16.83 ± 0.6801 N=7	0,0535	31.09 ± 0.8464 N=7	0,1173
A II (IV. Ventrikel)	14.60 ± 0.5520 N=4		26.85 ± 2.995 N=4	
A III (II. Ventrikel)	20.34 ± 0.7189 N=7	0,5197	31.55 ± 0.5850 N=7	0,0708
A III (IV. Ventrikel)	19.47 ± 1.018 N=3		29.35 ± 0.8609 N=3	
B I (II. Ventrikel)	15.60 ± 0.4828 N=4	0,5029	31.07 ± 1.193 N=4	0,0876
B I (IV. Ventrikel)	15.17 ± 0.1471 N=3		26.61 ± 1.866 N=3	
C I (II. Ventrikel)	17.32 ± 0.3043 N=10	0,0574	34.13 ± 0.5978 N=10	0,1034
C I (IV. Ventrikel)	18.34 ± 0.4036 N=8		31.83 ± 1.298 N=8	
C III (II. Ventrikel)	19.57 ± 0.5393 N=8	0,8368	31.44 ± 0.6765 N=8	0,6416
C III (IV. Ventrikel)	19.73 ± 0.5489 N=7		30.51 ± 1.939 N=7	

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Tab. 3.19 (Teil 2) Post-hoc t-Tests zum Wertevergleich zwischen den Plexusepithelzellen des II. Ventrikels und denen des IV. Ventrikels

Vergleichsgruppen	Cytoplasma: D korr.	
	Mittelwert	p
A I (II. Ventrikel)	0.1485 ± 0.01575 N=9	0,6940
A I (IV. Ventrikel)	0.1574 ± 0.01444 N=7	
A II (II. Ventrikel)	0.2295 ± 0.01378 N=7	0,0939
A II (IV. Ventrikel)	0.1915 ± 0.01094 N=4	
A III (II. Ventrikel)	0.2284 ± 0.01651 N=7	0,3219
A III (IV. Ventrikel)	0.2568 ± 0.01068 N=3	
B I (II. Ventrikel)	0.2337 ± 0.01159 N=4	0,7808
B I (IV. Ventrikel)	0.2242 ± 0.03529 N=3	
C I (II. Ventrikel)	0.2491 ± 0.01365 N=10	0,0847
C I (IV. Ventrikel)	0.2172 ± 0.00905 N=8	
C III (II. Ventrikel)	0.3098 ± 0.01962 N=8	0,1485
C III (IV. Ventrikel)	0.2613 ± 0.02532 N=7	

Legende s. Tab. 3.19 (Teil 1)

3.4.6 Zellkernmarkierung und Zellkernflächen der Granularzellen der Fascia dentata hippocampi

Bei den Granularzellen der Fascia dentata wurden in der einfaktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Mittelwertsdifferenzen bzgl. der normierten Silberkornzahlen über dem Zellkern oder der Zellkernprojektionsflächen gefunden (vgl. Tab. 3.20). D.h. die Auswertungen ergaben ähnliche Werte trotz der unterschiedlichen Versuchsbedingungen. Infolgedessen wurden keine post hoc t-Tests durchgeführt.

Tab. 3.20 Einfaktorielle Varianzanalyse zur Ermittlung von signifikanten Mittelwertdifferenzen bei den Ergebnissen des Zellkerns der Granularzellen der Fascia dentata hippocampi

Dependent Variable: KF(μm^2)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	381,285(a)	7	54,469	1,878	,096
Intercept	3111,169	1	3111,169	107,257	,000
Gewicht	106,291	1	106,291	3,664	,062
ARGSerie	28,601	1	28,601	,986	,326
Zeitpunkt	78,320	2	39,160	1,350	,270
Dosis	170,390	2	85,195	2,937	,063
Zeitpunkt * Dosis	30,926	1	30,926	1,066	,307
Error	1276,292	44	29,007		
Total	217451,448	52			
Corrected Total	1657,577	51			

a R Squared = ,230 (Adjusted R Squared = ,108)

Dependent Variable: KKnorm.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	65,840(a)	7	9,406	1,485	,198
Intercept	160,862	1	160,862	25,400	,000
Gewicht	2,990	1	2,990	,472	,496
ARGSerie	1,234	1	1,234	,195	,661
Zeitpunkt	20,455	2	10,228	1,615	,210
Dosis	18,944	2	9,472	1,496	,235
Zeitpunkt * Dosis	2,309	1	2,309	,365	,549
Error	278,659	44	6,333		
Total	25225,999	52			
Corrected Total	344,499	51			

a R Squared = ,191 (Adjusted R Squared = ,062)

Zeitpunkt: ^3H -TdR-Injektionszeitpunkt (VT-Gruppe A / B / C)

Dosis: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Die Streubreiten der normierten Silberkornzahlen und der Zellkernprojektionsflächen sind insgesamt, im Vergleich zu den entsprechenden Daten der anderen Zellarten, unauffällig (vgl. Tab 3.21 und 3.22). Bei den mit 1 mT exponierten Tiergruppen ergaben sich im Durchschnitt relative Standardabweichungen von 8,7 % (KKnorm.) und 8,5 % (KF). Die

unexponierten VT-Gruppen wiesen bzgl. der Silberkornzahl im Mittel 10,3 % auf, wobei AIII und CIII stark differierten. Auch die Standardabweichung der Kernflächen blieb mit 8,2 % nahe dem Wert der MF-exponierten Tiere. Korrelationen zwischen der Magnetfeldstärke und dem Ausmaß der interindividuellen Schwankungen sind auch bei dieser Zellart nicht zu erkennen.

Tab. 3.21 Streubreiten der normierten Silberkornzahlen für die Zellkerne der Granularzellen der Fascia dentata hippocampi

Streubreiten für KKnorm. der Fascia dentata hippocampi						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	22,59	21,43	23,32	20,27	20,88	22,84
Maximum	29,66	26,68	24,22	22,50	23,91	32,52
Minimum	19,41	18,96	21,56	18,08	19,05	18,14
S_D abs.	2,76	2,25	0,78	1,41	1,43	3,95
S_D (%)	12,22	10,49	3,32	6,98	6,87	17,31

Tab. 3.22 Streubreiten der Zellkernprojektionsflächen für die Granularzellen der Fascia dentata hippocampi

Streubreiten für Kernflächen der Fascia dentata hippocampi						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	60,88	63,45	67,52	65,24	64,23	66,14
Maximum	69,21	68,14	78,92	77,84	70,86	73,00
Minimum	52,28	55,03	58,85	58,20	56,07	57,21
S_D abs.	5,56	4,05	5,93	5,60	4,97	4,97
S_D (%)	9,13	6,39	8,78	8,59	7,74	7,52

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Mittelwert: Durchschnittswert in der entsprechenden Tiergruppe

Maximum: höchster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

Minimum: kleinster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

SD abs.: absolute Standardabweichung vom Mittelwert

SD (%): relative Standardabweichung = SD abs. / Mittelwert x 100

3.4.7 Zellkernmarkierung und Zellkernprojektionsflächen der Endothelzellen im Cortex

Grundsätzlich wurden die Meßwerte für die Endothelzellen nicht weiter statisch ausgewertet, da bei der Mehrheit der ermittelten Silberkornwerte keine Backgroundkorrektur möglich war (vgl. Kap. 2.7.2 und Anzahl der gelb markierten Tiere in der Tabelle im Anhang). Um trotzdem einen gewissen Überblick zu erhalten, wurden im Folgenden die Mittelwerte der einzelnen VT-Gruppen und die zugehörigen Streubreiten für die gezählten Silberkornzahlen und die Zellkernprojektionsflächen bestimmt. Betrachtet man zunächst in Tabelle 3.23 die Mittelwerte der Silberkornzahlen, so ist zu erkennen, dass alle Werte relativ eng beieinander liegen. Der kleinste Durchschnittswert wird bei Gruppe AIII mit 1,72 Silberkörner pro Zellkern erhalten und der größte mit 2,62 bei CIII. Vergleicht man AI mit BI und CI, so nähern sich diese Werte mit 2,15; 2,02 und 2,18 einander an. Insgesamt gibt es allerdings keine klaren Hinweise auf eine Abhängigkeit der Markierungsintensität von der Höhe der Expositionsdosis oder vom Zeitpunkt der ^3H -TdR-Injektion.

Bei der relativen Standardabweichung fällt der verhältnismäßig hohe Wert bei AI (32,73 %) auf. Im Mittel lag die Streubreite der mit 1 mT exponierten Gruppen bei 22,5 % und bei den unexponierten Tieren bei 14,4 %. Die interindividuellen Schwankungen um den Durchschnittswert der ganzen VT-Gruppe sanken mit abnehmender Expositionsdosis (vgl. AI vs. AII vs. AIII und CI vs. CIII).

In Tabelle 3.24 sind die Mittelwerte und Streubreiten für die Zellkernprojektionsflächen der Endothelzellen dargestellt. Grundsätzlich unterscheiden sich die ermittelten Kernflächenwerte der verschiedenen VT-Gruppen nur minimal. Die zugehörigen Streubreiten reichen von 4,00 % (CI) bis 11,90 % (AII). Das arithmetische Mittel der mit 1 mT exponierten Gruppen beträgt 6,5 % und das der Tiere ohne Magnetfeldbestrahlung 6,2 %. Es sind erneut keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen der Streubreite und der Höhe des Magnetfeldes erkennbar.

Tab. 3.23 Streubreiten der gezählten Silberkornzahlen für die Zellkerne der Endothelzellen des Cortex

Streubreiten für KK der Endothelzellen des Cortex						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	2,15	1,88	1,72	2,02	2,18	2,62
Maximum	3,27	2,50	2,32	2,53	2,83	3,06
Minimum	1,03	1,14	1,42	1,55	1,60	1,98
S_D abs.	0,70	0,40	0,26	0,32	0,41	0,35
S_D (%)	32,73	21,39	15,28	16,00	18,67	13,47

Tab. 3.24 Streubreiten der Zellkernprojektionsflächen für die Zellkerne der Endothelzellen des Cortex

Streubreiten für Kernflächen der Endothelzellen des Cortex						
VT-Gruppe	AI	AII	AIII	BI	CI	CIII
Mittelwert	14,34	12,74	13,41	12,49	13,22	13,70
Maximum	16,49	15,22	14,94	13,59	14,06	15,54
Minimum	12,90	10,79	12,13	11,04	12,34	12,35
S_D abs.	1,12	1,52	0,78	0,96	0,53	0,91
S_D (%)	7,79	11,90	5,81	7,66	4,00	6,65

A/B/C: ³H-TdR-Injektionszeitpunkt, d.h. 5 min (A), 24 h (B) oder 7 d (C) nach Abschaltung des Magnetfeldes.

I-III: Bestrahlungsdosis, d.h. 1 mT (I), 0,1 mT (II) oder 0 mT (III).

Mittelwert: Durchschnittswert in der entsprechenden Tiergruppe

Maximum: höchster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

Minimum: kleinster Wert innerhalb der entsprechenden Tiergruppe

SD abs.: absolute Standardabweichung vom Mittelwert

SD (%): relative Standardabweichung = SD abs. / Mittelwert x 100

4 Diskussion

4.1 Allgemeine Bedeutung der Ergebnisse

4.1.1 Informationen aus den kumulativen

Häufigkeitsverteilungen

Vor den statistischen Auswertungen wurden kumulative Häufigkeitsverteilungen für die Silberkornmarkierung über den Zellkern- bzw. Zytoplasmaprojektionsflächen erstellt. Damit sollten insbesondere artefizielle Markierungen erkannt werden, die sich innerhalb einer Versuchsgruppe (d.h. bei Tieren mit gleicher Vorbehandlung) als Rechts- oder Linksverschiebung der Summationskurven bemerkbar machen.

Eine Rechtsverschiebung in einer UDS- oder mtDNA-Synthese-Untersuchung entsteht dann, wenn das Tier im Vergleich zu den übrigen Tieren seiner Gruppe eine insgesamt stärkere Silberkornmarkierung aufweist. Sie ist als Hinweis auf einen erhöhten Background zu werten. Mögliche Ursachen für diese Verstärkung des natürlich vorhandenen Nulleffektes sind z.B. Fehler bei der Herstellung der Autoradiogramme (Licht-Einfall, zu schnelle Trocknung der Filmschicht oder zu lange Lagerung der Photoemulsion bzw. des applizierten ^3H -TdR). Bei keinem Tier wurde eine offensichtliche Rechtsverschiebung der Summationskurven aller untersuchten Zellarten gefunden. Insofern ist davon auszugehen, dass die Ergebnisse dieser Studie nicht durch o.g. Einflussfaktoren verfälscht wurden.

Eine Linksverschiebung von Summationskurven tritt bei ungewöhnlich geringer Silberkornmarkierung auf, die z.B. durch Fadingeffekte aufgrund von Restfeuchtigkeit in den Expositionsboxen entsteht. Auch diesbezüglich wurde kein Tier gefunden, das eine Summationskurvenverschiebung für alle Zellarten aufweist. Dies steht in Einklang mit der Beobachtung, dass in keiner Expositionsbox der beigefügte Farbindikator, welcher zur Detektion von Feuchtigkeit beigefügt war, positiv reagierte. Generell sind also artifizielle Veränderungen der Silberkornmarkierungsintensität und daraus resultierende Fehlinterpretationen weitestgehend auszuschließen.

4.1.2 Validität und Literaturvergleich der ermittelten Ergebnisse

Generell sollte zunächst erwähnt werden, dass die Auswertungen ohne Kenntnis der VT-Gruppen-Zugehörigkeit des jeweiligen Präparates stattfanden. Insofern war gewährleistet, dass alle histologischen Schnitte unvoreingenommen untersucht wurden. Zur Vergleichbarkeit verschiedener Tiere untereinander und mit entsprechenden Literaturdaten erfolgte eine Backgroundkorrektur (Stillström, 1963; Korr und Schmidt, 1988) und die Berücksichtigung der zellartspezifischen ^3H - β -Selbstabsorption (Korr, 1985). Im Anschluss wurden die Silberkornwerte des Zellkerns bezüglich einer einheitlichen DNA-Menge des Schnittvolumens normiert (Schmitz, 1994). Bei den Zytoplasmawerten wurden Silberkorndichten ermittelt. Aus früheren Untersuchungen der Aachener Gruppe um Prof. Korr stammen einige mit gleicher Methodik gewonnene und damit direkt vergleichbare Daten für die Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels und die Granularzellen der Fascia dentata hippocampi, die in Tabelle 4.1 aufgeführt sind. Es handelt sich um Werte von adulten unexponierten Mäusen (Kontrolltieren). Da sich die Studien hinsichtlich der applizierten Menge an ^3H -TdR unterscheiden, andererseits aber unbekannt ist, welchen Einfluss dies hat, wurde im Hinblick auf die zu vergleichenden Silberkornzahlen ein theoretisch zu erwartender Faktor aufgeführt. Dagegen ist der „Faktor bzgl. KaF“ das Verhältnis zwischen dem jeweiligen Literaturwert und dem in dieser Arbeit ermittelten Wert. Neben den unterschiedlichen ^3H -TdR-Mengen gibt es weitere Einflussfaktoren, die als mögliche Ursache für Differenzen bei den aufgeführten Werten anzusehen sind: So lag die Überlebenszeit der Mäuse nach der ^3H -TdR-Injektion je nach Versuchsreihe zwischen 1-2 Stunden. Hierbei kann man im Falle der längeren Zeit mit einem Anstieg der zytoplasmatischen Markierung rechnen (Seidler, 1997). Auch die Schichtdicken des autoradiographischen Films und die unterschiedlichen Chargen der verwendeten Ilford K-2-Emulsion dürften zwischen den einzelnen Versuchen leicht variieren (vgl. Zunker, 1992) und können zu Kornzahldifferenzen führen. Desweiteren muss beachtet werden, dass die Zellkern- und Zytoplasmaprojektionsflächen früherer Versuche nicht computergestützt vermessen, sondern mit Hilfe eines Okularzählnetzes „abgeschätzt“ wurden.

Tab. 4.1 Vergleich von UDS-Silberkornzahlen und zytoplasmatischen Silberkornindichten von Zellarten adulter

Mäuse ohne Magnetfeldexposition

AJ: Jansen (1992); CK: Kurz (1993); CS: Schmitz (1994); EK: Keller (2003); JB: Benders (2000); KaF: vorliegende Arbeit;
TS: Seidler (1997); UZ: Zunker (1992)

Applizierte ³H-TdR-Menge: EK/KaF: 15 µCi/g (Körpergewicht); JB: 10 µCi/g; AJ/CS/CK/TS/UZ: 30 µCi/g

* Faktor bzgl. KaF: erwarteter Faktor, der die unterschiedlichen applizierten ³H-TdR-Mengen berücksichtigt

** KaF: bei den hier verwendeten Werten handelt es sich um Mittelwerte der VT-Gruppen AIII & CIII

Zellart	Zellkern Silberkornzahl		Kernfläche		Zytoplasma Silberkornindichte	
	Literatur	KK norm.	theor. Faktor*	Faktor bzgl. KaF	KF (µm ²)	Faktor bzgl. KaF
Plexusepithelzellen (Seitenventrikel)	KaF**	19,93	1,00	1,00	31,49	1,00
	KaF**	19,65	1,00	1,00	30,16	1,00
	TS	23,74	2,00	1,21	25,30	0,84
	AJ	34,17	2,00	1,74	36,09	1,20
	EK	32,61	1,00	1,66	22,07	0,73
	ZU	25,51	2,00	1,30	36,47	1,21
Granularzellen (Fascia dentata hippocampi)	CK	---	---	---	---	---
	KaF**	23,08	1,00	1,00	66,83	1,00
	JB	11,38	0,67	0,49	67,35	1,01
	EK	51,64	1,00	2,24	63,50	0,95
	CS	26,06	2,00	1,13	74,42	1,11

KKnorm: normierte Silberkornzahl pro Zellkern (unter Berücksichtigung der β-Selbstabsorption)

KF: Zellkernprojektionsfläche; **KC/µm²:** Silberkornindichte des Zytoplasmas

Betrachtet man die Daten der Zellkernmarkierung (KKnorm.) im Einzelnen, so liegen die meisten Werte unter dem theoretisch zu erwartenden Faktor. Einzig die Daten von Keller (2003) liegen, insbesondere für die Granularzellen des Hippocampus, deutlich darüber. Die aus der aktuellen Arbeit stammenden Werte sind vergleichsweise niedrig, aber als unauffällig zu bezeichnen.

Bei den Zellkernprojektionsflächen (KF) gibt es keine nennenswerte Unterschiede. Auch die zytoplasmatischen Markierungsdichten ($KC/\mu m^2$) liegen, unter Ausschluss des erneut auffällig hohen Wertes von Keller, deutlich unter dem theoretisch zu erwartenden Faktor. Die neuen Daten sind insgesamt etwas höher als die Werte früherer Veröffentlichungen.

Bzgl. der auffällig hohen Werten von Keller ist zu sagen: Eine ähnliche Zusammenstellung von Silberkornzahlen anderer Zellarten ergab (Keller, 2003), dass ihre Werte generell höher ausfielen als die anderer Untersuchungen. Wahrscheinlich war hier die Filmschichtdicke der Autoradiogramme größer, so dass mehr Silberkörner zu registrieren waren. Insgesamt lässt sich feststellen, dass die hier ermittelten Daten mit denen früherer Studien vereinbar sind und damit als valide angesehen werden können.

4.1.3 Prinzipielle Interpretation der Ergebnisse

Zunächst sollte die allgemeine Bedeutung einer 3H -TdR-Markierung diskutiert werden. Neben der Tatsache, dass es sich um eine DNA-spezifische Vorläufersubstanz handelt, kommt es nach der Applikation in vivo auch zur Bildung von anderen 3H -markierten Metaboliten (Übersicht: z.B. Feinendegen, 1967). Um zu gewährleisten, dass es sich bei den ausgewerteten Silberkornmarkierungen ausschliesslich um 3H -DNA handelt, wurden alle histologischen Präparate mittels einer Feulgen-Färbung vorbehandelt. Hierbei kommt es unter anderem zu einer sechs-minütigen Hydrolyse mit 1n HCl bei 60°C. Diese führt in vivo und vitro zum Verlust aller markierten und unmarkierten säurelöslichen Substanzen, sowohl im Kern als auch im Zytoplasma (Rasmussen und Painter, 1964; Painter und Cleaver, 1969; Fox et al. 1970; Sega et al. 1978). Desweiteren ist auch davon auszugehen, dass 3H_2O als Hauptmetabolit unter den in dieser Studie verwendeten autoradiographischen Bedingungen

keinen relevanten Einfluss auf die Silberkornmarkierung hatte (Korr et al., 1997b). In einem entsprechenden Test lagen – abgesehen von geringfügigen Kernmarkierungen in Purkinje- und Pyramidenzellen des Hippocampus – alle nach $^3\text{HO}_2$ -Applikation ermittelten Markierung nicht signifikant über dem Nulleffekt (Jansen, 1992; Philippi, 1994). Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass es sich bei den hier beobachteten Silberkornmarkierungen entweder um ^3H -nDNA, ^3H -mtDNA oder um Nulleffekt handelt.

1. Markierung des Zellkerns: Wie im Abschnitt zuvor erläutert, kann man nach ^3H -TdR-Injektion die Neusynthese von nukleärer DNA nachweisen. Allerdings kommt es nicht nur vor einer Mitose proliferierender Zellen zur DNA-Synthese, sondern auch bei nicht-proliferierenden Zellen nach vorangegangenen Schädigungen. Diese DNA-Reparatursynthese wird als „unscheduled DNA synthesis“ (UDS) bezeichnet (Djordjevic und Tolmach, 1967). DNA-Schäden, die durch eine UDS behoben werden, können durch spezifische Vorbehandlungen (ionisierende Strahlung, Einwirkung von chemischen Substanzen etc.) oder spontan, beispielsweise aufgrund von thermodynamischen Instabilitäten (Lindahl und Nyberg, 1972) sowie durch freie Radikale entstehen.

In dieser Arbeit wurden die Silberkornmarkierungen von postmitotischen Zellen, also die UDS untersucht. Hierbei kann man von der Stärke der Silberkornmarkierung (KKnorm.) sowohl auf das Ausmaß der vorangegangenen DNA-Schädigung als auch auf das DNA-Reparaturvermögen der Zelle schließen (Cleaver und Thomas, 1981; Korr und Schultze, 1989; Korr et al., 1989).

2. Markierung des Zytoplasmas: Da bei den untersuchten Zellarten extranukleäre DNA nur in den Mitochondrien zu finden ist, handelt es sich bei der Silberkornmarkierung des Zytoplasmas nahezu ausschließlich um mitochondriale ^3H -DNA (^3H -mtDNA). In früheren Untersuchungen wurde deutlich, dass ein autoradiographischer Nachweis über eine erfolgte Exzisionsreparatur von mtDNA-Schäden nicht möglich ist, da mtDNA-Schäden wahrscheinlich nicht mittels eines

UDS-ähnlichen Vorgangs repariert werden (Kurz, 1993; Brasnjevic et al., 2008). Vielmehr ist davon auszugehen, dass ^3H -mtDNA im Rahmen der Mitochondrienvermehrung gebildet wurde. Diese findet sowohl vor einer Mitose als auch postmitotisch im Falle erhöhter metabolischer Zellaktivität statt (vgl. Korr et al., 1997b, 1998, 2001; Schmitz et al., 2004). Eine Zunahme des zelleigenen Energieumsatzes kann auf vielfältigen Ursachen basieren, z.B. auf Hormongabe, erhöhte körperliche Arbeit (Ashwell und Work, 1970), Zellwachstum und Differenzierung (Giuffrida et al., 1979; Laeng et al., 1988), partielle Hepatektomie (Nagino et al., 1989) oder Regeneration nach Axotomie eines peripheren Nerven (Korr et al., 1997b).

Die gezählten Silberkornwerte wurden nicht normiert, da zwar der mitochondriale DNA-Gehalt pro Mitochondrion konstant ist (Robin und Wong, 1988), nicht aber die Anzahl der Mitochondrien pro Zelle. Deswegen wurde als Maß der mtDNA-Synthese und damit als Zeichen für einen erhöhten Energiebedarf der Zelle die Silberkorndichte gewählt. Hierbei wird die Silberkornzahl auf die entsprechende Zytoplasmaprojektionsfläche bezogen ($\text{KC}/\mu\text{m}^2$).

3. Zellkernprojektionsfläche: Neben den Markierungsintensität wurden bei allen Zellarten auch die Projektionsflächen der Zellkerne (KF) ermittelt. Im Falle von Zellkernen in Kugelform kann daraus direkt auf das zugrunde liegende Kernvolumen geschlossen werden. Dies ist somit sowohl bei den Plexusepithel- als auch den Granularzellen der Fascia dentata hippocampi möglich. Einzig die Endothelzellen besitzen (von den hier untersuchten Zellarten) keinen kugelförmigen Zellkern. Das Kernvolumen ist wiederum abhängig vom metabolischen Zustand der Zelle. Es vergrößert sich bei erhöhtem Zellstoffwechsel (Schmitz, 1994). Somit sind sowohl KF als auch $\text{KC}/\mu\text{m}^2$ als Maß für die Zellaktivität anzusehen.

4.2 Einfluss der Stärke des Magnetfeldes

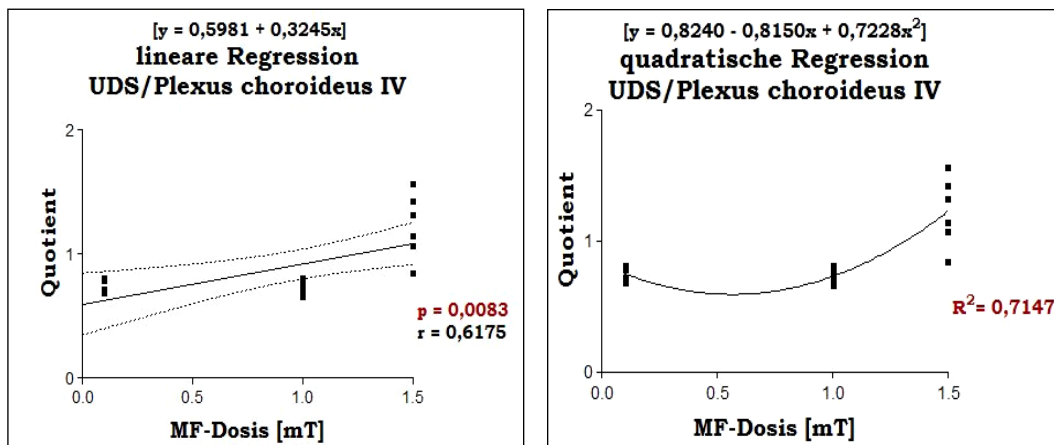
4.2.1 Einfluss der Stärke des Magnetfeldes auf die UDS

Wie in Kap. 3.4 beschrieben, fanden sich in Bezug auf die applizierte MF-Dosis im Univarianztest Signifikanzen nur für die Plexusepithelzellen, und zwar sowohl für diese Zellart im II. als auch im IV. Ventrikel. In den post hoc t-Tests stellte sich - wiederum für beide Ventrikel - überraschend heraus, dass die UDS-Werte - im Gegensatz zu allen bisher untersuchten Zellarten in Gehirn, Niere und Leber - nach einer Exposition mit 1 mT signifikant am geringsten waren, d.h. kleiner als nach einer Exposition mit 0 oder 0,1 mT (wobei sich die Werte für die zuletzt genannten Dosen nicht-signifikant unterschieden). Der erwähnte Unterschied zwischen 0 und 1 mT MF-Exposition fand sich übrigens auch dann, wenn die UDS erst 7 d nach Abschaltung des MF untersucht wurde (d.h. für Gruppe C). Andererseits ist es ungewöhnlich, dass im Vergleich der UDS-Werte für 1 mT diejenigen zum Tötungszeitpunkt 7 d signifikant höher waren als für den Tötungszeitpunkt 5 min nach MF-Abschaltung. Möglicherweise könnte das auf den Einfluss von Effekten hindeuten, die nicht direkt in Verbindung mit der MF-Exposition stehen. Denkbar ist beispielsweise ein Einfluss von Stress, der durch akustische Signale derjenigen Tiere hervorgerufen wurde, die im gleichen Versuchsraum zuvor mit ^3H -TdR injiziert wurden.

Eine weitere Möglichkeit, durch MF-Exposition verursachte Dosis-Effekte zu analysieren, bietet sich in Form von Regressionsgeraden unter Einbezug weiterer UDS-Daten, die in gleicher Art und Weise wie in der vorliegenden Arbeit gewonnen wurden. Wie bereits für andere Zellarten erprobt (Gehirn: Born, 2009; Brauns, 2009; Niere: Bosse, 2009; Salimi, 2009), kann man dabei - zur Ausschaltung Untersucher-spezifischer Effekte - mit relativen Werten arbeiten, beispielsweise durch Bezug auf den Mittelwert nach Exposition mit 0 mT. Für die in der vorliegenden Untersuchung analysierten Zellarten liegen für die Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels sowie für die Granularzellen der Fascia dentata hippocampi vergleichbare UDS-Daten von Keller (2003) vor, und zwar für eine MF-Dosis von 1,5 mT. Wie Abb. 4.1 zeigt, fand sich im linearen Regressionsmodell einzig für die Plexusepithelzellen im IV. Ventrikel eine signifi-

kant von Null abweichende Steigung für den Bereich 0,1 bis 1,5 mT. Interessanterweise ergab sich eine noch bessere Anpassung der Ausgleichsgerade an die Messwerte, wenn von einem quadratischen Regressionsmodell ($y = a + bx + x^2$) ausgegangen wurde. Dies deutet daraufhin, dass hier mit einer Schwellendosis für die Auslösung von DNA-Schäden zu rechnen ist, die oberhalb von 1 mT liegen dürfte. Wegen der weitgehenden Übereinstimmung der Messwerte zwischen Plexusepithelzellen im IV. Ventrikel mit denjenigen des II. Ventrikels (vgl. Kap. 3.4.5) dürften die o.g. Feststellungen generell für Plexusepithelzellen gelten.

Abb. 4.1 (Teil 1) Lineare und quadratische Regressionsanalysen für die UDS-Werte der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels



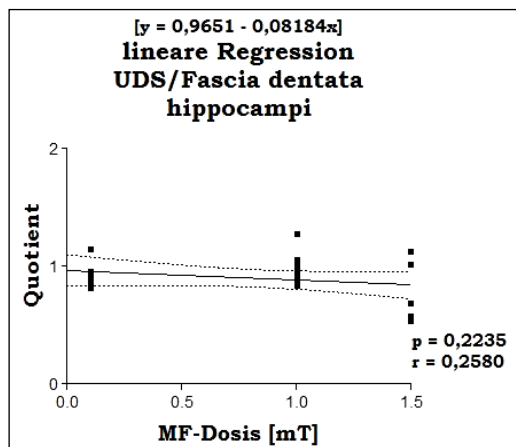
Quotient: KKnorm. bei entsprechender MF-Dosis/KKnorm.-Mittelwert der nichtexponierten Kontrolltiere

p: Signifikanz für $p \leq 0,05$; die Werte dieser Studie wurden mit den Daten der Pilotstudie (Keller, 2003) kombiniert.

r: Korrelationskoeffizient

R²: Maß zwischen 0 und 1 für die Korrelation der Daten bei nichtlinearen Regressionen: je größer R², desto besser stimmen die Messwerte mit der Ausgleichskurve überein.

Abb. 4.1 (Teil 2) Lineare Regressionsanalyse für die UDS-Werte der Granularzellen der Fascia dentata hippocampi



Legende s. Abb. 4.1 Teil 1

Für die gleichen Tiere, allerdings mit Messwerten, die durch eine andere Untersuchungsmethode (ISNT) gewonnen wurden, führte auch Born (2009) Regressionsanalysen an Plexusepithelzellen durch. Dabei fanden sich allerdings keine signifikanten Korrelationen zwischen der applizierten MF-Dosis und nicht-reparierten DNA-Schäden; vermutlich waren bei den ISNT-Untersuchungen die tierspezifischen Schwankungen nach Exposition mit 0,1 mT und insbesondere mit 1 mT zu stark. Andererseits ist hervorzuheben, dass MF-induzierte DNA-Schäden über lineare Regressionsanalysen außer bei den Plexusepithelzellen bisher im Gehirn nur bei den Endothelzellen nachzuweisen waren (Brauns, 2009). Beide Zellarten sind maßgeblich am Eisentransport vom Blut in das Gehirnparenchym beteiligt (vgl. Schmitz et al., 2004). Ob auch die proximalen Tubulusepithelzellen der Niere, bei denen ebenfalls mittels linearer Regressionsanalysen DNA-Schäden aufgedeckt wurden, eine entscheidende Rolle beim Eisentransport spielen, ist derzeit noch nicht bekannt.

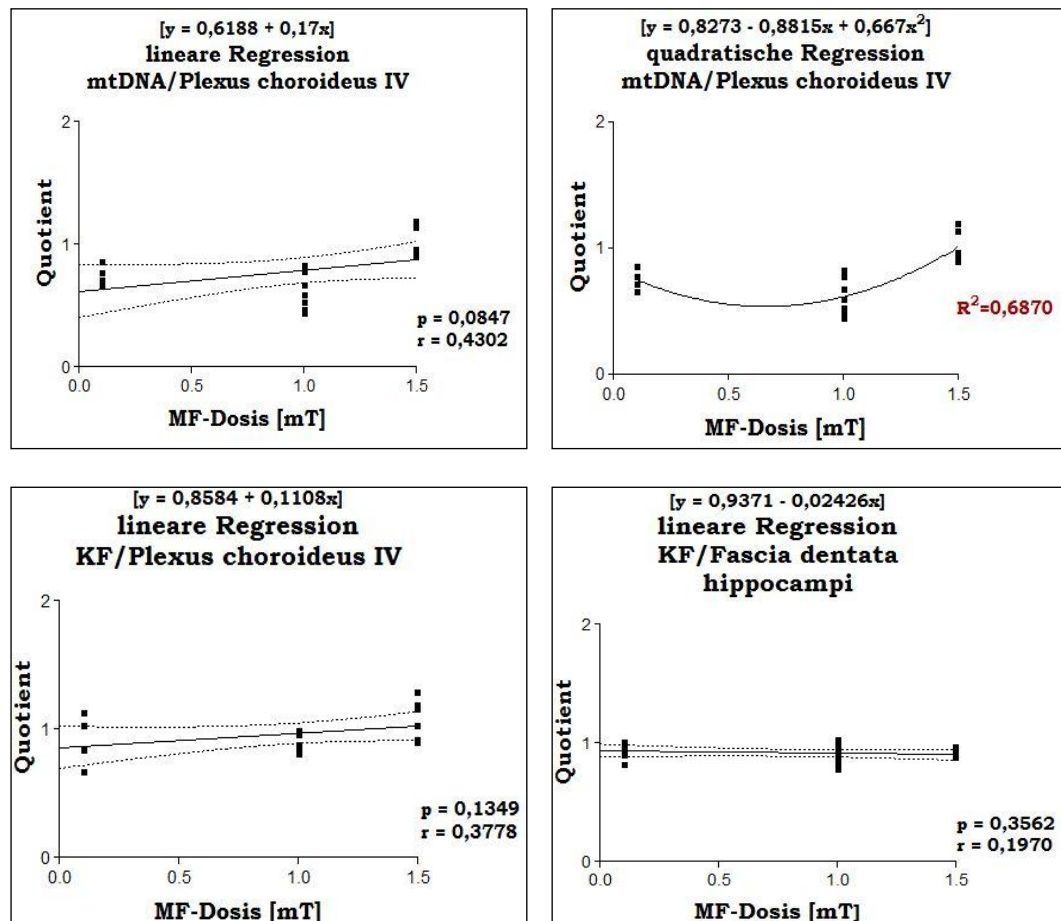
4.2.2 Einfluss der Stärke des Magnetfeldes auf den Zellmetabolismus

Während sich für den Messwert „KF“ der hier untersuchten Zellarten im Univarianztest keine Signifikanzen in Bezug auf die applizierte MF-Dosis fanden, waren derartige Unterschiede durchaus im Falle der mtDNA-Synthese für Plexusepithelzellen (insbesondere im IV. Ventrikel) vorhanden. Allerdings machten die post hoc t-Tests deutlich, dass – wie schon im Falle der UDS – wiederum die Werte der nicht-exponierten Tiere am größten waren; auch waren die Werte 7 d nach Abschaltung des MF höher, als 5 min nach Abschaltung des MF.

Zur Interpretation hilft auch hier eine Regressionsanalyse unter Einbezug der Daten einer gleichartigen, früheren Studie nach MF-Exposition mit 1,5 mT weiter (Keller, 2003):

Wie aus Abb. 4.2 hervorgeht, ist unter der Annahme eines linearen Regressionsmodells zwar keine signifikante Korrelation und damit auch keine Regression vorhanden. Wählt man aber ein quadratisches Regressionsmodell, so erhält man eine gute Übereinstimmung mit den Messwerten (multipler Korrelationskoeffizient $R^2 = 0,687$ gegenüber $r = 0,4302$ im linearen Regressionsmodell). Dieses Ergebnis weist ebenso wie bei der UDS auf eine Schwellendosis $> 1\text{mT}$ hin, ab der eine MF-Exposition zu verstärktem Zellmetabolismus führt. Interessanterweise ergab sich ein ähnlicher Befund in dem diesen Untersuchungen vorangegangenen Pilotversuch nach einer MF-Exposition mit 1,5 mT (insbesondere) für Sammelrohrzellen der Nierenrinde (Schmitz et al., 2004); dieser Befund wurde als Anzeichen einer erhöhten zellulären Energieproduktion interpretiert. Inwiefern das für die Plexusepithelzellen auch zutrifft, ist derzeit noch unklar.

Abb. 4.2 Lineare und quadratische Regressionsanalysen für die Messwerte des Zellmetabolismus (KF und KC/ μm^2) der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels und der Granularzellen der Fascia dentata hippocampi



Quotient: KKnorm. bei entsprechender MF-Dosis/KKnorm.-Mittelwert der nichtexponierten Kontrolltiere

p: Signifikanz für $p \leq 0,05$; die Werte dieser Studie wurden mit den Daten der Pilotstudie (Keller, 2003) kombiniert.

r: Korrelationskoeffizient

R²: Maß zwischen 0 und 1 für die Korrelation der Daten bei nichtlinearen Regressionen: je größer R², desto besser stimmen die Messwerte mit der Ausgleichskurve überein.

4.3 Einfluss des Zeitpunktes der ^3H -TdR-Injektion auf UDS und Zellmetabolismus

Wie mehrfach erwähnt, erfolgte die Injektion von ^3H -TdR und damit die Messung von UDS, KF und mtDNA-Synthese zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Abschaltung des MF. Dadurch ist es möglich, zum einen die Auslösung spezifischer MF-Effekte zu studieren, zum anderen aber auch deren Aufhebung. So können also beispielsweise Informationen darüber erhalten werden, ob bzw. wann induzierte nukleäre DNA-Schäden wieder repariert werden. In den durchgeführten Univarianzanalysen geben darüber die Ergebnisse der Variablen „Zeitpunkt der ^3H -TdR Injektion“ Auskunft.

Während es für die hippocampalen Granularzellen keine signifikanten Veränderungen gab, fanden sich für die Plexusepithelzellen beider Ventrikel Signifikanzen sowohl im Hinblick auf die UDS- als auch der mtDNA-Werte. Dabei waren stets die Werte für Gruppe CIII, d.h. für eine ^3H -TdR Injektion 7 d nach Abschalten des MF von 0 mT, am höchsten. Wie bereits in Kap. 4.2.1 und 4.2.2 erwähnt, lassen die hier gefunden Ergebnisse für eine MF-Exposition mit 0,1 und 1 mT keine Hinweise auf MF-spezifische Effekte erkennen.

4.4 Einfluss der Streubreite der Messwerte auf die Aussagen zu UDS und Zellmetabolismus

Für sämtliche Messwerte (KKnorm., KF und $\text{KC}/\mu\text{m}^2$) wurden die Streubreiten je VT-Gruppe bestimmt. Hierbei bezog sich die relative Standardabweichung auf den Mittelwert und wurde in Prozent angegeben. Wie im Ergebnisteil ausführlich dargestellt, zeigten sich in der vorliegenden Arbeit keine Zusammenhänge zu den jeweiligen MF-Expositionsdosen.

Die Tabellen 4.2 bis 4.4. dienen dem Vergleich zwischen den vorliegenden Daten und denen früherer Studien. Bzgl. der Zellkernmarkierung (Tab. 4.2) fällt auf, dass bei den Plexusepithelzellen und den Hepatozyten deutlich geringere interindividuelle Schwankungen auftraten als bei den anderen Zellarten. Ob hier auch geringere funktionelle Unterschiede zwischen den einzelnen Zellen bestehen, lässt

sich nach derzeitigem Stand der Wissenschaft nicht beantworten. Auch wenn sich in einzelnen Fällen eine Abhängigkeit zwischen Streubreite und MF-Dosis andeutet (vgl. Brauns, 2009), so wird im Gesamtüberblick klar, dass dies generell gesehen nicht der Fall ist.

Die Streubreiten der Zellkernprojektionsflächen (Tab. 4.3) wurden nur der Vollständigkeit halber aufgeführt und werden nicht näher betrachtet, da sich hier einzig eventuelle stärkere Abweichungen des Kerns von der (idealen) Kugelform widerspiegeln.

Bzgl. der zytoplasmatischen Silberkorndichte (Tab 4.4) waren die Streubreiten der Plexusepithelzellen und Hepatozyten unauffällig. Auch hier zeigte sich kein Zusammenhang zwischen MF-Exposition und Höhe der Standardabweichung.

Zusammengefasst dürften die Streubreiten demnach keinen Einfluss auf die Aussagen zu UDS und Zellmetabolismus gehabt haben.

Erläuterung zu Tab 4.2-4.4 (siehe nachfolgende Seiten):

Relative Streubreiten (d.h. in Bezug auf den jeweiligen Mittelwert) für die Zellkernmarkierung (4.2), die Zellkernprojektionsflächen (4.3) und die zytoplasmatische Markierungsdichte (4.3) von verschiedenen Zellarten der adulten Maus im UDS-Versuch nach einer achtwöchigen 50 Hz MF-Exposition.

MW: Mittelwert der angeführten Einzelwerte einer Zeile

BB: Brauns (2009); BMK: Kever (2008); CH: Hüsing (2009);

EK: Keller (2003); KaF: vorliegende Arbeit; KB: Bosse (2009);

SS: Salimi (2009); TF: Freuding (2004)

Tab. 4.2 Relative Streubreiten für die Zellkernmarkierung (KKnorm)

Organ	Kompartiment	Zellart	Autor	VT-Gruppe // MF-Dosis // ³ H-TdR-Injektionszeitpunkt									
				AIII 0 mT 5 min	CIII 0 mT 7 d	AII 0,1 mT 5 min	BII 0,1 mT 24 h	CII 0,1 mT 7 d	AI 1 mT 5 min	BI 1 mT 24 h	CI 1 mT 7 d	1,5 mT 5 min	MW
Gehirn	Seitenventrikel	Plexusepithelzellen	KaF	8,7	7,3	9,9	-	-	8,0	5,4	5,3	-	7,4
	vierter Ventrikel	Plexusepithelzellen	KaF	7,4	6,8	6,6	-	-	7,4	1,4	5,8	-	5,9
			EK	14,3	-	-	-	-	-	-	-	21,3	17,8
	Hippocampus	Fascia dentata	KaF	3,3	17,3	10,5	-	-	12,2	7,0	6,9	-	9,5
		Granularzellen	EK	24,6	-	-	-	-	-	-	-	34,3	29,5
		Pyramidenzellen CA 1/2	EK	33,3	-	-	-	-	-	-	-	25,7	29,5
		Pyramidenzellen CA 3	EK	32,9	-	-	-	-	-	-	-	36,5	34,7
	Cerebellum	Purkinjezellen	BB	13,5	25,9	29,1	-	-	32,5	26,8	21,0	-	24,8
			EK	16,7	-	-	-	-	-	-	-	13,4	15,1
	Ncl. caudatus	Granularzellen	EK	12,7	-	-	-	-	-	-	-	17,9	15,3
		Neurone	BB	17,6	18,3	18,8	-	-	16,8	19,6	13,7	-	17,5
		Oligodendrozyten	BB	18,4	31,2	19,4	-	-	28,7	27,2	10,4	-	22,5
		Endothelzellen	BB	2,4	29,7	13,1	-	-	26,1	27,2	21,1	-	19,9
Niere	Cortex	Endothelzellen	TF	18,9	-	-	-	-	-	-	-	15,3	17,1
		Gliazellen	EK	16,2	-	-	-	-	-	-	-	20,3	18,3
			EK	21,7	-	-	-	-	-	-	-	34,4	28,1
		Pyramidenzellen	SS	22,3	14,7	41,6	19,5	33,6	30,2	22,0	19,8	-	25,5
	Tubulus	proximale Tubulusepithelzellen	EK	13,7	-	-	-	-	-	-	-	19,0	16,4
			TF	19,3	-	-	-	-	-	-	-	15,5	17,4
		distale Tubulusepithelzellen	SS	30,9	25,2	24,1	19,4	28,0	28,3	33,8	17,8	-	25,9
			TF	13,0	-	-	-	-	-	-	-	20,9	17,0
	Sammelrohr	Zellen des Cortex	KB	21,3	28,9	21,2	13,0	23,3	32,0	20,2	23,7	-	23,0
			KB	36,6	45,1	16,0	49,2	14,6	15,2	51,6	23,4	-	31,5
		Zellen der Medulla	TF	4,8	-	-	-	-	-	-	-	15,2	10,0
			CH	20,0	49,0	29,0	45,0	46,0	32,0	18,0	33,0	-	34,0
Milz	Corona	B-Lymphozyten	BMK	4,3	3,7	3,5	2,5	4,4	2,7	1,2	2,4	-	3,1
Leber	Zentralvenen	diploide Hepatozyten											

Legende s. S. 79

Tab. 4.3 Relative Streubreiten für die Zellkernprojektionsflächen (KF)

Organ	Kompartiment	Zellart	Autor	VT-Gruppe // MF-Dosis // ³ H-TdR-Injektionszeitpunkt											
				AIII	CHII	AII	BII	CII	AI	BI	CI	1,5 mT	5 min	MW	
				0 mT 5 min	0 mT 7 d	0,1 mT 5 min	0,1 mT 24 h	0,1 mT 7 d	1 mT 5 min	1 mT 24 h	1 mT 7 d	1 mT 5 min	1,5 mT 5 min	MW	
Gehirn	Seitenventrikel	Plexusepithelzellen	KaF	4,5	5,7	6,7	-	-	15,2	6,7	5,3	-	-	7,3	
	vierter Ventrikel	Plexusepithelzellen	KaF	4,2	15,6	19,3	-	-	7,7	9,9	10,8	-	-	11,2	
			EK	11,7	-	-	-	-	-	-	-	-	14,7	13,2	
	Hippocampus	Fascia dentata	KaF	8,8	7,5	6,4	-	-	9,1	8,6	7,7	-	-	8,0	
		Granularzellen	EK	8,7	-	-	-	-	-	-	-	-	4,0	6,4	
		Pyramidenzellen CA 1/2	EK	14,5	-	-	-	-	-	-	-	-	5,9	10,2	
		Pyramidenzellen CA 3	EK	15,1	-	-	-	-	-	-	-	-	7,1	11,1	
	Cerebellum	Purkinjezellen	BB	24,5	17,9	17,6	-	-	21,5	13,6	12,7	-	-	18,0	
			EK	6,7	-	-	-	-	-	-	-	-	11,1	8,9	
		Granularzellen	EK	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	7,4	5,8	
Niere	Ncl. caudatus	Neurone	BB	6,4	7,4	8,0	-	-	5,6	11,8	5,7	-	-	7,5	
		Oligodendrozyten	BB	4,7	8,1	3,7	-	-	11,1	8,1	8,5	-	-	7,4	
		Endothelzellen	BB	3,8	5,6	6,7	-	-	6,3	3,3	4,0	-	-	5,0	
		Endothelzellen	TF	3,6	-	-	-	-	-	-	-	-	3,2	3,4	
	Cortex	Gliazellen	EK	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	4,4	4,0	
		Pyramidenzellen	EK	9,5	-	-	-	-	-	-	-	-	6,7	8,1	
	Tubulus	proximale Tubulusepithelzellen	SS	7,2	8,7	13,7	7,3	7,4	8,2	7,1	14,5	-	-	9,3	
			EK	8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	9,1	8,6	
			TF	5,4	-	-	-	-	-	-	-	-	5,9	5,7	
		distale Tubulusepithelzellen	SS	10,2	6,0	9,9	5,8	5,1	8,8	5,5	4,8	-	-	7,0	
Niere	Sammelrohr		TF	11,2	-	-	-	-	-	-	-	-	6,4	8,8	
		Zellen des Cortex	KB	4,6	5,8	10,0	6,6	11,1	13,1	11,6	5,9	-	-	8,6	
			KB	9,9	9,6	8,3	12,8	11,8	22,4	6,9	4,4	-	-	10,8	
		Zellen der Medulla	TF	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	4,1	3,0	
	Corona	B-Lymphozyten	CH	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	0,1	
	Zentralvenen	diploide Hepatozyten	BMK	6,6	5,3	4,6	3,5	7,1	6,0	6,3	9,6	-	-	6,1	

Legende s. S. 79

Tab. 4.4 Relative Streubreiten für die zytoplasmatische Markierungsdichte (KC/ μm^2)

Organ	Kompartiment	Zellart	Autor	VT-Gruppe // MF-Dosis // ^3H -TdR-Injektionszeitpunkt									
				AIII 0 mT 5 min	CIII 0 mT 7 d	AII 0,1 mT 5 min	BII 0,1 mT 24 h	CII 0,1 mT 7 d	AI 1 mT 5 min	BI 1 mT 24 h	CI 1 mT 7 d	1,5 mT 5 min	MW
Gehirn	Seitenventrikel	Plexusepithelzellen	KaF	17,7	16,8	14,7	-	-	30,0	8,6	16,4	-	17,4
	vierter Ventrikel	Plexusepithelzellen	KaF	5,9	23,7	9,9	-	-	22,5	22,3	11,0	-	15,9
			EK	17,4	-	-	-	-	-	-	-	12,2	14,8
	Hippocampus	Fascia dentata	KaF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Granularzellen	EK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pyramidenzellen CA 1/2	EK	44,0	-	-	-	-	-	-	-	17,0	30,5
	Cerebellum	Pyramidenzellen CA 3	EK	29,0	-	-	-	-	-	-	-	24,3	26,7
		Purkinjezellen	BB	16,3	15,8	16,9	-	-	22,3	13,4	13,9	-	16,4
		Granularzellen	EK	20,8	-	-	-	-	-	-	-	6,6	13,7
	Ncl. caudatus		BB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Neurone	BB	16,9	10,8	14,9	-	-	20,8	17,3	10,9	-	15,3
		Oligodendrozyten	BB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cortex	Endothelzellen	BB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Endothelzellen	TF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Niere	Tubulus	Gliazellen	EK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pyramidenzellen	EK	14,3	-	-	-	-	-	-	-	11,1	12,7
		proximale Tubulusepithelzellen	SS	28,1	13,2	23,5	16,7	20,9	23,9	21,9	15,3	-	20,4
	distale Tubulusepithelzellen		EK	16,3	-	-	-	-	-	-	-	25,5	20,9
			TF	16,8	-	-	-	-	-	-	-	7,0	11,9
			SS	18,4	29,3	12,9	18,2	28,7	22,7	32,0	21,8	-	23,0
	Zellen des Cortex		TF	9,0	-	-	-	-	-	-	-	13,2	11,1
			KB	22,3	22,4	12,7	36,4	32,7	28,2	15,9	22,1	-	24,1
			KB	12,7	34,6	25,0	38,8	18,1	34,5	35,4	13,6	-	26,6
	Sammelrohr	Zellen der Medulla	TF	5,3	-	-	-	-	-	-	-	10,6	8,0
Milz	Corona	B-Lymphozyten	CH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leber	Zentralvenen	diploide Hepatozyten	BMK	19,8	25,1	13,5	13,5	27,9	17,1	11,0	12,5	-	17,6

Legende s. S. 79

5 Zusammenfassung

- 1) Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Effekte einer achtwöchigen Magnetfeld (MF)-Exposition (50 Hz, konstante Flussdichte von 1 mT bzw. 0,1 mT) von 9 Monate alten Mäusen auf spezifische Zellarten im Gehirn (Plexusepithelzellen des II. und IV. Ventrikels, Granularzellen der Fascia dentata hippocampi und Endothelzellen des Cortex). Dies erfolgte durch Auswertung von Autoradiogrammen nach Injektion von ^3H -TdR in Hinblick auf nukleäre (n)DNA-Reparatursynthese (UDS), mitochondriale (mt)DNA-Neusynthese und Zellkernprojektionsflächen. Damit sollten Rückschlüsse auf MF-induzierte nDNA-Schäden und ihre Reparatur sowie auf den Zellmetabolismus ermöglicht werden.

- 2) Insgesamt handelte es sich um 80 männliche Versuchstiere, die zufällig in vier Gruppen aufgeteilt wurden. Gruppe I und II umfassten jeweils 29 Tiere, welche einem Magnetfeld der Stärke 1 mT (I) bzw. 0,1 mT (II) ausgesetzt wurden. Als Kontrolle wurden 15 Tiere unter identischen Haltungsbedingungen mit 0 mT scheinexponiert (Gruppe III). Nach Abschaltung des MF bzw. Beendigung der Schein-Exposition wurde bei allen Tieren 555 kBq ^3H -Thymidin(TdR) pro Gramm Körpergewicht i.p. injiziert, und zwar entweder nach 5 min (Gruppe A), 24 h (Gruppe B) oder 7 d (Gruppe C). Zwei Stunden später kam es mittels intrakardialer Perfusionsfixation zur Tötung der Tiere. Folgende Organe wurden entnommen und in Paraffin eingebettet: Gehirn, Leber, Niere und Milz. In Hinblick auf die vorliegende Arbeit erstellte man 3 μm dicke, paramediane Gehirn-Sagittalschnitte. Aus diesen histologischen Präparate wurden dann nach einer Feulgen-Färbung per Dipping-Methode Autoradiogramme hergestellt (Belichtungszeit 250 d). Die lichtmikroskopischen Auswertungen fanden bei 1250facher Vergrößerungen statt. Pro Zellart und Tier wurden 100 fortlaufende Zellen untersucht. Bei den Plexusepithelzellen (des II. und IV. Ventrikels) wurden sowohl die Zellkern- als auch die Zytoplasmaprojektionsflächen inklusive der jeweils darüber befindlichen Silberkörner registriert. Bei den Granular- und Endothelzellen beschränkten sich die

Untersuchungen auf den Zellkern. Zur Backgroundkorrektur wurden zusätzlich die entsprechenden Zellen von 6 weiteren Mäusen ohne MF-Exposition und ohne ^3H -TdR-Injektion untersucht. Danach wurden die nukleären Silberkornzahlen in Hinblick auf eine einheitliche DNA-Menge pro Anschnittsvolumen normiert. Die Silberkornzahlen über dem Zytoplasma wurden zur Berechnung der Silberkorndichte durch die zugehörigen Projektionsflächen dividiert. Dieses Vorgehen ermöglichte einen direkten Vergleich der verschiedenen Zellarten und Versuchstiere.

- 3) Um prinzipielle Fehler bei der Autoradiogrammherstellung zu erkennen und entsprechende Präparate auszuschließen, wurden kumulative Häufigkeitsverteilungen der Silberkörner analysiert. Weiterhin wurden die Mittelwerte der einzelnen VT-Gruppen verglichen, wobei zunächst eine Univarianzanalyse erfolgte und danach post-hoc t-Tests unter Berücksichtigung einer Bonferroni-Korrektur. Desweiteren erfolgte, im Rahmen von linearen und quadratischen Regressionsanalysen, eine Kombination der vorliegenden Daten mit denen einer vorangegangenen Pilotstudie (Schmitz et al., 2004).
- 4) Bezüglich des Einflusses der MF-Stärke auf die UDS gab es einzig bei den Plexusepithelzellen (beider Ventrikel) signifikante Befunde. Überraschenderweise waren die UDS-Raten nach Exposition mit 1 mT MF-Dosis deutlich kleiner als ohne MF-Exposition. Dies dürfte aber wahrscheinlich aufgrund von MF-unabhängigen Effekten entstanden sein; möglicherweise spielte Stress durch akustische Signale von anderen Tieren eine entscheidende Rolle. Dagegen deuteten die Ergebnisse von linearen und quadratischen Regressionsanalysen darauf hin, dass es in den Plexusepithelzellen erst ab einer Schwellendosis oberhalb von 1 mT zu nDNA-Schäden gekommen sein dürfte. Für die Granularzellen der Fascia dentata hippocampi konnte insgesamt keine schädigende Wirkung durch MF-Exposition festgestellt werden.

- 5) Für die zytoplasmatische Markierung der Plexusepithelzellen ergab sich – ähnlich wie bei den Zellkernen – ebenfalls ein signifikanter Abfall zwischen 0 mT und 1 mT MF-Exposition. Wahrscheinlich ist dies auch hier auf MF-unabhängige Faktoren zurückzuführen. Obgleich im linearen Regressionsmodell keine Korrelation zwischen MF-Dosis und Markierung vorhanden war, zeigte sich jedoch im quadratischen Regressionsmodell eine gute Übereinstimmung. Somit kann, wie schon im Falle der UDS, davon ausgegangen werden, dass MF-Exposition mit einer Dosis größer 1 mT zu erhöhtem Zellstoffwechsel führt.

6 Literaturverzeichnis

Ashwell M., Work T.S. (1970)

„The biogenesis of mitochondria.”

Ann. Rev. Biochem. 39, pp. 251-290

Benders J. (2000)

„DNA-Reparatur und mitochondriale DNA-Syntheserate verschiedener Zellarten im Gehirn fetaler, junger und adulter Mäuse nach einer schwachen Röntgenbestrahlung während der Fetalzeit.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

BioInitiative Working Group (2007)

„BioInitiative Report: A Rationale for a Biologically-based Public Exposure Standard for Electromagnetic Fields (ELF and RF)”

www.bioinitiative.org/report/index.htm

Born T.B. (2009)

„Autoradiographische Untersuchungen zu nukleären DNA-Strangbrüchen in unterschiedlichen Zellarten im Gehirn der Maus nach einer achtwöchigen 50 Hz Magnetfeldexposition.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Bosse K. (2009)

„Einfluss einer achtwöchigen 50 Hz Magnetfeld-Exposition auf DNA-Reparatur und mitochondriale DNA-Synthese von Sammelrohr-Epithelzellen der Niere.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Boyce R.P., Howard-Flanders P. (1964)

„Release of ultraviolet light-induced thymidine dimmers from DNA in E.coli K-12”

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 51, pp. 293-300

Brasnjevic I., Hof P.R., Steinbusch H.W.M., Schmitz C. (2008)

“Accumulation of nuclear DNA damage or neuron loss: Molecular basis for a new approach to understanding selective neuronal vulnerability in neurodegenerative diseases”

DNA Repair 7 (2008), pp. 1087–1097

Brauns B. (2009)

„Autoradiographische Modelluntersuchungen an der Maus zum Einfluss einer achtwöchigen 50 Hz Magnetfeld-Exposition auf DNA-Reparatur und mitochondriale DNA-Synthese in Zellarten von Nucleus caudatus und Cerebellum.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Cleaver J.E., Thomas G.H. (1981)

“Measurement of unscheduled synthesis by autoradiography.”

DNA Repair. A Laboratory Manual of Research Procedures, Vol. 1B (E. C. Friedberg and P.C. Hanawalt, Eds.), pp. 277-287, Dekker, New York

Djordjevic B., Tolmach L.J. (1967)

“Responses of synchronous populations of HeLa cells to ultraviolet irradiation of selected stages of the generation cycle.”

Radiat. Res. 32, pp. 327-346

Feinendegen L.E. (1967)

“Tritium-labeled molecules in biology and medicine.”

Academic Press, New York, London

Fox M., Ayad S.R., Fox B.W. (1970)

“Characteristics of “repair synthesis” in X-irradiated P388F lymphoma cells.”

Int. J. Radiat. Biol. 18, pp. 101-110

Freuding T. (2004)

„Autoradiographische Untersuchungen an Gehirn und Niere adulter Mäuse auf mögliche DNA-Schäden nach einer achtwöchigen 50 Hz Magnetfeld-Exposition.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Giuffrida A.M., Del Prete G., Gadaleta M.N., Geremia E., Remis M., Saccone C., Serra I. (1979)

“Mitochondrial DNA, RNA and protein synthesis in different regions of developing rat brain.”

Neurochem. Res. 4, pp. 37-52

Hüsing C.E.G. (2009)

„Autoradiographische Modelluntersuchungen an der Maus zum Einfluss einer achtwöchigen 50 Hz-Magnetfeld-Exposition auf DNA-Reparatur und Zellproliferation in der Milz.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Iseki S. (1986)

“DNA Strang breaks in rat tissues as detected by in situ nick translation.”

Exp. Cell Res. 167, pp. 311-326

Iseki S., Mori T. (1985)

“Histochemical detection of DNA strand scissions in mammalian cells by in situ nick translation.”

Cell Biol. Intern. Rep. 9, pp. 471-477

Jansen A. (1992)

„Autoradiographische Untersuchungen mit ³H-Thymidin zur Charakterisierung der spontanen DNA-Reparatur und zur Wirkung von Immobilisationsstress in verschiedenen Zellarten von Gehirn, Leber, Niere und Skelettmuskel der adulten Maus.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Keller E. (2003)

„Autoradiographische Untersuchungen zum Einfluss einer 50 Hz Magnetfeldexposition auf DNA-Reparatur und mitochondriale DNA-Synthese verschiedener Zellarten in Gehirn und Niere der adulten Maus.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Kever B.M. (2008)

„Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin an der Leber adulter Mäuse auf mögliche nukleäre und mitochondriale DNA-Schäden nach einer achtwöchigen 50 Hz Magnetfeldexposition.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Korr H. (1985)

“Determination of correction factors of ^3H - β -self absorption for quantitative evaluation of grain number in autoradiographic studies: interferometric studies of different cell types in the mouse brain.”

Histochemistry 88, pp. 65-70

Korr H., Bauer K., Bunzeck A.S., Nacken M., Karbach F.T. (1997a)

“Correction factors of ^3H - β -self-absorption for quantitative autoradiography of different cell types in the brain of pre- and postnatal mice.”

Histochem. Cell Biol. 108, pp. 537-541

Korr H., Koeser K., Oldenkott S., Schmidt H., Schultze B. (1989)

“X-ray dose-effect relationship on unscheduled DNA Synthesis and spontaneous unscheduled DNA Synthesis in mouse brain cells studied in vivo.”

Radiat. Environ. Biophys. 28, pp. 13-26

Korr H., Kurz C., Seidler T.O., Sommer D., Schmitz C. (1998)

“Mitochondrial DNA synthesis studied autoradiographically in various cell types in vivo.”

Braz. J. Med. Biol. Res. 31, pp. 289-298

Korr H., Philippi V., Helg C., Schiefer J., Graeber M.B., Kreutzberg G.B. (1997b)

“Unscheduled DNA synthesis and mitochondrial DNA synthetic rate following injuring of the facial nerve.”

Acta Neuropathol. 94, pp. 557-566

Korr H., Rohde H.T., Benders J., Dafotakis M., Grolms N., Schmitz C. (2001)

“Neuron loss during early adulthood following prenatal low-dose X-irradiation in the mouse brain.”

Int. J. Radiat. Biol. 77, pp. 567-580

Korr H., Schmidt H. (1988)

“An improved procedure for background correction in autoradiography.”

Histochemistry 88, pp. 407-410

Korr H., Schmidt H. (1989)

“A new procedure for correcting background in quantitative autoradiographic studies.”

Acta Histochem. Suppl. XXXVII, pp. 149-155

Korr H., Schultze B. (1989)

“Unscheduled DNA synthesis in various types of cells of the mouse brain in vivo.”

Exp. Brain Res. 74, pp. 573-578

Korr H., Schultze B., Maurer W. (1973)

“Autoradiographic investigations of glial proliferation in the brain of adult mice. I. The DNA synthesis phase of neuroglia and endothelial cells.”

J. Comp. Neurol. 150, pp. 169-175

Kurz C. (1993)

„Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin zur mitochondrialen DNA-Synthese im Cytoplasma verschiedener Zellarten im Gehirn der adulten Maus.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Laeng H., Bolli A., Schaffner R., Schindler R., Schneider R., Zimmermann T. (1988)

“Participation of mitochondrial proliferation in morphological differentiation of murine mastocytoma cells.”

Exp. Cell Res. 179, pp. 222-232

Lai H., Singh N.P. (2004)

“Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat.”

Environ. Health Perspect. 112, pp. 687-694

Lang W., Maurer W. (1965)

„Zur Verwendbarkeit von Feulgen-gefärbten Schnitten für quantitative Autoradiographie mit markierten Thymidin.“

Exp. Cell Res. 39, SS. 1-9

Lindahl T, Nyberg B.(1972)

“Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid.”

Biochemistry 11, pp. 3610-3618

Malyapa R.S., Ahern E.W., Bi C., Straube W.L., LaRegina M., Pickard W.F., Roti Roti J.L. (1998)

“DNA damage in rat brain cells after in vivo exposure to 2450 MHz electromagnetic radiation and various methods of euthanasia.”

Radiat. Res. 149, pp. 637-645

Maurer W., Primbsch E. (1964)

„Größe der β -Selbstabsorption bei der ^3H -Autoradiographie.“

Exp. Cell Res. 33, SS. 8-18

May B. (1991)

„Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin zum Einfluß einer Röntgenbestrahlung des Kopfes bzw. einer Chloralhydratnarkose auf das Proliferationsverhalten von Zellen der subependymalen Schicht sowie Glia- und Endothelzellen im Gehirn der adulten Maus.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

McCann J., Dietrich F., Rafferty C. (1998)

“The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update.”

Mutat Res. 411, pp. 45-86

McElroy J.A., Egan K.M., Titus-Ernstoff L., Anderson H.A., Trentham-Dietz A., Hampton J.M., Newcomb P.A. (2007)

“Occupational exposure to electromagnetic field and breast cancer risk in a large, population-based, case-control study in the United States.”

J Occup Environ Med. 49, pp. 266-274

McNamee J.P., Bellier P.V., McLean J.R.N., Marro L., Gajda G.B., Thansandote A. (2002)

“DNA damage and apoptosis in the immature mouse cerebellum after acute expose to a 1 mT, 60 Hz magnetic field.”

Mutat. Res. 513, pp. 121-133

Moulder J.E., Erdreich L.S., Malyapa R.S., Merritt J., Pickard W.F., Vijayalaxmi (1999)

“Cell phones and cancer: what is the evidence for a connection?”
Radiat. Res. 151, pp. 513-531

Nagino M., Kanai M., Kubota H., Nimura Y., Nishikimi M., Tanaka M. (1989)

“Stimulated rat liver mitochondrial biogenesis after partial hepatectomie.”
Cancer Res. 49, pp. 4913-4918

Olive P.L. (1998)

“Molecular approaches for detecting DNA damage.”
Nickoloff J.A. and Hoekstra M.F. (Eds.) DNA damage and repair.
Humana Press: Totowa, NJ, pp. 539-557

Painter R.B., Cleaver J.E. (1969)

“Repair replication, unscheduled DNA synthesis and the repair of mammalian DNA.”
Radiat. Res. 37, pp. 451-466

Philippi V. (1994)

„Autoradiographische Untersuchungen mit ³H-Thymidin zum Einfluß einer einseitigen Facialis-Durchtrennung auf DNA-Reparatursynthese sowie mitochondriale DNA-Syntheserate in verschiedenen Zellen im Gehirn der adulten Maus.“
Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Rassmussen R.E., Painter R.B. (1964)

“Evidence for repair of ultraviolet damaged deoxyribonucleic acid in cultured mammalian cells.”
Nature 203, pp. 1360-1362

Robin E.D., Wong R. 1988

“Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells.”

J. Cell. Physiol. 136, pp. 507-513

Rogers A.W. (1979)

“Techniques of Autoradiography.”

3rd ed, Elsevier, North-Holland Biomedical Press, Amsterdam

Rohde H.T. (1999)

„Ausmaß an DNA-Strangbrüchen in verschiedenen Zellarten des Gehirns fetaler, junger und adulter Mäuse nach einer schwachen Röntgenbestrahlung während der Fetalzeit.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Röösli M., Lörtscher M., Egger M., Pfluger D., Schreier N., Lörtscher E., Locher P., Spoerri A., Minder C. (2007)

“Mortality from neurodegenerative disease and exposure to extremely low-frequency magnetic fields: 31 years of observations on Swiss railway employees.”

Neuroepidemiology 28, pp. 197-206

Salimi S. (2009)

„Autoradiographische Modelluntersuchungen an der Maus zum Einfluss einer achtwöchigen 50 Hz Magnetfeld-Exposition auf DNA-Reparatur und mitochondriale DNA-Synthese von Tubulusepithelzellen der Niere.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Schmidt H. (1990)

„Autoradiographische Untersuchungen mit Tritium-Thymidin zum Ausmaß der strahleninduzierten DNA-Reparatursynthese verschiedener Zellarten im Cerebellum und Hippocampus der adulten Maus.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Schmitz C. (1994)

„Spontane DNA-Reparatur-Synthese verschiedener Zellarten in Cortex und Hippocampus der Maus als Funktion des Lebensalters.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Schmitz C., Keller E., Freudig T., Silny J., Korr H. (2004)

“50-Hz magnetic field exposure influences DNA repair and mitochondrial DNA synthesis of distinct cell types in brain and kidney of adult mice.”

Acta Neuropathol. 107, pp. 257-264

Sega G.A., Sotomayor R.E., Owens J.G. (1978)

“A study of unscheduled DNA synthesis induced by X-rays in the germ cells of male mice.”

Mutat. Res. 49, pp. 239-257

Seidler T.O. (1997)

„Autoradiographische Untersuchungen mit ³H-Thymidin zum zeitlichen Verlauf von DNA-Markierungen in Kern und Cytoplasma verschiedener Zellarten im Gehirn der adulten Maus.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

Setlow R.B., Carrier W.L. (1964)

“The disappearance of thymidine dimers from DNA: An error-correcting mechanism.”

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 51, pp. 226-231

Silny J. (2002)

„Elektromagnetische Felder im Alltag.“

Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg.

ISSN: 0949-0280

Stillström J. (1963)

“Grain count corrections in autoradiography.”

Int. J. Appl. Rad. Isotopes 14, pp. 113-118

Stillström J. (1965)

“Grain count corrections in autoradiography-II.”

Int. J. Appl. Rad. Isotopes 16, pp. 357-363

Svendsen A.L., Weihkopf T., Kaatsch P., Schüz J. (2007)

“Exposure to magnetic fields and survival after diagnosis of childhood leukemia: a German cohort study.”

Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 16, pp. 1167-1171

Zunker U. (1992)

„Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin zum Ausmaß der spontanen DNA-Reparatur-Synthese verschiedener Zellarten im Cerebellum der Maus als Funktion des prä- und postnatalen Lebensalters.“

Diss. Med. Fak., RWTH Aachen

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis für die Tabellen 7.1-7.10

VT-Nr.: Versuchstiernummer

ARG Serie: Autoradiographieserie/Nr. der Expositionsbox; die Buchstaben beziehen sich auf die Emulsions-Charge

KK: gezählte mittlere Silberkornzahl über der Zellkernprojektionsfläche

PL: Wahrscheinlichkeit echter Markierung

KKkorrr. $^3\text{H-}\beta$: Nulleffektkorrigierter Silberkornwert unter Berücksichtigung des zellartspezifischen $^3\text{H-}\beta$ -Selbstabsorptions-Koeffizienten (über dem Zellkern)

NF: Normierungsfaktor

KKnorm.: auf ein einheitliches DNA-Volumen normierter Silberkornwert

pm(0): Anzahl der Zellen ohne Silberkornmarkierung (von 100 gezählten Zellen pro untersuchtem Tier)

KF(μm^2): Zellkernprojektionsfläche in μm^2

KC: gezählte mittlere Silberkornzahl über der Zytoplasmaprojektionsfläche

KCkorrr. $^3\text{H-}\beta$: Nulleffektkorrigierter Silberkornwert unter Berücksichtigung des zellartspezifischen $^3\text{H-}\beta$ -Selbstabsorptions-Koeffizienten (über dem Zytoplasma)

CF(μm^2): Zytoplasmaprojektionsfläche μm^2

Dkorrr.: korrigierte Silberkorndichte pro Zytoplasmaprojektionsfläche

VT-Gruppe: Versuchstiergruppe

VT-Gruppe A-C: Zeitpunkt der $^3\text{H-TdR}$ -Injektion nach MF-Abschaltung:

A = 5 min/B = 24 h/C = 7 d

VT-Gruppe I-III: MF-Dosis: I = 1 mT/II = 0,1 mT/III = 0 mT

7.2 Messwerte aller Versuchstiere

Die folgenden Tabellen 7.1 bis 7.10 geben einen Überblick über die Messwerte aller Versuchstiere. Die farbig unterlegten Werte wurden bei den weiteren Auswertungen nicht berücksichtigt (Details s. Kap. 2.7.2).

Tab. 7.1

Zellkern-Messwerte der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

	VT-Nr.	ARG Serie	KK	PL	KK korr. ³H-β	NF	KK. norm.	pm (O)	KF (µm²)
VT-Gruppe A I	18_03	T16	2,52	0,83	3,93	4,19	16,47	19	37,96
	19_03	T16	2,61	0,84	4,02	3,68	14,79	17	29,10
	20_03	T16	1,96	0,85	2,95	4,54	13,38	22	27,97
	21_03	T16	2,02	0,82	3,15	4,09	12,87	19	22,86
	22_03	T16	2,54	0,77	4,15	3,40	14,14	20	22,40
	23_03	T16	2,25	0,83	3,48	3,98	13,87	19	26,54
	24_03	T16	2,92	0,86	4,41	3,36	14,82	16	28,60
	25_03	T16	2,51	0,85	4,06	3,95	16,03	19	32,29
	26_03	T16	3,21	0,88	4,76	3,00	14,27	11	25,19
	27_03	T16	2,72	0,88	4,01	3,35	13,43	15	24,60
VT-Gruppe A II	28_03	T16	2,90	0,78	4,82	3,34	16,10	21	27,67
	29_03	T16	3,19	0,86	4,82	3,21	15,47	13	30,00
	30_03	T16	3,80	0,87	5,71	2,82	16,08	12	29,37
	31_03	T16	2,48	0,82	3,91	3,98	15,59	21	32,28
	32_03	T7	1,88	0,69	2,29	4,80	11,00	30	29,50
	33_03	T16	4,29	0,73	7,71	2,68	20,68	25	32,44
	34_03	T16	4,36	0,90	6,35	2,63	16,71	9	31,52
	35_03	T16	5,13	0,96	7,04	2,44	17,16	4	34,38
VT-Gruppe A III	38_03	T21/T6	5,27	0,85	8,07	2,35	18,95	14	32,13
	39_03	T6/T21	3,48	0,73	6,07	3,09	18,78	25	32,29
	40_03	T6	2,18	0,68	3,79	4,56	17,28	27	34,91
	41_03	T21	3,75	0,57	8,47	2,86	24,21	41	29,90
	42_03	T21	3,74	0,66	7,29	2,86	20,87	32	29,87
	43_03	T6	2,90	0,66	5,55	3,46	19,21	31	30,58
	45_03	T6	3,84	0,74	6,65	2,95	19,57	24	34,17
	46_03	T21	3,30	0,65	6,50	3,20	20,80	33	31,92
VT-Gruppe B I	47_03	T17	2,44	0,67	3,79	3,85	14,59	19	28,54
	48_03	T17	2,24	0,56	3,78	3,91	14,77	26	25,09
	49_03	T18	2,62	0,41	3,50	3,74	13,08	20	30,60
	50_03	T18	2,49	0,37	3,55	4,00	14,21	25	32,93
	51_03	T17	3,68	0,85	5,52	2,99	16,51	14	32,80
	52_03	T18	3,03	0,67	4,74	3,27	15,52	27	28,58
	53_03	U14	3,54	0,83	4,82	2,96	14,28	14	29,49
	54_03	U14	4,24	0,84	5,88	2,73	16,07	13	33,39
	55_03	U4	2,21	0,45	5,05	4,11	20,75	44	27,69
	56_03	U4	2,21	0,45	5,05	4,11	20,75	44	27,69
VT-Gruppe C I	73_03	T18	4,54	0,77	6,75	2,62	17,71	19	33,82
	74_03	T18	4,90	0,84	6,77	2,58	17,44	13	37,33
	75_03	T18	3,63	0,69	5,76	3,12	17,96	25	35,87
	76_03	T18	4,63	0,81	6,57	2,56	16,79	15	32,53
	77_03	T18	5,16	0,79	7,64	2,45	18,72	17	35,35
	78_03	T18	4,15	0,83	5,63	2,74	15,43	14	32,36
	79_03	T18	3,97	0,73	6,07	2,88	17,49	22	34,30
	80_03	T18	3,68	0,69	5,87	3,08	18,06	25	35,57
	81_03	T18	3,99	0,77	5,80	2,78	16,16	19	31,31
	82_03	T21	2,52	0,72	4,41	3,96	17,47	28	32,88
VT-Gruppe C III	92_03	T20	4,03	0,70	7,12	2,84	20,19	27	33,79
	93_03	T22	5,73	0,88	8,48	2,22	18,87	12	31,56
	94_03	T22	4,26	0,80	6,87	2,62	17,98	19	29,53
	95_03	T22	4,11	0,81	6,54	2,72	17,80	18	31,05
	96_03	T22	5,47	0,87	8,17	2,27	18,55	13	30,78
	97_03	T22	5,53	0,83	8,67	2,33	20,23	16	34,58
	98_03	T22	4,94	0,75	8,54	2,42	20,69	24	31,24
	99_03	T22	7,62	0,84	11,90	1,87	22,22	15	29,00

Tab. 7.2

Zytoplasma-Messwerte der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels

	VT-Nr.	ARG Serie	KC	PL	KC korr. ³ H-β	CF (µm²)	D korr.	pm (0)
VT-Gruppe A I	18_03	T16	3,48	0,86	4,51	62,70	0,0719	11
	19_03	T16	8,25	1,00	10,13	69,12	0,1465	0
	20_03	T16	5,96	0,94	7,58	70,15	0,1081	5
	21_03	T16	6,30	1,00	7,57	57,28	0,1322	0
	22_03	T16	8,38	1,00	10,30	52,28	0,1970	0
	23_03	T16	6,34	0,97	7,86	52,36	0,1501	2
	24_03	T16	8,30	1,00	10,19	65,06	0,1567	0
	25_03	T16	6,48	0,92	8,49	62,65	0,1355	6
	26_03	T16	9,63	1,00	11,93	57,43	0,2078	0
	27_03	T16	10,49	1,00	13,06	57,25	0,2281	0
VT-Gruppe A II	28_03	T16	10,63	1,00	13,24	67,28	0,1968	0
	29_03	T16	10,96	1,00	13,68	63,01	0,2171	0
	30_03	T16	12,19	1,00	15,29	62,62	0,2441	0
	31_03	T16	7,74	0,96	9,85	56,52	0,1743	3
	32_03	T7	6,55	1,00	6,73	54,23	0,1242	3
	33_03	T16	12,83	1,00	16,13	60,56	0,2663	0
	34_03	T16	13,71	1,00	17,28	74,44	0,2321	0
	35_03	T16	14,60	1,00	18,44	66,90	0,2757	0
VT-Gruppe A III	38_03	T21/T6	10,83	0,99	12,71	53,69	0,2367	1
	39_03	T6/T21	10,32	0,97	12,04	55,95	0,2152	2
	40_03	T6	7,68	1,00	8,21	58,83	0,1396	0
	41_03	T21	14,47	0,96	18,08	61,51	0,2939	3
	42_03	T21	12,12	0,97	14,72	57,38	0,2566	2
	43_03	T6	8,60	0,92	10,24	52,22	0,1962	5
	45_03	T6	12,48	1,00	14,50	59,93	0,2420	0
	46_03	T21	8,12	0,97	9,31	58,77	0,1585	2
VT-Gruppe B I	47_03	T17	9,07	0,98	11,29	61,61	0,1833	2
	48_03	T17	8,17	0,99	10,00	57,38	0,1742	1
	49_03	T18	7,62	0,95	8,36	61,63	0,1356	3
	50_03	T18	8,26	0,92	9,54	68,60	0,1390	5
	51_03	T17	14,37	1,00	18,01	68,61	0,2625	0
	52_03	T18	12,13	1,00	13,85	62,67	0,2210	0
	53_03	U14	12,99	1,00	15,25	63,17	0,2414	0
	54_03	U14	11,57	1,00	13,39	63,74	0,2100	0
VT-Gruppe C I	55_03	U4	7,73	0,94	9,65	62,05	0,1556	5
	73_03	T18	13,31	0,98	15,71	64,23	0,2446	1
	74_03	T18	15,01	1,00	17,62	63,95	0,2755	0
	75_03	T18	13,29	0,98	15,68	69,65	0,2251	1
	76_03	T18	16,36	1,00	19,39	63,87	0,3035	0
	77_03	T18	18,42	1,00	22,09	66,10	0,3341	0
	78_03	T18	14,75	1,00	17,28	71,02	0,2433	0
	79_03	T18	13,19	1,00	15,24	70,74	0,2154	0
	80_03	T18	13,03	0,98	15,33	72,86	0,2104	1
	81_03	T18	15,02	1,00	17,63	73,33	0,2405	0
VT-Gruppe C III	82_03	T21	10,18	0,96	12,24	61,59	0,1986	3
	92_03	T20	11,87	0,99	14,27	65,51	0,2178	1
	93_03	T22	16,03	0,99	20,28	73,75	0,2750	1
	94_03	T22	14,83	1,00	18,50	70,99	0,2605	0
	95_03	T22	16,26	1,00	20,37	64,80	0,3143	0
	96_03	T22	18,02	1,00	22,68	60,66	0,3738	0
	97_03	T22	19,02	1,00	23,99	67,26	0,3566	0
	98_03	T22	16,43	1,00	20,59	65,42	0,3148	0
	99_03	T22	18,93	1,00	23,87	65,28	0,3656	0

Tab. 7.3
Zellkern-Messwerte der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

	VT-Nr.	ARG Serie	KK	PL	KK korr. ³ H-β	NF	KK. norm.	pm (0)	KF (µm²)
VT-Gruppe A I	18_03	T16/T17	1,59	0,21	3,22	5,49	17,67	35	29,15
	19_03	T17/T16	1,62	0,21	2,09	5,17	10,81	30	26,21
	20_03	T16/T6	2,53	0,84	3,91	3,54	13,86	19	24,74
	21_03	T16	1,96	0,79	3,19	4,25	13,57	22	23,81
	22_03	T16	2,30	0,74	3,77	3,76	14,14	20	23,83
	23_03	T17	3,72	0,90	4,69	2,73	12,83	9	25,79
	24_03	T16	2,19	0,88	3,22	4,15	13,35	18	27,95
	25_03	T16	2,14	0,75	3,69	4,29	15,80	28	28,93
	26_03	T16/T17	3,23	0,85	4,97	3,13	15,55	14	28,68
	27_03	T16	2,30	0,76	3,91	3,78	14,78	24	24,17
VT-Gruppe A II	28_03	T16	1,88	0,70	3,44	4,45	15,31	31	24,46
	29_03	T16/T7	2,53	0,71	4,56	3,66	16,69	27	27,00
	30_03	T16/T7	2,82	0,61	4,13	3,37	13,92	19	26,90
	31_03	T16/T7	3,00	0,86	4,02	3,48	14,00	12	33,19
	32_03	T7	2,90	0,63	3,32	3,46	11,51	23	30,55
	33_03	T7/U2	3,15	0,65	5,63	2,79	15,72	30	19,68
	34_03	T16/T7	3,00	0,87	3,98	3,36	13,36	11	30,06
	35_03	T16/T7	2,91	0,78	4,74	3,51	16,67	19	31,99
VT-Gruppe A III	38_03	T6	2,50	0,52	4,06	4,01	16,26	22	33,25
	39_03	T6	5,07	0,81	8,11	2,38	19,27	18	30,91
	40_03	T6	1,33	0,35	2,77	6,58	18,24	42	31,00
	41_03	T21/U17	3,56	0,60	7,37	2,89	21,33	37	27,94
	42_03	T21/U17	2,80	0,57	5,67	3,39	19,21	37	26,87
	43_03	T6/T21	2,97	0,59	6,06	3,38	20,46	37	29,98
	45_03	T6/T21	3,30	0,73	5,75	3,10	17,82	26	29,19
	46_03	T6/T21	2,51	0,42	5,60	3,45	19,31	42	22,64
VT-Gruppe B I	47_03	T17/T18	2,35	0,34	3,19	4,01	12,78	23	29,44
	48_03	T17/T18	2,42	0,36	3,60	3,71	13,37	28	25,53
	49_03	T18/T17	2,27	0,32	3,27	3,99	13,04	27	27,12
	50_03	T18/U14	2,60	0,61	4,53	3,66	16,58	26	28,48
	51_03	T17/T18	3,34	0,75	4,92	3,11	15,30	22	30,20
	52_03	U14/T18	3,13	0,77	4,84	3,08	14,88	21	25,68
	53_03	U14/T18	2,58	0,48	4,98	3,85	19,19	36	31,98
	54_03	U14/T18	5,20	0,92	7,06	2,17	15,34	7	23,94
VT-Gruppe C I	73_03	T18	2,98	0,64	5,45	3,45	18,82	29	31,99
	74_03	T18/U14	4,38	0,80	7,12	2,79	19,85	19	37,96
	75_03	T18/U14	3,13	0,76	5,29	3,33	17,64	23	32,11
	76_03	T18/U14	3,15	0,71	5,70	3,25	18,51	28	30,34
	77_03	T18/U14	3,26	0,76	5,52	3,18	17,57	23	30,66
	78_03	T18	4,42	0,81	7,10	2,60	18,48	18	31,31
	79_03	T18/U14	3,44	0,73	6,07	2,87	17,42	26	25,45
	80_03	T18	3,36	0,83	5,21	3,28	17,08	17	35,29
	81_03	T18	4,52	0,75	7,84	2,57	20,15	24	31,51
	82_03	T21	2,76	0,53	5,40	3,60	19,44	35	30,72
VT-Gruppe C III	92_03	T20	3,50	0,66	6,81	2,93	19,97	32	28,08
	93_03	T22	3,45	0,70	6,20	3,03	18,78	28	29,85
	94_03	T22	2,97	0,50	6,73	3,34	22,47	42	29,09
	95_03	U16	4,71	0,71	8,09	2,30	18,63	26	23,97
	96_03	T22	5,11	0,82	8,01	2,34	18,73	17	29,69
	97_03	T22	4,80	0,73	8,43	2,68	22,61	25	40,53
	98_03	T22	4,32	0,78	7,06	2,68	18,92	21	32,70
	99_03	T22	5,37	0,76	9,10	2,25	20,46	23	28,78

Tab. 7.4

Zytoplasma-Messwerte der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels

	VT-Nr.	ARG Serie	KC	PL	KC korr. ³ H-β	CF (µm²)	D korr.	pm (0)
VT-Gruppe A I	18_03	T16/T17	3,70	0,90	4,43	60,04	0,0737	7
	19_03	T17/T16	5,45	0,96	5,54	61,74	0,0898	3
	20_03	T16/T6	5,33	0,99	6,18	55,02	0,1124	1
	21_03	T16	7,37	1,00	8,79	57,89	0,1518	0
	22_03	T16	5,49	0,99	6,39	49,23	0,1299	1
	23_03	T17	9,86	1,00	11,10	55,86	0,1986	0
	24_03	T16	6,49	0,99	7,73	63,96	0,1208	1
	25_03	T16	5,92	0,89	7,74	57,40	0,1349	8
	26_03	T16/T17	10,33	0,99	12,80	60,40	0,2119	1
	27_03	T16	8,07	0,97	10,01	58,46	0,1712	2
VT-Gruppe A II	28_03	T16	8,30	1,00	10,01	55,07	0,1817	0
	29_03	T16/T7	8,23	1,00	9,92	59,69	0,1661	0
	30_03	T16/T7	8,84	0,99	10,68	58,03	0,1840	1
	31_03	T16/T7	7,74	0,99	9,22	54,87	0,1681	1
	32_03	T7	9,87	1,00	11,92	61,11	0,1951	0
	33_03	T7/U2	7,11	0,87	9,55	43,60	0,2190	9
	34_03	T16/T7	9,52	0,97	11,82	59,90	0,1973	2
	35_03	T16/T7	8,48	0,99	10,35	60,17	0,1720	1
VT-Gruppe A III	38_03	T6	6,16	0,99	7,07	55,94	0,1265	1
	39_03	T6	10,50	0,98	12,96	46,82	0,2767	2
	40_03	T6	4,61	0,93	5,36	58,57	0,0915	6
	41_03	T21/U17	10,55	0,91	14,16	58,98	0,2401	7
	42_03	T21/U17	10,15	0,96	12,88	56,28	0,2288	3
	43_03	T6/T21	8,50	0,87	11,72	51,05	0,2297	10
	45_03	T6/T21	11,87	0,99	14,63	57,71	0,2536	1
	46_03	T6/T21	8,38	0,94	10,55	44,73	0,2358	5
VT-Gruppe B I	47_03	T17/T18	6,56	0,99	6,84	57,63	0,1187	1
	48_03	T17/T18	6,52	0,96	7,00	54,94	0,1273	3
	49_03	T18/T17	6,83	0,97	7,35	57,56	0,1277	2
	50_03	T18/U14	9,07	0,98	11,37	64,02	0,1776	2
	51_03	T17/T18	9,94	0,96	11,96	64,59	0,1852	3
	52_03	U14/T18	9,10	0,99	11,31	58,67	0,1927	1
	53_03	U14/T18	9,93	0,99	12,41	60,36	0,2055	1
	54_03	U14/T18	12,72	0,99	16,09	54,60	0,2946	1
VT-Gruppe C I	73_03	T18	8,12	0,99	10,01	56,67	0,1766	1
	74_03	T18/U14	10,98	1,00	13,65	66,39	0,2056	0
	75_03	T18/U14	11,24	1,00	13,99	68,55	0,2041	0
	76_03	T18/U14	12,28	1,00	15,35	67,16	0,2286	0
	77_03	T18/U14	10,53	1,00	13,06	70,80	0,1845	0
	78_03	T18	13,20	0,99	16,73	67,49	0,2479	1
	79_03	T18/U14	12,27	0,98	15,65	63,87	0,2451	2
	80_03	T18	10,69	0,99	13,40	72,13	0,1858	1
	81_03	T18	11,69	0,97	15,03	63,56	0,2364	3
	82_03	T21	10,01	0,94	12,96	58,02	0,2233	5
VT-Gruppe C III	92_03	T20	11,47	0,98	14,29	61,67	0,2317	2
	93_03	T22	9,27	0,97	11,06	64,45	0,1715	2
	94_03	T22	10,78	0,99	12,84	67,15	0,1912	1
	95_03	U16	14,65	0,96	18,94	52,11	0,3635	3
	96_03	T22	15,07	1,00	18,33	61,98	0,2957	0
	97_03	T22	12,24	1,00	14,62	70,99	0,2059	0
	98_03	T22	14,66	1,00	17,79	72,85	0,2442	0
	99_03	T22	15,82	1,00	19,31	61,07	0,3162	0

Tab. 7.5
Zellkern-Messwerte der Neurone der Fascia dentata hippocampi

	VT-Nr.	ARG Serie	KK	PL	KK korr. ³ H-β	NF	KK. norm.	pm (O)	KF (µm²)
VT-Gruppe A I	18_03	T16	4,55	0,69	6,58	2,49	29,66	24	68,34
	19_03	T16	3,93	0,59	6,47	3,64	23,52	32	63,95
	20_03	T16	5,10	0,78	6,66	2,92	19,41	17	58,62
	21_03	T16	3,40	0,56	5,69	3,76	21,39	34	52,28
	22_03	T16	4,76	0,69	6,94	3,01	20,92	24	56,15
	23_03	T17	6,13	0,82	8,11	2,54	20,60	16	55,96
	24_03	T16	5,15	0,67	7,84	2,87	22,45	26	56,76
	25_03	T17	3,37	0,64	5,29	4,23	22,34	32	69,21
	26_03	T16	11,97	0,99	13,43	1,83	24,64	1	66,54
	27_03	T16	7,61	0,89	9,16	2,28	20,92	9	60,96
VT-Gruppe A II	28_03	T16	4,02	0,65	6,03	3,38	20,38	27	55,03
	29_03	T16	4,47	0,78	5,70	3,33	18,96	17	65,13
	30_03	T16	6,77	0,85	8,43	2,52	21,20	12	66,09
	31_03	T16	5,29	0,80	6,77	2,88	19,51	16	60,77
	32_03	T16	4,04	0,62	6,36	3,50	22,27	30	61,13
	33_03	T16	4,06	0,54	7,34	3,63	26,68	36	68,14
	34_03	T16	5,00	0,77	6,58	3,11	20,46	18	67,45
	35_03	T7	5,59	0,77	7,79	2,82	21,97	19	63,83
VT-Gruppe A III	38_03	T6	5,55	0,80	7,55	2,85	21,56	17	65,20
	39_03	T21	7,01	0,85	9,25	2,50	23,10	14	69,17
	40_03	T6	3,55	0,60	6,14	3,89	23,90	34	62,40
	41_03	T21	3,19	0,58	5,78	4,14	23,93	38	58,85
	42_03	T21	5,00	0,73	7,52	3,10	23,27	25	66,81
	43_03	T21	5,26	0,73	7,94	2,96	23,54	25	65,29
	45_03	T6	3,21	0,66	4,97	4,63	23,02	29	78,92
	46_03	T6	3,22	0,61	5,39	4,49	24,22	33	73,52
VT-Gruppe B I	47_03	T18	4,27	0,73	5,68	3,32	18,83	23	58,99
	48_03	T18	5,71	0,79	7,40	2,83	20,91	18	66,99
	49_03	T18	5,99	0,82	7,53	2,61	19,67	15	58,20
	50_03	T18	5,79	0,85	6,99	2,77	19,37	13	65,08
	51_03	T18	6,67	0,83	8,40	2,68	22,50	14	77,84
	52_03	T18	3,87	0,75	4,90	3,69	18,08	21	64,49
	53_03	T18	4,92	0,71	6,91	3,11	21,50	24	65,46
	54_03	T18	7,73	0,89	9,24	2,31	21,30	9	64,85
	55_03	U4	2,73	0,41	5,53	4,57	25,30	43	55,20
VT-Gruppe C I	73_03	T18	5,44	0,85	6,50	2,93	19,05	13	67,56
	74_03	T18	8,23	0,94	9,38	2,14	20,06	5	56,68
	75_03	T18	4,55	0,71	6,30	3,22	20,31	24	61,85
	76_03	T18	7,26	0,86	8,92	2,43	21,72	12	68,43
	77_03	T18	4,08	0,68	5,76	3,51	20,21	27	62,68
	78_03	T18	6,38	0,88	7,54	2,66	20,05	10	69,68
	79_03	T18	3,95	0,62	6,08	3,77	22,89	32	70,86
	80_03	T18	4,92	0,73	6,73	2,94	19,81	23	56,07
	81_03	T18	5,06	0,73	6,95	2,98	20,74	23	61,63
	82_03	T21	3,70	0,64	6,17	3,87	23,91	33	66,86
VT-Gruppe C III	92_03	T20	5,19	0,83	6,74	3,09	20,80	15	71,35
	93_03	T22	9,27	0,67	15,71	2,07	32,52	30	64,01
	94_03	T22	6,19	0,83	8,31	2,75	22,89	15	73,00
	95_03	T22	5,44	0,84	7,15	2,91	20,79	14	66,11
	96_03	T22	5,05	0,89	6,23	2,91	18,14	10	57,21
	97_03	T22	5,49	0,78	7,78	2,96	23,01	20	70,83
	98_03	T22	4,40	0,73	6,55	3,35	21,91	24	64,09
	99_03	T20	5,98	0,77	8,47	2,68	22,68	20	62,50

Tab. 7.6

Zellkern-Messwerte der Endothelzellen des Cortex

	VT-Nr.	ARG Serie	KK	PL	KK korr. ³ H-β	NF	KK. norm.	pm (0)	KF (µm²)
VT-Gruppe A I	18_03	T16/T6	1,99	0,31	7,76	-	-	56	16,49
	19_03	T16/T17	2,23	0,41	7,32	-	-	49	14,69
	20_03	T16/T17	2,00	0,35	7,60	-	-	55	14,31
	21_03	T16	1,07	0,12	10,42	5,44	56,67	78	12,90
	22_03	T16	2,02	0,24	7,90	-	-	56	15,07
	23_03	T17	2,02	0,35	6,09	-	-	48	13,64
	24_03	T16	2,84	0,50	7,80	-	-	39	15,85
	25_03	T6	1,03	0,18	8,01	-	-	76	13,32
	26_03	T6	3,27	0,57	9,73	2,40	25,01	40	13,26
VT-Gruppe A II	27_03	T16	2,98	0,45	9,05	-	-	44	13,91
	28_03	T16	1,84	0,28	7,04	-	-	56	13,34
	29_03	T16	1,64	0,27	7,52	-	-	62	15,22
	30_03	T16	2,50	0,40	6,97	-	-	41	14,47
	31_03	T16	2,24	0,34	8,71	-	-	55	12,47
	32_03	T7	1,14	0,21	5,42	-	-	64	11,00
	33_03	T7	1,57	0,28	6,76	-	-	59	10,79
	34_03	T7	2,00	0,33	7,13	-	-	51	13,22
	35_03	T7	2,14	0,30	8,13	-	-	53	11,42
VT-Gruppe A III	38_03	T6	1,72	0,44	6,41	3,71	23,75	53	12,89
	39_03	T6	1,42	0,44	5,21	4,47	23,29	54	14,14
	40_03	T6	1,47	0,33	6,09	-	-	57	13,31
	41_03	T21	1,85	0,34	7,76	-	-	58	13,25
	42_03	T21	1,71	0,25	8,20	-	-	63	14,94
	43_03	T6	1,70	0,34	7,13	-	-	57	13,43
	45_03	T6	2,32	0,49	7,04	-	-	42	13,20
	46_03	T6	1,57	0,35	7,29	3,89	28,31	62	12,13
VT-Gruppe B I	47_03	T17	2,06	0,34	7,13	-	-	54	11,48
	48_03	T18	1,61	0,36	5,95	-	-	56	11,27
	49_03	T18	2,24	0,39	7,85	-	-	52	13,59
	50_03	T18	2,25	0,41	7,71	-	-	51	13,53
	51_03	T18	2,30	0,47	7,43	-	-	48	12,73
	52_03	T18	1,97	0,34	7,46	-	-	56	12,28
	53_03	T18	1,55	0,33	5,84	-	-	57	13,46
	54_03	T18	2,53	0,45	8,08	-	-	47	13,01
	55_03	U4	1,69	0,34	6,95	-	-	57	11,04
VT-Gruppe C I	73_03	T18	1,80	0,34	7,46	-	-	60	12,89
	74_03	T18	2,83	0,35	9,12	-	-	47	13,60
	75_03	T18	1,76	0,34	7,90	-	-	62	13,86
	76_03	T18	2,46	0,37	8,69	-	-	52	13,41
	77_03	T18	2,26	0,41	7,74	-	-	51	12,98
	78_03	T18	2,34	0,38	9,22	-	-	57	13,07
	79_03	T18	1,60	0,29	8,01	-	-	66	13,46
	80_03	T18	2,74	0,53	8,17	-	-	43	14,06
	81_03	T18	1,79	0,32	7,04	-	-	58	12,52
	82_03	T21	2,26	0,32	9,45	-	-	57	12,34
VT-Gruppe C III	92_03	T22	1,98	0,33	8,69	-	-	62	12,35
	93_03	T22	2,32	0,44	7,29	-	-	48	13,12
	94_03	T22	2,88	0,41	9,64	-	-	49	14,24
	95_03	T22	2,68	0,44	8,91	-	-	49	12,88
	96_03	T22	2,45	0,36	8,06	-	-	49	13,65
	97_03	T22	2,50	0,41	8,80	-	-	52	13,77
	98_03	T22	3,05	0,50	9,86	2,55	25,18	48	14,08
	99_03	T22	3,06	0,61	8,11	2,63	21,36	37	15,54

Tab. 7.7 Messwerte der Plexusepithelzellen des II. Ventrikels von Kontrolltieren (ohne MF-Exposition und ohne ³H-TdR-Injektion)

	ARG Serie	VT-Nr.	Seitenventrikel/ Plexus choroideus					
			KK	pm (0)	KF (µm²)	KC	pm (o)	CF (µm²)
VT-Gruppe ohne ³ H-TdR Vormarkierung	T6	67_03	-	-	-	-	-	-
	T7	69_03/70_03	0,17	92	23,74	1,41	62	54,59
	T16	69_03	0,09	94	29,29	0,52	77	59,82
	T17	72_03/71_03	0,18	96	42,71	0,62	86	54,03
	T18	67_03/68_03	0,66	81	39,91	1,56	63	57,28
	T20	71_03/72_03	0,31	90	34,44	1,09	80	58,21
	T21	67_03	0,15	95	47,04	1,22	76	62,92
	T22	69_03/70_03	0,16	96	25,26	0,71	84	49,17
	U2	69_03	-	-	-	-	-	-
	U4	67_03	0,21	93	37,56	0,80	83	57,77
	U14	68_03/67_03	0,55	83	29,54	1,35	58	61,38
	U16	71_03/72_03	-	-	-	-	-	-
	U17	67_03/68_03	-	-	-	-	-	-

Tab. 7.8 Messwerte der Plexusepithelzellen des IV. Ventrikels von Kontrolltieren (ohne MF-Exposition und ohne ³H-TdR-Injektion)

	ARG Serie	VT-Nr.	vierter Ventrikel/ Plexus choroideus					
			KK	pm (0)	KF (µm²)	KC	pm (o)	CF (µm²)
VT-Gruppe ohne ³ H-TdR Vormarkierung	T6	67_03	0,17	96	34,59	0,81	82	57,15
	T7	69_03/70_03	0,42	85	29,63	0,77	71	58,74
	T16	69_03	0,08	95	28,20	0,66	73	56,00
	T17	72_03/71_03	0,59	87	36,85	1,39	72	53,66
	T18	67_03/68_03	0,13	97	35,01	0,56	91	51,61
	T20	71_03/72_03	0,15	95	37,53	0,78	82	61,13
	T21	67_03	0,26	93	41,19	0,71	79	59,68
	T22	69_03/70_03	0,21	94	29,62	1,08	72	53,70
	U2	69_03	0,30	89	27,90	0,65	74	51,72
	U4	67_03	-	-	-	-	-	-
	U14	68_03/67_03	0,35	90	29,25	0,56	85	51,88
	U16	71_03/72_03	0,42	88	38,28	0,77	76	57,05
	U17	67_03/68_03	0,30	90	35,74	0,82	83	61,08

Tab. 7.9 Messwerte der Granularzellen der Fascia dentata hippocampi von Kontrolltieren (ohne MF-Exposition und ohne ^3H -TdR-Injektion)

	ARG Serie	VT-Nr.	Neurone/ Fascia dentata hippocampi		
			KK	pm (0)	KF (μm^2)
VT-Gruppe ohne ^3H -TdR-Vormarkierung	T6	67_03	0,43	85	68,61
	T7	69_03 / 70_03	0,51	83	64,83
	T16	69_03	0,70	78	69,84
	T17	72_03 / 71_03	0,50	89	70,37
	T18	67_03 / 68_03	0,76	84	72,11
	T20	71_03 / 72_03	0,45	88	70,26
	T21	67_03	0,35	91	77,42
	T22	69_03 / 70_03	0,35	90	71,13
	U2	69_03	-	-	-
	U4	67_03	0,43	84	76,03
	U14	68_03 / 67_03	-	-	-
	U16	71_03 / 72_03	-	-	-
	U17	67_03 / 68_03	-	-	-

Tab. 7.10 Messwerte der Endothelzellen des Cortex von Kontrolltieren (ohne MF-Exposition und ohne ^3H -TdR-Injektion)

	ARG Serie	VT-Nr.	Endothelzellen/ Cortex		
			KK	pm (0)	KF (μm^2)
VT-Gruppe ohne ^3H -TdR-Vormarkierung	T6	67_03	0,12	94	12,26
	T7	69_03 / 70_03	0,34	87	12,54
	T16	69_03	0,36	89	12,39
	T17	72_03 / 71_03	0,36	93	11,78
	T18	67_03 / 68_03	0,19	96	13,83
	T20	71_03 / 72_03	-	-	-
	T21	67_03	0,22	92	12,74
	T22	69_03 / 70_03	0,25	95	14,37
	U2	69_03	-	-	-
	U4	67_03	0,15	94	11,94
	U14	68_03 / 67_03	-	-	-
	U16	71_03 / 72_03	-	-	-
	U17	67_03 / 68_03	-	-	-

Danksagung

Zunächst möchte ich mich besonders herzlich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. H. Korr für die freundliche Überlassung des Themas und seine überaus engagierte Betreuung bedanken.

Während der gesamten Entstehungsphase konnte ich mich stets an ihn wenden, so dass Probleme – insofern sie überhaupt auftraten – außerordentlich kurzfristig gelöst werden konnten. Nur durch seinen wissenschaftlichen Erfahrungsschatz und seine große Hilfsbereitschaft, die weit über das unmittelbar Fachliche hinausgingen, wurde die Fertigstellung dieser Arbeit – parallel zu meinen anderen universitären/beruflichen Verpflichtungen – ermöglicht.

Desweiteren danke ich allen beteiligten Mitarbeitern/-innen des Institutes für Anatomie und Zellbiologie der RWTH Aachen für die eigentliche Versuchsdurchführung und die Anfertigung der hier ausgewerteten Autoradiogramme.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. C. Schmitz (Universität Maastricht) für seine Unterstützung bei den statistischen Analysen bedanken.

Nicht zuletzt danke ich von ganzem Herzen meinen Eltern und meinem Stiefvater, Arnd Meinhard, für ihr Engagement und den familiären Rückhalt.

Erklärung zur Datenaufbewahrung

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Originaldaten im Institut für Anatomie und Zellbiologie des Universitätsklinikums Aachen, Wendlingweg 2, 52074 Aachen, hinterlegt sind.

Mayen, den 05.10.2009

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'K. Füller', with a long horizontal stroke extending to the right.

Katja Füller