

» Auswirkungen NF-gepulster elektromagnetischer Felder auf die Proliferation von Chondrozyten

A. Indouraine¹, J. P. Petersen¹, W. Pförringer²

¹ Symbion Science Park (Symbion-Wissenschaftspark), Kopenhagen, Dänemark

² München

Zusammenfassung. Aus arthroskopisch entnommenen Proben hyalinen menschlichen Knorpels von 5 Patienten im Alter von 23–56 Jahren wurden Chondrozyten isoliert. Diese wurden an 5 aufeinanderfolgenden Tagen täglich und danach innerhalb der nächsten 6 Tage (also an insgesamt 11 Tagen) alle 48 Stunden für die Dauer von 60 Minuten NE-gepulsten elektromagnetischen Feldern (9 mT; 3 Hz) ausgesetzt. Die Lebensfähigkeit der Zellen wurde unter Verwendung eines Trypanblauausschlusses geschätzt, die Proliferation durch Zählen der Zellen in einem Hämazytometer bestimmt. Die Morphologie der Zellen wurde zu Kontrollzwecken durch direkte Betrachtung der Zellen unter einem Lichtmikroskop nach Einfärben der Zellen in einer Hämatoxylin- und Eosinlösung verglichen. Die Ergebnisse wurden statistisch analysiert und mit einer Kontrollprobe verglichen. Die Ergebnisse zeigten, dass die mittels der oben beschriebenen gepulsten elektromagnetische Felder (9 mT; 3 Hz) behandelten Proben gegenüber der Kontrollprobe eine deutlich höhere Anzahl von Zellen zeigte. Bei den Zellproben der 5 Patienten variierte das Wachstum im Vergleich zur Kontrollprobe um das 1,1–3,0fache. Im Hinblick auf die Lebensfähigkeit war zwischen den elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Zellen und den Zellen der Kontrollprobe jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zu verzeichnen. Einige morphologische Veränderungen zeigten sich bei Betrachtung der Zellen unter einem Lichtmikroskop. Die den elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Zellen waren dünner und länglicher als die großen und flachen Zellen der Kontrollprobe. Bei den behandelten Zellen war die Tendenz zum Wachstum in einer einheitlichen Richtung festzustellen, während die Zellen der Kontrollprobe in alle Richtungen wuchsen. Diese Unterschiede in Bezug auf Morphologie und Wachstum können mit der Exposition der Proben gegenüber einer höheren Dichte der oben beschriebenen gepulsten elektromagnetischen Feldern zusammenhängen.

Schlüsselwörter: Knorpelwachstum – elektromagnetische Felder

Effect of electromagnetic impulses on chondral growth.

Chondrocytes isolated from the human cartilage of 5 patients between the ages 23 and 56 were exposed to low frequency pulsed electromagnetic fields (9 mT; 3 Hz) for a daily period of 60 minutes on 5 consecutive days and then every 48 hours for the next 6 days (11 days in total). Cell viability was estimated using trypan blue exclusion and proliferation was estimated by counting the cells in a haemocytometer. Cell morphology was compared for control purposes by directly observing the cells under a light microscope after staining cells in a haematoxylin and eosin solution. The results were statistically analysed and compared to a control sample. Data revealed that exposing cells isolated from human cartilage to pulsed electromagnetic fields (9 mT; 3 Hz) led to a significantly higher number of cells in comparison to the control sample. Among the cells from the 5 patients, growth varied between 1.1 to 3.0 folds compared to the control sample. The difference in cell viability between the exposed cells and the control sample was, however, not significant. Some morphological variations were revealed when the cells were observed under a light microscope. The exposed cells were thinner and longer than the control cells which were large and flat. The exposed cells tended to grow in a more uniform direction while the control cells grew in all directions. These differences in morphology and growth may be related to the higher density of the exposed cells.

Key words: Chondrocytes – electromagnetic impulses – chondral growth

Einführung

Über die Wirkungen gepulster elektromagnetischer Felder (PEMF) auf die Proliferation von Zellen ist von mehreren Verfassern berichtet worden. Von Wiskirchen et al. (1999) wurden fetale Lungenfibroblasten dreimal pro Woche auf die Dauer von drei Wochen 60 Minuten lang statischen Magnetfeldern (1,5 T) ausgesetzt, hierbei wurde im Hinblick auf die Zellproliferation zwischen den behandelten Zellen und den Zellen der Kontrollprobe kein wesentlicher Unterschied festgestellt. Norimura et al. (1993) zeigten auf, dass

die Aussetzung von menschlichen T-Lymphozyten gegenüber elektromagnetischen Feldern von bis zu 6,3 T (Tesla) auf das Wachstum oder die Lebensfähigkeit der Zellen nur einen geringen Einfluss hatte. Auf ähnliche Weise stellten Murray und Farndale (1985) fest, dass die Aussetzung von Sehnenfibroblasten von Hühnern gegenüber Magnetfeldern auf die Dauer von bis zu 6 Tagen keinerlei Auswirkung in bezug auf die Fibroblastproliferation hatte.

Demgegenüber wurde von De Mattei et al. (1999) der Nachweis erbracht, dass bei als Kultur in 10%igem fetalen Kalbserum angelegten menschlichen Osteoblastzellen, die auf die Dauer von 6 Stunden elektromagnetischen Feldern mit einer Frequenz von 75 Hz in Impulsen von 1,3 ms ausgesetzt wurden, im Vergleich zur Kontrollprobe eine größere Zellproliferation zu verzeichnen war.

Sollazza et al. (1997) kamen bei als Kultur in 10%igem fetalen Kalbserum angelegten und elektromagnetischen Feldern (1,3 ms 75 Hz) ausgesetzten Osteosarkom- und Osteoblastzellen zu ähnlichen Ergebnissen. Bei in freien Medien als Kultur angelegten Zellen war jedoch keine Wirkung auf die Zellproliferation festzustellen.

Studien über elektromagnetischen Feldern ausgesetzte Chondrozyten brachten unterschiedliche Ergebnisse.

Von Liu et al. (1997) wurden aus dem Sternalknorpel von Hühnern isolierte Zellen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen auf die Dauer von täglich drei Stunden gepulsten elektromagnetischen Feldern (mit einer Frequenz von 15 Hz) ausgesetzt. Diese Daten ergaben keinen merklichen Unterschied bezüglich der Proliferation zwischen behandelten Zellen und Zellen der Kontrollprobe, erbrachten jedoch den Nachweis für eine deutlich stimulierte Retention an Glykosaminoglykan.

Von Elliot et al. (1988) wurde der Einfluss der Richtung gepulster elektromagnetischer Felder auf die Zellproliferation untersucht. Chondrozyten von Rindern wurden auf die Dauer von 10 Tagen elektromagnetischen Feldern von $2,4 \times 10^4$ T mit einer Frequenz von 72 Hz ausgesetzt. Gepulste elektromagnetische Felder, die von senkrecht zu in tiefen Probenschälchen als Kulturen angelegten Zellen verlaufenden Spulen erzeugt wurden, führten bei Vergleich mit der Kontrollprobe zu einer deutlichen Verringerung der Proliferation von Chondrozyten, während bei Zellen, die der Einwirkung horizontal ausgerichteter Spulen ausgesetzt waren, kein wesentlicher Unterschied festgestellt wurde.

Diese Studie ergab ebenfalls, dass die Wirkung der elektromagnetischen Felder von der Konzentration des Serums im Medium abhängig war. Bei einer 3%igen Serumkonzentration verringerte sich die Anzahl der Zellen gegenüber der Kontrollprobe um 50%, während eine 5%ige Serumkonzentration keinen Einfluss auf das Zellenwachstum hatte. Hiraki et al. (1987) berichteten, dass gepulste elektromagnetische Felder (15,4 Hz; 2 Gauss) keine Wirkung auf die Morphologie und Proliferation von Chondrozyten

hatten, die bis zur Subkonfluenz kultiviert und auf eine Dauer von zwischen 1 und 96 Stunden solchen elektromagnetischen Feldern ausgesetzt worden waren.

Im Gegensatz zu diesen Autoren wurde von Pezzeti et al. (1999) der Nachweis erbracht, dass die Aussetzung von Chondrozyten an niedriggepulste elektromagnetische Felder (75 Hz, 2,3 mT) zu einer deutlichen Steigerung der Zellproliferation führte, wenn mit Serum gearbeitet wurde, wohingegen dies jedoch bei Verwendung eines serumfreien Mediums nicht der Fall war. Auf einer ähnlichen Linie lagen Sakai et al. (1991), die berichteten, dass eine deutliche Erhöhung der Proliferation von aus dem Knorpel von Kaninchen isolierten Chondrozyten zu verzeichnen war, wenn diese auf die Dauer von 5 Tagen täglich 12 Stunden lang elektromagnetischen Feldern von 5,4 Hz, 0,4 mT ausgesetzt wurden. Armstrong et al. (1988) zeigten auf, dass durch die Aussetzung von Chondrozyten gegenüber elektrischen Feldern von zwischen $1,5$ bis 3×10^{-2} V/cm die Proliferation von Zellen zunahm, während die Proliferation deutlich zurückging, wenn die Chondrozyten einer stärkeren Ladung ($4,5 \times 10^{-2}$ V/cm) ausgesetzt wurden. Im Vergleich zur Kontrollprobe lag diese Zunahme bei Messung der ^3H -Thyridin-Aufnahme zwischen 37 und 53%. Von Norton (1982) wurde berichtet, dass die DNA-Produktion durch gepulste elektromagnetische Felder um 20% gesteigert werden konnte.

Diese Schwankungen lassen sich möglicherweise durch Unterschiede bei Aussetzungszeit, Versuchsdauer, Zellenursprung und Anfangsdichte, Konzentration des fetalen Kalbserums im Medium und durch die benutzte Frequenz sowie die Einrichtungen und andere nicht kontrollierte Faktoren erklären.

Eines der Probleme, mit denen sich Herstellungslabors im Hinblick auf eine autologe Knorpeltransplantation konfrontiert sehen, ist die Lieferung einer großen Anzahl lebensfähiger Zellen innerhalb einer kurzen Zeit. Zu Beginn der Wachstumsphase ist die Proliferationsrate der Chondrozyten gering. Hier bedarf es einer Verbesserung, damit orthopädischen Chirurgen schneller mit Zellen für die Transplantation versorgt werden können. Die Frage wurde gestellt, ob und, falls ja, in welchem Umfang die Proliferation und Lebensfähigkeit von Chondrozyten in Zellproduktionslabors durch gepulste elektromagnetische Felder gesteigert werden könnten.

Zweck der vorliegenden Studie war eine Untersuchung dahingehend, ob durch die Aussetzung menschlicher Chondrozyten gegenüber niedriggepulsten elektromagnetischen Feldern (9 mT, 3 Hz) auf die Dauer von 5 Tagen und 60 Minuten täglich und danach während der nächsten 6 Tage alle 48 Stunden (insgesamt 11 Tage) im Vergleich zu einer Kontrollprobe die Zellproliferation und -lebensfähigkeit gesteigert und die Morphologie der Zellen beeinträchtigt würde.

Material und Methoden

Verarbeitung von Knorpel und Zellen

Der von 5 Patienten (zwei männlich, drei weiblich) im Alter von 23–56 Jahren entnommene Knorpel wurde über Nacht zersetzt, wie dies im Patent der Verigen Transplantation Service International (VTSI) beschrieben ist und von Vibe-Hansen et al. (1999) berichtet wurde. Die Zellen wurden gezählt und einem fetalen Kalbserum (FCS = Foetal Calf Serum) enthaltendem Medium auf die Dauer von 4–5 Wochen eingepflegt. Anschließend wurden die Zellen trypsinisiert und gezählt und deren Lebensfähigkeit bestimmt. Vor der weiteren Verwendung wurden sie in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Generator von elektromagnetischen Feldern

Zur Erzeugung gepulster elektromagnetischer Felder von bis zu 9 mT wurde ein Gerät M3.Modulizer (medical magnetics, Palma de Mallorca, Spanien) eingesetzt. Die Kontrollzellen und die den elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Zellen wurden in Fläschchen gegeben und auf die Dauer von 60 Minuten in eine Kammer eingesetzt, die auf einer Temperatur von $31 \pm 2^\circ\text{C}$ gehalten wurde. Die gleiche Ausrichtung der Fläschchen wurde während des gesamten Versuchs beibehalten.

Zellenkultur und -behandlung

Die eingefrorenen Zellen eines jeden Patienten wurden einen Tag vor Aussetzung an elektromagnetische Felder aufgetaut, gezählt und jeweils zu dreien mit 2000 lebensfähigen Zellen je Quadratzentimeter in Glasfläschchen von 75 cm^2 eingepflegt. Die Zellen wurden bei 37°C mit 5 CO_2 in einem 10%igen Medium inkubiert, wie dies im VTSI-Patent beschrieben ist und von Vibe-Hansen et al. (1999) berichtet wurde. Im Verlauf des Versuchs wurde das Medium zweimal gewechselt.

Die Fläschchen mit den Kontrollzellen (ohne Aussetzung gegenüber elektromagnetischen Feldern) wurden in gleicher Weise wie die zur Aussetzung gegenüber elektromagnetischen Feldern bestimmten Fläschchen behandelt. Die Fläschchen mit den Kontrollzellen wurden jeweils bei Abschaltung des Geräts auf die Dauer von 60 Minuten in der auf einer Temperatur von $31 \pm 2^\circ\text{C}$ gehaltenen Kammer des M3.Modulizers belassen. Die behandelten Fläschchen wurden auf die Dauer von 5 Tagen täglich und danach während der nächsten 6 Tage alle zwei Tage 60 Minuten lang elektromagnetischen Feldern von 9 mT ausgesetzt (insgesamt 8malige Aussetzung). Die in Fläschchen und Objektträgerkammern gezüchteten Zellen wurden während des gesamten Versuchs in der gleichen Richtung gehalten. Am Ende des Experiments wurden mit Hilfe eines Lichtmikroskops Aufnahmen der Fläschchen mit den behandelten Zellen und den Kontrollzellen gemacht und miteinander verglichen. Die Zellen wurden erneut trypsinisiert, zentrifugiert und gezählt. Anzahl und Lebensfähigkeit der Zellen wurden bestimmt und den Werten der Kontrollprobe gegenübergestellt.

Färbung

Die einzufärbenden Zellen wurden zu je 1000 und 2000 Zellen je Kammerobjektträger in Medien mit einem 20%igen Gehalt an fetalem Kalbserum eingepflegt und in der vorbeschriebenen Weise auf die Dauer von 60 Minuten in der Kammer des Modulizers inkubiert. Am Ende des Versuchs wurden die Objektträger mit Zellen abgewaschen und entweder mit Hämatoxylin und Eosin oder Toluidinblau 0 eingefärbt, wie dies von Dougherty (1981) bzw. Lowell (1981) berichtet wurde. Die Morphologie der behandelten Zellen und der Zellen der Kontrollprobe wurden unter Einsatz eines Lichtmikroskops miteinander verglichen.

Statistische Analyse

Die Daten wurden gemittelt und nach Student-t-Test statistisch analysiert.

Ergebnisse

Proliferation und Lebensfähigkeit von Chondrozyten

Die Kontrollzellen und die gepulsten elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Zellen wurden täglich auf die Dauer von 60 Minuten bei ein- oder ausgeschaltetem Gerät inkubiert.

Die Temperatur wurde ständig überwacht und auf einem Wert von $31 \pm 2^\circ\text{C}$ gehalten. Am Ende des Versuchs hatten die Zellen in einem der 5 behandelten Fläschchen eine Konfluenz von 100 As erreicht, während die Zellen in den restlichen 4 Fläschchen zwischen 90 und 98% konfluent waren. Bei den Kontrollzellen erreichte nur eines der Fläschchen mit den Kontrollzellen eine Konfluenz von 95%. Die Zellen in den anderen Fläschchen hatten eine Konfluenz von weniger als 90%.

Die Anzahl der Zellen in den gepulsten elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Fläschchen war deutlich höher als die in den Fläschchen mit den Kontrollzellen (Abb. 1). Die Anzahl der behandelten Zellen nahm gegenüber der Kontrollprobe um das 1,1–3,0fache zu (Tab. 1). Bei drei der fünf elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Fläschchen lag die Anzahl der Zellen deutlich über der der Kontrollprobe.

Die Lebensfähigkeit der Zellen (Abb. 2) wurde durch die Aussetzung gegenüber elektromagnetischen Feldern nicht wesentlich beeinträchtigt. Alter und Geschlecht der Patienten schienen keinen merklichen Einfluss auf die Anzahl oder die Lebensfähigkeit der am Ende des Versuchs erhaltenen Zellen zu haben.

Morphologie der Zellen

Die Morphologie und der Richtungsverlauf der in Fläschchen und Objektträgerkammern gezüchteten Zellen wurden während des Versuchs sowie an dessen Ende sorgfältig mittels eines Lichtmikroskops untersucht. Die Betrachtung

Tab. 1 Zunahme der Zellenanzahl bei elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Zellen im Vergleich zu Kontrollzellen nach Patienten.

Patient	Alter	Geschlecht	Zellenanzahl		X-fache Erhöhung
			Kontrollzellen	elektromagnetischen Feldern ausgesetzte Zellen (Zellen x 10 ³)	
			Mittel ± SD von Dreifachproben (n = 3)		
A	56	M	1400 ± 152	1700 ± 231	1,2 ²
B	28	F	600 ± 58	1800 ± 252	3,0
C	28	M	1000 ± 116	1600 ± 200	1,6
D	28	F	1700 ± 379	3600 ± 100	2,1
E	38	F	1700 ± 231	1900 ± 289	1,1 ²
Mittel	35		1200 ± 452	2120 ± 799	1,8

²ns = nicht signifikant

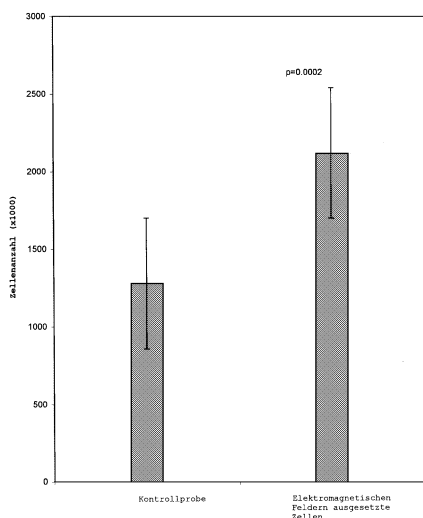


Abb. 1 Wirkung gepulster elektromagnetischer Felder auf das Wachstum von Chondrozyten. Darstellung der Mittelwerte ± Standardabweichung. Mittelwerte signifikant bei $p \cong 0.0002$

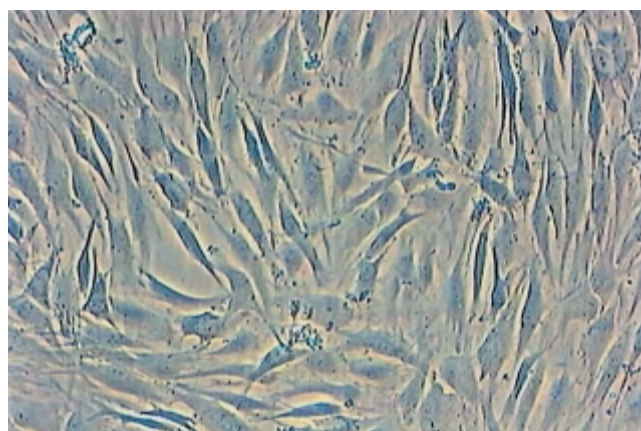


Abb. 3 Elektromagnetischen Feldern ausgesetzte entdifferenzierte Chondrozyten.

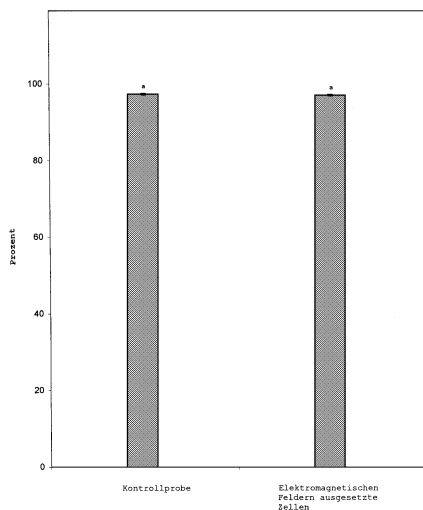


Abb. 2 Wirkung gepulster elektromagnetischer Felder auf die Lebensfähigkeit von Chondrozyten. Darstellung der Mittelwerte ± Standardabweichung. Differenz der Mittelwerte nicht signifikant.

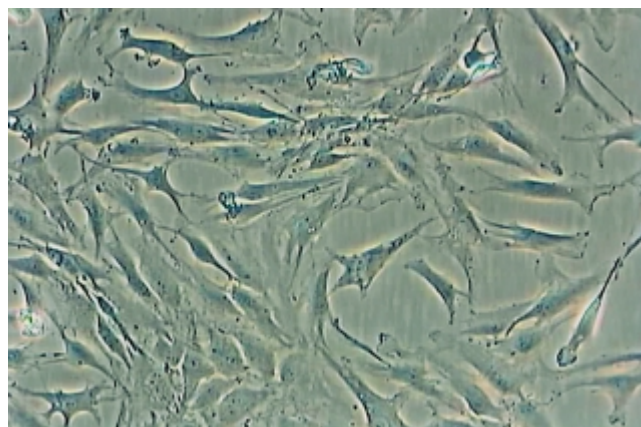


Abb. 4 Kontrollzellen (ohne Exposition gegenüber elektromagnetischen Feldern).

der elektromagnetischen Feldern ausgesetzten und in Fläschchen gezüchteten Zellen unter einem Lichtmikroskop ergab, dass sie gegenüber den Kontrollzellen dünner waren und eine etwas länglichere Form aufwiesen (Abb. 3). Die ausgesetzten Zellen hatten ebenfalls die Tendenz, in einer nicht genau zu definierenden Längsrichtung zu wachsen.

Die Kontrollzellen in Fläschchen (Abb. 4) erschienen größer und flacher als die ausgesetzten Zellen. Sie wiesen nicht die günstige längliche Form der elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Zellen auf. Die Kontrollzellen tendierten zu einem Wachstum in alle Richtungen.

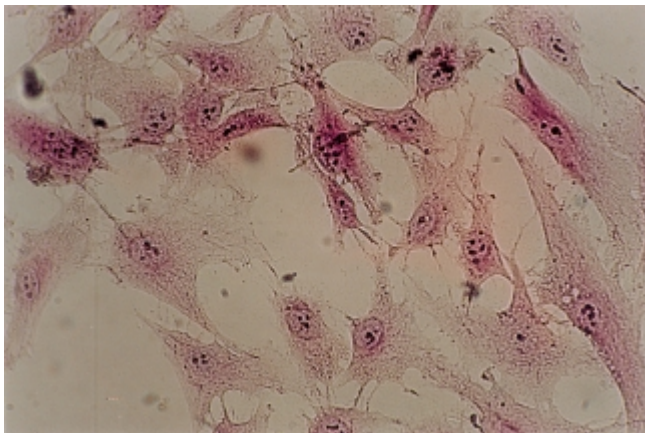


Abb. 5 Mit Hämatoxylin und Eosin eingefärbte Kontrollzellen.

Die in Objektträgerkammern gezüchteten Zellen zeigten ähnliche, jedoch weniger stark ausgeprägte Tendenzen als die in Fläschchen gezüchteten Zellen. Generell waren die behandelten Zellen länglicher als die Kontrollzellen, die flacher zu sein schienen (Abb. 5).

Erörterung

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Aussetzung von Chondrozyten gegenüber niedriggepulsten elektromagnetischen Feldern (3 Hz, 9 mT) einer merklichen Erhöhung der Proliferation von Zellen führt. Die Lebensfähigkeit der Zellen wird durch gepulste elektromagnetische Felder nicht beeinträchtigt. Aus der Literatur geht hervor, dass die Hauptgründe für Schwankungen der erfassten Daten Unterschiede im Hinblick auf die Dauer der Exposition gegenüber elektromagnetischen Feldern, die Serumkonzentration in den für das Zellenwachstum verwendeten Medien und die Dauer der Studie sind.

Unsere Daten über die Zellproliferation entsprechen den Daten von Fezzetti et al. (1999) zu Chondrozyten von Kaninchen und Sollazzo et al. (1997) zu Osteoblasten und zur Verwendung von 10% Serum. Unsere Daten decken sich ebenfalls mit den Ergebnissen von Sakal et al. (1991) zu aus Kaninchenknorpel isolierten und gepulsten elektromagnetischen Feldern von 0,4 mT mit einer Frequenz von 6,4 Hz ausgesetzten Zellen.

Eine Korrelation unserer Ergebnisse besteht jedoch nicht zu den Daten von Elliot et al. (1988), die keinerlei Nachweis für eine Einwirkung von gepulsten elektromagnetischen Feldern auf die Proliferation von Chondrozyten erbracht hatten. Diese Differenz könnte möglicherweise auf die unterschiedliche Konzentration an fetalem Kalbserum in den Medien zurückzuführen sein (10% bei dieser Studie gegenüber 3% und 5%). Von sowohl Pezzetti et al. (1999) als auch Sollazzo et al. (1997) wurde festgestellt, dass die Wirkung gepulster elektromagnetischer Felder auf das Zellenwachstum von der Serumkonzentration abhängig ist. Wiskirchen et al. (1999) und Yamaguchi et al. (1993)

fanden heraus, dass statische elektromagnetische Felder keinen Einfluss auf die Zellproliferation haben.

Die längliche und dünnere Form der behandelten Zellen könnte durchaus mit der gegenüber den Kontrollzellen höheren Dichte der Zellen im Zusammenhang stehen. Dieser Faktor könnte ebenfalls die Tendenz der Zellen erklären, in einer bestimmten Längsrichtung zu wachsen, die jedoch nicht eindeutig definiert werden konnte. Dies schließt die Möglichkeit nicht aus, dass elektromagnetische Felder Einfluss auf den Richtungsverlauf der Zellen haben könnten. Unter Benutzung eines Lichtmikroskops konnte kein sonstiger wesentlicher Unterschied zwischen den mit gepulsten elektromagnetischen Feldern behandelten Zellen und den Kontrollzellen festgestellt werden. Eine begrenzte Anzahl von Studien über die Wirkungen von elektromagnetischen Feldern auf die Zellenmorphologie ist in der Literatur zu finden. Von Yamaguchi et al. (1993) wurde berichtet, dass die Aussetzung von Fibroblasten gegenüber statischen Magnetfeldern von 0,2 T auf die Dauer von 6–8 Monaten keine Auswirkung auf die Form oder den Richtungsverlauf der Fibroblasten hatte. Auf ähnliche Weise wurde von Rodemann et al. (1989) festgestellt, dass die Aussetzung von Fibroblasten gegenüber einem elektromagnetischen Feld von 20 Hz, 6 mT keinen Einfluss auf die Zellteilung hatte. Die Langzeitexposition führte jedoch zur Teilung mitotischer Zellen in postmitotische Zellen. Norton et al. (1988) stellten fest, dass gepulste elektromagnetische Felder (5 ms, 75 Hz) eine Veränderung des phänotypischen Ausdrucks von Chondrozyten mit sich brachten.

Schlussfolgerungen

Die Exposition menschlicher Chondrozyten gegenüber elektromagnetischen Feldern auf die Dauer von 11 Tagen führte zu einer merklichen Zunahme der Anzahl der Zellen. Die Proliferationsrate der den 5 Patienten entnommenen Zellen variierte gegenüber der Kontrollprobe um das 1,1–3,0fache. Ein wesentlicher Unterschied in Bezug auf die Lebensfähigkeit war zwischen den ausgesetzten Zellen und den Kontrollzellen nicht festzustellen. Die Betrachtung der Chondrozyten unter einem Lichtmikroskop ergab einige Unterschiede im Hinblick auf die Form der Zellen sowie die Tendenz der Zellen, in einer bestimmten Richtung zu wachsen, die jedoch nicht genau definiert werden konnte. Die hohe Dichte der gepulsten elektromagnetischen Feldern ausgesetzten Zellen könnte der Grund für einen solchen Trend sein. Trotz der begrenzten Anzahl von Patienten im Rahmen dieser Studie ergaben unsere Daten, dass die niedriggepulsten elektromagnetischen Felder, mit denen bei dieser Untersuchung gearbeitet wurde, tatsächlich zu einer Steigerung der Zellproliferation geführt haben. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um den Einfluss elektromagnetischer Felder auf die Zellmorphologie zu überprüfen.

Literatur

- ¹ Armstrong PF, Brighton CT, Star A. Capacitively coupled electrical stimulation of bovine growth plate chondrocytes grown in pellet form. *J Orthop Res* 1988; 6: 265–271
- ² De Mattei M, Caruso A, Traina GC, Pezzetti F, Baroni T, Sollazzo V. Correlation between pulsed electromagnetic fields exposure time and cell proliferation increase in human osteosarcoma cell lines and human normal osteoblast cells in vitro. *Bioelectromagnetics* 1999; 20 (3): 177–182
- ³ Dougherty WJ. Preparation of semi-thin sections of tissues embedded in water-soluble methacrylate for light microscopy. In: Clark G (ed): *Staining Procedures* Baltimore, USA. Williams & Wilkins 1981
- ⁴ Elliot JP, Smith RL, Block CA. Time-varying magnetic fields: effect of orientation on chondrocyte proliferation. *J Orthop Res* 1988; 6: 259–264
- ⁵ Liu H, Lees P, Abbott J, Bee JA. Pulsed electromagnetic fields preserve proteoglycan composition of extracellular matrix in embryonic chick sternal cartilage. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1336 (2): 303–314
- ⁶ Hiraki Y, Endo N, Takigawa M, Asada A, Takahashi H, Suzuki F. Enhanced responsiveness to parathyroid hormone and induction of functional differentiation of cultured rabbit costal chondrocytes by a pulsed electromagnetic field. *Biochim Biophys Acta* 1987; 931: 94–100
- ⁷ Lowell J. Toluidine Blue O for metachromatic substances. In: Clark G (ed): *Staining Procedures* Baltimore, USA. Williams & Wilkins 1981
- ⁸ Murray JC, Farndale RW. Modulation of collagen production in cultured fibroblasts by a low-frequency, pulsed magnetic field. *Biochim Biophys Acta* 1985; 838 (1): 98–105
- ⁹ Norimura T, Imada H, Kunugita N, Nikaido M. Effects of Strong magnetic fields on cell growth and radiation response of human T-lymphocytes in culture. *Sangyo Ika Daigaku Zasshi* 1993; 15 (2): 103–112
- ¹⁰ Norton LA, Witt DW, Rovetti LA. Pulsed electromagnetic fields alter phenotypic express in chondroblast in tissue culture. *J Orthop Res* 1988; 6 (5): 685–689
- ¹¹ Norton LA. Effects of a pulsed electromagnetic field on a Mixed chondroblastic tissue culture. *Clin Orth* 1982; 167: 280–290
- ¹² Pezzetti F, De Mattei M, Caruso A, Cadossi R, Zucchini P, Carinci F, Traina GC, Sollazzo V. Effects of pulsed electromagnetic fields on human chondrocytes: an in vitro study. *Calci Tissue Int* 1999; 65 (5): 396–401
- ¹³ Rodemann HP, Bayreuther K, Pfeleiderer G. The differentiation of normal and transformed human fibroblasts in vitro is influenced by electromagnetic fields. *Exp Cell Res* 1989; 610–621
- ¹⁴ Sakai A, Suzuki K, Nakamura T, Norimura T, Tsuchiya T. Effects of pulsing electromagnetic fields on cultured cartilage. *Int Orthop* 1991; 15 (4): 341–346
- ¹⁵ Sollazzo V, Traina GC, De Mattei M, Pellati A, Pezzetti F, Caruso A. Responses of human MG-63 osteosarcoma cell line and human osteoblast-like cells to pulsed electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1997; 18 (8): 541–547
- ¹⁶ Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331: 889–895
- ¹⁷ Wiskirchen J, Groenewaele EF, Kehlbach R, Heinzelmann F, Wittau M, Rodemann HP, Claussen CD, Duba SH. Long-term effects of repetitive exposure to a static magnetic field (1.5 T) on proliferation of human foetal lung fibroblasts. *Magn Reson Med* 1999; 41 (3): 46–48
- ¹⁸ Yamaguchi H, Hosokawa K, Soda A, Miyamoto H, Kinouchi Y. Effects of seven months' exposure to a static 0.2 T magnetic growth and glycolytic activity of human gingival fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 1993; 11563: 302–306

Prof. Dr. W. Pflörringer

Theatinerstr. 1
80333 München