

1. Einleitung

1.1. Dioxine und „dioxinähnliche Substanzen“

1.1.1. Bezeichnung und Struktur

Unter den Begriffen „Dioxine“ und „dioxinähnliche Substanzen“ wird eine Klasse chlorierter zyklischer aromatischer Verbindungen mit ähnlichen chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften zusammengefasst.

Dioxine und dioxinähnliche Substanzen sind chemisch relativ einfache, sehr stabile Verbindungen. Im allgemeinen fasst man darunter die Gruppen der polychlorierten Dibenzodioxine mit 75 Einzelverbindungen (Kongeneren) und der polychlorierten Dibenzofurane (PCDF) mit 135 Kongeneren zusammen (Abbildung 1.1.), wobei die höhere Anzahl der PCDF-Chlorhomologen auf eine fehlende Symmetrieebene gegenüber den PCDD-Chlorhomologen zurückzuführen ist. Neben diesen rein chlorierten Isomeren gibt es auch die polybromierten Dibenzo-p-dioxine (PBDD) und polybromierten Dibenzofurane (PBDF) sowie gemischt chloriert-bromierte Isomere. Auch einige der polychlorierten Biphenyle (PCB) werden zu den „dioxin-ähnlichen Substanzen“ gezählt:

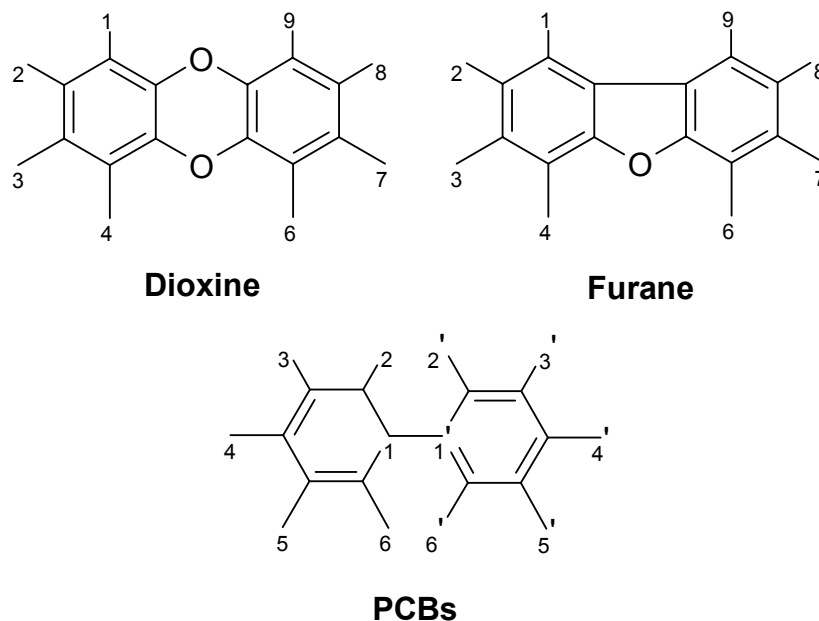


Abbildung 1.1.: Strukturformeln von PCDDs, PCDFs und PCBs

Durch die gemischt halogenierten Molekülvarianten erweitert sich die Zahl der möglichen Dioxin- und Furan-Isomere auf weit über 1000.

Die Substanz mit der stärksten toxischen Wirkung und die am weitesten bekannte Verbindung dieser Stoffklassen ist das 2,3,7,8 – Tetrachlordibenzo-p-dioxin (=TCDD; Abbildung 1.2.). Diese Verbindung wird oft als „das Dioxin“ bezeichnet und ist die Referenzverbindung der gesamten Stoffklasse.

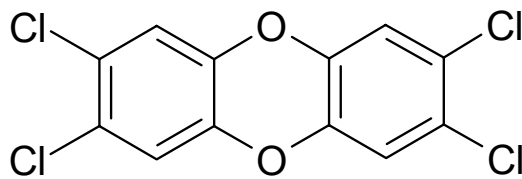
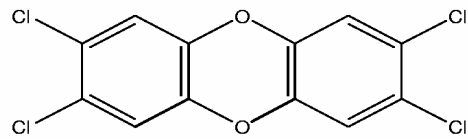


Abbildung 1.2.: Strukturformel 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin

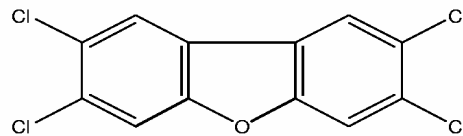
Von den 75 Kongeneren der PCDD weisen lediglich 7 eine „Dioxin-ähnliche Toxizität“ auf. Diese 7 Kongenere besitzen alle mindestens jeweils ein Chloratom an den Positionen 2,3,7 und 8. Von den 135 Kongeneren der PCDF haben 10 Kongenere eine entsprechende Toxizität. Auch diese sind an den Positionen 2,3,7 und 8 substituiert (Abbildung 1.3.).

Die entsprechenden Bromderivate sind von ähnlicher Toxizität.

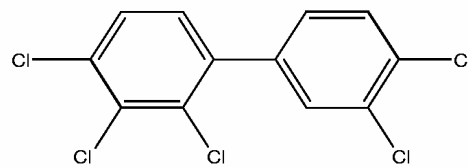
Es existieren 209 PCB-Kongenere. Von lediglich 13 dieser Kongenere wird eine „Dioxin-ähnliche Toxizität“ angenommen. Diese 13 Kongenere sind PCBs mit vier oder mehr lateral angeordneten Chloratomen und keiner bzw. einer Substitution in der ortho-Position (Abbildung 1.3.). Diese Kongenere werden auch als coplanare polychlorierte Biphenyle (CoPCB) bezeichnet. Sie haben eine coplanare, ähnliche Molekülstruktur wie das 2,3,7,8-TCDD. CoPCB haben die gleichen physikalischen, physikalisch-chemischen und chemischen Eigenschaften wie nichtplanare PCB, jedoch unterscheiden sich einige der coplanaren PCB von den nicht-coplanaren PCB dadurch, dass aufgrund ihrer TCDD-ähnlichen Struktur die Toxizität wesentlich höher ist.



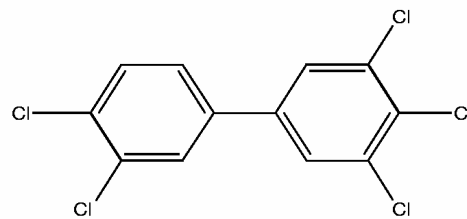
TCDD (2,3,7,8)



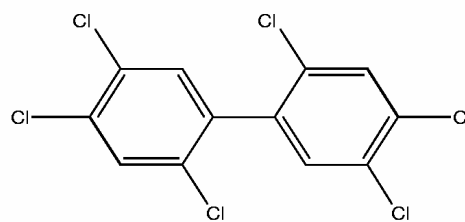
TCDF (2,3,7,8)



2,3,3',4,4'-PeCB



3,3',4,4',5-PeCB



2,2',4,4',5,5'-HCB

Abbildung 1.3.: Strukturformeln polychlorierter Dibenzo-p-dioxine, Dibenzofurane und Biphenyle. Der „chemische Prototyp“ 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD[2,3,7,8]) und Beispiele eines Dibenzofuran 2,3,7,8-Tetrachlordibenzofuran (TCDF[2,3,7,8]), eines mono-ortho substituierten PCB, 2,3,3',4,4'-Pentachlorbiphenyl (2,3,3',4,4'-PeCB), eines coplanaren PCB, 3,3',4,4',5-Pentachlorbiphenyl (3,3',4,4',5-PeCB) und eines di-ortho substituierten PCB, 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl (2,2',4,4',5,5'-HCB).

Der Begriff „Dioxin“ wird häufig für eine Vielzahl von Verbindungen gebraucht. Er beschreibt nicht nur das 2,3,7,8-TCDD an sich, sondern oft eine komplexe Mischung aus 2,3,7,8-TCDD und verschiedenen anderen „Dioxin-ähnlichen Stoffen“, die von verschiedenen Quellen emittiert werden und in der Umwelt gefunden werden können. Er wird aber auch oft benutzt, um die TCDD-„Äquivalente“, die in einer Probe gefunden werden, zu beschreiben. Auf das Konzept der TCDD-„Äquivalente“ und der „Toxic Equivalency Factors“ (TEF) wird unter 1.1.2. noch eingegangen.

1.1.2. Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) und Toxizitätsäquivalente (TEQ)

PCDDs, PCDFs und PCBs finden sich in der Umwelt und in biologischen Geweben im allgemeinen als komplexe Mischungen. Die Exposition erfolgt daher durch verschiedene Mischungen von PCDDs, PCDFs und PCBs. Die Zusammensetzung dieser Mischungen variiert stark in Abhängigkeit von Herkunft und Verteilung in der Umwelt. Diese Tatsache und die Tatsache, dass PCDDs/PCDFs trotz ihrer ähnlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften aufgrund ihrer verschiedenen Chlorsubstitutionsmuster ein stark unterschiedliches toxisches Verhalten zeigen, erschweren die Abschätzung des Risikos für den Menschen, das durch die Exposition mit variablen Gemischen von PCDDs/PCDFs assoziiert ist.

Zur groben Abschätzung des Risikos, das von PCDD/F-Gemischen ausgeht, wird das Konzept der Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) angewandt. Dabei wird die Wirkungsstärke eines Kongeners in Relation zu der des 2,3,7,8-TCDD, dem toxischsten Vertreter dieser Substanzklasse, angegeben, dessen Toxizitätsäquivalenzfaktor (TEF) mit 1 festgelegt wurde. Durch Multiplikation der gemessenen Konzentrationen des jeweiligen Kongeners mit dem entsprechenden TEF und anschließender Addition der so gewichteten Konzentrationswerte ergibt sich diejenige Konzentration, von der theoretisch die gleiche toxische Wirkung ausgehen würde, wie von einer entsprechenden Konzentration 2,3,7,8-TCDD, der so genannte toxische Äquivalentwert der Mischung (TEQ)(Abb. 1.4.).

$$\text{TEQ} \approx \sum_{a-z} (\text{Kongener}_a \times \text{TEF}_a) + (\text{Kongener}_b \times \text{TEF}_b) + \dots + (\text{Kongener}_z \times \text{TEF}_z)$$

Abbildung 1.4.: Formel zur Berechnung des TEQ

Grundlage für die Erstellung der TEF ist die Annahme, dass die einzelnen Kongenere grundsätzlich das gleiche Wirkungsprinzip, jedoch unterschiedliche Wirkungsstärken aufweisen. Der überwiegende Teil der TEF basiert auf Studien zur Enzyminduktion (z. B. der Arylhydrogencarbonhydroxylase), zur akuten Toxizität, Kanzerogenität und zur Reproduktionstoxizität. Weiterhin empfiehlt die WHO, das TEQ-Schema in einem Fünf-Jahres-Abstand neu zu bewerten und TEFs den neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen anzugleichen [van den Berg et al., 1998].

Seit der Einführung des TEQ-Schemas im Jahre 1986 durch Eadon et al. [Eadon et al., 1986] wurde es durch verschiedene Organisationen mehrfach überarbeitet und den neuen Erkenntnissen angepasst. Das derzeit gebrauchte Modell ist das sogenannte International Toxicity Equivalency Factor (I-TEF)- Schema und, das 1988 von der NATO und der CCMS entwickelt wurde.

Während der Zeit, in der TEF-Werte für PCDDs und PCDFs entwickelt wurden, wurde durch zahlreiche Experimente und Studien bewiesen, dass auch polychlorierte Biphenyle, aufgrund der homologen Struktur vor allem die coplanaren PCBs, ähnliche Wirkungen wie das TCDD hervorrufen [Leece et al., 1985; Safe et al., 1990; Safe, 1994]. Ein Maximum an „TCDD-ähnlicher Aktivität“ von PCBs wird erreicht, wenn keine ortho-, zwei oder mehr meta- und beide para-Positionen substituiert sind (Abb. 1.3.). 1991 wurde von der U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA) eine Konferenz abgehalten, die sich mit der Einführung von TEFs für PCBs befasste [U.S. EPA, 1991, Barnes et al., 1991]. Der erreichte Konsens war, dass der Anteil der polychlorierten Biphenyle, der in der Lage ist, Dioxin-ähnliche Wirkungen hervorzurufen, die Kriterien des TEF-Schemas erfüllt.

Congener	EPA 91 ^a	NATO/89 ^b	WHO/92 ^c	WHO/97 ^d
PCDDs				
2,3,7,8-TCDD	1	1		1
1,2,3,7,8-PeCDD	0.5	0.5		1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.04	0.1		0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.04	0.1		0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.04	0.1		0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.001	0.1		0.01
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	0	0.001		0.0001
PCDFs				
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1		0.1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.1	0.05		0.05
2,3,4,7,8-PeCDF	0.1	0.5		0.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.01	0.1		0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.01	0.1		0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.01	0.1		0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.01	0.1		0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.001	0.01		0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.001	0.01		0.01
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0	0.001		0.0001
PCBs				
IUPAC #				
77	3,3',4,4'-TCB		0.0005	0.0001
81	3,4,4',5-TCB		-	0.0001
105	2,3,3',4,4'-PeCB		0.0001	0.0001
114	2,3,4,4',5-PeCB		0.0005	0.0005
118	2,3',4,4',5-PeCB		0.0001	0.0001
123	2',3,4,4',5-PeCB		0.0001	0.0001
126	3,3',4,4',5-PeCB		0.1	0.1
156	2,3,3',4,4',5-HxCB		0.0005	0.0005
157	2,3,3',4,4',5'-HxCB		0.0005	0.0005
167	2,3',4,4',5,5'-HxCB		0.00001	0.00001
169	3,3',4,4',5,5'-HxCB		0.01	0.01
170	2,2',3,3',4,4',5-HpCB		0.0001	-
180	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB		0.00001	-
189	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB		0.0001	0.0001

^a U.S. EPA, 1991.^b NATO/CCMS, 1989.^c Ahlborg et al., 1992.^d WHO, 1997.

Abbildung 1.5.: Übersicht über die gängigen TEF-Werte und die berücksichtigten Stoffklassen

1.1.3. Entstehung und Exposition

PCDDs / PCDFs waren und sind nie beabsichtigt hergestellte Produkte einer chemischen Reaktion, sondern treten immer nur als Verunreinigung bei bestimmten Prozessen auf. Die bisher erkannten Quellen können grob in drei Gruppen eingeteilt werden:

1. Entstehung bei Verbrennungsvorgängen

PCDDs und PCDFs können bei den meisten Verbrennungsvorgängen entstehen. Dies schließt die Müllverbrennung mit ein (z.B. Verbrennung von Hausmüll, Klärschlamm, medizinischen Abfällen und Sondermüll), die Verbrennung von fossilen Brennstoffen (Holz, Gas, Erdöl) und unkontrolliert ablaufende Verbrennungen (z.B. Waldbrände, Gebäudebrände etc.).

2. Chemische Industrie

PCDDs / PCDFs entstehen bei verschiedenen Produktionsschritten als Nebenprodukte. Hier ist vor allem die Herstellung von chlorierten Phenolen (z.B. Pentachlorphenol, PCP, Abb. 1.6.), PCBs, Phenoxy-Herbiziden und von chlorierten aliphatischen Stoffen (z.B. Ethylendichlorid) zu nennen.

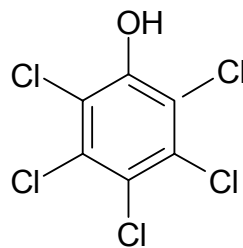


Abbildung 1.6.: 2,3,4,5,6-Pentachlorphenol (PCP)

3. Metallverarbeitende Industrie

Bei vielen verschiedenen Arbeitsgängen der Metallverarbeitung entstehen PCDDs / PCDFs. Hierunter fallen auch die Verarbeitung von Eisenerz, die Stahlproduktion sowie die Verarbeitung von Altmetallen.

Generell entstehen Dioxine bei thermischen Prozessen. Höhere Temperaturen (> 150° C), höhere Drücke (> 100.000 Pa), alkalische Reaktionsmedien und Anwesenheit von Kupfer und Kohlenstoff begünstigen die intermolekulare Kondensation passender Fragmente zu Dioxinen. Als Beispiel einer "unkontrollierten Reaktion" mit Dioxin-Bildung sei die intermolekulare Kondensation chlorierter Phenolate angeführt:

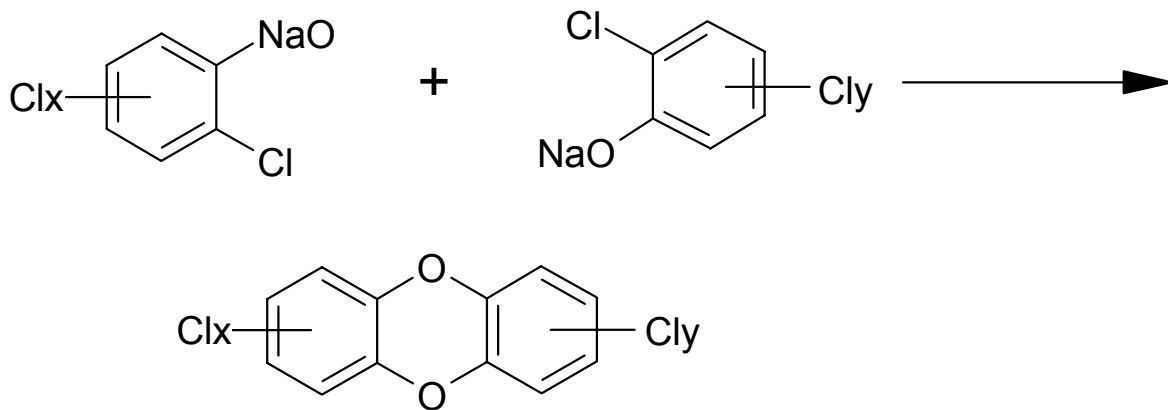


Abbildung 1.7.: Intermolekulare Kondensation chlorierter Phenolate

Weiterhin ist bekannt, dass verschiedene Chlorphenole und Phenoxyessigsäure-Herbizide in unterschiedlichem Ausmaß mit PCDD/F kontaminiert sind (siehe Abb. 1.7.). Aufgrund der Stabilität der Dioxinmoleküle persistieren diese über Jahre in der Umwelt. Im Erdboden wird z.B. eine Halbwertszeit von mindestens 10 Jahren angenommen. Es erfolgt in hohem Maße eine Bindung an Bodenpartikel, insbesondere an anorganische Materialien. Messungen in Seveso zeigten, dass ein Jahr nach dem Chemieunfall mit Dioxinfreisetzung etwa 90% der Ausgangsmenge in den obersten 35cm der Bodenschicht gebunden waren.

Weiterhin nachgewiesen ist die Bildung von PCDD und PCDF beim Bleichen von Zellstoff und Papier im ng/kg-Bereich [Anderson et al., 1990] sowie bei der Chlorierung von Trinkwasser im pg/l-Bereich.

Die bromierten Dioxine sind häufig thermische Umwandlungsprodukte von bromhaltigen Flammschutzmitteln, die in Kunststoffen und anderen brennbaren Materialien verwendet werden.

Die zwei Hauptquellen für PCB sind:

1. Industrielle Produktion und
2. als Nebenprodukt bei Verbrennungsprozessen.

PCBs werden hergestellt durch Chlorierung von Biphenylen. Die kommerzielle Produktion begann vor ca. 60 Jahren. Die weltweit inzwischen hergestellte Menge wird auf ca. 1.500.000 Tonnen geschätzt [Ivanov et al., 1992].

Abhängig vom Grad der Chlorierung und damit den physikalischen und chemischen Eigenschaften wurden PCBs zu verschiedenen Zwecken eingesetzt. Sie wurden z.B. als nicht-leitende Flüssigkeiten in Transformatoren und Kondensatoren, Klebstoffe, Wärmeleitflüssigkeiten, Hydraulikölen, Dichtungsmitteln, Farben und in speziellen Sorten von Kopierpapier eingesetzt. Daher kann man davon ausgehen, dass eine große Menge an PCBs in die Umwelt freigesetzt wurde. PCBs waren unter verschiedenen Handelsmarken erhältlich, z.B. Clophen (Bayer AG, Deutschland), Aroclor (Monsanto, USA) oder Kanec (Kanegafuchi, Japan).

t/Jahr	Grad der Chlorierung (% Cl)							Gesamt Produktion	Verbrauch in Deutschland	Export
	39	42.5	47	48.5	54	55	60			
1974	--	2449	460	--	--	1619	1810	6338	2920	3258
1975	--	1648	292	--	--	1466	2141	5447	3400	2047
1976	--	2170	454	--	--	970	1436	5030	2789	2241
1977	139	2500	--	525	2516	--	--	5680	2910	2770
1978	690	4061	--	666	2223	--	--	7640	2824	4816
1979	937	3379	--	865	1963	--	--	7144	2446	4698
1980	799	4180	--	1127	1358	--	--	7464	2447	5017
1981	--	4778	--	--	--	--	--	4778	1180	3598
1982	--	3734	--	--	--	--	--	3734	968	2766
1983	--	4355	--	--	--	--	--	4355	430	3925

Abbildung 1.8.: Produktion, Verbrauch und Export polychlorierter Biphenyle 1974-1983

Coplanare PCBs wurden als Bestandteile technischer PCB-Gemische und deren weitverbreitete Anwendung als z.B. flammenhemmende Imprägnierungen oder Weichmacher von Kunststoffen, Lacken, Klebstoffen und insbesondere

dauerelastischen Fugenmassen in die Umwelt und dadurch auch in Wohninnenräume gebracht.

In der Bundesrepublik Deutschland ist die Anwendung der PCBs in offenen Systemen seit 1978 untersagt.

Eine Exposition des Menschen mit PCDDs / PCDFs ist auf verschiedenen Wegen möglich:

- Inhalation von kontaminierter Luft
- Intestinale Aufnahme (z.B. kontaminierte Nahrung)
- Transdermale Absorption

Intestinale Aufnahme

Ca. 90% der täglichen Aufnahme an polychlorierten Kohlenwasserstoffen erfolgt durch Ingestion kontaminierter Nahrung [WHO, 1989]. Vor allem Lebensmittel tierischer Herkunft sind verantwortlich für eine tägliche Aufnahme von ungefähr 1-2 pg I-TEQ / (kg KG x d). Die Quantität der gastrointestinalen Absorption wird errechnet aus der Differenz zwischen der aufgenommenen Gesamtdosis (100%) und dem prozentualen Anteil der nicht-absorbierten Dosis. Die nicht-absorbierte Fraktion wird aus dem Anteil der Ausgangssubstanz in der Fäces innerhalb von 48 Stunden nach oraler Aufnahme ermittelt. In einer an Sprague-Dawley-Ratten durchgeführten Studie lag die absorbierte Fraktion zwischen 66% und 93% (Median 84%) [Rose et al., 1976].

Die in verschiedenen Tiermodellen erhobenen Daten zeigen, dass die gastrointestinale Aufnahme von TCDD und strukturell ähnlicher Stoffe sehr variabel und sowohl Kongener- als auch Vehikel-spezifisch ist. Kongenere mit einer relativ hohen Löslichkeit (wie z.B. 2,3,7,8-TCDF) werden fast vollständig absorbiert, während schlecht lösliche Kongenere (OCDD) fast gar nicht absorbiert werden. Poiger und Schlatter untersuchten 1986 die intestinale Absorption von TCDD an einem 42-jährigen Mann nach oraler Aufnahme von 105ng [³H]-2,3,7,8-TCDD (=1,14ng/kg Körpergewicht) in 6ml Maisöl. Es wurde gezeigt, dass mehr als 87% der oralen Dosis über den gastrointestinalen Trakt absorbiert wurden [Poiger und Schlatter, 1986].

Eine relativ hohe Aufnahme an chlorierten aromatischen Kohlenwasserstoffen haben gestillte Säuglinge. Nach einer WHO-Analyse ergibt sich für Säuglinge eine tägliche Aufnahme von PCDDs / PCDFs über die Muttermilch in Höhe von 68 pg I-TEQ / (kg KG x d). Dieses entspricht ungefähr der 70fachen Menge der täglichen Aufnahme eines Erwachsenen. Es wurde gezeigt, dass von fast allen in der Muttermilch nachweisbaren Kongeneren über 90% im Gastrointestinaltrakt eines Neugeborenen absorbiert werden [McLachlan, 1993]. In einer schwedischen Studie wurde eine Absorption von über 95% bei Säuglingen im Alter von 1,2 und 3 Monaten gefunden [Dahl et al., 1995].

Der Vergleich von Säuglingen, die mit Formelnahrung ernährt wurden, mit gestillten Säuglingen zeigte eine 90% höhere Belastung der gestillten Säuglinge [Abraham et al., 1996].

Eine Übersicht über die Belastung von Muttermilch mit Dioxinen in verschiedenen Ländern zeigt Abbildung 1.9..

Dermale Absorption

Die dermale Absorption von TCDD und drei verschiedener PCDFs wurde 1989 von Brewster und Mitarbeiter an männlichen Ratten untersucht. Bei einer Exposition mit 0,1 µmol/kg war die Absorption von 2,3,7,8-TCDF mit 49% der eingesetzten Dosis grösser als die Absorption von 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF und 2,3,7,8-TCDD. Für jede der eingesetzten Substanzen sank die relative Absorption (prozentual zur eingesetzten Dosis) mit steigender Expositionsdosis, während die absolute Absorption (µg/kg) – nichtlinear – mit steigender Expositionsdosis anstieg. Die Ergebnisse zeigten weiterhin, dass ein Grossteil der eingesetzten Stoffe an der Expositionsstelle im Stratum corneum verbleibt und nicht die Dermis durchtritt [Brewster et al., 1989].

Absorptionsuntersuchungen mit TCDD (6,5-65ng/cm²) an der Haut menschlicher Leichen bestätigte die Funktion des Stratum corneum als Barriere für TCDD. Nach Entfernung des Stratum corneum gelangte ein weitaus höherer Anteil an TCDD in tiefere Hautschichten [Weber et al., 1991].

Wester et al. untersuchte die transdermale Absorption von verschiedenen PCBs aus dem Erdboden. Da Erde das Medium ist, mit dem der Mensch am meisten in Kontakt

kommt, sind Permeabilitätsuntersuchungen von in diesem Medium gelösten PCBs von großer toxikologischer Bedeutung für Risikoabschätzungen. Die transkutane Absorption beim Affen lag bei 13,8% (\pm 2,7%). Die Absorptionsrate aus Erde lag somit in Höhe der anderen Vehikel (Mineralöl, Trichlorbenzol und Aceton) [Wester et al., 1993a]. Weiterhin zeigte er eine sehr hohe transdermale Absorptionsrate von Pentachlorphenol (PCP, Abb. 1.6.) beim Rhesusaffen (24,4% aus Erde bzw. 29,2% aus Aceton) [Wester et al., 1993b].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass transdermal eine erhebliche Menge an Dioxin und Dioxin-ähnlichen Stoffen absorbiert werden kann. Diese lagern sich meist im Stratum corneum der Epidermis an.

Transpulmonale Absorption

Die Entwicklung und der zunehmende Einsatz der Müllverbrennung als Hauptvernichtungsweg für Festabfälle und Sondermüll hatte die vermehrte Emission kontaminierter Partikel und somit eine Anreicherung von TCDD und ähnlicher Stoffe in der Umwelt zur Folge.

Aufgrund technischer Weiterentwicklung ist die Kontamination der Umwelt durch moderne Müllverbrennungsanlagen heute als vernachlässigbar gering anzusehen. Die Hauptexposition des Menschen erfolgte heute über die Nahrung.

Daher kann eine signifikante Exposition mit TCDD durch Inhalation kontaminierter Flugasche, Staub oder Erde erfolgen. Es wurden mehrere Studien durchgeführt, um die Bioverfügbarkeit und die potentielle Gesundheitsbedrohung durch Inhalation kontaminierter Partikel zu erforschen.

Nessel et al. untersuchte an Hand von TCDD an Ratten das Potential für transpulmonale Absorption. Es zeigten sich signifikante Dosis-abhängige Effekte bei einer Exposition mit 0,55 μg TCDD/kg, die in der Größenordnung der Veränderungen lagen, die bei oraler Exposition zu verzeichnen waren [Nessel et al., 1990; 1992].

Die Studien von Nessel et al. zeigen deutlich, dass es systemische Effekte nach Inhalation kontaminierter Partikel gibt und dass es somit zu einer transpulmonalen Absorption von TCDD kommt.

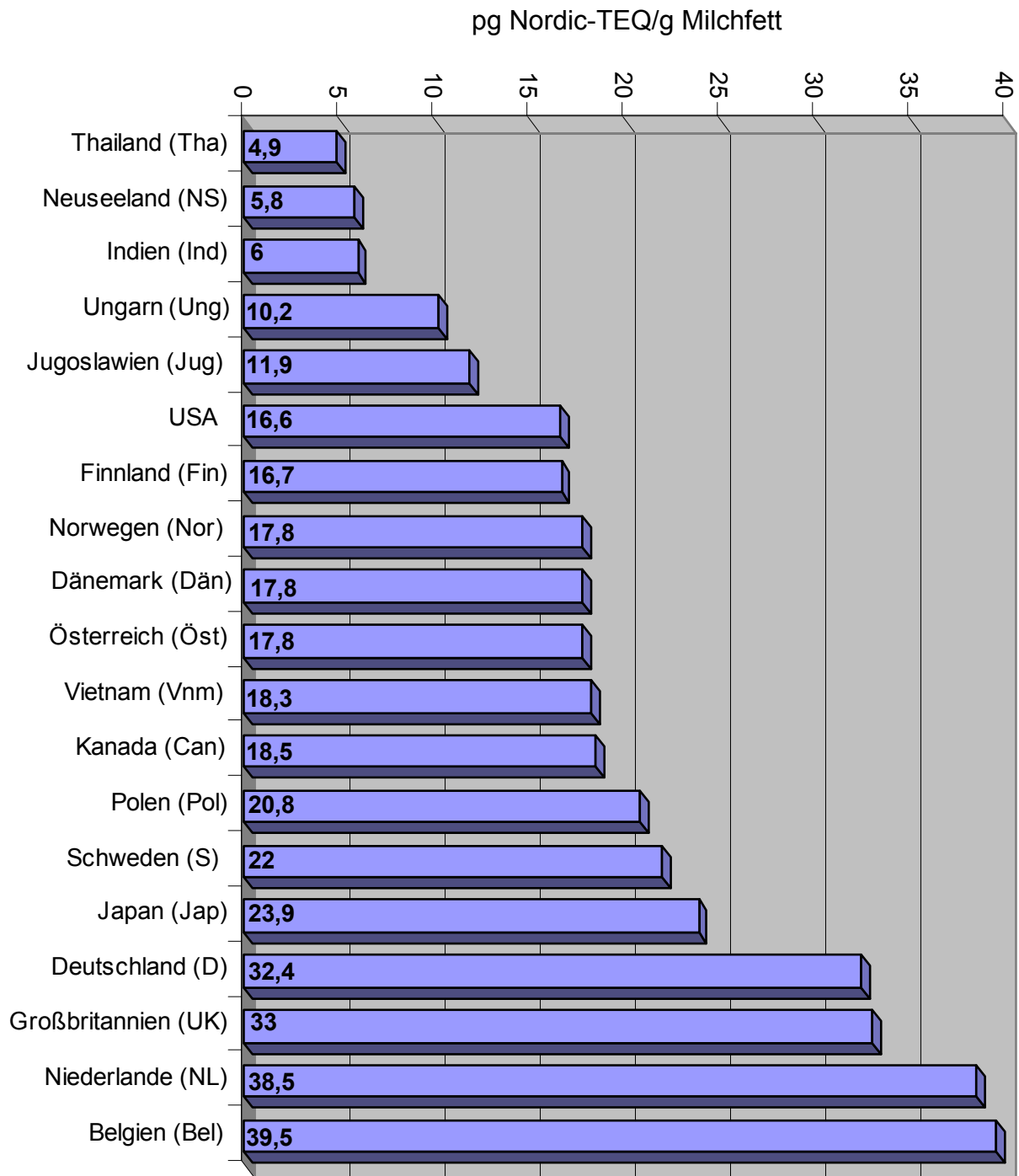


Abb.1.9.: Dioxinbelastung in der Muttermilch [nach Tarkowski, 1996]

Vergleichende Studien zeigten, dass ähnliche TCDD-Werte in der Leber nach intratrachealer Applikation und nach intravenöser Applikation nachzuweisen waren [Diliberto et al., 1993a; 1993b].

Bioakkumulation

Aufgrund der langen Halbwertszeit der Substanzen im menschlichen Körper (TCDD ca. 7 Jahre) und des lipophilen Charakters der Moleküle, die eine Ausscheidung über die Niere verhindert, kumulieren die Stoffe im Körperfett (sog. Bioakkumulation). Eine Übersicht über die geschätzten Halbwertszeiten (HWZ) zeigt Abbildung 1.10..

Verbindung	N (Anzahl der Individuen)	Median HWZ (Jahre)
2,3,7,8-TCDD	48	7,2
1,2,3,7,8-PeCDD	40	15,7
1,2,3,4,7,8-HCDD	41	8,4
1,2,3,6,7,8-HCDD	40	13,1
1,2,3,7,8,9-HCDD	39	4,9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	26	3,7
OCDD	32	6,7
2,3,4,7,8-PeCDF	5	19,6
1,2,3,4,7,8-HCDF	42	6,2
1,2,3,6,7,8-HCDF	31	6
2,3,4,6,7,8-HCDF	6	5,8
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	22	3
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	6	3,2

Abbildung 1.10.: Geschätzte Halbwertszeiten verschiedener Verbindungen [Flesch-Janys et al., 1996]

1.1.4. Wirkungsmechanismus

Die hohe Toxizität von TCDD deutete auf die mögliche Existenz eines Rezeptors für Dioxine hin. 1982 gelang es Poland und Mitarbeitern mittels radioaktiv markiertem TCDD im Zytosol von C57BL/6J – Mäusehepatozyten ein Protein nachzuweisen, welches Dioxin mit einer hohen Affinität bindet. Kompetitive Bindungsstudien mit TCDD-Kongeneren zeigten, dass die Liganden mit der höchsten Bindungsaffinität durchweg planare Moleküle waren mit Halogenatomen in mindestens 3 oder 4 Lateralpositionen. Das gefundene Protein wurde als Ah-Rezeptor (aryl hydrocarbon-receptor) bezeichnet, da er auch andere aromatische Kohlenwasserstoffe bindet [Poland et al., 1982].

Es wurde gezeigt, dass der Grad der Bindungsaffinität von TCDD und verwandten Molekülen mit dem Grad der von ihnen ausgelösten Wirkungen proportional ist [Safe, 1986, 1990]. Danach besitzt das Molekül mit der höchsten Bindungsaffinität die höchste Potenz, biologische Effekte zu induzieren [Gillner et al., 1993; Waller und McKinney, 1995].

Es wird aber auch davon ausgegangen, dass es Ah-Rezeptor-Liganden gibt, die sowohl agonistisch als auch antagonistisch wirken [Lu et al., 1996; Henry et al., 1999]. Daneben gibt es aber sicherlich weitere, Rezeptor-unabhängige Wirkungen dieser Verbindungen.

Die Analyse des Aufbaus und der Aminosäure-Sequenz des Rezeptors zeigte, dass der Rezeptor am N-terminalen Ende eine basic helix-loop-helix (bHLH)-Domäne besitzt [Burbach et al., 1992; Rowlands und Gustafsson, 1997]. Die basic-Region vermittelt die Bindung an die DNS, während die HLH-Region für die Interaktion mit anderen Proteinen nötig ist. Zwei weitere Regionen, die für die Interaktion mit anderen Proteinen nötig sind, sind die PAS A- und die PAS B-Region. Die PAS B-Region ist für die Interaktion mit dem heat-shock protein 90 (hsp90) nötig. Die Bindung mit hsp90 ist für den Aufbau des Ah-Rezeptors und die Ligandenbindung erforderlich [Pongratz et al., 1992]. Immunhistochemische Untersuchungen haben gezeigt, dass der freie Rezeptor im Zytoplasma vorkommt und dass eine Exposition mit TCDD zu einer Anreicherung des Rezeptors im Nukleus führt [Pollenz et al.,

1994]. Daher wird angenommen, dass die Bindung des Rezeptors an hsp90 die Aufnahme des Rezeptors in den Nukleus verhindert [Ikuta et al., 1998].

Es wird ferner angenommen, dass der Ah-Rezeptor auch normale physiologische Aufgaben hat [Hahn et al., 1997] und sich bereits vor dem Auftreten von halogenierten Kohlenwasserstoffen in der Umwelt entwickelte. Diese Annahme wurde von diversen Studien unterstützt, die an AhR-defizienten Mäusen durchgeführt wurden. Diese Tiere zeigten abnormes Wachstum und Entwicklung der Leber, des Immunsystems und in einer Vielzahl verschiedener Gewebe [Schmidt und Bradfield, 1996; Abbott et al., 1999].

Der Ah-Rezeptor interagiert mit dem „ah-receptor-nuclear-translocator“ (ARNT) und bildet einen DNS-bindenden Proteinkomplex, der die Transkription von Genen aktivieren kann [Whitlock, 1999]. Der menschliche ARNT hat eine Masse von ca. 86 kDa und enthält, wie der Ah-Rezeptor, eine bHLH-Domäne und PAS-Domänen, die für die DNS-Bindung und die Protein-Protein Interaktionen verantwortlich sind.

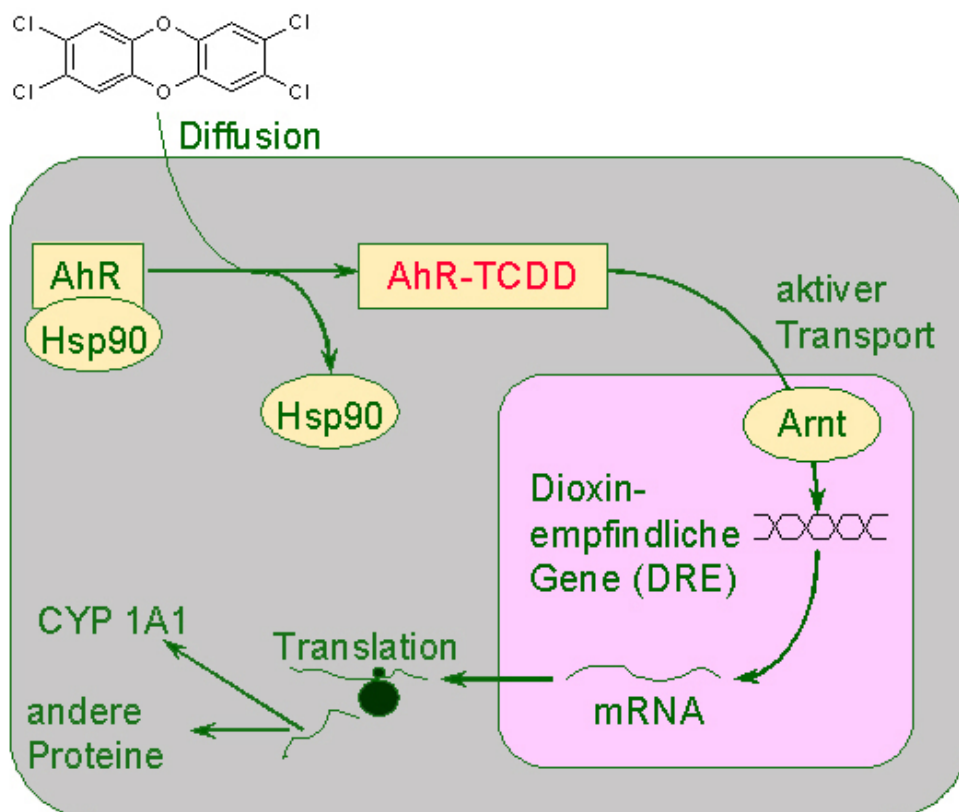


Abbildung 1.11.: Schematische Darstellung des Wirkungsmechanismus der Dioxine. Dargestellt ist der intrazelluläre Weg mit den einzelnen Stationen.

1.1.5. Toxische Effekte von TCDD und ähnlichen Verbindungen

Die toxischen Wirkungen von TCDD und anderen polyhalogenierten aromatischen Kohlenwasserstoffen sind seit Jahrzehnten bekannt und umfassen dermatotoxische, immuntoxische, endokrinologische, teratogene und karzinogene Effekte.

Über die Wirkungen auf das Immunsystem von Säugetieren gibt es viele Publikationen. Die bei zahlreichen Spezies beschriebenen Effekte reichen von histologischen Befunden in immunologisch relevanten Organen und Veränderungen diverser Marker auf den Lymphozyten im peripheren Blut über Ergebnisse in funktionellen Assays an isolierten Zellen aus Organen des Immunsystems bis hin zu einer erhöhten Mortalität in Infektionsmodellen [Neubert et al., 1990; 1993].

Trotz der umfangreichen Forschungen zur Immuntoxizität fehlen nach wie vor eindeutige Erkenntnisse zum Mechanismus dieser Wirkungen.

Es gibt hierzu mehrere Hypothesen:

1. Es ist zum Beispiel vorgeschlagen worden, dass TCDD bereits die frühen Vorstufen der Lymphozyten beeinträchtigt bevor sie in den Thymus einwandern („*Präthymozyten*“). Diese Zellen befinden sich überwiegend im Knochenmark oder in der fetalen Leber [Fine et al., 1989; Thurmond et al., 1999].
2. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit bietet schließlich die Hypothese, dass die *Thymusepithelzellen*, die für die Reifung der Thymozyten essentiell sind und das Organ netzartig durchziehen, das primäre Target für die Wirkungen der lipophilen halogenierten Kohlenwasserstoffe darstellen. Für diese Annahme spricht, dass gewisse Ähnlichkeiten zwischen Epithelzellen der Haut und den Thymusepithelzellen bestehen und dass neben dem Thymus (bzw. dem Immunsystem) die Haut eindeutig als ein Organ bekannt ist, an dem sich die toxischen Wirkungen der „Dioxine“ und verwandter Stoffe manifestieren.
3. Andere Gruppen haben die Annahme favorisiert, dass TCDD die Reifung der *Thymozyten* erst nach ihrer Einwanderung in den Thymus behindert. Als empfindliche Stufe der Reifungsvorgänge wird häufig die Phase der

doppeltpositiven Zellen angesehen, also jener Thymozyten, auf denen sich sowohl das CD4- als auch das CD8-Epitop nachweisen läßt.

4. Es wird auch diskutiert, ob „Dioxine“ in erster Linie die reifen, bereits im peripheren Blut nachweisbaren Lymphozyten beeinflussen.

Einen Überblick über die verschiedenen möglichen Angriffspunkte gibt die nachstehende Abbildung 1.12.:

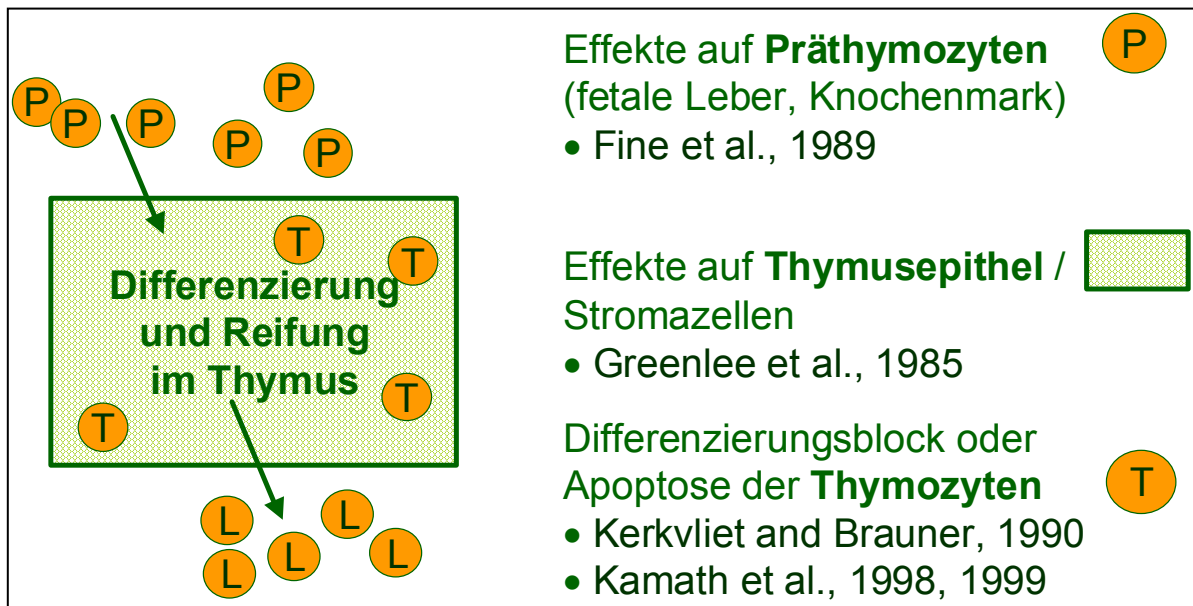


Abbildung 1.12.: Schematische Darstellung der hypothetischen zellulären Targets des lymphatischen Systems von TCDD

1.2. 3,3',4,4',5 – Pentachlorbiphenyl (PCB 126)

PCB 126 ist ein coplanares, so genanntes „Dioxin-ähnliches“, pentachloriertes Biphenyl mit einem WHO – Toxizitätsequivalent (TEF) von 0,1 bezogen auf TCDD [Ahlborg et al., 1992].

1.3. Thymus

1.3.1. Anatomie

Der Thymus ist ein primäres lympho-epitheliales Organ, in dem T-Lymphozyten für die zellgebundene Immunreaktion sowie bestimmte Hormone gebildet werden.

Der Thymus liegt hinter dem Brustbein über dem Perikard. Während der Fetalzeit sowie nach der Geburt wandern aus dem Knochenmark Stammzellen der Lymphozyten in den Thymus ein. Die Stammzellen proliferieren dort zu Lymphozyten, die ins Blut übertreten und zu den sekundären lymphatischen Organen (Milz, Lymphknoten, Peyersche Plaques) wandern, wo sie die T-Zell-Region bilden. Bei der Geburt und im Kindesalter ist der Thymus voll ausgebildet. Nach der Pubertät kommt es beim Thymus zur Involution. Das Thymusgewebe bildet sich bis auf einige Reste zurück und wird durch Fettgewebe ersetzt. Diese Involution ist physiologisch. Nur eine vorzeitige, akzidentelle Involution oder Thymuspersistenz sind als pathologisch zu werten. Beim Di-George-Syndrom fehlt der Thymus. Die Kinder leiden an einem schweren Immundefekt, bei dem sich nur wenige reife T-Lymphozyten in der Zirkulation und den lymphatischen Organen befinden.

Histologisch zeigt sich unter einem Saum reifen Fettgewebes eine dünne Bindegewebsschicht sowie Rinde und Mark des Thymusgewebes. Die Rinde besteht aus dicht gelagerten "unreifen" Lymphozyten mit einem dazwischen gelegenen, von spezialisierten Epithelzellen gebildeten Maschenwerk. Im Mark finden sich weniger dicht gelagerte "reife" Lymphozyten zwischen Epithelzellen, dendritischen Zellen und Makrophagen sowie Gefäße. Charakteristisch für das Mark sind die zwiebelschalartigen Hassall'schen Körperchen (Abbildung 1.12.), die von Epithelzellen abstammen. Die Funktion der Hassall'schen Körperchen ist noch weitgehend unklar. Es wird angenommen, dass sie eine wesentliche Rolle im Prozess der Reifung der Thymozyten spielen. Romagnani et al. fanden in der Umgebung der Hassall'schen Körperchen CD30-Liganden, die darauf hinweisen, dass die negative Selektion von T-Zellen in der Umgebung der Hassall'schen Körperchen stattfindet [Romagnani et al., 1998].

1.3.2. Aufgabe

Der Thymus ist der Hauptort für die Ausreifung der T-Lymphozyten. Funktionslose T-Vorläuferzellen aus dem Knochenmark gelangen in die Thymusrinde, wo sie auch als Thymozyten bezeichnet werden. In der Rinde teilen sich die Thymozyten in rascher Folge (Proliferation, aus einer einzelnen Zelle wird ein Zellklon identischer Zellen). Auf dem Weg von der Rinde zum Mark erwerben die Thymozyten die speziellen Zellfunktionen von T-Lymphozyten (Ausreifung, Differenzierung) und beginnen mit der Expression von Membranproteinen, die T-Lymphozyten bzw. bestimmte Untergruppen der T-Lymphozyten charakterisieren (z.B. CD4 für T-Helfer-Zellen, CD8 für T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen). Wichtiges Kennzeichen der Differenzierung ist die Expression des T-Zell-Rezeptors (TCR), der für die Erkennung der Antigene verantwortlich ist. Ausdruck der in der Rinde stattfindenden Umlagerungen im TCR-Gen ist die Expression der terminalen Deoxynukleotidyl-Transferase (TdT), eines an der Genumlagerung unmittelbar beteiligten Enzyms. Da bei der Bildung der Antigen-Bindungs-Region des TCR ein zufälliges Rearrangement von Gensegmenten verantwortlich ist, entstehen eine ganze Reihe von Zellklonen, die entweder funktionslos oder gegen körpereigene Antigene gerichtet sind. Diese Zellen werden durch Interaktion der Lymphozyten mit Epithelzellen, dendritischen Zellen und Makrophagen erkannt und durch Apoptose eliminiert (so genannte positive und negative Selektion). Die überlebenden T-Lymphozyten gelangen aus dem Mark über Blut- oder Lymphgefäße in die Zirkulation und in die sekundären lymphatischen Organe. Dieser Reifungsprozess findet vor allem bei Kindern vor der Pubertät statt. Wie und in welchem Ausmaß T-Zellen bei Erwachsenen reifen ist unklar. Mengenmäßig nimmt der Bedarf stark ab, da T-Gedächtniszellen sehr langlebig sind und dadurch das nötige Repertoire aufrecht erhalten wird. Man nimmt an, dass jedoch einige T-Zellen weiter im Thymusrest oder auch in anderen Geweben reifen.

1.4. Integrine

Integrine sind eine Gruppe von Zelloberflächenrezeptoren, die Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen vermitteln.

Alle Integrine sind Heterodimere und bestehen aus nicht-kovalent gebundenen α - und β -Untereinheiten. Diese bestehen aus ca. 1100 bzw. 750 Aminosäuren (Abb. 1.13.).

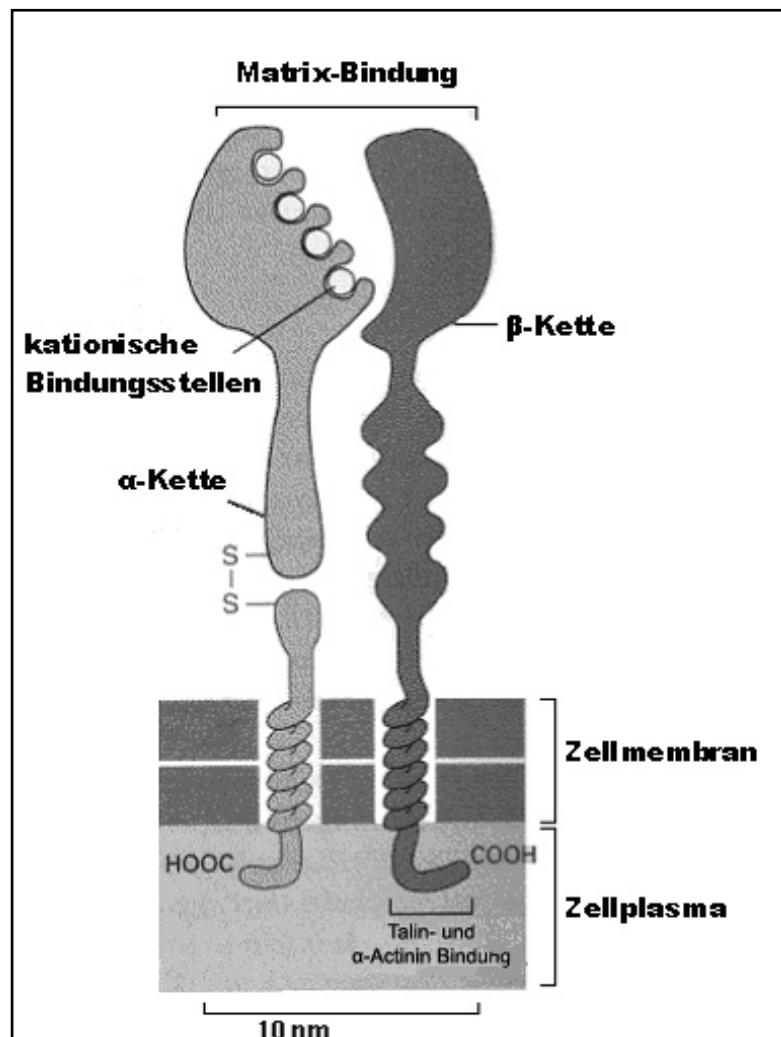


Abbildung 1.13.: Aufbau und Struktur der Integrine (Schema)

Integrine können anhand der verschiedenen β -Untereinheiten in unterschiedliche Untergruppen eingeteilt werden.

Ursprünglich waren die Integrine in drei Gruppen eingeteilt: die β_1 -Integrine oder „very late activation antigens“ (VLA), die β_2 -Integrine oder LeuCAMs und die β_3 -Integrine oder Cytoadhesine.

Aufgrund der Entdeckung zusätzlicher β -Untereinheiten und der Erkenntnis, dass bestimmte α -Untereinheiten mit mehr als einer bestimmten β -Untereinheit binden können, ist das jetzige Einteilungsschema weniger starr. Aktuell wurden 8 verschiedene β - und 16 verschiedene α -Ketten identifiziert. Diese Rezeptoren binden an eine Vielzahl von extrazellulären Matrix- und Zelladhäsionsmolekülen.

1.4.1. β_1 -Integrine

Die β_1 -Integrine stellen die größte Unterfamilie der Integrine dar und werden von einer Vielzahl unterschiedlicher Zellen exprimiert.

Obwohl auch nicht aktivierte („ruhende“) Leukozyten einen messbaren Level β_1 -Integrine (vor allem α_1 - $\alpha_6\beta_1$) exprimieren können, so wird die Expression dramatisch hochreguliert, sobald die Zellen aktiviert werden [Hemler, 1990]. Die β_1 -Expression kann aber auch durch die Zellreifung reguliert werden. Die Expression von $\alpha_4\beta_1$ auf Thymozyten nimmt mit dem Grad der Zellreife ab [Sawada et al., 1992]. Die meisten β_1 -Integrine binden an die extrazelluläre Matrix (EZM). Die EZM ist eine komplexe Mischung von Proteinen und Kohlenhydraten, die sich in dem Raum zwischen den einzelnen Zellen befindet. Sie vermittelt den einzelnen Geweben Stabilität und spielt eine wichtige Rolle in der Regulation von Zellaktivitäten.

Das $\alpha_4\beta_1$ -Integrin ist in der Lage, sowohl an Fibronectin als auch an das „vascular cell adhesion molecule-1“ (VCAM-1) zu binden. Die Bindung von $\alpha_4\beta_1$ -Integrin mit VCAM-1 vermittelt die Bindung von Leukozyten an aktivierte Endothelzellen. Auch in der Embryonalentwicklung spielen β_1 -Integrine eine entscheidende Rolle [Fassler et al., 1996].

1.4.2. β_2 -Integrine

Es wurde gezeigt, dass die β_2 -Untereinheit (CD18) mit vier verschiedenen α -Ketten Dimere bildet. Im einzelnen sind dies α_L (CD11a), α_M (CD11b), α_X (CD11c) und α_d [Gahmberg et al., 1997]. Im Gegensatz zu den übrigen Integrin-Unterfamilien ist die β_2 -Expression auf Leukozyten beschränkt.

LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$) wird von Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten und Makrophagen exprimiert, wobei der Level der Expression mit der Aktivierung der Zellen ansteigt [Larson und Springer, 1990].

LFA-1 bindet an ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102) und ICAM-3 (CD50). Die Interaktion von LFA-1 mit diesen Liganden spielt eine entscheidende Rolle in einer Vielzahl von Vorgängen, wie zum Beispiel bei der B- und der T-Zell-Antwort und bei der Leukozytenadhäsion an Endothelzellen.

Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$) wird in hoher Expression auf Monozyten und Granulozyten gefunden und in niedriger Expression auf T-Zellen. Aktivierung der Monozyten und Granulozyten durch entzündliche Stimuli führt zu einem raschen Anstieg der Mac-1 Expression auf der Zelloberfläche. Mac-1 bindet an die iC3b-Komponente des Komplement-Systems, an Fibrinogen, Faktor X und an ICAM-1.

Die Bindung von Mac-1 mit iC3b vermittelt die Phagozytose von opsonierten Zielzellen. Mac-1 ist weiterhin in die transendotheliale Migration von Monozyten und neutrophilen Granulozyten involviert.

p150,95 ($\alpha_X\beta_2$) wird hauptsächlich von dendritischen Zellen, Monozyten, Makrophagen und Granulozyten exprimiert. Es wird aber auch von Killerzellen und aktivierten T-Zellen exprimiert, allerdings in weitaus geringerer Zahl.

$\alpha_X\beta_2$ bindet an iC3b, ICAM-1, Fibrinogen und an bakterielle Lipopolysaccharide und ist verantwortlich für die Adhäsion von Monozyten und Neutrophilen an entzündetes Gewebe und für die zytotoxische T-Zell-Aktivität.

Das $\alpha_d\beta_2$ -Integrin wurde erst vor kurzer Zeit identifiziert und wird in hohen Zahlen auf Makrophagen in der Milz und im Fettgewebe der Aorta gefunden. Es bindet an ICAM-3 nicht jedoch an ICAM-1 oder VCAM-1 [van der Vieren et al., 1995].

1.4.3. β_3 -Integrine

Die β_3 -Integrin-Untereinheit (CD61) bildet Heterodimere mit α_{IIb} (CD41) und mit α_v (CD51). Der $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptor wird auf Thrombozyten exprimiert. Während er auf

unstimulierten Thrombozyten nur an Fibrinogen binden kann, kann er auf stimulierten Thrombozyten an Fibrinogen, an von Willebrand Faktor, an Fibronectin und Thrombospondin binden.

Die durch den $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptor vermittelte Thrombozytenadhäsion spielt eine wichtige Rolle bei der Thrombozytenaggregation und Aktivierung.

Der $\alpha_v\beta_3$ -Rezeptor wird auf einer Vielzahl unterschiedlicher Zellen wie z.B. Endothelzellen, Monozyten, Thrombozyten, glatte Muskulatur und Osteoklasten exprimiert. Er ist in der Lage, an Vitronectin, Fibrinogen, Fibronectin, von Willebrand Faktor und Thrombospondin zu binden. $\alpha_v\beta_3$ ist beteiligt an der Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten an Endothelgewebe.

1.4.4. β_4 -Integrine – β_8 -Integrine

β_4 -Integrin (CD104) formt einen Heterodimer mit der α_6 -Kette (CD49f), welche an Laminin bindet. Es wird auf Epithelzellen und Endothelzellen exprimiert.

β_5 , β_6 und β_8 formen alle mit der α_v -Einheit einen Heterodimer.

Die β_7 -Untereinheit kann mit der α_4 - und der α_{IEL} -Kette kombinieren. Der $\alpha_4\beta_7$ -Rezeptor wird auf NK-Zellen, Eosinophilen und Lymphozyten exprimiert und kann an Fibronectin, VCAM-1 und MAdCAM-1 binden.

Der $\alpha_{IEL}\beta_7$ -Rezeptor wird von der Mehrheit der intraepithelial gelegenen Lymphozyten exprimiert und interagiert mit E-Cadherin auf der Oberfläche von Mucosaepithelzellen.

1.4.5. Funktion

Integrine haben eine definierte Funktion bei der Migration von Leukozyten in entzündliche Regionen. Da Integrine nur in aktivierter Form binden, müssen die Zellen zuvor einem Stimulus ausgesetzt worden sein, der in der Lage ist, das Integrin zu aktivieren. Dieser Stimulus kann entweder durch Cytokine erfolgen, durch „cross-linking“ verschiedener leukozytärer Rezeptoren (z.B. CD2 und CD3) oder durch Signale die durch die Bindung an Oberflächenmoleküle wie z.B. E- oder P-Selektin erfolgen [Carlos und Harlan, 1994].

Neuere Studien haben gezeigt, dass die Cytokine den größten Anteil an der Aktivierung der Integrin-vermittelten Leukozytenmigration und Adhäsion an Endothel haben.

Eine feste Adhäsion von aktivierten Leukozyten an Endothelgewebe wird durch β_1 - und β_2 -Integrine vermittelt. Adhäsion von Neutrophilen an Endothelgewebe wird primär durch die β_2 -Integrine LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$) und Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$) in Verbindung mit ICAM-1 und ICAM-2 vermittelt.

Die Interaktion von $\alpha_4\beta_1$ -Integrin mit VCAM-1 trägt zur Migration von Lymphozyten, Monozyten, Basophilen und Eosinophilen bei.

Die Bedeutung der Integrinfunktion in vivo wird deutlich am LAD-I Syndrom („leucocyte adhesion deficiency type I“). Bei diesem Syndrom fehlt das β_2 -Integrin auf den Leukozyten entweder ganz oder nur teilweise. Patienten, die von diesem Syndrom betroffen sind, leiden unter rezidivierenden bakteriellen und Pilzinfektionen. Die Leukozyten dieser Patienten bewegen sich zwar in Richtung der Entzündung, können aber nicht am Endothelgewebe adhären und somit nicht den Blutstrom verlassen. Ähnliche Defekte konnten an ICAM-1 defizienten Mäusen beobachtet werden [Sligh et al., 1993].

1.5. Adhäsionsmoleküle der Immunglobulin-Familie

Die Immunglobulin-Familie (Ig-Familie) besteht aus Zell-Oberflächenmolekülen, die Immunglobulin-ähnliche Domänen enthalten. Es gibt über 100 verschiedene Mitglieder dieser Familie und eine Vielzahl dieser Moleküle spielen eine wichtige Rolle in der Zelladhäsion.

Jedes Mitglied der Ig-Familie enthält eine unterschiedliche Anzahl an Domänen, die aus ca. 70-100 Aminosäuren bestehen und auf zwei anti-parallelen β -Ketten angeordnet sind. Diese Ketten sind durch Disulfidbrücken stabilisiert. Obwohl die tertiäre Struktur der einzelnen Domänen sehr ähnlich ist, ist die primäre Struktur sehr unterschiedlich.

ICAM-1 (CD54)

ICAM-1 („Intercellular adhesion molecule-1“) ist ein aus einer Kette bestehendes ca. 80-114 kDa großes Protein mit 5 Ig-ähnlichen Domänen, einer einzelnen

transmembranösen Region und einer kurzen zytoplasmatischen Region [Staunton et al., 1988]. Es bindet an LFA-1, Mac-1, Fibrinogen und CD43. Ruhende Leukozyten exprimieren sehr wenig ICAM-1. Die Expression wird erst durch eine Aktivierung induziert. ICAM-1 ist eines der wichtigsten inflammatorischen Zell-Zell-Adhäsionsmoleküle.

ICAM-2 (CD102)

ICAM-2 (55-65 kDa) besitzt zwei Ig-ähnliche Domänen. Im Gegensatz zu ICAM-1 wird die Expression von ICAM-2 nicht durch die Entzündungsmediatoren beeinflusst. Die genaue Rolle von ICAM-2 ist noch nicht bekannt. Es wird angenommen, dass ICAM-2 die Wanderung von Leukozyten durch „nicht-entzündliches“ Gewebe beeinflusst [Xu et al., 1992].

ICAM-3 (CD50)

Ein 120-160 kDa großes Molekül. Ähnlich wie ICAM-1 besitzt es fünf Ig-Domänen. Es wird hauptsächlich auf Leukozyten exprimiert und ist an der initialen Bindung von T-Zellen an Antigen-präsentierende Zellen beteiligt.

LFA-2 (CD2)

„Leukocyte function associated molecule-2“ LFA-2 ist ein 50 kDa großes Molekül mit zwei Ig-Domänen und dient der T-Zell-Aktivierung.

LFA-3 (CD58)

LFA-3 ist in Größe und Struktur dem LFA-2 sehr ähnlich und besitzt ebenfalls zwei Ig-Domänen. Es wird auf einer Vielzahl von Zellen exprimiert. Darunter sind v.a. Epithelzellen, Endothelzellen, Erythrozyten und Fibroblasten.

NCAM (CD56)

NCAM („Neural cell adhesion molecule“) existiert in verschiedenen Isoformen (120-180 kDa). Diese entstehen durch posttranslationale Modifikationen. NCAM wird auf Neuralgewebe und Muskelzellen exprimiert. Darüber hinaus kann es auf vielen unterschiedlichen Geweben während der Embryogenese identifiziert werden.

NCAM vermittelt Zell-Zell- und Zell-Matrix-Bindungen und ist an der Neuralentwicklung beteiligt.

VCAM-1 (CD106)

VCAM-1 („vascular cell adhesion molecule-1“, 110 kDa) besitzt sieben Ig-ähnliche Domänen. Die Expression wird induziert durch inflammatorische Mediatoren wie z.B. IL-1 und TNF- α . VCAM-1 bindet mit den Integrinen $\alpha_4\beta_1$ (VLA-4) und $\alpha_4\beta_7$ und unterstützt die Extravasation von Leukozyten in entzündliche Gewebe.

1.6. TE-Antikörper

Das Thymusepithel ist von erheblicher Bedeutung für die Reifung immunkompetenter T-Zellen. Dies gilt vor allem in den frühen Phasen der Thymusentwicklung [Haynes, 1984]. Während der humanen Ontogenese beginnt die Trennung des Thymusepithel in Kortex und Medulla ungefähr ab der 14. Gestationswoche. Hassall'sche Körper können ab der 15. Gestationswoche gefunden werden [Weller, 1933; Norris, 1938].

Da sich große Teile der negativen T-Zell-Selektion in der direkten Umgebung der Hassall'schen Körper abspielen [Salomon et al., 1997] und Hassal'sche Körper ein Bestandteil von terminal differenziertem Thymusepithelgewebe sind, haben wir für die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen zwei Antikörper verwendet die speziell die äußeren Schichten der Hassal'schen Körper markieren, um so quantitative Veränderungen der Hassall'schen Körper, die auf eine Zunahme der terminalen Differenzierung des Epithelgewebes hindeuten, zu erfassen.

Folgende Antikörper wurden verwendet:

TE 8 (IgG2a)

TE 8 definiert ein Antigen, dass sich zwischen der 14. und 16. Gestationswoche entwickelt. TE 8 markiert die terminalen Stadien der epidermalen Keratinozyten-Reifung. TE 8 bindet spezifisch an Zellen, die den äußeren Ring der Hassall'schen Körper bilden. Weiterhin bindet es an das Stratum granulosum der Epidermis [Haynes et al., 1984].

TE 16 (IgG1)

TE 16 reagiert mit einem intrazellulärem Antigen, welches von Hassall'schen Körpern innerhalb des Thymusepithels exprimiert wird. Auch dieses Antigen entwickelt sich zwischen der 14. und 16. Gestationswoche und stellt die terminalen Stadien der epidermalen Keratinozyten-Reifung dar. TE 16 bindet spezifisch an Zellen des äußeren Ringes der Hassall'schen Körper [Lobach et al., 1985].