

1. Einleitung

1.1 Allgemeines

Der Name „Dioxin“ ist vielen Menschen ein Begriff geworden, nachdem sich in Seveso (Italien) in einer Fabrik für chemische Grundstoffe ein schwerer Unfall ereignete. Dort wurden nach einer Explosion in einer Anlage zur Produktion von Pentachlorphenol mehrere Kilogramm Dioxin direkt in die Umwelt freigesetzt. Innerhalb weniger Tage verloren die Bäume der Umgebung ihre Blätter und kleinere Tiere begannen zu sterben. Viele, besonders jüngere Menschen, bekamen eine sogenannte „Chlorakne“. Weitere akut auffällige Erkrankungen waren aber glücklicherweise nicht zu beobachten.

Aufgrund der Wirkungen, die Dioxine schon in äußerst geringen Dosen in Kleintieren, wie Ratten und Mäusen, erzeugen konnten, schlossen sich viele Studien mit diesen Labortieren an. Heute sind weit über 5000 Studien zu diesem Thema veröffentlicht worden, in denen die verschiedensten toxischen Effekte von Dioxinen, wie z. B. Wirkungen auf das Immunsystem, Induktion von Enzymen, Tumorpromotion oder Wirkungen auf die Fertilität, diskutiert werden.

Nach dem bekannt werden solcher Studien in der breiten Öffentlichkeit waren große Teile der Bevölkerung für dieses Thema sensibilisiert und verunsichert. Mit der technischen Möglichkeit zur Erfassung der allgemeinen Umweltbelastung und dem schwer abzuschätzenden Langzeitrisiko aufgrund der Persistenz der Dioxine, waren Staat und Behörden gezwungen zu handeln. So wurden seit den frühen 80er Jahren viele Gesetze und Richtlinien erlassen, um z. B. den Ausstoß bzw. den Anfall von Dioxinen deutlich einzuschränken. Dies ist auch größtenteils gelungen, so dass die Umweltbelastung seit ca. Ende der 80er Jahre deutlich zurückgegangen ist.

Ein wichtiger Punkt ist aber bis heute weitgehend unklar geblieben. Nämlich ob und in wie fern Dioxine in der allgemeinen Umweltbelastung Wirkungen auf den Menschen entfalten und ob Dioxine nach einmaliger Exposition (z. B. nach Unfällen) noch Effekte Jahre nach der Exposition im Körper aufweisen können.

Es scheint, dass Dioxine in größeren Säugetieren (und Menschen), weniger eine akute Toxizität aufweisen, sondern vielmehr Effekte erst nach einer gewissen Latenz auffällig werden. Um diese Effekte genau zu charakterisieren sind zum Einen, auch aufgrund der langen Halbwertszeit von Dioxinen, lange Beobachtungszeiträume notwendig, zum Anderen geeignete Tiermodelle (wie z. B. Primaten), in denen sich die Toxikokinetik und die möglichen Effekte im Menschen besser simulieren lassen.

1.2 Dioxine und dioxinverwandte Verbindungen

1.2.1 Chemische Struktur

Der Begriff "Dioxin" beschreibt nicht nur einen bestimmten Stoff, sondern ist ein Sammelbegriff für eine Vielzahl unterschiedlicher Verbindungen, die aber ähnliche chemische, physikalische und biologische Eigenschaften aufweisen. Alle diese Stoffe besitzen eine sehr stabile aromatische Konfiguration bestehend aus zwei Benzolringen, die unterschiedlich Halogen-substituiert sind. Eine Gruppe dieser Substanzen bilden die "echten" polychlorierten Dibenzodioxine (PCDD, siehe Abb. 1) mit 75 möglichen Einzelverbindungen. Die dioxinähnlichen Stoffe werden in zwei weitere Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe bilden die polychlorierten Dibenzofurane (PCDF, 135 mögliche Einzelverbindungen, siehe Abb. 2) und eine weitere die so genannten coplanaren polychlorierten Biphenyle (PCB, 13 Einzelverbindungen, siehe Abb. 3). Diese coplanaren PCBs sind Kongenere mit vier oder mehr lateral substituierten Chloratomen und keiner bzw. einer Substitution in ortho-Position. So ergibt sich eine molekulare Struktur die dem 2,3,7,8-TCDD sehr ähnlich ist. Aus diesem Grund weisen sie eine deutlich höhere Toxizität als die nicht-coplanaren PCBs auf und werden zu den dioxinähnlichen Substanzen gezählt.

Ferner existieren neben den polychlorierten PCDD- und PCDF-Verbindungen auch polybromierte und gemischt-halogenierte Isomere mit ähnlicher Toxizität, so dass die Zahl der möglichen Einzelverbindungen auf weit über 1000 ansteigt.

Insgesamt sind aber nur 30 der genannten Substanzen aufgrund ihrer Toxizität und ihres Vorkommens von entscheidender Bedeutung. Das sind zum einen die 17 Kongenere der PCDDs (7) und PCDFs (10) die wenigstens in den Positionen 2, 3, 7 und 8 chloriert sind, sowie die 13 dioxinähnlichen PCBs.

Das TCDD (2,3,7,8-Tetrachlor-dibenzo-p-dioxin) ist wohl das bekannteste der Dioxine (Seveso) und dient als Referenzsubstanz für alle anderen Dioxine und dioxinähnlichen Verbindungen. Es ist das Kongener mit der höchsten Toxizität. Aus diesem Grund werden alle anderen Dioxine in ihrer Toxizität über einen so genannten Toxizitätsäquivalenzfaktor (TEF, siehe Kapitel 1.2.4) mit dem TCDD verglichen.

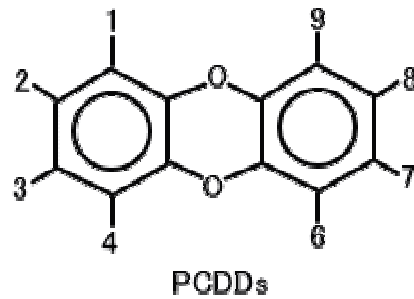


Abb. 1:
Grundstruktur der polychlorierten Dibenzodioxine

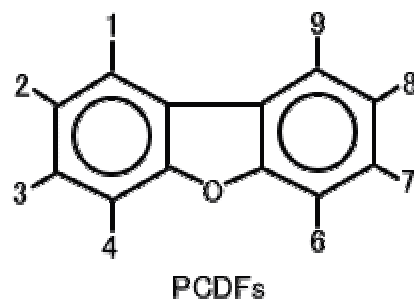


Abb. 2:
Grundstruktur der polychlorierten Dibenzofurane

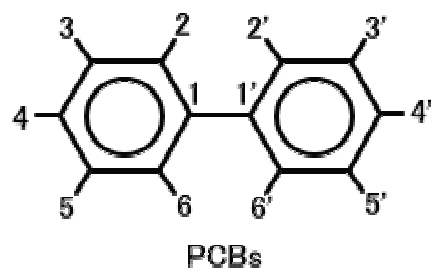


Abb. 3:
Grundstruktur der polychlorierten Biphenyle

1.2.2 Entstehung

Dioxine sind ausschließlich unerwünschte Nebenprodukte, die als Abfallstoffe bei thermischen Prozessen oder der industriellen Synthese von chlororganischen Verbindungen entstehen. Wichtige Emissionsquellen sind die Verbrennung von Hausmüll, Klärschlamm, Krankenhaus- oder Sondermüll, die Verbrennung von verbleitem Benzin und der Hausbrand von Heizöl, Kohle und Holz sowie thermische Prozesse der Metallgewinnung und -verarbeitung. Aber auch bei Waldbränden (Bumb et al., 1980) oder großen Gebäudebränden entstehen nicht unerhebliche Mengen an Dioxinen.

Ferner fallen Dioxine bei der Produktion von chlorierten Phenolen, Phenoxy-Herbiziden und bei den bis vor einige Jahre produzierten PCBs an. Eine weitere Quelle sind chlorhaltige Bleichmittel der Zellstoffindustrie.

Darüber hinaus können Dioxine bei Unfällen mit PCB-enthaltenden elektrischen Maschinen, oder auch aus bromhaltigen Flammschutzmitteln in Kunststoffen nach thermischer Umwandlung austreten. Ein bekanntes Beispiel einer unkontrollierten Reaktion, bei der erhebliche Mengen an Dioxin freigesetzt worden sind, ist der Unfall der sich im Jahre 1976 im ICMESA-Chemiewerk in Seveso, Italien ereignete. Dort kam es nach einer Explosion zu einer Kondensationsreaktion von dort produziertem Pentachlorphenol zu Dioxin (insbesondere TCDD). Begünstigende Faktoren für solch eine intermolekulare Kondensation von passenden Fragmenten (z. B. chlorierte Phenolate) sind Temperaturen über 150°C, Drücke über 100 kPa, alkalische Reaktionsmedien, sowie die Anwesenheit von Kohlenstoff und Kupfer.

1.2.3 Halbwertszeit und Abbau

1.2.3.1 Halbwertszeit in der Umwelt

Die Halbwertszeit (HWZ) von Dioxinen in der Umwelt ist aufgrund vieler Einflussgrößen ziemlich variabel. So beträgt sie für TCDD in der Gasphase der Atmosphäre ca. 200 Stunden (Podoll et al., 1986). Für PCDDs allgemein in der Gasphase liegt sie bei ca. 8 Tagen und für PCDFs bei ca. 29 Tagen. Der Abbau von Dioxinen in der Gasphase findet vorwiegend durch photolytische Reaktionen (Sonnen- oder UV-Licht) in Anwesenheit eines organischen Wasserstoffdonators statt (Kwok et al., 1995). Allgemein scheint die Photolyserate mit sinkender Anzahl von Chlorsubstituenten zu steigen (Pennise und Kamens, 1996). Ein weiterer Abbaumechanismus ist die Hydroxylierung von Dioxinen in der Atmosphäre. Kwok et al. (1994)

beschrieben die Hydroxylierung als dominanten Prozess für den Abbau von PCDDs/PCDFs in der Troposphäre (HWZ 1,0-3,7 Tage). Der größte Anteil der PCDDs und PCDFs (vorwiegend mit mehr als 6 Chlorsubstituenten) ist aber an Partikel gebunden. Dadurch ist erstens die photolytische Degradierung deutlich reduziert und zweitens findet durch die größere Masse eine schnellere Deposition statt. So erfolgt in der Atmosphäre fast kein Abbau dieser Fraktion (Standley und Hites, 1991).

Insgesamt ist der atmosphärische Abbau von Dioxinen sehr gering, so dass keine signifikante Reduktion dieser Stoffe stattfindet.

Dioxine in aquatischen Medien werden sowohl durch mikrobielle Mechanismen (Matsumura und Benezet, 1973), wie auch durch Photolyse (Atkinson, 1991) abgebaut. Die Halbwertszeit hier beträgt ca. 550 Tage (Ward und Matsumura, 1979).

Die Halbwertszeit in Böden und Sedimenten beträgt ca. 10 Jahre (Bacci et al., 1990). Der photolytische Abbau (Helling et al., 1973), wie auch die mikrobielle Degradierung (Arthur und Frea, 1989) ist hier äußerst gering. Aufgrund der hohen Lipophilie der Dioxine spielen auch Auswaschprozesse aus belasteten Böden nur eine untergeordnete Rolle, so dass Böden und Sedimente ein optimales Reservoir für diese Stoffe darstellen.

1.2.3.2 Halbwertszeit im Organismus

Allgemein ist die HWZ von Dioxinen in einem Organismus abhängig von verschiedenen Eigenschaften, wie der Körperzusammensetzung (Fettanteil), der Metabolisierungsrate, der Proteinbindung, des Körpergewichts, dem Alter und Geschlecht. Außerdem scheint die HWZ abhängig von der verabfolgten Dosis bzw. der Applikationsform zu sein (WHO, 1998). Ein Modell zur Erfassung der Verteilung und Elimination von komplexen Mischungen ist aus diesen Gründen mit großen Schwierigkeiten behaftet.

Um die Verteilung und Elimination von TCDD zu beschreiben, wird ein Ein-Kompartiment-Modell (Filsler et al., 1994), sowie eine Elimination 1. Ordnung (Kreuzer et al., 1997) angenommen. Die HWZ im Erwachsenen liegt zwischen 5 und 10 Jahren (Geyer et al., 1986; Poiger und Schlatter, 1986).

Die für die HWZ wichtigsten Faktoren scheinen das Körpergewicht, sowie der Körperfettanteil zu sein. So steigt die Halbwertszeit mit dem Körpergewicht der unterschiedlichen Spezies annähernd proportional. Das Körperfett spielt dann eine Rolle, wenn die Anteile besonders stark variieren. So ist der Körperfettanteil einer DBA-Maus (HWZ ca. 24,4 Tage) doppelt so hoch wie der einer C57BL/6J-Maus (HWZ ca. 11 Tage; Gasiewicz et al., 1983).

Tabelle 1:

Spezies	Körpergewicht (g)	Dosis ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Halbwertszeit (Tage)
C57BL/6J Maus ¹	21	10	11,0
DBA/2J Maus ¹	21	10	24,4
Hamster ²	78	650	10,8
Meerschweinchen ³	480	0,56	93,7
Macca mulatta ⁴	5250	1	365
Mensch ⁵	67500	unbekannt (Seveso)	2990

Tabelle 1:

Halbwertszeiten von TCDD in verschiedenen Spezies; ¹Gasiewicz et al., 1983; ²Olson et al., 1980; ³Olson, 1986; ⁴McNulty et al., 1982; ⁵Needham et al., 1998

Der hepatische Abbau von Dioxinen in der Leber erfolgt hauptsächlich über das Cytochrom P4501A2 (Diliberto et al., 1999). PCDFs und höher chlorierte PCDDs werden schneller abgebaut als niedrig chlorierte PCDDs. Niedrig chlorierte PCDDs verteilen sich im Körper- und Plasmafett etwa gleich, während höher chlorierte PCDDs und PCDFs höhere Konzentrationen im Plasmafett als im Körperfett aufweisen (zusammengestellt von Schecter et al., 1991). Eine Ausscheidung über die Fäzes scheint darüber hinaus eine weitere Rolle zu spielen.

1.2.4 Risikoerfassung und I-TEQ

PCDDs, PCDFs und PCBs liegen in der Umwelt zum überwiegenden Teil in sehr komplexen und variablen Mischungen vor. Aus diesem Grund ist die Exposition des Menschen, was Quantität und Qualität der Belastung angeht und damit das individuelle Risiko, regional sehr unterschiedlich.

Um möglichst einfache und reproduzierbare Einschätzungen des Risikos machen zu können, wurde unter der Annahme, dass das toxische Verhalten der einzelnen Kongenere qualitativ sehr ähnlich ist und sich nur die Quantität der Toxizität mit dem Chlorsubstitutionsmuster ändert, zur groben Einschätzung dieses Risikos von Eadon et al. (1986) ein Toxizitätsäquivalenz-System eingeführt. Dabei wurde das Kongener mit der höchsten Toxizität, das 2,3,7,8-TCDD, als Referenzsubstanz gewählt und dessen Toxizitätsäquivalenzfaktor (TEF) mit 1.0 festgelegt. Grundlage für die Erstellung von TEFs waren meist Tierstudien zur Toxizität anderer

Kongenere, die mit Studien zum 2,3,7,8-TCDD verglichen wurden. Zum überwiegenden Teil beschäftigten sich diese Studien mit Enzyminduktionen bestimmter Systeme (AHH, EROD). Eine Enzyminduktion weist zwar keinen direkten toxischen Effekt nach, ist aber ein guter und leicht reproduzierbarer Biomarker. Weitere Studien untersuchten akute Toxizität, Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität. Die TEFs der einzelnen Kongenere werden nach der unten gezeigten Formel summiert und man erhält den toxischen Äquivalenzwert (TEQ) der untersuchten Mischung.

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

Abb. 4:

Formel zu Berechnung des TEQ (toxisches Äquivalent)

Die Gewichtung der Toxizität der unterschiedlichen Kongenere wurde häufig aufgrund neuer Datenlagen überarbeitet. So wurde zum Beispiel die Toxizität von OCDD (oktachloriertes Dibenzodioxin) anfangs mit einem TEF von 1.0 bewertet und nach Neueinschätzung der NATO (North Atlantic Treaty Organisation, 1988) und EPA (U.S. Environmental Protection Agency, 1989) mit einem TEF von 0.001. Das momentan gebräuchligste TEQ-System (I-TEQ) ist das System, das 1989 von der NATO (CCMS, Committee on the Challenges of Modern Society) entwickelt wurde. Eine fünfjährige Überarbeitung und Angleichung an die neuesten wissenschaftlichen Ergebnisse wird von der WHO empfohlen.

1.2.5 Vorkommen, Transport und Konzentrationen von Dioxinen in der Umwelt

PCDDs und PCDFs kommen praktisch ubiquitär in allen Umweltproben vor. Nach der Emission verteilen sie sich zuerst vorwiegend in der Atmosphäre. Dort existieren Dioxine entweder in der Gasphase (äußerst kleiner Teil) oder an Partikel gebunden. Die sich in der Gasphase befindenden Moleküle unterliegen einer photochemischen Degradierung in weniger toxische Bestandteile mit einer relativ kurzen Halbwertszeit, der an Partikel gebundene Anteil ist jedoch abbauresistenter. Der größte Teil der Dioxine in der Atmosphäre lagert sich durch nasse oder trockene Deposition nach einer bestimmten Zeit im Boden, in der Vegetation oder im Wasser ab. Böden und Sedimente dienen damit als großes Reservoir für Dioxine (Bacci et al., 1990). Ein geringer Anteil kehrt durch Resuspension oder erneute Verflüchtigung (besonders niedrig chlorierte Kongenere) in die Atmosphäre zurück. Die Entfernung und die Dauer bis zur Deposition sind

abhängig von unterschiedlichen Faktoren, wie der Emissionshöhe, der Temperatur, den vorherrschenden Wetterbedingungen sowie der Partikelgröße, an denen die Dioxine gebunden sind. So ist zum Beispiel ein Transport bis zur Ablagerung über mehrere hundert Kilometer möglich, so dass Dioxine in Gebieten ohne lokale Emission, wie der Antarktis nachgewiesen werden können (siehe Abb. 5).

Abb. 5

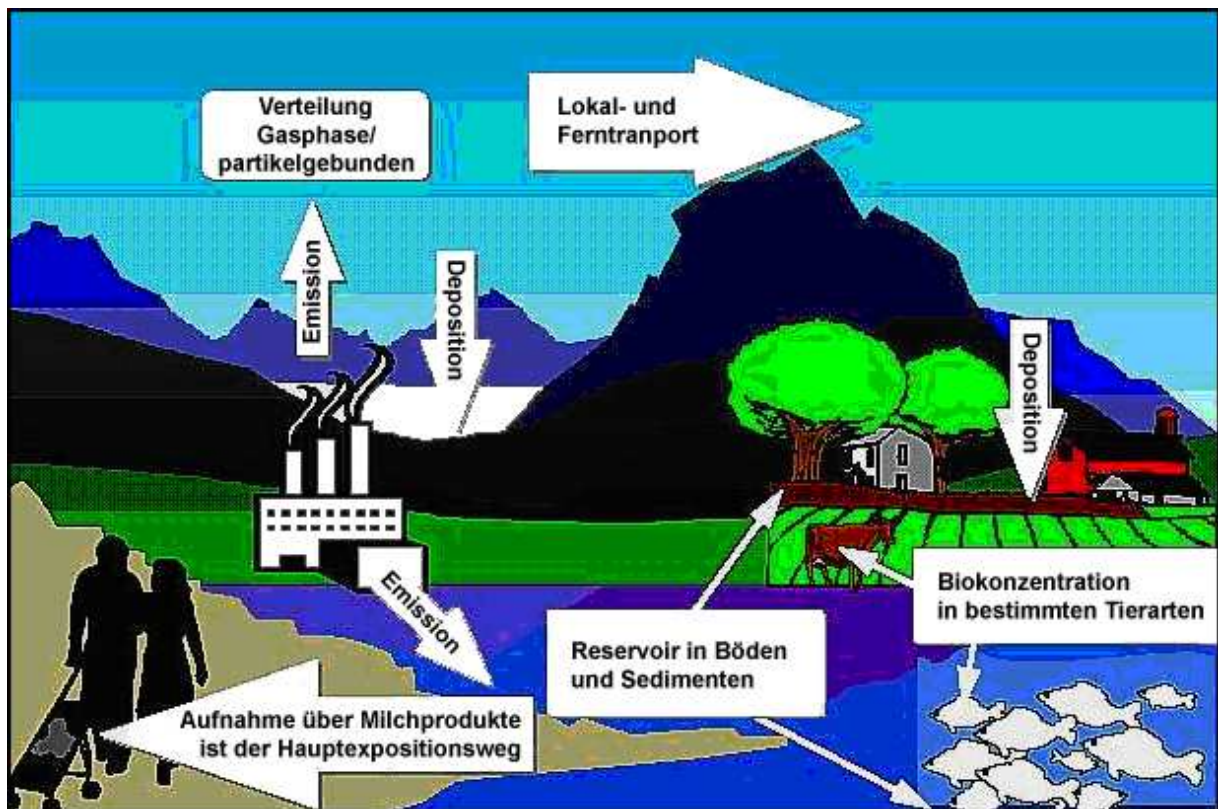


Abb. 5:

Schema zum Transport und der Verteilung von Dioxinen in der Umwelt (modifiziert nach Compilation of EU Dioxin Exposure and Health Data, European Commission DG Environment, 1999)

1.2.5.1 Belastung der Umwelt mit Dioxinen

Eine Studie von Kjeller et al. (1990) konnte zeigen, dass sich Dioxine schon vor der Phase der Industrialisierung in Boden- sowie Vegetationsproben nachweisen lassen. Untersucht wurden Proben aus dem Vereinigten Königreich von 1856 bis 1986. In den Bodenproben zeigte sich ein deutlicher Anstieg von Dioxinen im Zeitraum 1914 bis 1944 auf fast das Doppelte. In den älteren Proben fanden sich eher PCDFs, ab 1940 stiegen die PCDD-Konzentrationen deutlich an, so dass seit 1982 mehr PCDDs als PCDFs in den Proben vorhanden sind (Kjeller und Rappe, 1995). Seit ca. 1944 sind die Gesamtkonzentrationen aber relativ konstant. In der EU zeigt sich in Bodenproben eine große Bandbreite der Konzentrationen von Dioxinen. Die niedrigsten Konzentrationen lagen unter 1 ng I-TEQ/kg d.m. (dry matter; Trockensubstanz), die höchsten um 100 ng I-TEQ/kg d.m., in hoch kontaminierten Gebieten reichten die Konzentrationen von einigen Hundert bis fast 100000 ng I-TEQ/kg d.m. Insgesamt ließ sich aber kein signifikanter Unterschied der Belastung mit Dioxinen in den verschiedenen Ländern der EU feststellen.

Ein ähnlicher Zuwachs lässt sich in den Vegetationsproben nachweisen. Wobei sich die Konzentrationen seit den 1930er Jahren ca. alle 20 Jahre verdoppelt haben. Der sehr deutliche Anstieg besonders von höher chlorierten Kongeneren, lässt sich durch die Ende der 1940er Jahre zugenommenen Verbrennungsprozesse (Abfallverbrennung, Hausbrand) und auch die vermehrt produzierten chlororganischen Verbindungen wie Pentachlorphenol erklären (Rappe et al., 1987; Kjeller et al., 1990).

Der Nachweis von Dioxinen in der Luft ist mit sehr hohen Schwankungen behaftet und deshalb nur sehr eingeschränkt als Parameter zu verwenden. Im Allgemeinen findet man sehr niedrige Werte in ländlichen küstennahen Gebieten, wobei Werte in hoch industrialisierten Zonen deutlich höher liegen (Rappe et al., 1988). Zudem unterliegen die Dioxin-Konzentrationen in der Luft beträchtlichen wetterbedingten und saisonalen Schwankungen. So sind die gemessenen Konzentrationen im Winter teilweise bis zu 10-mal höher als im Sommer (siehe Abb. 6, Fiedler et al., 1997).

Extrem hohe Werte finden sich in der Nähe von großen Emissionsquellen. So zeigt eine Luftprobe, die ca. 150 Meter entfernt von einer Müllverbrennungsanlage (Süd-Wales) genommen wurde, eine Belastung mit 14800 fg I-TEQ/m³ und liegt so um einen Faktor von mehreren Hundert über der normalen Luftbelastung.

Konzentrationen von Dioxinen im Trinkwasser sind im Allgemeinen sehr niedrig (2,0 pg/m³ I-TEQ, Rappe et al., 1990) und als nicht relevant einzuschätzen.

Abb. 6:

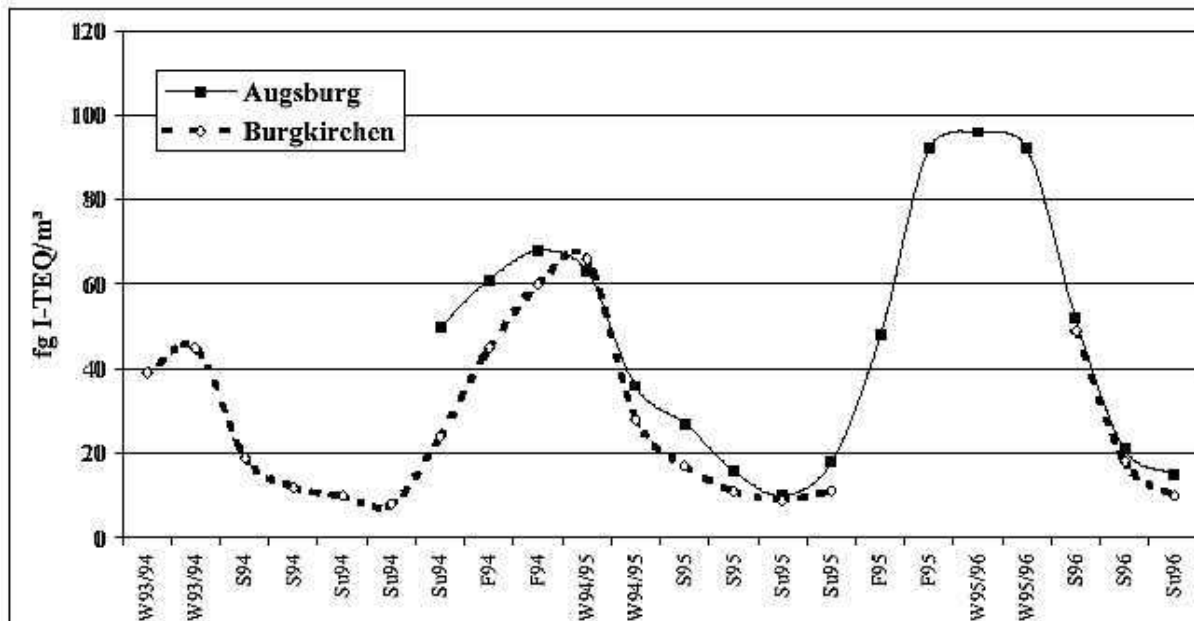


Abb. 6:

Saisonalabhängige Dioxin-Konzentrationen der Luft (modifiziert nach Fiedler et al., 1997); W=Winter, S=Sommer, F=Frühjahr

Die Hauptursache für die aquatische Kontamination mit Dioxinen sind neben der Deposition aus der Atmosphäre, industrielle Einleitungen sowie durch Erosion eingeschwemmte belastete Böden. In Skandinavien und Nordamerika sind Papier- und Zellstofffabriken, die chlorhaltige Bleichmittel und anderes Abwasser in die Flüsse bzw. Meere einleiten, der Hauptbelastungsfaktor (Swanson et al., 1988).

1.2.5.2 Belastung von Nahrungsmitteln mit Dioxinen

Die Belastung von Obst und Gemüse ist gering und übersteigt aufgrund fehlender Kumulation nicht die durchschnittliche Umweltbelastung (<1 ppt, Beck et al., 1989). Zudem ist die Expositionszeit von Agrarprodukten aufgrund häufiger Ernten relativ kurz. Einige Ausnahmen bilden so genannte „hot spots“, so beträgt z. B. die Vegetationsbelastung in der Nähe von Altkabel-Verbrennungsanlagen 18 pg/g I-TEQ Trockensubstanz (Prinz et al., 1990).

Über den Konsum von kontaminierten Gräsern (z. B. durch ausgebrachten Klärschlamm auf die Wiesen) akkumulieren die Dioxine in den Weidetieren. Eine besonders hohe Belastung von Kalbfleisch lässt sich durch die schnelle Mast, während der die Hauptnahrung aus Milchpulver

besteht, erklären. Aufgrund der fast ausschließlich pflanzlichen Ernährung und dem hohem Körperfettanteil, der eine Verdünnung von Dioxinen bewirkt, ist die Belastung von Schweinen geringer (Fürst et al., 1990).

Eine weitere wichtige Dioxinquelle für den Menschen ist die Kontamination von tierischer Milch, in besonderem Maße der Kuhmilch. Hier findet sich eine besonders hohe Belastung nahe industrieller Müllverbrennungsanlagen (Beck et al., 1990)

Die aquatische Deposition von flüchtigen Abfallstoffen der Industrie sind der Hauptkontaminationsweg für Fisch und andere Seetiere (Fürst et al., 1991). Im Vergleich zu den übrigen Nahrungsmitteln finden sich in Fischen die höchsten I-TEQ-Konzentrationen (2-214 pg I-TEQ (ohne PCBs), pro g Fett; European Commission DG Environment, 1999), die wichtigsten Kongenere sind hier eher PCDFs (besonders das 2,3,7,8-TCDF). Die Konzentrationen sind in allen Seefischen ungefähr gleich. Zu beachten ist nur der teilweise deutliche Unterschied des Körperfettanteils zwischen einzelnen Fischarten. So enthält ein Hering (15% Fettanteil) auf des Körpergewicht bezogen 30-mal soviel Dioxin wie ein Kabeljau (0,5% Fettanteil)

In einer Studie von Ryan et al. (1991) konnte eine weitere Quelle von Dioxinen aufgezeigt werden. Aus chlorgebleichten Verpackungsmaterialien können Dioxine bereits nach kurzer Lagerung in die Nahrungsmittel gelangen. So sind zum Beispiel nach 7 Tagen im Kühlschrank 20% der in einer Milchkartonbeschichtung enthaltenen Dioxine in die Milch übergegangen. Beck et al. (1990) beschrieben einen 25-35%igen Übertritt von Dioxinen aus chlorgebleichten Kaffeefiltern in den Kaffee. Bis zur drastischen Reduktion der Dioxine in Papierbleichmitteln durch die Industrie im Jahre 1990 spielten solche Kontaminationswege eine wichtige Rolle. Weitere mit Dioxinen verunreinigte Produkte sind mit Pentachlorphenol behandelte Textilien und Leder sowie Weinkorken und Wachskerzen.

1.2.6 Menschliche Exposition und Aufnahme von Dioxinen

Aufgrund des ubiquitären Vorkommens, durch die Vielzahl von Urhebern, sowie die lange Umweltpersistenz, ist praktisch jeder Mensch in einem gewissen Maße exponiert. Die Aufnahme von Dioxinen ist auf unterschiedlichen Wegen möglich. Sie kann in zwei große Gruppen geteilt werden:

- Primäre Exposition (direkte Aufnahme): Atemluft, Hautkontakt, direkte Ingestion
- (Semi)Sekundäre Exposition (indirekte Aufnahme): Nahrungsaufnahme (pflanzliche bzw. tierische Produkte)

Die Exposition gegenüber Dioxinen erfolgt hauptsächlich auf dem sekundären bzw. semisekundären Weg:

Atmosphäre → Vegetation → Nutztier → (Milch) → Mensch

Der Hauptfaktor ist, durch Kumulation in höheren Tieren, der Verzehr von Fleisch- und Milchprodukten, in einigen Ländern (zum Beispiel in Skandinavien) auch der Verzehr von Fisch und Krustentieren. Eine weitere Steigerung der Belastung mit Dioxinen erfolgt durch bestimmte Zubereitungsformen der Nahrungsmittel, wie zum Beispiel das Räuchern oder Grillen. Über den Verzehr von Tieren und tierischen Produkten werden ca. 95-98% aller Dioxine vom Menschen aufgenommen (siehe Abb. 7). In Obst und Gemüse, sowie anderen pflanzlichen Produkten liegt die Belastung deutlich niedriger, so dass sie insgesamt als irrelevant angesehen werden kann (European Commission DG Environment, 1999). Die bedeutendsten Kongenere (mit der höchsten Toxizität) sind PCDDs die an den Stellen 2, 3, 7 und 8 mit Chloratomen substituiert sind. Insgesamt machen PCDDs/PCDFs und dioxin-ähnliche PCBs je 50% an der Gesamtexposition in der EU aus (European Commission DG Environment, 1999). Eine direkte, primäre Exposition spielt ausschließlich bei lokalen akzidentellen Ereignissen, bei denen große Mengen an Dioxinen freigesetzt werden, eine Rolle. Die expositionelle Belastung von Dioxinen aus der Luft, über die Haut, oder aus dem Trinkwasser kann bei normaler Hintergrundkontamination vernachlässigt werden. Die dänische EPA hat eine tägliche Aufnahme durch Respiration von 0,02-0,09 pg I-TEQ/kg errechnet.

In Staaten oder Regionen in denen viel Seefisch verzehrt wird, hat die Dioxinbelastung dieser Tiere einen Hauptanteil an der Gesamtaufnahme. In Blutserumproben der Bevölkerung in den Ostseestaaten, konnte in Abhängigkeit vom Fischkonsum eine deutliche Kumulation, besonders von tetra- und pentachlorierten Dibenzodioxinen, sowie pentachlorierten Dibenzofuranen, gezeigt werden (Svensson et al., 1991).

Blutserumproben aus Deutschland im Vergleich zu entsprechenden Proben aus den USA zeigten keinen wesentlichen Unterschied in bezug auf das durchschnittliche TEQ (Deutschland 42 ppt, USA 41 ppt), einzig auffällig ist, dass die Gesamtbelastung in den deutschen Proben jeweils ungefähr zur Hälfte aus PCDDs und PCDFs (20 ppt und 22 ppt) besteht, wobei es in den amerikanischen Proben in erster Linie von den PCDDs verursacht wird (31 ppt) (Schechter et al., 1990).

Abb. 7:

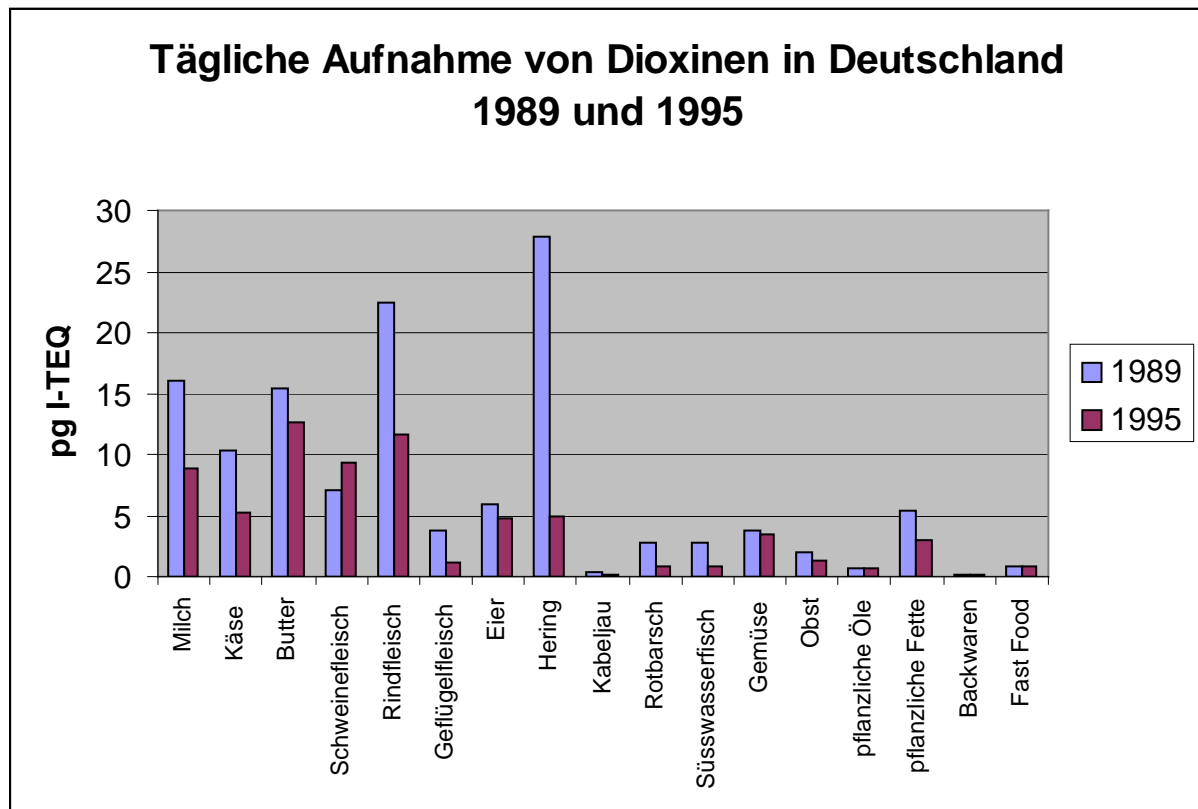


Abb. 7:

Tägliche Aufnahme von Dioxinen in Deutschland aus unterschiedlichen Nahrungsmitteln 1989 und 1995 (modifiziert nach Compilation of EU Dioxin Exposure and Health Data, European Commission DG Environment, 1999)

Ein guter Indikator für die Belastung des Menschen mit Dioxinen sind Gewebeproben und besonders die Muttermilch. Muttermilch lässt sich mit nicht-invasiven Maßnahmen gewinnen, sie hat einen relativ hohen Fettanteil in dem die Dioxine gut kumulieren und auf der Basis der analytischen Daten lässt sich einschätzen wie viel Dioxin Säuglinge, die als besonders gefährdet gelten (Vos und Luster, 1989), während der Stillperiode aufnehmen. Die Belastung der Muttermilch liegt in den dichtbesiedelten Industrienationen der westlichen europäischen Staaten nahezu gleich, geringe Konzentrationen lassen sich in ländlichen Gebieten feststellen. Allgemein ist aber ein rückläufiger Trend der Muttermilchbelastung in der EU auffällig (siehe Abb. 8). Eine geringere Belastung - verglichen mit den westeuropäischen Industrieländern - lässt sich in Nordamerika und Skandinavien feststellen, aber auch dort liegt sie noch deutlich über der von

wenig industrialisierten Ländern. Insgesamt ist Muttermilch ca. 20- bis 50-mal so hoch belastet wie Kuhmilch (McLachlan, 1996). Nicht gestillte Kinder weisen deutlich niedrigere Dioxinkonzentrationen im Blut auf als gestillte (Schecter et al. 1990b). Lange Untersuchungsreihen zeigen, dass sich der Dioxingehalt der Muttermilch in den Jahren von 1990 bis 2000 halbiert hat.

Abb. 8:

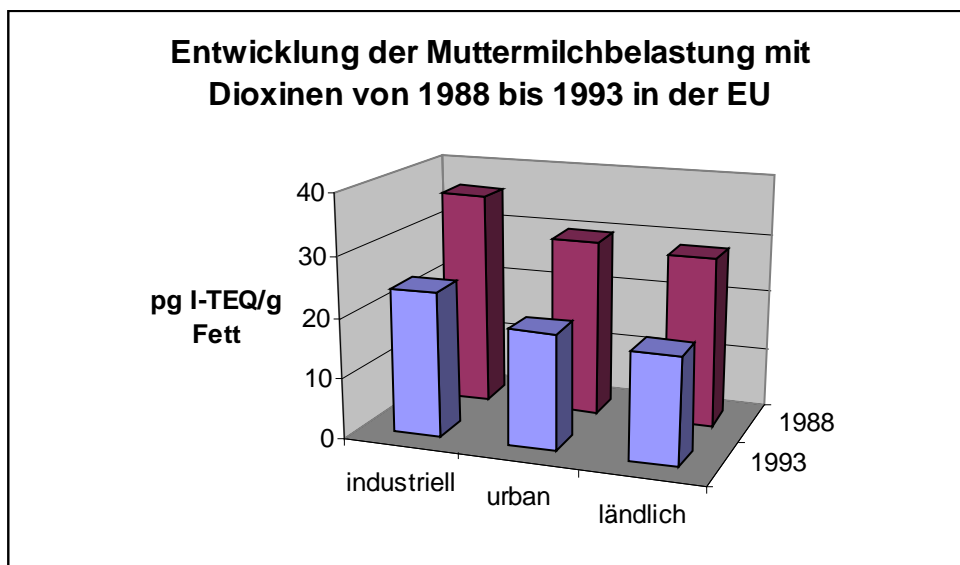


Abb. 8:

Änderung der durchschnittlichen Dioxin-Konzentration von 1988 bis 1993 in Muttermilchproben aus der EU (modifiziert nach Compilation of EU Dioxin Exposure and Health Data, European Commission DG Environment, 1999)

Durchschnittliche Dioxinkonzentrationen in Gewebeproben, sind im Allgemeinen auch in unterschiedlichen geografischen Regionen gleich. Eine Ausnahme bildet Süd-Vietnam, aufgrund des im Vietnam-Krieg großflächig eingesetzten und mit TCDD verunreinigten Herbizids „Agent Orange“. (Schecter, 1991)

Auch nach Unfällen mit Dioxinen lassen sich oft deutlich höhere Gewebekonzentrationen in exponierten Personen nachweisen. So betrug die höchste Gewebekonzentration eines exponierten Kindes nach dem Seveso-Unfall 56000 ppt. (Mocarelli et al., 1991)

Im Allgemeinen finden sich höhere Dioxin-Konzentrationen eher in älteren Personen als in jüngeren. Bei Geburt sind die Konzentrationen noch äußerst gering, steigen aber während der

Stillperiode stark an. So nimmt ein erstgeborener Säugling in der EU, der von einer normal belasteten Mutter gestillt wird, bis zu seinem 2. Lebensmonat, die 27- bis 144-fache Menge des TDI (tolerierbare tägliche Aufnahme) auf (in ländlichen Gebieten eher weniger als in Industrieregionen; nur PCDDs/PCDFs berücksichtigt; European Commission DG Environment, 1999). Ferner finden sich höhere Gewebekonzentrationen in Menschen, die in hoch industrialisierten Staaten leben als in Menschen aus Staaten mit einem geringen Entwicklungsniveau. Aufgrund des großflächigen Einsatzes von TCCD-verunreinigten Phenoxyherbiziden wie „Agent Orange“ während des Vietnam-Krieges, bildet der Süden von Vietnam eine Ausnahme. Dort liegt die Dioxinbelastung der Bevölkerung, trotz des niedrigen Industrialisierungsgrades höher als in den Industriestaaten. Seit die Nahrung in den Industriestaaten hauptsächlich aus Fleisch, Milch und Milchprodukten, sowie Fisch besteht, gibt es kaum geografische Unterschiede in der Dioxinbelastung der Bevölkerung.

Momentan nimmt ein erwachsener Mensch in Deutschland (bei normaler Ernährung) etwa 0,9 bis 3,0 pg/kg Körpergewicht I-TEQ täglich auf (nur PCDDs/PCDFs berücksichtigt; European Commission DG Environment, 1999), wobei TCDD ca. 25% am I-TEQ ausmacht. Die mittlere Aufnahme steigt ab dem ersten Lebensjahr (nach dem Abstillen!) von 36,4 pg I-TEQ täglich bis zum 20. Lebensjahr auf 70,4 pg I-TEQ täglich, wobei die Aufnahme pro Kilo Körpergewicht aufgrund der schnellen Zunahme des Körpergewichts im Kindesalter sinkt. Ab dem 20. Lebensjahr, bei relativ konstantem Körpergewicht, ist die Aufnahme dann ziemlich konstant. Der von der WHO 1998 festgelegte Wert für die maximale TDI liegt bei 1-4 pg/kg Körpergewicht I-TEQ. Eine vergleichsweise höhere Belastung liegt bei bestimmten Ernährungsformen, wie zum Beispiel einem hohen Fischkonsum oder durch belastetes Verpackungsmaterial der Lebensmittel, vor. Für Deutschland gilt insgesamt ein geringer Konsum von hoch belastetem Fisch und ein hoher Konsum von Milch und Milchprodukten sowie Fleisch und Fleischprodukten bei mittlerer Belastung. Im Durchschnitt entstammt so die aufgenommene Dioxinmenge zu je einem Drittel aus Fleisch und Fleischprodukten, Milch und Milchprodukten, sowie Fisch und Fischprodukten (Fürst et al., 1991).

In der EU ist die Exposition gegenüber PCDDs und PCDFs seit den 1980er Jahren deutlich rückläufig. So sank die Gesamtexposition seit dieser Zeit in Deutschland jährlich um ca. 9 bis 12% (bis 1995 um insgesamt 45%, etwas stärker in ländlichen Gebieten). Die Belastung der Muttermilch reduzierte sich in den Jahren 1988 bis 1993 um insgesamt 35% (ca. 8% pro Jahr). In Nordrhein-Westfalen beschrieben Fürst et al. (CLUA 1992/1993, CVUA 1994/1997) sogar einen Rückgang der Muttermilchbelastung in den Jahren 1992 bis 1997 von insgesamt 41%. Im

Zeitraum 1988 bis 1996 verringerten sich zudem die Blutserumkonzentrationen um 64% (ca. 12% pro Jahr) (European Commission DG Environment, 1999; siehe Abb.9).

Abb. 9:

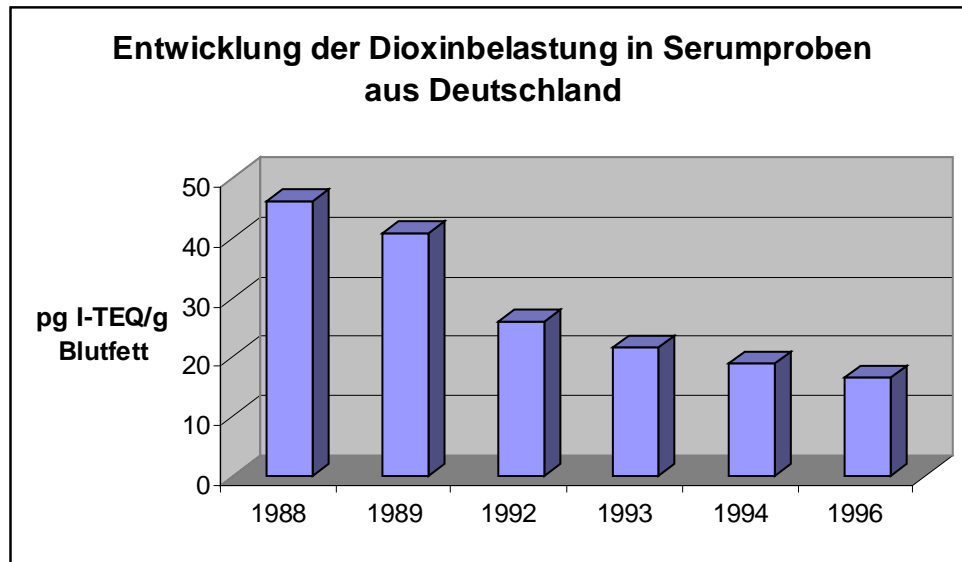


Abb. 9:

Entwicklung von Dioxinen in Serumproben aus Deutschland EU (modifiziert nach Compilation of EU Dioxin Exposure and Health Data, European Commission DG Environment, 1999)

1.2.7 Ah-Rezeptor

Die hohe Toxizität von TCDD ließ die Existenz eines Rezeptors vermuten. 1982 wiesen Poland et al. in Hepatozyten von Mäusen ein Protein nach, welches mit hoher Affinität an TCDD bindet. Dieses Protein wurde aufgrund der Fähigkeit auch andere aromatische Kohlenwasserstoffe zu binden (wie PCDFs und PCBs) als Ah-Rezeptor (aromatic hydrocarbon receptor) bezeichnet. Der Ah-Rezeptor ist ein Ligand-aktivierter Transkriptionsfaktor, der zur Familie der basic helix-loop-helix/Per-AhR-Arnt-Sim (bHLH/PAS) Proteine gehört. Die HLH- und auch die PAS-Domänen des Rezeptors sind für Interaktionen mit bestimmten Proteinen notwendig, die basic-Domäne vermittelt die Bindung an die DNS (Burbach et al., 1992; Rowlands und Gustavson, 1997). Der Rezeptor liegt, ähnlich wie Steroid-Rezeptoren (aber nicht dieselbe Familie), an ein über eine der PAS-Domänen gebundenes heat-shock Protein (hsp90) im Zytosol aller

kernhaltiger Zellen vor (Gasiewicz et al, 1991; Pongratz et al., 1992). Dieses heat-schock Protein scheint die Aufnahme des freien Rezeptors in den Nukleus zu verhindern (Ikuta et al., 1998).

Das Dioxin-Molekül gelangt durch Diffusion der Zellmembran ins Zytosol und bindet dort am Ah-Rezeptor. Nach diesem Schritt löst sich das hsp90 vom Rezeptor-Ligand-Komplex, so dass dieser in den Nukleus durch aktiven Transport aufgenommen werden kann. Im Nukleus dimerisiert der Komplex mit einem weiteren Protein, dem aromatic hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT). Arnt bildet mit bHLH- und PAS-Regionen des AhR-Ligand-Komplexes für die Transkription notwendige Heterodimere und ist somit eine wichtige Komponente des nukleären AhR-Ligand-Komplexes. Diese Heterodimere interagieren mit sogenannten „xenobiotic“ bzw. „dioxin responsive elements“ (XREs bzw. DREs) der Promotor-/Enhancer-Region von verschiedenen auf den AhR-Komplex ansprechenden Genen, was schließlich zu einer Induktion der Transkription dieser Gene führt (Wilson und Safe, 1998). Die exprimierten Gene sind vorwiegend Enzyme für den Fremdstoffabbau (z.B. CYP1A1) oder wachstumsregulierende Proteine (Okey et al., 1994; siehe Abb. 10).

Die sehr unterschiedlichen biologischen Effekte von TCDD legen Mechanismen nahe, die das Rezeptor-Enhancer-System modulieren können (Whitlock et al., 1991).

Der Grad der Affinität der verschiedenen Dioxine zum Rezeptor scheint mit der Höhe der Toxizität zu korrelieren (Safe et al., 1986, 1990). Die höchste Affinität und somit auch die höchste Toxizität haben planare Moleküle mit mindestens 3 oder 4 Halogensubstituenten in lateralen Positionen des Moleküls, wie zum Beispiel das am höchsten toxische TCDD. Darüber hinaus beschreiben Lu et al. (1996) und Henry et al. (1999) zu den agonistischen Liganden am Ah-Rezeptor auch Liganden, die antagonistische Effekte auslösen können.

Da Ah-Rezeptor und ARNT fast ubiquitär in Säugetieren exprimiert sind, wird angenommen, dass diesen Proteinen auch eine physiologische Bedeutung, zum Beispiel in der Entwicklung verschiedener Organsysteme, zukommt. So beschrieben Schmidt und Bradfield (1996) und auch Abbott et al. (1999) in AhR-defizienten Mäusen eine abnorme Entwicklung verschiedener Gewebe.

Abb 10:

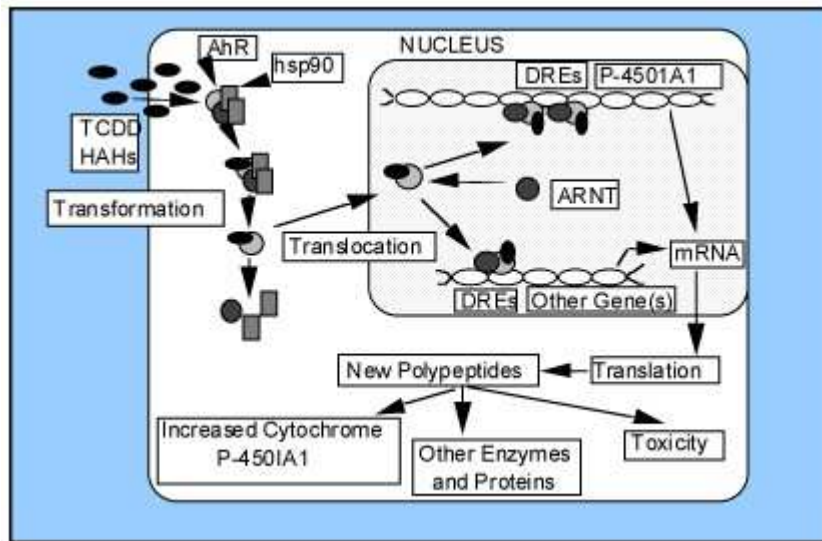


Abb. 10:

Ah-Rezeptor vermittelter Wirkmechanismus von Dioxinen (modifiziert nach www.dioxins.com)

1.3 Toxizität

Die ersten Studien, die versuchten die Toxizität von Dioxinen zu definieren, wurden von Courtney und Moore (1971) veröffentlicht. Seit dem sind viele Studien zu diesem Thema publiziert worden, so dass sich die Toxizität von Dioxinen grob in 6 Typen von Haupteffekten einteilen lässt:

1. Akute Toxizität
2. Cytochrom P450-Induktion
3. Reproduktionstoxizität und Effekte auf Sexualhormone
4. Tumor-Promotion
5. Neurotoxizität
6. Immuntoxizität

1.3.1 Akute Toxizität

Akute toxische Wirkungen von Dioxinen treten nur bei Exposition mit relativ hohen Dosen (zum Beispiel nach Unfällen) auf. Aber auch nach solchen akzidentellen Expositionen sind die Effekte im Menschen gering ausgeprägt und vorübergehend. Die einzigen auffälligen aber voll reversiblen Krankheitsbilder sind Chlorakne, eine vergrößerte Leber mit erhöhten leberspezifischen Laborparametern, sowie diskrete Veränderungen von Lymphozytensubpopulationen (Mocarelli et al., 1991).

In Labortieren tritt nach Exposition hoher Dosen ein so genanntes Wasting Syndrom auf. Das heißt der Exitus letalis tritt nicht unmittelbar nach der Exposition auf, sondern, je nach Tierart, erst einige Wochen später aufgrund einer Kachexie (Abnahme des Körpergewichts um mindestens 25%) (Olsen et al., 1980; Viluksela et al. 1997). Die Ursachen sind eine TCDD-bedingte Hemmung der Gluconeogenese sowie eine Appetitsuppression. Hierdurch kommt es zu einem substantiellen Fett- und Muskelgewebsabbau (Peterson et al., 1984). Weitere Gründe für eine TCDD-induzierte akute Letalität in Labortieren können Hämorrhagie und Anämie sein.

1.3.2 Cytochrom P450-Induktion

Die Ah-Rezeptor-vermittelte Induktion von CYP1A-Enzymen ist der sensitivste Effekt den Dioxine auslösen können (van Birgelen et al., 1995). P-450 abhängige Enzyme können endogene und exogene Substanzen metabolisieren. So können durch die Enzyminduktion auch Substanzen wie Steroidhormone verstoffwechselt werden. Dies kann zu einer Störung wichtiger biologischer Funktionen führen (Kupfer und Bulger, 1976). Ferner ist nicht nur ein Abbau der exogenen Substanzen (wie Dioxine) in harmlose Metaboliten möglich, sondern durchaus auch eine Metabolisierung zu Substanzen mit einer deutlich höheren biologischen Aktivität (Nebert und Jensen, 1979).

1.3.3 Reproduktionstoxizität und Effekte auf Sexualhormone

Es wurde gezeigt, dass sehr niedrige pränatal applizierte Dosen von TCDD die Entwicklung der männlichen Reproduktionsorgane in Ratten beeinflussen können (Peterson et al., 1993). Im Erwachsenenalter ist die Spermatogenese herabgesetzt und das sexuelle Verhalten ist demaskulinisiert und feminisiert (Mably et al., 1992a/b). In männlichen Ratten reduziert TCDD die Testosteron-Konzentration im Blut, in dem es die Produktion von Enzymen zur

Hormonsynthese bei niedrigen Hormon-Konzentrationen inhibiert (Bookstaff et al., 1990). De Vito et al. beschrieben 1992, dass TCDD die Anzahl von Östrogen-Rezeptoren in verschiedenen Organen in weiblichen Ratten vermindert. Dieser Effekt führt vermutlich zu einer reduzierten Fertilität sowie zu einem Anstieg der Tumorzinzidenz in den betroffenen Organen (Kociba et al., 1978). White und Gasiewicz (1993) beschrieben einen AhR-vermittelten antiöstrogenen Effekt, der entweder durch Induktion der Östrogenmetabolisierung oder durch Interaktionen zwischen der Ah- und Östrogenrezeptor-Kaskade zustande kommt. Ein weiterer, möglicherweise Hormon-induzierter Effekt, ist das Auftreten von Endometriose bei Rhesus-Affen nach Verabreichung einer niedrigen Dosis TCDD (Rier et al., 1993). Einen der wenigen auffälligen Effekte im Menschen fanden Mocarelli et al. (1996) in der Geschlechtsverteilung (mehr weiblich als männlich) bei Kindern deren Eltern hohen Dosen TCDD während des Seveso-Unfalls ausgesetzt waren.

1.3.4 Tumor-Promotion

TCDD verursacht, in Konzentrationen die niedriger sind als bei jeder anderen Substanz, Haut- und Lebertumore bei Mäusen (Poland et al., 1982), ist aber weder mutagen noch in anderer Weise genotoxisch (IARC, 1997). TCDD ist ein Tumorpromotor, das heißt TCDD allein kann keinen Tumor auslösen. Zur Tumorentstehung ist ein weiterer Stoff, der zu karzinogenen Effekten prädisponiert, nötig (Whitlock et al., 1991).

TCDD interagiert mit vielen Körperfunktionen, die möglicherweise den Tumorentstehungsprozess beeinflussen können. Solche Mechanismen sind unter anderem oxidative Schäden (Park et al., 1996), Beeinträchtigung der interzellulären Kommunikation (Bager et al., 1997), Stimulation der Zellproliferation bzw. Suppression der Apoptose (Buchmann et al., 1994; Stinchombe et al., 1995) sowie Beeinflussung des Immunsystems. So fördert TCDD die Entstehung verschiedener Arten von Tumoren bei Mäusen, Ratten und Hamstern (IARC, 1997).

1.3.5 Neurotoxizität

Effekte von TCDD auf die Entwicklung des Verhaltens von Nagetieren und Menschen wurden von Brouwer et al. (1995) zusammengestellt. So wiesen z. B. Kinder die einer normalen Umweltbelastung ausgesetzt waren, geringe Alterationen in der Entwicklung ihres Verhaltens sowie Effekte auf Schilddrüsenhormonkonzentrationen auf. Weiter konnte gezeigt werden, dass niedrige Dosen TCDD bei prä- und postnatal exponierten Affen Effekte auf die kognitive Entwicklung haben können (Schantz et al., 1991). Der Mechanismus über den TCDD die kognitive Entwicklung beeinflusst ist nicht vollständig geklärt. Effekte auf dopaminerge Systeme oder auf den Schilddrüsenhormonstoffwechsel werden diskutiert. Zusammenfassend sind die neurotoxischen Effekte von TCDD im Menschen aber deutlich geringer ausgeprägt als die der dioxinähnlichen PCBs.

1.3.6 Immuntoxizität

Es scheint, dass das humorale und zelluläre Immunsystem das sensitivste Ziel der TCDD-induzierten Toxizität ist (Holsapple et al., 1991). Besonders ein sich in der Entwicklung befindender Organismus ist sehr anfällig für TCDD-induzierte Wirkungen (Neubert et al., 1993). Ein auffälliges Zeichen der Immuntoxizität von TCDD ist die Thymusatrophie, die zuerst von Buu-Hoi et al. (1972) beschrieben wurde und sich histologisch als Verminderung von T-Lymphozyten, vor allem im Kortex, zeigt. Ferner konnte gezeigt werden, dass sehr niedrige Dosen von TCDD in Marmosets zu einer prozentualen Verminderung von T-Helfer-Zellen im peripheren Blut führen (Neubert et al., 1990). Höhere Dosierungen von TCDD führen auch zu einer Affektion von B-Lymphozyten sowie einer Suppression der humoralen Immunität (zusammengestellt von Vos et al., 1991). Ein Effekt der TCDD-induzierten Immuntoxizität ist eine geringere Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten in Labortieren (Burleson et al., 1996). Messbare Alterationen des Immunsystems durch TCDD im Menschen sind allerdings selten beschrieben worden. Hoffman et al. (1986) berichteten über Personen, die in einer mit Dioxinen belasteten Region lebten und lange Zeit exponiert waren. Dort zeigte sich ein statistisch signifikanter Anstieg von relativer Anergie und Anergie gegenüber DTH-Hauttests, der aber nach verlassen der Region reversibel war.

1.4 Thymus

1.4.1 Aufbau und Entwicklung

Der Thymus ist ein zweilappiges Organ und liegt im oberen Mediastinum. Nach kaudal reicht er bis an den Herzbeutel, nach kranial überragt er das Brustbein im Allgemeinen nicht. Der Thymus entwickelt sich aus der 3. Schlundtasche und erreicht seine größte Ausdehnung kurz vor der Pubertät. Bei einem Zehnjährigen wiegt der Thymus ca. 30 bis 40 g. Ab der Pubertät beginnt die so genannte Involution, das heißt die physiologische Rückbildung des Thymus. Bei einem Zwanzigjährigen ist nur noch ein Thymusrestkörper zu finden, bei einem älteren Erwachsenen lässt er sich makroskopisch nicht mehr abgrenzen.

Er ist immunologisch gesehen ein primär lymphatisches Organ und übernimmt keine direkten Abwehrfunktionen. Ähnlich wie im zentralen Nervensystem, besitzt der Thymus eine so genannte Blut-Thymus-Schranke. Seine Kapillaren sind von ungefenstertem Epithel und einer Basalmembran umgeben, um die reifen T-Lymphozyten vor Antigenen abzuschirmen. Das Grundgerüst des Thymus besteht aus Epithel und nicht wie bei den meisten anderen Organen aus einer bindegewebigen Kapsel. Dieses epitheliale Grundgerüst zieht sich wie ein Netzwerk durch den gesamten Thymus. Es ist dicht von unterschiedlichen Entwicklungsstufen der T-Lymphozyten (Thymozyten) sowie Makrophagen und epithelialen Retikulumzellen besiedelt und wird auch als „Microenvironment“ bezeichnet. Die beiden Lappen (Lobuli) lassen sich in weitere kleinere Läppchen unterteilen, durch die sich bindegewebige Septen ziehen. Jedes dieser Läppchen ist von einer kollagenen Kapsel umhüllt und hat einen typischen histologischen Feinbau. Der äußeren Kapsel folgt ein schmaler subkapsulärer Bereich, an den sich der Kortex anschließt. Der Kortex lässt sich histochemisch aufgrund der vielen dicht gelagerten kleinen „unreifen“ Thymozyten recht intensiv anfärben. Dem Kortex folgt die schwächer anfärbbare Medulla. Hier finden sich weniger dicht gelagerte „reife“ Thymozyten und die für die Medulla typischen Hassall'schen Körperchen. Dies sind Aggregate epithelialer Zellen mit Zellresten im Zentrum, deren Aufgabe weitgehend unklar ist. Blutgefäße treten begleitet von Nervenfasern vor allem an der kortiko-medullären Grenze in die Lobuli ein (siehe Abb. 11).

Abb 11:

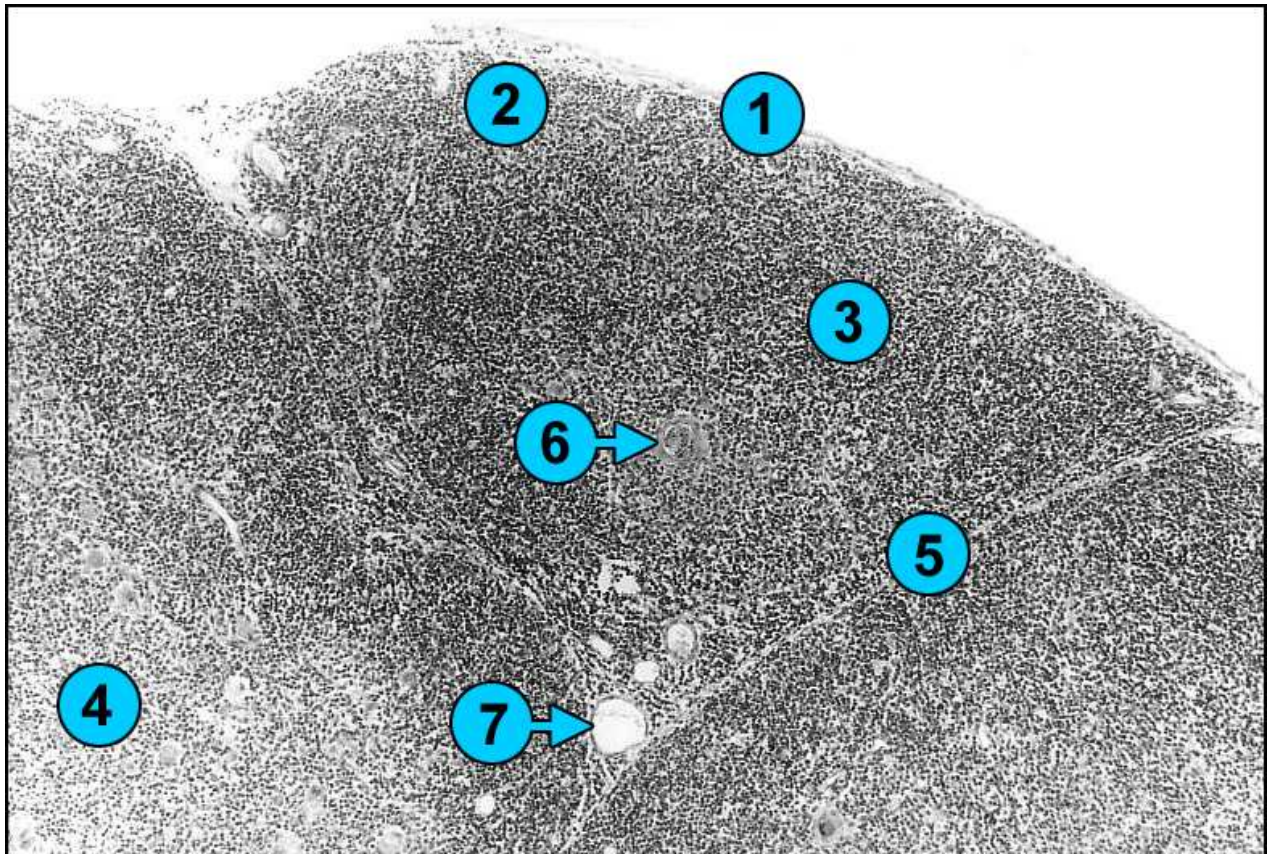


Abb. 11:

Mikroskopische Darstellung der typischen Strukturen eines HE-gefärbten Marmoset-Thymus.

Legende der Beschriftung: 1=Kapsel, 2=hellerer subkapsulärer Bereich, 3=dunkles Kortex, 4=helle Medulla, 5=die einzelnen Thymuslappen trennende Septen, 6=Hassallsche Körperchen in der Medulla liegend, 7=in den Thymus ein- und austretende Gefäße.

1.4.2 Aufgaben

Der Thymus ist der Hauptort für die Ausreifung der T-Lymphozyten. In der Fetalzeit wandern funktionslose prä-T-Lymphozyten aus dem Knochenmark in äußere Abschnitte der Thymusrinde ein. Dort findet eine rasche mitotische Teilung der Zellen (Proliferation) statt, um dann durch den Kortex immer in engem Kontakt zu den Epithelzellen des Thymus Richtung Medulla zu wandern. Eine wichtige Gruppe dieser Epithelzellen sind die so genannten „thymic nurse cells“, die in ihren Vakuolen bis zu 200 Thymozyten beherbergen können und eine wichtige Rolle bei der Selektion und Differenzierung der Thymozyten spielen (de Waal Malefijt et al., 1986). Auf ihrem Weg exprimieren die Zellen spezifische Membranproteine (CD4 für T-Helfer-Zellen, CD8 für T-Suppressor- bzw. zytotoxische T-Zellen) sowie den für die spätere Antigen-Erkennung wichtigen T-Zell-Rezeptor. So erhalten die Zellen auf dem Weg durch den Thymus ihre Immunkompetenz. Die prä-T-Lymphozyten in den subkapsulären Bereichen sind zunächst noch doppelt negativ für ihren späteren Differenzierungsmarker CD4 oder CD8. Während der Passage durch das Kortex werden die T-Lymphozyten dann doppelt positiv ($CD4^+CD8^+$), um dann in der Medulla ihren endgültigen Phänotyp $CD4^+CD8^-$ (ca. 2/3 der Zellen) oder $CD4^-CD8^+$ (ca. 1/3 der Zellen) zu erreichen. Parallel zu dieser Entwicklung bildet sich der T-Zell-Rezeptor (TCR) aus. Der TCR ist ein Heterodimer aus alpha- und beta-Peptidketten. Vor der Synthese dieser Ketten findet im Kortex, vermittelt durch die terminale Deoxynukleotidyl-Transferase, eine zufällige Umordnung der Genabschnitte statt. So entsteht eine große Vielfalt an unterschiedlichen TCR (ca. 10^{12}). Nach der Synthese wird der TCR zusammen mit dem Hilfsmolekül CD3, welches wahrscheinlich zur transmembranären Signalübertragung gebraucht wird, auf der Zelloberfläche exprimiert. Jetzt wird geprüft, ob die Zelle mit ihrem TCR in der Lage ist ein Antigen zu erkennen. Ist dies der Fall, vermehrt sich die Zelle (positive Selektion). Erkennt eine Zelle aber körpereigene Antigene (Autoreaktivität), geht die Zelle durch Apoptose zugrunde (negative Selektion). So werden ca. 95% der reifen T-Zellen eliminiert, so dass eine Reduktion der für den Körper nützlichen T-Zellen auf ca. 10^6 stattfindet.

Die reifen T-Lymphozyten wandern abschließend aus dem Thymus über Blut- und Lymphgefäße in die T-Zell-Regionen der sekundären lymphatischen Organe (z.B. Milz, Peyersche Plaque) ein. Die Produktion von T-Lymphozyten nimmt nach der Involution des Thymus stark ab, die Zahl der im Blut zirkulierenden T-Lymphozyten bleibt aber konstant, was dafür spricht, dass die Zellen sehr langlebig sind und sich selbst, auch außerhalb des Thymus, erneuern können.

1.4.3 Proteine der extrazellulären Matrix (EZM), Integrine und TGF-beta

1.4.3.1 Proteine der EZM

Die extrazelluläre Matrix ist eine Kombination von unterschiedlichen Molekülen. Diese Moleküle werden hauptsächlich von Fibroblasten produziert. Darüber hinaus können aber auch Makrophagen, Lymphozyten, Granulozyten sowie quergestreifte Muskelzellen und Nervenzellen diese Bestandteile herstellen. Die Hauptaufgaben der EZM sind nicht nur Stabilisierung und Formgebung der verschiedenen Organe, vielmehr kommen ihr wesentliche Aufgaben in der Zell-Zell-Interaktion sowie bei Wachstums- und Entzündungsprozessen zu.

Vier Prototypen von Makromolekülen bilden den Hauptbestandteil der EZM.

Dies sind im Einzelnen:

- Kollagene
- Elastin
- Proteoglykane
- Strukturglykoproteine (bzw. adhäsive Glykoproteine)

Kollagene machen quantitativ den bedeutendsten Anteil mit über 90% der organischen Matrix aus. Es sind außerordentlich zugfeste Moleküle und verleihen so Geweben und Organen mechanische Stabilität und strukturelle Integrität. Grundsätzlich werden Kollagene in fibrilläre und nicht-fibrilläre Typen eingeteilt. Fibrilläre Typen finden sich fast ubiquitär, die nicht-fibrillären Typen (wie z. B. Kollagen IV) beschränken sich auf die Basalmembranen. Charakteristisch für alle Kollagene ist die, zumindest zum Teil im Molekül enthaltende, Tripelhelixstruktur mit der sich wiederholenden Tripeptid-Sequenz Gly-X-Y. Insgesamt sind bis heute 19 unterschiedliche Kollagene bekannt. Die Haupttypen sind die fibrillären Kollagene I, II und III. Sie machen ca. 90% aller Kollagene aus, die Länge der Helix beträgt 300 nm. Das Typ IV-Kollagen kommt ausschließlich in der Basalmembran vor. Dort sorgt es für die Erhaltung der Struktur und dient unter anderem als Barriere für Tumor- oder Entzündungszellen.

Eine weitere große Gruppe der EZM-Moleküle stellen die adhäsiven Glykoproteine (Nektine) dar. Dies sind unter anderem Vitronektin, Osteonektin, Tenascin und Fibronektin. Fibronektin findet sich aber nicht ausschließlich in der EZM, sondern ist auch im peripheren Blut zirkulierend zu finden. Es ist ein hochmolekulares Protein (450 kD) und besteht aus zwei 80 nm langen Peptidketten, die sich aus 3 homologen Peptidsequenzen zusammensetzen. Die beiden Peptidketten sind über zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden. Auch dem Fibronektin

kommen vielfältige Aufgaben wie Zelladhäsion, Zell-Zell-Interaktion sowie Zelldifferenzierung und -migration zu.

Unter den Glykoproteinen der EZM bilden die Laminine eine weitere Großfamilie von Molekülen. Laminine kommen, ähnlich wie Kollagen IV, fast ausschließlich in Basalmembranen vor und leisten dort einen wesentlichen Beitrag zum Aufbau dieser Struktur. Laminine bestehen aus alpha-, beta- und gamma-Untereinheiten mit Molekulargewichten von 150 bis 400 kD und können so unterschiedliche Isoformen bilden. Darüber hinaus besitzen sie Bindungsstellen für andere Proteine der Basalmembran, wie z. B. Kollagen IV, und können so mit verschiedenen Molekülen in Kontakt treten. (Löffler und Petrides, 1997)

1.4.3.2 Integrine

Integrine stellen eine große Familie verwandter Zelloberflächenglykoproteine dar. Sie besitzen alle eine heterodimere Struktur aus je einer alpha- und einer beta-Kette, die nicht-kovalent miteinander verbunden sind (siehe Abb.12). Diese Ketten bestehen aus ca. 1100 bzw. 750 Aminosäuren. Es sind mindestens 20 alpha- und 8 beta-Ketten bekannt, die insgesamt über 15 verschiedene Integrine bilden. Die Rezeptoren sind transmembranäre Proteine die eine extrazelluläre Ligandenbindungsstelle besitzen. Als Liganden kommen sehr unterschiedliche Proteingruppen in Frage, wie z. B. Zytokine, Komplement, der TCR und Bestandteile der EZM. Die Expression der Integrine ist praktisch universell auf allen Körperzellen und wird abhängig vom Reifestadium oder Aktivierungsgrad der Zelle reguliert. Ihre Aufgabe ist die Vermittlung von Zell-Zell- bzw. Zell-Matrix-Interaktion, vor allem mit Kollagenen, Fibronectin und Laminin. Die größte Anzahl unter den Integrinen bildet die beta1-Subgruppe. Diese Integrine bestehen jeweils aus einer beta1-Kette (CD29) sowie aus einer von 6 alpha-Ketten (CD49 a-f). Die Rezeptoren werden auf einer Vielzahl von Zellen exprimiert und jeder dieser Rezeptoren hat einen spezifischen Liganden (siehe Tabelle 1). Da T-Zellen nach Aktivierung die Rezeptoren aber erst Tage später vermehrt auf ihrer Oberfläche exprimieren, bezeichnet man sie als very-late-activation-Antigene (VLA). (Pfister, 2000; Schmidt, 2002)

Abb. 12:

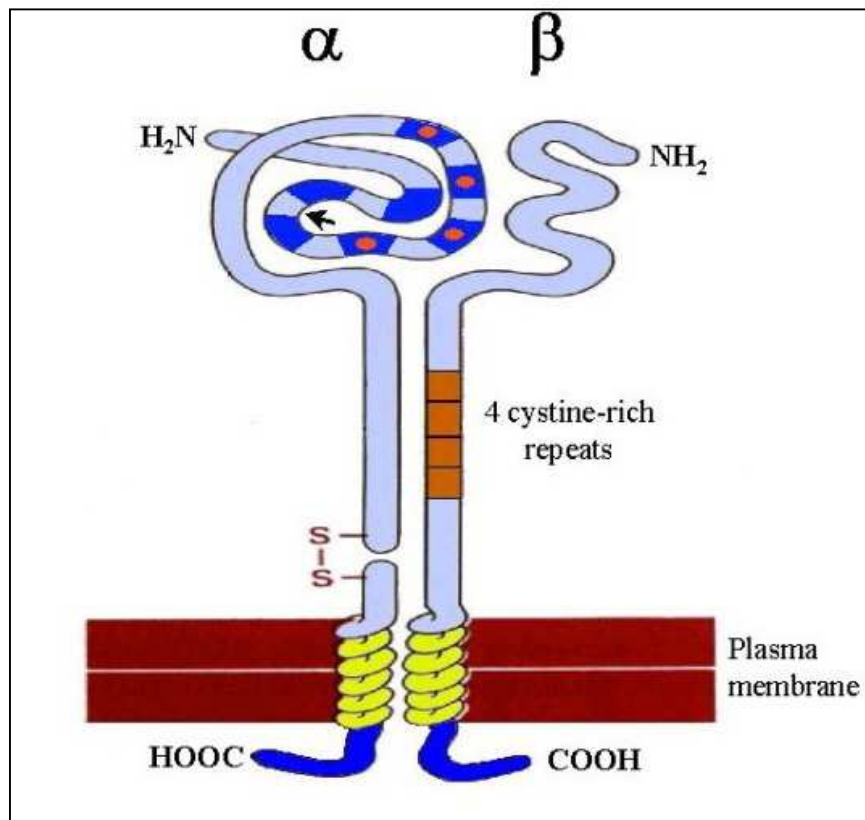


Abb. 12:

Schematischer Aufbau und Struktur der Integrine (modifiziert nach www.medicine.ox.ac.uk); → = Bindungsstellen für Liganden

Tabelle 2:

VLA-Bezeichnung	Ketten-Bezeichnung	CD-Bezeichnung	Liganden
VLA1	beta1/alpha1	CD29/CD49a	Kollagen I/IV
VLA2	beta1/ alpha2	CD29/Cd49b	Kollagen/Laminin
VLA3	beta1/alpha3	CD29/CD49c	verschiedene
VLA4	beta1/alpha4	CD29/CD49d	Fibronektin
VLA5	beta1/alpha5	CD29/CD49e	Fibronektin
VLA6	beta1/alpha6	CD29/CD49f	Laminin

Tabelle 2:

Unterschiedliche Bezeichnungen und Liganden wichtiger Integrine; VLA=very-late activation-Antigen; CD=Clusters of Differentiation

1.4.3.3 TGF-beta und TGF-beta-Rezeptor

TGF-beta (transforming-growth-factor) ist ein multifunktionales Signalprotein zuständig für die Zell-Zell-Interaktion. Zur TGF-beta Superfamilie der Säugetiere zählen heute über 30 bekannte Isoformen mit einem Molekulargewicht zwischen 28 und 30 kD. Die Moleküle werden als inaktive Vorläuferstufen produziert und erst im Golgi-Apparat der Zellen durch Endopeptidasen proteolytisch in die aktive Form umgewandelt. Die eng verwandten Isoformen TGF-beta 1 bis 3 werden vor allem von Thrombozyten, Makrophagen, Lymphozyten und Chondrozyten produziert. Sie wirken als wichtiger Wachstumsinhibitor für viele Zellen, können aber auch, besonders in mesenchymalen Zellen, Wachstum stimulieren. Ferner sind sie ein starker Induktor der EZM und Integrin-Expression. In entzündlichem Gewebe wirken sie darüber hinaus chemotaktisch und immunmodulatorisch und sind somit ein wichtiger Faktor für die Regulation von Entzündungsprozessen (Piek et al., 1999). So sterben z. B. TGF-beta1-defiziente Mäuse unmittelbar postnatal an exzessiver Infiltration von inflammatorischen Lymphozyten und Makrophagen in unterschiedlichste Organsysteme (Shull et al., 1992). Ferner kann TGF-beta direkt an Proteine der EZM binden. So kann Fibronectin z. B. TGF-beta binden und durch Konformationsänderung seine Bioaktivität steigern (Fava et al., 1987).

Seine Wirkungen entfaltet TGF-beta über einen eigenen membranständigen Serin-/Threonin-Kinase-Rezeptor. Initial bindet TGF-beta an einen akzessorischen TGF-beta-Typ-III-Rezeptor (TbetaR-III), welcher den Liganden dem TbetaRII präsentiert. Anschließend bindet TbetaII den Liganden und formt mit einem weiteren TbetaRII und 2 TbetaRI einen heteromeren Komplex. TbetaRII phosphoryliert über eine Kinase TbetaRI, der das Signal über einen Smad-Transduktionsweg ins Zellinnere weitergibt, was letztlich zu einer Regulation der Genexpression führt. (siehe Abb. 13).

Abb. 13:

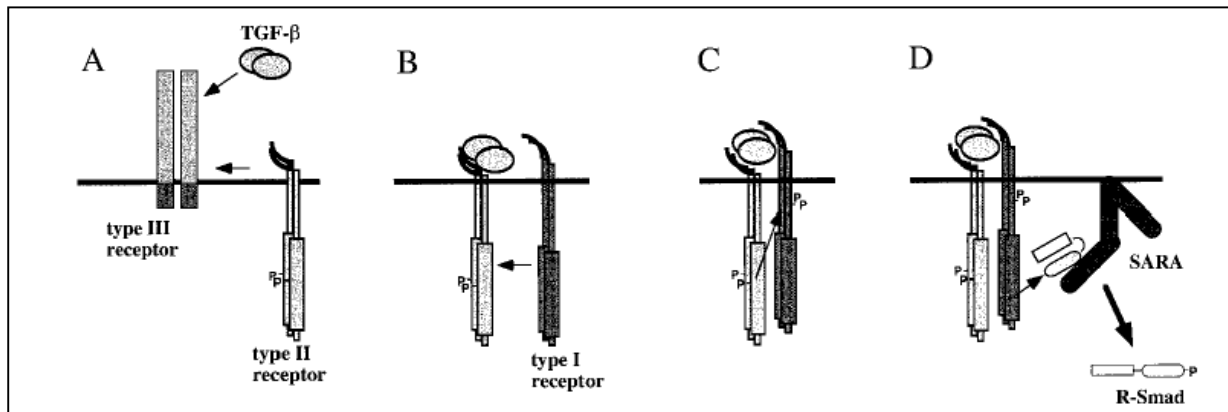


Abb. 13:

Signaltransduktion über den TGF-beta-Rezeptor (modifiziert nach Piek et al., 1999); SARA=Smad anchor for activation

1.4.4 Mögliche Wirkmechanismen der toxischen Effekte von TCDD auf den Thymus

Es gibt unterschiedliche Hypothesen zur TCDD-induzierten Thymustoxizität. Viele indirekte Mechanismen wie z. B. Effekte durch Stress- oder Wachstumshormone, reduzierte Nahrungsaufnahme oder Zinkmangel konnten bereits ausgeschlossen werden. Einige mögliche Wege konnten aber von unterschiedlichen Autoren aufgezeigt werden:

- 1) Fine et al. (1990) konnten einen direkten Effekt von TCDD auf prä-Thymozyten im Knochenmark, bevor sie den Thymus erreichen, nachweisen.
- 2) McConkey et al. (1988) zeigten an Thymozytenkulturen von Ratten einen direkten Effekt auf die Thymozyten. Hier wurden die Thymozyten durch eine Calcium-abhängige Endonuklease vermittelte DNA-Fragmentierung zur Apoptose gebracht.
- 3) Greenlee et al. (1985) und Cook et al. (1987) favorisieren die AhR-reichen Thymusepithelzellen als primären Angriffsort der Dioxine. Sie konnten anhand von kultivierten Thymozyten der Maus und des Menschen zeigen, dass die beschleunigte lymphoproliferative Kapazität der Thymozyten nach Co-Kultivierung mit Thymusepithelzellen reduziert ist, wenn den Kulturen zuvor TCDD zugegeben wurde.

1.5 Zielsetzung

In einer Arbeit von Riecke et al. (2002) konnte gezeigt werden, dass einmalig verabreichte niedrige Dosen von TCDD (10 und 100 ng/kg KG) in Herzen von Marmosets eine myokardiale Fibrose induzieren können. Im Einzelnen wurde eine Zunahme der EZM-Proteine Kollagen, Fibronectin und Laminin sowie eine erhöhte Konzentration von TGF-beta und dessen Rezeptor festgestellt. Die Hypothese, die sich aus diesen Ergebnissen ableiten ließ war, dass die Vermehrung der EZM möglicherweise durch TGF-beta stimuliert worden ist.

Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, ob diese Effekte auch im Thymus von Marmosets auffällig sind und damit ein mögliches Erklärungsmuster für die bekannten TCDD-induzierten Veränderungen des Thymus bieten.

Im ersten Teil der Arbeit wurden Marmosets einmalig mit 100 ng/kg Körpergewicht behandelt und vier Wochen später untersucht. An Thymusgewebe dieser Tiere wurden immunhistochemische Untersuchungen der EZM-Proteine Kollagen I und IV, Fibronectin und Laminin durchgeführt. Gesucht wurde hier nach morphologischen Abweichungen der Proteinverteilung im Vergleich zur Kontrolle sowie nach quantitativen Veränderungen dieser Proteine.

Für den zweiten Teil wurden die Marmosets mit einer niedrigeren einmaligen Dosis von entweder einem oder 10 ng/kg Körpergewicht über zwei Wochen behandelt. Hier wurde das Thymusgewebe mit der sensitiven semiquantitativen Methode des Western-Blottings untersucht. Es wurden im Thymus enthaltene Mengen von Bestandteilen der EZM sowie von korrespondierenden Integrinen und TGF-beta und seinem Rezeptor, verglichen mit Thymi von Kontrolltieren, bestimmt.