

# Krank durch Nanopartikel

S. Diabaté, K. Völkel, R. Wottrich, ITG

## Einleitung

Die Lunge ist unser größtes Organ, das mit der Umwelt in ständigem Kontakt steht. Der Luftaustausch von 10.000 bis 20.000 Litern pro Tag findet über eine Fläche von etwa 100 m<sup>2</sup> statt. Da mit der lebensnotwendigen Luft auch Verunreinigungen wie Xenobiotika\* und Mikroorganismen in die Lunge gelangen, müssen Abwehrmechanismen dafür sorgen, dass eingeatmete Stoffe keinen Schaden anrichten können. In dieser Hinsicht ist der Atemtrakt nicht nur als physikalische Barriere anzusehen, er spielt auch eine wichtige Rolle bei der unspezifischen und spezifischen Immunabwehr und der Entgiftung von Xenobiotika. Trotz dieser Vorsichtsmaßnahmen ist unsere Lunge zunehmend verletzbarer geworden, wie Lungenexperten auf dem 4. Deutschen Lungentag am 15. September 2001 mit dem Schwerpunktthema „Umwelt und Lunge“ berichten [1]. Für Atemwegserkrankungen wie Asthma, chronische Bronchitis, Lungenentzündung und Lungenkrebs wird in Deutschland bis zum Jahr 2010 eine Zunahme um 25% prognostiziert. Sie belasten Deutschlands Volkswirtschaft schon heute mit jährlichen Kosten von ca. 37 Milliarden DM für direkte (Medikamente, Krankenhausaufenthalte) sowie indirekte Ausgaben (Arbeitsunfähigkeit, Umschulungen). Es besteht daher großes Interesse an der Aufklärung der Ursachen für diese Entwicklung.

Während die natürlichen Umweltfaktoren wie z.B. Pollenflug oder

die genetische Veranlagung für bestimmte Lungenkrankheiten (z.B. Mukoviszidose) nur wenig beeinflussbar sind, kann man bei den anthropogen verursachten Schadstoffen regulierend eingreifen. Bekannt sind Schimmelpilze, Tabakrauch oder Stäube am Arbeitsplatz für die Innenraumbelastung, sowie Emissionen aus der Verbrennung fossiler Brennstoffe in Verkehr und Industrie für die Außenraumbelastung. In der epidemiologischen Literatur findet man zahlreiche Veröffentlichungen zum Einfluss der klassischen Luftschadstoffe SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, CO, Ozon und Schwebstaub auf die Gesundheit der allgemeinen Bevölkerung, die übereinstimmend zu dem Ergebnis kommen, dass Schwebstaub die stärkste Korrelation mit der Erkrankungshäufigkeit (Morbidität) und der Todesfallrate (Mortalität) zeigt, während die Korrelation bei den Gasen deutlich geringer ist [2, 3]. Die beobachteten Wirkungen traten jedoch nicht bei gesunden Menschen auf, sondern bei Personen, die entweder durch ihre genetischen Veranlagung oder eine bestehende Erkrankung der Atemwege oder des Herz-Kreislauf-Systems besonders empfindlich waren.

Bisher konnte noch keine epidemiologische Studie bestimmte chemische Bestandteile als potentiell verursachendes Agens der Stäube identifizieren, jedoch gibt es deutliche Hinweise, dass die sehr kleinen Partikel im Schwebstaub gesundheitsschädlicher als die größeren Partikel sind [4]. Aus diesem Grund wird an den Messstationen zur Überwachung der

Luftqualität neben dem Gesamtstaub (TSP, total suspended matter) auch PM<sub>10</sub> (particulate matter < 10 µm, lungengängiger Staub) gemessen. Zu Forschungszwecken werden auch die Fraktionen PM<sub>2,5</sub> (alveolengängiger Staub) sowie PM<sub>0,1</sub> (ultrafeine Partikel, UFP) bestimmt.

Die Ursachen für die schädlichen Wirkungen der besonders kleinen Partikel liegen einerseits in der größenabhängigen Eindringtiefe in die Atemwege, andererseits sind viele biologische Effekte um so stärker, je größer die Anzahl und die Oberfläche der Partikel sind. Bei gleicher Massenkonzentration haben kleinere Partikel eine größere Anzahl und eine größere Oberfläche. An einer größeren Oberfläche können sich z.B. mehr Substanzen anlagern, die sonst nicht bis in die Alveolen vordringen könnten. Die Hypothese der ultrafeinen Partikel wird auch durch Inhalationsexperimente an Versuchstieren und durch in vitro Tests mit Zellkulturen unterstützt, wobei die Wirkungen synthetischer Modellpartikel verschiedener Größenklassen untersucht wurden [5, 6, 7].

Der anthropogen verursachte Anteil in Umweltstäuben wird im wesentlichen durch Emissionen aus der Industrie und aus dem Verkehr verursacht. Die Forschungsarbeiten konzentrieren sich auf Aerosole, die bei der Verbrennung von Kohle, Öl und Dieselmotoren entstehen, wobei neben der Hypothese der ultrafeinen Partikel auch die Wirkungen der Metalle (Eisen, Nickel, Zink) und der organischen Verbindungen (z.B. polyaromati-

\*) Die mit \* gekennzeichneten Begriffe werden im Glossar erläutert.

sche Kohlenwasserstoffe) untersucht werden. Auch Partikelbestandteile biologischen Ursprungs könnten eine Ursache der beobachteten Gesundheitseffekte sein, wie z.B. Endotoxine\*, deren Rolle bei arbeitsplatzbedingten Erkrankungen z.B. in Schweine- und Geflügelzuchtanlagen, Müllsortieranlagen oder Getreidemöhlen gut untersucht ist. All diese Substanzen und physikalischen Parameter können synergistisch wirken.

Forschungsbedarf besteht nun darin, diejenigen Komponenten der Stäube zu identifizieren, die für das Gesundheitsrisiko relevant sind, damit man mit gezielten Maßnahmen entgegenwirken kann. Ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden biologi-

schen Mechanismen würde es ermöglichen, Erkrankungen besser zu erkennen und zu behandeln.

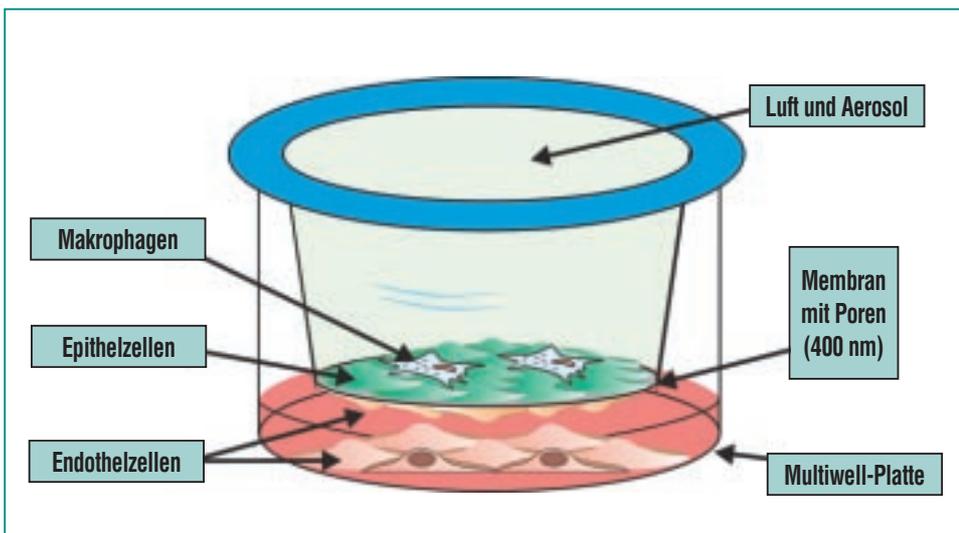
### Auswahl eines biologischen Testsystems

Da die Auswirkungen auf den Menschen im Mittelpunkt der umweltmedizinischen Forschung stehen, sind klinische Untersuchungsreihen und die Untersuchung von humanen Primärzellen von besonderer Bedeutung. Es gibt jedoch auch große Nachteile. Jeder Patient hat eine individuelle Vorgeschichte und eine individuelle genetische Prädisposition. Die erhaltenen Ergebnisse unterliegen oft großen Schwankungen und sind schlecht vergleichbar.

Zudem ist die Verfügbarkeit von humanen Primärzellen oft eingeschränkt. Ähnliches gilt auch für Tierversuche.

Die Verwendung von Zellkulturen bietet hingegen ein einfaches Modell und einfache Handhabung bei kontrollierten Expositionsbedingungen. Eine Standardisierung ermöglicht eine gute Vergleichbarkeit von Ergebnissen. Die Versuchsaufbereitung gestaltet sich effizient und ermöglicht umfangreiche Serienuntersuchungen bei Zugriff auf sehr viele Parameter, da sich der Zugriff auf zellulärer Ebene durch molekularbiologische Methoden vergleichsweise einfach verwirklichen lässt. Auch lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Methoden sind möglich. Jedoch darf man die Grenzen solcher Zellkulturmodelle nicht aus den Augen verlieren. Man arbeitet in einem artifiziiellen System und muß deshalb auch mit Artefakten bei den Ergebnissen rechnen. Zellkulturmodelle entsprechen nur in einer Annäherung der physiologischen Realität. Deshalb ist die Rückkehr vom vereinfachten System zum komplexen System zur Überprüfung der Ergebnisse notwendig.

Um die Wirkung von Partikeln zu untersuchen, werden Zellen aus der Lunge eingesetzt; entweder nur ein Zelltyp oder mehrere Zelltypen in einer Kokultur. Letzteres soll die Situation in der Lunge realitätsnah simulieren. Das in Abb. 1 gezeigte System berücksichtigt die wichtigsten Zelltypen, die in jedem der etwa 300 Millionen Lungenbläschen an der Austauschfläche von Sauerstoff und Kohlendioxid zwischen dem Blut



**Abb. 1: Transwell®-Membransystem zur Herstellung eines Kokultursystems.** Der Einsatz trennt das System durch die Membran in ein unteres und oberes Kompartiment auf, die nur durch die Poren in der Membran ( $\varnothing = 400 \text{ nm}$ ) verbunden sind. Die Poren sind groß genug, um Partikel, nicht aber Zellen einen Übergang zwischen den Kompartimenten zu ermöglichen. Die Membran wird von unten mit humanen Endothelzellen und von oben mit humanen Epithelzellen besiedelt. Zudem werden humane Makrophagen auf den Epithelzellen ausgebracht. Das ganze Kokultursystem gleicht der Luft/Blut Schranke in den Lungenbläschen und eignet sich sowohl für submerse Expositionen als auch für direkte Aerosol-Expositionen.

und der Atmosphäre beteiligt sind. Da dieser Austausch durch Diffusion stattfindet, sind die Wände der Alveolen sehr dünn. Die Wandstärke der Alveolen beträgt ungefähr 0,001 mm, ihr Durchmesser ungefähr 0,25 mm. Sie bestehen aus einer Lage Epithelzellen\* auf der Luftseite und einer Lage Endothelzellen\* auf der Blutseite, dazwischen befindet sich die Basalmembran aus extrazellulärer Matrix. Auf den Epithelzellen sitzen Makrophagen (Fresszellen) für die Immunabwehr.

### Auswahl relevanter biologischer Endpunkte

Partikel, die kleiner als 2 µm sind, können bis in den Alveolarbereich vordringen und sich auf der großen Lungenoberfläche, die mit einem dünnen Flüssigkeitsfilm (Surfactant) bedeckt ist, ablagern (Abb. 2). Wasserlösliche Verbindungen lösen sich auf und unlösliche Partikel werden von den Alveolarmakrophagen erkannt und phagozytiert. Bei hohen Partikelkonzentrationen ist

diese erste Abwehrlinie jedoch überfordert. Dann können Partikel auch von den Epithelzellen, welche die Lungenbläschen auskleiden, aufgenommen werden. Über das weitere Schicksal dieser Partikel ist noch nichts bekannt. Der Körper wehrt sich gegen die potentielle Gefährdung von außen mit einer lokalen Entzündungsreaktion. Dabei reagieren vor allem die Makrophagen mit der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, um Mikroorganismen abzutöten, sowie mit der Bil-

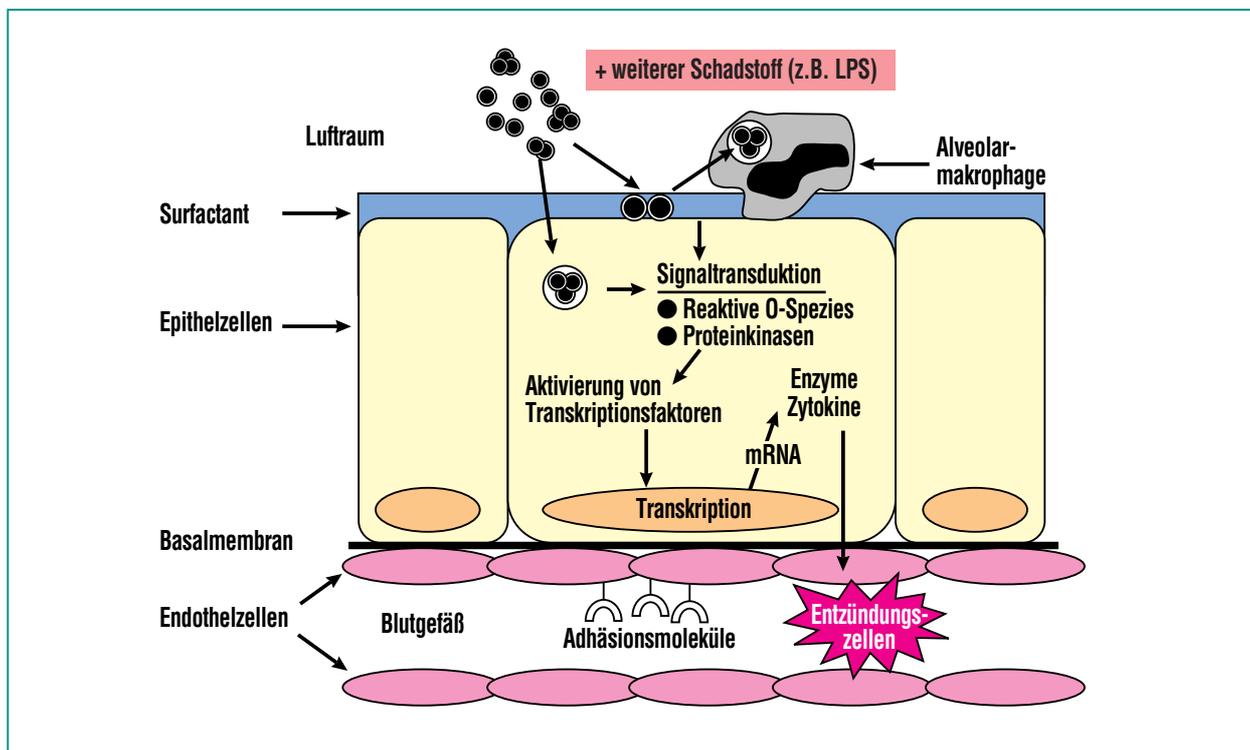


Abb. 2: Akute Wirkungen von Partikeln in Lungenzellen, die zu einer lokalen Entzündung führen. Nach Aufnahme in die Zelle lösen Partikel eine Signaltransduktion durch Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies sowie Aktivierung von Proteinkinasen aus. In der Folge werden Transkriptionsfaktoren aktiviert, die in den Zellkern wandern, um an die DNA zu binden und die Ablese bestimmter Gene zu induzieren. Die daraufhin gebildete mRNA wandert ins Zytoplasma, wo die entsprechenden Proteine synthetisiert werden z.B. die Zytokine IL-6 und IL-8. Zytokine induzieren die Bildung spezieller Adhäsionsproteine an der Oberfläche der Blutgefäßzellen, die es den Leukozyten des Blutes erlauben, hier anzudocken, um anschließend an den Ort der Gefährdung einzuwandern. IL-8 wirkt dabei chemotaktisch, es weist den Leukozyten den Weg entlang eines Konzentrationsgradienten.

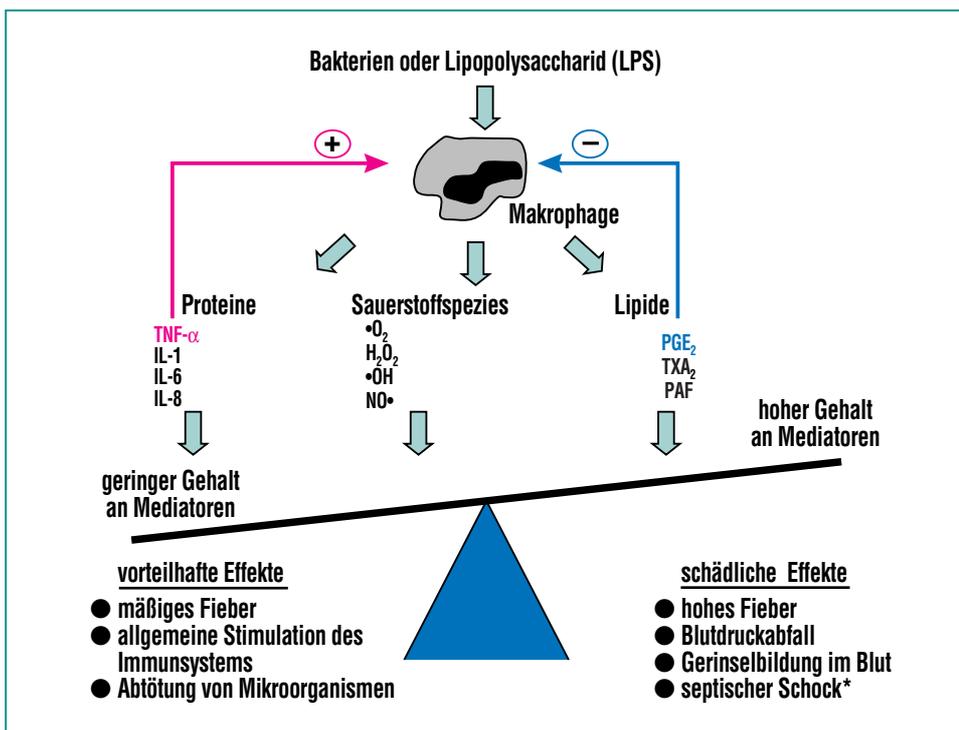
derung von Proteinen und Lipiden, die als chemische Botenstoffe (Mediatoren) für andere Zelltypen wirken (Abb. 3). Die Protein-Botenstoffe, auch Zytokine\* genannt, dienen der Kommunikation zwischen den aktivierten Makrophagen am Ort der Gefährdung und den Leukozyten (weiße Blutzellen), die normalerweise nur im Blut oder in Depots (Milz, Lymphknoten, Knochenmark) vorkommen, bei Bedarf jedoch an den Entzündungsherd rekrutiert werden. Auch die Zellen des Gewebes (in der Lunge Epithelzel-

len, Fibroblasten\* und Endothelzellen) reagieren auf die von den Makrophagen freigesetzten Zytokine und setzen ihrerseits Wirkstoffe frei, die mithelfen, dass Leukozyten in den Ort der Gefährdung einwandern, um dann in einer konzertierten Aktion die Keime zu töten und zu beseitigen und deren Ausbreitung ins System vorzubeugen. Bei diesem Vernichtungsprozess wird auch gesundes Gewebe zerstört. Die Feinregulation des Netzwerks von Zytokinen sorgt jedoch dafür, dass die entzündete Stelle wieder

abheilt. Wenn dieser Prozess durch Über- oder Unterregulation der verschiedenen Mediatoren gestört ist, kann noch mehr gesundes Gewebe zerstört werden, führt also zur Verschlimmerung einer Erkrankung. Einige Mediatoren gelangen in den Blutkreislauf und wirken systemisch\* auf andere Organe. In der Folge kann es zu Fieber und Gerinselbildung im Blut kommen, was die Effekte erhöhter Partikelkonzentrationen auf das Herz-Kreislaufsystem bei epidemiologischen Studien erklärt [8], ohne jedoch den Wirkungsmechanismus bis ins Detail zu kennen.

In der Zellkultur kann die Reaktion von Makrophagen auf bakterielle Erreger durch Zugabe von Lipopolysaccharid\* (LPS oder Endotoxin) simuliert werden (Abb. 3). LPS, bestehend aus einem Lipid- und einem Kohlenhydratanteil, kommt in der äußeren Membran bestimmter Bakterien vor und wird bei der Zellteilung und beim Absterben der Bakterien freigesetzt. Makrophagen tragen auf ihrer Oberfläche einen Rezeptor für LPS, nach dessen Aktivierung Prozesse in Gang gesetzt werden, die zu einer Entzündung führen können. Da der Kontakt der verschiedenen Zelltypen untereinander sowie die gegenseitige Beeinflussung von enormer Wichtigkeit bei einer Entzündungsreaktion sind, ist es sinnvoll, auch in der Zellkultur mit verschiedenen Zelltypen zu arbeiten.

In diesem Beitrag sollen die Ergebnisse von in vitro Studien mit Flugstaub aus einer Hausmüllverbrennungsanlage und mit synthetischen Modellpartikeln vorge-



**Abb. 3: LPS oder bestimmte Bakterien regen Makrophagen zur Produktion und Freisetzung von Vermittlermolekülen in Form von Proteinen (Tumor-Nekrose-Faktor-alpha, Interleukin-1, -6, -8, induzierbare NO-Synthase), reaktiven Sauerstoffspezies (Sauerstoffanionradikal, Wasserstoffperoxid, Hydroxyradikal, Stickstoffmonoxid) und Lipiden (Prostaglandin E<sub>2</sub>, Thromboxan A<sub>2</sub>, Plättchen-aktivierender Faktor) an. Diese sogenannten Mediatoren sind sehr empfindlich aufeinander abgestimmt und können verschiedene vorteilhafte oder schädliche Effekte auslösen. Die freigesetzten Stoffe wirken teilweise auf die Makrophagen zurück. TNF- $\alpha$  erhöht die Produktion von Mediatoren (roter Pfeil) und PGE<sub>2</sub> hemmt sie (grüner Pfeil).**

stellt werden, die potentielle Bestandteile der Flugasche sein können. Im Allgemeinen werden für Toxizitätsstudien Zellkulturen submers in flüssigen Kulturmedien mit den zu untersuchenden Substanzen behandelt. Die Dosis der Substanzen bezieht sich dabei auf ihre Konzentration im Medium. Zur Untersuchung von Partikeln ist dieser Versuchsansatz jedoch nur bedingt geeignet, da die physiko-chemischen Eigenschaften der Partikel und die Zelloberflächen in der flüssigen Phase andere Eigenschaften als in der Gasphase aufweisen. Ein realitätsnahes Modell für die in vivo Situation ist die Exposition von Zellen an der Gas/Flüssigkeits-schicht, die allerdings technisch sehr aufwendig ist und daher nur

selten eingesetzt wird. Es muss ein definiertes Aerosol erzeugt werden, das in einer geeigneten Weise über Testzellen geleitet wird, und die Zellkulturen müssen durch geeignete Trägersysteme über den Testzeitraum funktionell lebensfähig erhalten werden. Hier wurden die Zellen auf eine poröse Membran ausgesät (Abb.1), die es den Zellen erlaubt, sich während der Luftexposition durch die Poren mit Flüssigkeit und Nährstoffen zu versorgen. Bei dieser Methode ist die Erarbeitung von Dosis-Wirkungs-Beziehungen meist schwierig, da die quantitative Bestimmung der Ablagerung von Partikeln aus der Gasphase auf die Zellen nur berechnet oder geschätzt werden kann.

### System zur Exposition von Zellen an der Luft

Als Beispiel für potentielle Umweltpartikel wurde Flugstaub aus einer industriellen Hausmüllverbrennungsanlage ausgewählt, der aus feinen und ultrafeinen Partikeln besteht. Diese Flugasche wird mit einem Bürstendosierer resuspendiert und in die mit gefilterter Frischluft durchströmte Aerosol-Laboranlage AEOLA dosiert (Abb. 4) [9]. Bei einem Volumenstrom von  $500 \text{ Nm}^3/\text{h}$  können Massenkonzentrationen von  $1 - 100 \text{ mg}/\text{Nm}^3$  eingestellt werden. Durch weitere Verdünnung mit Luft kann bis auf Umweltkonzentrationen  $1 - 10 \text{ }\mu\text{g}/\text{Nm}^3$  verdünnt werden. Das Aerosol wird mit  $5\% \text{ CO}_2$  zur

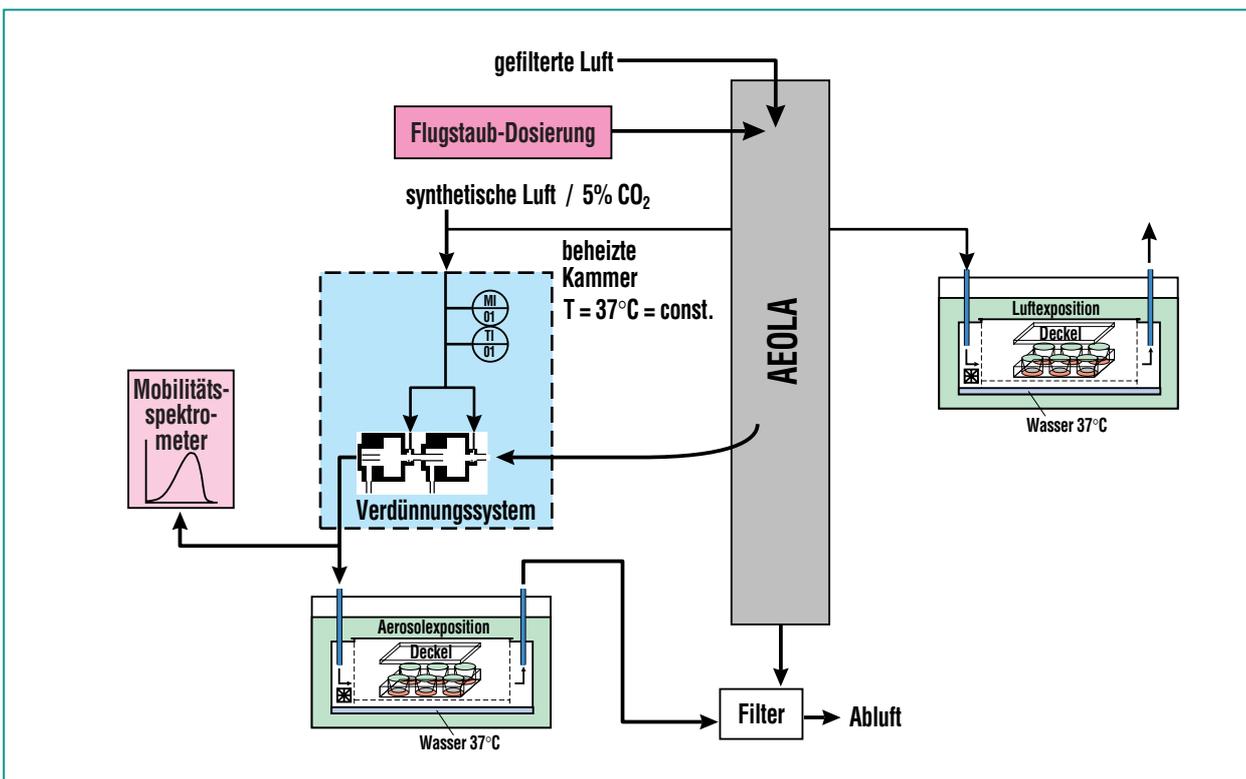


Abb. 4: Versuchsaufbau zur Dispersion von Flugasche und Herstellung verschiedener Verdünnungen zur in vitro Exposition von kultivierten Lungenzellen an der Aerosol-Laboranlage AEOLA.

Aufrechterhaltung eines physiologischen pH-Wertes im Zellkulturmedium angereichert, befeuchtet und auf 37°C temperiert, bevor es in die Expositionskammer mit den Zellen eingeleitet wird. Die Konzentration und Größenverteilung des verdünnten Aerosols wird vor und nach der Expositionskammer durch einen Differentiellen Mobilitätsanalysator (DMA) bestimmt. Dabei werden die elektrostatisch aufgeladenen Partikel aufgrund ihrer ladungsabhängigen Beweglichkeit im elektrischen Feld nach Größenklassen fraktioniert, deren jeweilige Anzahl mit einem optischen Messverfahren im Kondensationskernzähler (CPC, Condensation Particle Counter) ermittelt wird. Aus der Differenz der Partikelkonzentrationen vor und nach der Kammer kann der Anteil der deponierten Partikel in der Kammer und damit die Dosis für die exponierten Zellen abgeschätzt werden. Die Partikel-

größenverteilung der verwendeten Flugasche ist in [10] dargestellt.

Die Expositionskammer nach dem Prinzip von Voisin [11] besteht aus einer luftdicht verschraubten Kammer (13 l), die vollständig in ein 37°C warmes Wasserbad eingetaucht wird. In die temperierte Kammer werden zuvor die Zellkulturschalen auf eine Lochplatte gestellt. Das unter der Lochplatte befindliche Wasser dient zur Erzeugung einer hohen Luftfeuchtigkeit, um ein Austrocknen der Zellen zu verhindern. Die Exposition beginnt, wenn mit einer Pumpe Aerosol bzw. Luft/5% CO<sub>2</sub> in einer baugleichen Kontrollkammer, angesaugt wird. Die Testatmosphäre durchströmt dann die Kammer horizontal, und ein Ventilator an der Einströmungsöffnung sorgt für eine gleichmäßige Durchmischung des Aerosols. Die bisher durchgeführten Tests haben gezeigt, dass die Exposition von

Zellen an der Gasphase über mehrere Stunden ohne Veränderungen der Vitalität und der Zellfunktionen möglich ist. Nach der Exposition mit zunächst niedrigen Aerosolkonzentrationen und kurzen Expositionszeiten war lediglich bei den Makrophagen (NR8383) eine leichte Erhöhung der metabolischen Aktivität im Vergleich zu den Kontrollzellen messbar [12].

### Ergebnisse aus der Submerskultur

In vitro Tests mit synthetisch hergestellten feinen und ultrafeinen Partikeln aus Eisen-III-Oxid sowie Siliziumdioxid in verschiedenen Größenklassen unterstützten die Hypothese, dass bei Partikeln gleicher chemischer Zusammensetzung die ultrafeinen Partikel toxischer sind als größere (Abb. 5). Allerdings scheint auch die chemische Zusammensetzung eine Rolle zu spielen, da die

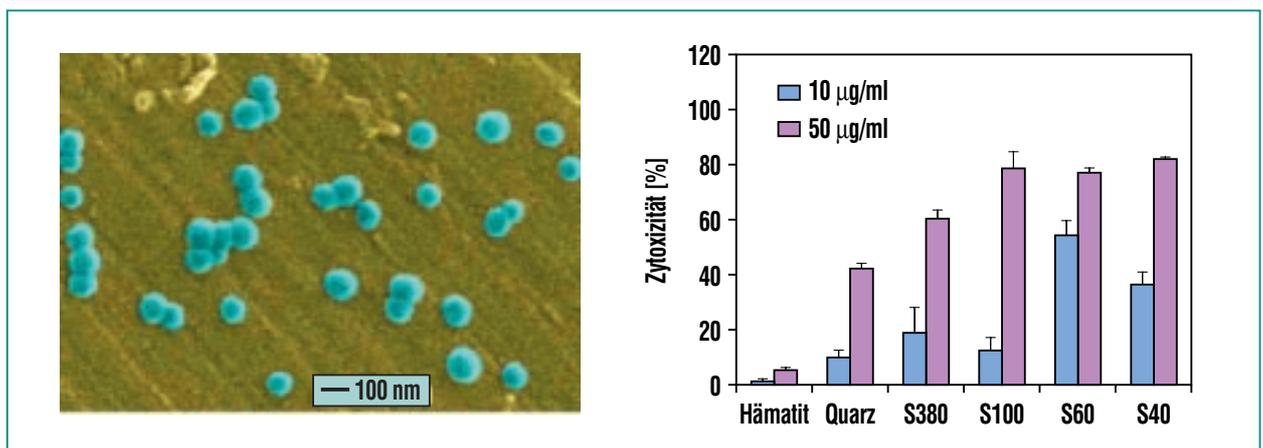


Abb. 5: Links: Darstellung von ultrafeinen Silicasol-Partikeln, mittlerer Durchmesser 60 nm im Raster-Elektronenmikroskop (B. Neufang, HVT-HZ). Rechts: Messung der Zytotoxizität\* von Hämatit ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ~ 70 nm) und Silicasol (amorphes SiO<sub>2</sub>, 380, 100, 60 und 40 nm) (beide synthetisch hergestellt von W. Ferstl, ITC-WGT) sowie Quarzstaub (< 5 µm) in Maus-Makrophagen (RAW234.7). Die kleineren Silicasolpartikel sind toxischer als die großen. Hämatit im gleichen Größenbereich ist dagegen praktisch untoxisch.

Hämatitpartikel in der gleicher Größenordnung wie das ultrafeine Silicasol praktisch untoxisch waren [7]. Nicht nur die professionellen Fresszellen wie die Makrophagen nehmen Partikel in das Zellinnere auf, sondern auch Epithelzellen besitzen die Fähigkeit, ultrafeine Partikel durch Endozytose aufzunehmen, wie in Abb. 6 zu sehen ist. Die ultrafeinen Hämatitpartikel werden im Lichtmikroskop erst dann sichtbar, wenn mehrere Partikel in den Lysosomen\* kompaktiert werden.

Bei subtoxischen Konzentrationen von Flugaschepartikeln konnten biologische Wirkungen lediglich in solchen Makrophagen beobachtet werden, die gleichzeitig mit LPS stimuliert wurden (Abb. 7). Die Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und MIP-2 war deutlich erhöht, was im Organismus einer Verstärkung der Entzündungsreaktion entsprechen würde. Gleichzeitig wurde die Bildung des NO-Radikals unterdrückt, d.h. die Abwehr gegen Bakterien wäre dadurch beeinträchtigt. Beide Effekte würden im Organismus zu einer Verschlimmerung einer bakteriellen Erkrankung führen [12].

Bei in vitro Versuchen mit Makrophagen und Epithelzellen aus der Ratte ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen Experimenten mit jeweils nur einem Zelltyp bzw. mit der Kokultur aus beiden Zelltypen (Abb. 8). Flugascheexposition allein induzierte keine auffallende Freisetzung des Zytokins MIP-2, welches funktionell dem humanen IL-8 entspricht. Dies gilt sowohl für die Epithelzellen (Alveolarepithelzellen Typ II, RLE-6TN) als auch die Alveolar-

makrophagen (NR8383). Eine verstärkte MIP-2-Freisetzung wird erst in der Kokultur beobachtet, wenn sie mit LPS kostimuliert worden sind, und in diesem Fall ist sie zudem abhängig von der

Konzentration der eingesetzten Flugasche. In den Kokultursystemen aus beiden Zelltypen ist die Zytokin-Antwort deutlich stärker im Vergleich zu den Monokulturexperimenten. Dabei handelt es

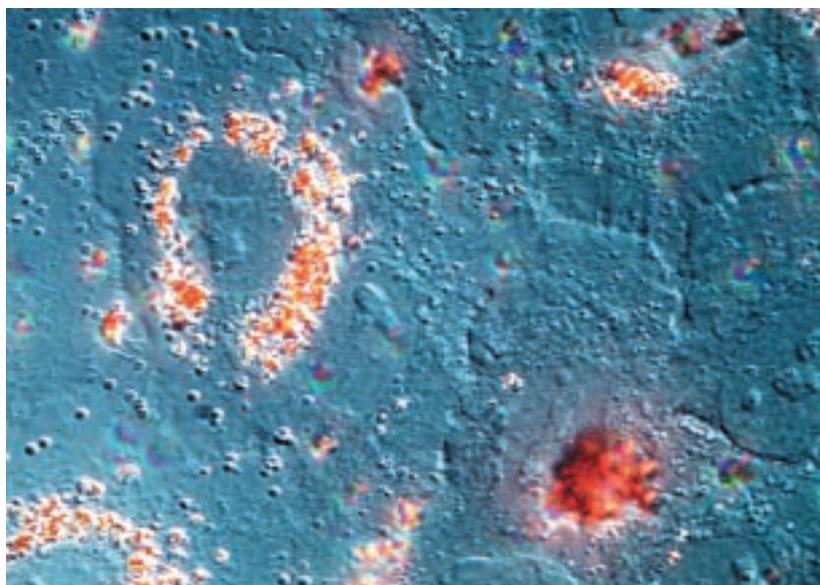


Abb. 6: Epithelzellen (humane Alveolarepithelzellen Typ II, A549) nach Endozytose von Hämatitpartikeln ( $\varnothing \sim 70$  nm). Die Hämatitpartikel sind erst nach Aggregation innerhalb der Zellen (rot) zu erkennen. (630fache Vergrößerung, Ölimmersion, DIC.)

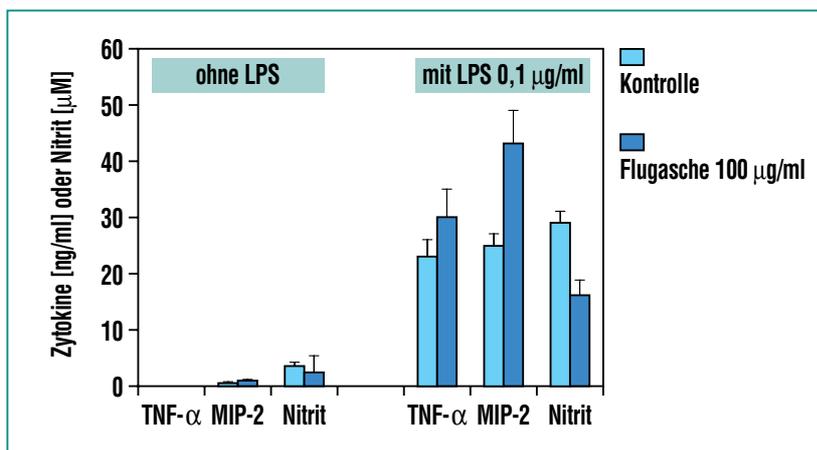
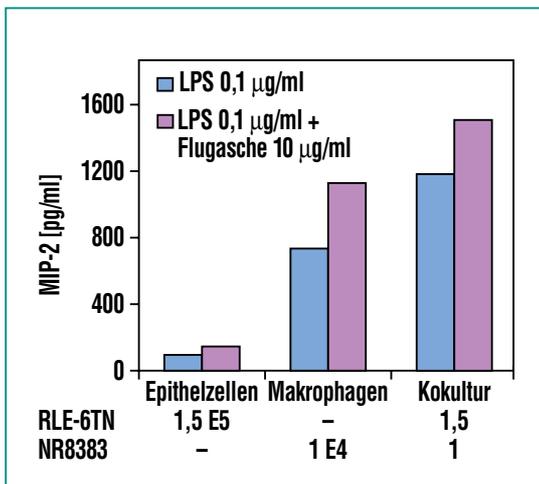


Abb. 7: In Alveolarmakrophagen der Ratte (NR8383) bewirkte die untersuchte Flugasche bei subtoxischer Konzentration nur in LPS-stimulierten Zellen eine Veränderung immunologischer Parameter. Die LPS-induzierte Freisetzung der Mediatoren TNF- $\alpha$  und MIP-2 wurde durch Flugasche verstärkt und die Freisetzung von NO, gemessen als Nitrit, wurde gehemmt.



**Abb. 8: Vergleich der MIP-2-Freisetzung bei Monokulturen aus Epithelzellen (RLE-6TN, 1,5 E5 Zellen) bzw. Makrophagen (NR8383, 1 E4 Zellen) und der Kokultur aus beiden Zelltypen im Verhältnis 15:1. Die dargestellten Ergebnisse beziehen sich auf eine Exposition mit LPS (0,1 µg/ml) sowie gleichzeitiger Stimulierung mit der subtoxischen Flugasche-Konzentration von 10 µg/ml.**

sich nicht um einen einfachen additiven, sondern einen synergistischen Effekt, der auf die gegenseitige Beeinflussung der Zellen durch Mediatoren zurückzuführen ist (positive Rückkopplung).

## Zusammenfassung und Ausblick

Feine und ultrafeine Umweltstäube sind aufgrund von epidemiologischen Studien als Verursacher einer erhöhten Morbidität und Mortalität in der Bevölkerung in den Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen gelangt. Mit Hilfe von in vitro Tests wurde gezeigt, dass ultrafeine synthetische Partikel stärker zytotoxisch wirken als größere Partikel gleicher chemischer Zusammensetzung. Flugstaub aus einer Hausmüllverbrennungsanlage, der auch Partikel im Nanometer-Bereich enthält, bewirkt in Lipopolysaccharid-stimulierten Makrophagen eine verstärkte Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine sowie eine Inhibierung der Bildung des NO-Radikals. In Kokulturen aus Makrophagen und Lungenepithelzellen wurde gezeigt, dass diese mehr Zytokine freisetzen als die Summe der entsprechenden Einzelzellkulturen. Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass erhöhte Schwebstaubkonzentrationen bei besonders empfindlichen Personen

(z.B. an einer chronischen Bronchitis oder Lungenentzündung erkrankte) zu einer Verschlimmerung der bestehenden Erkrankung führen, indem das empfindliche Netz der Abwehrreaktionen gestört wird. In den weiteren Arbeiten soll geprüft werden, ob tatsächlich der ultrafeine Anteil der Flugasche für die schädlichen Wirkungen verantwortlich ist, oder ob auch andere Wirkparameter wie z.B. Metalle eine Rolle spielen. Durch gezielte Maßnahmen in der Verbrennungs- und Rauchgasreinigungstechnik müssen diese Parameter dann gemindert werden.

## Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei S. Mülhopt und H.R. Paur (ITC-TAB) für die Möglichkeit der Aerosolexposition an der AEOLA-Anlage sowie für die kooperative Zusammenarbeit.

## Literatur

- [1] <http://www.lungentag.de>
- [2] D.W. Dockery, C.A. Pope, *Ann. Rev. Public Health* 15: 107-132 (1994)
- [3] C.A. Pope, D.W. Dockery, *In: Air Pollut. Health, Holgate et al. (eds.), Academic Press, San Diego, 673-705 (1999)*
- [4] H.E. Wichmann, C. Spix, T. Tuch, G. Wölke, A. Peters, J. Heinrich, W.G. Kreyling, J. Heyder, *Health Effects Institute, Cambridge, USA, Report 98, 2000*
- [5] G. Oberdörster, *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 74, 1-8 (2001)
- [6] D.M. Brown, V. Stone, P. Findlay, W. MacNee, K. Donaldson, *Occup. Environ. Med.* 57, 685-691 (2000)
- [7] S. Diabaté, H.F. Krug, *Europ. J. Cell Biol.* 79, 97 (2000)
- [8] A. Peters, D.W. Dockery, J.E. Muller, M.A. Mittleman, *Circulation* 103, 2810-2815 (2001)
- [9] S. Mülhopt, *Diplomarbeit am ITC-TAB (2000)*
- [10] H.F. Krug, S. Diabaté, S. Strack, *Nachrichten* 33, Heft 4 (2001)
- [11] C. Voisin, C. Aerts, E. Jakubczak, A.V. Tonnel, *Bull. Europ. Physiopath. Resp.* 13, 69-82 (1977)
- [12] S. Diabaté, S. Mülhopt, H.-R. Paur, H.F. Krug, *Ann. Occup. Hygiene (zur Veröffentlichung akzeptiert)*

## Glossar

<b>Endothelzellen</b>	Endothelzellen kleiden die Blutgefäße aus.	<b>Zytokine</b>	Zytokine sind Vermittler (Mediatoren) oder Signalproteine, die von Zellen produziert werden und auf Zielzellen wirken, indem sie an spezifische Rezeptoren binden. Sie dienen der Kommunikation zwischen benachbarten Zellen und lösen entweder direkt biologische Prozesse aus (Aktivierung, Inhibierung) oder veranlassen Zielzellen zur Bildung weiterer Zytokine, die wiederum andere Zellen beeinflussen (Zytokin-Kaskade). Eine Über- oder Unterproduktion von Zytokinen ist oft mit bestimmten pathophysiologischen Prozessen assoziiert (Autoimmunerkrankungen, chronische Entzündungen).
<b>Endotoxin</b>	Endotoxine (Synonym = Lipopolysaccharid) sind Bestandteile der äußeren Zellmembran gram-negativer Bakterien (z.B. Escherichia coli). Die hitzestabile Substanz wird bei der Zellteilung sowie beim Absterben der Bakterien freigesetzt. Die Makrophagen-aktivierende Wirkung geht überwiegend vom Lipid A-Anteil aus, einem sehr wirksamen Pyrogen (Fieber-her-vorrufende Substanz).	<b>Zytotoxizität</b>	Eine Substanz wirkt zytotoxisch, wenn sie zum Absterben der Zelle führt.
<b>Epithelzellen</b>	Epithelzellen bilden den äußeren Abschluss von Organen.		
<b>Fibroblasten</b>	Fibroblasten sind Bindegewebszellen, die u.a. Proteine wie Kollagen zur Gewebereparatur sezernieren.		
<b>Lipopolysaccharid (LPS)</b>	siehe Endotoxin		
<b>Lysosomen</b>	Vakuolen innerhalb der Zelle, in der sich Verdauungsenzyme befinden.		
<b>septischer Schock</b>	Ein septischer Schock kann sich nach einer massiven Infektion entwickeln, vermittelt durch TNF- $\alpha$ und sekundäre Mediatoren. Als Folge erweitern sich die Gefäße, der Blutdruck sinkt, es kommt zu Organschäden, Organversagen und schließlich zum Tod.		
<b>systemische Wirkung</b>	eine Wirkung, die sich im ganzen Körper entfaltet.		
<b>Xenobiotika</b>	(xenos (gr.) = fremd, andersartig): Als Xenobiotika werden nur jene anthropogene Fremdstoffe bezeichnet, die der Natur fremd und in biologischen Systemen kreislauffremd sind. Sie kommen in Wasser, Luft und Lebensmitteln natürlicherweise nicht vor.		