

Forschungsbericht FZKA-BWPLUS

**Veränderungen biologischer Parameter (Immunsystem, Cytochrom  
P450-System)  
bei 3 hoch 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD)-exponierten  
Personen aus Wien**

Dr. Klaus Abraham

Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie, Charité,  
Humboldt-Universität Berlin, Augustenburger Platz 1, 13 353 Berlin

Förderkennzeichen: BWB 20002

Die Arbeiten des Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung werden mit Mitteln des Landes Baden-  
Württemberg gefördert

Dezember 2001

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	<b>3</b>
<b>2. Hintergründe, Studienziele und Studienkonzept</b>	<b>6</b>
2.1. Immunsystem	6
2.2. Cytochrom P450-Induktion der Leber (CYP1A2)	7
<b>3. Untersuchte Personen</b>	<b>9</b>
3.1. TCDD-exponierten Personen aus Wien	9
3.2. Kontroll-Kollektiv	9
<b>4. Untersuchungsmethoden</b>	<b>11</b>
4.1. Immunsystem	11
4.2. Cytochrom P450-Induktion der Leber (CYP1A2)	12
<b>5. Ergebnisse</b>	<b>15</b>
5.1. Immunsystem	15
5.2. Cytochrom P450-Induktion der Leber (CYP1A2)	29
<b>6. Diskussion und Schlußfolgerungen</b>	<b>38</b>
6.1. Immunsystem	38
6.2. Cytochrom P450-Induktion der Leber (CYP1A2)	41
<b>7. Literatur</b>	<b>46</b>
<b>8. Verwendete Abkürzungen</b>	<b>50</b>
<b>9. Danksagung</b>	<b>51</b>
<b>10. Zusammenfassung</b>	<b>52</b>

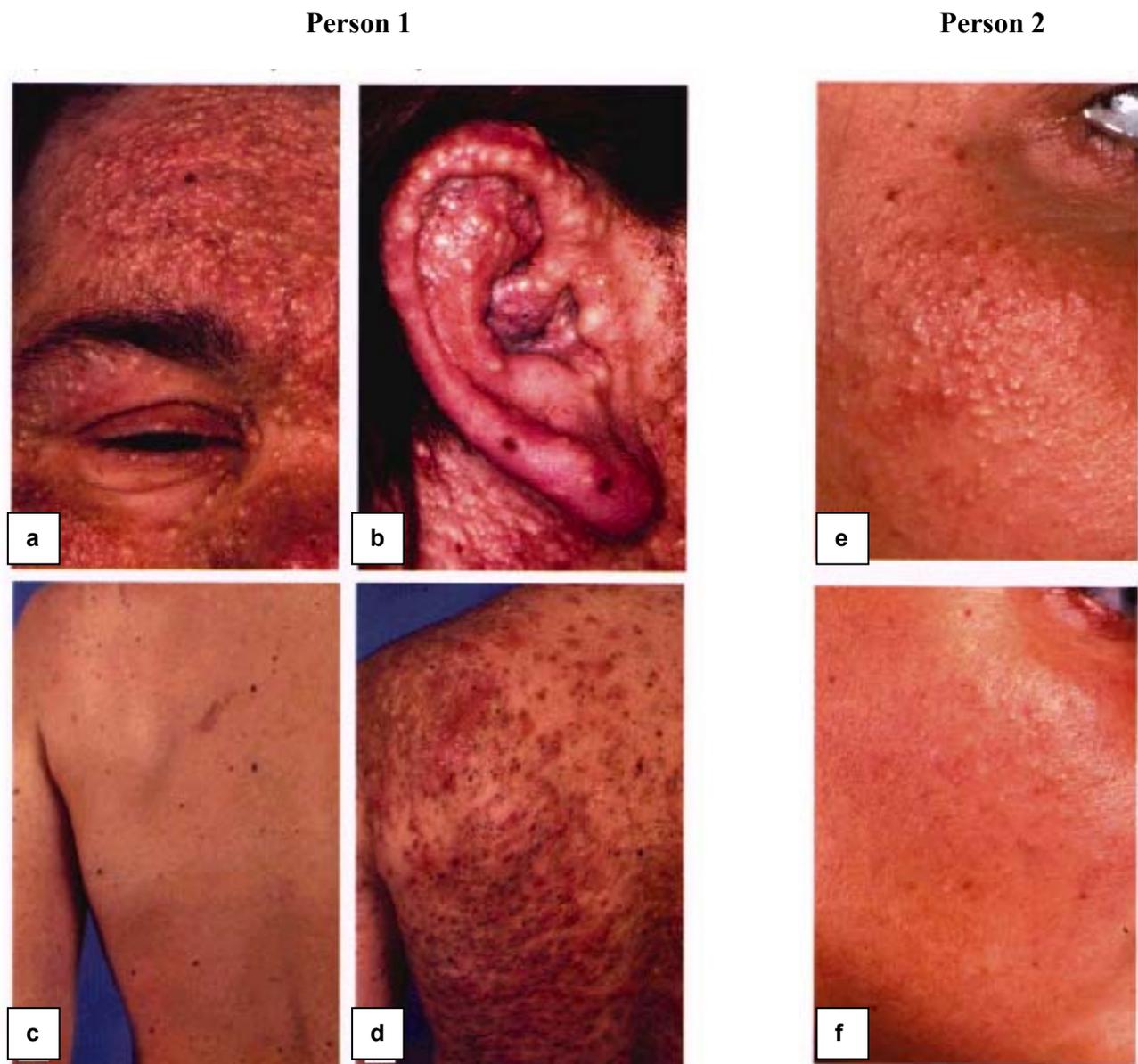
# 1. Einleitung

Ende 1997 entwickelten 2 Mitarbeiterinnen (Person 1 und 2) eines Wiener Textil-Forschungsinstituts Zeichen von Akne. Aufgrund des schweren Verlaufs und der untypischen Verteilung bei Person 1 wurde im Frühjahr 1998 an der Immundermatologischen Abteilung der Universität Wien (Leiter: Prof. Dr. G. Stingl) die Verdachtsdiagnose 'Chlorakne' gestellt, die durch eine Blutuntersuchung bestätigt wurde: mit 144.000 (Person 1) und 26.000 (Person 2) pg 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD) pro g Blutfett (ppt) wurden die höchsten jemals bei Erwachsenen gemessenen Konzentrationen ermittelt (Vergleich Seveso: höchste gemessene Konzentration bei Erwachsenen: 10.400 ppt, bei Kindern: 56.000 ppt). Andere Dioxin- oder Furan-Kongenere wurden nicht vermehrt gefunden, bis auf eine leichte Erhöhung von 1,2,3,7,8-Pentachlordibenzo-p-dioxin. Dieses Verteilungsmuster ist typisch bei einer Bildung aus 2,4,5-Trichlorphenol, was als Quelle vermutet wird. Die genauen Umstände der Entstehung und insbesondere der Exposition der beiden erwähnten Personen, die im gleichen Zimmer an Computer-Arbeitsplätzen tätig waren, konnten nicht geklärt werden; ein krimineller Hintergrund ist nicht ausgeschlossen. Blutuntersuchungen aller 30 Beschäftigten zeigten bei 3 weiteren Mitarbeitern mit 856 ppt (Person 3), 159 ppt und 98 ppt TCDD über dem Hintergrundbereich von ca. 1 ppt liegende TCDD-Werte.

Person 1 ist klinisch von der Chlorakne sehr schwer betroffen. In den ersten 2 Jahren seit Auftreten der Symptome kam es zu einer kontinuierlichen Verschlechterung und Ausbreitung der Hautsymptome, die sich auch durch übliche medikamentöse Maßnahmen der Akne-Behandlung (systemische und lokale Anwendung von Retinoiden) nicht aufhalten ließen (Abbildung 1 a-d). Seitdem ist durch regelmäßige Inzisionen der Zysten die Intensität insgesamt allmählich rückläufig (Ausbrennen des Krankheitsprozesses durch Zerstörung der Talgdrüsen), jedoch tritt auch weiterhin Chlorakne an bisher nicht oder nur wenig betroffenen Hautpartien neu bzw. verstärkt auf. Die durch den Krankheitsprozeß ausgelöste Hautentzündung macht eine antiinflammatorische Behandlung (incl. oralen Kortikosteroiden und Antibiotika) erforderlich, zudem benötigt die Patientin eine Schmerz- und antidepressive Therapie (GEUSAU et al., 2000, 2001).

Die bei Person 2 auf die typische Lokalisation (Gesicht, prä- und retroaurikuläre Region) beschränkte Chlorakne wurde lokal mit Tretinoin behandelt und ist inzwischen abgeklungen bis auf kaum erkennbare residuale Hautveränderungen (Abbildung 1 e-f, GEUSAU et al., 2001). Bei Person 3 traten keine klinischen Symptome auf.

Die extrem hohen TCDD-Konzentrationen, die bei Person 1 und 2 einer Dosis von ca. 25 bzw. 6 µg/kg Körpergewicht entsprechen (initial lagen die Werte vermutlich noch höher), machen bereits deutlich, daß der Mensch sicher nicht zu den sehr TCDD-empfindlichen Spezies gehört (LD<sub>50</sub> für Meerschweinchen ca. 1 µg/kg Körpergewicht). Seit Bekanntwerden der Intoxikation wurden insbesondere die Personen 1 und 2 umfangreich und wiederholt hinsichtlich möglicher weiterer Organmanifestationen untersucht. Bis auf eine sekundäre Amenorrhoe bei Person 1 fanden sich keine weiteren klinischen Auffälligkeiten (GEUSAU et al., 2001). Es bestätigte sich dabei die bereits nach dem Seveso-Unfall 1976 gewonnene Erkenntnis, daß der Mensch für



**Abbildung 1** Klinisches Bild der Chlorakne in Person 1 (a-d) und 2 (e-f).

Person 1: a) multiple Zysten im Gesichtsbereich und b) im aurikulären Bereich, der bei der gewöhnlichen Akne üblicherweise nicht betroffen ist (beide Aufnahmen ca. ein Jahr nach Diagnosestellung); Rücken c) mit wenigen Zysten im Sommer 1998 und d) ein Jahr später, bedeckt mit zahlreichen schwer entzündeten Zysten.

Person 2: e) multiple geschlossene und offene Komedone in der malaren Region bei Diagnosestellung und f) nach einjähriger Behandlung mit Tretinoin.

aus: GEUSAU et al., 2001

Hautveränderungen (Chlorakne) besonders sensibel ist (wenn auch mit hoher interindividueller Variabilität), weitere gravierende klinische Symptome jedoch sogar im Konzentrationsbereich von einigen tausend bis einigen zehntausend ppt nicht unbedingt zu erwarten sind. Ein umfangreiches klinisch-chemisches Untersuchungsprogramm, wie es heute an einer Universitätsklinik für die Routine zur Verfügung steht, erbrachte bei den Personen 1 und 2 keine grob auffälligen Werte, bis auf eine Erhöhung der Zahl weißer Blutzellen im peripheren Blut (Leukozytose, alle Zellreihen betreffend) bei Person 1. Bei ihr fanden sich zudem zeitweise und/oder nur geringfügig verändert ein niedriges Hämoglobin (um 10 g/dl), eine erhöhte  $\gamma$ -GT und AP (einmalig im April 1998 gemessen) sowie erhöhte Cholesterin- und Triglycerid-Werte, die teilweise durch die erforderliche Therapie zu erklären sind. Die endokrinologischen Untersuchungen erbrachten keine Auffälligkeiten, bis auf leicht erniedrigte Östrogen- und Progesteron-Spiegel sowie leicht erhöhte Prolaktin-Spiegel bei Person 1 (u.U. im Zusammenhang mit der bestehenden sekundären Amenorrhoe, möglicherweise ist Prolaktin aber auch durch die antidepressive Therapie mit Serotonin-Antagonisten erhöht). Bei Person 2 fand sich einmalig ein erhöhter TSH-Wert, eine Fehlbestimmung ist nicht auszuschließen (GEUSAU et al, 2001).

Über diese Messungen mit Routine-Methoden hinausgehend wurden im Rahmen des Projektes weitergehende Untersuchungen des Immunsystems sowie des Cytochrom-P450-Systems durchgeführt, die parallel an einer Gruppe von gesunden Kontrollpersonen unternommen wurden.

## 2. Hintergründe, Studienziele und Studienkonzept

### 2.1. Immunsystem

Die beiden von der Chlorakne betroffenen Personen 1 und 2 mit extrem hohen TCDD-Werten wurden seit Frühjahr 1998 auch hinsichtlich möglicher Veränderungen des Immunsystems untersucht, ohne daß außer den oben erwähnten auffällige Befunde erhoben wurden. Dies entspricht den z.B. in Seveso (1976 und folgenden Jahren) gemachten Erfahrungen beim Menschen, wobei damals die immunologischen Methoden noch weniger weit entwickelt waren. Dioxine werden dennoch häufig insbesondere aufgrund tierexperimenteller Untersuchungen als "immuntoxisch" bezeichnet. Hierzu ist jedoch anzumerken, daß zahlreiche publizierte Effekte auf das Immunsystem hinsichtlich des beobachteten Musters nicht konsistent sind (bis auf die Thymus-Involution, die als epithelialer Effekt anzusehen ist; entsprechend kommt es bei hoher Exposition während der Embryonal- und Fetalentwicklung zu immunologischen Problemen). Die Wirkungen scheinen vielmehr von der untersuchten Spezies (bzw. Tierstamm) und dem Applikationsregime abhängig zu sein, sowohl Immun-Suppression als auch -Aktivierung wurden beschrieben, und die von Einzelnen im Niedrigdosisbereich beschriebenen Effekte wurden häufig nicht von anderen Arbeitsgruppen bestätigt. Da es in den letzten 20 Jahren keine schwerwiegenden Unfälle mit Dioxin-Intoxikation von Menschen gegeben hat, liegen für die zwischenzeitlich entwickelten differenzierteren immunologischen Untersuchungsmethoden kaum Erkenntnisse bezüglich spezieller Dioxin-abhängiger Veränderungen des menschlichen Immunsystems vor. Mit solchen Methoden wurden in den letzten Jahren Kollektive ehemaliger Chemiarbeiter untersucht, ohne daß überzeugende und konsistente Befunde für eine TCDD-Wirkung auf das Immunsystem des Menschen erhoben werden konnten (z.B. ERNST et al., 1998; JUNG et al., 1998; NEUBERT et al., 1993, 1995, 2000; OTT et al., 1994; TONN et al., 1996). Hier ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Exposition lange zurückliegt und zahlreiche Confounder (Alter, Erkrankungen, Rauchen, Expositionsmuster) zu berücksichtigen sind, die eine Interpretation der Daten bei der begrenzten Fallzahl erschweren.

Da für ein mögliches toxisches Potential von TCDD hinsichtlich des Immunsystems von Erwachsenen von dosisabhängigen Wirkungen auszugehen ist, lag es nahe, die hoch TCDD-belasteten Personen aus Wien genauer immunologisch zu untersuchen. Dabei sollten differenziertere Methoden eingeschlossen werden, die erst in den letzten Jahren entwickelt wurden. Da hierfür überwiegend keine Referenzwerte vorliegen und teilweise Methodenabhängigkeit besteht, sollte parallel eine Kontrollgruppe untersucht werden. Dies bot sich auch insofern an, als die Personen 1, 2 und 3 in etwa das gleiche Alter haben (ca. 30 Jahre), sonst gesund sind und nicht rauchen, so daß es möglich war, die Untersuchungen an einem entsprechend ausgesuchten Kollektiv vorzunehmen. Die insbesondere für die Messung der Enzyminduktion in der Leber sinnvolle Einbeziehung von starken Rauchern ließ zudem Erkenntnisse bezüglich des Einflusses von Zigarettenrauch auf das Immunsystem von Erwachsenen erwarten.

## 2.2. Cytochrom P450-Induktion der Leber (CYP1A2)

Der zweite Teil der Untersuchungen betrifft die Ah-Rezeptor-vermittelte Synthese (POELLINGER 2000) von Cytochrom P450 in der Leber. Tierexperimentell ist sie der sensitivste und bestuntersuchte Effekt von TCDD mit klarer Dosis-Wirkungs-Beziehung (bei direkter Untersuchung von Lebergewebe, z.B. mit Hilfe der Ethoxy-Resorufin-O-Deethylase, EROD) (ABRAHAM et al., 1988). Auch für den Menschen ist grundsätzlich mit einer entsprechenden Reaktion zu rechnen. Diese Fragestellung ist dabei nicht nur interessant unter dem Aspekt der Induktion mit möglicherweise relevanten Veränderungen des Stoffwechsels (inklusive Frage der Kanzerogenität), sondern auch von grundsätzlicher Bedeutung, wird doch ein Großteil der TCDD-Wirkungen im Säugetier mit Ah-Rezeptor-vermittelten Mechanismen in Verbindung gebracht. Daher könnten genauere Erkenntnisse über den Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurve der Induktion von Cytochrom P450 in der Leber auch einen Beitrag zur Diskussion um die Toxizität von TCDD beim Menschen liefern.

Zur Messung der Induktion des hier relevanten CYP1A2 in der Leber stehen nur indirekte Methoden zur Verfügung, mit denen der Stoffwechsel von Testsubstanzen gemessen wird. Etabliert ist in diesem Fall der Einsatz von Koffein, dessen Abbau mit verschiedenen Methoden erfaßt werden kann; kontrovers wird diskutiert, welcher der Tests der verlässlichste ist (BUTLER et al., 1989; KOTAKE et al., 1982; ROST et al., 1992). Der Atemtest, der als Testsubstanz ein an der relevanten Position mit einem stabilen Isotop markiertes Koffein benutzt (N-3-methyl-<sup>13</sup>C-Koffein), hat theoretisch den Vorteil, daß das ausgeatmete <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> ausschließlich den für CYP1A2 spezifischen Metabolismus widerspiegelt. Da Koffein nach oraler Aufnahme fast vollständig resorbiert wird, reflektiert die AUC (total area under the plasma concentration time curve) die Gesamt-Clearance, die somit ebenfalls ein verlässliches Maß für die Metabolisierungs-Kapazität ist (RENNER et al., 1984). Häufig als solche benutzt werden auch Metaboliten-Ratios wie das Verhältnis von Paraxanthin (17X) zu Koffein (137X), die möglicherweise weniger spezifisch sind, da sie auch von anderen Stoffwechselschritten abhängig und nicht zwangsläufig linear mit der Enzym-Aktivität korreliert sind. Gleiches gilt für die häufig verwendeten Urin-Metaboliten-Ratios (UMR), die zudem von weiteren Faktoren beeinflusst werden können (aktive renale tubuläre Sekretion und Resorption, Plasma-Proteinbindung, Urinflußgeschwindigkeit, pH-Wert), und daher in ihrer Bedeutung als Maß der CYP1A2-Metabolisierungs-Kapazität kontrovers diskutiert werden (CAMPBELL et al., 1987; KALOW und TANG, 1991; TANG et al., 1994; ROSTAMI-HODJEGAN et al., 1996; KADLUBAR et al., 1996).

Obwohl zu erwarten ist, daß CYP1A2 in der Leber des Menschen induzierbar ist, konnte dies bisher in-vivo bei moderat TCDD-exponierten Personen nicht gezeigt werden. Für andere persistente organischen Verbindungen mit Affinität zum Ah-Rezeptor konnte bei hoch PCB/PCDF-Kontaminierten (Yu-Cheng, Taiwan 1979) eine Induktion mit dem Koffein-Atemtest gemessen werden (Details siehe Diskussion). Lange bekannt ist auch, daß Inhalation von Zigarettenrauch zur CYP1A2-Induktion führt (z.B. VESTISEN et al., 1992; Sinués et al., 1999).

Nachdem die Voruntersuchungen der hoch TCDD-exponierten Wienerinnen bereits eine CYP1A2-Induktion mit dem Koffein-Test gezeigt hatte, sollten im Rahmen des Projektes diese Untersuchungen wiederholt und parallel an einer Kontrollgruppe von Nichtrauchern und starken Rauchern mit den gleichen Methoden vorgenommen werden, um folgende Fragen zu beantworten:

- wie entwickelt sich die gemessene Induktion bei den hoch exponierten Frauen mit abfallenden TCDD-Konzentrationen (individuelle Dosis-Wirkungs-Kurve?, als Teil einer Langzeituntersuchung) ?
- inwieweit ist bereits bei Person 3 (TCDD-Konzentration initial 870 ppt) eine außerhalb des Normalbereichs liegende Induktion nachweisbar?
- welche der verschiedenen Methoden zur Messung des Koffein-Metabolismus ist am besten geeignet zur Erfassung der Induktion bei TCDD-Exposition?
- wie stark ist der TCDD-Effekt im Vergleich zu dem von Zigarettenrauch?

Eine weitere Fragestellung, deren Beantwortung sich aus dem Vergleich innerhalb der Rauchergruppe ergeben könnte, betrifft die Abhängigkeit der CYP-Induktion von der Benutzung eines Filters (bisher unbeantwortete Frage).

Wie bereits in Bezug auf die immunologischen Untersuchungen hervorgehoben, sollte die Interpretation der Daten trotz geringer Fallzahl dadurch erleichtert werden, daß es sich bei den exponierten Personen aus Wien um eine ausschließliche und gut dokumentierte Exposition gegenüber TCDD handelt, und diese Nichtraucher etwa gleichen Alters sind.

## **3. Untersuchte Personen**

### **3.1. TCDD-exponierten Personen aus Wien**

Die Untersuchungen in Wien fanden wie geplant in Zusammenarbeit mit Frau Dr. A. Geusau und Prof. Dr. G. Stingl (Abteilung für Immundefektologie der Universität Wien) im Oktober 2000 statt. Die Personen 1, 2 und 3, die Nichtraucher und österreichischer Abstammung sind, waren zu diesem Zeitpunkt 32,9, 29,5 bzw. 29,2 Jahre alt. Daten ihrer Körpermaße sind Tabelle 1 zu entnehmen. Nach der Blutentnahme wurden die Proben für die immunologischen Untersuchungen innerhalb von 3,5 Stunden in Berlin weiterverarbeitet.

Untersuchungen der hepatischen CYP1A2-Aktivität mit Hilfe des Koffein-Tests wurde erstmals im Dezember 1998 durchgeführt, mehr als ein Jahr nach dem vermutlichen Zeitpunkt der Intoxikation (Atemtest, nur bei Person 1 und 2, TCDD-Konzentrationen zu diesem Zeitpunkt: 65.100 bzw. 13.700 ppt). Die Untersuchungen wurden wiederholt mit zusätzlichen Serum- und Urin-Untersuchungen im März 1999 (bei den Personen 1, 2 und 3; bei TCDD-Konzentrationen von 72.500, 15.100 bzw. 730 ppt), März 2000 (bei Person 1 und 2; bei TCDD-Konzentrationen von 39.300 bzw. 10.500 ppt) und Oktober 2000 (bei den Personen 1, 2 und 3; bei TCDD-Konzentrationen von 30.300, 10.100 bzw. 420 ppt).

Zum letztgenanntem Zeitpunkt (parallele Untersuchung des Kontroll-Kollektives) benötigte Person 1 folgende medikamentöse Behandlung: Methylprednisolon (2 oder 4 mg täglich alternierend), Diclofenac (2 x 50 mg täglich), Paroxetin (1 x 20 mg täglich), Pantoprazol (1 x 40 mg täglich), orales Morphin (10 mg bei Bedarf, bis zu 6 mal täglich) und Supplementierung von fettlöslichen Vitaminen während der Olestra-Behandlung (künstliches, nicht resorbierbares, nicht verdaubares Fett, mit dem eine Steigerung der TCDD-Ausscheidung über den Stuhl erreicht werden kann: GEUSAU et al., 1999). Die Personen 2 und 3 nahmen zu diesem Zeitpunkt keine Medikamente ein.

Die letzten Impfungen erfolgen bei Person 1, 2 und 3 gegen Tetanus im Oktober 1999 (unter 5 oder 10 mg Methylprednisolon täglich alternierend), 1991 bzw. 1995. Bei allen 3 Personen war mehr als 10 Jahre lang keine Diphtherie-Auffrischimpfung durchgeführt worden. Person 1 und 2 erhielten 4 Wochen vor der Untersuchung im Rahmen dieses Projektes eine entsprechende Impfung (siehe 4.1.).

### **3.2. Kontroll-Kollektiv**

Als altersentsprechendes Kontrollkollektiv wurden in Berlin 50 Personen rekrutiert, die die folgenden Auswahlkriterien erfüllen mußten: gesund (keine akuten oder chronischen Erkrankungen, insbesondere kein akuter Infekt in den letzten 2 Wochen), Body-Mass-Index zwischen 18 und 26 kg/m<sup>2</sup>, Alter zwischen 25 und 36 Jahren, nicht mehr als nur gelegentlicher geringer Alkoholkonsum, keine medikamentöse Behandlung, Eltern deutscher Abstammung. Die Probanden mußten entweder Nichtraucher (n=30) sein (mindestens seit einem Jahr nicht

geraucht, maximal 2 Zigaretten pro Woche wurden akzeptiert), oder als starke Raucher (n=20) mindestens 20 Zigaretten pro Tag rauchen. In der letztgenannten Gruppe wurden Personen gesucht, die mit bzw. ohne Filter rauchen (je n=10). Für die jeweiligen Gruppen wurden Frauen und Männer im gleichen Verhältnis rekrutiert. Die Untersuchungen fanden zwischen August und November 2000 statt. Wesentliche Daten des Kontroll-Kollektivs sind Tabelle 1 zu entnehmen.

Alle untersuchten Personen gaben nach entsprechender Information schriftlich ihr Einverständnis ab. Die Studie hatte zuvor die Zustimmung der Ethikkommission der Charité erhalten.

**Tabelle 1** Wesentliche Daten der TCDD-exponierten Personen 1,2 und 3, sowie die der Kontrollgruppe.

	TCDD-exponiert*			Kontrollgruppe**	
	Person 1	Person 2	Person 3	Nichtraucher (n=30)	Raucher (n=20)
Geschlecht	weibl.	weibl.	männl.	weibl.:männl. = 1:1	
Alter (Jahre)	32,9	29,5	29,2	30,1 ± 3,2 (25 – 36)	31,0 ± 4,1 (25 – 36)
Gewicht (kg)	65	57	85	66,2 ± 10,0 (48 – 85)	64,1 ± 8,8 (51 – 80)
Größe (m)	1,68	1,60	1,86	1,75 ± 0,09 (1,58 – 1,95)	1,72 ± 0,08 (1,56 – 1,86)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,0	22,3	24,6	21,5 ± 2,0 (18,4 – 25,9)	21,7 ± 2,3 (18,0 – 25,1)
Zigaretten pro Tag	0	0	0	0	28,1 ± 8,5 (20 – 50)

\* im Oktober 2000

\*\* Daten als: Mittelwert ± Standardabweichung (Minimum – Maximum)

## 4. Untersuchungsmethoden

### 4.1. Immunsystem

Für die immunologischen Untersuchungen wurden morgens in nüchternem Zustand Heparin-Blut (27 ml), EDTA-Blut (3 ml) und Vollblut zur Serum-Gewinnung (5 ml) abgenommen und innerhalb von 3,5 Stunden zur weiteren Verarbeitung ins Labor gebracht. Weitgehend dem im Antrag beschriebenen Programm gemäß wurden die folgenden Untersuchungen durchgeführt:

- Blutbild (automatischer Counter mit Differenzierung der Leukozyten-Populationen: Cell dyn 3500, Abbott)

- Lymphozyten-Subpopulationen: u.a. T-Zellen (CD3, CD4, CD8, memory/naive Zellen, Aktivierungsmarker, Adhäsionsmoleküle), B-Zellen, Nk-Zellen und andere zytotoxische Zellen, aus je 25µl EDTA-Vollblut, 3-Fluoreszenzfarben-Technik mit monoklonalen Antikörpern (Becton Dickinson), nach Färbung (15 Minuten) Erythrozyten-Lyse (Ortho) und Waschen der Leukozyten, Messung mit Zell-Analyser (FACS, Becton Dickinson). Im einzelnen wurden neben 5 Kombinationen zur Kontrolle und Geräteeinstellung folgende 17 Kombinationen mit den Fluoreszenzfarben Percp, PE bzw. FITC verwendet: CD3/TCR $\gamma\delta$ /TCR $\alpha\beta$ , CD3/CD56/CD16, CD4/CD25/CD8, CD4/CD26/CD8, CD4/CD8/CD3, CD4/CD8/CD62L, CD4/CD8/HLA-DR, CD4/CD49d/CD29, CD4/CD45R0/CD29, CD4/CD45R0/CD11a, CD4/CD45R0/CD45RA, CD8/CD45R0/CD45RA, CD8/CD56/CD11a, CD8/CD56/CD3, CD8/CD49d/CD29, CD19/CD21/CD23, CD19/CD8/CD3.

- Lymphozyten-Proliferation:  $^3\text{H}$ -Thymidin-Einbau, Stimulation von Heparin-Vollblut oder Ficoll-separierten Zellen (PBMCs, gewonnen durch Dichte-Gradienten-Zentrifugation mit Lymphoprep) mit rekombinantem humanen Interleukin-2 (IL-2), Mitogenen (Phytohämagglutinin, PHA; Poke Weed Mitogen, PWM) und Antigenen (Tetanus- und Diphtherie-Toxoid, Candida und Staphylokokken-Enterotoxin B, SEB) in verschiedenen Konzentrationen (siehe Tabelle im Ergebnis-Teil, jeweils Triplets), mit AIM V (Gibco) als Kulturmedium in 96-Well-Rundbodenplatten (Vollblut: 12,5 µl pro Well; PBMCs: 200.000 Zellen pro well). Nach Kultur unter Standardbedingungen (37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 100% Luftfeuchtigkeit) für 3 Tage (IL-2, Mitogene) und 5 Tage (Antigene)  $^3\text{H}$ -Thymidin-Puls (1 µCi pro Well, Amersham, 5 Ci/mmol) für 6 Stunden und anschließendes Einfrieren. Ernten am nächsten Tag durch Überführen der Zellen auf Filterplättchen mit Szintillationsgel, Messung im  $\beta$ -Counter (Wallac) und Auswertung als "counts per minute" (cpm, für Mittelwert des Triplets) und als Stimulations-Index (SI, Verhältnis aus cpm-Wert und jeweils mitgeführter Medium-Kontrolle).

- Zytokin-Sekretion (Interferon  $\gamma$  und IL-5 in Zellkultur-Überständen nach 1 und 3 Tagen) nach Stimulation von PBMCs ( $3 \times 10^6$  Zellen in 1 ml Kulturmedium) mit Mitogen (PHA, 10 µg/ml). Nach 1 und 3 Tagen Abnahme von Aliquots des Kultur-Überstandes und Einfrieren bei -80°C, Konzentrations-Bestimmungen der Zytokine am Ende der Untersuchungsphase mit ELISA-Technik (Pharmingen).

- intrazelluläre Zytokin-Produktion (Interferon  $\gamma$ , IL-2 und IL-4) nach 6-stündiger Mitogen-Stimulation (PDB, Ionomycin) von Vollblut und anschließender intrazellulärer Färbung der Zytokine mit Fluoreszenz-markierten Antikörpern (Becton Dickinson) nach Permeabilisierung (Saponin) sowie Oberflächenfärbung (CD3, CD8); Messung mit Zell-Analyser (FACS, Becton Dickinson).

- Granulozyten-Funktion (Chemilumineszenz): nach Dichte-Gradienten-Separation aus Heparin-Blut (mit Percoll) Stimulation mit opsoniertem Zymosan (Bakterienwand-Bestandteile) bei 37°C, Messung der Reaktion im Luminometer (Lumionoskan RS 1.2-0) für 30 Minuten, Ergebnisse als maximal erreichte Lumineszenz-Einheiten und Zeit bis zum Erreichen dieses Maximums.

- aus eingefrorenem Serum am Ende der Untersuchungsphase: Immunglobuline IgA, IgM, IgG (Routine-Methode, nur bei den Wienern), IgG-Subklassen (The Binding Site, Heidelberg, nur bei den Wienern), IgE (Elisa-Technik, Firma Pharmacia) sowie Impf-Antikörper gegen Tetanus (Elisa-Kit, Firma The Binding Site) und Diphtherie (freundlicherweise von Prof. Bartmann, Kinderklinik Bonn, bestimmt).

Zusätzlich wurde die Reaktion (Lymphozyten-Proliferation, Antikörperbildung) 4 bis 6 Wochen nach Diphtherie-Impfung bei 14 Personen des Kontrollkollektivs untersucht, bei denen die diese Impfung bei der Erstuntersuchung länger als 10 Jahre nicht aufgefrischt worden war und die mit der Auffrischung sowie der erforderlichen zweiten Blutentnahme einverstanden waren. Verwendet wurde die gleiche Charge von Diphtherie-Adsorbat-Impfstoff Behring für Erwachsene (0,5 ml mit mindestens 2 I.E. Diphtherie-Toxoid). Bei den Personen 1 und 2 aus Wien, bei denen ebenfalls länger als 10 Jahre keine Auffrischung durchgeführt worden war, wurde die Diphtherie-Impfung im September 2000 vier Wochen vor der Blutentnahme durchgeführt (Person 1 unter 2 oder 4 mg Methylprednisolon täglich alternierend).

## **4.2. Cytochrom P450-Aktivität der Leber (CYP1A2)**

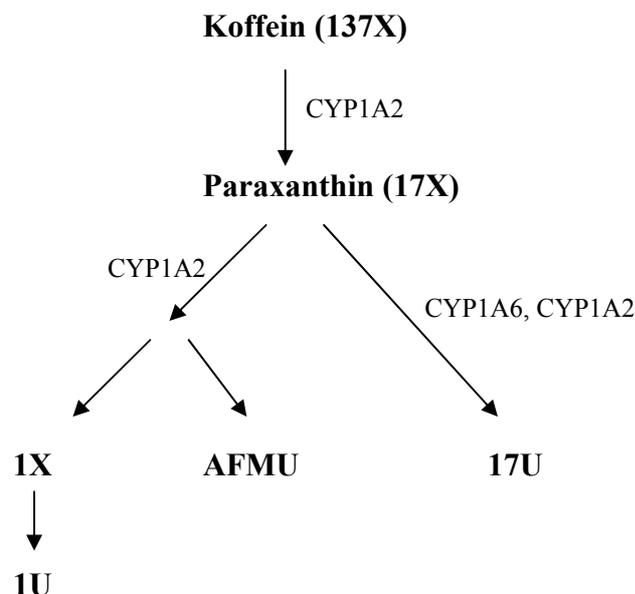
Zur Messung der Cytochrom P450-Induktion in der Leber wurde der Metabolismus von Koffein mit verschiedenen Methoden untersucht. Die Probanden sollten möglichst am Vortag der Untersuchung keine Koffein-haltigen Getränke oder Snacks zu sich genommen haben (denjenigen, die auf ihre morgendliche Tasse Kaffee nicht verzichten konnten, wurde dies noch am Vortag der Untersuchung erlaubt). Koffein wurde als  $^{13}\text{C}$ -markierte Substanz oral appliziert (3-N-methyl- $^{13}\text{C}$ -Koffein, bezogen von Cambridge Isotope Laboratories, aufgelöst in 20 ml Wasser, Dosis von 3 mg/kg Körpergewicht, in nüchternem Zustand). Für den Atemtest wurden in den folgenden 4 Stunden Ausatemproben gesammelt (in den ersten 2 Stunden alle 15 Minuten, danach alle 30 Minuten, jeweils Duplikat-Proben). Die Testpersonen verweilten während der gesamten Untersuchung in einer sitzenden Position und nahmen nach 2 Stunden ein leichtes Frühstück ein (Wasser, Brötchen). Die  $^{13}\text{C}$ -CO<sub>2</sub>-Gehalte in den Ausatemproben wurden mittels Gas-Isotopen-Verhältnis-Massenspektrometrie gemessen (BreathMAT™, Finnigan, Bremen). Die gegen eine Standard-Gas ermittelten Ergebnisse wurden als delta-delta-Werte berechnet (Promille Differenz zu den vor der Koffein-Gabe ermittelten  $^{13}\text{CO}_2$ -Konzentrationen) sowie als kumulative  $^{13}\text{C}$ -Exhalation über die Zeit (Prozentsatz der applizierten Gesamt  $^{13}\text{C}$ -

Dosis, genauere Beschreibung des Berechnungsverfahrens siehe ROST et al., 1992). Insbesondere die kumulative 120-Minuten Prozent-Dosis wird häufig als Indikator der CYP1A2-abhängigen Koffein-Demethylierung benutzt.

Parallel dazu wurde unmittelbar vor der Koffein-Gabe sowie 30, 120 und 240 Minuten danach Vollblut (5 ml) zur Serumgewinnung entnommen. Aus diesen Proben wurde die Konzentration von Koffein (1,3,7-Trimethylxanthin, 137X) und die des Hauptmetaboliten Paraxanthin (17X) bestimmt (HPLC-Verfahren, modifiziert nach GRANT et al., 1984). Aus diesen Parametern wurden Ratios von Koffein und Paraxanthin bestimmt sowie die Koffein-Gesamt-Clearance ermittelt (Dosis/AUC, unter Benutzung der linearen Trapez-Formel und Extrapolation bis unendlich mit Hilfe des Programms WinNonlin Version 1.5).

Zudem wurde in den ersten 3 Stunden nach Koffein-Gabe Urin quantitativ gesammelt und sofort eingefroren bei  $-80^{\circ}\text{C}$  zur Bestimmung der Konzentration von Koffein und folgender Koffein-Metaboliten (die wichtigsten Metabolisierungswege von Koffein sind in Abbildung 2 beschrieben): 5-Acetylamino-6-Formylamino-3-Methyluracil (AFMU), 1-Methylxanthin (1X), 1-Methylharnsäure (1U, 1-methyluric acid) und 1,7-Dimethylharnsäure (17U, 1,7-dimethyluric acid). Die Messungen erfolgen ebenfalls nach einem modifizierten HPLC-Verfahren, das initial von GRANT et al. (1984) beschrieben wurde. Auf molarer Basis wurden aus den Werten verschiedene Quotienten (siehe Ergebnisteil) ermittelt, die ebenfalls die CYP1A2-Aktivität der Leber widerspiegeln sollen.

**Abbildung 2** Haupt-Metabolisierungswege von Koffein



Bei den TCDD-exponierten Personen aus Wien wurde parallel mit der im Oktober 2000 durchgeführten Untersuchung nach üblichen Verfahren (PÄPKE et al., 1989; PÄPKE 1997) erneut die TCDD-Konzentration im Serum bestimmt (wie zuvor bei der ERGO-Forschungsgesellschaft, Hamburg).

Die Ergebnisse wurden auf statistische Signifikanz ( $p < 0,05$ ) überprüft bei Vergleich von Untergruppen innerhalb des Kontroll-Kollektivs (Mann-Whitney Test). Korrelations-Analysen wurden mit Hilfe des Spearman-Korrelations-Tests vorgenommen.

# 5. Ergebnisse

## 5.1. Immunsystem

Die Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen sind in Tabelle 2 dargestellt als statistische Ergebnisse der Kontrollgruppe (n=50; Minimum, 5. Perzentile, Mittelwert, Median, 95. Perzentile und Maximum). Soweit mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ , 3. Spalte) zwischen Nichtrauchern (NR, n=30) und Rauchern (R, n=20) ermittelt wurden, sind zusätzlich die statistischen Ergebnisse für diese beiden Gruppen angegeben. Einzelergebnisse der TCDD-exponierten Personen 1, 2 und 3 sind in den letzten Spalten dargestellt und hervorgehoben, wenn sie unterhalb der 5. oder oberhalb der 95. Perzentile lagen (falls zwischen Nichtrauchern und Rauchern ein signifikanter Unterschied bestand, wurde der Bereich der Nichtraucher als Referenz herangezogen).

Dargestellt sind insgesamt 164 Parameter, die jedoch von ihrer Bedeutung her nicht gleichgewichtig und nicht alle voneinander unabhängig sind (allein 80 Parameter betreffen die Lymphozyten-Proliferation, und hier bis zu 12 Parameter eine bestimmte Funktion durch die verschiedenen Konzentrationen, Vollblut- bzw. PBMC-Messung und Auswertung als cpm bzw. Stimations-Index). Unter der Annahme, daß die Kontrollpersonen alle immun-gesund waren und die gemessenen Werte der natürlichen Verteilung entsprechen, hat somit jede Person eine Wahrscheinlichkeit von 10%, bei einem bestimmten Parameter außerhalb des Bereichs zwischen der 5. und der 95. Perzentile ("Normalbereich") zu liegen. Von der Zufallserwartung her sollten daher bei jeder untersuchten Person durchschnittlich 16 Parameter auffällig hoch oder niedrig liegen. Tatsächlich lagen bei Person 1, 2 und 3 insgesamt 32, 23 bzw. 17 Parameter außerhalb dieses Bereichs. Es betrafen bei Person 1 allein 10 auffällig hohe Werte die Lymphozyten-Proliferation nach Stimulation mit PHA und PWM, bei Person 2 allein 7 auffällige Werte eine hohe Medium-Kontrolle bei der PBMC-Proliferation nach 3 Tagen mit resultierenden niedrigen Stimations-Indizes (vermutlich Artefakt), und bei Person 3 allein 7 auffällig hohe Werte die Lymphozyten-Proliferation nach Stimulation mit Tetanus.

Bei Person 1, 2 und 3 lagen insgesamt 9, 12 bzw. 7 Parameter außerhalb des von der Kontrollgruppe gebildeten Werte-Bereichs zwischen Minimum und Maximum (bei Person 2 betrafen davon allein 7 Extremwerte die erwähnte hohe Medium-Kontrolle mit daraus resultierenden niedrigen Stimations-Indizes). Bei den ausgewerteten 164 Parametern mit 328 Extremwerten (Minimum oder Maximum) wird statistisch 1/50 dieser Extremwerte zufallsbedingt auf eine Einzelperson der Kontrollgruppe entfallen. Wird eine der 3 TCDD-exponierten Personen als vermutet immun-gesund als 51. Person der Kontrollgruppe hinzugefügt, besteht für sie somit eine zufallsbedingte Wahrscheinlichkeit von 1/51 für ihren Beitrag zu den 328 Extremwerten (= 6,4 mal erwartet).

Unter dem Aspekt, daß Immunparameter durch die TCDD-Exposition bei Person 1, 2 und 3 beeinflußt waren und zu einem bestimmten Muster geführt haben könnten, fanden sich bei 7 Parametern gleichsinnige Veränderungen bei zwei der 3 Personen (jedoch nur bei 3 Parametern

die beiden hoch TCDD-exponierten Personen 1 und 2 betreffend: hohe Lymphozyten-Zahl, hohe PBMC-Proliferation nach PWM-Stimulation und niedriger Anteil von CD29<sup>high</sup>CD49d<sup>-</sup> bei den CD8-Zellen) und bei einem Parameter gleichsinnige Veränderungen bei allen 3 Personen (Vollblut-Proliferation nach Candida-Stimulation in der höchsten Konzentration); unter Vernachlässigung verschiedener Konzentrationen gilt dies auch für die PHA- und PWM-Stimulation von PBMCs.

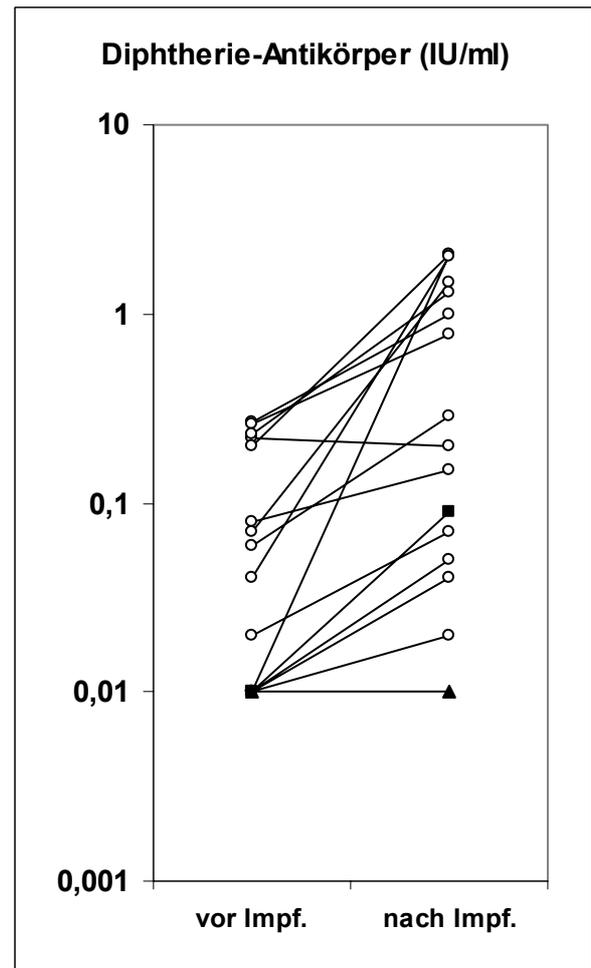
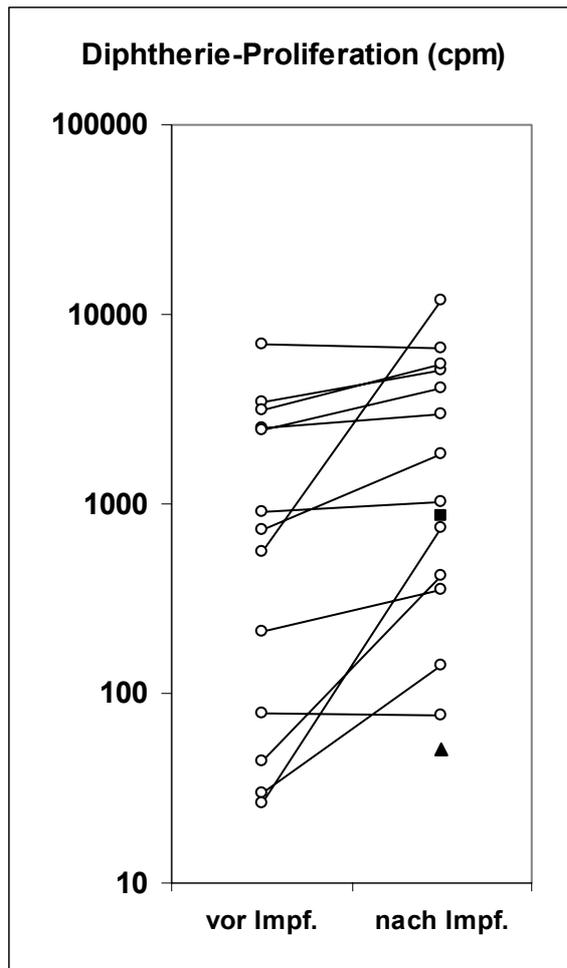
Von den insgesamt 72 bei den TCDD-Exponierten außerhalb des "Normbereichs" liegenden Werten betrafen 40 die Lymphozyten-Proliferation. Für die Mitogen-Stimulation fanden sich hohe cpm-Werte bei Person 1 und weniger ausgeprägt auch bei Person 2. Wie erwähnt zeigte sich bei der Antigen-Stimulation bei Person 3 eine hohe Tetanus-Proliferation (letzte Auffrisch-Impfung 1995) und weniger stark auch bei Person 2 (letzte Auffrisch-Impfung 1991), und reagierten alle 3 TCDD-exponierten Personen relativ stark auf Candida.

Wie beschrieben wurde bei den hoch TCDD-exponierten Personen 1 und 2 sowie bei 14 Personen des Kontroll-Kollektivs eine Diphtherie-Boosterimpfung durchgeführt. Die Ergebnisse der 4 bis 6 Wochen später gemessenen Impf-Reaktion (Lymphozyten-Proliferation, Antikörperbildung) sind in Abbildung 3 dargestellt (Person 1 und 2 konnten wegen des hierfür erforderlichen zusätzlichen Fluges nicht noch vor der Impfung untersucht werden; für die Antikörper-Bestimmung vor Impfung wurde eingefrorenes Serum der letzten Voruntersuchung vom März 2000 verwendet). Durchschnittlich wurden nach der Impfung 1,9 mal höhere Proliferations-Werte und 7,6 mal höhere Antikörper-Werte gemessen. Individuell zeigten sich dabei große Differenzen, die bei einzelnen auch gleich hohe oder leicht niedrigere Werte zeigten (im Vergleich zur vor der Impfung erfolgten Untersuchung). Nach der Impfung zeigte Person 1 den niedrigsten Proliferations-Wert von allen 16 Untersuchten, es konnte kein Anstieg des Antikörper-Spiegels gemessen werden. Bei Person 2 lag der Proliferations-Wert im mittleren Bereich, es zeigte sich ein deutlicher Anstieg des Antikörper-Wertes.

Die nur bei den TCDD-exponierten Personen aus Wien gemessenen Immunglobuline IgG, IgA und IgM sowie die IgG-Subklassen lagen innerhalb des an einem größeren Kollektiv ermittelten Normalbereichs.

Unerwartet häufig fanden sich Unterschiede zwischen den Gruppen der Nichtraucher und der starken Raucher: bei den 164 Parametern zeigten sich 34 signifikant ( $p < 0,05$ ; Zufallserwartung ca. 8) unterschiedlich, davon 4 mit  $p < 0,001$  und 12 mit  $p < 0,01$ . Bei diesen 16 hochsignifikanten Unterschieden zeigte sich bei den Rauchern eine höhere Zellzahl im peripheren Blut (Granulozyten, Lymphozyten, % Monozyten), eine geringere intrazelluläre Interferon- $\gamma$ -Produktion nach Mitogen-Stimulation, eine höhere Lymphozyten-Proliferation im Vollblut nach Candida-Stimulation, ein höherer T-Zell-Anteil bei den Lymphozyten mit höherer CD4/CD8-Ratio bedingt durch eine höhere CD4-Zellzahl, ein niedrigerer Anteil von CD45RO/CD45RA doppelt positiven Zellen bei den CD8-Zellen und ein geringerer Anteil einer Nk-Zell-Subpopulation (CD56<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>) bei den Lymphozyten.

**Abbildung 3** Impfreaktion 4 bis 6 Wochen nach Diphtherie-Auffrischimpfung bei Person 1 (schwarze Dreiecke) und Person 2 (schwarze Quadrate) sowie bei 14 Kontrollpersonen (leere Kreise), die alle mindestens 10 Jahre nicht geimpft wurden. Dargestellt ist links die Lymphozyten-Proliferation aus Vollblut (Mittelwerte der 3 verwendeten Konzentrationen; bei Person 1 und 2 liegen keine Ergebnisse von vor der Impfung vor) und rechts die im Serum gemessene spezifische Antikörper-Konzentration.



**Tabelle 2** Ergebnisse der immunologischen Parameter für die Kontrollgruppe (n=50, angegeben sind Minimum, 5. Perzentile, Mittelwert, Median, 95. Perzentile und Maximum) und die TCDD-exponierten Personen 1, 2 und 3. Statistische Unterschiede zwischen den Untergruppen der Nichtraucher (n=30) und der Raucher (n=20) wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests ermittelt, der p-Wert ist in der 3. Spalte angegeben. Im Fall eines signifikanten Unterschiedes (p<0,05) sind die Daten der Untergruppen zusätzlich angegeben (kursive Darstellung). Werte der Personen 1, 2 und 3 unterhalb der 5. oder oberhalb der 95. Perzentile sind grau unterlegt.

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3
<b>Weißes Blutbild</b>											
Leukozyten	/nl	<0,001	3,98	<b>4,01</b>	7,26	7,03	<b>11,93</b>	13,40	10,70	8,23	5,26
		<i>NR</i>	3,98	4,00	6,29	5,88	9,34	9,39			
		<i>R</i>	4,59	4,65	8,70	8,52	13,34	13,40			
Granulozyten	/nl	<0,01	1,80	<b>1,93</b>	4,13	3,77	<b>8,10</b>	8,84	6,07	4,07	2,37
		<i>NR</i>	1,80	1,84	3,44	3,19	6,19	6,29			
		<i>R</i>	2,17	2,17	5,18	4,94	8,80	8,84			
	% d. Leuko.	n.s.	34,0	<b>36,9</b>	55,5	55,8	<b>71,4</b>	73,5	56,7	49,5	45,1
Lymphozyten	/nl	<0,01	1,19	<b>1,29</b>	2,27	2,37	<b>3,55</b>	3,75	3,80	3,20	2,33
		<i>NR</i>	1,25	1,29	2,05	1,84	3,14	3,23			
		<i>R</i>	1,19	1,22	2,61	2,55	3,75	3,75			
	% d. Leuko.	n.s.	19,3	<b>19,7</b>	32,4	31,6	<b>50,2</b>	51,4	35,5	38,9	44,3
Monozyten	/nl	n.s.	0,22	<b>0,31</b>	0,53	0,49	<b>0,82</b>	0,90	0,71	0,71	0,38
		<0,001	3,0	<b>4,2</b>	7,6	7,7	<b>11,2</b>	13,7	6,6	8,6	7,1
		<i>NR</i>	3,8	4,3	8,4	8,6	13,0	13,7			
	% d. Leuko.	<i>R</i>	3,0	3,1	6,5	6,7	9,7	9,7			
Eosinophile	/nl	n.s.	0,00	<b>0,04</b>	0,24	0,19	<b>0,74</b>	1,10	0,10	0,16	0,10
	% d. Leuko.	n.s.	0,0	<b>0,6</b>	3,3	2,6	<b>9,1</b>	12,6	1,0	2,0	1,9

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3
Basophile	/nl	n.s.	0,04	<b>0,04</b>	0,08	0,07	<b>0,13</b>	0,15	0,05	0,09	0,08
	% d. Leuko.	<0,05	0,4	<b>0,6</b>	1,1	1,0	<b>1,7</b>	1,8	<b>0,5</b>	1,1	1,5
		NR	0,4	0,6	1,2	1,1	1,7	1,8			
		R	0,5	0,5	1,0	1,0	1,6	1,6			
Ratio: Gran./Lymph.		n.s.	0,66	<b>0,74</b>	1,91	1,74	<b>3,63</b>	3,81	1,60	1,27	1,02
<b>Chemilumineszenz</b>											
Maximum	Lum. Einheiten	<0,05	28,1	<b>28,3</b>	38,0	38,0	<b>52,6</b>	60,1	36,2	34,4	37,5
		NR	28,1	28,1	36,6	36,4	52,2	60,1			
		R	29,2	29,3	40,1	40,5	54,2	54,4			
Zeit bis Maximum	Sek.	n.s.	840	<b>857</b>	1072	1080	<b>1260</b>	1470	<b>1320</b>	1200	1170
<b>Zytokin-Sekretion PBMCs</b>											
IL-5 (Tag 1)	pg/ml	n.s.	5,0	<b>65</b>	243	223	<b>567</b>	659	<b>30</b>	124	<b>49</b>
IL-5 (Tag 3)	pg/ml	n.s.	7,2	<b>105</b>	414	374	<b>1140</b>	1360	<b>36</b>	308	161
γ-IFN (Tag 1)	pg/ml	n.s.	61	<b>86</b>	2099	1485	<b>8780</b>	11865	7794	4416	5640
γ-IFN (Tag 3)	pg/ml	n.s.	134	<b>498</b>	20767	12240	<b>76200</b>	91755	40200	49080	53430
<b>Intrazelluläre Zytokin-Produktion</b>											
<b>IL-2<sup>+</sup></b>											
bei CD3 <sup>+</sup> Zellen	%	n.s.	26,0	<b>32,1</b>	45,1	44,9	<b>59,2</b>	61,3	36,3	35,3	53,9
bei CD4 <sup>+</sup> Zellen	%	n.s.	40,8	<b>45,4</b>	57,4	57,9	<b>70,0</b>	71,6	49,6	46,1	64,8
bei CD8 <sup>+</sup> Zellen	%	n.s.	13,9	<b>15,0</b>	27,7	27,7	<b>45,0</b>	47,7	20,4	16,1	22,6
<b>IL-4<sup>+</sup></b>											
bei CD3 <sup>+</sup> Zellen	%	n.s.	0,9	<b>1,4</b>	3,6	3,3	<b>6,7</b>	7,5	<b>0,9</b>	5,9	4,9
bei CD4 <sup>+</sup> Zellen	%	<0,05	1,3	<b>2,0</b>	4,7	4,5	<b>8,7</b>	9,5	<b>1,3</b>	7,1	5,9
		NR	1,3	1,6	5,3	5,1	9,2	9,5			
		R	2,2	2,2	4,0	4,1	6,5	6,5			
bei CD8 <sup>+</sup> Zellen	%	n.s.	0,4	<b>0,6</b>	2,9	2,6	<b>6,1</b>	9,2	0,7	3,9	3,4

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3
Interferon- $\gamma^+$ bei CD3 <sup>+</sup> Zellen	%	<0,01	14,0	<b>15,7</b>	34,3	31,2	<b>57,4</b>	67,6	19,1	35,2	28,8
		NR	17,6	17,8	38,6	37,6	62,2	67,6			
		R	14,0	14,1	27,8	26,9	54,4	54,7			
bei CD4 <sup>+</sup> Zellen	%	<0,01	12,0	<b>13,9</b>	31,5	30,2	<b>55,5</b>	67,6	16,5	32,9	28,2
		NR	12,0	14,9	35,6	33,1	61,6	67,6			
		R	12,3	12,5	25,2	23,2	44,1	44,5			
bei CD8 <sup>+</sup> Zellen	%	<0,01	12,7	<b>19,1</b>	42,1	37,4	<b>67,6</b>	74,0	24,9	44,5	35,2
		NR	19,8	22,5	47,5	47,1	70,7	74,0			
		R	12,7	13,0	34,0	30,4	65,4	65,5			

### Lymphozyten-Proliferation

#### Medium-Kontrolle

Vollblut	3 Tage	cpm	n.s.	9	<b>10</b>	18	16	<b>35</b>	54	15	25	16
		cpm	<0,05	9	<b>9</b>	17	15	<b>30</b>	34	23	18	12
	5 Tage	cpm	NR	9	9	15	14	28	31			
		cpm	R	12	12	19	18	34	34			
PBMCs	3 Tage	cpm	n.s.	51	<b>110</b>	303	265	<b>612</b>	1180	195	<b>1851</b>	255
	5 Tage	cpm	n.s.	71	<b>103</b>	340	263	<b>804</b>	958	278	376	384

#### PHA

Vollblut	1 $\mu$ g/ml	cpm	n.s.	106	<b>707</b>	21919	20231	<b>44786</b>	59566	<b>46846<sup>1)</sup></b>	38775	17639
	3 $\mu$ g/ml	cpm	n.s.	45078	<b>54510</b>	72380	69299	<b>94848</b>	105594	<b>53597<sup>1)</sup></b>	74725	66440
	10 $\mu$ g/ml	cpm	n.s.	49110	<b>52725</b>	69287	71286	<b>87117</b>	90796	65880	<b>88958</b>	65788
SI	1 $\mu$ g/ml		n.s.	8	<b>42</b>	1351	1202	<b>3372</b>	3550	3123	1551	1138
	3 $\mu$ g/ml		n.s.	1027	<b>2007</b>	4614	4458	<b>7581</b>	8538	3573	2989	4286
	10 $\mu$ g/ml		n.s.	1087	<b>1981</b>	4464	4439	<b>7577</b>	8836	4392	3558	4244

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3	
PBMCs	1 µg/ml	cpm	n.s.	108	<b>1163</b>	41679	44155	<b>92704</b>	99574	93383	65946	27016
	3 µg/ml	cpm	n.s.	4139	<b>55741</b>	86589	89025	<b>108826</b>	112596	100289	115548	111446
	10 µg/ml	cpm	n.s.	54074	<b>59865</b>	85279	86346	<b>109415</b>	116475	89323	105785	105258
SI	1 µg/ml		n.s.	2	<b>6</b>	163	133	<b>604</b>	678	479	36 <sup>2)</sup>	106
	3 µg/ml		n.s.	64	<b>127</b>	357	309	<b>738</b>	833	514	62 <sup>2)</sup>	438
	10 µg/ml		n.s.	72	<b>149</b>	366	312	<b>821</b>	1060	458	57 <sup>2)</sup>	414
<b>PWM</b>												
Vollblut	0,5 µg/ml	cpm	n.s.	4082	<b>5483</b>	10679	10851	<b>19149</b>	19968	22796	15644	7647
	1,5 µg/ml	cpm	n.s.	6150	<b>6525</b>	13540	13128	<b>24827</b>	26787	36131	16203	10318
	5,0 µg/ml	cpm	n.s.	5463	<b>6084</b>	13177	12115	<b>24667</b>	26685	25338	17947	9292
SI	0,5 µg/ml		n.s.	121	<b>261</b>	676	639	<b>1222</b>	1632	1520	626	493
	1,5 µg/ml		n.s.	142	<b>298</b>	858	786	<b>1612</b>	1863	2409	648	666
	5,0 µg/ml		n.s.	160	<b>285</b>	830	745	<b>1673</b>	1929	1689	718	599
PBMCs	0,5 µg/ml	cpm	n.s.	6488	<b>11796</b>	29338	28911	<b>46459</b>	50422	46835	47886	44466
	1,5 µg/ml	cpm	n.s.	5325	<b>9032</b>	26637	25971	<b>42770</b>	60822	41883	35639	47885
	5,0 µg/ml	cpm	n.s.	4169	<b>7847</b>	24508	24234	<b>45511</b>	55878	32436	24452	44871
SI	0,5 µg/ml		<0,05	30	<b>33</b>	128	100	<b>374</b>	438	240	26 <sup>2)</sup>	175
		NR		30	30	111	86	374	388			
		R		65	65	153	119	429	438			
	1,5 µg/ml		<0,05	21	<b>27</b>	116	89	<b>289</b>	553	215	19 <sup>2)</sup>	188
		NR		21	23	97	85	289	303			
		R		54	54	145	108	537	553			
5,0 µg/ml		n.s.	19	<b>24</b>	107	84	<b>269</b>	508	166	13 <sup>2)</sup>	176	

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3	
<b>Interleukin 2</b>												
Vollblut	cpm	n.s.	836	<b>857</b>	2082	1557	<b>5512</b>	11659	1583	2648	1378	
SI		<0,05	49	<b>51</b>	122	98	<b>287</b>	431	106	106	89	
		NR	49	50	140	112	391	431				
		R	51	51	95	84	200	201				
PBMCs	cpm	n.s.	1410	<b>2329</b>	8018	7268	<b>18640</b>	23470	3174	13159	6445	
SI		n.s.	8	<b>10</b>	30	28	<b>54</b>	97	16	7 <sup>2)</sup>	25	
<b>Diphtherie</b>												
Vollblut	10 Lf/ml	cpm	n.s.	12	<b>13</b>	1311	640	<b>5593</b>	6742	46	101	1860
	20 Lf/ml	cpm	n.s.	12	<b>18</b>	1872	815	<b>6342</b>	9399	31	699	3104
	40 Lf/ml	cpm	n.s.	21	<b>25</b>	1933	1133	<b>8917</b>	10450	74	1764	6024
SI	10 Lf/ml		n.s.	1	<b>1</b>	82	38	<b>418</b>	605	2	6	162
	20 Lf/ml		n.s.	1	<b>1</b>	113	63	<b>397</b>	700	1	39	270
	40 Lf/ml		n.s.	2	<b>2</b>	121	69	<b>423</b>	821	3	98	<b>524</b>
PBMCs	10 Lf/ml	cpm	n.s.	695	<b>854</b>	9095	5011	<b>34031</b>	45198	4827	3176	16768
	20 Lf/ml	cpm	n.s.	751	<b>1149</b>	11000	7228	<b>42960</b>	48862	7630	5954	15858
	40 Lf/ml	cpm	n.s.	1589	<b>2259</b>	12914	8968	<b>44585</b>	56252	6752	12855	18611
SI	10 Lf/ml		n.s.	1	<b>5</b>	31	18	<b>122</b>	128	17	8	44
	20 Lf/ml		n.s.	3	<b>5</b>	39	23	<b>139</b>	171	27	16	41
	40 Lf/ml		n.s.	7	<b>7</b>	48	28	<b>160</b>	233	24	34	49
<b>Tetanus</b>												
Vollblut	10 Lf/ml	cpm	n.s.	33	<b>65</b>	3701	1711	<b>13928</b>	16640	1535	1800	<b>18602</b>
	20 Lf/ml	cpm	n.s.	26	<b>85</b>	5399	3435	<b>17160</b>	26119	1819	4975	15178
	40 Lf/ml	cpm	n.s.	81	<b>334</b>	8238	7252	<b>19777</b>	24955	5329	14411	<b>22371</b>
SI	10 Lf/ml		n.s.	3	<b>4</b>	218	113	<b>813</b>	1009	67	100	<b>1618</b>
	20 Lf/ml		n.s.	1	<b>7</b>	327	229	<b>1141</b>	1598	79	276	<b>1320</b>
	40 Lf/ml		n.s.	6	<b>20</b>	498	517	<b>1278</b>	1830	232	801	<b>1945</b>

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3	
PBMCs	10 Lf/ml	cpm	n.s.	1822	<b>3251</b>	17056	14653	<b>38990</b>	49977	7322	<b>44123</b>	<b>39318</b>
	20 Lf/ml	cpm	n.s.	3612	<b>4882</b>	21038	19214	<b>44976</b>	51968	12834	44952	<b>51971</b>
	40 Lf/ml	cpm	n.s.	3270	<b>6184</b>	24993	22692	<b>52145</b>	59859	15565	36524	47638
SI	10 Lf/ml		n.s.	7	<b>10</b>	62	56	<b>159</b>	188	26	118	103
	20 Lf/ml		n.s.	15	<b>18</b>	77	65	<b>195</b>	223	46	120	136
	40 Lf/ml		n.s.	18	<b>25</b>	93	84	<b>228</b>	240	56	97	124
<b>Candida</b>												
Vollblut	0,05U/ml	cpm	<0,05	10	<b>22</b>	1729	666	<b>6618</b>	11513	<b>9187</b>	2794	3787
			NR	10	17	1120	505	3929	4126			
			R	21	27	2644	1377	11280	11513			
	0,15 U/ml	cpm	<0,01	12	<b>631</b>	5805	4663	<b>15399</b>	19321	8867	<b>16614</b>	8603
			NR	12	308	4222	3297	13596	14296			
			R	1019	1033	8179	8437	19192	19321			
	0,5 U/ml	cpm	<0,05	207	<b>786</b>	3800	2881	<b>8628</b>	20300	<b>9698</b>	<b>15985</b>	<b>10663</b>
			NR	207	325	2871	2623	6638	7175			
			R	1319	1341	5194	4266	19805	20300			
SI	0,05 U/ml		n.s.	1	<b>2</b>	106	43	<b>362</b>	886	<b>399</b>	155	329
	0,15 U/ml		<0,05	1	<b>46</b>	355	279	<b>966</b>	1288	386	923	748
		NR	1	31	274	237	758	789				
	0,5 U/ml		R	38	39	475	411	1279	1288			
		n.s.	17	<b>56</b>	231	207	<b>612</b>	905	422	<b>888</b>	<b>927</b>	
PBMCs	0,05 U/ml	cpm	n.s.	451	<b>965</b>	7062	5806	<b>15724</b>	26578	13459	12877	9134
	0,15 U/ml	cpm	n.s.	11	<b>24</b>	3822	2717	<b>11632</b>	38818	4859	5611	2545
	0,5 U/ml	cpm	n.s.	13	<b>16</b>	49	27	<b>181</b>	400	47	19	26
SI	0,05 U/ml		n.s.	4	<b>5</b>	25	22	<b>65</b>	71	48	34	24
	0,15 U/ml		n.s.	0	<b>0</b>	13	7	<b>55</b>	80	17	15	7
	0,5 U/ml		n.s.	0	<b>0</b>	0	0	<b>1</b>	4	0	0	0

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3	
<b>Staphylococcus Enterotoxin B</b>												
Vollblut	12 ng/ml	cpm	n.s.	18543	<b>35832</b>	67984	70686	<b>97269</b>	112520	69203	80257	62619
	36 ng/ml	cpm	n.s.	24498	<b>38655</b>	72376	74195	<b>96202</b>	106032	71125	74975	81147
SI	120 ng/ml	cpm	n.s.	22635	<b>37951</b>	77150	79908	<b>103022</b>	105150	74042	78832	77626
	12 ng/ml		n.s.	1854	<b>2092</b>	4468	4115	<b>8247</b>	11252	3009	4459	5445
	36 ng/ml		n.s.	2021	<b>2229</b>	4815	4362	<b>9147</b>	10603	3092	4165	7056
	120 ng/ml		<0,05	2204	<b>2246</b>	5126	4443	<b>9838</b>	10515	3219	4380	6750
			NR	2264	2444	5608	4764	10236	10515			
			R	2204	2205	4402	3983	7977	8035			
PBMCs	12 ng/ml	cpm	n.s.	28210	<b>32843</b>	52142	51437	<b>71555</b>	80234	62008	48879	53625
	36 ng/ml	cpm	n.s.	26477	<b>32699</b>	53642	53023	<b>78838</b>	83303	63669	58740	55341
	120 ng/ml	cpm	n.s.	31372	<b>35849</b>	56959	56006	<b>83471</b>	88753	62527	56766	57187
SI	12 ng/ml		n.s.	48	<b>53</b>	225	211	<b>579</b>	708	223	130	140
	36 ng/ml		n.s.	49	<b>57</b>	227	221	<b>541</b>	742	229	156	144
	120 ng/ml		n.s.	51	<b>61</b>	240	234	<b>630</b>	724	225	151	149
<b>Lymphozyten-Subpopulationen</b>												
<b>T-Zellen</b>												
CD3 <sup>+</sup>	% d. Lymph. /nl	n.s.	48,5	<b>59,5</b>	72,0	71,8	<b>83,4</b>	83,9	<b>83,6</b>	65,0	65,6	
		<0,01	0,83	<b>0,87</b>	1,64	1,59	<b>2,66</b>	2,80	<b>3,18</b>	2,08	1,53	
		NR	0,83	0,85	1,46	1,32	2,42	2,53				
		R	0,95	0,97	1,90	1,86	2,80	2,80				
γd <sup>+</sup>	% d. CD3 <sup>+</sup> Zell.	<0,05	1,1	<b>1,4</b>	6,0	5,0	<b>14,9</b>	18,9	2,5	9,7	3,2	
		NR	2,0	2,3	6,9	6,3	16,5	18,9				
		R	1,1	1,1	4,7	3,1	15,1	15,3				

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3
CD4 <sup>+</sup>	% d. CD3 <sup>+</sup> Zell.	<0,01	40,6	<b>44,0</b>	57,9	58,0	<b>70,3</b>	72,3	54,4	61,4	<b>72,8</b>
		NR	40,6	42,0	55,3	55,3	67,8	69,3			
		R	49,1	49,3	61,7	64,2	72,3	72,3			
CD8 <sup>+</sup>	% d. CD3 <sup>+</sup> Zell.	<0,01	22,9	<b>24,9</b>	35,5	34,8	<b>48,9</b>	53,6	42,3	28,2	<b>23,1</b>
		NR	22,9	24,4	37,4	36,6	51,1	53,6			
		R	24,0	24,1	32,6	31,3	44,7	44,9			
Ratio: CD4/CD8		<0,01	0,8	<b>0,9</b>	1,7	1,6	<b>2,8</b>	3,0	1,3	2,2	<b>3,2</b>
		NR	0,8	0,8	1,6	1,5	2,8	3,0			
		R	1,1	1,1	2,0	2,0	3,0	3,0			
CD4 <sup>+</sup>	% d. Lymph.	<0,01	24,8	<b>31,5</b>	43,4	42,2	<b>56,0</b>	56,8	45,6	42,6	48,7
		NR	24,8	28,0	40,6	40,7	51,7	53,5			
		R	35,7	35,7	47,7	49,4	56,8	56,8			
	/nl	<0,001	0,47	<b>0,52</b>	0,99	0,96	<b>1,81</b>	1,97	<b>1,73</b>	1,36	1,13
		NR	0,47	0,49	0,83	0,80	1,41	1,43			
	R	0,63	0,64	1,23	1,22	1,96	1,97				
CD25 <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	<0,05	29,5	<b>35,0</b>	46,2	46,6	<b>62,2</b>	66,7	51,1	48,7	46,0
		NR	29,5	32,4	43,9	44,5	54,6	55,7			
		R	37,5	37,6	49,6	47,3	66,5	66,7			
HLADR <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	3,1	<b>3,2</b>	5,4	5,1	<b>9,7</b>	11,1	3,8	5,3	3,5
CD62L <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	61,9	<b>64,5</b>	81,8	83,2	<b>91,7</b>	93,7	77,7	70,7	83,5
CD26 <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	70,6	<b>77,4</b>	87,2	88,2	<b>91,8</b>	93,0	83,7	<b>76,4<sup>3)</sup></b>	<b>92,4<sup>3)</sup></b>
CD29 <sup>high</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	49,6	<b>50,4</b>	62,6	61,7	<b>75,6</b>	78,1	51,1	66,5	54,7
CD29 <sup>high</sup> CD49d <sup>-</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	4,6	<b>6,1</b>	10,6	9,6	<b>18,6</b>	22,6	<b>6,0</b>	10,0	12,3
CD29 <sup>high</sup> CD49d <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	41,1	<b>41,8</b>	53,0	53,4	<b>64,2</b>	69,5	45,5	57,7	43,6
CD29 <sup>low</sup> CD49d <sup>-</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	0,6	<b>0,8</b>	2,0	1,7	<b>4,2</b>	5,5	2,3	2,6	1,9
CD29 <sup>low</sup> CD49d <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	20,9	<b>22,4</b>	34,5	34,8	<b>46,8</b>	47,7	46,3	29,8	42,3

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3
CD29 <sup>high</sup> CD45RO <sup>-</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	11,1	<b>13,6</b>	22,5	22,5	<b>30,8</b>	38,2	17,0	20,8	18,3
CD29 <sup>high</sup> CD45RO <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	25,2	<b>25,9</b>	39,2	39,2	<b>55,2</b>	57,0	33,6	44,4	35,3
CD29 <sup>low</sup> CD45RO <sup>-</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	16,5	<b>18,5</b>	31,4	32,2	<b>44,3</b>	46,2	40,2	23,6	37,1
CD29 <sup>low</sup> CD45RO <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	2,7	<b>4,0</b>	7,0	7,1	<b>10,3</b>	11,0	9,2	<b>11,2</b>	9,3
CD11a <sup>high</sup> CD45RO <sup>-</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	2,6	<b>3,0</b>	6,7	6,3	<b>14,2</b>	14,5	4,1	<b>15,4</b>	4,9
CD11a <sup>high</sup> CD45RO <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	15,5	<b>17,7</b>	32,0	30,7	<b>47,8</b>	49,2	23,3	27,1	28,8
CD11a <sup>low</sup> CD45RO <sup>-</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	26,3	<b>27,6</b>	45,5	45,0	<b>61,9</b>	64,5	52,7	37,9	50,6
CD11a <sup>low</sup> CD45RO <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	<0,05	9,4	<b>9,8</b>	15,8	14,5	<b>23,4</b>	27,2	20,0	19,7	15,7
		NR	9,4	9,7	16,8	17,0	25,3	27,2			
		R	9,6	9,7	14,2	13,8	19,5	19,6			
CD11a <sup>high</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	19,7	<b>24,1</b>	38,7	37,6	<b>54,0</b>	54,5	27,4	42,5	33,7
CD45RO <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	27,8	<b>29,0</b>	45,6	45,9	<b>63,5</b>	66,6	43,1	51,9	40,6
CD45RO <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	7,4	<b>9,0</b>	15,3	14,6	<b>25,7</b>	33,1	9,7	22,2	20,9
CD45RO <sup>-</sup> CD45RA <sup>+</sup>	% d. CD4 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	18,4	<b>22,2</b>	39,1	39,4	<b>53,6</b>	56,0	47,1	25,8	38,6
<b>CD8<sup>+</sup></b>	% d. Lymph.	n.s.	22,3	<b>23,7</b>	33,1	32,2	<b>46,5</b>	49,0	39,6	25,4	24,5
	/nl	n.s.	0,35	<b>0,39</b>	0,75	0,73	<b>1,43</b>	1,49	<b>1,51</b>	0,81	0,57
CD25 <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	4,1	<b>4,4</b>	8,6	7,8	<b>14,8</b>	22,5	6,1	8,5	7,2
HLADR <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	4,1	<b>5,7</b>	12,3	10,5	<b>31,6</b>	34,5	9,5	11,9	10,3
CD62L <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	35,6	<b>37,1</b>	54,6	55,1	<b>72,5</b>	80,5	60,2	46,1	40,2
CD26 <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	30,7	<b>33,4</b>	54,9	56,4	<b>73,5</b>	79,9	65,1	46,3	46,5

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3
CD45RO <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	6,1	<b>8,8</b>	22,1	20,0	<b>40,6</b>	58,3	16,4	28,5	13,0
CD45RO <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	<0,001	7,8	<b>11,2</b>	17,0	15,9	<b>25,4</b>	32,3	11,6	20,5	18,1
		NR	12,7	12,8	18,9	16,9	29,2	32,3			
		R	7,8	7,8	14,3	13,8	n. berechnet	24,1			
CD45RO <sup>-</sup> CD45RA <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	<0,05	26,4	<b>42,1</b>	60,8	63,4	<b>76,3</b>	80,1	72,0	50,9	68,9
		NR	41,2	42,2	58,5	59,1	75,5	76,2			
		R	26,4	26,4	64,3	65,7	n. berechnet	80,1			
CD29 <sup>high</sup> CD49d <sup>-</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	2,9	<b>3,4</b>	6,7	6,3	<b>12,0</b>	15,6	1,5	<b>3,3</b>	5,7
CD29 <sup>high</sup> CD49d <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	40,0	<b>44,0</b>	56,5	57,1	<b>70,1</b>	73,9	41,0	58,7	52,6
CD29 <sup>low</sup> CD49d <sup>-</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	2,1	<b>3,0</b>	6,7	6,8	<b>10,9</b>	11,7	4,9	7,1	9,0
CD29 <sup>low</sup> CD49d <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	15,4	<b>17,5</b>	30,1	29,9	<b>44,2</b>	46,6	52,6	30,9	32,7
CD29 <sup>high</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	44,2	<b>49,0</b>	63,2	63,0	<b>75,5</b>	80,6	42,5	62,0	58,3
CD49 <sup>+</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	75,0	<b>78,4</b>	86,6	86,9	<b>93,8</b>	94,5	93,6	89,6	85,3
CD11a <sup>high</sup>	% d. CD8 <sup>+</sup> Zell.	<0,05	25,1	<b>32,2</b>	52,9	52,7	<b>74,7</b>	78,4	43,9	62,9	53,6
		NR	38,2	38,9	56,2	55,9	74,7	76,7			
		R	25,1	25,2	47,9	48,3	77,9	78,4			
<b>B-Zellen</b>											
CD19 <sup>+</sup>	% d. Lymph. /nl	n.s.	3,4	<b>4,8</b>	9,7	9,5	<b>16,9</b>	17,6	7,3	<b>24,3</b>	7,6
		<0,05	0,07	<b>0,09</b>	0,22	0,20	<b>0,42</b>	0,47	0,28	<b>0,78</b>	0,18
		NR	0,08	0,09	0,19	0,17	0,43	0,47			
		R	0,07	0,07	0,26	0,28	0,42	0,42			
CD23 <sup>+</sup>	% d. CD19 <sup>+</sup> Zell.	n.s.	10,0	<b>11,3</b>	30,1	27,8	<b>52,6</b>	64,9	32,8	27,5	48,5

Parameter	Einheit	p (R-NR)	Min.	5. Perz.	Mittelwert	Median	95. Perz.	Max.	Person 1	Person 2	Person 3
<b>Nk-Zellen</b>											
CD56/CD16 <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup>	% d. Lymph. /nl	n.s. n.s.	3,5 0,06	<b>4,0</b> <b>0,10</b>	13,0 0,30	12,2 0,27	<b>23,6</b> <b>0,73</b>	35,8 0,98	7,5 0,28	5,9 0,19	22,4 0,52
CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> CD3 <sup>-</sup>	% d. Lymph.	<0,01 <i>NR</i> <i>R</i>	0,4 0,7 0,4	<b>0,5</b> 0,8 0,4	1,2 1,3 1,1	1,0 1,2 0,9	<b>2,1</b> 2,0 3,0	3,1 2,1 3,1	0,5	<b>0,4</b>	1,3
CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup>	% d. Lymph.	n.s.	2,6	<b>2,6</b>	10,8	10,5	<b>20,9</b>	30,5	6,8	5,2	18,8
CD56 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup>	% d. Lymph.	n.s.	0,2	<b>0,2</b>	1,0	0,7	<b>3,4</b>	3,6	0,2	0,3	2,2
CD8 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup>	% d. Lymph.	n.s.	0,7	<b>1,1</b>	5,1	4,4	<b>11,1</b>	14,0	1,4	2,5	6,2
<b>IgE</b>	IU/ml	<0,05 <i>NR</i> <i>R</i>	2,25 2,25 4,43	<b>3,22</b> 2,28 5,10	137,0 89,0 208,8	51,6 35,1 54,9	<b>776</b> 491 1006	1017 589 1017	3,97	5,02	14,4
<b>Spezifische Antikörper</b>											
Tetanus (IgG)	IU/ml	n.s.	20	<b>48</b>	513	362	<b>1905</b>	3439	<b>43</b>	169	549
Diphtherie	IU/ml	n.s.	0,01	<b>0,01</b>	0,25	0,20	<b>0,92</b>	1,22	0,01	0,01 <sup>4)</sup>	0,06

### Anmerkungen:

<sup>1)</sup> hohe Proliferation bereits bei der niedrigsten Konzentration kann bei höheren Konzentrationen durch Überstimulation zu niedrigeren oder nur leicht höheren cpm-Werten führen (insbesondere durch zu hohen Verbrauch von Nährstoffen)

<sup>2)</sup> niedrige Werte bedingt durch ungewöhnliche hohe Werte bei der Medium-Kontrolle

<sup>3)</sup> cave: gegensinnige Veränderungen!

<sup>4)</sup> nach Booster: 0,09 IU/ml

## 5.2. Cytochrom P450-Aktivität der Leber (CYP1A2)

Die Cytochrom P450 1A2-Aktivität (CYP1A2) wurde indirekt als Koffein-Demethylierung gemessen, für die die folgenden 10 Parameter ausgewertet wurden: kumulative 15, 120 und 240 Minuten % Dosis im Atemtest (AT15, AT120, AT240), Serum Metaboliten Ratio (Paraxanthin/Koffein) nach 30, 120 und 240 Minuten (SMR30, SMR120, SMR240), Gesamt-Clearance (CL) und Urin-Metaboliten-Ratios (AFMU+1U+1X)/17U (UMR1), (17X+17U)/137X (UMR2) und 17X/137X (UMR3). Die Korrelation dieser Parameter untereinander ist in Tabelle 3 dargestellt (Spearman Rang-Korrelationsanalyse). Wie erwartet, waren die Korrelationen überwiegend hoch positiv. Lediglich die von UMR1 mit UMR2 und UMR3 war nicht signifikant. Bei Vergleich der verschiedenen Testprinzipien (AT, SMR, CL und UMR) fanden sich die höchsten Korrelations-Koeffizienten für AT15 und CL, die niedrigsten für SMR240 und UMR1.

Die Werte für die Gruppe der Nichtraucher (n=30) und der Raucher (n=20) sind in Tabelle 4 dargestellt für die 10 ausgewerteten Parameter, zusammen mit den Werten für die TCDD-exponierten Personen 1, 2 und 3 (Einzelwerte für die zwei bis vier durchgeführten Messungen). Die Ergebnisse sind zusätzlich graphisch in Abbildung 4 a-i dargestellt (für die Kontrollgruppe in Abhängigkeit von der Anzahl der gerauchten Zigaretten).

Die Untersuchungsergebnisse bestätigten die bekannte Induktion der CYP1A2-Aktivität durch Zigaretten-Rauchen (Abbildung 4 a-i). Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, zeigte sich die höchsten Differenzen in den Mittelwerten von Nichtrauchern und Rauchern bei AT15 (Faktor 1,82) und UMR1 (Faktor 1,79), die niedrigsten für UMR2 (Faktor 1,46) und UMR3 (Faktor 1,42). Alle Differenzen waren statistisch hochsignifikant ( $p < 0,001$ , Mann-Whitney-Test), bis auf die beiden letztgenannten Parameter mit deutlich geringerer Signifikanz ( $p < 0,05$ ). In Tabelle 3 ist zusätzlich die Korrelation der verschiedenen gemessenen Parameter mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten angegeben: Spearman Rang-Korrelations-Koeffizienten lagen zwischen 0,53 (SMR30) und 0,69 (CL) ( $p < 0,0001$ ), bis auf die Werte für UMR2 und UMR3 mit niedrigeren Werten (jeweils 0,34;  $p < 0,05$ ). Innerhalb der Untergruppe der Raucher fanden sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Benutzung von Filtern (bei den meisten Parametern fanden sich höhere Mittelwerte bei den Rauchern ohne Filter, der mit einem höheren Zigarettenkonsum assoziiert war: 32,8 pro Tag durchschnittlich gegenüber 23,5 pro Tag bei Filterbenutzern).

Ein Vergleich von Frauen und Männern innerhalb der Kontrollgruppe (jeweils n=25) zeigte signifikant höhere Mittelwerte bei den Männern nur bei den Atemtest-Ergebnissen (AT15, AT120 und AT240) und UMR2 ( $p < 0,05$ ), die mit einem höheren Zigarettenkonsum bei den männlichen Rauchern assoziiert waren (27,5 pro Tag) im Vergleich zu den Raucherinnen (22,5 pro Tag). Die Beschränkung der Auswertung auf die Nichtraucher/innen (jeweils n=15) zeigte sogar höhere Signifikanzen bei den Geschlechtsunterschieden für die erwähnten vier Parameter ( $p < 0,01$ ), während bei den übrigen sechs Parametern weiterhin keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten.

Bei den hoch TCDD-exponierten Personen 1 und 2 zeigten acht der zehn gemessenen Parameter eine starke Induktion der CYP1A2-Aktivität, während die Ergebnisse von UMR2 und UMR3 nicht außerhalb des Streubereichs von Nichtrauchern und Rauchern lagen (Abbildung 4 a-j, Tabelle 4). Bei den Ergebnissen des Atemtests waren die Mittelwerte von Person 1 (vier Messungen zwischen Dezember 1998 und Oktober 2000) 7,9-(AT15), 7,0-(AT30), 5,7-(AT60), 4,4-(AT120) und 3,0-fach (AT240) höher als die Mittelwerte von Nichtrauchern. Die entsprechenden Werte von Person 2 waren 9,6-, 8,8-, 7,4-, 5,6- und 3,7-fach höher. Entgegen der sonstigen Darstellung sind hier auch die kumulativen 30 und 60 Minuten % Dosis-Werte angegeben, da sich mit längerem Testintervall ein zunehmend geringer werdender Unterschied zum Mittelwert von Nichtrauchern darstellte. In diesem Phänomen spiegelt sich der starke Anstieg der delta-delta-Werte bei den Personen 1 und 2 wider, für die bereits bei der ersten Messung 15 Minuten nach Koffein-Applikation das Maximum erreicht wurde (Abbildung 5). Die schnelle Metabolisierung von Koffein bei ihnen zeigte sich auch in den nach 30 Minuten erstmals im Serum gemessenen Koffein-Werten, die mit 4,0 mg/l beziehungsweise 3,0 mg/l die niedrigsten waren im Vergleich zur Kontrollgruppe (Minimum 4,2 mg/l, Median 5,8 mg/l, Maximum 8,8 mg/l). Bei den anderen Parametern der CYP1A2-Aktivität (Mittelwerte von drei Messungen) zeigten sich jeweils für Person 1 und 2 im Vergleich zu Mittelwerten von Nichtrauchern 11,3- und 9,6-fach (SMR30), 10,2 und 9,9-fach (SMR120), 6,4- und 7,0-fach (SMR240), 9,6- und 8,1-fach (CL), 9,3- und 9,1-fach (UMR1), 2,7- und 1,7-fach (UMR2), und 1,9- und 2,0-fach (UMR3) höhere Werte.

Bei der moderat TCDD-exponierten Person 3 zeigten die Mittelwerte von zwei Messungen im Vergleich zu Mittelwerten der Nichtraucher bei den verschiedenen Parametern die folgenden Differenzen: 1,7-fach (AT15), 1,8-fach (AT120), 1,7-fach (AT240), 1,4-fach (SMR30), 1,6-fach (SMR120), 1,6-fach (SMR240), 1,0-fach (CL), 3,6-fach (UMR1), 0,6-fach (UMR2) und 0,9-fach (UMR3). Bei AT120 und AT240 lagen die Einzelergebnisse nahe der 95. Perzentile von Nichtrauchern bzw. nahe dem Mittelwert von Rauchern. Die bei Person 3 am stärksten erhöhten Werte von UMR1 lagen deutlich über der 95. Perzentile von Nichtrauchern und gehörten auch innerhalb der Raucher-Gruppe zu den höchsten gemessenen (Abbildung 4, Tabelle 4).

Insgesamt zeigten die bei den Personen 1, 2 und 3 zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Parameter der CYP1A2 Aktivität eine gute Reproduzierbarkeit. Trotz mit der Zeit abfallender TCDD-Werte konnte keine eindeutig abfallende Tendenz bei den gemessenen Werten der CYP1A2 Aktivität beobachtet werden. Als Beispiel wurden die Ergebnisse von AT120 in Abbildung 6 graphisch in Abhängigkeit zu den gemessenen TCDD-Konzentrationen dargestellt (inklusive der Einzelwerte von Nichtrauchern, für die ein TEQ-Wert 15 ppt für 2,3,7,8-substituierte PCDDs/PCDFs angenommen wurde).

Abbildung 4 a-d (Legende: übernächste Seite)

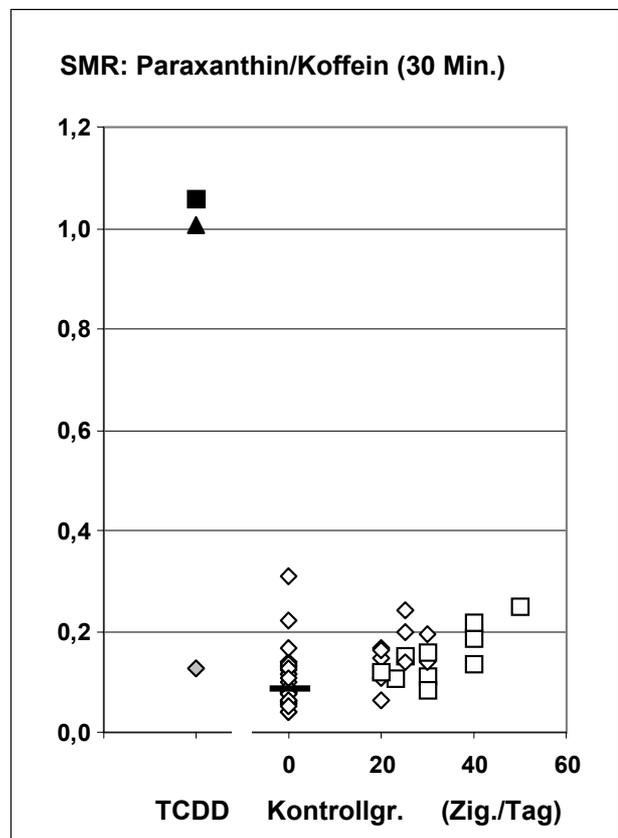
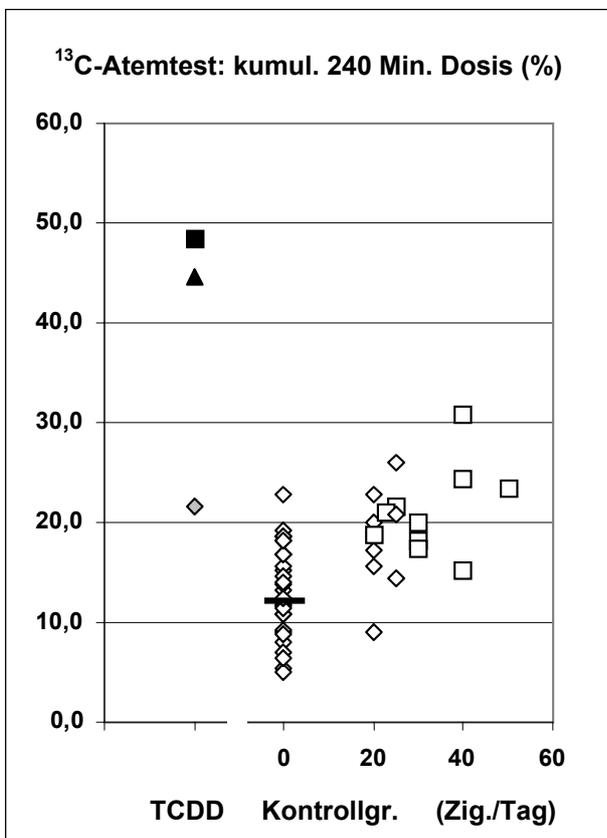
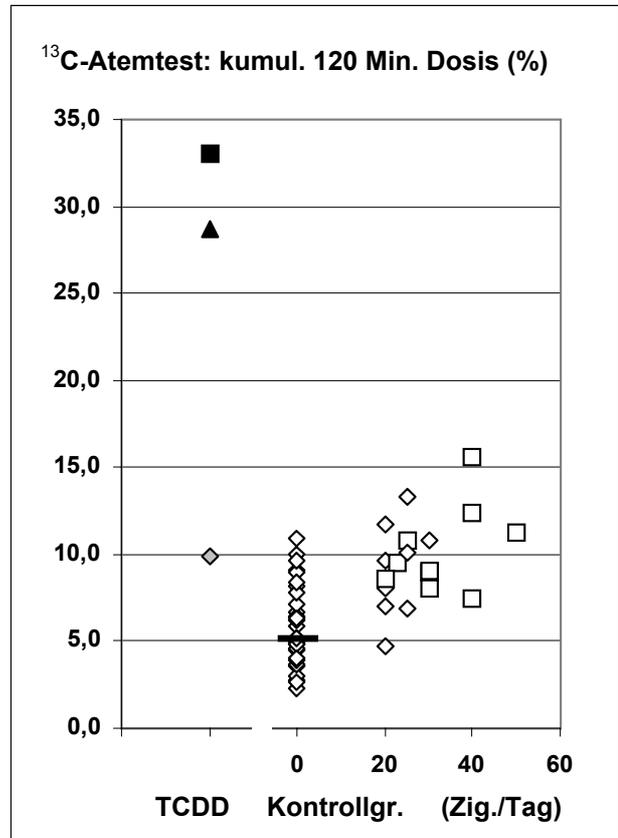
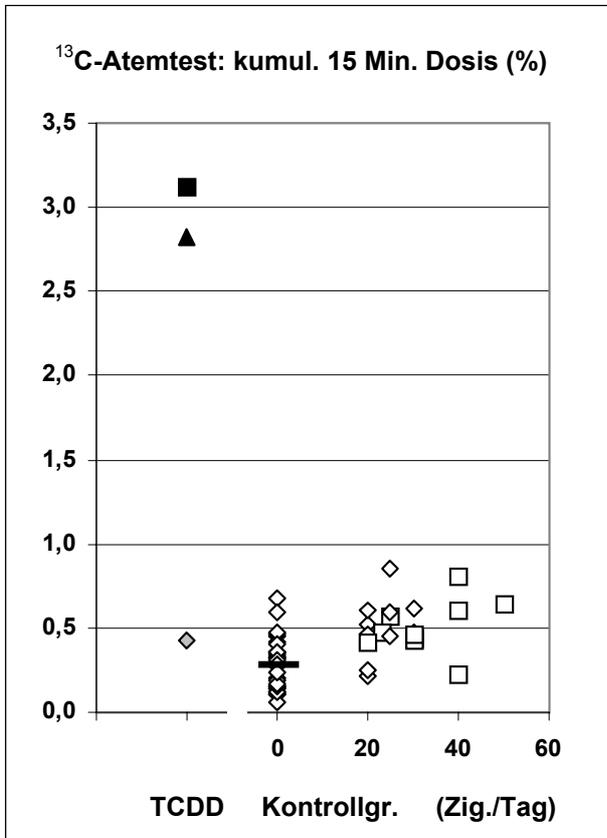


Abbildung 4 e-h (Legende: nächste Seite)

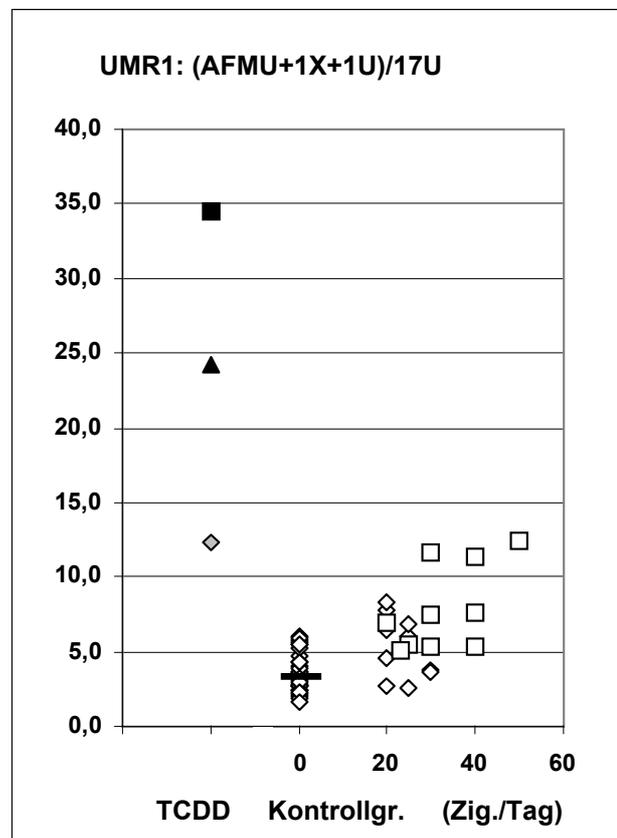
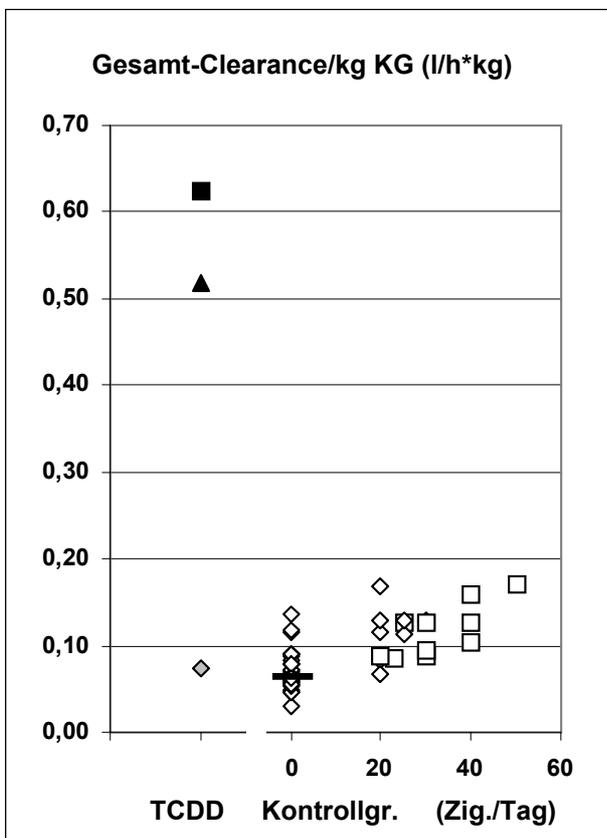
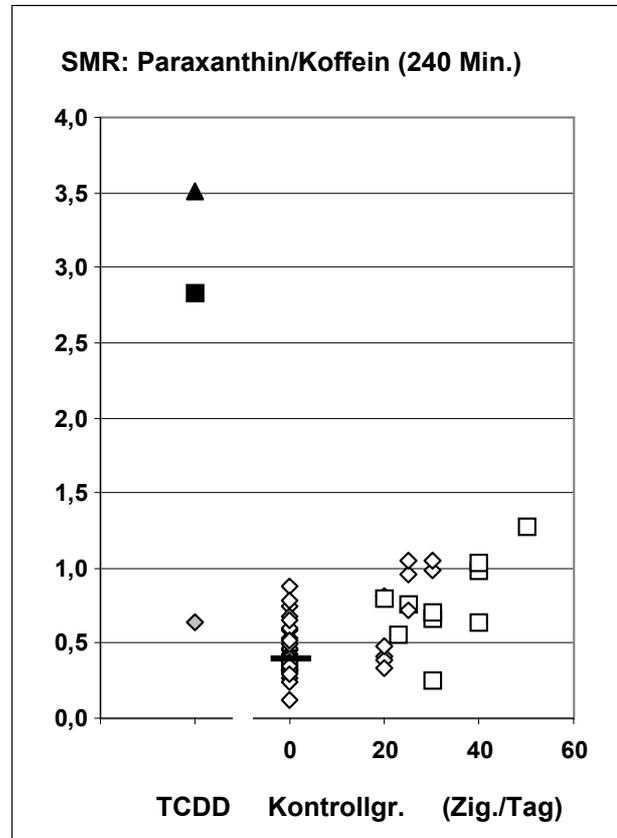
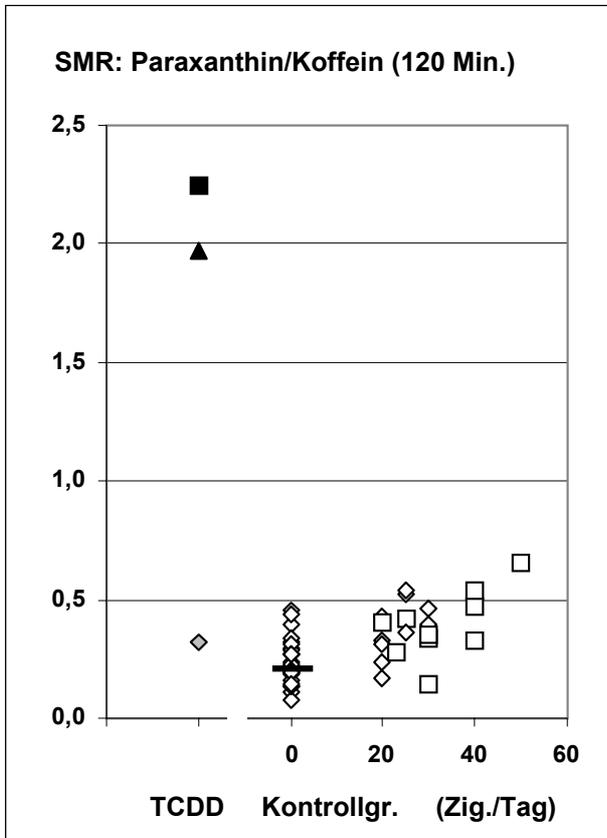
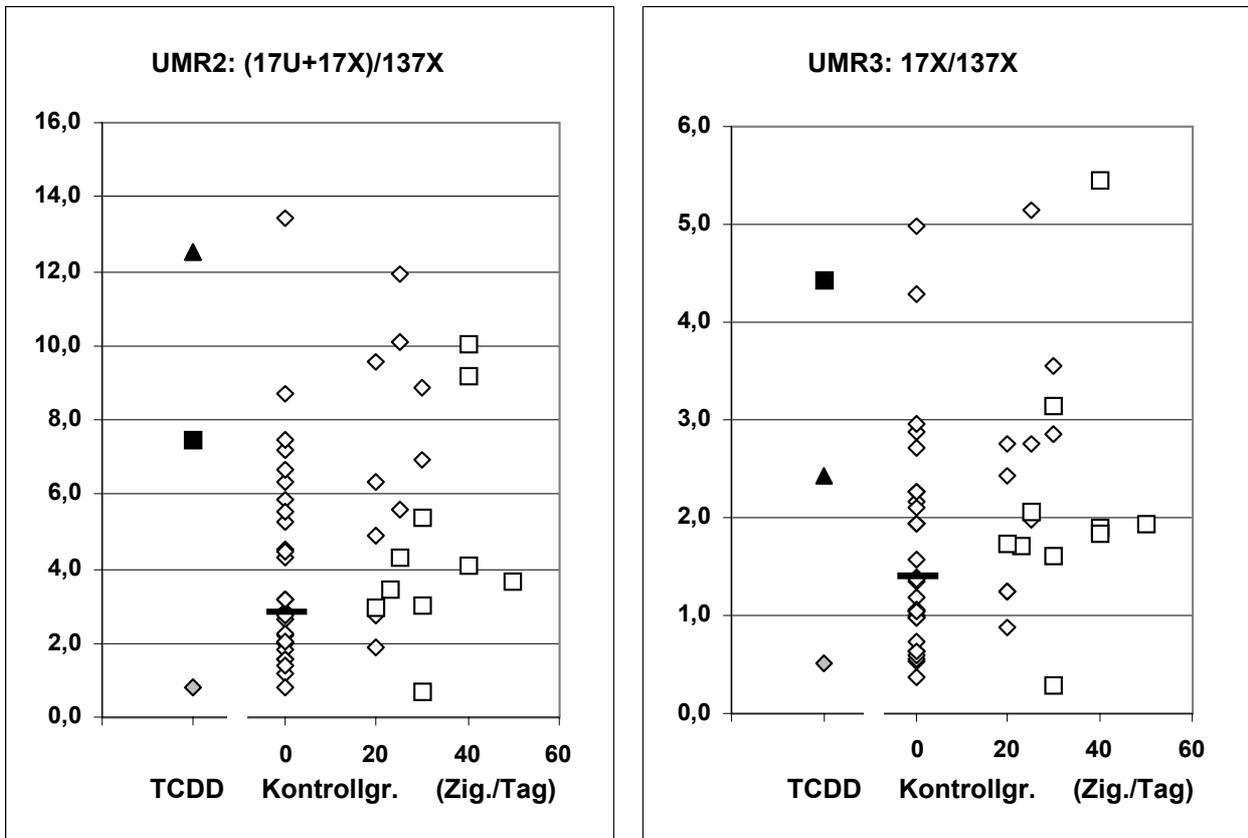
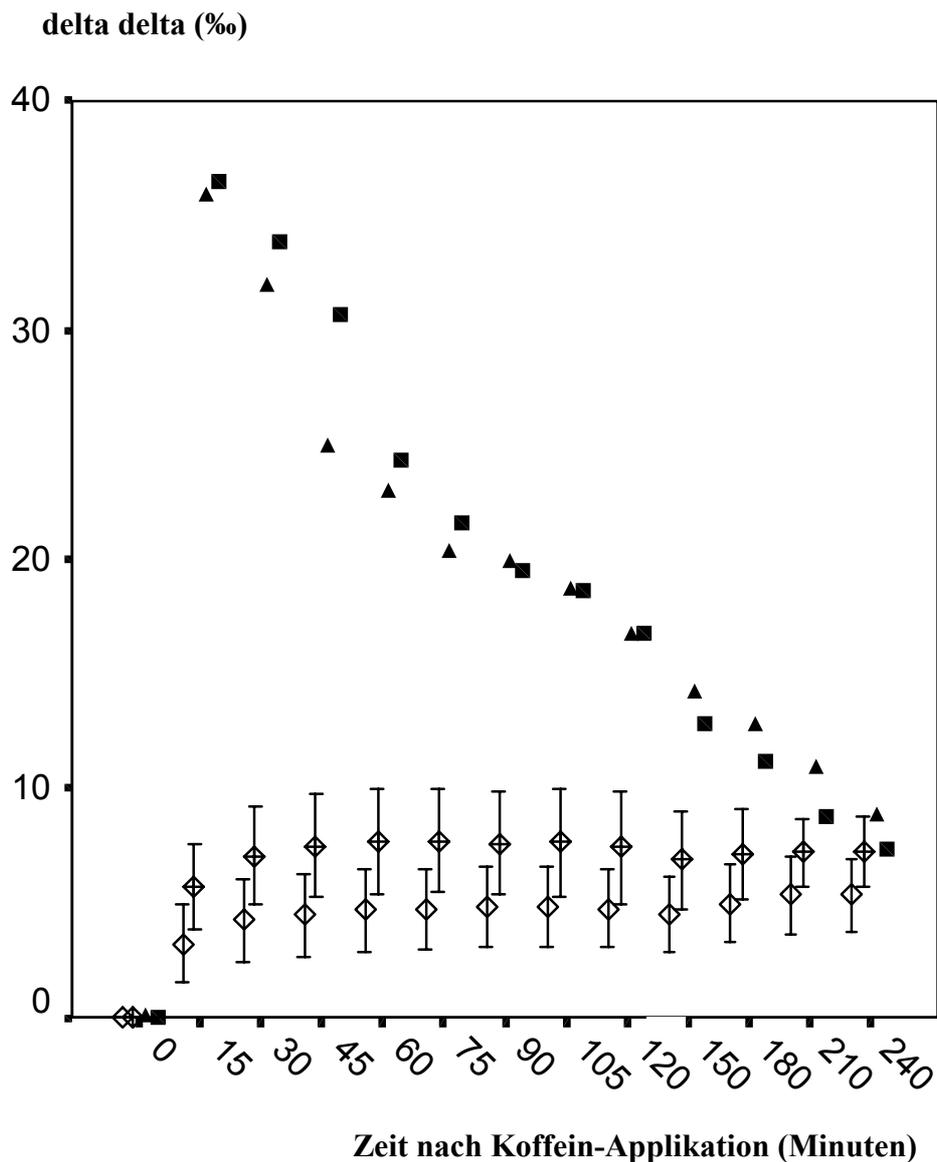


Abbildung 4 i-j

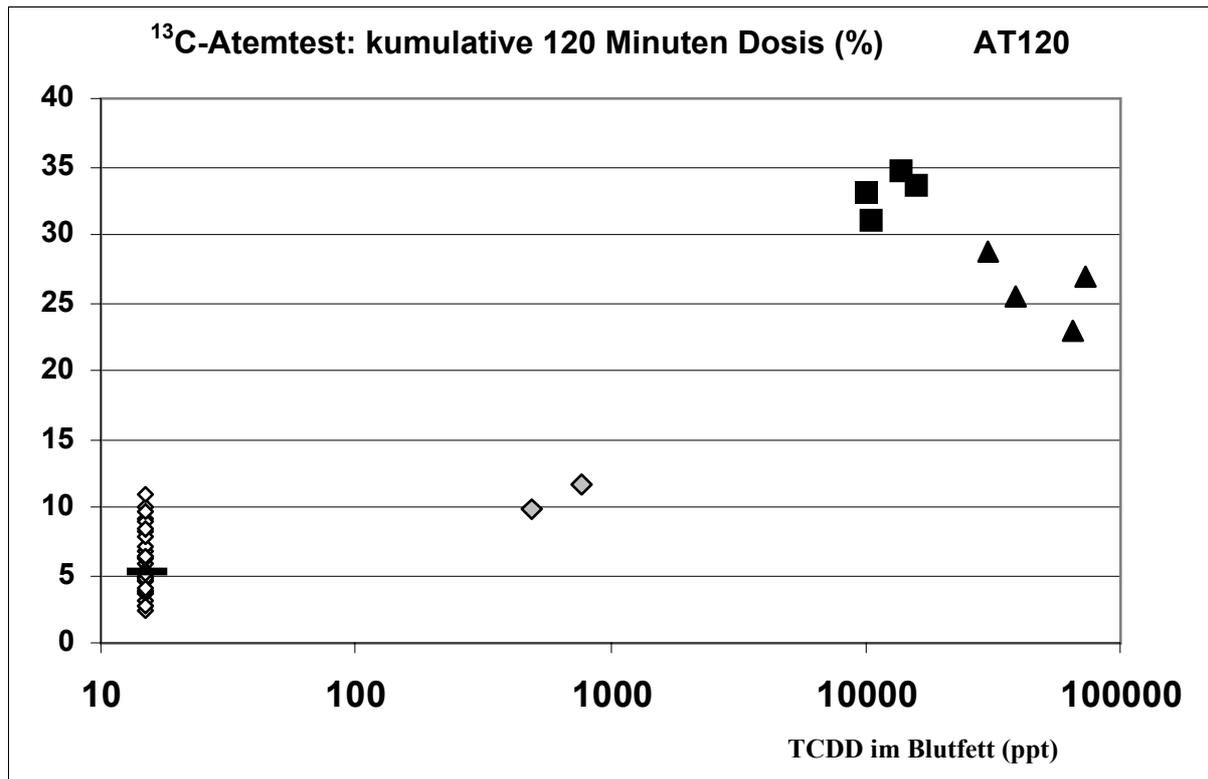


Graphische Darstellung der 10 ausgewerteten Parameter der Koffein-Demethylierung für die TCDD-exponierten Personen 1 (schwarzes Dreieck), 2 (schwarzes Quadrat) und 3 (grauer Diamant), sowie für die Kontrollgruppe (leere Symbole, aufgetragen gegen die Anzahl der pro Tag gerauchten Zigaretten): Nichtraucher (n=30, mit als “-” dargestelltem Median-Wert) und starken Rauchern (n=20, Quadrate: keine Filter-Benutzung). Die Daten der TCDD-exponierten Personen stammen von der Untersuchung im Oktober 2000.

**Abbildung 5** Anstieg von  $^{13}\text{CO}_2$  in Ausatemproben nach der Applikation von  $^{13}\text{C}$ -Koffein, dargestellt als delta-delta-Werte (gemessene Promille-Differenzen zu einem Standard-Gasgemisch abzüglich der Ausgangswerte): Ergebnisse der Untersuchungen im Herbst 2000 von Person 1 (schwarze Dreiecke) und Person 2 (schwarze Quadrate), sowie die der Nichtraucher (n=30, weiße Rauten) und der starken Raucher (n=20, weiße Rauten mit Kreuz), jeweils als Mittelwert und Standardabweichung. Person 3 ist nicht dargestellt, da die Werte nahe an den Mittelwerten der Raucher lagen. Zu beachten sind die unterschiedlichen Zeitskalen (nach 120 Minuten erfolgen die Messungen nur alle 30 Minuten).



**Abbildung 6** Kumulative 120 Minuten % Dosis im  $^{13}\text{C}$ -Atemtest (AT120), dargestellt in Abhängigkeit von den jeweils gemessenen TCDD-Konzentrationen (logarithmische Achse) für die je vier Messungen bei Person 1 (schwarze Dreiecke) und Person 2 (schwarze Quadrate) und die beiden Messungen bei Person 3 (graue Rauten). Zusätzlich sind Einzelwerte der Nichtraucher dargestellt, (n=30, einschließlich Median-Wert als “-”), mit einer angenommenen PCDD/PCDF-Konzentration im Blutfett von 15 ppt (PÄPKE 1998).



**Tabelle 3** Spearman Rang-Korrelations-Koeffizienten für 10 Parameter der Koffein-Demethylierung (n=50, TCDD-exponierte Personen nicht eingeschlossen). Werte  $\geq 0,7$  sind fett markiert, soweit sie verschiedene Testprinzipien betreffen). Zusätzlich sind die Spearman Rang-Korrelations-Koeffizienten für die Korrelation der 10 Parameter mit der Anzahl der pro Tag gerauchten Zigaretten angegeben (Nichtraucher eingeschlossen).

<b>Parameter</b>	<b>Abkürz.</b>	AT 15	AT 120	AT 240	SMR 30	SMR 120	SMR 240	CL	UMR 1	UMR 2	UMR 3	Zig. Pro Tag
AT: Kumulative 15 min % Dosis	<b>AT15</b>											0,60
AT: Kumulative 120 min % Dosis	<b>AT120</b>	0,94										0,62
AT: Kumulative 240 min % Dosis	<b>AT240</b>	0,89	0,97									0,63
SMR 17X/137X (30 min)	<b>SMR30</b>	0,55	0,56	0,55								0,53
SMR 17X/137X (120 min)	<b>SMR120</b>	0,68	<b>0,71</b>	0,69	0,85							0,59
SMR 17X/137X (240 min)	<b>SMR240</b>	<b>0,70</b>	0,69	0,67	0,71	0,89						0,57
Gesamt-Clearance/kg Körpergew.	<b>CL</b>	<b>0,82</b>	<b>0,82</b>	<b>0,80</b>	0,59	<b>0,70</b>	0,63					0,69
UMR: (AFMU+1U+1X)/17U	<b>UMR1</b>	0,53	0,56	0,57	0,61	0,55	0,41 <sup>a</sup>	0,62				0,56
UMR: (17X+17U)/137X	<b>UMR2</b>	0,64	0,67	0,65	0,43 <sup>a</sup>	0,50	0,49	0,61	0,17 <sup>c</sup>			0,34 <sup>b</sup>
UMR: 17X/137X	<b>UMR3</b>	0,56	0,61	0,60	0,42 <sup>a</sup>	0,46	0,50	0,56	0,28 <sup>c</sup>	0,89		0,34 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>  $p < 0,01$ , <sup>b</sup>  $p < 0,05$ , <sup>c</sup> nicht signifikant; alle anderen:  $p < 0,001$  oder  $p < 0,0001$

**Tabelle 4** Ergebnisse für Parameter der Koffein-Demethylierung (Abkürzungen: siehe Tabelle 3), die mit verschiedenen Methoden gemessen wurde: bei 30 Nichtrauchern und 20 Rauchern (jeweils Mittelwert, MW; Standardabweichung; SD, Minimum, Min; Maximum, Max; 95 Perzentile), sowie bei den TCDD-exponierten Personen 1, 2 und 3 (Einzelmessungen zu verschiedenen Zeitpunkten).

Parameter	Nichtraucher (NR, n=30)					Raucher (R, n=20)					Ratio MW (R: NR)	Person 1				Person 2				Person 3	
	MW	SD	Min	Max	95.P	MW	SD	Min.	Max.	95.P		12/98	3/99	3/00	10/00	12/98	3/99	3/00	10/00	3/99	10/00
<b>AT15</b>	<b>0,28</b>	0,15	0,06	0,67	0,59	<b>0,51</b>	0,17	0,21	0,85	0,85	<b>1,82</b>	2,00	1,64	2,42	2,82	3,08	2,65	1,88	3,12	0,51	0,42
<b>AT120</b>	<b>5,89</b>	2,36	2,31	10,85	9,97	<b>9,61</b>	2,49	4,67	15,61	15,49	<b>1,63</b>	23,0	26,9	25,5	28,7	34,7	33,7	31,0	33,1	11,7	9,8
<b>AT240</b>	<b>12,90</b>	4,52	4,93	22,89	19,28	<b>19,68</b>	4,64	9,08	30,72	30,48	<b>1,53</b>	33,0	38,3	38,3	44,6	49,0	47,4	46,5	48,5	23,2	21,6
<b>SMR30</b>	<b>0,104</b>	0,057	0,038	0,307	0,223	<b>0,154</b>	0,050	0,063	0,249	0,249	<b>1,48</b>	n.gem	1,30	1,24	1,00	n.gem	0,97	0,95	1,06	0,157	0,127
<b>SMR120</b>	<b>0,236</b>	0,09	0,076	0,454	0,439	<b>0,384</b>	0,128	0,141	0,66	0,654	<b>1,63</b>	n.gem	2,90	2,39	1,97	n.gem	2,21	2,56	2,25	0,447	0,320
<b>SMR240</b>	<b>0,445</b>	0,173	0,115	0,872	0,78	<b>0,742</b>	0,280	0,25	1,274	1,263	<b>1,67</b>	n.gem	2,17	2,92	3,51	n.gem	3,39	3,12	2,83	0,808	0,641
<b>CL</b>	<b>0,071</b>	0,023	0,031	0,136	0,117	<b>0,118</b>	0,028	0,067	0,170	0,170	<b>1,66</b>	n.gem	0,708	0,811	0,518	n.gem	0,538	0,560	0,625	0,069	0,074
<b>UMR1</b>	<b>3,65</b>	1,35	1,62	6,08	5,94	<b>6,55</b>	2,81	2,59	12,41	12,37	<b>1,79</b>	n.gem	39,3	38,2	24,2	n.gem	29,85	35,55	34,5	14,0	12,3
<b>UMR2</b>	<b>3,96</b>	2,76	0,80	13,40	10,81	<b>5,77</b>	3,19	0,70	11,90	11,81	<b>1,46</b>	n.gem	9,7	10,2	12,5	n.gem	5,66	6,95	7,44	3,90	0,83
<b>UMR3</b>	<b>1,64</b>	1,10	0,40	5,00	4,61	<b>2,33</b>	1,30	0,30	5,50	5,49	<b>1,42</b>	n.gem	2,79	3,96	2,43	n.gem	2,59	2,98	4,43	2,45	0,51

n.gem. = nicht gemessen

## 6. Diskussion

### 6.1. Immunsystem

Bei den immunologischen Untersuchungen konnte wie geplant ein umfangreiches Programm etabliert werden, bei dem wesentliche heute bekannte Funktionen einbezogen werden konnten, und bei dessen Umsetzung besonderer Wert auf die Konstanz der Bedingungen während der Untersuchungsphase gelegt wurde. Die Untersuchung einer gesunden, altersentsprechenden Kontrollgruppe unter gleichen Bedingungen und unter Berücksichtigung des Einflußfaktors "Rauchen" sollte eine Interpretation der erhobenen Daten erleichtern. Auf der anderen Seite ist zu bedenken, daß einzelne immunologische Befunde nicht überinterpretiert werden sollten (größere interindividuelle Variation als bei manchen anderen biologischen Parametern, nicht auszuschließende Tag-zu-Tag-Variationen bei komplexen Methoden). Zudem ist natürlich zu berücksichtigen, daß bei der geringen Zahl von 3 TCDD-exponierten Personen eine statistische Auswertung entfällt, und daß Person 1 mit der höchsten TCDD-Belastung durch die anhaltende Chorakne an einer chronischen Infektion der Haut leidet mit möglicher Einwirkung auf das Immunsystem, die eine Behandlung mit Medikamenten erforderlich macht, die wiederum das Immunsystem beeinflussen oder beeinflussen könnten. Unter Beachtung dieser Faktoren sollte dennoch eine aussagekräftige Interpretation möglich sein, handelt es sich doch um eine ausschließliche TCDD-Exposition mit Konzentrationen bei Person 1 und 2, die bei Erwachsenen nie in vergleichbarer Höhe gemessen wurden (mehr als 4 Zehnerpotenzen über der Hintergrund-Belastung). Eine "immuntoxische" Substanz sollte bei jedem einzelnen Belasteten Zeichen der Veränderung des Immunsystems hervorrufen.

Eine Interpretation der Ergebnisse kann mit zwei Aspekten stattfinden: 1.) liegt individuell eine überzufällige Häufung von außerhalb des "Normalbereichs" liegenden Werten vor ? (wenn ja: welche Parameter betreffend?), und 2.) gibt es gleichsinnige Normabweichungen bei den TCDD-exponierten Personen (insbesondere bei den hoch belasteten Personen 1 und 2: auffälliges Muster?) ?

Punkt 1: Bei den gemessenen 164 Parametern ergibt sich für jede immun-gesunde Person eine statistische Zufallserwartung, daß 16,4 Parameter (10 % der Werte) außerhalb des Bereichs zwischen der 5. und der 95. Perzentile ("Normalbereich") liegen. Person 3 mit moderater TCDD-Exposition war in dieser Hinsicht also nicht auffällig (17 Parameter, davon allein 7 eine relative hohe Lymphozyten-Proliferation nach Tetanus-Stimulation betreffend). Gleiches gilt für Person 2, die mit 23 Parametern zwar über der durchschnittlichen Erwartung lag, jedoch waren bei 7 Parametern die auffälligen Werte durch eine ungewöhnlich starke PBMC-Proliferation der Medium-Kontrolle nach 3 Tagen bedingt, die niedrige Stimulations-Indizes bei den Mitogenen und IL-2 führte nach sich zog. Da bei der Medium-Kontrolle nach 5 Tagen kein entsprechend hoher cpm-Wert gemessen wurde, ist ein Artefakt wahrscheinlich (z.B. durch Kontamination des Mediums durch ein Stimulans).

Bei Person 1 fanden sich 32 Parameter außerhalb des Normalbereichs, so daß bei ihr eine zufällige Häufung unwahrscheinlich ist. Bei den einzelnen untersuchten Funktionen fanden sich Häufungen von auffälligen Werten über der Zufallserwartung von 10% beim Blutbild (3 von 12 Parametern: hohe Leukozytenzahl mit hoher Lymphozytenzahl und niedriger Basophilenzahl), bei der Zytokin-Produktion (4 von 13 Parametern: niedrige IL-5-Sekretion und niedrige intrazelluläre IL-4-Produktion), bei der Lymphozyten-Proliferation (13 von 80 Parametern: insbesondere hohe Proliferation nach Mitogen- und Candida-Stimulation), bei den Lymphozyten-Subpopulationen (10 von 54 Parametern: insbesondere hoher T-Zell-Anteil der Lymphozyten, niedriger Anteil von Zellen mit hoher CD29-Dichte auf CD8-Zellen, niedriger %-Anteil von kleinen Nk-Zell-Subpopulationen; 3 als absolute Zellzahl pro nl ausgewertete Parameter sind bedingt durch die hohe Lymphozytenzahl auffällig) und bei den spezifischen Impf-Antikörpern (1 von 2 Parametern: niedrige Tetanus-Antikörper trotz Auffrisch-Impfung ein Jahr zuvor; auch die Diphtherie-Antikörper lagen nur auf der 5. Perzentile). Zumindest ein Teil dieser Auffälligkeiten kann mit der Kortikosteroid-Behandlung in Verbindung gebracht werden (niedrigere Produktion von TH<sub>2</sub>-Zytokinen, geringere Produktion von spezifischen Antikörpern), auch könnte die ablaufende Entzündungsreaktion zu einer unspezifischen Voraktivierung geführt haben mit gesteigerter Lymphozyten-Proliferation. Zudem sollte die hohe Lymphozytenzahl bei der Proliferation mit der Vollblut-Methode allgemein zu höheren cpm-Werten führen, da hierbei ein konstante Blutmenge von 12,5 µl pro well zum Einsatz kommt. Bezüglich dieses Punktes gilt gleiches für Person 2.

Punkt 2: Von den soeben beschriebenen auffälligen Parametern bei Person 1 wurden gleichsinnige Veränderungen bei den anderen beiden Wienern gefunden für die Lymphozytenzahl im peripheren Blut (nur bei Person 2), für die IL-5-Sekretion (nur Tag 1: bei der moderat exponierten Person 3, nicht jedoch bei der stark exponierten Person 2), für die Lymphozyten-Proliferation nach Mitogen- und Candida-Stimulation (z.T. bei Person 2 und 3) und für eine kleine Nk-Zell-Subpopulation (auch bei Person 2, nicht bei Person 3).

Die Impf-Reaktion nach Diphtherie-Boosterimpfung zeigte bei Person 2 eine im Streubereich des Kontroll-Kollektivs liegende Reaktion, während bei Person 1 kein Antikörper-Anstieg gemessen werden konnte und ihre Lymphozyten-Proliferation die schwächste aller untersuchten 16 Personen war. Dies ist u.U. auf die Immun-Suppression bei Kortikosteroid-Behandlung zurückzuführen und angesichts der unauffälligen Reaktion bei Person 2 eher nicht TCDD-bedingt. Gegen eine negativ durch TCDD beeinflusste Impfreaktion spricht auch die außergewöhnlich starke Lymphozyten-Proliferation nach Tetanus-Stimulation bei Person 3 (und teilweise auch bei Person 2).

Insgesamt bleiben als TCDD-verdächtige Effekte eine hohe Zahl von Lymphozyten im peripheren Blut, eine relativ starke Lymphozyten-Proliferation nach Mitogen- und Candida-Stimulation (bei der Vollblut-Methode möglicherweise auch Folge der hohen Lymphozytenzahl) und ein relativ niedriger prozentualer Anteil von Nk-Zell-Subpopulationen (CD56<sup>-</sup>CD16<sup>-</sup> und CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) bei den Lymphozyten. Die üblicherweise als Nk-Zellen ausgewertete Lymphozyten-Fraktion (CD56/CD16<sup>+</sup>: mindestens ein positiver Marker auf CD3-negativen Zellen) lag bei den hoch TCDD-exponierten Personen 1 und 2 im unteren Normalbereich. Bei mehreren Voruntersuchungen im Rahmen der Routine-Diagnostik in Wien hatten sich bei ihnen

z.T. Werte ( $CD3^+CD56/CD16^+$  in % der Lymphozyten) unterhalb des Normalbereichs gezeigt (GEUSAU et al., 2001). Untersuchungen der Nk-Funktion (Lyse von K562-Zellen) in Berlin hatten dabei keinen Anhalt für eine verminderte Lyse-Fähigkeit ergeben (unpublizierte Daten).

Bei Untersuchungen nach dem Seveso-Unglück 1976 fanden sich bei exponierten Kindern mit Chorakne im Vergleich zu Nicht-Exponierten ebenfalls höhere Proliferationsraten nach Lymphozyten-Stimulation mit PHA und PWM, die jedoch insgesamt alle innerhalb des Normalbereichs lagen (BERTAZZI et al., 1998; MOCARELLI et al., 1999; NEUBERT et al., 1999). Daten über die Höhe der TCDD-Exposition lagen nicht vor, die beobachteten Veränderungen könnten z.T. auch Chlorakne-assoziiert sein. Ebenfalls fand sich bei diesen Untersuchungen bei den exponierten Personen eine höhere Zahl von Lymphozyten im peripheren Blut (auch innerhalb des Normalbereichs), wie sie sich in dieser Studie auch bei Person 1 und 2 fand. Routine-Untersuchungen in Wien in den letzten Jahren hatten bei Person 1 überwiegend erhöhte Leukozyten-Werte ergeben (vermutlich bedingt durch Entzündung und Kortikosteroid-Behandlung), jedoch ohne erhöhten prozentualen Anteil von Lymphozyten (GEUSAU et al., 2001).

In Folgeuntersuchungen von ehemaligen Seveso-Kindern zeigte sich ein prolongierter Effekt der Tetanus-Impfung (NEUBERT et al., 1999), der möglicherweise der jetzt gemessenen relativ hohen Lymphozyten-Proliferation nach Tetanus-Stimulation bei Person 2 und 3 entspricht. Ebenfalls mit lange zurückliegender Exposition wurden in den letzten Jahren ehemalige Chemiarbeiter untersucht, die aktuell eine moderate TCDD-Exposition hatten mit Werten bis um 1000 ppt (z.B. ERNST et al., 1998; JUNG et al., 1998; NEUBERT et al., 1993, 1995, 2000; OTT et al., 1994; TONN et al., 1996). Bezüglich der in der vorliegenden Studie erhobenen Befunde fanden sich auch bei OTT et al. (1994) marginal erniedrigte Prozentsätze von Nk-Zellen, die jedoch nicht mit der TCDD-Exposition assoziiert waren, sondern mit dem Chlorakne-Status. Ein leichter Trend zu höheren Lymphozyten-Proliferationsraten mit steigender TCDD-Exposition fand sich in einer anderen Studie bei PHA-Stimulation, nicht aber bei Stimulation mit anderen Mitogenen (NEUBERT et al., 1995). Die von TONN et al. (1996) berichtete schwächere Lymphozyten-Proliferation nach IL-2-Stimulation konnte nicht bestätigt werden. Ein umfangreiches immunologisches Untersuchungsprogramm konnte keinen TCDD-Effekt bei exponierten Vietnam-Veteranen feststellen (MICHALEK et al., 1999). Bei all diesen Untersuchungen sind zahlreiche Confounder (Alter, Erkrankungen, Rauchen, Expositionsmuster) zu berücksichtigen, die eine Interpretation der Daten erschweren.

Unerwartet häufig fanden sich Unterschiede zwischen den Gruppen der Nichtraucher und der starken Raucher. Diese Befunde wurden teilweise bereits von anderen Arbeitsgruppen erhoben, so die bei Rauchern höhere Leukozyten-Zellzahl im peripheren Blut (z.B. FREEDMAN et al., 1996), und ein höherer T-Zell-Anteil bei den Lymphozyten mit höherer CD4/CD8-Ratio bedingt durch höhere CD4-Zellzahl (z.B. FREEDMAN et al., 1996; SCHABERG et al., 1997). Die Einbeziehung von Rauchern bei der vorliegenden Untersuchung erfüllte somit auch einen Sinn als Qualitätskontrolle für die durchgeführten Methoden. Bestätigt wurde somit, daß das Immunsystem sehr wohl bereits durch Umweltfaktoren wie das Zigaretten-Rauchen zu beeinflussen ist. Im Falle der höheren Lymphozyten-Proliferation im Vollblut nach Candida-Stimulation lagen die im Vergleich zu anderen Nichtrauchern erhöhten Werte der TCDD-

exponierten Personen sogar innerhalb des "Normalbereichs" der Raucher. Dies zeigt eindrücklich, daß auch bei immunologischen Studien das Zigaretten-Rauchen als starker Confounder zu berücksichtigen ist.

Insgesamt zeigte die umfangreiche Untersuchung wesentlicher Teile des Immunsystems trotz der extremen TCDD-Exposition bei den Personen 1 und 2 keine eindeutigen Auffälligkeiten, die auf diese Exposition zurückgeführt werden könnten. Bei Einbeziehung von Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen sind möglicherweise die relativ hohe Lymphozytenzahl im peripheren Blut, der relativ niedrige prozentuale Nk-Zell-Anteil bei den Lymphozyten und die erhöhte Lymphozyten-Proliferation nach Mitogen- und Candida-Stimulation als TCDD-Effekte anzusehen (eindeutige Aussage wären nur bei Untersuchung einer größeren Zahl von hoch exponierten Personen möglich). Diese Veränderungen waren jedoch nicht gravierend und lagen im Fall der Candida-Stimulation innerhalb des "Normalbereichs" von Rauchern. Die beobachteten leichten Veränderungen haben sehr wahrscheinlich keine klinische Relevanz, wie auch die bisherige Nachbeobachtung der TCDD-exponierten Personen keinen Anhalt für eine Beeinträchtigung ihres Immunsystems bot. Es bestätigt sich somit erneut, daß immunologische Parameter nicht als empfindliche Biomarker einer TCDD-Exposition angesehen werden können. Für den Hintergrundbereich kann daher mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Wirkung der hier vorliegenden Dioxin-Exposition (einschließlich anderer POP-Verbindungen mit Affinität zum Ah-Rezeptor) auf das Immunsystem des Erwachsenen Menschen ausgeschlossen werden.

## **6.2. Cytochrom P450-Aktivität der Leber (CYP1A2)**

Bei den TCDD-exponierten Personen 1, 2 und 3 wurde die CYP1A2-Aktivität in der Leber indirekt über verschiedene Methoden zur Bestimmung der Demethylierungs-Rate von Koffein gemessen. Die Messungen erfolgten parallel dazu an einer Gruppe von Nichtrauchern und Rauchern, bei denen die bekannte Dosis-abhängige Induktion durch Zigarettenrauch bestätigt wurde (z.B. VESTISEN et al., 1992). Dabei zeigten nicht alle der 10 ausgewerteten Parameter gleich gute Ergebnisse: insbesondere für UMR2 und UMR3 war der Effekt deutlich schwächer ausgeprägt, wenn auch noch signifikant. Die Ergebnisse von Nichtrauchern und Rauchern überlappten sich, so daß keiner der Parameter in der Lage war, individuell zwischen Nichtraucher und starkem Raucher zu differenzieren. Für die relativ kleinen Untergruppen von Rauchern mit oder ohne Filterbenutzung (jeweils n=10) konnte kein signifikanter Unterschied bei den verschiedenen Methoden festgestellt werden. Somit konnte eine CYP1A2-Induktionsvermindernde Wirkung bei Rauchern durch die Filterbenutzung nicht bestätigt werden (These aus Promotionsschrift von SCHUMACHER, 1995).

Bei den hoch TCDD-exponierten Personen 1 und 2 zeigte sich eine deutliche Induktion, die weit über die durch starkes Zigarettenrauchen ausgelöste hinausging, bei acht der zehn ausgewerteten Parameter (nicht für UMR2 und UMR3). Gegenüber dem Mittelwert von nicht exponierten Nichtrauchern waren bei beiden Personen diese indirekten Parameter der CYP1A2-Aktivität bis zu einer Zehnerpotenz erhöht. Dies entspricht vermutlich einer Erhöhung der CYP1A2-Proteinmasse in der Leber wenigstens in der gleichen Größenordnung (denkbar ist auch eine noch stärkere Zunahme der Proteinmasse, die durch die indirekte Meßtechnik nicht quantitativ

in gleichem Verhältnis erfaßt wird). Beim Atemtest kam es aufgrund der starken Induktion bei Person 1 und 2 bereits nach 15 Minuten zu maximalen delta-delta-Werten (Abbildung 5), so daß die kumulative Dosis AT15 den deutlichsten Effekt gegenüber Nichtrauchern ergab. Dies macht deutlich, daß bei Gabe eines Koffein-Bolus bei kumulativer Erfassung der Stoffwechsel-Leistung mit zunehmender Zeitspanne die Ergebnisse von induzierten Personen zunehmend “verwischt” werden (nach z.B. 24 Stunden haben alle das Koffein mehr oder weniger vollständig metabolisiert; auch zwischen Nichtrauchern und Rauchern fanden sich die höchsten Unterschiede in den Mittelwerten nach 15 Minuten). Somit ist der üblicherweise verwendete AT120-Wert für Untersuchungen an hoch TCDD-Exponierten nicht optimal. Die gemessenen Werte waren teilweise bei Person 2 höher als bei Person 1, trotz der deutlich höheren TCDD-Werte bei Person 1. Dies mag durch interindividuelle Variation zu erklären sein, jedoch kann auch eine Hemmung der Induktion durch die Einnahme von Medikamenten und/oder die chronische Infektion der Haut nicht ausgeschlossen werden. Innerhalb des Zeitraums von fast zwei Jahren waren die Ergebnisse bei beiden Personen gut reproduzierbar und zeigten keine fallende Tendenz trotz fallender TCDD-Konzentrationen. Dies entspricht vermutlich einer lang anhaltenden maximalen CYP1A2-Induktion auf einem Plateau.

Bei der moderat TCDD-exponierten Person 3 (männliches Geschlecht) sind die Ergebnisse für die ausgewerteten Parameter nicht konsistent. Beim Atemtest fanden sich die Werte für AT120 und AT240 nahe der 95. Perzentile von Nichtrauchern. An dieser Feststellung ändert sich auch nichts, wenn nur die männlichen Nichtraucher (n=15, höhere Werte beim Atemtest als Frauen) zum Vergleich herangezogen werden (95. Perzentile 10,9 und 22,9 % für AT120 beziehungsweise AT240). Bei UMR1 fand sich für Person 3 sogar ein Wert deutlich oberhalb der 95. Perzentile von Nichtrauchern. Im Gegensatz hierzu waren die aus Serum-Bestimmungen ermittelten Parameter (SMR30, SMR120, SMR240, CL) nicht auffällig different von Mittelwerten bei Nichtrauchern. Dabei zeigte gerade die Clearance (CL) die beste Korrelation mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten und wird von einigen Autoren als “Goldstandard” der Koffein-Demethylierung angesehen. Diese reproduzierbar gemessenen Diskrepanzen sind zur Zeit nicht erklärbar und verlangen eine zurückhaltende Interpretation der Ergebnisse von Person 3. Theoretisch kann eine genetisch determinierte Abweichung von üblichen Metabolisierungswegen bei dieser Person nicht ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend kann über die verwendeten Methoden gesagt werden, daß acht der zehn ausgewerteten Parameter der CYP1A2-Aktivität in der Leber (nicht UMR2 und UMR3) die hohe TCDD-Exposition von Person 1 und 2 individuell als Biomarker erfassen konnten und für epidemiologische Studien geeignet sind. Von diesen Parametern maßen AT15, SMR30 und SMR120, CL sowie UMR1 einen wenigstens 8-fachen und gut reproduzierbaren Anstieg gegenüber Mittelwerten von Nichtrauchern. Dabei haben der Atemtest und Messungen von Koffein-Metaboliten im Urin den Vorteil, nicht invasiv zu sein. Die genannten Methoden sind alle weitgehend unabhängig vom Untersucher, so daß eine Vergleichbarkeit verschiedener Studien gegeben sein sollte. Im Gegensatz hierzu zeigte sich bei UMR2 und UMR3 (beide Ratios mit Koffein im Nenner), daß diese Parameter offensichtlich nicht die CYP1A2-Aktivität der Leber widerspiegeln, wenn auch ein geringer Einfluß durch Zigarettenrauchen gemessen werden konnte. Diese Ergebnisse entsprechen einer neueren Untersuchung von SINUÉS et al. (1999) an Nichtrauchern und Rauchern, die ebenfalls UMR1 als verlässlichsten von insgesamt 5

untersuchten Urin-Metaboliten-Ratios ermittelten. Als eine mögliche Ursache konnte von dieser Arbeitsgruppe gezeigt werden, daß UMR1 im Gegensatz zu den anderen Ratios weitgehend unabhängig vom Urinfluß ist.

Die hier vorgelegten Untersuchungen sind die ersten, die beim Menschen in-vivo eine Induktion der CYP1A2-Aktivität in der Leber durch TCDD dokumentieren. Untersuchungen an anderen TCDD-exponierten Personen konnten eine solche Induktion nicht nachweisen. Sechzehn bis 18 Jahre nach dem Seveso-Unfall wurde im Koffein-Atemtest (AT120) keine signifikante Differenz zwischen einer Gruppe von 10 exponierten Personen (TCDD Konzentrationen 1976 bis zu 6300 ppt) und 20 Kontrollpersonen gemessen. Leider lagen keine TCDD-Bestimmungen für den Zeitpunkt der Untersuchung vor (LAMBERT et al., 1993; BRAMBILLA et al., 1995). Bei 58 ehemaligen Chemikern, die 15 bis 37 Jahre vor der Untersuchung gegenüber TCDD exponiert waren, konnte kein signifikanter Effekt auf UMR1 festgestellt werden, trotz relativ hoher aktueller TCDD-Werte im Blutfett (Mittelwert 157 ppt, zwei Personen oberhalb 1000 ppt, Maximum 1742 ppt) (HALPARIN et al., 1995).

Bezüglich der Exposition gegenüber anderen persistenten organischen Verbindungen mit Affinität zum Ah-Rezeptor liegen Humandaten für Yu-Cheng-Patienten vor, die 1979 auf Taiwan stark mit PCDFs und PCBs kontaminiert wurden. Für den Koffein-Atemtest wurde eine Korrelation der Ergebnisse mit PCDF- und PCB-Konzentrationen im Blutfett berichtet. Der höchste gemessene Einzelwert betrug 23,6 % für AT120 (LAMBERT et al., 1993, 1994) und war somit vergleichbar den Ergebnissen bei Person 1, er war jedoch niedriger als bei Person 2. Bei der sogenannten Michigan-Kohorte von 51 Personen, die 1973/74 gegenüber polybromierten Biphenylen (PBBs) exponiert wurde, konnten signifikant höhere Ergebnisse bei exponierten im Vergleich zu nicht-exponierten Nichtrauchern für den Koffein-Atemtest (AT120) und UMR1 festgestellt werden. Die Median-Werte der Nichtraucher in der Kohorte waren jedoch niedriger als die von nicht PBB-exponierten Rauchern (LAMBERT et al., 1990). Bei den beiden letztgenannten Studien ist ein Vergleich mit den Ergebnissen der hier vorgelegten Untersuchungen auf der Basis von Toxizitäts-Äquivalenten (TEQ) im Blutfett nicht möglich. Bei der Benutzung von in-vitro Techniken (Hepatozyten-Kulturen) konnte grundsätzlich die Induzierbarkeit von CYP1A2 in der menschlichen Leber durch TCDD gezeigt werden (SCHRENK et al., 1995).

Tierexperimentell konnte insbesondere bei Nagetieren eine Dosis-abhängige Induktion der hepatischen CYP1-Aktivität nach TCDD-Behandlung gezeigt werden, so für die Ethoxy-Resorufin-O-Deethylase (EROD)-Aktivität, die spezifisch für CYP1A2 und stark mit der 3N-Demethylierung von Koffein in menschlicher Leber korreliert ist (BERTHOU et al., 1989). Bei Ratten konnte bei direkter Messung ein bis 100-facher Anstieg der EROD-Aktivität beobachtet werden, mit Plateau ab Dosen von 3 µg/kg Körpergewicht (ABRAHAM et al., 1988; SCHULZ-SCHALGE et al., 1991). Beim Marmoset-Affen (*Callithrix jacchus*, eine nicht-humane Primaten-Spezies) wurde ein maximaler Anstieg nur um das ca. 10-fache bei direkter Messung als EROD-Aktivität berichtet, und nur um das ca. 4-fache bei Anwendung des <sup>14</sup>C-Koffein-Atemtests (KRÜGER et al., 1990), mit Erreichen eines Plateaus mit einer TCDD-Dosis von ca. 1 µg/kg Körpergewicht (SCHULZ-SCHALGE et al., 1992). Für Marmoset-Affen wurde ein Lowest

Observable Effect Level (LOEL) von 3 ng TCDD pro kg Körpergewicht ermittelt (KRÜGER et al., 1990), vergleichbar dem von Ratten (ABRAHAM et al., 1988).

Bezüglich des möglichen Ausmaßes einer CYP1A2-Induktion in der Leber scheinen Marmoset Affen und Menschen vergleichbar zu sein (eine Zehnerpotenz, niedriger als bei Nagetieren), jedoch ist bei Menschen offensichtlich eine viel höhere TCDD-Dosis als 3 ng/kg Körpergewicht erforderlich, um einen Effekt auszulösen. Dabei dürfte der im Vergleich zum Marmoset-Affen deutlich höhere prozentuale Fettanteil eine wichtige Rolle spielen, der nach Exposition zu niedrigeren Konzentrationen in der Leber führt. Weitere Nachuntersuchungen der Personen 1, 2 und 3 (mit abfallenden TCDD-Konzentrationen) werden Erkenntnisse über individuelle Verläufe der Konzentrations-Induktions-Kurven für die CYP1A2-Aktivität beim Menschen bringen.

Welche Bedeutung eine erhöhte CYP1A2-Aktivität für den Menschen hat, kann nicht eindeutig beantwortet werden. Hohe Aktivität der Cytochrom P450-Enzyme 1A1, 1A2 oder 1B1, die alle polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe und heterozyklische Amine bioaktivieren, führt in zahlreichen biochemischen in-vitro Testsystemen (z.B. Ames Test) zu steigender Mutagenität. Für den Menschen konnte eine Assoziation zwischen Aktivität von CYP1A1 und dem Lungenkrebs-Risiko gezeigt werden (KELLERMANN et al., 1973), sowie zwischen der Aktivität von CYP1A2 und dem Kolonkarzinom-Risiko (LANG et al., 1994). Das karzinogene Potential von TCDD wird weiterhin wissenschaftlich sehr unterschiedlich eingeschätzt (z.B. KAISER 2000), epidemiologische Studien konnten höchstens ein leicht ansteigendes Krebs-Risiko nachweisen. So zeigte sich bei Chemikararbeitern, die jedoch auch weiteren Substanzen gegenüber exponiert waren, eine "limited evidence" für die Karzinogenität von TCDD, mit einem relativen Risiko von 1,4 für alle Krebsarten (IARC 1997).

Zusammenfassend läßt sich für die CYP1A2-Aktivität der Leber sagen, daß diese zuverlässig und mit guter Reproduzierbarkeit durch mehrere Methoden als Koffein-Demethylierungsrate gemessen werden konnte (AT, SMR, CL und UMR1), während sich die ebenfalls untersuchten UMR2 und UMR3 (beide mit der Koffein-Konzentration im Nenner) als weniger brauchbar herausstellten. Bei den hoch TCDD-belasteten Personen 1 und 2 konnte eine ca. 10-fache Induktion nachgewiesen werden, die trotz fallender TCDD-Werte relativ konstant blieb und vermutlich einem Plateau in diesem Konzentrationsbereich entspricht. Weniger eindeutig waren die Ergebnisse der moderat exponierten Person 3, bei der sich reproduzierbar nur für zwei der verwendeten Methoden (AT, UMR1) eine Induktion im Vergleich zu Nichtrauchern nachweisen ließ. Möglicherweise liegt bei dieser Person eine Abweichung von üblichen Metabolisierungswegen vor. Die Annahme einer im Bereich von 1000 ppt noch nicht sicher vorliegenden Induktion wäre vereinbar mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen. Unter der Annahme, daß neben der CYP-Induktion auch weitere im Tierexperiment zu beobachtende TCDD-Effekte Ah-Rezeptor-vermittelt sind und so Wirkungen im extrem niedrigen Konzentrationsbereich erklären, würde eine Übertragung dieser Erkenntnisse auf den Menschen dessen relative TCDD-Unempfindlichkeit erklären. Bemerkenswert bleibt somit weiterhin, daß bei empfindlichen Menschen schon TCDD-Konzentrationen um 1000 ppt im Blutfett klinische Symptome in Form von Choleknie auslösen können (NEEDHAM et al., 1997/98; SWEENEY et al., 1997/98; COENRAADS et al., 1999), während bisher kein Biomarker entdeckt worden ist, der in

diesem Konzentrationsbereich individuell eine TCDD-Exposition sicher erkennen könnte. Wie für die Immunologie kann für den Hintergrundbereich eine relevante CYP1A2-Induktion in der Humanleber ausgeschlossen werden.

## 7. Literatur

- Abraham K, Krowke R, Neubert D (1988) Pharmacokinetics and biological activity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: 1. Dose-dependent tissue distribution and induction of hepatic ethoxyresorufin O-deethylase in rats following a single injection. *Arch Toxicol* 62:359-368
- Bertazzi PA, Bernucci I, Brambilla G, Consonni D, Pesatori AC (1998) The Seveso studies on early and long-term effects of Dioxin exposure: a review. *Environ Health Perspect* 106:626-633
- Berthou F, Ratanasavanh D, Riche C, Picart D, Voirin T, Guillouzo A (1989) Comparison of caffeine metabolism by slices, microsomes and hepatocyte cultures from adult human liver. *Xenobiotica* 19:401-417
- Brambilla P, Lambert GH, Cazzaniga M, Needham LL, Ferrari E, Patterson DG, Gerthoux P, Signorini S, Mocarelli P (1995) Caffeine breath tests in subjects exposed to dioxin at Seveso: preliminary results. *Clin Chem* 41:1926-1927
- Butler MA, Iwasaki M, Guengerich FP, Kadlubar FF (1989) Human cytochrome P-450<sub>PA</sub> (P-450IA2), the phenacetin O-deethylase, is primarily responsible for the hepatic 3-demethylation of caffeine and N-oxidation of carcinogenic arylamines. *Proc Natl Acad Sci* 86:7696-7700
- Campbell ME, Spielberg SP, Kalow W (1987) A urinary metabolic ratio that reflects systemic caffeine clearance. *Clin Pharmacol Ther* 42:157-165
- Coenraads PJ, Olie K, Tang NJ (1999) Blood lipid concentration of dioxins and dibenzofurans causing chloracne. *Br J Dermatol* 141:694-697
- Ernst M, Flesch-Janys D, Morgenstern I, Manz A (1998) Immune cell functions in industrial workers after exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: Dissociation of antigen-specific T-cell responses in cultures of diluted whole blood and of isolated peripheral blood mononuclear cells. *Environ Health Perspect* 106 (Suppl 2):701-705
- Freedman DS, Flanders WD, Barboriak JJ, Malarcher AM, Gates L (1996) Cigarette smoking and leukocyte subpopulations in men. *Ann Epidemiol* 6:299-306
- Geusau A, Abraham K, Geissler K, Sator MO, Stingl G, Tschachler E (2001) Severe 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) intoxication: clinical and laboratory effects. *Environ Health Perspect* 109:865-869
- Geusau A, Jurecka W, Nahavandi H, Schmidt JB, Stingl G, Tschachler E (2000) Punctate keratoderma-like lesions on the palms and soles in a patient with chloracne: a new clinical manifestation of dioxin intoxication? *Br J Dermatol* 143:1067-1071
- Geusau A, Tschachler E, Meixner M, Sandermann S, Pöpke O, Wolf C, Valic E, Stingl G, McLachlan M (1999) Olestra increases faecal excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Lancet* 354:1266-1267
- Grant DM, Tang BK, Kalow W (1984) A simple test for acetylator phenotype using caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 17:459-464

- Halparin W, Kalow W, Sweeney MH, Tang BK, Fingerhut M, Timpkins B, Wille K (1995) Induction of P-450 in workers exposed to dioxin. *Occupat Environ Med* 52:86-91
- IARC (1997) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Volume 69: Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and polychlorinated dibenzofurans. IARC, Lyon
- Jung D, Berg PA, Edler L, Ehrental W, Fenner D, Flesch-Janys D, Huber C, Klein R, Koitka C, Lucier G, Manz A, Muttray A, Needham LL, Pöpke O, Pietsch M, Portier C, Patterson D, Prellwitz W, Rose DM, Thews A, Konietzko J (1998) Immunologic findings in workers formerly exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and its congeners. *Environ Health Perspect* 106 (Suppl 2):689-695
- Kadlubar FF, Young JF, Lang NP, Caporaso NE, Sinha R, Landi MT (1996). Correspondence re: letter to the editor by BK Tang and W Kalow on CYP1A2 phenotyping using caffeine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5: 231, 1996. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5:757-8
- Kaiser J (2000). Just how bad is dioxin. *Science* 288:1941-1944
- Kalow W, Tang BK (1991) Use of caffeine metabolite ratios to explore CYP1A2 and xanthine oxidase activities. *Clin Pharmacol Ther* 50:508-518
- Kellermann G, Shaw CR, Luyten-Kellerman M (1973) Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma. *N Engl J Med* 289:934-937
- Kotake AN, Schoeller DA, Lambert GH, Baker AL, Schaffer DD, Josephs H (1982) The caffeine CO<sub>2</sub> breath test: dose response and route of N-demethylation in smokers and nonsmokers. *Clin Pharmacol Ther* 32:261-9
- Krüger N, Neubert B, Helge H, Neubert D (1990) Induction of caffeine-demethylations by 2,3,7,8-TCDD in marmoset monkeys measured with a <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> breath-test. *Chemosphere* 20:1173-1176
- Lambert GH, Schoeller DA, Humphrey HEB, Kotake AN, Lietz H, Campbell M, Kalow W, Spielberg SP, Budd M (1990) The caffeine breath test and caffeine urinary metabolite ratios in the Michigan cohort exposed to polybrominated biphenyls: a preliminary study. *Environ Health Perspect* 89:175-181
- Lambert GH, Hsu CC, Guo L, Ryan JJ, Schoeller DA (1994) The dose response relationship between the serum levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and cytochrome P4501A2 activity as determined by the caffeine breath test. *Organohalogen Compounds* 21:485-488
- Lambert GH, Mocarelli P, Hsu CC, Needham LL, Ryan JJ, Guo L, Brambilla P, Signorini S, Patterson DG, Lai TJ, Garcia F, Ferrari E, Schoeller, DA (1993) Cytochrome P4501A2 activity in dioxin exposed Seveso subjects as compared to polychlorinated biphenyl and polychlorinated dibenzofuran exposed Yucheng subjects. *Organohalogen Compounds* 14:253-2561
- Lang NP, Butler MA, Massengill J, Lawson M, Stotts RC, Hauer-Jensen M, Kadlubar FF (1994) Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P4501A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 3:675-82

- Michalek JE, Ketchum NS, Check IJ (1999) Serum dioxin and immunologic response in veterans of Operation Ranch Hand. *Am J Epidemiol* 149:1038-1046
- Mocarelli P, Gerthoux PM, Brambilla P, Marocchi A, Beretta C, Bertona M, Cazzaniga M, Colombo L, Crespi C, Ferrari E, Limonta G, Sarto C, Signorini S, Tramacere PL (1999) Dioxin health effects on humans twenty years after Seveso: a summary. In: *The Seveso accident 20 years on* (Ballarin-Denti A, Bertazzi PA, Facchetti S, Mocarelli P, eds) Elsevier, New York, 41-51
- Needham LL, Gerthoux PM, Patterson DG, Brambilla P, Turner WE, Beretta C, Pirkle JL, Colombo L, Sampson EJ, Tramacere PL, Signorini S, Meazza L, Carreri V, Jackson RJ, Mocarelli P (1997/98) Serum dioxin levels in seveso, Italy, population in 1976. *Teratogenesis Carcinog Mutagen* 17:225-240
- Neubert R, Maskow L, Webb J, Jacob-Müller U, Nogueira AC, Delgado I, Helge H, Neubert D (1993) Chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans and the human immune system. 1. Blood cell receptors in volunteers with moderately increased body burdens. *Life Sciences* 53:1995-2006
- Neubert R, Maskow L, Webb J, Delgado I, Helge H, Neubert D (1995) Chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans and the human immune system. 2. In vitro proliferation of lymphocytes from workers with quantified moderately-increased body burdens. *Life Sciences* 56:421-436
- Neubert R, Brambilla P, Gerthoux PM, Mocarelli P, Neubert D (1999) Relevant data as well as limitations for assessing possible effects of polyhalogenated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans on the human immune system. In: *The Seveso accident 20 years on* (Ballarin-Denti A, Bertazzi PA, Facchetti S, Mocarelli P, eds). Elsevier, New York, 99-123
- Neubert R, Maskow L, Triebig G, Broding HC, Jacob-Müller U, Helge H, Neubert D (2000) Chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans and the human immune system. 3. Plasma immunoglobulins and cytokines of workers with quantified moderately-increased body burdens. *Life Sciences* 66:2123-2142
- Ott MG, Zober A, Germann C (1994) Laboratory results for selected target organs in 138 individuals occupationally exposed to TCDD. *Chemosphere* 29:2423-2437
- Päpke O, Ball M, Lis A, Scheunert K (1989) PCDD/PCDFs in whole blood samples of unexposed persons. *Chemosphere* 19:941-948
- Päpke O (1997) PCDDs/Fs in human blood, a fast and sensitive method. *Organohalogen Compounds* 31:212-214
- Päpke O (1998) PCDD/PCDF: Human background data for Germany, a 10-year experience. *Environ Health Perspect* 106 (Suppl 2):723-731
- Poellinger L (2000) Mechanistic aspects – the dioxin (aryl hydrocarbon) receptor. *Food Add Contam* 17:261-266
- Renner E, Wietholtz H, Huguenin P, Arnaud MJ, Preisig R (1984) Caffeine: a model compound for measuring liver function. *Hepatology* 4:38-46

- Rost KL, Brösicke H, Brockmöller J, Scheffler M, Helge H, Roots I (1992) Increase of cytochrome P450IA2 activity by omeprazole: Evidence by the <sup>13</sup>C-[N-3-methyl]-caffeine breath test in poor and extensive metabolizers of S-mephenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 52:170-180
- Rostami-Hodjegan A, Nurminen S, Jackson PR, Tucker GT (1996) Caffeine urinary metabolite ratios as markers of enzyme activity: a theoretical assessment. *Pharmacogenetics* 6:121-49
- Schaberg T, Theilacker C, Nitschke OT, Lode H (1997) Lymphocyte subsets in peripheral blood and smoking habits. *Lung* 175:387-394
- Schrenk D, Stuvén T, Gohl G, Viebahn R, Bock KW (1995) Induction of CYP1A and glutathione S-transferase activity by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in human hepatocyte cultures. *Carcinogenesis* 16:943-949
- Schulz-Schalge T, Golor G, Stahlmann R (1992) Biological effect of high doses of TCDD in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. Plateau of ethoxyresorufin O-deethylase activity in liver microsomes. *Chemosphere* 25:991-995
- Schulz-Schalge T, Koch E, Golor G, Wiesmüller T, Hagenmaier H, Neubert D (1991) Comparison of the induction of cytochrome P450 and ethoxyresorufin O-deethylase by a single subcutaneous administration of TCDD in liver microsomes of marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) and rats. *Chemosphere* 23:1933-1939
- Schumacher G (1995) Der <sup>13</sup>C-Coffein-Atemtest zur Prüfung der Induktion von Cytochrom-P450IA2 bei Rauchern und Nichtrauchern, Freie Universität Berlin, Promotionschrift
- Sinués B, Sáenz MA, Lanuza J, Bernal ML, Fanlo A, Juste JL, Mayayo E (1999) Five caffeine metabolite Ratios to measure tobacco-induced CYP1A2 activity and their relationships with urinary mutagenicity and urine flow. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8:159-166
- Sweeney MH, Calvert GM, Egeland GA, Fingerhut MA, Halperin WE, Piacitelli LA (1997/98) Review and update of the results of the NIOSH medical study of workers exposed to chemicals contaminated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin. *Teratogenesis Carcinog Mutagen* 17:241-247
- Tang BK, Zhou Y, Kadar D, Kalow W (1994) Caffeine as a probe for CYP1A2 activity: potential influence of renal factors on urinary phenotypic trait measurements. *Pharmacogenetics* 4:117-24
- Tonn T, Esser C, Schneider EM, Steinmann-Steiner-Haldenstädt W, Gleichmann E (1996) Persistence of decreased T-helper cell function in industrial workers 20 years after exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Environ Health Perspect* 104: 422-426
- Vestisen K, Poulsen HE, Loft S (1992) Foreign compound metabolism capacity in man measured from metabolites of dietary caffeine. *Carcinogenesis* 13:1561-1568

## 8. Verwendete Abkürzungen

AFMU	5-Acetylamino-6-Formylamino-3-Methyluracil
AT	Atemtest
CL	Clearance
cpm	counts per minute
CYP	Cytochrom P450
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
IFN	Interferon
IL	Interleukin
Lf	Letalitätsfaktor
Nk	Natural killer
PBMCs	Peripheral Blood Mononuclear Cells (Lymphozyten und Monozyten)
PCBs	polychlorierte Biphenyle
PCDDs	polychlorierte Dibenzo- <i>p</i> -dioxine
PCDFs	polychlorierte Dibenzofurane
ppt	parts per trillion (= pg/g)
SI	Stimulations-Index (Ratio: cpm Stimulus/cpm Medium-Kontrolle)
SMR	Serum-Metaboliten-Ratio (Paraxanthin/Koffein)
TCDD	2,3,7,8-Tetrachlordibenzo- <i>p</i> -dioxin (TCDD)
UMR	Urin-Metaboliten-Ratio
UMR1	Urin-Metaboliten-Ratio: (AFMU+1U+1X)/17U
UMR2	Urin-Metaboliten-Ratio: (17X+17U)/137X
UMR3	Urin-Metaboliten-Ratio: 17X/137X
1U	1-Methylharnsäure (1-methyluric acid)
17U	1,7-Dimethylharnsäure (1,7-dimethyluric acid)
1X	1-Methylxanthin
17X	1,7-Dimethylxanthin (Paraxanthin)
137X	1,3,7-Trimethylxanthin (Koffein)

## 9. Danksagung

Diese Untersuchungen waren nur möglich durch die große Kooperationsbereitschaft der TCDD-exponierten Personen in Wien, denen der erste Dank gebührt. Ebenso möchte ich den Kontrollpersonen in Berlin danken.

Bei den Laboruntersuchungen in Berlin danken möchte ich für die engagierte und zuverlässige Arbeit Frau Oberreit und Frau Ellensohn (Immunologische Messungen, Labor der Klinik für Pädiatrische Pneumologie und Immunologie der Charité), Frau Pfundstein (<sup>13</sup>C-Messung der Atemtestproben, Labor Prof. Dr. M. Becker, Klinik für Allgemeine Pädiatrie der Charité) sowie Herrn Dr. Steffen Bauer (Messung der Koffein-Metaboliten in Serum und Urin, Institut für Klinische Pharmakologie der Charité).

Die Bestimmung der Diphtherie-Antikörper im Serum wurde freundlicherweise von Prof. Dr. Dr. P. Bartmann (Zentrum für Kinderheilkunde der Universität Bonn) durchgeführt.

An der zuverlässigen Durchführung der Atemtests war wesentlich Cand. med. Yalcin Tosun beteiligt.

Für die Unterstützung und Beratung gilt mein Dank Herrn Dr. Horsch und Herrn PD Dr. Krug im Forschungszentrums Karlsruhe und ebenso Herrn Dr. Wuthe im Sozialministerium des Land Baden-Württemberg, das durch die Bereitstellung der Mittel aus "BWPLUS" diese Untersuchung erst möglich gemacht hat.

Zuletzt gilt mein Dank für die Hilfe bei der Planung und Auswertung sowie für die Unterstützung bei der Diskussion der Ergebnisse des Projektes Prof. emeritus Dr. H. Helge (Kinderklinik des Virchow-Klinikums), Prof. Dr. J. Brockmöller (ehemals Institut für Klinische Pharmakologie der Charité, jetzt Abteilung für Klinische Pharmakologie der Georg-August-Universität Göttingen) sowie der Oberärztin der Immundermatologischen Abteilung der Universität Wien, Frau Dr. A. Geusau, die auch wesentlich an der Durchführung der Untersuchungen in Wien beteiligt war. Für die Gesamtunterstützung des Projektes danke ich Prof. Dr. U. Wahn (Direktor der Klinik für Pädiatrische Pneumologie und Immunologie der Charité) und Prof. Dr. G. Stingl (Leiter der Immundermatologischen Abteilung der Universität Wien).

## 10. Zusammenfassung

Im Herbst 1997 wurden in Wien mehrere Mitarbeiter eines Textil-Forschungsinstituts auf bislang ungeklärte Weise gegenüber 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD) exponiert. Die mehrere Monate später erstmals im Blutfett gemessenen TCDD-Werte betragen bei den 3 höchstbelasteten Angestellten 144.000 (Person 1), 26.000 (Person 2) und 870 ppt (Person 3). Bei Person 1 und 2 wurden somit die höchsten jemals bei Erwachsenen gemessenen TCDD-Werte festgestellt. Person 1 leidet an einer schweren Chlorakne des gesamten Körpers, während die Chlorakne bei Person 2 auf das Gesicht beschränkt war und inzwischen vollständig abgeklungen ist.

Im Rahmen dieses Projektes wurden die genannten 3 Personen genauer untersucht hinsichtlich von Veränderungen des Immunsystems (weißes Blutbild, Granulozyten-Funktion, Lymphozyten-Proliferation und Zytokin-Produktion nach Stimulation mit Mitogenen und Antigenen, Lymphozyten-Subpopulationen, Antikörper-Produktion) und der Cytochrom-P450-Induktion (Koffein-Metabolismus durch CYP1A2, gemessen als <sup>13</sup>C-Atemtest, Konzentrationsabfall im Serum, Metaboliten-Bildung im Serum und Urin). Zum Vergleich wurde eine altersentsprechende Kontrollgruppe (n=50, davon 30 Nichtraucher und 20 starke Raucher) untersucht. Die Einbeziehung von starken Rauchern bei der Kontrollgruppe zeigte sich als sinnvoll sowohl unter dem Aspekt der Qualitätskontrolle (Bestätigung bekannter Effekte durch Zigarettenrauch) und der Relativierung von (möglichen) TCDD-Effekten. Die Interpretation der Daten bezüglich solcher Effekte bei Person 1 und 2 wurde dadurch erleichtert, daß bei Person 1 und 2 die Höhe der TCDD-Exposition beispiellos ist (ohne Co-Exposition gegenüber anderen persistenten Organochlor-Verbindungen) und es sich um junge Nichtraucher handelt, die vor der Exposition gesund waren. Bei der Untersuchung im Oktober 2000 betragen die aktuell im Blutfett von den Personen 1, 2 und 3 gemessenen TCDD-Konzentrationen 30.300, 10.100 bzw. 420 ppt.

Insgesamt zeigte die umfangreiche Untersuchung wesentlicher Teile des Immunsystems trotz der extremen TCDD-Exposition bei Person 1 und 2 keine eindeutigen Auffälligkeiten, die auf diese Exposition zurückgeführt werden könnten. Bei Einbeziehung von Voruntersuchungen und von Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen sind möglicherweise die relativ hohe Lymphozytenzahl im peripheren Blut, der relativ niedrige prozentuale Nk-Zell-Anteil bei den Lymphozyten und die erhöhte Lymphozyten-Proliferation nach Mitogen- und Candida-Stimulation als TCDD-Effekte anzusehen. Diese Veränderungen waren jedoch nicht gravierend und lagen im Fall der Candida-Stimulation innerhalb des "Normalbereichs" von Rauchern. Die beobachteten leichten Veränderungen haben sehr wahrscheinlich keine klinische Relevanz, wie auch die bisherige Nachbeobachtung der TCDD-exponierten Personen keinen Anhalt für eine Beeinträchtigung deren Immunsystems bot. Es bestätigte sich somit erneut, daß immunologische Parameter sicherlich nicht als empfindliche Biomarker einer TCDD-Exposition angesehen werden können. Für den Hintergrundbereich kann daher mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Wirkung der Dioxin-Exposition (einschließlich anderer Organochlor-Verbindungen mit Affinität zum Ah-Rezeptor) auf das Immunsystem des Erwachsenen Menschen ausgeschlossen werden. Daß dieses sehr wohl empfindlich bezüglich der Einwirkung von den Fremdstoffen ist,

läßt sich daran ablesen, daß von den ausgewerteten 164 Parametern 34 signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen der Nichtraucher und der Raucher zeigten.

Die CYP1A2-Aktivität der Leber konnte zuverlässig und mit guter Reproduzierbarkeit durch mehrere Methoden als Koffein-Demethylierungsrate gemessen werden (kumulative <sup>13</sup>C-Exhalation im Atemtest, Serum-Metaboliten-Ratio: Paraxanthin/Koffein, Koffein-Gesamt-Clearance und Urin-Metaboliten-Ratio UMR1: AFMU+1U+1X)/17U), während sich die ebenfalls untersuchten Urin-Metaboliten-Ratios UMR2 und UMR3 (beide mit der Koffein-Konzentration im Nenner) als weniger brauchbar herausstellten. Bei den hoch TCDD-belasteten Personen 1 und 2 konnte eine ca. 10-fache Induktion nachgewiesen werden (im Vergleich zu ebenfalls nichtrauchenden Menschen; Raucher hatten bei den verschiedenen untersuchten Parametern durchschnittlich zwischen 1,4 und 1,8-fach höhere Werte als Nichtraucher). Die Einbeziehung der seit Dezember 1998 bei ihnen mehrfach durchgeführten Voruntersuchungen zeigte, daß trotz mit der Zeit fallender TCDD-Werte die Induktion relativ konstant blieb und in diesem Konzentrationsbereich vermutlich einem Maximum auf einem Plateau entspricht. Weniger eindeutig waren die Ergebnisse der moderat exponierten Person 3, bei der sich reproduzierbar nur für zwei der verwendeten Methoden (kumulative <sup>13</sup>C-Exhalation im Atemtest und Urin-Metaboliten-Ratio UMR1: AFMU+1U+1X)/17U) eine Induktion im Vergleich zu Nichtrauchern nachweisen ließ. Möglicherweise liegt bei dieser Person eine Abweichung von üblichen Metabolisierungswegen vor. Die Annahme einer im Bereich von 1000 ppt noch nicht sicher vorliegenden Induktion wäre vereinbar mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen. Unter der Annahme, daß neben der CYP-Induktion auch weitere im Tierexperiment zu beobachtende TCDD-Effekte Ah-Rezeptor-vermittelt sind und so Wirkungen im extrem niedrigen Konzentrationsbereich erklären, würde eine Übertragung dieser Erkenntnisse auf den Menschen dessen relative TCDD-Unempfindlichkeit erklären.

Bemerkenswert bleibt somit weiterhin, daß nach Literaturangaben bei empfindlichen Menschen schon TCDD-Konzentrationen um 1000 ppt im Blutfett klinische Symptome in Form von Chorakne auslösen können, während bisher kein Biomarker entdeckt worden ist, der in diesem Konzentrationsbereich eine TCDD-Exposition individuell erkennen könnte. Somit kann für den Hintergrundbereich des Erwachsenen mit hoher Sicherheit ausgeschlossen werden, daß TCDD eine relevante Wirkung auf immunologische Parameter oder auf die hepatische CYP1A2-Aktivität hat. Dies gilt auch bei Einbeziehung verwandter Substanzen mit Affinität zum Ah-Rezeptor.