

FORSCHUNGSBERICHTSBLATT

Projektnummer/Förderkennzeichen: PUG P 95003a/b

Vorhaben: Anthropogene und biogene Schadstoffe in Lebensmitteln: Immun-und neurotoxische Wirkungen im Intestinaltrakt

Projektleiter: Frau Prof. Dr. B.L. Pool-Zobel, Frau Prof.Dr. G. M. Hänsch

Institution: Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe, Institut für Ernährungsphysiologie

Institut für Immunologie der Universität Heidelberg

Förderzeitraum: 1. 4. 1995 – 31.3.1997 (P 95003a)

1.4. 1995 – 31.5.1997 (P 95003b)

Förderbetrag: 330.600 DM

184.300 DM

Was war Anlaß und Ziel für die Förderung?

Die Zunahme allergischer Erkrankungen in den westlichen Industrienationen macht es notwendig, deren Ursachen von unterschiedlichen Ansatzpunkten aus zu klären. Ein wesentlicher Aufnahmepfad antigener, damit potentieller allergener Substanzen ist der Magen-Darm-Trakt.

In diesem Verbundvorhaben sollte, aufbauend auf Ergebnissen eines Vorprojektes, die mögliche Rolle von Schadstoffen aus der Nahrung auf die Entstehung oder Modulation von Nahrungsmittel-assoziierten Allergien untersucht werden. Es wurden Tiermodelle und in vitro Methoden (Zellteste) entwickelt um zu überprüfen, ob die eingesetzten Modellsubstanzen das Darmepithel schädigen oder die Permeabilität der Darmwand erhöhen, das Darm-assoziierte Immunsystem beeinflussen und die spezifische Immunantwort gegenüber einem exemplarischen Nahrungsmittelallergen (Ovalbumin) bei sensibilisierten Tieren verändern. Als Modellsubstanzen wurden eingesetzt: das Mykotoxin Aflatoxin B (AFB), das Schwermetall Quecksilber, in Form organischen Methylquecksilbers (MeHgCl) und in Form anorganischen Quecksilberchlorids (HgCl₂), als Pflanzeninhaltsstoff das Lektin Weizenkeimagglutinin (WGA).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen geben Hinweise auf die Wirkung ubiquitär vorhandener Schadstoffe in unserer Nahrung auf das Darm-assoziierte Immunsystem und über zugrundeliegende Pathomechanismen. Es wurden in vitro- und in vivo- Untersuchungsmodelle entwickelt, die für weitere Untersuchungen zu Schadstoffwirkungen, Kombinationswirkungen geeignet sind. Übergeordnetes Ziel ist, Daten zur Risikoabschätzung für die humane Belastungssituation zu erhalten.

Kurzbeschreibung der Forschungsergebnisse

Zu Aflatoxin B: In vitro –Untersuchungen zum Nachweis einer direkten toxischen Wirkung auf intestinale Epithelzellen zeigten, dass AFB eine signifikant genotoxische (erbgutschädigende) Wirkung hat (ab einer Konzentration von $30\mu\text{M}$). In in vivo –Untersuchungen an DNAMESENTERIALER Lymphknoten konnten dahingegen genotoxische Effekte nicht gemessen werden. Es wurden in in vivo-Untersuchungen immunmodulatorische Wirkungen an mesenterialen Lymphozyten nachgewiesen, aber keine Beeinflussung der spezifischen Immunantwort auf das Allergen Ovalbumin in sensibilisierten Tieren.

Zu Quecksilberverbindungen: Beide Verbindungen waren in den in vitro-Untersuchungen sowohl zellschädigend wie genotoxisch ab einer Konzentration von $10\mu\text{g/ml}$. Ebenso führte die in vivo-Exposition zu genotoxischen Effekten an intestinalen Epithelzellen (Dünndarm) und mesenterialen Lymphozyten bei einer Dosis von $5 \times 0,2\text{mg/kgKG}$. Zum Vergleich: die tägliche Aufnahmemenge für Quecksilberverbindungen über die Nahrung beträgt etwa $8\text{--}12\mu\text{g}$. Die intestinale Permeabilität war nach Exposition mit HgCl_2 für den niedermolekularen Farbstoff Fluoreszin nicht für OVA erhöht, die elektrische Leitfähigkeit war ebenfalls erhöht. Eine neurotoxische Wirkung des HgCl_2 als Ursache der erhöhten Permeabilität wie der erhöhten Leitfähigkeit konnte nicht festgestellt werden (Blockierung der neuronalen Aktivität durch das Nervengift TTX führte zu keiner Änderung der Untersuchungsergebnisse).

Immunmodulatorische Effekte waren ein signifikanter Abfall zytotoxischer T-Lymphozyten in nicht gegen OVA sensibilisierten Tieren, an den sensibilisierten Tieren konnte dahingegen ein signifikanter Anstieg spezifischer IGE- und IGG Antikörper gemessen werden nach einmaliger hochdosierter Schadstoffkonzentration, auch ein Aktivierungsmarker von Mastzellen der Darmschleimhaut (Mastzellen spielen als Zellen des Immunsystems eine wichtige Mittlerrolle bei entzündlichen wie allergischen Prozessen im Organismus) war in den in vivo-Untersuchungen erhöht. Niedrig dosierte mehrfache Schadstoffapplikationen führten zu gleichsinnigen nicht signifikanten Reaktionen bezüglich spezifischer IGE –und IGG Antikörperbildung.

Zu WGA: Es konnte keine Erhöhung der intestinalen Permeabilität gemessen werden. WGA supprimierte bei OVA-sensibilisierten Tieren die spezifische IGE-und IGG Antikörperbildung, der Aktivierungsmarker der mukosalen Mastzellen war signifikant erhöht. Die Fraktion der zytotoxischen T-Lymphozyten aus der Milz war signifikant bei den sensibilisierten Tieren erhöht.

Zusammenfassend: das abgeschlossene Verbundprojekt hat die Wirkungen von Modell-schadstoffen unterschiedlicher Kategorien auf das gastrointestinale Immunsystem und die Darmwand im Tiermodell und parallel in in vitro-Zelltesten mittels exemplarischer immunologischer und toxikologischer Parameter untersucht um mögliche Einflussfaktoren auf eine Allergieentstehung oder deren Ausprägung zu klären. So hat Aflatoxin eine immunmodulatorische Wirkung über eine Aktivierung von zytotoxischen T-Lymphozyten in mesenterialen Lymphknoten, jedoch keinen Einfluss auf einen spezifischen Parameter allergischer Reaktivität. In in vitro-Untersuchungen zeigten sich zytotoxische und genotoxische Effekte. Quecksilber erwies sich in den untersuchten Verbindungen ebenfalls als zell- und erbgutschädigend. Die elektrische Leitfähigkeit und die intestinale Permeabilität für einen niedermolekularen Farbstoff waren nach HgCl_2 erhöht, neurotoxische Effekte als Ursache konnten nicht gemessen werden. Auffallend ist nach hochdosierter Exposition ein signifikanter Anstieg der spezifischen IGE-und IGG Antikörper bei den sensibilisierten Tieren. WGA hatte keinen Einfluss auf die intestinale Permeabilität, es unterdrückte die Bildung der spezifischen Antikörper bei den sensibilisierten Tieren.

Wissenschaftliche bzw. technologische Fortschritte durch das Vorhaben

Die Kooperation der wissenschaftlichen Arbeitsgruppen der Toxikologie, Immunologie und Ernährungswissenschaften hat zu einer Weiterentwicklung von in vitro-Untersuchungen und in vivo-Modellen geführt, die der Frage nach toxischen und immunologischen Wirkungen von Schadstoffen in unserer Nahrung auf den Darm und das Darm-assoziierte Immunsystem in einem breit gefächertem Untersuchungsspektrum nachgehen konnten mit Schwergewicht auf der Frage nach möglichen Einflussfaktoren auf Nahrungsmittel-Allergien. Es wurden Basisdaten zu verbreitet vorkommenden, in unserer Gesellschaft diskutierten Schadstoffen wie Quecksilber, Schimmelpilzgifte und Pflanzeninhaltsstoffe erarbeitet. Sie zeigen, dass Quecksilberverbindungen Einfluss auf das Darm-assoziierte Immunsystem haben und einen begünstigenden Effekt auf spezifische allergische Parameter nach hochdosierter Exposition haben können. Die in den Tierversuchen eingesetzten Konzentrationen liegen deutlich über den der humanen Expositionssituatuion. Für Aflatoxin und WGA konnten keine begünstigenden Effekte für diesen spezifischen Parameter der allergischen Reaktion gefunden werden, dahingegen Effekte auf andere immunologische Parameter (zytotoxische T-Lymphozyten) und für Aflatoxin und Hg zyto- und genotoxische Effekte.

Bewertung

Es wurden damit Fortschritte zu grundlegenden Fragen toxischer und immunologischer Wirkungen verschiedenartiger Schadstoffe auf die Darmwand und das Darm-assoziierte Immunsystem erzielt, es fehlen Daten zu Kombinationswirkungen, eine Übertragung auf die komplexe Humansituation ist verfrüht.

Empfehlung für die Umsetzung/Praxis

Diese können noch nicht gegeben werden.

Ist das Ergebnis für eine Veröffentlichung vorgesehen/geeignet?

Die Autoren haben drei wissenschaftliche Veröffentlichungen in englischsprachigen Fachzeitschriften vorgesehen. Darüberhinaus empfiehlt die Projektleitung eine veröffentlichung in der PUG-Berichtsreihe.

Weitere vorgesehene Schritte

keine