

Projektnummer/Förderkennzeichen: PUG L 94003

Vorhaben: Wirkung von Ozon auf die in vitro – Bildung und –Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Wachstumsfaktoren durch Alveolarmakrophagen bei Patienten mit chronisch bronchopulmonalen Entzündungen

Projektleiter: Prof. Dr. W. Ebert

Institution: Thoraxklinik der LVA Baden, Heidelberg – Rohrbach

Förderzeitraum: 1. 4. 1994 – 30. 11. 1996

Förderbetrag: 374.648,84 DM

Was war Anlaß und Ziel für die Förderung?

Um den Grundlagen möglicher Schadwirkungen des Ozons auf die Gesundheit des Menschen nachzugehen, ist aus experimentellen und ethischen Gründen die Anwendung und stete Verbesserung von in vitro Methoden notwendig. Aus Voruntersuchungen, sowohl in epidemiologischen, tierexperimentellen wie in in vitro-Ansätzen, war der Hinweis auf entzündliche Veränderungen an den Atemwegen und im Tierversuch nach Langzeitexposition u.a. auf irreversible Lungengerüstveränderungen im Sinn einer Fibrose gegeben.

In in vitro Experimenten an den Effektorzellen humaner Atemwege wurden Teilaspekte des komplexen Netzwerks der Entzündung untersucht. Mit diesen Arbeiten konnten erste Erkenntnisse zu den Reaktionen der Zellen, die in erstem Kontakt mit Luftschadstoffen stehen, wie Bronchialepithelzellen und Alveolarmakrophagen (Lungen-Freßzellen) mittels sezernierter Botenstoffe ermittelt werden.

Diese Erkenntnisse bilden die Grundlage für das Verständnis der Entstehung und Aufrechterhaltung (und Schweregrad) von Entzündungsprozessen und damit die Voraussetzung für mögliche präventive, diagnostische und therapeutische Maßnahmen, in Bezug auf die einzelnen untersuchten Luftschadstoffe wird eine gesundheitsbezogene Risikoabschätzung angestrebt.

Aufgrund bekannter Ozoneffekte sollte der Frage nachgegangen werden, in welcher Weise Ozon in Konzentrationen von $150\mu\text{g}/\text{m}^3$ bis $1000\mu\text{g}/\text{m}^3$ entzündungsrelevante Funktionen von humanen Alveolarmakrophagen beeinflusst. In diesem Untersuchungsmodell wurden die humanen Zellen über Routine-Bronchiallavagen (Lungenspiegelung mit Spülung) gewonnen, die an unterschiedlichen Patientengruppen durchgeführt wurden. Dieser Ansatz wurde gewählt, um zu überprüfen, ob die Zellen je nach zugrundeliegender Krankheit (chronische Bronchitis, Fibrose, Sarkoidose) eine typische Reaktivität auf Ozon zeigen. Hieraus ließe sich ein erster Hinweis auf eine mögliche Beeinflussung dieser Erkrankungen, ihres Verlaufes, durch eine Ozonexposition aufzeigen. Bei den gewählten drei Atemwegserkrankungen handelt es sich um chronisch entzündliche Geschehen. Die Fibrose der Lunge bedeutet eine irreversible Veränderung des Lungengerüsts mit nachfolgender Einschränkung der Lungenelastizität und Einschränkung der Gasaustauschfläche. Die Sarkoidose unterschiedlicher Schweregrade ist ein chronisches Krankheits-Geschehen insbesondere des Lymphgewebes der Atemwege mit herdförmigen Entzündungen unbekannter Ursache. Diese Erkrankungen führen je nach Schweregrad zu einer bedeutenden Einschränkung der Lebensqualität der Betroffenen.

Aus Voruntersuchungen haben sich weiterhin Hinweise auf mögliche Ozoneffekte im Sinn einer negativen Beeinflussung der Infektabwehr (bakterieller und viraler Infektionen) ergeben. Hierzu sollten Untersuchungen zur Reaktivität von murinen (Maus) Alveolarmakrophagen auf Ozon nach Zugabe von LPS (Lipopolysaccharid= Zellwandbestandteil von gramnegativen Bakterien wie Pneumonieerregern) durchgeführt werden. LPS oder Endotoxin "induziert in isolierter Form eine Vielzahl von Wirkungen, die als "bakterielle Sepsis" bekannt sind. LPS aktiviert das Monozyten/Makrophagensystem (Abwehrzellen), was u.a. in einer Freisetzung entzündungsfördernder Botenstoffe resultiert." Es muß im Zusammenhang mit diesem Projekt betont werden, daß ein wichtiges Element dieser Forschungsarbeiten auch in der Etablierung aussagefähiger, realitätsnaher in vitro-Modelle zu sehen ist, denen eine Reihe von Einschränkungen durch die experimentellen Bedingungen auferlegt ist. In den ersten Untersuchungsreihen von Arbeitsgruppen zur Wirkung von Luftschadstoffen an Atemwegs-relevanten Zellen z. B. setzte deren Überlebensfähigkeit der Versuchsdauer Grenzen.

Kurzbeschreibung der Forschungsergebnisse

Ozon wirkte bereits bei umweltrelevanten Konzentrationen zytotoxisch (=als Zellgift) auf Alveolarmakrophagen (AM). Von Patient zu Patient gab es für die einzelnen Zell-Botenstoffe eine große individuelle Variabilität bezüglich Richtung und Höhe der Ozonantwort. Die Alveolarmakrophagen der Patientengruppen Sarkoidose, Fibrose und chronische Bronchitis unterschieden sich zwar in der Basisfreisetzung der Zytokine, wobei die AM der Sarkoidosepatienten für die untersuchten Zytokine die höchsten Sekretionsraten aufwiesen. Die Patientengruppen wiesen jedoch keine spezifische ozonbedingte Sekretionsänderung auf. Ozon verminderte bei allen eingesetzten Konzentrationen die LPS-induzierte (Bakterienendotoxin) Sekretion der Zytokine TNF und IL6 um bis zu 50%. Der Hemmeffekt des Ozon auf die LPS-induzierte TNF-Freisetzung konnte am Modell der Maus-Makrophagen-Zelllinie J774A.1 auf eine funktionelle Schädigung des LPS-Rezeptors zurückgeführt werden.

Wissenschaftliche bzw. technologische Fortschritte durch das Vorhaben

Die Ergebnisse in diesem In vitro Modell verdeutlichen, daß Ozon bereits bei umweltrelevanten Konzentrationen (um $300\mu\text{g}/\text{m}^3$) an AM funktionelle Schäden hervorruft und die Mediatorfreisetzung moduliert, insbesondere nach zusätzlicher Aktivierung durch bakterielles LPS. Die Ozonantwort selbst scheint eher durch individuelle Faktoren als durch die Grunderkrankung des Patienten beeinflußt zu werden. Trotzdem muß zumindest bei einigen Patienten, deren AM eine entsprechende Mediatorveränderung nach Ozonexposition aufwiesen, mit einer Verstärkung des individuellen Entzündungsprozesses gerechnet werden.

Bewertung

positiv

Empfehlung für die Umsetzung/Praxis

Die Ergebnisse zeigen, daß weitere Forschung bezüglich der Ozonwirkung auf Abwehrzellen und allgemein Zellen des Immunsystems in modernen und entwicklungsfähigen In vitro-Systemen notwendig ist. Insbesondere sind Untersuchungen in Richtung Zell-Zell-Wchselwirkung in Form von Kokultur-Systemen anzustreben, um eine weitere Annäherung

an die in vivo Bedingungen zu erreichen und um die in der Lunge ablaufenden komplexen Interaktionen besser zu verstehen.

Ist das Ergebnis für eine Veröffentlichung vorgesehen/geeignet?

Die Ergebnisse wurden in der PUG-Berichtsreihe unter FZK PUG 29, Oktober 97 veröffentlicht.