

6. ZUSAMMENFASSUNG

Hauptemissionsquellen von Benzol (C_6H_6) sind Abgase von Kraftfahrzeugen. In Industrieländern werden vom Menschen (Nichtraucher) täglich durch Inhalation 70-150 μg aufgenommen. Der größte Teil des inhaleden Benzols wird wieder abgeatmet. Der im Körper verbleibende Teil wird vorwiegend im Fettgewebe gespeichert. Es gibt Hinweise dafür, daß Benzolmetaboliten Allergien auslösen können. Ein zugrundeliegender Immunmechanismus konnte bisher jedoch noch nicht überzeugend nachgewiesen werden. Für die Erkrankung der aplastischen Anämie könnte auch eine Immunpathogenese im Zusammenhang mit Benzol verantwortlich sein.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde mittels Blutanalysen bei der Maus gezeigt, daß die im direkten Popliteallymphknoten-Test (PLKT) eingesetzten Benzol- und Benzolmetaboliten-Dosen keine Anämie induzieren.

Tiere, die einmalig subkutan mit unterschiedlichen Dosen des reaktiven Benzolmetaboliten Benzochinon behandelt wurden, zeigten keine Dosis-Wirkungs-Beziehung im Hinblick auf Veränderungen ihrer Blutparameter. Gleichfalls trat zu keinem Zeitpunkt nach einmaliger Benzol- oder Benzochinon-Behandlung im Verlauf von zwölf Wochen eine statistisch abgesicherte Anämie auf. Selbst Tiere, die eine spezifische Zweitantwort gegen den Benzolmetaboliten Benzochinon aufwiesen, hatten ein physiologisches Blutbild.

Im zweiten Teil wurde mit Hilfe des direkten Popliteallymphknoten-Tests bei der Maus gezeigt, daß Benzolmetaboliten eine Immunantwort induzieren können. Der Benzolmetabolit Benzochinon induzierte die stärkste Immunantwort, gefolgt von Hydrochinon und Catechol. Die Primärantwort gegen Hydrochinon und Benzochinon war dosisabhängig. Daß Benzochinon ein potentes Immunogen ist, wurde neben der Stärke der Immunantwort auch durch die bis zwölf Wochen nach einmaliger Behandlung nachweisbare Primärantwort gezeigt. Die in der Literatur beschriebene höhere Empfänglichkeit von DBA/2-Mäusen gegenüber Benzolmetaboliten im Vergleich mit C57BL/6-Mäusen wurde im PLKT bestätigt. Ein Vergleich der Umweltschadstoffe Benzol und Anilin und ihrer reaktiven Metabolite Benzochinon bzw. Nitrosobenzol zeigte, daß die Umwandlung von Benzol einen stärker sensibilisierenden Metaboliten hervorbringt als die des Anilins. Die Beteiligung von T-Zellen an der Immunreaktion wurde in T-zellarmen Nacktmäusen für die Metaboliten Benzochinon und Hydrochinon nachgewiesen, die Spezifität der Immunantwort durch eine spezifische Zweitantwort gegen Benzochinon belegt. Die spezifische Zweitantwort konnte im selben

Tier und durch die Übertragung von Gedächtniszellen für Benzochinon aus Spendertieren in Empfängertiere im Adoptivtransfer-PLKT gezeigt werden. Anschließend wurde dokumentiert, daß nur eine richtige Sensibilisierungsdosis und ein richtiger Challengezeitpunkt zur Erzielung einer spezifischen Zweitantwort gegen Benzochinon führen. Eine Toleranz gegen Benzochinon konnte nicht induziert werden.

FACScan-Analysen der Primär- und der Sekundärantwort gegen Benzochinon ergaben eine Zunahme des B-Zellanteils und eine Abnahme des T-Zellanteils im poplitealen Lymphknoten.

Die Auslösung einer T-Zellantwort durch Benzolmetabolite wird in dieser Arbeit erstmals beschrieben.

Warum die bereits immunologisch wirksamen Benzol- bzw. Benzolmetaboliten-Dosen keine Blutbildveränderungen auslösen, wird nachfolgend diskutiert. Da T-Zellrezeptoren nur Proteinantigene erkennen, wird außerdem diskutiert, wie die reaktiven Metaboliten körpereigene Proteine verändern und hierdurch Epitope entstehen, die zur Induktion von Autoimmunerkrankungen und Allergien führen könnten.

7. SUMMARY

Susanne Ewens: Investigation of a T-cell response against benzene and its metabolites

The main emission source of benzene (C_6H_6) is the exhaust of gasoline motors. In industrial countries, humans (non smokers) daily inhale 70-150 μ g of benzene. The main part of benzene is exhaled, the other part is accumulated in the lipid tissue. There are indications, that benzene metabolites are able to induce allergies, but an underlying immune mechanism could not be confirmed up to now. Also aplastic anemia could be based on an immunological pathogenesis associated with benzene.

In the first part of this study, it was demonstrated by blood analyses in mice, that benzene and benzene-metabolite in doses used in the direct popliteal lymph node assay (PLNA) were not able to induce aplastic anemia.

Animals, which received a single subcutaneous injection containing different doses of the reactive benzene metabolite benzoquinone, did not show any effect on their blood parameters.

Neither could benzene nor benzoquinone treatment induce a statistically confirmed anemia during a period of twelve weeks. Even animals which elicited a specific secondary response to benzoquinone had physiological blood parameters.

In the second part of this study, it was demonstrated by means of the direct popliteal lymph node assay in mice, that benzene metabolites are able to induce immune responses. The benzene metabolite benzoquinone induced the strongest immune response, followed by that of hydroquinone and catechol. The primary response to hydroquinone and benzoquinone was dose dependent. That benzoquinone is a potent immunogen, was, next to the strength of the immune response, demonstrated by the long lasting primary response of twelve weeks after single treatment. The in the literature described higher sensitivity of DBA/2 mice in comparison to C57BL/6 mice was confirmed also by means of the PLNA. A comparison of the pollutants benzene and aniline and their reactive metabolites benzoquinone and nitrosobenzene demonstrated, that the conversion of benzene produces a stronger sensitizing metabolite than that of aniline. The participation of T cells in the immune response was demonstrated in T-cell deficient nude mice for benzoquinone and hydroquinone, and the specificity of the immune response to benzoquinone by a secondary response. A secondary response to benzoquinone was induced in the same animal and also by transfer of

benzoquinone-specific memory T cells by means of the adoptive transfer PLNA. In addition it was shown that only the right sensitizing and challenge dose were able to induce a secondary response to benzoquinone. It was not possible to induce tolerance to benzoquinone.

Flow cytometric analyses of primary and secondary responses to benzoquinone demonstrated an increase of the percentage of B cells and a decrease of the percentage of T cells in the popliteal lymph node.

The induction of T cell responses by benzene metabolites is first described in this study. Why benzene and benzene-metabolite doses were not able to induce changes in blood parameters, but were able to induce immune responses is discussed. As T cell receptors only recognize protein antigens, it is also discussed, in which way the reactive metabolites alter self proteins and therewith produce epitopes, which could induce autoimmune reactions and/or allergies.