

## **Untersuchung entzündungshemmender Effekte nach dicht-ionisierender Bestrahlung in Co-Kultursystemen menschlicher Zellen**

Dr. Claudia Fournier, GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung, Darmstadt, Deutschland

Chronisch-entzündliche Erkrankungen wie Rheumatoide Arthritis und Morbus Bechterew werden häufig mit anti-inflammatorisch wirkenden Medikamenten behandelt. Obwohl hohe Dosen ionisierender Strahlung entzündungsfördernde Wirkung haben, werden chronische Entzündungen und Erkrankungen alternativ auch mit niedrigen Dosen von Photonen oder Radon behandelt. Trotz der klinisch beobachteten entzündungshemmenden Wirkung der Niedrigdosis-Strahlung sind die Wirkungsmechanismen auf zellulärer und molekularer Ebene noch weitgehend ungeklärt, insbesondere für die beim Radonzerfall emittierten dicht-ionisierenden  $\alpha$ -Teilchen. Entsprechend den klinischen Erfahrungen wurden in Zell- und Tierexperimenten zwar für niedrige Photonendosen ( $< 0.5$  Gy) biologische Effekte beobachtet, die einer Entzündungshemmung im Organismus entsprechen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen mit dünn-ionisierenden Photonen können jedoch nicht direkt auf dicht-ionisierende  $\alpha$ -Teilchen übertragen werden, da hier nur wenige Zellen von Strahlung getroffen werden, dafür aber jede getroffene Zelle eine relativ hohe Dosis bekommt. Ein weiterer wichtiger Unterschied ist die im Vergleich zu Photonen häufig beobachtete erhöhte Wirksamkeit von dicht-ionisierender Strahlung.

Das Ziel unserer Arbeit ist es, einen Beitrag zur Klärung der zellulären und molekularen Grundlagen der klinisch beobachteten entzündungshemmenden Effekte einer Radon-Behandlung zu leisten, und zwar unter besonderer Berücksichtigung der biologischen Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung. Dabei wird von folgenden Hypothesen ausgegangen:

1. Eine direkte Wirkung von  $\alpha$ -Teilchen könnte darin bestehen, dass bestrahlte Zellen in den Zelltod gehen.
2. Im relevanten Dosisbereich könnte ein spezifischer Mechanismus, nämlich der programmierte Zelltod in den betroffenen Zellen eingeleitet werden, der entzündungshemmende Reaktionen fördert.
3. Ein Beitrag zur Hemmung einer bestehenden Entzündung könnte die verminderte Anheftung von Immunzellen an die Wände der Blutgefäße sein, die einer Einwanderung der Immunzellen in entzündetes Gewebe vorausgeht.

Für unsere Untersuchungen haben wir Kohlenstoff-Ionen verwendet, die in ihren Eigenschaften den  $\alpha$ -Teilchen sehr ähnlich sind und am Beschleuniger der GSI zur Verfügung stehen. Als Vergleichsstrahlung wurden Photonen benutzt. Unsere experimentelle Strategie besteht darin, potentielle Wirkungen von Bestrahlung erst in Monokulturen, und dann in Kokulturen von interagierenden Zelltypen zu untersuchen, um die Ergebnisse später in organotypischen Kulturen oder im Tiermodell zu verifizieren.

Wir haben beim Vergleich verschiedener Zelltypen insbesondere bei Lymphozyten die Einleitung des programmierten Zelltods (Apoptose) in einem großen Anteil der Population schon nach Bestrahlung mit niedrigen Dosen beobachtet. Dieser Zelltyp könnte von einer direkten Wirkung von Strahlung besonders betroffen sein. In

Experimenten mit primären humanen Monozyten, die wir zu Makrophagen (Fresszellen) ausdifferenziert haben, haben wir festgestellt, dass in Gegenwart von Lymphozyten, die vorher mit Photonen oder Kohlenstoff-Ionen bestrahlt und dadurch in Apoptose getrieben worden waren, eine höhere phagozytotische Aktivität zu beobachten war als nach Kokultivierung mit apoptotischen Lymphozyten, in denen durch Staurosporin Apoptose induziert worden war. Außerdem werden beim Phagozytose-Vorgang nach Bestrahlung mit beiden Strahlenarten Botenstoffe (Zytokine) freigesetzt, die eine entzündungshemmende Wirkung auf andere Zellen haben (IL-10). Die Freisetzung von entzündungshemmenden Botenstoffen wurde bereits nach Phagozytose von UV-bestrahlten, apoptotischen Lymphozyten festgestellt. Wir konnten zeigen, dass sowohl die Steigerung der phagozytischen Aktivität als auch die begleitende Freisetzung von entzündungshemmenden Zytokinen sowohl nach Photonen- als auch nach Kohlenstoff-Ionen-Bestrahlung relevant sind. Bei einer vergleichbaren Apoptoserate waren die Effekte für dicht-ionisierende Strahlung allerdings weniger deutlich ausgeprägt als für Photonen.

In anderen Versuchen haben wir festgestellt, dass eine Adhäsion von Immunzellen (hier getestet für Lymphozyten) an eine Endothelzellschicht, wie sie die Blutgefäße auskleiden, durch entzündliche Stimulierung wesentlich verstärkt wird. Bei Verwendung von Hybridzellen und primären humanen Zellen wird die Adhäsion von Lymphozyten an stimulierte Endothelzellen nach Bestrahlung mit einer niedrigen Photonen-Dosis verringert, was bereits publizierten Ergebnissen entspricht. Für Kohlenstoff-Ionen konnten wir diese Verminderung der Adhäsion auch feststellen, allerdings nur bei Verwendung von primären Endothelzellen aus der Mikrovaskulatur, und nicht bei Zellen aus der Lungenaorta oder Nabelschnur. Außerdem war die Minderung der Adhäsion nicht deutlicher ausgeprägt als für Photonen. Dabei kommt es unabhängig vom Adhäsionsverhalten weder für Photonen noch für Kohlenstoff-Ionen zu einer messbaren Änderung der Menge an Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche der Endothelzellen. Auch das Zytokin TGF- $\beta$ , das im Serum von vielen radonbehandelten Patienten in erhöhten Mengen vorliegt, hat in diesem Modellsystem keinen nachweisbaren Einfluss auf die Adhäsion. Um die Veränderungen der Adhäsion unter Bedingungen, die dem Organismus näher liegen, weiter zu untersuchen, wurde eine Zellkammer entwickelt, mit der die Scherkräfte des Blutstroms auf die Endothelzellen besser nachgestellt und damit berücksichtigt werden können. An Bestrahlungsexperimenten unter Verwendung dieser Kammer wird zurzeit gearbeitet.

Bei der Induktion von Apoptose liegt eine direkte Schädigung der DNA und anderen zellulären Strukturen zugrunde. Unsere bisherigen Ergebnisse zeigen, dass mit niedrigen Dosen von dicht-ionisierender Strahlung mit höherer Effizienz als für Photonen Apoptose in den direkt bestrahlten Zellen induziert werden kann. Interessanterweise haben wir für die auf Zellkommunikation beruhenden Effekte, nämlich gesteigerte Phagozytose-Aktivität, Freisetzung entzündungshemmender Faktoren und verminderte Adhäsion von Immunzellen an eine Endothelzellschicht keine erhöhte Wirksamkeit für dicht-ionisierende Strahlung beobachtet. Trotzdem legen unsere Ergebnisse nahe, dass diese Prozesse auch bei der Behandlung mit Radon zur Hemmung einer bestehenden Entzündung beitragen. In Anbetracht der klinischen Wirksamkeit einer Radonbehandlung ist es aber wahrscheinlich, dass weitere Faktoren zur entzündungshemmenden Wirkung von Radon beitragen.