

OEFZS--4670

AT 9300067

# Lymphozytensubpopulationen und niedere Strahlendosen

H. Tuschl, R. Kovac, E. Eybl

---

OEFZS--4670

März 1993



# Lymphozytensubpopulationen und niedere Strahlendosen

Bericht für den  
Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung  
A-1090 Wien, Garnisongasse 7/20  
(P7871-MED)  
Projekt Nr. 3058

Helga Tuschl  
Rozika Kovac  
Elisabeth Eybl

Hauptabteilung Toxikologie  
Bereich Lebenswissenschaften



## **LYMPHOZYTENSUBPOPULATIONEN UND NIEDERE STRAHLENDOSEN**

### **Zusammenfassung**

Aus der Phänotypisierung der Lymphozyten strahlenexponierter Probanden, in vivo bestrahlter CCBA Mäuse sowie in vitro bestrahlter menschlicher Lymphozyten läßt sich auf eine differentielle Strahlensensitivität der Lymphozytensubsets schließen. Am sensitivsten erwiesen sich bei den untersuchten Dosen T Suppressorzellen, gefolgt von B Zellen. Reduziert erwies sich auch die Zytotoxizität der NK Zellen (gemessen an Mausmilzzellen) und teilweise die Immunglobulinkonzentration im Serum humaner Tritium-exponierter Probanden. Die Stimulierung in der gemischten Lymphozytenreaktion wies interindividuell große Unterschiede auf, sodaß an Hand dieser Reaktion keine Aussage bezüglich einer Veränderung der Lymphozytenfunktion durch niedere Strahlendosen möglich ist. Obwohl bei den untersuchten exponierten Probanden häufig eine geringe DNA Syntheserate stimulierter Lymphozyten zu beobachten ist, scheint keine generelle Beeinträchtigung der Funktion der Lymphozyten vorzuliegen. Besonders bei jenen Individuen, bei denen eine Lymphopenie beobachtet wurde, war die Syntheserate hoch (Probanden K und I, Tab.3), der Organismus bemüht sich offensichtlich, die Homöostase des Immunsystems wieder herzustellen. Obwohl CD8 Zellen quantitativ vermindert waren, ließen sie sich stimulieren, sodaß die CD4/CD8 Ratio stimulierter Lymphozyten gleiche Werte aufwies wie die im Vollblut bestimmte. Trotz der beobachteten geringen Veränderungen immunologischer Parameter scheint nach sehr geringer Strahlenexposition das Immunsystem seine volle Funktion aufrechtzuerhalten bzw. nach kurzer Zeit zu restaurieren.

### **Schlüsselwörter:**

Ionisierende Strahlung, niedere Strahlendosen, berufliche Exposition, Lymphozyten, zelluläre Immunität

## **LYMPHOCYTIC SUBSETS AND LOW-DOSE EXPOSURE**

### **Summary**

The present investigations proved the differential radiosensitivity of lymphocytic subpopulations: From in vivo and in vitro irradiations it may be followed that the most sensitive subset are CD8 positive suppressor T cells. CD4/CD8 ratios are increased both in peripheral blood and after mitogen stimulation of lymphocytes of exposed persons. The decrease in B cells is pronounced only at higher radiation doses. Though the rate of DNA synthesis after mitogen stimulation was reduced in some exposed persons, that was no general phenomenon. Especially after Tritium exposure, the observed lymphopenia correlated with an increased stimulation by PHA and an increased rate of DNA synthesis in some probands. Thus the present investigations indicate that - despite an inhibition of some immune parameters by radioexposure - the body is able to maintain its immunological homeostasis.

### **Keywords:**

Ionizing radiation, low radiation doses, occupational exposure, lymphocytes, cellular immunity

## Zielsetzungen des vorliegenden Projektes

Die im ersten Teil des Projektes "Lymphozytensubpopulationen" durchgeführten Untersuchungen erbrachten nur geringe Unterschiede der quantitativen Zusammensetzung der immunkompetenten Zellen im peripheren Blut beruflich exponierter Probanden (1). Ziel des zweiten Projektteiles war festzustellen, wieweit die funktionelle Aktivität der Lymphozyten nach Strahlenexposition erhalten bleibt oder verändert wird.

## Probanden

Während im ersten Projektteil ausreichend strahlenbelastete Probanden zur Verfügung standen, erwies sich die Rekrutierung exponierter Blutspender auf grund veränderter Tätigkeiten der ursprünglich getesteten Personen als nicht ausreichend. Es konnten aus dem ursprünglichen Kollektiv aus dem Österreichischem Forschungszentrum Seibersdorf nur 11 Personen zu den Untersuchungen herangezogen werden. 10 Angehörige eines Industrieunternehmens, die bei Revisionsarbeiten in einem Kernkraftwerk hauptsächlich Tritium durch Inhalation inkorporiert hatten, sowie 10 weitere durch externe Strahlung belastete Personen aus demselben Unternehmen konnten zu einer Blutabnahme gewonnen werden. Von den Tritium-exponierten Probanden waren 5 Personen zu einer Kontrollabnahme 6 Monate nach Exposition bereit. Da von den Probanden der Fremdfirma nur einmalige Blutabnahmen möglich waren, konnten nicht alle geplanten Tests mit Humanblut durchgeführt werden (s. unten). Zusätzlich zu den ursprünglich geplanten Untersuchungen mußten bei den neuen Probanden die Lymphozyten aus dem Vollblut phänotypisiert werden, sowie Gesamtleukozyten und Differentialblutbild bestimmt werden.

## Tierversuche und in vitro Tests

Um diese Untersuchungen zu ergänzen, wurden in Zusammenarbeit mit dem Natl. Hygieneinstitut Budapest (Projektverantwortlicher Dr. I. Vincze) Versuche mit CCBA F1-Mäusen nach 1 Gy Gammabestahlung durchgeführt. Weiters wurden in vitro Untersuchungen nach Gammabestahlung menschlicher Lymphozyten angestellt.

## Exposition menschlicher Probanden und Dosimetrie

Die externe Strahlenbelastung der untersuchten Personen wurde mit Thermoluminiszenzdosimetern erfaßt, die jeweils am Monatsende in der Hauptabteilung Strahlenschutz des Österreichischem Forschungszentrum Seibersdorf ausgewertet wurden. Da eine Auswertung zum genauen Zeitpunkt der Blutabnahme nicht möglich war, wurde für jede einzelne Versuchsperson

die letzte Quartalsdosis angegeben. Für die Tritium-exponierten Probanden wurde neben der TLD Dosimetrie aus Harnanalysen eine Ganzkörperäquivalentdosis ermittelt.

## Methoden

### Bestimmung der Stimulierbarkeit von Lymphozyten an Hand der DNA Synthese

Zur Herstellung von Lymphozytenkulturen wurden den Probanden 20ml venöses Blut in Na-Heparin VACUTAINER unter sterilen Kautelen entnommen und innerhalb von 3 Stunden aufgearbeitet. Die Isolierung der Lymphozyten erfolgte durch eine Lympho-Paque Zentrifugation. Nach mehrmaligem Waschen in PBS wurde die Zellzahl bestimmt und Kulturen mit  $10^6$  Zellen pro ml mit folgendem Medium angesetzt: RPMI 1640 Gibco mit 20 % FCS, 1 % Penicillin/Streptomycin (10000 E, GIBCO) und 10 µg Phytohaemagglutinin bzw. 100 µg ConA bzw. 10 µg Pokeweed Mitogen.

63 Stunden nach Inkubation der Kulturen wurde 20 µM Bromdesoxyuridin zugesetzt und weitere 60 min inkubiert.

### Bestimmung der DNA synthetisierenden Zellen und Verteilung der Zellen im Zellzyklus:

Nach Markierung der Zellen mit Bromdesoxyuridin wurden sie mit Ethanol fixiert und anschließend eine teilweise DNA Denaturierung mit 4N HCl vorgenommen. Die DNA Synthese wurde durch Inkubation mit einem FITC konjugierten Anti-Bromdesoxyuridin Antikörper bestimmt, die DNA Menge durch Färbung mit Propidiumjodid. Die Analyse erfolgt mit einem Coulter Epic CS Durchflußzytometer. Die Auswertung der Doppelfluoreszenzhistogramme mit der Quad Stat Software Easy 2 von Coulter.

### Erfassung der Lymphozytensubpopulationen aus dem Vollblut

Da es nicht möglich war, genügend bereits untersuchte Probanden zu testen, mußten bei den neu herangezogenen Personen auch die Lymphozytensubsets im Blut quantitativ erfaßt werden. Die Methodik war die bereits im 1. Projektteil durchgeführte (1).

## Erfassung der Lymphozytensubpopulationen nach Stimulierung der Lymphozyten

Da durch keines der herkömmlichen Mitogene eine 100 %ig subsetspezifische Stimulierung möglich ist, im Gegenteil in der neueren Literatur wiederholt belegt werden konnte, daß durch alle Mitogene sowohl T als auch B Zellen stimuliert werden, wurde versucht, den umgekehrten Weg zu beschreiten und in den Lymphozytenkulturen nach erfolgter Stimulierung die Anteile der einzelnen Subpopulationen zu erfassen. Dabei wurden zwei Methoden eingesetzt:

- a) Methode nach (2): Die aus den Kulturen gewonnenen Lymphozyten wurden mit den entsprechenden gegen Oberflächenantigene gerichteten Monoklonalen inkubiert, mit Paraformaldehyd fixiert und nach einem RNase Abbau die DNA mit Propidiumjodid gefärbt. Da diese Methode nicht immer zufriedenstellende Resultate erbrachte, wurde eine weitere Methode nach (3) modifiziert:
- b) Nach der Markierung mit den entsprechenden Phycoerythrin-konjugierten Monoklonalen wurden die Zellen mit Paraformaldehyd und Tween20 behandelt, anschließend ein Abbau zu Einstrang-DNA mit DNase I vorgenommen und der während der letzten 60 Minuten der Kultur erfolgte Einbau von BrdU durch Anti-BrdU verifiziert.

## Gemischte Lymphozytenreaktion:

Die MLR wurde als Einwegreaktion mit heterologen Stimulatorzellen, die mit 20 Gy Co-60 bestrahlt worden waren, durchgeführt. Nach 5 Tagen wurde die Stimulierung durch den Einbau von  $^3\text{H}$ -Thymidin in PCA gefällte DNA gemessen.

## Bestimmung der Lymphozytensubsets bestrahlter Mäuse:

Die Ermittlung der Lymphozytensubsets erfolgte sowohl in einer Kontrollgruppe unbestrahlter Tiere als auch in Gruppen von jeweils 10 Tieren 3, 6 und 12 Tage nach Bestrahlung mit 1 Gy Co-60 Gamma. Den Tieren wurde jeweils zur selben Tageszeit die Milz entnommen, vorsichtig über ein Zellsieb zerkleinert und eine Ficoll-Urografin Zentrifugation zur Isolierung der Lymphozyten durchgeführt. Die Differenzierung der Subpopulationen erfolgt mit folgenden Monoklonalen: Anti-Thy1.2 (T Zellen), Anti L3T4 (Helfer-Zellen), Anti Lyt2 (Suppressor-Zytotoxische Zellen) und Anti-I-A<sup>d</sup> (B Zellen). Nach Fixierung mit Paraformaldehyd erfolgt die durchflußzytometrische Analyse. Da der ungarische Partner einen Teil der

jeweiligen Milz für die von ihm durchgeführte DNA-Repairstudien benötigte, konnten nur relative Anteile der Subpopulationen erfaßt werden.

### NK Zelltests

Mit den Milzzellen der in vitro bestrahlten Tiere wurden auch NK Tests durchgeführt. Nach der oben geschilderten Isolierung der Milzzellen wurden diese mit YAC-1 Targetzellen (Moloney-Virus induzierte Lymphomazellen), die vorher mit  $\text{Na}_{251}\text{CrO}_4$  (sp.Akt. 460 mCi/mg, 100 $\mu\text{Ci/ml}$ ) markiert worden waren, inkubiert. Medium: RPMI 1640, 20 % FCS,  $5 \cdot 10^5$  M Mercaptoethanol, 292  $\mu\text{g}$  Glutamin. Nach 3 h wurde die Aktivitätsmessung im Supernatant vorgenommen. Die maximale Lyse wurde durch Behandlung der Targetzellen mit 5 % Na-Laurylsulfat bestimmt.

### Bestimmung der Aktivität der ADPRT (ADP-Ribosyltransferase)

Zusätzlich zu den immunologischen Untersuchungen wurde die Aktivität dieses für DNA Reparatur, aber auch für Differenzierungsprozesse und DNA Synthese wichtigen Enzyms bei den Tritium-exponierten Probanden gemessen.

### In vitro Versuche

Die in vitro Versuche wurden mit den Zellen ein und desselben nicht exponierten Spenders ausgeführt, um Einflüsse der individuellen genetisch determinierten Strahlensensitivität auszuschließen. Die durch Ficoll-Paque aus dem Vollblut isolierten Lymphozyten wurden mit 0,05 bis 0,1 Gy Co-60 bestrahlt, das Medium gewechselt und die Kulturen mit PHA bzw. PKW stimuliert. Nach 72 Stunden wurden die Subpopulationen phänotypisiert und die DNA Synthese gemessen.

### Ergebnisse und Diskussion

In vitro Stimulierung von Lymphozyten mit PHA, ConA bzw. PKW zeigte, daß durch alle drei Mitogene hauptsächlich T Zellen stimuliert werden: Die Anzahl der stimulierten CD3pos. Zellen betrug bei PHA  $86 \pm 6$ , bei ConA  $83 \pm 6$  und bei PKW  $86 \pm 7$  % der Lymphozyten in Kultur. Aus diesem Grunde wurde bei jenen Probanden, die genügend Blut zur Verfügung gestellt hatten, nur mit PHA stimuliert und in den Kulturen die Verteilung der einzelnen Subpopulationen und deren Anteil an der DNA Synthese bestimmt.

## In Vitro Tests

Unbehandelte Kulturen von Lymphozyten von Kontrollpersonen ohne bekannte Strahlenbelastung wurden mit Phytohämagglutinin bzw. Pokeweed Mitogen behandelt und mit Proben verglichen, die vor dem Kulturansatz mit 0,05 und 0,1 Gy Co-60 bestrahlt worden waren. Bei Dosen von 0,05Gy zeigte sich ein deutlicher Abfall der synthetisierenden B Zellen in PHA und PKW stimulierten Kulturen. Bei 0,1Gy nahm der Anteil der B Zellen etwas zu. Da die Zahl der B Zellen vom CD19 Phänotyp, die sich in der Kultur nachweisen lassen, davon abhängt, wieviele Zellen sich zu Plasmazellen umwandeln, scheint das darauf hinzuweisen, dass weniger Zellen zur Ig-Produktion angeregt wurden (Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Anzahl der proliferierenden Zellen nach Co-60 Bestrahlung in PHA und PKW stimulierten Lymphozytenkulturen (Gesamtzahl der Zellen, x 10<sup>6</sup> pro Kultur)

	PHA	PKW
Kontrollen		
S-Phasen	2,62	1,75
CD3pos.S	2,27	1,33
CD19pos.S	0,27	0,34
T/B	8,4	3,9
0,05 Gy		
S-Phasen	2,58	1,49
CD3pos.S	2,34	1,22
CD19pos.S	0,24	0,27
T/B	9,8	5,5
0,1 Gy		
S-Phasen	3,74	1,65
CD3pos.S	3,23	1,35
CD19pos.S	0,50	0,30
T/B	6,5	4,5

Untersuchungen an menschlichen Probanden

Die Messung der DNA synthetisierenden Zellen nach Stimulierung mit PHA erbrachte bei den Probanden aus dem Österreichischem Forschungszentrum Seibersdorf , deren Subpopulationen bereits bestimmt worden waren (1), kein einheitliches Ergebnis (Tabelle 2).

Tabelle 2: DNA Synthese, Erfassung der S Phasen nach Markierung der Lymphozytenkulturen mit BrdU (Dosis: mSv im vorangegangenen Quartal).

Pro-band	Dosis	Alter	R/N	%S	Kon-trolle	Alter	R/N	%S
G	0,9	38	N	25	1	37	N	46
L	0,7	26	N	39	2	51	N	31
M	0,7	44	N	37	3	42	N	33
K	1,1	55	N	29	4	42	N	37
P	0,7	42	N	44	5	49	R	30
R	1,1	41	N	38	6	43	R	29
Ra	5,6	40	N	36	7	20	R	46
Re	1,5	42	N	40	8	19	R	40
M	1,8	35	R	33	9	51	N	46
L	3,3	35	R	20	10	24	R	42
H	0,8	42	R	25	11	28	R	45
					12	18	N	48
					13	23	R	43
					14	49	N	55
					15	37	N	45
					16	28	R	43
					17	22	R	31
					18	39	R	47
					19	43	N	44
					20	44	R	37

$m = 33,2 \pm 7,5$

$m = 41,2 \pm 7,4$

T-Test:  $p < 0,05$ , Unterschied hoch signifikant, Kruskal-Wallis  $p < 0,05$ .

Bei diesem Kollektiv strahlenexponierter zeigte sich zwar im Durchschnitt eine signifikant verminderte Stimulierbarkeit der Lymphozyten gegenüber dem Kontrollkollektiv, es waren in beiden Gruppen aber stark und schwach respondierende Probanden vertreten.

Die Untersuchung der Tritium-exponierten Probanden (Tabelle 3) erbrachte ein Ergebnis, das aus Tierversuchen bereits ableitbar erschien, aus den bisherigen Untersuchungen an humanen, nur sehr gering exponierten Testpersonen noch nicht ersichtlich war: Die Fraktion der CD8-positiven Suppressorzellen stellt offensichtlich eine besonders sensitive Zellpopulation dar. Bei 6 der Testpersonen lag die Zahl der CD8 pos. Zellen unter der Norm, die CD4/CD8 Ratio war deutlich zugunsten der Helferzellen verschoben. Dagegen scheint nur eine unwesentliche Abnahme der B Zellen vorzuliegen. Neben diesen Anomalien zeigt sich insgesamt eine Störung der Homöostase des Immunsystems: So weisen drei der Probanden abnorm hohe NK-Werte auf, während einer der Untersuchten nur 3,4 % (99 Zellen/ $\mu$ l) NK Zellen besitzt. Bei Proband K und I lag eine leichte Lymphopenie vor, diese Probanden zeigten nach PHA Stimulierung sehr hohe Syntheseraten (45 und 49 % aller Zellen), dagegen in der gemischten Lymphozytenreaktion geringe Einbauraten. Bei 5 dieser Probanden wurden die Immunglobulinwerte im Serum bestimmt: Teilweise waren die registrierten Werte deutlich unter den Kontrollen.

Sechs Monate nach der ersten Untersuchung konnte von 5 der exponierten Personen die Zustimmung zu einer weiteren Blutabnahme eingeholt werden (sie waren in diesem Zeitraum keiner beruflichen Strahlenbelastung ausgesetzt). Wie Tabelle 4 zeigt, waren die untersuchten Parameter teilweise gegenüber den Werten der Tabelle 3 verändert, normalisiert hatten sich vor allem die Anteile der CD16 pos. Zellen, bei Proband Ha auch die Zahl der B Zellen. Die CD4/CD8 Ratio war weiterhin deutlich erhöht. Die Stimulierbarkeit der Lymphozyten lag nun bei allen Probanden im Normalbereich. Die Aktivität der ADPRT war bei den untersuchten Probanden deutlich gegenüber nicht exponierten Kontrollen erhöht, dies kann als weiteres Indiz einer durch niedere Strahlendosen induzierten DNA Reparatur gelten.

Die Probanden ohne Inkorporation (Tabelle 5) waren mäßig exponiert, bei Proband S lag die Exposition 2 Monate zurück. Im Durchschnitt lag die Exposition aber auch bei diesen Probanden höher als bei den bisher untersuchten (1). Auch hier konnte mehrheitlich eine erhöhte CD4/CD8 Ratio registriert werden. Nach PHA Stimulierung wurden gegenüber Kontrollen verminderte Syntheseraten festgestellt.

**Tabelle 3:** Immunologische Daten, erhoben an 10 Probanden nach <sup>3</sup>H-Exposition. (Ganzkörperäquivalentdosis 1,6 bis 2,5 mSv)

Proband	Dosis (mSv)	CD3		CD4		CD8		CD16		CD19		Leukosgesamt (· 10 <sup>6</sup> )	Differentialblutbild			S-Phasen %	Stim. T-Zellen %	R/N	Alter	MLR (cpm·10 <sup>-3</sup> )	Ig Serum (% Kontr.)		
		%	absol.	%	absol.	%	absol.	%	absol.	%	absol.		%	absol.	Ly						Mono	Gran	IgE
A	2.2	57.4	1377	49.7	1193	19.8	476	27.6*	662	6.6+	158	12.8	18	6	76	33	89	R20	56	4.5	78	121	99
K	1.9	58.2+	556	39.1	375	13.0+	125	25.1*	241	5.4+	52	4.8	20	9	71	45	80	R20	33	3.5	53	96	85
I	2.5	64.9	973	50.5	757	16.4+	246	16.7	250	7.4+	111	7.4	20	6	74	49	92	N	50	5.0	79	39	105
B	2.8	76.0	2223	48.5	1428	18.7+	538	3.4+	99	16.5	482	11.7	25	5	70	25	84	R30	44	8.5	77	90	97
E	1.7	72.0	2232	52.4	1624	15.8+	490	9.1	282	11.1	344	9	34	6	60	39	88	N	43	5.1	57	104	64
Ba	1.6	75.0	2328	50.7	1572	17.0	527	17.6	545	5.7+	177	11	27	4	69	31	80	N	25	3.7	59	98	86
H	1.3	72.4	1882	43.0	1180	21.5	623	14.7	382	5.9+	153	10	26	10	64	40	90	N	28	5.6	-	-	-
S	2.0	53.7	1161	42.9	943	9.5+	209	4.2+	92	13.7	301	11	20	9	71	n.d.	-	R40	45	-	-	-	-
Sch	1.7	62.4	1819	39.5	1145	22.4	650	19.6	568	12.3	356	7	41	7	52	n.d.	-	R30	51	-	-	-	-
St	1.8	45.5+	801	38.8	683	11.5+	232	38.3*	674	6.7+	118	8	22	9	69	46	-	N	54	3.0	-	-	-
		63,8±10,2		45,5±5,4		16,5±4,2		17,6±10,8		7,5±4,4						38,5±8,3			42,9±10,8				

**Referenzwerte**

	CD3		CD4		CD8		CD16		CD19	
	%	absol.	%	absol.	%	absol.	%	absol.	%	absol.
Kontrollen	73±6,5	abs.	44±7,6	abs.	33±7,4		14±6		10±4,2	
	1100-1700		700-1100		500-900		200-400		140-350	

\* ..... Werte über der Norm

+ ..... Werte unter der Norm

R.....Raucher

N.....Nichtraucher

**Tabelle 4: Kontrolluntersuchung (5 Monate nach 3H-Inhalation)**

Pro-band	Dosis	CD3		CD4		CD8		CD16		CD19		Leukos. gesamt ( $\cdot 10^6$ )	S-Phasen	CD4/CD8	Differential		
		%	absol	%	absol	%	absol	%	absol	%	absol						
A	2,2	60,4	1604	55,5	1474	19	504	27	717	6,2	165	8,3	43	2,9	32	9,4	58
K	1,9	70	756	50,0	540	12 <sup>+</sup>	130	15,8	171	5,8 <sup>+</sup>	63 <sup>+</sup>	6	43	4,2	18	7	75
I	2,5	78	1310	58,4	986	19	319	10,3	173	8,7	146	7	39	3,1	24	8	68
B	2,8	68,8	1710	46,9	1166	17,6	437	10,4	258	10,9	270	11,3	45	2,7	22	9	69
E	1,3	66,7	1860	51,4	1434	23,1	644	14,1	393	12,7	354	9	40	2,2	31	12	57
													m= 42±2,4				

**Tabelle 5:** Immunologische Daten, erhoben an 10 Probanden nach externer Exposition, hauptsächlich Gamma-Bestrahlung.  
(Exposition zwischen 0,5 und 14 mSv im vorangegangenen Quartal)

Proband	Dosis (mSv)	CD3 %	CD4 %	CD8 %	CD4/ CD8 %	CD16 %	CD19 %	Differential			S-Pha- sen %	Stim. Subpopulationen				
								Ly	Mono	Granulo		CD3	CD4	CD8	CD16	CD4/ CD8
E	2,0	64	43	21	2,0	14	5	29	8	63	29	79	40	25	26	1,6
R	0,6	63	48	18	2,7	22	14	16	9	75	25	n.d.				
Ka	2,2	62	34	29	1,3	18	19	14	11	75	44	-	50	30	21	1,7
K	1,9	56	31	26	1,2	16	13	29	12	59	40	79	40	25	16	1,6
A	1,9	76	57	18	3,2	20	7	23	9	68	31	78	66	23	19	2,9
L	0,9	58	45	13	3,5	14	14	38	4	58	29	75	56	15	20	3,7
P	0,9	70	50	21	2,3	14	6	27	7	66	40	85	59	30	16	2,0
N	0,9	69	47	24	1,9	5	15	24	8	68	29	92	62	29	8	2,1
E	0,6	54	42	18	2,3	17	11	22	11	67	38	89	48	20	-	2,4
S	14,0	62	37	24	1,5	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		63,5±7,1	43,4±7,8	19,3±7,6	2,1±0,8	15,5±4,8	11,3±5,7				33,9±6,6	82,4±6,3	52,6±9,7	24,6±5,2	18±5,5	2,2±0,7

12

In vivo Bestrahlung (1 Gy) von CCBA F1 Mäusen

Drei Tage nach Bestrahlung der Tiere zeigte sich ein deutlicher Abfall der B und der Suppressor T Zellen ( I-A<sup>d</sup> und Lyt 2 positive Zellen). Nach 12 Tagen tritt ein Erholungseffekt ein, die relativen Anteile der Subpopulationen entsprechen nun annähernd den Werten, die in der Kontrollgruppe gemessen wurden (Tabelle 6).

Tabelle 6: Lymphozyten in der Milz von Kontrolltieren und bestrahlten Tieren (CBBA F1, 1Gy Co-60 ), zu verschiedenen Zeiten nach Bestrahlung

Gruppe	Lyt-2 pos. Zellen	L3T4-pos. Zellen	I-Ad-pos. Zellen	T/B	H/S
K n=10	12 ± 3,2	22 ± 3,1	45 ± 5,3	0,8	1,8
3 d n. 1 Gy	10 ± 1,9	29 ± 4,8	39 ± 9,7	1,0	2,7
6 d n. 1 Gy	12,9 ± 2,6	32,5 ± 4,2	32 ± 4,5	1,4	2,5
12 d n. 1 Gy	12,7 ± 2,6	24,3 ± 3,9	42 ± 2,9	0,9	1,9

NK Zelltest mit Milzzellen bestrahlter CBBA F1 Mäuse:

Wie Tabelle 7 zeigt, war die spontane zytotoxische Aktivität der Milzlymphozyten bestrahlter Mäuse deutlich gegenüber jener der Kontrolltiere reduziert. (Dargestellte Werte sind % spezifische Lysis.)

Tabelle 7: Zytotoxische Aktivität von Mausmilzzellen

Ratio	1 : 100		1 : 50		1 : 25	
	Kontrolle	1 Gy	Kontrolle	1 Gy	Kontrolle	1 Gy
31,4	15,7	18,3	14,4	14,4	10,9	
54,5	19,4	41,7	14,1	31,6	11,8	
29,5	16,7	16,3	15,3	16,2	14,3	
43,1	20,1	10,7	14,8	8,8	17,1	
26,9	19,5	14,1	19,2	-	-	
m=37±11	18,3±2	20±12	16±2	18±9	14±3	

für 1 : 100: t-Test P < 0,05 %, Unterschied hochsignifikant.

### Gemischte Lymphozytenreaktion:

In der MLR wurden sowohl in der exponierten Gruppe als auch den nicht exponierten Kontrollen zwei Reaktionstypen gefunden: Eine hoch-respondierende und eine niedrig-respondierende Gruppe. Während bei den Hoch-Respondern die Einbausraten zwischen  $10$  und  $20 \times 10^3$  cpm lagen, betragen sie bei den Niedrig-Respondern nur  $3,3$  bis  $8,5 \times 10^3$  cpm. Eine Zuordnung zu Exposition, Rauchen oder Alter ließ sich dabei nicht erkennen.

### Literatur

1. Tuschl, H. et al., Intern.J.Radiat.Biol.58, 1990, 651-659.
2. Lakhanpal, S. et al., J.Immunol.Meth., 96, 1987, 35-40.
3. Carayon, P. and Bord, A., J.Immunol.Meth. 147, 1992, 225-230.

Als Manuskript vervielfältigt.  
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor.

**OEFZS-Berichte**  
**ISSN 0253-5270**

Herausgeber, Verleger, Redaktion, Hersteller:  
Österreichisches Forschungszentrum Seibersdorf Ges.m.b.H.  
A-2444 Seibersdorf, Austria  
Telefon 02254-80-0, Fax 02254-80-2118, Telex 14-353



**S E I B E R S D O R F**