

Veränderungen der Lungenalveolen bei der Maus nach chronischer Exposition mit Ozon in niedriger Konzentration

Joachim Bruch und Hans-Werner Schlipköter

Medizinisches Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung
an der Universität Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter)

Eingegangen am 12. Oktober 1972

Changes in the Pulmonary Alveoli in Mouse Following Chronic Exposure to a Low Concentration of Ozone

Summary. Sixty Mice were exposed to 0.86 ppm ozone for 8 hours daily on five days per week. After 10 months severe changes were observed in the alveolar lung tissue. The changes appeared in focal areas adjacent to the terminal bronchioli. Marked hyperplasia of the Clara cells (from 1.1 to 2.7% volume density) and injury to the epithelial lining of the alveoli was detected. The pneumocytes type I seemed to be the most sensitive to ozone. A more acute form of cell injury was characterized by many swollen mitochondria and denuded areas of underlying basal membrane. The second form of cell damage was marked by abundant lipofusceine granula and comparatively few mitochondria, indicating a more chronic injury. The endothelial lining of the alveolar capillaries was ruptured in some places, thus causing interstitial edema. An especially striking feature of ozone-damaged lung tissue was conspicuous thickening of the basement membranes between the epithelial and endothelial lining.

Zusammenfassung. 60 Mäuse wurden 8 Std täglich an 5 Tagen in der Woche mit 0,86 ppm Ozon exponiert. Nach 10 Monaten ließen sich schwere Veränderungen des alveolaren Lungengewebes feststellen, die fokal auftraten und sich auf die den terminalen Bronchiolen benachbarten Regionen erstreckten.

Eine deutliche Hyperplasie der Clarazellen, deren Volumendichte am Gesamtlungengewebe von 1,1 auf 2,7% zunahm, sowie Schäden der epithelialen Auskleidung der Alveolen wurden gefunden. Die Pneumocyten I reagieren am empfindlichsten auf Ozon. Viele geschwollene Mitochondrien und die Ablösung von der Basalmembran charakterisieren eine mehr akute Form der Zellschädigung. Eine zweite Form der Zellschädigung zeigt überaus zahlreiche Lipofusceingranula und verhältnismäßig wenig Mitochondrien, was auf einen mehr chronischen Effekt schließen läßt. Die Endothelschicht der Alveolarcapillaren ist an einigen Stellen aufgebrochen, wodurch ein interstitielles Ödem verursacht wurde. Auffallend bei den ozongeschädigten Lungen ist die z.T. erhebliche Verdickung der Basalmembran zwischen der Epithel- und Endothelschicht.

Erhöhte Konzentrationen von Ozon, einem hochreaktiven Oxidans, werden im photochemischen Smog bei intensiver UV-Strahlung gemessen (Haagen-Smit, 1963; Jaffe, 1967). Weiterhin treten größere Ozonmengen in geschlossenen Räumen beim Lichtbogenschweißen und bei der Raumluftdesinfektion durch UV-Lampen auf (Frant, 1963). Die Toxikologie dieser Verbindung wurde ausführlich beschrieben (Scheel, 1959; Stokinger, 1965; Jaffe, 1968). Zahlreiche Untersuchungen in vivo und in vitro geben Aufschluß über die Kurzzeiteffekte des Gases. Von Interesse ist insbesondere die chronische Wirkung des Gases auf die

menschliche Lunge. In einer elektronenmikroskopischen Studie prüften wir daher den Einfluß einer relativ niedrigen Konzentration von Ozon auf Mäuselungen, die den aktuell gemessenen Mengen in der Außenluft ziemlich nahe kommt.

Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten weibliche Mäuse vom Stamm NMRI (Tierversuchstation Ivanovas, Kisslegg, Allgäu) mit einem Gewicht von 20 ± 2 g. 60 Mäuse wurden 10 Monate lang in Stahlkammern mit Ozon von Montag bis Freitag jeweils 8 Std exponiert. Die durchschnittliche Ozonkonzentration betrug 0,86 ppm. 60 weitere Mäuse dienten als Kontrolle und wurden ebenfalls in einer Stahlkammer gehalten. Der Luftdurchsatz betrug $10 \text{ m}^3/\text{h}$.

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden aus jeder Gruppe 4 Tiere entnommen. Die Mehrzahl der Mäuse wurde für anderweitige Untersuchungen benützt. Unter tiefer Aneasthesie (Nembutal i.p.) wurde die Trachea präpariert, und die Lungen wurden durch eine beidseitige Incision des Zwerchfells zum Kollabieren gebracht. Mit einem Druck von 10 cm H_2O wurde eine 3%ige Glutaraldehydlösung (pH 7,2, 400 m Osmol) über die Trachea in die Lungen instilliert. Bei allen Tieren entnahmen wir an der linken Lunge in Höhe des Hilus Gewebeproben aus identischen Bereichen (Mitte, zwischen Hilus und Pleura). Von 30–50 Blöckchen pro Tier wurden 10 Blöckchen ohne besondere Auswahl in Araldit in der üblichen Weise eingebettet. 1 μ dicke Schnitte wurden mit Toluidin-Pyronin gefärbt. Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Ultradünnschnitte erfolgte mit dem Elmiscop 101.

Die Volumendichte cuboidaler Epithelzellen (Clarazellen, vgl. Befunde) am Gesamtlungengewebe wurde nach der Punkttreffermethode mit dem Vielzwecktestsystem nach Weibel durchgeführt. Insgesamt wurden Schnitte von vier verschiedenen Blöckchen eines Tieres, d.h. pro Versuchsgruppe 16 Schnitte, ausgezählt.

Ergebnisse

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Kontrolltiere zeigte eine weitgehend normale Lungenstruktur. Die Lungen der exponierten Tiere wiesen hingegen starke herdförmige Veränderungen in dem Bereich der terminalen Bronchiolen, der Ductus alveolares und der benachbarten Alveolen auf. Die Veränderung bestand zunächst in dem Vorkommen einer einheitlich aussehenden kubischen Epithelzelle, die die terminalen Bronchiolen meist einschichtig auskleidete. Cilientragende Epithelzellen waren nahezu vollständig aus dem Bronchialepithel verschwunden. Die sich an den Bronchiolus terminalis unmittelbar anschließenden, am Anfang des Ductus alveolaris gelegenen Alveolen wurden ebenfalls von diesen kubischen Epithelzellen besetzt, so daß diese Regionen in der Übersicht ein fast drüsenartiges Aussehen erhalten. Weiter peripher von den Bronchiolen läßt sich die Überwucherung von alveolaren Lungenanteilen durch die kubischen Epithelzellen mehr in begrenzten Zellansammlungen in Form von Zellnestern erkennen, die längs des Ductus alveolaris bevorzugt an den Enden der interalveolaren Septen lokalisiert sind. Die Vermehrung der Bronchialepithelzellen wurde mit der Punktzählmethode unter den in Material und Methoden

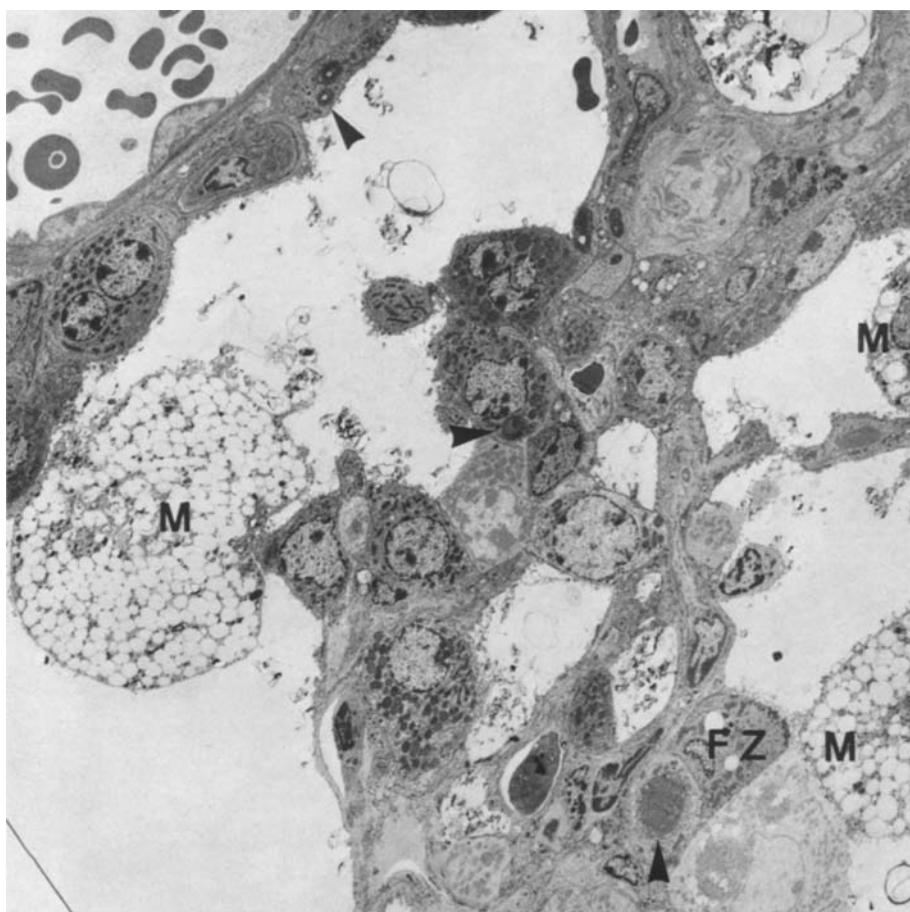


Abb. 1. Diese und alle folgenden Abbildungen stammen von Mäuselungen nach 10monatiger Exposition mit 0,86 ppm Ozon. Elektronenmikroskopische Übersichtsaufnahme von bronchiolennahen Alveolen. Clarazellen kleiden die Alveolen aus. Stark vacuolisierte Alveolar-makrophagen (*M*), Flimmerepithelzelle (*FZ*); kurze Pfeile weisen auf die wie Nebenkerne aussehenden „labyrinthine tubular aggregates (LTA)“. $\times 1700$

genannten Bedingungen quantitativ ermittelt. Die Volumendichte am Gesamtlungengewebe nahm von 1,1% bei den Kontrollen auf 2,7% bei den exponierten Tieren zu. Der Wert der Kontrolltiere gibt praktisch die Volumendichte des Epithels der terminalen Bronchiolen an. Die Zahl der terminalen Bronchiolen in den vier Versuchstieren ist nicht vermehrt; die Zunahme resultiert allein aus der Überwucherung von bronchiolnahen Alveolen mit den kubischen Epithelzellen. Die Lumina der Bronchiolen und angrenzenden Alveolen waren zusätzlich mit schaumigen monocytären Zellelementen gefüllt. Zeichen einer stärkeren Entzündung konnten in keiner Lunge beobachtet werden. Weiter distal von den terminalen Bronchiolen zeigten die Alveolen bei den Versuchstieren eine weitgehend normale Struktur.

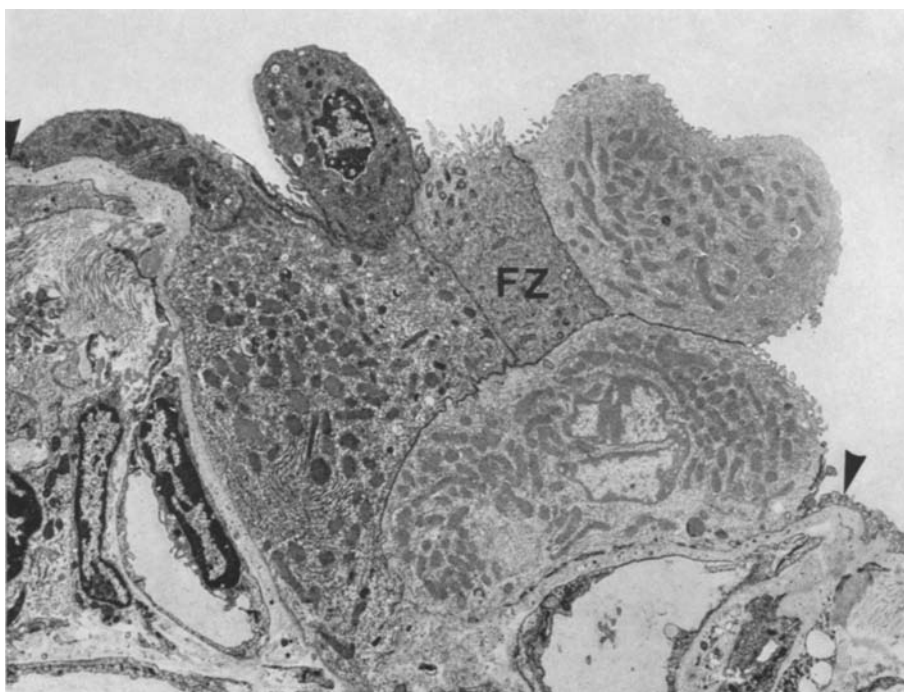


Abb. 2. Nest von Clarazellen und eine Flimmerepithelzelle (FZ) in einer peripheren Alveole. Pfeile zeigen auf die Fortsätze von Pneumocyten I. $\times 6000$

Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Lungen exponierter Tiere bestätigte zunächst den Zellreichtum in der Nähe der terminalen Bronchiolen (Abb. 1). Die hier gelegenen Alveolen werden von einem mittelhohen Epithel ausgekleidet (Abb. 1). Es überwiegt eine einheitliche ausgehende Zellart, die durch sekretorische Granula, viele cristaarme Mitochondrien und reichlich endoplasmatische Membranen ausgezeichnet ist. Gelegentlich sind cilientragende Epithelzellen eingeschaltet (Abb. 2). Diese Feinstruktur ist charakteristisch für die Clarazellen, die bei den nicht exponierten Tieren nur in den terminalen Bronchiolen vorkommen. Eine Besonderheit der Clarazellen bei den mit Ozon begasten Tieren sind aber die Membranstapel, Veränderungen der retikulären Membranen, sog. „labyrinthine tubular aggregates = LTA“ und Myelinstrukturen, die in einer begleitenden Veröffentlichung ausführlich beschrieben werden (Abb. 1 und 3) (Bruch, 1973). Normale Alveolarepithelzellen (Pneumocyten I und II) lassen sich auf der Abbildung nicht erkennen. Darüber hinaus finden sich im Alveolarlumen stark vacuolisierte Alveolarmakrophagen und zahlreiche osmophile Zelltrümmer. In den etwas mehr peripher gelegenen Alveolen ist der Verband der Clarazellen zunehmend mit normalen Alveolarepithelzellen durchsetzt. Aber selbst in sehr peripheren Alveolen lassen sich gelegentlich als Zellnester oder vereinzelt Clarazellen und Cilienepithelzellen beobachten, die nicht mit Ausläufern an der epithelialen Auskleidung der Alveolen beteiligt sind (Abb. 2 und 3).

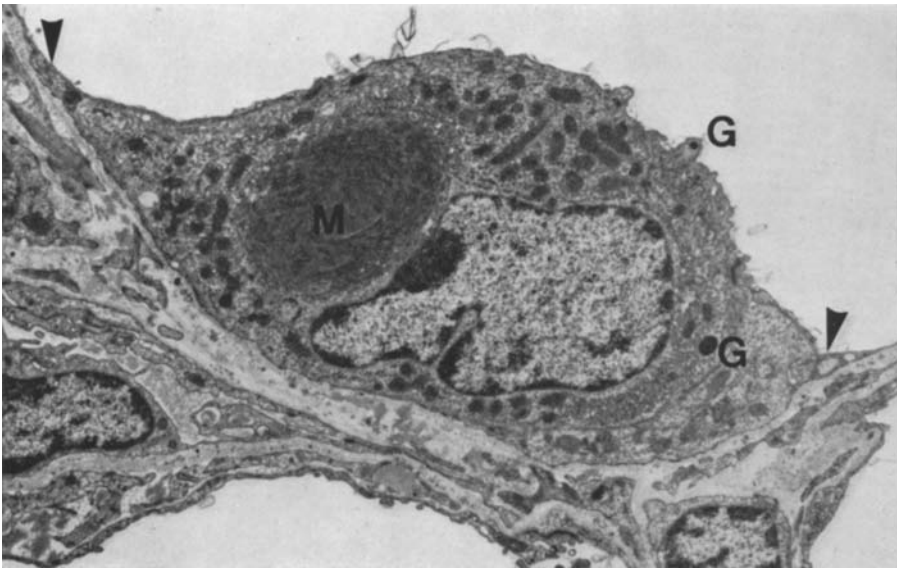


Abb. 3. Einzelne Clara-Zelle in einer peripheren Alveole, sekretorische Granula (G), Membranstapel (M) des LTA. $\times 7800$

Neben der Hyperplasie der Clara-Zellen bestehen bei elektronenmikroskopischer Betrachtung der mit Ozon begasten Lungen eine Fülle von weiteren Veränderungen an den eigentlichen Alveolarstrukturen, die weiter distal von den terminalen Bronchiolen an Schwere abnehmen. Diese Veränderungen betreffen sowohl das eigentliche Alveolarepithel als auch das Alveolarseptum und das Capillarendothel.

Am auffallendsten ist wohl die erhebliche Verbreiterung der Blut-Luftbarriere aufgrund einer starken Verdickung der Basalmembran zwischen dem Alveolarepithel und dem Capillarendothel (Abb. 2, 4 und 6). Die Basalmembran kann durchgehend homogen verbreitert sein oder aber mehrere nicht membranbegrenzte Schichten aufweisen (Abb. 5). Durch zapfenförmige Fortsätze auf der Epithel- und Endothelseite ist die normalerweise glatte Struktur oft unregelmäßig begrenzt. Die Matrix ist durchsetzt mit vielen in Gruppen zusammengelagerten $0,02 \mu$ großen, dunklen Organellen. Es hat den Anschein, daß von der Epithelseite in die Basalmembran eingeschleuste Bläschen zur Mitte hin an Größe abnehmen und zu den $0,02 \mu$ großen Organellen kondensieren (Abb. 4). Häufig münden die verbreiterten Basalmembranen in weite intraseptale Ödembezirke ein (Abb. 6). An diesen Stellen werden deutliche Schäden an der Endothelschicht beobachtet. Neben eng begrenzten bläschenförmigen Vorwölbungen mit Myelinfiguren (Abb. 6) bestehen auch breite Abhebungen und Rupturen der Endothelschicht (Abb. 7). Darüber hinaus beobachtet man in den Alveolarsepten eine Zunahme an elastischen und kollagenen Fasern. Besonders betroffen von dieser Zunahme an interzellulären Grundsubstanzen sind die Enden der interalveolären Septen in den Ductus alveolares.

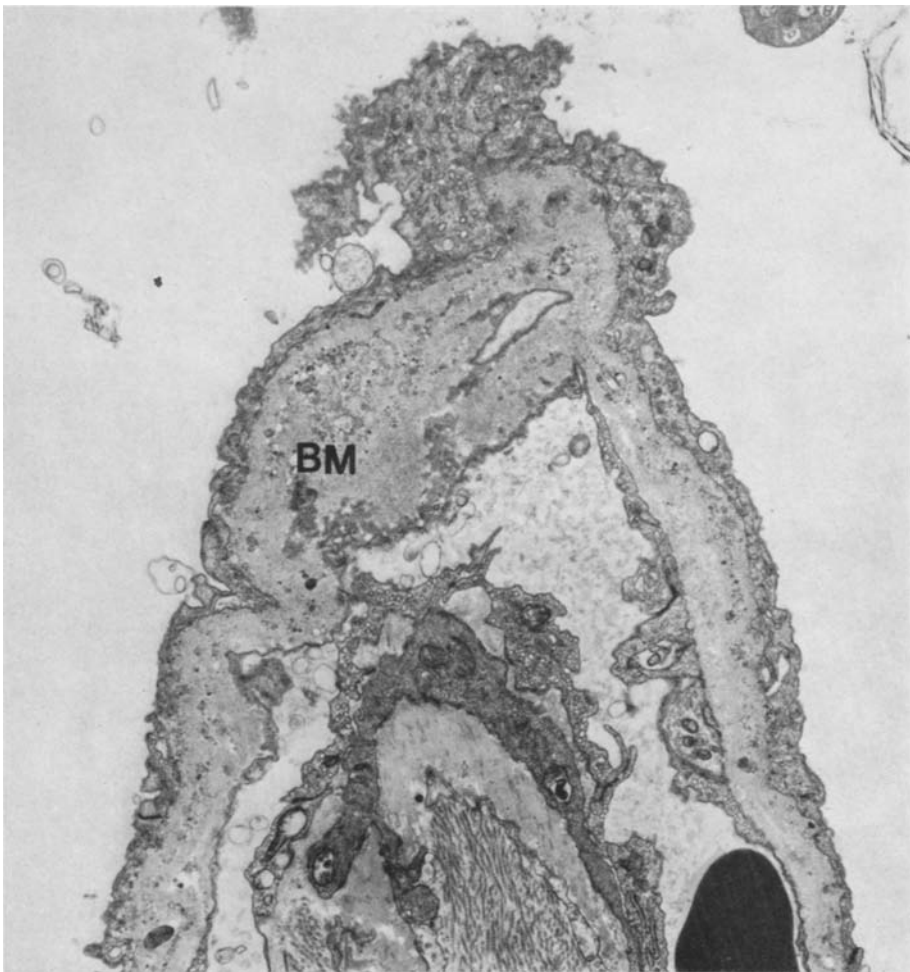


Abb. 4. Erhebliche Verbreiterung der Basalmembranen (*BM*) zwischen Alveolarepithel und Capillarendothel auf ca. 1 μ . $\times 21000$



Abb. 5. Mehrschichtige Basalmembran. $\times 24200$

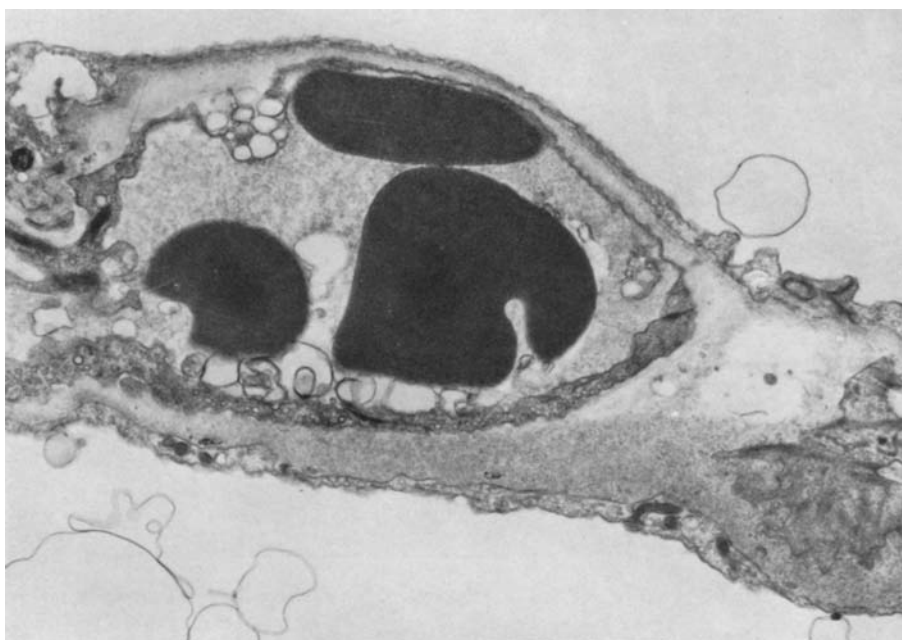


Abb. 6. Endothelschädigung. Lokalisierte Vorwölbungen des Endothels. $\times 12200$



Abb. 7. Ruptur des Endothels. Breite Eröffnung der Capillare zum Interstitium mit Ödem.
 $\times 14000$

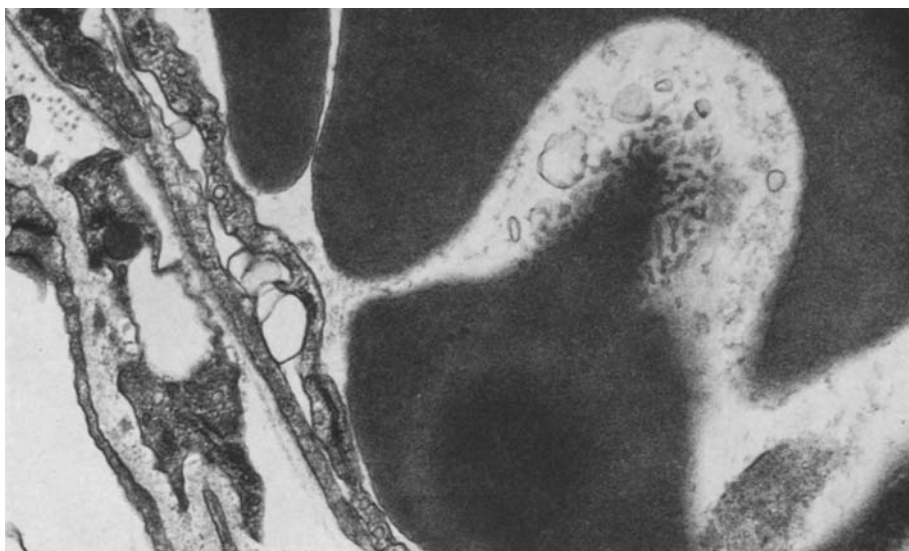


Abb. 8. Wurmartige Fortsätze bei den Erythrocyten. Verbreiterung der Blut-Luftbarriere.
× 25 000

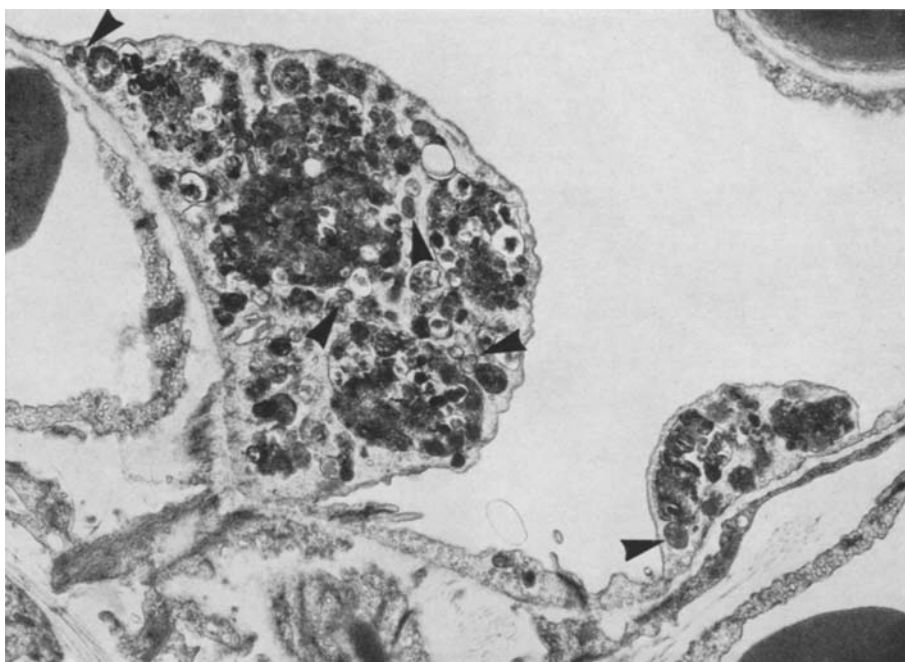


Abb. 9. Pneumocyten I mit reichlich Lipofuscingranula. Auffallend wenige und kleine, kompakte Mitochondrien (Pfeile). × 12 000

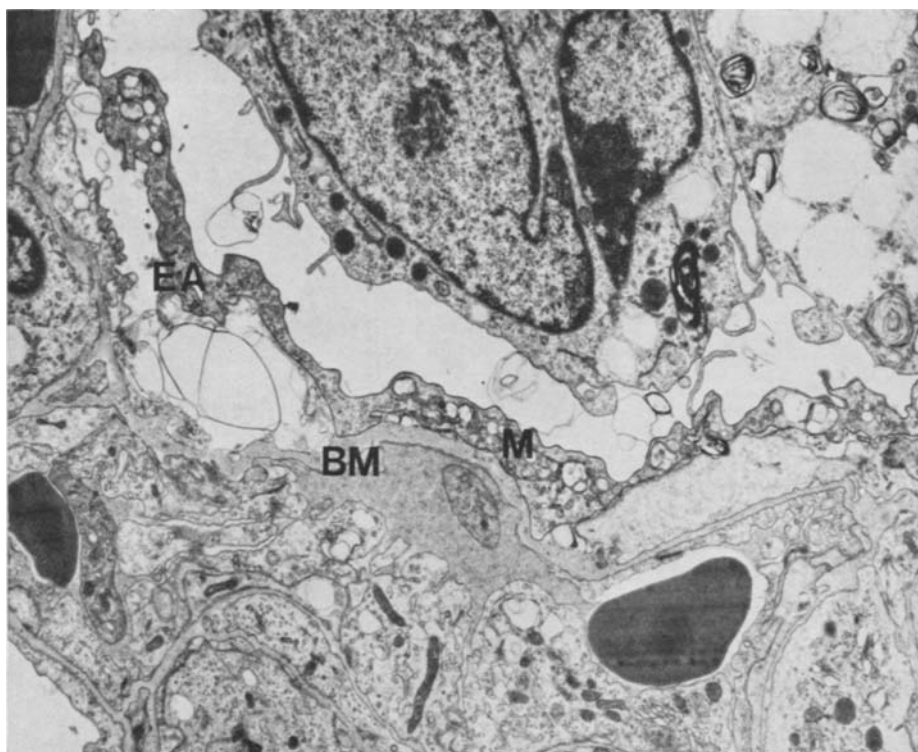


Abb. 10. Abschilferung eines epithelialen Ausläufers (*EA*) von der Basalmembran (*BM*), vacuolisierte Mitochondrien. Endothelverbreiterung auf der septalen Seite der Capillare.
 × 8600

Erwähnt seien in diesem Zusammenhang Veränderungen an den Erythrocyten, die bei tangentialen Anschnitten feine wurmartige Fortsätze der Matrix zeigen (Abb. 8). Eine Erklärung kann nicht gegeben werden, doch wurden die Veränderungen nur an exponierten Tieren gesehen.

Von wahrscheinlich großer pathogenetischer Bedeutung ist die Reaktion des Alveolarepithels in der Nachbarschaft der terminalen Bronchiolen. Viele Pneumocyten I enthalten bei den exponierten Tieren im eigentlichen Zellkörper und in ihren dünnen, die Alveolen auskleidenden Fortsätzen Massen an elektronenopaquen Körpern. Diese Strukturen sind etwa $0,5\ \mu$ groß, unregelmäßig geformt und meist von einer Membran begrenzt und ähneln den Lipofusceingranula. Oft werden zahlreiche Körper ähnlich den MVBs zu größeren Einheiten zusammengefaßt (Abb. 9). An anderen Stellen zeigt sich ein morphologisch völlig verschiedenartiges Bild. Zahlreiche geschwollene Mitochondrien und ein ödematöses Cytoplasma weisen auf eine erhebliche Schädigung der Pneumocyten I hin (Abb. 10). Vacuolisierte Alveolarmakrophagen befinden sich in unmittelbarer Nachbarschaft. Phagozytierende Fortsätze der Makrophagen dringen unter die Pneumocyten I und legen sich auf die Basalmembran. Ausläufer der Pneumocyten I flottieren von der Basalmembran (Abb. 10) und werden von den Alveolarmakro-



Abb. 11. Nekrose von Pneumocyten I am Ende eines interalveolären Septums. Geschwollene Mitochondrien (*M*) im Ausläufer von Pneumocyten I und Phagozytose des oberen epithelialen Ausläufers durch einen Alveolarmakrophagen (*AM*), Fortsätze (*F*) des Alveolarmakrophagen sind bis auf die Basalmembran (*BM*) vorgedrungen. Ödem des Capillarendothels (*E*). Auf der rechten oberen Bildseite Anschnitt einer Clara-Zelle mit sekretorischen Granula (*G*) und LTA (*L*). $\times 10000$

phagen phagocytiert (Abb. 11). Teile der Basalmembran sind völlig unbedeckt. Unterhalb des stark geschädigten Epithels wölbt sich das Endothel auf der septalen Seite der Capillare mit vielen Ausläufern in das Capillarlumen (Abb. 10). Insgesamt bietet sich das Bild eines massiven Zelluntergangs vieler nebeneinanderliegenden Alveolarepithelzellen. Prädilektionsstellen solcher Vorgänge scheinen die Enden der interalveolaren Septen im Ductus alveolaris zu sein.

Im Gegensatz hierzu werden die Lipofusceingranula enthaltenden Pneumocyten auch in den tieferen Alveolarbereichen beobachtet. Auffallend ist, daß verglichen mit den starken Schädigungen der Pneumocyten I die Pneumocyten II morphologisch gegen die Ozonexposition resistent zu sein scheinen. Qualitative feinstrukturelle Veränderungen waren nicht festzustellen.

Diskussion

Ozon ist ein relativ schwer wasserlösliches Gas und kann deshalb die tieferen Lungenabschnitte erreichen. Nach chronischer Exposition mit einer niedrigen O_3 -Konzentration kommt es in der Lunge zu einer Epithelzellhyperplasie und zu einer Zellschädigung. Auffallenderweise sind die Veränderungen multifokal auf die Bereiche der terminalen Bronchiolen und die angrenzenden Alveolen lokalisiert. Die Gründe für diese multifokale Natur der Schädigung sind noch nicht völlig geklärt, doch spielen sicherlich die relativ geringe Löslichkeit von Ozon und eine spezifische Empfindlichkeit von bestimmten Lungenzellen eine wichtige Rolle. Stephens *et al.* (1972) diskutierten eine von ihnen lichtmikroskopisch beobachtete ähnliche Lungenschädigung nach akuter NO_2 -Exposition in diesem Sinne.

In unserer Untersuchung konnten wir morphometrisch quantitativ die Vermehrung einer einheitlich aussehenden cuboidalen Epithelzellart im Alveolarbereich nachweisen. Nach elektronenmikroskopischen Kriterien bestehen große Ähnlichkeiten mit den Clarazellen in den terminalen Bronchiolen. Gelegentlich waren sie vergesellschaftet mit cilientragenden Epithelzellen und unterschieden sich morphologisch eindeutig von den Pneumocyten I und II. Zunächst könnte man vermuten, daß ein Zusammenhang mit den Veränderungen und Nekrosen der Pneumocyten durch Ozon besteht, die besonders häufig an den Enden der interalveolären Septen, also in der Nähe der Proliferationsbereiche der Clarazellen gefunden wurden. Auch bei Einwirkung von hyperbarem Sauerstoff kam es zur Schädigung der Pneumocyten I (Kapanci, 1969), jedoch wurden sie hier durch die morphologisch nicht geschädigten Pneumocyten II ersetzt. Nach Bertalanffy (1964, 1968) und Kapanci *et al.* (1969) lassen sich im Lungenparenchym Zellen mit unterschiedlicher Mitosehäufigkeit unterscheiden. Die Pneumocyten I haben danach einen niedrigeren Zellumsatz als die Pneumocyten II. Nach chronischer Ozonexposition wurden zwar auch die Pneumocyten II offensichtlich nicht geschädigt, jedoch ließ sich keine Vermehrung dieser Zellart, sondern eine Hyperplasie der Clarazellen nachweisen. Es ist deshalb unwahrscheinlich, daß das ungewöhnliche Auftreten der Clarazellen und Flimmerepithelzellen im Verband von normalen Alveolarepithelzellen eine einfache Überwucherung der Alveolen ist, sondern man könnte eher eine spezifische Stimulierung der Differenzierung von Stammzellen zu Clarazellen und auch zu Flimmerepithelzellen annehmen. Da zusätzlich ein typisches Schädigungsmuster bei den gewucherten Clarazellen be-

obachtet wurde (Bruch, 1973), ist eine Deutung der Befunde außerordentlich schwierig. In welchem Umfang der proliferative und der cytopathogene Effekt des Ozons sich wechselseitig bedingen, läßt sich z.Z. ebenfalls nicht klären. Sicherlich aber ist die Zellhyperplasie einer Zellart unter dem Einfluß von Ozon nicht durch Untergang einer anderen Zellart allein bedingt. Hierfür spricht die Vermehrung der Clarazellen (statt der Pneumocyten II), und hierfür sprechen Zellhyperplasie und Bronchusadenome in Rattenlungen nach O_3 -Exposition (Werthamer *et al.*, 1970).

Im Gegensatz zur subakuten Exposition mit Ozon bei neugeborenen Mäusen (Bils, 1970) trat bei der chronischen Ozonexposition das Ausmaß der Endothelschädigung gegenüber den Veränderungen des Alveolarepithels stark zurück. Da Veränderungen des Epithels und des Endothels unabhängig voneinander an verschiedenen Orten beobachtet wurden, muß angenommen werden, daß Ozon primär verschiedene Lungenstrukturen angreift. Die ozonbedingten Veränderungen der Pneumocyten I äußern sich in zwei Reaktionsformen: Der erste Typ — nämlich die akute Zellnekrose — findet sich vor allem am Ende der interalveolären Septen, die in den Ductus alveolaris hineinragen, und zeichnet sich durch Mitochondrienschwellung und Ablösung von der Basalmembran aus. Die zweite Reaktionsform wird vor allem in den tieferen Lungenabschnitten gefunden. Hierbei enthalten die Zellen zahlreiche Lipofusceingranula und sehr wenige Mitochondrien. Es ist möglich, daß die beiden Reaktionsformen durch Konzentrationsunterschiede bedingt sind, die das Gas beim Passieren der terminalen Bronchiolen, der Ductus alveolares und beim Erreichen der distalen Alveolen erfährt. Das massive Auftreten der Lipofusceingranula und die ultrastrukturellen Veränderungen der Clarazellen könnten Ausdruck einer ozonbedingten Lipidperoxidation sein (Bruch, 1973).

Kürzlich berichten Stephens *et al.* (1972) in einer Publikation über Lungenveränderungen von Ratten nach NO_2 -Exposition ebenfalls von einer erhöhten Empfindlichkeit der Pneumocyten I, wobei das Endothel und die Pneumocyten II nicht geschädigt waren. Die morphologisch nachgewiesene Resistenz der Pneumocyten II gegenüber Ozon bestätigen die Befunde von Roehm *et al.* (1972), die bei Ratten nach Exposition mit Ozon keine quantitative und qualitative Veränderung der auswaschbaren Lungenfettsäuren (Surfactant-Lipide) feststellen konnten, die nach praktisch einhelliger Meinung von den Pneumocyten II produziert werden.

Neben der Zellhyperplasie und Zellschädigung sind die Lungenveränderungen nach chronischer Ozonexposition durch die z.T. erhebliche Verdickung der Basalmembranen zwischen dem Alveolarepithel und dem Capillarendothel gekennzeichnet. Diese Verdickung muß als das Ergebnis eines langandauernden chronischen Prozesses angesehen werden, da wir bis zu 3monatiger O_3 -Exposition solche Veränderungen nicht beobachtet haben. Ursache für diesen auffälligen Befund könnte ein spezifischer Einfluß des toxischen Gases auf die Mucopolysaccharidproduktion sein, wie es Stephens (1971) für NO_2 vermutet. Wir neigen allerdings zu der Annahme, daß die Mucopolysaccharide mittelbar über eine toxische Wirkung auf die Pneumocyten I durch einen erhöhten Zellumsatz an der Alveolarwand vermehrt gebildet werden. Über die Beeinflussung der Diffusionsbarriere durch die Basalmembranverdickung kann erst eine quantitativ stereologische Untersuchung einen genaueren Aufschluß geben. In einer kürzlichen Untersuchung wurde eine ähnliche Verdickung der Basalmembran nach Asbeststaubexposition beschrieben (Bruch *et al.*, 1973). Hierbei war der Staub unter anderem

auch in den Pneumocyten I lokalisiert, wo er eine asbestspezifische Schädigung bewirkte. Von Pierce und Nakane (1969) wurde beobachtet, daß alle zellschädigenden Agentien, wie Röntgenstrahlen, Bakterien oder chemische Substanzen, eine vermehrte Mucopolysaccharidproduktion der Testeseithelien der Maus induzierten.

Die hier beschriebenen Beobachtungen zeigen Veränderungen der Lunge im chronischen Versuch bei relativ niedrigen Ozonkonzentrationen, die den aktuell gemessenen Konzentrationen in der Großstadtluft sehr nahe kommen (Los Angeles häufig 0,4 ppm bis zu 0,9 ppm). Die nach 10monatiger Exposition nachgewiesene Zellschädigung sowie die hyperplastische Reaktion sprechen gegen die Entwicklung der von Stockinger (1965) und Matzen (1957) beschriebenen O₃-Toleranz. Als der grundlegende Mechanismus der Ozonwirkung auf Zellen wird die Lipidoxidation und die Bildung freier Radikale angenommen (Menzel, 1970; Goldstein *et al.*, 1969; Roehm *et al.*, 1971, 1972). Bei der Abschätzung der langfristigen Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch Ozon muß berücksichtigt werden, daß NO₂ als ein weiterer ubiquitärer Bestandteil der Luftverschmutzung in Großstädten ebenfalls eine Lipidoxidation bewirkt (Thomas *et al.*, 1968), so daß beide Gase über einen identischen Wirkungsmechanismus kumulativ wirken können. Da Lipidperoxidationsprozesse mit Alterungsprozessen gekoppelt sind (Harman, 1957; u.a.), sollte das Risiko einer Förderung chronischer Lungenerkrankungen (z.B. Emphysem) bei jahrzehntelanger Exposition mit schwer wasserlöslichen Reizgasen nicht unterschätzt werden.

Literatur

- Bertalanffy, F. D.: Respiratory tissue: Structure, histophysiology, cytodynamics. In: International review of cytology, ed. by G. H. Bourne and J. F. Danielli, vol. 17, p. 213. New York: Academic Press Inc. 1964.
- Bertalanffy, F. D.: Dynamic of cellular populations in the lung. In: The lung, ed. by A. A. Liebow and D. E. Smith, p. 19. Baltimore: Williams & Wilkins Co. = International Academy of Pathology, Monograph.
- Bils, R. F.: Ultrastructural alterations of alveolar tissue of mice. III. Ozone. Arch. environm. Hlth **21**, 466—480 (1970).
- Bruch, J.: The fine structure of lipid peroxidation in mouse lung after continuous low—level exposure to ozone. (In press.)
- Bruch, J., Botham, S. K., Holt, P. F.: Early epithelial changes in the alveolar tissue of guinea pig lungs following inhalation of crocidolite asbestos. (In press.)
- Evans, M. J., Bayr, W., Bils, R. F., Loosli, C. G.: Effects of ozone on cell renewal in pulmonary alveoli of aging mice. Arch. environm. Hlth **22**, 450—453 (1971).
- Evans, M. J., Stephens, R. J., Cabral, L. J., Freeman, G.: Cell renewal in the lungs of rats exposed to low levels of NO₂. Arch. environm. Hlth **24**, 180—188 (1972).
- Frant, R.: Formation of ozone in gas shielded welding. Ann. occup. Hyg. **6**, 113 (1963).
- Goldstein, B. D., Lodi, Ch., Collinson, Ch., Baldum, O. J.: Ozone and lipid peroxidation. Arch. environm. Hlth **18**, 631—635 (1969).
- Haagen-Smit, A. J.: Photochemistry and smog. J. Air Pollut. Control. Ass. **13**, 444; 446—454 (1963).
- Harman, D.: Atherosclerosis: A hypothesis concerning the initiating steps in pathogenesis. J. Geront. **12**, 199—202 (1957).
- Jaffe, L. S.: Photochemical air pollutants and their effects on men and animals. I. General characteristics and community concentrations. Arch. environm. Hlth **15**, 782—791 (1967).
- Jaffe, L. S.: Photochemical air pollutants and their effects on men and animals. II. Adverse effects. Arch. environm. Hlth **16**, 241—255 (1968).

- Kapanci, J., Weibel, E. R., Kaplan, H. P., Robinson, F. R.: Pathogenesis and reversibility of the pulmonary lesions of oxygen toxicity in monkeys. II. Ultrastructural and morphometric studies. *Lab. Invest.* **20**, 101—118 (1969).
- Kistler, G. S., Caldwell, P. R. B., Weibel, E. R.: Development of fine structural damage to alveolar and capillary lining cells in oxygen-poisoned rat lungs. *J. Cell Biol.* **32**, 605—618 (1967).
- Matzen, R. N.: Development of tolerance to ozone in reference to pulmonary edema. *Amer. J. Physiol.* **190**, 84—88 (1957).
- Menzel, D. B.: Toxicity of ozone, oxygen and radiation. *Ann. Rev. Pharmacol.* **10**, 379—394 (1970).
- Pierce, G. B., Nakane, P. K.: Basement membranes, synthesis and deposition in response to cellular injury. *Lab. Invest.* **21**, 27—41 (1969).
- Roehm, J. N., Hadley, J. G., Menzel, D. B.: Oxidation of unsaturated fatty acids by ozone and nitrogen dioxide: A common mechanism of action. *Arch. environm. Hlth* **23**, 142—148 (1971).
- Roehm, J. N., Hadley, J. G., Menzel, D. B.: The influence of vitamin E on the lung fatty acids of rats exposed to ozone. *Arch. environm. Hlth* **24**, 237—242 (1972).
- Scheel, L. D.: Physiologic, biochemical, immunologic and pathologic changes following ozone exposure. *J. appl. Physiol.* **14**, 67—80 (1959).
- Schlipköter, H.-W., Bruch, J.: Funktionelle und morphologische Veränderung bei Ozonexposition. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. Reihe B* (im Druck).
- Stephens, R. J., Freeman, G., Evans, M. J.: Ultrastructural changes in connective tissue in lungs of rats exposed to NO₂. *Arch. intern. Med.* **127**, 873—883 (1971).
- Stephens, R. J., Freeman, G., Evans, M. J.: Early response of lungs to low levels of nitrogen dioxide, light and electron microscopy. *Arch. environm. Hlth* **24**, 160—179 (1972).
- Stokinger, H. E.: Ozone toxicology: A review of research and industrial experience: 1954—1964. *Arch. environm. Hlth* **10**, 719—731 (1965).
- Stokinger, H. E., Scheel, L. D.: Ozone toxicity. *Arch. environm. Hlth* **4**, 117—124 (1962).
- Thomas, H. V., Mueller, P. K., Lyman, R. L.: Lipoperoxidation of lung lipids in rats exposed to nitrogen dioxide. *Science* **159**, 532—534 (1968).
- Werthamer, S., Schwarz, L. H., Carr, J. J., Soskind, L.: Ozone. Induced pulmonary lesions. *Arch. environm. Hlth* **20**, 16—21 (1970).
- Yuen, T. G. H.: Sherwin, R. P.: Hyperplasia of type 2 pneumocytes and nitrogen dioxide (10 ppm) exposure: A quantitation based on electron photomicrographs. *Arch. environm. Hlth* **22**, 178—188 (1971).

Dr. med. J. Bruch
 Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter
 Med. Institut für Lufthygiene und
 Silikoseforschung der Universität
 D-4000 Düsseldorf
 Bundesrepublik Deutschland