



Die Wirkung komplexer Gefahrstoffgemische

Am Beispiel polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe

Heiko U. Käfferlein, Sabine Plöttner, Thomas Brüning, Katelyn J. Siegrist, Alison K. Bauer

Die Rolle und Wirkung einzelner Komponenten in komplexen Gefahrstoff-Gemischen wie zum Beispiel polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK), anerkanntermaßen Lungenkanzerogene, ist derzeit noch unzureichend untersucht. Die Situation lässt sich treffend mit einem Wolfsrudel vergleichen, bei dem in der Regel ausreichende Informationen zu den Alpha-Tieren (u.a. den hochmolekularen und oftmals kanzerogenen PAK, z.B. Benzo[*a*]pyren) vorliegen, aber nicht zum Rest des Rudels (u.a. den niedermolekularen PAK). Dies ist überraschend, haben niedermolekulare PAK doch mehr als 70 Prozent Anteil im PAK-Gemisch und stellen damit bildlich den Großteil des Rudels. Neue Forschungsergebnisse des IPA in Zusammenarbeit mit der Universität Colorado zeigen nun erstmals in einem Lungenzellmodell präkanzerogene Eigenschaften niedermolekularer PAK, die die kanzerogenen Eigenschaften des Benzo[*a*]pyrens unterstützen beziehungsweise fördern.

Komplexe Gemische aus polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) setzen sich aus verschiedenen hochmolekularen (z.B. Benzo[*a*]pyren, Chrysen, etc.) und niedermolekularen Komponenten (z.B. Fluoranthen, Anthracen, etc.) zusammen. Insbesondere Vertreter der hochmolekularen PAK (HM-PAK), wie das Benzo[*a*]pyren (B[*a*]P), wurden frühzeitig als so genannte ultimale Kanzerogene identifiziert. Damit bezeichnet man Substanzen, die sowohl krebsinitierende als auch krebspromovierende Eigenschaften aufweisen. Sie können somit sowohl die für die Krebsentstehung erforderlichen Mutationen verur-

sachen und gleichzeitig den erforderlichen Wachstumsstimulus für die Vermehrung der mutierten Zellen liefern. Diese Eigenschaften haben dazu beigetragen, dass sich die heutige Forschung weltweit nahezu ausschließlich mit der Ursachenforschung und Prävention von Krebs im Zusammenhang mit einer Exposition gegenüber HM-PAK beschäftigt. Sie stellen zweifelsfrei die Alpha-Tiere im Wolfsrudel dar und entsprechend viele HM-PAK sind von der internationalen Agentur für Krebsforschung als Humankanzergene eingestuft, unter anderem in die Gruppen 1, 2A und 2B (IARC 2010).

Kurz gefasst

Verschiebung zu niedermolekularen PAK

Die Einstufung ausgewählter hochmolekularer PAK als Humankarzinogene führte zu verstärkten Präventionsmaßnahmen in der Praxis, um die Beschäftigten am Arbeitsplatz spezifisch vor den negativen Folgen einer derartigen Exposition zu schützen. So kann durch eine Umstellung von Produktionsprozessen und -materialien erfolgreich eine Reduktion der Exposition gegenüber kanzerogenen HM-PAK, wie dem B[a]P, erreicht werden. Unter anderem konnte das IPA bereits vor mehreren Jahren zeigen, dass eine günstigere Zusammensetzung eines Bindepechs, mit geringeren Anteilen an B[a]P, bei der Herstellung feuerfester Materialien zu deutlich niedrigeren Expositionen gegenüber dem kanzerogenen B[a]P führt (Mensing et al. 2005). Jedoch stieg parallel dazu die Exposition gegenüber Phenanthren, einem derzeit nicht als kanzerogen bekannten niedermolekularen PAK, auf mehr als das Doppelte an (Abb. 1).

Kaum Daten zu niedermolekularen PAK

Im Gegensatz zu HM-PAK liegen nur wenige Daten zur Toxizität von niedermolekularen PAK (NM-PAK) wie Phenanthren, Fluoranthren oder 1-Methylantracen vor, obwohl diese Hauptkomponenten in unterschiedlichen PAK-Gemischen darstellen. Dementsprechend können deren krebserzeugende Eigenschaften derzeit nicht abschließend beurteilt werden (Gruppe 3 gemäß IARC-Einstufung, IARC 2010). Zusätzlich fehlen Daten zu ihrer Wirkung im Gemisch, unter anderem zusammen mit klassischen kanzerogenen PAK, wie dem B[a]P. Da häufig die Exposition gegenüber HM- und NM-PAK gleichzeitig erfolgt, lassen sich in Arbeitsplatzstudien die toxischen und kanzerogenen Effekte keiner der beiden Gruppen zweifelsfrei zuordnen. Potenzielle tumorinitiierende und -promovierende Unterschiede können daher in der Regel nur in Zellversuchen (*in vitro*) und unter kontrollierten Bedingungen untersucht werden. Dies gilt in analoger Weise für das synergistische oder antagonistische Zusammenwirken von HM- und NM-PAK.

Tests zeigen präkanzerogene Wirkungen von NM-PAK

Die neuen Ergebnisse des IPA in Kooperation mit der Universität Colorado in einem Lungenzellmodell (C10-Zellen) zeigen nun erstmals, dass Fluoranthren und 1-Methylantracen, Hauptkomponenten in PAK-Gemischen, in Gegenwart von B[a]P die Bildung von DNA-Addukten des B[a]P und damit dessen tumorinitiierende Eigenschaften dosisabhängig fördern (Bauer et al. 2018). Gleichzeitig führten sie bereits alleine zu einer Störung der interzellulären Kommunikation über sogenannter Gap-Junctions (Abb. 2), also derjenigen Kanäle, die für den Austausch von Informationen zwischen benachbarten Zellen zuständig sind (Osgood et al. 2017).

- Niedermolekulare PAK (NM-PAK) bilden die Hauptkomponenten in PAK-Gemischen, sind aber bislang noch unzureichend untersucht.
- NM-PAK wirken präkanzerogen, generieren damit Bedingungen im Körper, die die Entstehung von Krebs fördern und dies unabhängig von der letztendlich tatsächlich krebserzeugenden Substanz.
- PAK-Gemische, d.h. NM-PAK und hochmolekulare PAK wie das Benzo[a]pyren wirken im „Team“ und nicht isoliert.

Dieser verminderte Informationsaustausch bei behandelten Zellen ist vermutlich auf eine reduzierte Expression von Proteinen wie dem Connexin 43, die an der Bildung der Gap-Junctions beteiligt sind, zurückzuführen. Zusätzlich induzierten die genannten NM-PAK auch entzündliche Prozesse, unter anderem die Expression der Cyclooxygenase 2 (COX-2), und erzeugten damit tumorfördernde Umgebungsbedingungen innerhalb der Zellen und des Zellverbands. Sämtliche Prozesse wurden in den *In-vitro*-Untersuchungen in Gegenwart von B[a]P im Vergleich zu den einzelnen NM-PAK verstärkt vorgefunden. Die Ergebnisse zeigen, dass NM-PAK präkanzerogene Wirkungen entfalten, in der Zelle also Verhältnisse schaffen, die eine optimale Entfaltung der kanzerogenen Eigenschaften von B[a]P erst möglich werden lassen. Inso-

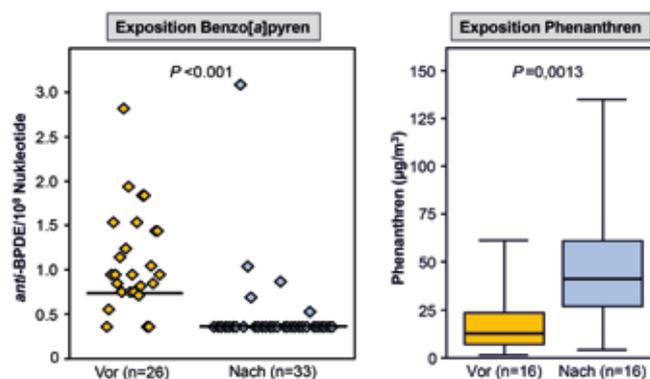


Abb. 1. Die Verwendung eines alternativen Bindepechs mit geringerem Gehalt an kanzerogenen B[a]P bei der Herstellung feuerfester Materialien führt zu einer geringeren Exposition der Beschäftigten gegenüber B[a]P, aber zu einer höheren Exposition gegenüber Phenanthren; beispielhaft dargestellt über die Reduktion B[a]P-spezifischer Reaktionsprodukte mit der Erbsubstanz DNA (anti-BPDE) im Körper der Beschäftigten (A) und der Erhöhung der äußeren Konzentration an Phenanthren in der Arbeitsplatzluft (B) jeweils vor und nach der Umstellung auf das neue Bindepech.

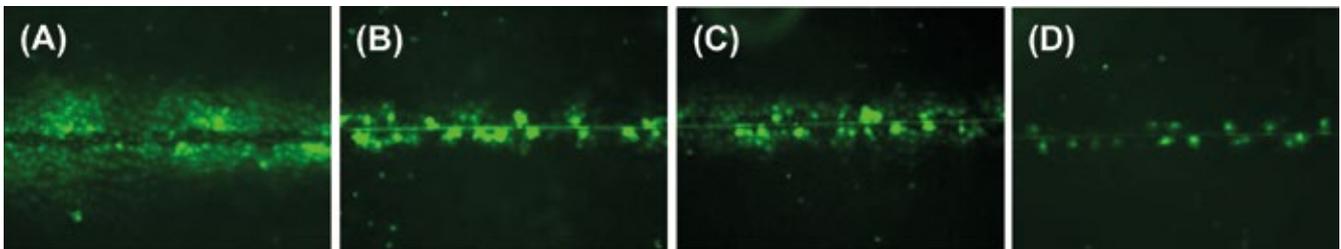


Abbildung 2: Störung der Gap-Junction-vermittelten interzellulären Kommunikation innerhalb von 24 Stunden durch 1 µM Benzo[a]pyren (B), 10 µM eines Gemisches aus Fluoranthen (Fluo) und 1-Methylantracen (1-MA) (C) und einer Kombination aus 1 µM B[a]P und 10 µM Fluo/1-MA (D) im Vergleich zu nicht mit PAK behandelten Kontrollzellen (A), nachgewiesen mittels des SL/DT-Tests („Scalpel-loaded dye-transfer assay“).

fern agiert und wirkt das PAK-Gemisch als Ganzes und, um beim Bild zu bleiben, wie ein Wolfsrudel bei der Jagd, wo jedes Mitglied seine spezifische Funktion ausübt, um das übergeordnete Ziel zu erreichen.

Daten stützen Einstufung von PAK als Ganzes

Bislang fehlende Daten zur Wirkung von NM-PAK und die Vermutung, dass unterschiedliche PAK nicht unabhängig voneinander ihre Wirkung entfalten, haben in der Vergangenheit unter präventiven Gesichtspunkten dazu geführt, dass unterschiedliche PAK-Gemische als Ganzes als krebserzeugend für den Menschen eingestuft wurden. Diese Einstufung ist indirekter Natur, da sich die Einstufung strenggenommen auf „Pyrolyseprodukte aus organischem Material“ bezieht, die, neben PAK, auch viele andere Stoffe enthalten. Die nun vorliegenden Ergebnisse stützen jedoch prinzipiell dieses Vorgehen zum ersten Mal auch durch wissenschaftliche Daten. Darüber hinaus begründen die vorliegenden neuen Daten auch eine Überprüfung der Einstufung einzelner NM-PAK, da diese bereits alleine die zellulären Voraussetzungen zur Entstehung von Krebs schaffen können. Im Unterschied zum wirklichen „Wolfsleben“ unterstützen sie damit nicht nur die Alphas aus dem eigenen Rudel sondern letztendlich die Krebsentstehung durch jedes beliebige andere Kanzerogen am Arbeitsplatz oder in der Umwelt. Aus Sicht der Prävention hat damit der Schutz des Beschäftigten vor einer Exposition gegenüber dem gesamten Gemisch Vorrang vor Maßnahmen, die lediglich zum Austausch oder der Verminderung einer Einzelkomponente führen.

Die Autoren:

Prof. Dr. Thomas Brüning,
Dr. Heiko U. Käfferlein, Dr. Sabine Plöttner
 IPA

Dr. Alison K. Bauer, Dr. Katelyn J. Siegrist,
 Colorado School of Public Health,
 University of Colorado, Denver, USA

Literatur

Bauer AK, Velmurugan K, Plöttner S, Siegrist KJ, Romo D, Welge P, Brüning T, Xiong KN, Käfferlein HU. Environmentally prevalent polycyclic aromatic hydrocarbons can elicit co-carcinogenic properties in an in vitro murine lung epithelial cell model. *Arch Toxicol.* 2018; 92: 1311-1322

IARC. Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum. 2010; 92, Lyon, France

Mensing T, Marczynski B, Engelhardt B, Wilhelm M, Preuss R, Kappler M, Angerer J, Käfferlein HU, Scherenberg M, Seidel A, Brüning T. DNA adduct formation of benzo[a]pyrene in white blood cells of workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int J Hyg Environ Health* 2005; 208: 173-178

Babica P, Sovadinová I, Upham BL. Scrape Loading/Dye Transfer Assay. *Methods Mol Biol.* 2016; 1437: 133-144

Osgood RS, Upham BL, Bushel PR, Velmurugan K, Xiong KN, Bauer AK. Secondhand Smoke-Prevalent Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Binary Mixture-Induced Specific Mitogenic and Pro-inflammatory Cell Signaling Events in Lung Epithelial Cells. *Toxicol Sci.* 2017; 157: 156-171