

Ulrich Alexander Harréus  
Dr. med.

## **Untersuchungen zur Wirkung genotoxischer Kanzerogene in menschlichen Schleimhautbiopsien des oberen Aerodigestivtraktes**

Geboren am 04.10.1969 in Kronberg/Ts.  
Reifeprüfung am 18.05.1989 in Königstein/Ts.  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1990 bis WS 1997  
Physikum am 19.08.1992 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in 1) Farmington, University of Connecticut, USA  
2) Universität Heidelberg  
Staatsexamen am 15.05.1997 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach : 1) Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)  
2) Hals-Nasen-Ohrenheilkunde  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. H. Maier

Tumoren im oberen Luft- und Verdauungstrakt stellen derzeit einen Anteil von 3 bis 4% aller malignen Neoplasien mit ansteigender Tendenz. In den vergangenen 20 Jahren hat sich trotz intensiver Forschung die Langzeit-Überlebensrate betroffener Patienten nicht wesentlich verbessert. Diese Tatsache macht zukünftig eine genaue Identifikation der krebsauslösenden Faktoren, wie z.B. die Beschreibung des karzinogenen Potentials von Umwelt- und Arbeitsstoffen, erforderlich. Hierdurch können betroffene Risikogruppen definiert, und entsprechende Screeningverfahren eingesetzt werden. Neben epidemiologischen und tierexperimentellen Untersuchungen gilt es, Testmethoden einzusetzen, in denen an humanen Biopsaten kanzerogene Substanzen bzgl. ihrer genotoxischen Effekte geprüft werden können. Hierfür bieten sich insbesondere Kurzzeittestverfahren wie die MGE an. Sie scheint sowohl aus zeitlichen wie auch aus finanziellen Aspekten für eine künftige Durchführung von Screeninguntersuchungen bei Hochrisikogruppen geeignet zu sein.

In den vorliegenden Messungen erwies sich die MGE zum ersten Mal als valides Verfahren, um genotoxische Veränderungen an humanen Schleimhautproben zu messen. Neben den negativen Genotoxizitäten der Leerkontrollen ergaben die Positivkontrollen mit der direkt alkylierenden Substanz N-Methyl-N'-nitro-N-Nitrosoguanidin (MNNG) lokalisationsunabhängig deutliche DNA-Schädigungen. Zum Vergleich wurden epidemiologisch und tierexperimentell auffällige Substanzen an frischem Biopsiematerial aus dem oberen Aerodigestivtrakt getestet.

Die Metallverbindungen Chrom und Nickel ergaben unterschiedliche Ergebnisse. Einerseits induzierte Natriumdichromat ( $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) in Nase und Nasennebenhöhlen (NNH) starke und in Mundhöhle, Rachen sowie Kehlkopf schwächere DNA-Schäden. Andererseits war für Nickelsulfid (NiS) in diesen Lokalisationen kein Nachweis genotoxischer Veränderungen zu erbringen. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß eine Exposition gegenüber sechswertigem Chrom im Chromat nicht nur für die Lunge, sondern auch für die oberen Luftwege ein gesteigertes Krebsrisiko bedeutet. Die weithin negativen Ergebnisse mit Nickel lassen eine mit dem angewandten Testverfahren nicht meßbare Genotoxizität des Metalls vermuten. Auch wenn für Nickel eine tierexperimentelle krebsauslösende Wirkung insbesondere in der Nase weitgehend anerkannt ist, so sind hierfür offenbar in erster Linie nicht-mutagene Prozesse an der Ziel-DNA verantwortlich. Hinweise für eine Zellschädigung

gibt die Betrachtung der Zellverteilung im Bereich Nase/NNH nach Nickerexposition. Hierbei konnte eine Abnahme der ungeschädigten Zellen nachgewiesen werden. Auffällig war zudem eine signifikant erhöhte Empfindlichkeit männlicher Spenderzellen gegenüber Nickel. Dennoch scheint primär nicht die in der vorliegenden Arbeit gemessene Nickelgenotoxizität für die Karzinogenese des Metalls verantwortlich, sondern vielmehr andere Mechanismen, wie z.B. Mutagenität, intrachromosomale Rekombination (SCE) und ein bislang unbekannter nicht-mutagener Funktionsverlust der DNA der Zielzellen.

Für Nitrosaminverbindungen konnten genotoxische Effekte lediglich im Bereich von Mundhöhle, Pharynx und Larynx gemessen werden. Hier zeigte die statistische Auswertung insbesondere für gesteigerten Alkoholkonsum eine cofaktorielle Bedeutung. Dies könnte auch Ursache für die abweichenden negativen Resultate in Nase/NNH sein, da eine Vorbelastung durch Alkohol hier anamnestisch keine Rolle spielte.

Auch B[a]P als Leitsubstanz der polyzyklischen Kohlenwasserstoffe (PAH) erwies sich in der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes vornehmlich in Mundhöhle und Pharynx vereinzelt als Induktor genotoxischer Prozesse. Dabei schien besonders eine Exposition mit Fremdstoffen wie Zement, Metallstaub und auch Alkohol von Bedeutung zu sein. Eine grundsätzliche genotoxische Schädigung durch B[a]P ließ sich jedoch nicht nachweisen.

An den Biopsien von Gaumen- und Rachenmandel von vornehmlich jungen Spendern konnte für keinen der getesteten Stoffe eine Genotoxizität nachgewiesen werden, obgleich eine unmittelbare Nachbarschaft zu Naso- und Oropharynx vorliegt. Aufgrund des zuvor beschriebenen Einflusses einer langjährigen Fremdstoffexposition erklären sich die negativen Beobachtungen evtl. auch durch die nicht vorhandenen Vorbelastungen der Spender. Dadurch entfällt die damit in Verbindung stehende Induktion der Schleimhautenzyme (z.B. Cytochrom P450), welche zahlreiche Umwelttoxine wie NDELA in ihre toxischen Metabolite umwandeln und somit aktivieren.

Betrachtet man die vorliegenden Ergebnisse, so wird eine unterschiedliche Empfindlichkeit einzelner Lokalisationen sogar innerhalb des oberen Aerodigestivtraktes gegenüber den getesteten Substanzen deutlich ( $p$ -Wert für den Einfluß aller Lokalisationen = 0.0001). Ein weiterer Schwerpunkt der Erkenntnisse liegt im Bereich interindividueller Unterschiede, die vereinzelt mit anamnestischen Auffälligkeiten statistisch signifikant in Verbindung gebracht werden konnten. Insbesondere ein unterschiedliches Alkoholkonsumverhalten der Probanden hatte häufig signifikanten Einfluß auf eine induzierte DNA-Schädigung. Die ermittelten Einflüsse beruflicher Strahlungsexposition muß dagegen aufgrund geringer Fallzahlen und unsicherer Expositionslevel der Betroffenen als zu spekulativ eingestuft werden. Dennoch unterstreichen die vorliegenden Ergebnisse die Bedeutung einer Kombination aus experimentellen Untersuchungen an humanen Schleimhautzellen und der gleichzeitigen Durchführung von Spenderanamnesen für eine genauere Beurteilung von Versuchsergebnissen.