

6. Untersuchungen zur potentiellen Gentoxizität von Krähenbach und Körsch Sedimenten

Zusammenfassung: Zur Untersuchung des gentoxischen Potentials von Krähenbach und Körsch Sediment wurden isolierte Hepatocyten der Regenbogenforelle für 24 h mit acetonischen Sedimentextrakt beider Fließgewässer exponiert und im Comet-Assay auf DNA-Schäden untersucht. Bereits bei einer 1:4 Verdünnung des Sedimentextraktes konnten im Comet-Assay bei Hepatocyten durch beide Fließgewässer gentoxische Effekte dokumentiert werden. Im Vergleich zum Krähenbach zeigten die Körsch-Sedimentproben eine signifikant stärkere Gentoxizität auf die Primärhepatocyten im Comet-Assay.

6.1 Einleitung

Das gentoxische Potential anthropogener Chemikalien in Oberflächengewässern stellt eine besondere Gefährdung für die Umwelt und letztendlich für den Menschen dar. Gentoxische Substanzen können die DNA schädigen, Mutationen bewirken und schließlich Tumoren induzieren. Epidemiologische Studien geben Hinweise darauf, daß Krebserkrankungen beim Menschen u.a. durch chloriertes (Craun, 1985) oder mit Industriechemikalien (Griffith & Riggan, 1989) kontaminiertes Trinkwasser sowie durch den Genuß von Meeresfrüchten aus besonders belasteten Gebieten (Amer et al., 1990) hervorgerufen werden können. Deshalb wurde im Paragraph 7a des Wasserhaushaltsgesetzes zwingend die Forderung zur Erfassung des gentoxischen Potentials von Abwassereinleitungen festgelegt. Dabei setzt sich die Gentoxikologie zum Ziel, Schadfaktoren zu ermitteln, die eine Erbgutschädigung hervorrufen. Die meisten krebserzeugenden Schadstoffe wirken auch erbsubstanzschädigend (gentoxisch) bzw. erbsubstanzverändernd (mutagen; Maron, 1984). Gentoxische Belastungen stellen nicht nur eine Bedrohung für die Überlebensfähigkeit einzelner Arten dar, sondern können auch zu Verschiebungen im Genpool führen und somit möglicherweise eine Gefahr für die Stabilität von Ökosystemen darstellen (Helma et al., 1994).

Da bis jetzt überwiegend Verfahren entwickelt wurden, die Gentoxizität von Monosubstanzen zu untersuchen, wird momentan zunehmend nach sensitiven Testsystemen geforscht, die sich eignen, das gentoxische Potential von Stoffgemischen, v.a. Wasser, aber auch Sedimentproben zu bewerten. Von mehr als 200 biologischen Testverfahren zur Bestimmung der Gentoxizität wurden bisher ca. 50 Systeme zur Prüfung von Chemikaliengemischen eingesetzt (Waters et al., 1988). Es lassen sich dabei *In vitro*- und *In vivo* Testverfahren unterscheiden.

Für die *In vitro*-Verfahren werden neben eukaryontischen Zellen auch Prokaryonten verwendet. Als Beispiele für *In vitro*-Testverfahren mit Prokaryonten können der Ames-Test (Houk, 1992) und der *umu*-Test (Oda et al., 1985; Reiferscheid et al., 1991a,b) angeführt werden (Tab. 6.1). Bei den *In vitro*-Testverfahren mit eukaryontischen Zellen werden neben Punktmutationen, wie beim Ames-Test auch Chromosomen- und Genommutationen (Chromosomenaberrationen, Mikronuclei, Schwesterchromatidaustausche) als Endpunkte zur Bestimmung des gentoxischen Potentials herangezogen.

Bei den *In vivo*-Testverfahren wird die Wirkung gentoxischer Substanzen am intakten Organismus untersucht. Dabei werden neben Tieren auch Pflanzen, wie Farne und Wasserhyazinthen als Bioindikatoren für Gentoxizität eingesetzt (Helma et al., 1994b; Sharma, 1990). Als tierische Bioindikatoren werden v.a. Wasserorganismen wie Muscheln, Amphibienlarven und Fische

6. Gentoxische Untersuchung an Sediment

verwendet. Der finanzielle und zeitliche Aufwand von *In vivo*-Tests mit Tieren ist jedoch im Vergleich zu Pflanzen- und *In vitro*-Systemen viel höher, ganz zu schweigen von den ethischen Problemen.

Tab. 6.1: Übersicht verschiedener *In vitro*- und *In vivo*-Gentoxizitätstests.

Testsystem	Prinzip	Literatur
Prokaryonten		
Bakterien		
Ames-Test	Reversion von histidinbedürftigen (his ⁻) Mutanten von <i>Salmonella typhimurium</i> (meist TA98, TA100, TA102)	Ames et al., 1973; Maron & Ames, 1984; Meier, 1988; Stahl, 1991
<i>umu</i> -Mikrotest	Bildung von β -Glucosidase als Konsequenz der SOS-Antwort auf DNA-Schäden	Oda et al., 1985; Reiferscheid et al., 1991a
Eukaryontische Zellkulturen		
stabile Zelllinien (CHO, V79)	Induktion von Chromosomenaberrationen (CA), Schwesterchromatidaustausch (SCE), Mikronuclei (MN), Punktmutationen (HGPRT)	Jensen, 1984; Gupta, 1984; Müllerschön, 1987, 1988; Wilcox et al., 1988
primäre Rattenleberzellkulturen	Induktion von CA, SCE, MN	Eckl et al., 1987; Eckl, 1988; Haider et al., 1992
Pflanzen		
<i>Allium cepa</i> (Küchenzwiebel)	MN, CA in den Wurzelspitzen	Al Sabti, 1989; Al Sabti & Kurelec, 1985; Dash et al., 1988
<i>Eichhornia crassipes</i> (Wasserhyazinthe)	MN in der Wurzelspitze	Panda et al., 1988; Rosas et al., 1984
<i>Zea mays</i> (Mais)	Rückwärtsmutationen des <i>waxy</i> (<i>wx</i>) Locus in Pollenkörnern	De Marini et al., 1982
Tiere		
<i>Anodonta cygnea</i> (Teichmuschel)	Bildung von MN in den Kiemenzellen	Scarpato et al., 1990
<i>Umbra limi</i> (Östlicher Hundsfisch)	Induktion von SCE in Erythrocyten	Kligermann, 1984
<i>Nothobranchius rachowi</i> (Prachtkärpfling)	Induktion von SCE in Kiemenzellen	Van de Kerckhoff & van der Gaag, 1985; Van der Gaag & van de Kerckhoff, 1985; Wrisberg, 1992
<i>Heteropneustes fossilis</i> (Sackkiemer)	Bildung von MN in Erythrocyten	Das & Nanda, 1986
<i>Cyprinodon variegatus</i> (Edelsteinkärpfling)	CA in Larven	Daniels & Means, 1989
<i>Xenopus laevis</i> (Afrikan. Krallenfrosch)	Bildung von MN in Erythrocyten der Larven	Van Hummelen et al., 1989; Müllerschön & Miltenburger, 1992
<i>Rana catesbeiana</i> (Ochsenfrosch)	Bildung von MN in Erythrocyten der Kaulquappen	Kim, 1991

Als *In vitro*-Testverfahren mit eukaryontischen Zellen zum Nachweis von DNA-Schäden hat sich in den letzten Jahren zunehmend der *Comet-Assay* etabliert (Singh et al., 1988), der auch als *Einzelzell-*

6. Gentoxische Untersuchung an Sediment

gelelektrophorese (SCG) oder *Mikrogelelektrophorese* (MGE) bezeichnet wird. Er wird in der biologischen, medizinischen und toxikologischen Forschung eingesetzt. Die heute allgemein angewandte SCG-Technik wurde von Singh et al. (1988) entwickelt. Mit diesem Test können neben Einzelstrang- und Doppelstrangbrüchen auch alkalilabile Regionen und AP-Stellen (Apurinische/Apyrimidinische Stellen) als DNA Schäden nachgewiesen werden.

Die belasteten Zellen wurden zunächst in Gel eingegossen. Nach Anfärben der geschädigten Zellkerne mit Ethidiumbromid, einem in die DNA interkalierenden Farbstoff, ergibt sich ein Bild, das dem eines Kometen mit einem fluoreszierenden Kopf und Schweif gleicht (Abb. 6.1).

Die Anzahl der DNA-Strangbrüche, die durch Substanzen bzw. Schadstoffgemische induziert werden, stehen dabei in Zusammenhang mit der Länge und Fluoreszenzintensität des Schweifes. Gegenüber anderen Methoden gilt die Mikrogelelektrophorese als schnell durchführbar, kostengünstig, sehr empfindlich, und zur Durchführung werden nur wenige Zellen benötigt. Dabei können sowohl proliferierende als auch nicht proliferierende Zellen zur Untersuchung herangezogen werden.

Die Mikrogelelektrophorese findet in der Forschung weite Anwendung, u.a. in der Tumorforschung (Olive & Banáth, 1993; Olive & Durand, 1992), medizinischen Diagnostik bei Defekten des zellulären Reparatursystems (z.B. Xeroderma pigmentosum; Green et al., 1992), Untersuchungen von oxidativen Schäden und damit erhöhten Krebsrisiko bei chronischen Entzündungsreaktionen (Frenkel, 1992), Forschung zur Apoptose (programmierter Zelltod), gentoxikologische Untersuchungen (De Méo et al., 1991, Pool-Zobel et al., 1992), Einzelsubstanzprüfung (Ashby et al., 1995), Screeningmethode im Biomonitoring (Betancourt et al., 1995; Betti, 1994, 1995; Binkovha, 1996; Clements et al., 1997; Farmer, 1996; Fenech et al., 1997; Froschauer, 1998; Hartmann et al., 1998; Kuljukka et al., 1996; Moretti et al., 1996; Neumüller, 1995; Padranghi et al., 1995; Phillips, 1996; Plappert et al., 1997; Ralph & Petras, 1997; Schnurstein et al., 1997, 1998; Valverde, 1997).

Untersuchungen an Zellkulturen haben gezeigt, daß z.B. primäre Rattenhepatocyten oder die menschliche Dauerzelllinie Hep-G2 die Fähigkeit besitzen, promutagene Substanzen durch eigene Metabolisierungsreaktionen in DNA-schädigende Stoffwechselprodukte zu aktivieren (Helma et al., 1994a). Da in der Leber von Fischen bereits Tumore nachgewiesen werden konnten (Maccubin, 1994) und auch Fischprimärhepatocyten Promutagene zu Kanzerogenen metabolisieren können (Gagné & Blaise, 1995), wurde zur Abschätzung des gentoxischen Potentials von Krähenbach- und Körsch-Sedimenten wie in den vorangehenden biochemischen und ultrastrukturellen Untersuchungen isolierte Hepatocyten der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) als Testsystem im Comet-Assay verwendet, um Schädigungen der DNA nach Belastung mit acetonischen Sedimentextrakt beider Fließgewässer festzustellen.

6.2 Ergebnisse

Gentoxische Belastung bei isolierten Hepatocyten der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) durch Krähenbach- und Körsch-Sediment

Isolierte Hepatocyten der Regenbogenforelle wurden für 24 h mit acetonischen Sedimentextrakt von Krähenbach und Körsch (Probennahme vom Juli 1997) in Verdünnungen zu 1:2 (0,1 % Sedimentextrakt entspricht 26,7 mg Sedimenttrockengewicht pro mL Testansatz) und 1:4 (0,05 % Sedimentextrakt entspricht 13,3 mg Sedimenttrockengewicht pro mL Testansatz) exponiert.

6. Genotoxische Untersuchung an Sediment

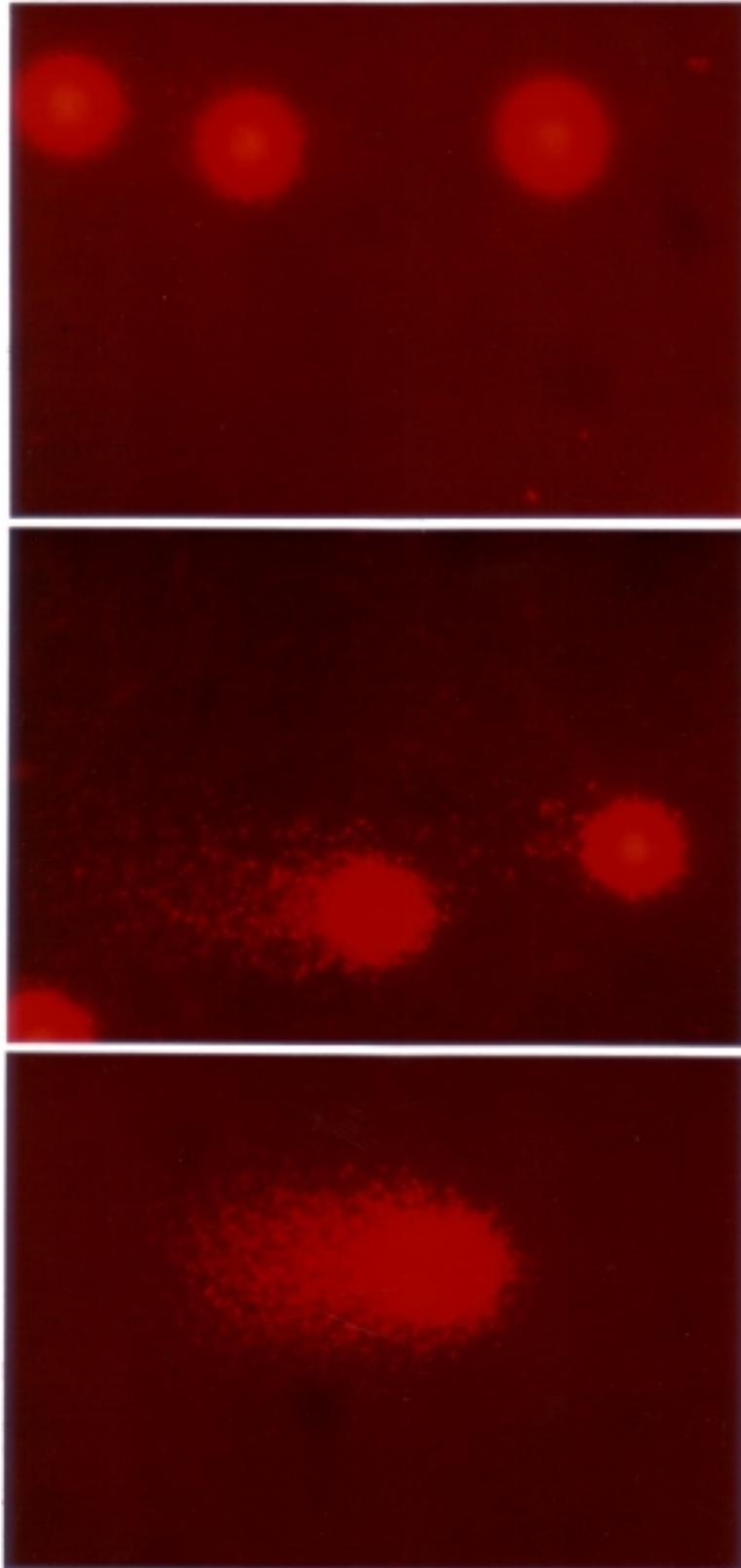


Abb. 6.1: Isolierte Hepatocyten im Comet-Assay mit steigendem DNA-Schädigungsgrad der Zellen (aus Schnurstein et al., 1998).

6. Gentoxische Untersuchung an Sediment

Im Fluoresceindiacetat (FDA)-Assay konnte bei isolierten Hepatocyten der Regenbogenforelle im Vergleich zur Kontrolle keine signifikante Cytotoxizität der acetonischen Sedimentextrakte Maximalkonzentration 0,1 % festgestellt werden.

Bereits bei einer 1:4-Verdünnung des Sedimentextraktes (13,3 mg Sedimenttrockengewicht pro mL Testansatz) konnten bei beiden Fließgewässern im Comet-Assay gentoxische Effekte dokumentiert werden (Abb. 6.2, 6.3). Im Vergleich zum Krähenbach zeigte die Körsch-Sedimentprobe vom Juli 1997 eine signifikant (Tab. 6.2) stärkere Gentoxizität auf die Primärhepatocyten im Comet-Assay (Abb. 6.2, 6.3). Bei beiden Gewässern konnte eine Dosis-Wirkungsbeziehung beobachtet werden.

Tab. 6.2: Statistische Auswertung der *Tail Moments* isolierter Hepatocyten der Regenbogenforelle nach 24 h Belastung mit acetonischen Sedimentextrakt des Krähenbach und der Körsch.

Kontrolle / Sedimentextrakt-Konzentration	Medianwert des <i>Tail-Moments</i>
Kontrolle	0,84
Krähenbach 1:2	2,72*
Krähenbach 1:4	2,64*
Körsch 1:2	13,5*
Körsch 1:4	8,31*

* Ausmaß der DNA-Fragmentierung des Zellpools signifikant verschieden von der Kontrolle nach *One Way ANOVA on Ranks* ($p < 0.05$) in Kombination mit der *Dunnnett's* Methode (Sigma Stat 2.0).

6.3 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit hatten zahlreiche Untersuchungen biochemische und morphologische Effekte in den mit Wasser- und Sedimentproben des Krähenbachs und der Körsch belasteten isolierten Hepatocyten der Regenbogenforelle gezeigt. Dabei hatten sich die Primärhepatocyten als sensitives Testsystem erwiesen, um selbst geringe Schadstoffkonzentrationen im nativen Wasser und Sediment des als eher unbelastet geltenden Krähenbachs cytotoxisch zu erfassen. Interessanterweise waren zahlreiche morphologische Effekte am Zellkern gerade bei mit acetonischem Sedimentextrakt belasteten Primärhepatocyten beider Fließgewässer zu beobachten, so daß sich die Frage nach einem möglichen gentoxischen Potential des Sediments der Modellfließgewässer zwangsläufig ergab. Weitere Hinweise auf das Vorkommen potentiell gentoxischer Schadstoffe ergab eine Analyse der chemisch-analytischen Daten (Honnen et al., 1999b). Über die gesamte Probennahmezeit waren vor allem im Sediment zahlreiche polyaromatische Kohlenwasserstoffe in schwankenden Konzentrationen zu finden. Verschiedene Studien weisen auf die kanzerogene Wirkung von PAHs auf Fische hin (Malins et al., 1985; Vogelbein et al., 1990). Weiterhin können oxidative DNA-Schäden nach Belastung mit Schadstoffen wie PAHs und Nitroverbindungen beobachtet werden (Mitchelmore & Chipman, 1998). Daher wurden die acetonischen Sedimentextrakte der Probennahme Juli 1997 hinsichtlich ihrer gentoxischen Wirkung auf isolierte Hepatocyten der Regenbogenforelle untersucht.

6. Gentoxische Untersuchung an Sediment

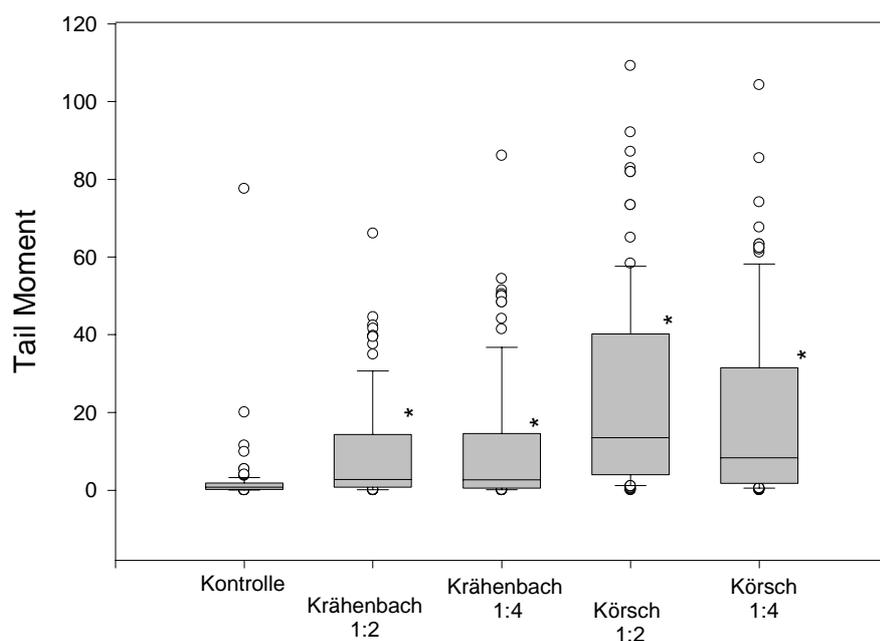


Abb. 6.2: Gentoxische Wirkung von acetonischen Sedimentextrakt von Krähenbach und Körsch in isolierten Hepatocyten aus der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*). * Signifikant verschieden von der Kontrolle nach ANOVA on ranks (Kruskal-Wallis in Kombination mit der Dunnett's Methode; Sigma Stat 2.0)

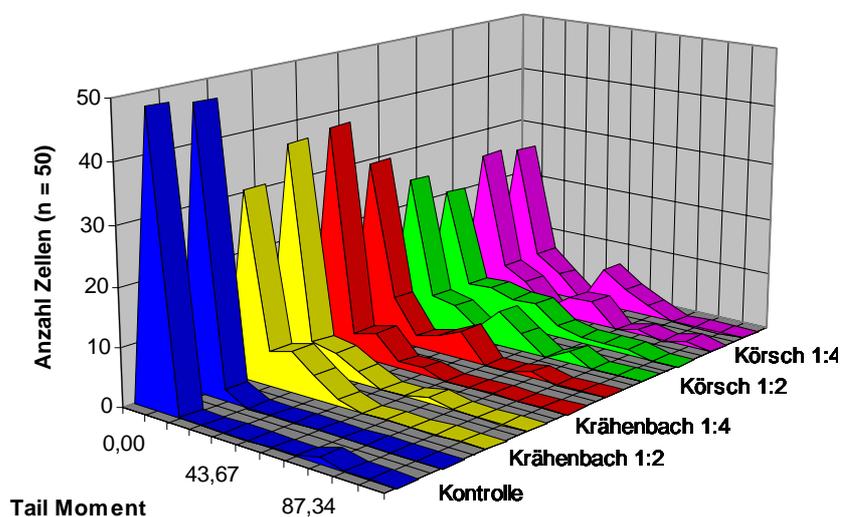


Abb. 6.3: Gentoxische Wirkung von acetonischen Sedimentextrakt von Krähenbach und Körsch in isolierten Hepatocyten der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) im Comet-Assay. Ausgewertet wurde in diesem Experiment die Schweiflänge (Kometenlänge in μm) von 100 Zellen pro Sedimentextraktverdünnung.

6. Gentoxische Untersuchung an Sediment

Die Befunde belegen die Eignung von Primärhepatocyten der Regenbogenforelle in Kombination mit dem verwendeten Comet-Assay um zu reproduzierbaren Ergebnissen zu gelangen. Die acetonischen Extrakte beider Fließgewässer ergaben im Comet-Assay, bereits bei einer 1:4-Verdünnung (13,3 mg Sedimenttrockengewicht pro mL Testansatz) einen deutlich positiven Befund. Dabei konnte sowohl beim Krähenbach als auch bei der Körsch eine signifikant positive Dosis-Wirkungsbeziehung festgestellt werden. Ein direkter Vergleich der beiden Modellfließgewässer ergab für die Körsch als das stärker kontaminierte Gewässer nach 24 h Belastung der Primärhepatocyten jedoch eine signifikant höhere Gentoxizität im Comet-Assay.

Um die vorliegenden Ergebnisse bezüglich der Gentoxizität der Sedimentproben bewerten zu können, ist ein Vergleich mit ähnlichen Untersuchungen erforderlich. In unterschiedlichen Untersuchungen wurden Umweltproben (natives Fluß-, See- und Grundwasser, industrielle und kommunale Einleitungen, Wasser-, Schwebstoff- und Sedimentextrakte) auf ihr gentoxisches Potential hin getestet (Claxton et al., 1998; Froschauer, 1998; Hartlein et al., 1981; Kool et al., 1981; Kosz Vnenchak & Rokosz, 1997; Sayato et al., 1987, 1990; Schnurstein et al., 1997, 1998; Reiferscheid et al., 1991a,b; Tischmeyer, 1998; Tye, 1986; Vahl et al., 1997; White & Rasmussen, 1998; White et al., 1998), und zahlreiche *In vitro*-Untersuchungen konnten das gentoxische Potential verschiedener Umweltproben mit Hilfe unterschiedlicher Methoden nachweisen.

In Primärzellen (Kiemen und Leber) des Zebraärlblings (*Danio rerio*), die mit nativen Wasserproben vom Rhein aus dem Trinkwasserreservoir Wahnbachtalsperre und aus der Elbe für 20 h belastet worden waren konnten lediglich bei zwei Wasserproben (Elbe, Rhein bei Karlsruhe) im Comet-Assay positive Ergebnisse ermittelt werden (Schnurstein et al., 1998). Dagegen zeigte eine Belastung von RTG-2-Zellen mit ausgewählten Abwasserproben (Metallindustrie, chemische Industrie, Kunststoffindustrie) im Comet-Assay teilweise starke gentoxische Effekte (Kunststoffindustrie; Neumüller, 1995). Auffallend war hierbei, daß v.a. jene Proben, die im Cytotoxizitätstest (Neutralrotretention) durch eine stimulierende Wirkung auffielen, im Comet-Assay zu positiven Befunden führten (Hollert, 1996; Neumüller, 1995). Eine *In vitro*-Studie mit einer Zelllinie des Katzenwels (*Ameiurus nebulosus*) ergab in den mit verschiedenen Verdünnungen eines Sedimentextraktes vom Detroit River belasteten Zellen einen Anstieg der DNA-Reparatur in den Zellkernen. Das Flußsediment wies dabei eine hohe Belastung mit PAHs auf (Ali et al., 1993). Gagné et al. (1995) konnten an isolierten Hepatocyten der Regenbogenforelle im Nick-Translation-Assay nach 24 h Belastung mit PAH-kontaminiertem Sediment-extrakt einen sowohl cytotoxischen als auch gentoxischen Effekt beobachten.

α -Hexachlorocyclohexan (HCH), ein vor allem im Körsch-Sediment nachweisbarer Schadstoff, bewirkte in menschlichen und Rattenprimärhepatocyten im alkalischen Eluations-Assay eine dosisabhängige Induktion von DNA-Strangbrüchen (Mattioli et al., 1996).

Neben *In vitro*-Untersuchungen wurden auch zahlreiche *In vivo*-Studien zur Detektion der gentoxischen Schadstoffbelastung der Umwelt durchgeführt. So ergab eine Entnahme von Rotaugen (*Rutilus rutilus*) und Gründlingen (*Gobio gobio*) aus dem Neckar sowie Bachforellen aus dem Forellenbach bei Waldhilsbach für alle drei Arten statistisch signifikante, gentoxische Effekte im Comet-Assay. Dabei waren Darm- und Kiemenzellen am stärksten betroffen (Tischmeyer, 1998). Beim Neckar handelt es sich um ein mit chlorierten Kohlenwasserstoffen, polychlorierten Biphenylen und Bioziden belastetes Fließgewässer der Gewässergüteklasse II-III.

6. Gentoxische Untersuchung an Sediment

Untersuchungen an Getüpfelten Gabelwelsen (*Ictalurus punctatus*) von Standorten mit einer starken PAH-Kontamination des Sedimentes (Buffalo und Detroit River) ergaben eine hohe Erkrankungsrate der Tiere mit Leberkrebs (Dunn et al., 1987). Nach Isolation der DNA aus den Leberzellen konnte eine verstärkte Ausbildung von DNA-Addukten in den Hepatocyten festgestellt werden (Dunn et al., 1987). Auch in der Leber des Aals (*Anguilla anguilla*) von sechs PAH-belasteten Standorten um Amsterdam und der Englischen Seezunge (*Parophrys vetulus*) konnten in Hepatocyten verstärkt DNA-Addukte beobachtet werden (Van Schooten et al., 1995; Varanasi et al., 1989). Die Ausbildung von DNA-Addukten kann einerseits die Replikation stören, andererseits auch zum DNA-Strangbruch führen (Segner & Braunbeck, 1998).

Eine vergleichbare Untersuchung am Blaubandkärpfling (*Fundulus heteroclitus*) aus dem Elizabeth River zeigte eine hohe Rate an Leberkarzinomen in den belasteten Fischen. Eine chemische Analyse des Flußsedimentes ergab eine extrem hohe Kontamination (2200 mg/kg Sedimenttrockengewicht) mit polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (Vogelbein et al., 1990). In beiden Untersuchungen könnte die chronische Belastung der einheimischen Fische mit PAHs im direkten Zusammenhang mit der Ausbildung von Leberkrebs stehen. Im Vergleich zum Elizabeth River konnten bei der Probennahme Juli 1997 im Krähenbach-Sediment 601,1 mg und im Körsch-Sediment 801,4 mg PAHs pro kg Sedimenttrockengewicht nachgewiesen werden (Honnen et al., 1998). Somit war die PAH-Belastung des Elizabeth River um das 2,7-fache höher als in der Körsch. Dennoch war der gentoxische Schaden an isolierten Hepatocyten der Regenbogenforelle nach Belastung mit acetonischen Sedimentextrakt der Körsch eindeutig.

Eine weitere Methode, die Gentoxizität von Umweltproben zu erfassen, ist die Häufigkeit der Ausbildung von Micronuclei in Zellen. In einer Freilandstudie wurde die Amerikanische Flunder (*Pseudopleuronectes americanus*) an verschiedenen Standorten von Virginia bis Long Island aus der Umwelt entnommen und auf die Häufigkeit von Micronuclei in Erythrocyten hin untersucht. Dabei zeigten die Fische von einem stark mit Zink, Blei, Kupfer und PAH kontaminierten Standort (New York Bight Apex) ein deutlich häufigeres Auftreten von Micronuclei in den Erythrocyten (Hughes & Hebert, 1991). Die PAH-Konzentrationen im Sediment des New York Bight Apex lagen bei 1000 mg/kg Sedimenttrockengewicht (MacLeod et al., 1981). Ein Vergleich mit den chemisch analytischen Daten des Krähenbach- und Körsch-Sedimentes ergab neben zahlreichen PAHs, eine konstante Belastung der Bäche mit Schwermetallen wie Zink und Blei. Zur Juli Probennahme konnten im Krähenbach-Sediment 23 mg/kg Zink bzw. 21 mg/kg Blei und im Körsch-Sediment 223 mg/kg Zink bzw. 85 mg/kg Blei analytisch nachgewiesen werden (Honnen et al., 1998). Somit lag die Zinkkonzentration im Körsch-Sediment im Vergleich zum Krähenbach um den Faktor 10 höher.

Ein wichtiger Vertreter der PAH-Gruppe ist das aus fünf Ringen bestehende Benz[a]pyren, ein bekanntes Karzinogen, welches im Wasser nur schlecht löslich ist und sich in Gewässern vor allem im Sediment anreichert (Streit, 1994). In Krähenbach und Körsch wurden im Sediment Benz[a]pyrenkonzentrationen von 284 bzw. 561 µg/kg Trochengewicht zur Probennahme im Juli 1997 nachgewiesen (Honnen et al., 1999a). Somit waren in 20 g zu extrahierendem Körschsediment maximal 11,2 µg Benz[a]pyren enthalten. Im Vergleich dazu zeigte der Rhein eine Benz[a]pyrenbelastung von 10 - 165 ng/L (Streit, 1994). Bei *In vitro*-Untersuchungen an Primärhepatocyten der Regenbogenforelle (Gagné & Blaise, 1995) und des Spiegelkarpfens (Zaleski et al., 1991) konnte eine DNA-Adduktbildung von Benz[a]pyren-Metaboliten nachgewiesen werden, welche durch zelluläre DNA-Repair-Systeme mittels Excision entfernt werden. Damit ist die im Comet-Assay nachweisbare DNA-Fragmentierung nach Benz[a]pyrenbelastung das Resultat zellulärer

6. Gentoxische Untersuchung an Sediment

Reparaturleistungen (Speit & Hartmann, 1995). Untersuchungen von Monod et al. (1998) ergaben nach 24 h Belastung von Primärhepatocyten der Regenbogenforelle mit 252 µg/L Benz[a]pyren einen gentoxischen Effekt. Somit könnte das im Krähenbach- und Körschsediment nachgewiesene Benz[a]pyren zum positiven Befund im Comet-Assay beigetragen haben.

Mit der vorliegenden Untersuchung konnte exemplarisch für die Probennahme vom Juli 1997 im Comet-Assay an Primärhepatocyten der Regenbogenforelle ein gentoxisches Potential im Sediment beider Modellfließgewässer nachgewiesen werden. Wiederum zeigte die Körsch im Vergleich zum Krähenbach eine stärkere Ausprägung der Effekte. Die für beide Bäche nachgewiesenen Schadstoffgruppen (z.B. polyaromatische Kohlenwasserstoffe) bzw. Schadstoffe zeigten in vergleichbaren Konzentrationen in zahlreichen Studien ihre potentielle Kanzerogenität bzw. Gentoxizität auf lebende Organismen.

6. Genotoxische Untersuchung an Sediment
