



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Einfluss des Weichmachers Diethylhexylphthalat (DEHP) auf humane Leberzellen in Monolayer-Zellkultur verglichen mit 3D-Leberorganoiden

Autor: Priska Verena Hakenberg
Institut / Klinik: II. Medizinische Klinik
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. K. Breitkopf-Heinlein

Weichmacher sind aus unserem heutigen Leben und aus der Medizin nicht mehr wegzudenken. Sie werden in zahlreichen Kunststoffen verwendet und haben sich durch ihre besonderen chemischen Eigenschaften, durch die sie nicht kovalent mit dem Kunststoff-Polymer verbunden sind, sondern leicht ausgewaschen werden können, mittlerweile in der Umwelt verteilt.

Der Mensch ist Weichmachern in der Nahrung, Luft und Natur ausgesetzt, ebenso wie in Gebäuden und Autos. Ein weiteres Anwendungsgebiet sind Medizinprodukte aus Kunststoffen. Bei vielen Patienten können teilweise deutlich höhere Konzentrationen der verwendeten Weichmacher im Organismus erreicht werden als in der übrigen Bevölkerung.

Ein weit verbreiteter Weichmacher ist DEHP, der als reproduktionstoxisch und fraglich cancerogen eingestuft wird. Mittlerweile wird die Verwendung von DEHP durch die EU in Europa streng reguliert und für einige Anwendungsbereiche ist es bereits verboten. In Medizinprodukten wird DEHP jedoch nach wie vor noch verwendet und diese sind außerdem von einem Teil der Verbote ausgenommen.

In Nagetieren ist insbesondere ein cancerogener Effekt auf die Leber sowie eine Reproduktionstoxizität beschrieben worden. Wir haben daher den Einfluss von DEHP auf Humane upcyte® Leberzellen in verschiedenen Modellen untersucht.

In unseren Versuchen konnten wir zeigen, dass Enzyme, die am Stoffwechsel beteiligt sind durch DEHP beeinflusst werden. Die Enzyme Cytochrom 3A5 und 3A7 zeigten eine signifikante Induktion durch DEHP in verschiedenen Konzentrationen in der Monolayerkultur (CYP 3A5: $p=0,048$, *; $p < 0,001$, ***; CYP 3A7 $p=0,026$, *).

Es zeigten sich Unterschiede im Monolayer- und im 3D-Modell, welche auf eine möglicherweise protektive Wirkung des Zellverbands gegenüber der Monolayerkultur hindeuten. Bereits makroskopisch waren in beiden Zellkulturmodellen Veränderungen in der Morphologie zu erkennen. Im 3D-Modell war ebenfalls eine schlechtere Formierung des Organoids, welches DEHP ausgesetzt war zu sehen.

Auch im 3D-Modell sind die Effekte auf die Expression der Enzyme der Cytochrom P-Familie besonders hervorzuheben - hier ebenfalls die Isoformen 3A5 und 3A7. Das Cytochrom P Isoenzym 3A5 hat eine nahezu identische Struktur zu dem bekannten Isoenzym 3A4 und setzt auch die gleichen Substrate um. Die Isoform 3A5 wurde im Monolayer signifikant induziert und trägt dadurch zu einem schnellen Umsatz von Phthalsäure bei. Dies kann dazu beitragen, die verwendeten Weichmacher weniger schädlich zu machen. Diese Induktion konnte in der 3D-Zellkultur bestätigt werden.

Die Induktion der Expression dieses Enzyms durch DEHP könnte also einen Schutzmechanismus der Leber darstellen.

Da diese Enzyme aber auch die wichtigsten Enzyme im (Medikamenten-) Stoffwechsel sind, können durch die Induktion der Expression Veränderungen in der Medikamentenwirksamkeit erwartet werden. Beispielsweise könnten toxische Metabolite von Medikamenten wie Acetaminophen akkumulieren und damit eine Lebertoxizität verursachen.

Auch durch die Veränderungen in der Expression von Mki 67, die Induktion von Cytochrom P450 2A6 und die Inhibition von Enzymen der UGT-Familie sowie die reduzierte Expression von E-Cadherin konnten wir leberschädigende Effekte feststellen, die auch im 3D-Modell nachweisbar waren.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass Weichmacher Einfluss auf die Tierwelt und den menschlichen Organismus haben und sie, soweit möglich vermieden oder zumindest durch weniger schädliche Varianten wie COMGHA oder DINCH ersetzt werden sollten. COMGHA ist ein Phthalsäurefreier Weichmacher, der sich aus mehreren Stoffen zusammensetzt. Bisher konnten für diesen Stoff keine toxischen oder cancerogenen Eigenschaften festgestellt werden.

DINCH ist der zurzeit am meisten genutzte Weichmacher. Untersuchungen zum exakten Stoffwechsel von DINCH und eine Lebertoxizität liegen bisher nicht vor. Es gibt lediglich wenige Untersuchungen zur Belastung der Bevölkerung mit DINCH oder zu Effekten auf Hoden- oder Ovarialzellen im Tiermodell.