

**Toxische Wirkungen von polychlorierten Dibenzop-dioxinen und Dibenzofuranen, die für die Gefährdungsabschätzung beim Menschen von Bedeutung sind**

Peter Cikryt, Hessische Landesanstalt für Umwelt, Rheingaustraße 186,  
65203 Wiesbaden

**Gliederung:**

- I. Einleitung und toxikologische Definition des Begriffs Dioxine
- II. Toxische Wirkungen von Dioxinen, die für die Gefährdungsabschätzung relevant sind
  - a) Kanzerogenität
  - b) Reproduktionstoxizität
  - c) Immuntoxizität
- III. Speziesunterschiede in der Toxikokinetik von Dioxinen
- IV. Derzeitiger Kenntnisstand zum Wirkungsmechanismus von Dioxinen
- V. Schlußfolgerungen für die Risikoabschätzung
- VI. Zusammenfassung
- VII. Literatur

## **I. Einleitung und toxikologische Definition des Begriffs Dioxine**

Die im Vergleich zu anderen chemischen Stoffen in toxikologischen Untersuchungen festgestellte hohe biologische Aktivität von polychlorierten Dibenzop-dioxinen (PCDD) und Dibenzofuranen (PCDF) hat zusammen mit einer Reihe spektakulärer Unglücksfälle dazu geführt, daß diese Stoffgruppe in der öffentlichen und wissenschaftlichen Diskussion eine Sonderstellung einnimmt. Dieser Sonderstatus kommt auch beispielsweise dadurch zum Ausdruck, daß der Gesetzgeber in der Bundesrepublik Deutschland eine Reihe von Verordnungen mit dem Ziel erlassen hat, die Exposition des Menschen durch diese sogenannten Dioxine zu minimieren. Trotz dieser Ausnahmestellung gelten für die toxikologische Beurteilung der Dioxine die in diesem Fachgebiet üblichen Kriterien, d.h. das Ausmaß einer toxischen Wirkung wird durch die zugrunde liegende Dosis-Wirkungsbeziehung bestimmt.

Die nachfolgenden Ausführungen gelten, da die meisten wissenschaftlichen Untersuchungen mit der biologisch wirksamen Verbindung, dem 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD), durchgeführt wurden bzw. nach wie vor werden, streng genommen nur für diese Einzelverbindung. Allerdings haben jahrelange intensive Forschungsanstrengungen, insbesondere auch über Struktur-Wirkungsbeziehungen, zu der Erkenntnis geführt, daß zahlreiche strukturell verwandte, vor allem 2,3,7,8-chlorsubstituierte Dibenzop-dioxine und Dibenzofurane, qualitativ in vivo und in vitro die gleichen toxischen Effekte wie TCDD auslösen. Daher kann aus toxikologischer Sicht eine operationale Definition des Begriffs Dioxine vorgenommen werden:

Alle Verbindungen, die sich, mit unterschiedlicher Wirkungsstärke zwar, auf molekularer Ebene analog zum TCDD verhalten und auch vergleichbare biologische Wirkungen hervorrufen, können als Dioxine bzw. zumindest als Dioxin-ähnliche Verbindungen angesehen werden.

Im nachfolgenden Beitrag wird der Begriff Dioxine gemäß dieser Definition verwendet. Gleichzeitig muß daraufhingewiesen werden, daß nur ein kleiner Ausschnitt aus dem umfangreichen Thema "Toxikologie der Dioxine" dargestellt werden kann. Die Ausführungen konzentrieren sich auf die aus toxikologischer Sicht wichtigen biologischen Wirkungen von Dioxinen, die auch im Zusammenhang mit der Überprüfung der bisherigen Risikoabschätzung durch die U.S. Environmental Protection

Agency, dem sogenannten EPA Dioxin-Reassessment, von zentraler Bedeutung sind.

## **II. Toxische Wirkungen von Dioxinen, die für die Gefährdungsabschätzung relevant sind**

### **a) Kanzerogenität**

Die bisherige toxikologische Risikoabschätzung für Dioxine basierte auf dem Endpunkt Krebs, weil die Tumorigenität dieser Verbindungen als kritischste Wirkung angesehen wurde, die im Vergleich zu anderen chronisch toxischen Effekten im Tierexperiment durch sehr niedrige Dosierungen ausgelöst werden kann. Der Entwurf des EPA Dioxin-Reassessment lenkt die Aufmerksamkeit zusätzlich auf immun- und reproduktionstoxische Wirkungen, die möglicherweise auch schon im Niedrigdosisbereich für den Menschen von Bedeutung sind.

Die krebserzeugende Wirkung von Dioxinen wurde in Kurzzeittestsystemen, in tierexperimentellen und epidemiologischen Studien eingehend untersucht. Die Ergebnisse dieser andauernden, intensiven Forschungsanstrengungen können zur Zeit folgendermaßen zusammengefaßt werden:

#### **1. Dioxine wirken nicht-gentoxisch**

Eine direkte Wechselwirkung von Dioxinen mit dem genetischen Material der Zelle konnte weder *in vitro*, noch *in vivo* nachgewiesen werden. Es liegen zwar einzelne positive Befunde vor, die aber insgesamt gesehen in Kontrolluntersuchungen nicht bestätigt werden konnten. Da auch mit sehr empfindlichen Methoden keine kovalente Bindung an die zelluläre DNA gezeigt werden konnte, der Nachweis genomischer oder chromosomaler Mutationen ließ sich ebensowenig erbringen, müssen TCDD und vergleichbar wirkende Verbindungen als nicht-gentoxische Kanzerogene eingestuft werden.

#### **2. Dioxine wirken eindeutig krebserzeugend im Tierversuch**

Die subchronische bzw. chronische Behandlung verschiedener Tierarten, wie Ratte, Maus und Hamster, für einen Zeitraum von wenigen Wochen bis zu 2 Jahren mit TCDD in unterschiedlichen Dosierungen und auf unterschiedlichen Applikations-

wegen (Futter, Schlundsondierung, Bauchfell, Haut) hat in allen untersuchten Spezies unabhängig von der Art der Behandlung dosisabhängig die Bildung von Tumoren in verschiedenen Organen und Geweben ausgelöst. Die krebserzeugende Wirkung von Dioxinen ist nicht auf bestimmte Ratten- oder Mäusestämme beschränkt, sondern wurde beispielsweise in Sprague-Dawley- und Osborne-Mendel-Ratten sowie in Swiss-Webster-, B6C3F1- und B6C-Mäusen beiderlei Geschlechts eindeutig belegt. In der Ratte sind folgende Zielorgane und -gewebe vom tumorigenen Potential der Dioxine betroffen: Lunge, Mund- und Nasenhöhle, Schilddrüse, Nebenniere und Leber. In der Maus werden nach chronischer TCDD-Behandlung Tumoren in der Leber, dem Unterhautgewebe, der Schilddrüse, der Lunge und dem lymphopoetischen System (Lymphome) beobachtet. Im Syrischen Goldhamster verursacht TCDD Plattenepithel-Hautkarzinome im Bereich des Kopfes.

Aufgrund der tierexperimentellen Ergebnisse muß TCDD als "eindeutig kanzerogen im Tierversuch" eingestuft werden. Die Kanzerogenesestudien mit den Labornagetieren weisen TCDD als komplettes Kanzerogen aus, d.h. die alleinige Verabreichung von TCDD - ohne zusätzliche Vorbehandlung mit anderen chemischen Kanzerogenen bzw. ergänzend durchgeführten operativen Eingriffen, wie einer partiellen Leberentfernung - ist für die Tumorbildung ausreichend.

Im Mehrstufenkonzept der Krebsentstehung werden vereinfacht 3 Vorgänge unterschieden, die für die Bildung von malignen Tumoren notwendig sind: Initiation, Promotion und Progression. Als Initiation wird die dauerhafte Veränderung der zellulären Erbinformation durch Mutationen angesehen. Die Einwirkung von Tumorpromotoren auf initiierte Zellen beschleunigt und verstärkt die Tumorentwicklung. In Initiations-Promotionsexperimenten an der Mäusehaut und in der Leber weiblicher Ratten wurde TCDD als potenter Tumorpromotor identifiziert. Der molekulare Ablauf der Tumorpromotion ist bisher biochemisch noch nicht näher charakterisiert worden. Ein einheitlicher Wirkungsmechanismus für alle Tumorpromotoren ist auch eher unwahrscheinlich, weil Tumorpromotoren beispielsweise eine hohe Organspezifität aufweisen und vermutlich unterschiedliche, bisher nicht bekannte Kofaktoren an der Vermittlung der biologischen Aktivität in den jeweiligen Zielorganen beteiligt sind. Neuere Hypothesen zum Wirkungsmechanismus von Tumorpromotoren beruhen auf der Vorstellung, daß Tumorpromotoren den "programmierten Zelltod", die sogenannte Apoptose, von initiierten Zellen verhindern, womit gleichzeitig die wachstumsstimulierende Wirkung von Promotoren herausgestellt wird.

Die aufgrund der tierexperimentellen Daten vorgenommene Einstufung von TCDD sowohl als vollständigem Kanzerogen, als auch als potentem Tumorpromotor stellt einen scheinbaren Widerspruch dar. Es hat sich aber bisher bei allen bekannten Tumorpromotoren zeigen lassen, daß auch die alleinige Gabe des Tumorpromotors im Tierversuch kanzerogen wirken kann. Als mögliche Ursache für diese biologische Aktivität der Tumorpromotoren werden u.a. folgende Hypothesen diskutiert:

- Tumorpromotoren können auf "spontan" initiierte Zellen wirken, die aufgrund der ubiquitär vorhandenen Hintergrundbelastung mit Kanzerogenen genetisch verändert wurden.
- Tumorpromotoren können eine schwach initiiierende Wirkung besitzen, die mit den aktuell verfügbaren Untersuchungsmethoden nicht nachweisbar ist.

### 3. Die Ergebnisse epidemiologischer Studien mit hochexponierten Personen stützen die tierexperimentellen Befunde

Es liegen zahlreiche epidemiologische Studien über biologische Wirkungen von Dioxinen beim Menschen, insbesondere auch zur Krebssterblichkeit und teilweise auch zur Zahl der Erkrankungsfälle an Krebs, vor. Diese Untersuchungen umfassen Kollektive, die entweder aufgrund von Unglücksfällen (BASF, Ludwigshafen 1953 und Seveso 1976) oder durch die Produktion von mit TCDD-verunreinigten Pflanzenschutzmitteln intern hoch mit Dioxinen belastet wurden. Im nachfolgenden werden die vorläufigen Ergebnisse zur Krebsmortalität bzw. -inzidenz von 4 wichtigen epidemiologischen Studien, die weiter fortgeführt werden, kurz vorgestellt. Die Tabelle 1 enthält Angaben zum Studiendesign, Studiendauer und -größe sowie zur Dokumentation der Expositionskontrolle.

#### BASF-Studie:

Die Krebssterblichkeit für alle bösartigen Neubildungen war nur bei Personen mit Chlorakne und einer Latenzzeit von 20 und mehr Jahren gegenüber der Allgemeinbevölkerung um den Faktor 2 erhöht. Die Signifikanz für einen Zusammenhang zwischen TCDD-Exposition und Lungentumoren ist grenzwertig.

Tabelle 1: Epidemiologische Studien zur Ermittlung der krebserzeugenden Wirkung von TCDD beim Menschen

Studie	Studiendauer	Studientyp	Exponierte	Exposition	Expositionskontrolle
<b>BASF-Studie</b> 1990 veröffentl.	1953 - 1987	Kohortenstudie Krebsmortalität	247 Arbeiter	Unfall bei 2,4,5-T-Produktion	Arbeitsplatzbeschreibung, Chlorakne; TCDD-Bestimmung im Blutfett der Gesamtkohorte (1993)
<b>Fingerhut-Studie</b> od. NIOSH-Studie 1991 veröffent.	1942 - 1987	Kohortenstudie Krebsmortalität	5.172 Arbeiter aus 12 Fabriken	Produktionsprozesse mit TCDD-Kontamination	Arbeitsplatzbeschreibung; TCDD-Bestimmung im Blutfett von 253 Arbeitern
<b>Boehringer-Studie</b> 1991 veröffent.	1952 - 1989	Kohortenstudie Krebsmortalität	1.583 Arbeiter 1.184 Männer 399 Frauen	Produktionsprozesse mit TCDD-Kontamination	Arbeitsplatzbeschreibung, TCDD-Bestimmung im Blutfett von 121 Arbeitern (1993)
<b>Seveso-Studie</b> 1993 veröffent.	1976 - 1986	Kohortenstudie Krebsinzidenz	37.195 Personen in den Zonen A, B und R	Unfall bei 2,4,5-T-Produktion	Abschätzung über Bodenbelastung; Zone A: 15,5 - 580.4 µg/m <sup>2</sup> Zone B: 1,7 - 4,4 µg TCDD/m <sup>2</sup> Zone R, Bereiche mit 0,9 - 1,4 µg TCDD/m <sup>2</sup> ; TCDD-Bestimmung im Blutfett von 32 Exponierten

Fingerhut- oder NIOSH-Studie:

Bei Arbeitern mit einer längeren Expositionszeit gegenüber TCDD bzw. Dioxinen als einem Jahr und einer Latenzzeit von mehr als 20 Jahren war sowohl die Mortalitätsrate für alle Tumoren, als auch für Tumoren des Atemtraktes sowie für Weichteilsarkome statistisch erhöht.

Boehringer-Studie:

Die Krebssterblichkeit in der gesamten Gruppe war erhöht. Dieser Anstieg in der Krebssterblichkeit wurde durch Arbeiter verursacht, die entweder länger als 20 Jahre in der Fabrik gearbeitet hatten oder deren Eintrittsdatum vor 1954 lag. Für Arbeiterinnen wurde eine erhöhte Sterblichkeit durch Brustkrebserkrankungen festgestellt.

Seveso-Studie:

In Zone A mit der höchsten TCDD-Bodenbelastung traten bis 1986 insgesamt 14 Krebsfälle auf. Allerdings erkrankte keiner der 193 Personen an Krebs, die nach dem Seveso-Unfall eine Chlorakne entwickelt hatten. In Zone B mit einer "mittleren" TCDD-Bodenbelastung wurde bei Frauen eine - gegenüber einer Referenzpopulation außerhalb der 3 Zonen - erhöhte Inzidenz von hepatobiliären Tumoren sowie eine Zunahme von Krebserkrankungen des haematopoetischen Systems, insbesondere multiple Myelome, beobachtet. Bei Männern ergab sich eine gesteigerte Rate an Lymphoreticulosarkomen, die ebenfalls eine Unterform von bösartigen Neubildungen des haematopoetischen Systems darstellen. In Zone R, wo nur stellenweise Bodenbelastungen mit TCDD vorhanden sind, wurde bei Männern ein signifikant erhöhtes relatives Risiko von Weichteilsarkomen festgestellt.

In den Zonen A und B traten bei Frauen Brustkrebserkrankungen weniger häufig als erwartet auf. Dieser Befund steht in Einklang mit der tierexperimentell nachgewiesenen Antiöstrogenität von TCDD.

Obwohl die genannten epidemiologischen Studien alle eine erhöhte Krebssterblichkeit bzw. eine erhöhte Krebserkrankungsrate nach - gegenüber der üblichen Hintergrundexposition in Industrieländern - hohen TCDD- bzw. Dioxinbelastungen ausweisen, können die Ergebnisse dieser Untersuchungen nicht als Nachweis der Humankanzerogenität von TCDD bei einer chronischen Belastung mit niedrigen Dosen angesehen werden. Das liegt daran, daß andere mögliche Ursachen für den gezeigten Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber TCDD und

einer erhöhten Krebsmortalität nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden können. Zu diesen Störfaktoren, die nur schwer zu berücksichtigen sind, gehören: Rauchen; eine exakte Expositionsquantifizierung sowie das Vorliegen einer multiplen Exposition gegenüber potentiell kanzerogenen Stoffen. Darüber hinaus konnte in den bisherigen epidemiologischen Studien das Vorliegen einer Dosis-Wirkungsbeziehung nicht gezeigt werden.

Die Krebsinzidenzstudie von Seveso weist vor allem hinsichtlich der fehlenden Dioxinbestimmungen im Blutfett Schwächen bezüglich der Ermittlung der internen Belastung auf. Andererseits liegt in den verschiedenen Zonen von Seveso - im Gegensatz zu den Mischexpositionen von Industriearbeitern - eine fast "reine" TCDD-Belastung vor. Allerdings ist die Studiendauer in Seveso mit 10 Jahren noch zu kurz, um aus der bisherigen Untersuchung verlässliche Aussagen zum kanzerogenen Potential von TCDD beim Menschen abzuleiten.

Der Nachweis einer humankanzerogenen Wirkung von TCDD wird auch dadurch erschwert, daß beim Menschen eine eher unspezifische Tumorkalisation vorliegt. Dies bestätigen auch die 4 angeführten epidemiologischen Studien. Von manchen Wissenschaftlern wird aufgrund der Ergebnisse älterer schwedischer Untersuchungen und der NIOSH-Studie das Auftreten von Weichteilsarkomen als ein "TCDD-spezifischer Tumor" angesehen. In kleinen Untersuchungskollektiven (siehe BASF-Studie) konnte diese Krebsform, bedingt durch dessen Seltenheit - in der NIOSH-Studie wurden bei 5.172 Arbeitern drei Todesfälle durch Weichteilsarkome beobachtet - nicht nachgewiesen werden.

Trotzdem stützen die Ergebnisse der epidemiologischen Studien den Befund der tierexperimentellen Untersuchungen, so daß auch von einer kanzerogenen Wirkung von TCDD und verwandten Verbindungen beim Menschen, jedenfalls beim Vorliegen hoher interner Belastungen, auszugehen ist.

#### **b) Reproduktionstoxizität**

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Einwirkung von TCDD auf die Reproduktion umfassen folgende Endpunkte:

- Embryo- / Fetotoxizität von TCDD
- Teratogenität, d.h. die Untersuchung grobstruktureller Fehlbildungen

- Wirkungen auf die väterliche und mütterliche Fruchtbarkeit
- vor- und nachgeburtliche Entwicklungsstörungen nach mütterlicher TCDD-Exposition.

Ähnlichen Fragestellungen wurde und wird auch im Rahmen von epidemiologischen Studien mit Kollektiven nachgegangen, die hohen Expositionen an TCDD oder verwandten Verbindungen ausgesetzt waren.

Die zur Auslösung akut toxischer Effekte notwendige Dosis an TCDD ist bei Embryonen und Feten im Vergleich zu ausgewachsenen Tieren wesentlich niedriger. Diese Altersabhängigkeit zeigt sich besonders deutlich beim Hamster. Erwachsene Tiere erweisen sich gegenüber hohen TCDD-Belastungen als relativ "resistent". Die Empfindlichkeit von Hamsterembryonen oder -feten unterscheidet sich dagegen hinsichtlich der Letaldosis nicht wesentlich von anderen Nagetieren. In Rhesusaffen wurde nach Behandlung der Muttertiere mit TCDD-haltigem Futter auch eine hohe pränatale Mortalität festgestellt. Der geringere Gesamtkörperfettgehalt von Embryonen und Feten kann für ihre höhere Sterblichkeit nach einer TCDD-Exposition eine wichtige Rolle spielen.

Die Behandlung schwangerer Nagetiere mit TCDD löst eine Reihe von toxischen Effekten in den Embryonen und Feten aus. Es treten u.a. folgende Symptome auf: Ödeme der Unterhaut, Dünndarmblutungen, verringertes Wachstums und eine Thymusrückbildung. Generell stellen differenzierte Gewebe, die sich aus dem Ektoderm entwickelt haben, wie Haut, Bindehaut, Nägel, Zähne und ZNS, einen Angriffspunkt für toxische Wirkungen von TCDD dar. Diese Aussage trifft vermutlich auch auf den Menschen zu.

Strukturelle Mißbildungen werden erst nach relativ hohen Dosen an TCDD beobachtet. Die Maus erweist sich als besonders empfindlich gegenüber teratogenen Effekten von TCDD. Die Behandlung mit 3 µg TCDD / kg Körpergewicht (KG) zwischen dem 6. und 15. Schwangerschaftstag führt zur Bildung von Gaumenspalten. Die Behandlung mit nur 0,5 µg TCDD / kg KG im gleichen Schwangerschaftszeitraum verursacht bereits aufgrund einer Verlegung der ableitenden Harnwege die Ausbildung einer Wassersackniere (Hydronephrose). Diese Veränderung der Nierenmorphologie ist nicht als ein typischer teratogener Effekt anzusehen. Gaumenspalten und Hydronephrosen werden bereits durch Dosen ausgelöst, die mit keinerlei Anzeichen einer mütterlichen Toxizität verbunden sind.

Organkulturen mit Gaumenplatten von Ratten und Menschen weisen auch für diese beiden Spezies die Bildung von Gaumenspalten *in vitro* nach. Allerdings erst bei so hohen Konzentrationen, die sich *in vivo* sowohl für das Muttertier, als auch für den Fetus als eindeutig toxisch erweisen würden. Beim Menschen wurden bisher bei Kindern, deren Mütter während der Schwangerschaft hohen Expositionen an Dioxin ausgesetzt waren, keine Gaumenspalten beobachtet. Pharmakogenetische Studien mit unterschiedlich empfindlichen Mäusestämmen legen nahe, daß der Rezeptor für Arylkohlenwasserstoffe (Ah) an der TCDD-bedingten Ausbildung struktureller Fehlbildungen in der Maus beteiligt ist.

Durch eine perinatale TCDD-Behandlung, d.h. kurz vor der Geburt noch in der Gebärmutter und nachgeburtlich mit der Milch während der Laktationsphase, mit einer einmaligen Dosis von 0,16 µg TCDD / kg KG kommt es zu Veränderungen im Fortpflanzungssystem männlicher Ratten. Unter toxikokinetischen Gesichtspunkten ist bei Säugetieren die postnatale Exposition mit der Muttermilch bedeutsamer als die Belastung während der Schwangerschaft. Die perinatale TCDD-Exposition bewirkt bei den männlichen Jungtieren sowohl eine Abnahme des Blutplasma Androgenspiegels, als auch eine verringerte Spermienbildung. Der niedrigere Plasma-Testosteron-Spiegel ist allerdings als Erklärung für die verminderte Spermatogenese nicht ausreichend. Die Beeinträchtigung der Spermienbildung ist einer der empfindlichsten Parameter zum Nachweis von TCDD-Wirkungen auf das männliche Fortpflanzungssystem der Ratte. Einige Effekte, wie beispielsweise die Gewichtsabnahme der ventralen Prostata in der Ratte, treten bereits nach einer einmaligen Dosis von 0,064 µg TCDD / kg KG auf.

Die perinatale Exposition mit TCDD verzögert außerdem die sexuelle Reifung männlicher Ratten. Diese Effekte sind aber teilweise reversibel. Niedrige Dosen an TCDD (0,16 und 0,064 µg / kg KG) bewirken eine Feminisierung des Geschlechtsverhaltens männlicher Tiere. Diese Änderung des Sexualverhaltens scheint irreversibel. Das geänderte Paarungsverhalten bleibt nachweisbar, obwohl sich die Anwesenheit von TCDD in den Ratten biologisch (CYP1A1 Induktion!) nicht mehr belegen läßt. Es wird vermutet, daß TCDD die sexuelle Differenzierung des Zentralnervensystems in männlichen Ratten dosisabhängig irreversibel verändert.

Das Fortpflanzungssystem weiblicher Ratten wurde in Langzeitversuchen mit täglichen Expositionen von 0,01 oder 0,001 µg TCDD / kg KG nicht beeinträchtigt. Die

Blutkonzentration an weiblichen Sexualhormonen wird erst durch höhere TCDD-Belastungen verändert. Nach Behandlung mit 50 ppt TCDD im Futter kommt es bei weiblichen Rhesusaffen zu einer verringerten Fertilität und zu einer Zunahme der Abortrate. In weiblichen Ratten beeinflusst die Belastung mit TCDD die Wurfgröße, die TCDD bedingt abnimmt.

Statistisch signifikante reproduktionstoxische Effekte durch TCDD ließen sich bisher beim Menschen - auch nach den hohen Expositionen in Seveso oder der TCDD-Belastung von US-Veteranen durch den Umgang mit dem verunreinigten Entlaubungsmittel 'Agent Orange' während des Vietnamkriegs - nicht nachweisen. Dabei ist aber auch zu berücksichtigen, daß beim Menschen von vornherein eine hohe Abort- und Spontanmißbildungsrate vorliegt, deren Ursache(n) nicht bekannt ist (sind).

Die Vergiftungsfälle mit kontaminierten Reisöl von Yusho (1968) und Yu-Cheng (1979) haben bei Kindern nach intrauteriner Exposition Wirkungen gezeigt, die dem Bereich "Toxikologie der Entwicklung" (developmental toxicology), das sich in Deutschland nicht als eigenständiges Teilgebiet der Toxikologie etabliert hat, zuzurechnen sind. Da die Reisölvergiftungen Mischexpositionen mit polychlorierten Biphenylen (PCB), PCDF und Quarterphenylen darstellen, ist es unmöglich, den Beitrag TCDD-ähnlicher und nicht-TCDD-ähnlicher Verbindungen an der beobachteten Reproduktionstoxizität abzuschätzen. In beiden Fällen stellten Organe und Gewebe, die sich aus dem Ektoderm entwickeln, Zielorgane für toxische Wirkungen dar, wie z.B. die Haut, Schleimhäute, Finger- und Zehennägel sowie Zähne. Darüber hinaus wurden bei pränatal exponierten Kindern in Yu-Cheng Verzögerungen der psychomotorischen und intellektuellen Entwicklung beschrieben.

### **c) Immuntoxizität**

Die in tierexperimentellen Studien schon frühzeitig erkannte toxische Wirkung von TCDD auf lymphatische Gewebe und Organe, insbesondere den Thymus, löste genauere Untersuchungen zur Beeinflussung des Immunsystems durch TCDD aus. Diese Forschungsvorhaben waren maßgeblich an einer eigenständigen Entwicklung des Fachgebiets Immuntoxikologie beteiligt. Die Rückbildung des Thymus, die mit einer starken Verminderung der Thymozyten in der Thymusrinde verbunden ist, wurde nach hohen, aber subletalen TCDD-Dosen ( $> 1 \mu\text{g TCDD} / \text{kg KG}$ ) in allen untersuchten Nagetieren beobachtet.

Die bisherigen *in vivo* Experimente in Laborversuchstieren haben zu dem Ergebnis geführt, daß sowohl das zelluläre, als auch das humorale Immunsystem einen der empfindlichsten Angriffspunkte für toxische Wirkungen von TCDD und verwandten Dioxinen darstellt. Die Beeinträchtigung der T- und B-Lymphozyten vermittelten Immunreaktion erfolgt in einem Dosisbereich, der sonst noch keine anderen biologischen Veränderungen hervorruft, die als Anzeichen eines toxischen Effektes anzusehen wären.

Als ein integratives Maß für die Wirkungen von TCDD auf die Immunabwehr konnte tierexperimentell gezeigt werden, daß eine entsprechende Behandlung mit einer größeren Anfälligkeit gegenüber bakteriellen und viralen Infektionen sowie parasitären Krankheiten verbunden ist.

Allerdings erweisen sich nicht alle veröffentlichten Befunde über Wirkungen von TCDD im Niedrigdosisbereich auf das Immunsystem als reproduzierbar. Die Ergebnisse von Clark et al. (*Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 168, 290-299, 1981), die bereits nach einer 4-wöchigen Behandlung mit einer wöchentlichen Dosis von nur 4 ng TCDD / kg KG in männlichen C57BL/6-Mäusen eine Hemmung der Aktivität cytoxischer T-Lymphozyten (CTL) festgestellt hatten, konnten nachfolgend durch verschiedene unabhängige Forschungsgruppen nicht bestätigt werden (Hanson and Smialowicz, *Toxicol.* 88, 213-224, 1994).

In einem nichtmenschlichen Primaten, dem Marmoset (*Callithrix jacchus*), ließen sich bereits nach einer einmaligen Dosis von 10 ng TCDD / kg KG Verschiebungen im Muster von Lymphozyten-Subpopulationen nachweisen. Diese Effekte im Marmoset wurden von Neubert und Mitarbeitern in einem Dosisbereich beobachtet, der - bezogen auf die Fettgewebespiegel - fast der "normalen" Hintergrundexposition des Menschen entspricht. Allerdings ist die medizinische Bedeutung der Veränderungen des Anteils verschiedener Lymphozyten-Subpopulationen im Blut unklar. Eine Querschnittsstudie mit Arbeitern, die produktionsbedingt nachweislich mit polybromierten Dioxinen und Furanen belastet waren, hat - im Gegensatz zum Marmoset - keine Verschiebungen des Lymphozyten-Musters in dem exponierten Kollektiv aufzeigen können.

Phänomenologisch wurde in den immuntoxikologischen *in vivo* und *in vitro* Studien festgestellt, daß TCDD den Reifungs- und Differenzierungsprozeß von immunkom-

petenten Zellen beeinflusst. Diese biologische Aktivität ist gut mit einem Ah-Rezeptor-vermittelten Wirkungsmechanismus vereinbar. Allerdings werden für die immunotoxische Reaktivität von TCDD auch zelluläre Veränderungen diskutiert, die nach heutigem Kenntnisstand nicht durch den Ah-Rezeptor gesteuert werden.

Die in hochexponierten Kollektiven erhaltenen bisherigen Untersuchungsergebnisse sind nicht geeignet, eine Beeinflussung des menschlichen Immunsystems durch TCDD eindeutig zu belegen. Die Untersuchung von Kindern aus der Zone A in Seveso und von mit PCB- und PCDF-verunreinigtem Reisöl exponierten Personen in Yu-Cheng, Taiwan hat zwar ergeben, daß einige immunologische Parameter im Blut, wie die Konzentration verschiedener Immunglobulin-Fraktionen, die Konzentrationen von Proteinen des Komplementsystems und die Anzahl der T-Lymphozyten, verändert waren. Es konnte aber kein Nachweis erbracht werden, daß durch die Belastung mit TCDD oder verwandten Dioxinen die menschliche Immunkompetenz nachhaltig beeinträchtigt wurde.

Eine andere Krankheit, die zuerst nach chronischer Exposition von Rhesusaffen mit 5 bzw. 25 ppt TCDD im Futter beobachtet wurde, wird auch mit einer substanzspezifischen Störung des Immunsystems in Verbindung gebracht: die Endometriose. Das Auftreten von funktionierendem Schleimhautgewebe der Uterushöhle außerhalb dieses Bereiches charakterisiert diese Erkrankung, die aufgrund von Zahlenangaben aus den USA auch beim Menschen häufig auftritt und für einen erheblichen Teil der Unfruchtbarkeit von Frauen verantwortlich gemacht wird. Die Entstehung der Endometriose und das Fortschreiten dieser Krankheit ist auch vom weiblichen Sexualhormon 17- $\beta$ -Östradiol abhängig. Die Beteiligung von TCDD an diesem Prozeß ist ebenso unklar, wie der diskutierte Zusammenhang zwischen der menschlichen Hintergrundexposition an Dioxinen und der Erkrankungsrate.

Indirekte Hinweise auf das immunotoxische Potential von TCDD lassen sich aus den Ergebnissen einer Langzeitstudie mit 158 BASF-Arbeitern ableiten, die während der Aufräumarbeiten nach dem Unfall bei der Trichlorphenolproduktion im Jahr 1953 exponiert wurden (Zober et al., *Occup. Environ. Med.* 51, 479-486, 1994). Aus den Unterlagen der Betriebskrankenkasse wurden die im Beobachtungszeitraum von 1953 bis 1989 festgehaltenen Erkrankungen ausgewertet und mit der Erkrankungsrate eines nicht-exponierten Kollektivs bestehend aus 161 BASF-Beschäftigten verglichen. Diese Morbiditätsstudie ergab für Personen mit schwerer Chlorakne ein gehäuftes Auftreten von Infektionskrankheiten und para-

sitären Erkrankungen des Verdauungstrakts und der oberen Luftwege. Die Autoren der Studie interpretieren diesen Befund, obwohl Vergleichsuntersuchungen für andere hochexponierte Kollektive nicht vorliegen, als ein Anzeichen einer immuntoxischen Wirkung, die nicht nur auf mögliche Fehler bei der Datenerhebung bzw. nicht berücksichtigte Störfaktoren zurückzuführen ist. In der exponierten Gruppe traten vor 1970 vermehrt Blinddarmentzündungen auf.

### III. Speziesunterschiede in der Toxikokinetik von Dioxinen

Das Ausmaß der toxischen Wirkung von Dioxinen beim Menschen oder in Labor-nagetieren wird ganz wesentlich durch die zugrunde liegende Toxikokinetik bestimmt, d.h. durch die Aufnahme, die Verteilung und durch den Grad der Metabolisierung im jeweiligen Organismus. Damit ist die Toxikokinetik von Dioxinen sowohl Spezies-, als auch Kongener- und Dosis-abhängig. Die Toxikokinetik eines Dioxins kann sich bei Applikation in einem komplexen Dioxingemisch gegenüber der Einzelgabe gravierend verändern.

#### Aufnahme:

Für die Aufnahme von Dioxinen im Magen-Darmtrakt sind bisher keine Speziesunterschiede nachgewiesen worden. Die Resorptionsquote im Dünndarm wird maßgeblich durch die Molekülgröße und die Löslichkeit der einzelnen Dioxine bestimmt. Daraus leitet sich eine gute Aufnahme für tetra- und pentachlorierte und eine geringere für hepta- und octachlorierte Dioxine und Furane ab. Die Aufnahme von PCDD und PCDF über die Haut ist gering.

#### Verteilung:

In Säugetieren und Vögeln findet eine Verteilung der resorbierten Dioxine vor allem zwischen Leber und Fettgewebe statt, bei Fischen zwischen Muskel- und Fettgewebe. Im Blut ist TCDD zum überwiegenden Teil an Serumlipide und Lipoproteine gebunden. Der Eintritt in die Zelle aus dem Blut könnte durch den LDL (low density lipoprotein)-Rezeptor erleichtert werden. Der Ah-Rezeptor spielt für die Verteilung im Organismus keine Rolle. Toxikokinetische Untersuchungen in Ratten haben gezeigt, daß für die Verteilung von TCDD zwischen Leber- und Fettgewebe eine Dosisabhängigkeit vorliegt. Bei einer niedrigen Dosis (10 ng TCDD / kg KG) wird mehr TCDD im Fettgewebe als in der Leber gespeichert. Bei höheren TCDD-Gaben (> 100 ng TCDD / kg KG) steigt der prozentuale Anteil der Dosis, die in der Leber verbleibt, stark an und beträgt ein Mehrfaches des prozentualen Anteils der

Gesamtdosis, die sich im Fettgewebe anreichert. Als mögliche Erklärung für dieses Verteilungsmuster in der Ratte wurde die TCDD-bedingte verstärkte Neubildung des mikrosomalen Enzyms Cytochrom P450 1A2 (CYP1A2), das auch ein hohes Bindungsvermögen für TCDD besitzt, diskutiert. Allerdings konnte in Untersuchungen an Ratten kein direkter Zusammenhang zwischen einer erhöhten TCDD-Aufnahme und dem Gehalt an CYP1A2 nachgewiesen werden. Die Bindung von TCDD an den Ah-Rezeptor der Leber spielt für das Verteilungsverhältnis zwischen Leber und Fettgewebe keine Rolle.

Die Verteilung von Dioxinen im menschlichen Körper unterscheidet sich von der Verteilung in fast allen anderen Spezies. Beim Menschen reichern sich die Dioxine - auch aufgrund der längeren Halbwertszeit - bevorzugt im Fettgewebe an. Aus Dioxin-Analysen im Blut, in der Milch und im Fettgewebe des Menschen wurde geschlossen, daß die humane Leber ausschließlich 2,3,7,8-substituierte PCDD und PCDF zurückbehält.

Octachlordibenzo-p-dioxin (OCDD) stellt das Hauptkongener der Dioxine in menschlichen Geweben und Körperflüssigkeiten mit Gehalten bis zu 3.000 pg OCDD / g Fett (ppt) dar. Dagegen ist die Menge an Octachlordibenzofuran (OCDF) im menschlichen Körper mit Spiegeln unter 8 pg OCDF / g Fett gering.

#### Stoffwechsel:

2,3,7,8-substituierte tetra- und pentachlorierte Dibenzofurane werden mit Gesamtkörper-Halbwertszeiten von 1 bis 2 Tagen in der Rattenleber schnell metabolisiert. Für den Metabolismus von 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzofuran (TCDF) ist das Enzym CYP1A1, dessen Induktion durch Dioxine molekular am besten untersucht ist, verantwortlich. Für einen schnellen enzymatischen Umsatz ist bei 2,3,7,8-chlorsubstituierten Furanen eine freie 4 und 6 Position wichtig, weil diese hydroxyliert und anschließend auch glucuronidiert werden kann. TCDF und 1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PnCDF) können möglicherweise auch im Menschen schnell metabolisiert werden. Allerdings hat sich beim Vergleich des Stoffwechsels von TCDF zwischen menschlichen und Ratten-Leberzellen gezeigt, daß die Metabolismusrate in humanen Hepatozyten geringer und damit TCDF beim Menschen - im Vergleich zur Ratte - persistenter ist.

Die Halbwertszeit von TCDD erweist sich in Ratten als dosis- und stammabhängig und beträgt zwischen 17 und 31 Tagen. Für die Halbwertszeit von TCDD beim

Menschen wurden Werte zwischen 6,9 und 11,3 J. veröffentlicht. Bei den letztgenannten Ergebnissen muß berücksichtigt werden, daß die Speicherung von TCDD im menschlichen Organismus, und damit die Halbwertszeit, von der aufgenommenen Gesamtdosis und vom Fettgehalt des Körpers maßgeblich beeinflußt wird.

2,3,7,8-substituierte PCDF mit Chloratomen in der 4 und 6 Position können nur ganz langsam metabolisiert werden und sind damit sehr beständig. Dies trifft auch für den Menschen zu. Kürzlich wurde bei hochexponierten Industriearbeitern des Boehringer-Kollektivs (siehe Tabelle 1) für 2,3,4,7,8-PnCDF eine Halbwertszeit von 19,6 J. bestimmt (D. Flesch-Janys et. al., Dioxin'94, Vol. 21, 93-99).

Zwei substituierte PCDF, nämlich 1,2,3,7,8,9-Hexachlordibenzofuran (HxCDF) und 1,2,3,4,7,8,9-Heptachlordibenzofuran (HpCDF) sind in menschlicher Milch praktisch nicht nachweisbar. Als mögliche Ursache für das Fehlen dieser beiden PCDF-Kongenere kommt entweder ein schneller Metabolismus, oder eine niedrige Bildungsrate in industriellen Prozessen und/oder Verbrennungsvorgängen in Frage.

Für die toxischen Wirkungen von Dioxinen sind die Ausgangsverbindungen, nicht die Metabolite, verantwortlich. Daher ist die Metabolisierung von Dioxinen als "Entgiftungsreaktion", die der besseren Ausscheidung dient, anzusehen. Da Dioxine die Syntheseraten der an ihrer Verstoffwechslung beteiligten Enzyme selbst steigern können, wäre dadurch auch eine Autoinduktion des Metabolismus und damit verbunden eine beschleunigte Ausscheidung möglich. Dieser Effekt wird in der Ratte nur bei den Furanen TCDF und PnCDF beobachtet. TCDD und die analoge bromierte Verbindung TBrDD zeigen nach Applikation subletaler Dosen in Ratten keine Beschleunigung des eigenen Metabolismus, so daß durch die TCDD- bzw. TBrDD-bedingte Induktion fremdstoffmetabolisierender Enzymsysteme ihre eigene Ausscheidungsrate nicht beeinflußt wird.

#### Speziesunterschiede:

In Untersuchungen zur akuten Toxizität von TCDD mit dem Endpunkt Letalität wurde ein 5.000-facher Unterschied zwischen der empfindlichsten Tierart, dem Meerschweinchen, und der unempfindlichsten Spezies, dem Hamster, beobachtet. Als ein möglicher Grund für diese unterschiedliche Sensitivität gegenüber hohen Dosen an TCDD kämen unterschiedliche Eliminationsraten zwischen den verschiedenen Tierarten in Betracht. Die bisherigen toxikokinetischen Untersuchungen bestätigen diese Hypothese nicht bzw. nur teilweise. Trotz nachweisbarer unter-

schiedlicher Stoffwechselraten für TCDD reichen die ermittelten toxikokinetischen Unterschiede zur Erklärung der Speziespezifität nicht aus.

Bei der Übertragung tierexperimenteller Ergebnisse, beispielsweise von der Ratte auf den Menschen, müssen im Rahmen der Risikoabschätzung die erheblichen Unterschiede in der Toxikokinetik berücksichtigt werden. Auf der Basis der analytisch bestimmten Organ- bzw. Gewebekonzentrationen ist allerdings auch für den Menschen die Zugrundelegung der im Tierversuch beobachteten biologischen Wirkungen möglich.

Toxikokinetische Aspekte könnten auch Einfluß auf die Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) der Einzelkongenere haben. Allerdings hat ein Vergleich von *in vivo* in subchronischen Studien (3 Monate) in der Ratte bestimmten TEF-Werten eine gute Übereinstimmung mit TEF-Werten ergeben, deren Bestimmung *in vitro* mit aus der Ratte gewonnenem biologischem Material erfolgte. Dagegen können aufgrund der unterschiedlichen Verteilung von Dioxinen in Nagetieren, Vögeln und Fischen, die aus Versuchen mit Säugetieren abgeleiteten TEF-Werte nicht ohne weiteres auf Fische und Vögel übertragen werden. Für letztgenannte Tierarten müßten speziespezifische TEF-Werte durch entsprechende Versuche mit Fischen und Vögeln ermittelt werden.

#### **IV. Derzeitiger Kenntnisstand zum Wirkungsmechanismus von Dioxinen**

Pharmokogenetische Studien mit unterschiedlich TCDD-sensitiven Mäusestämmen, den empfindlichen C57BL/6- und den unempfindlicheren DBA/2-Mäusen, sowie die Aufklärung der für Dioxine geltenden Struktur-Wirkungsbeziehungen begründen die nachfolgende Aussage zur biochemischen Grundlage der Dioxin-Wirkung:

Die Bindung von Dioxinen an den cytosolischen Ah-Rezeptor stellt den ersten Schritt im molekularen Wirkungsmechanismus von Dioxinen dar.

Damit wird für Dioxine ein hormonartiger Wirkungsmechanismus postuliert, der der Wirkungsweise von Steroidhormonen vergleichbar ist. Der Ah-Rezeptor kann wie die Steroidhormon-Rezeptoren funktionell als ein Liganden-aktivierbarer Transkriptionsfaktor beschrieben werden, der durch Bindung an die DNA einerseits die

Ablesung bestimmter Gene und damit die verstärkte Bildung von bestimmten Proteinen bzw. Enzymen steuert, andererseits die Expression von Genen hemmt. Durch Fortschritte in der proteinchemischen Charakterisierung des Ah-Rezeptors konnte in den letzten Jahren eindeutig belegt werden, daß die Steroidhormon-Rezeptoren und der Ah-Rezeptor zu unterschiedlichen Proteinfamilien gehören. Der Ah-Rezeptor weist eine Sequenzhomologie (PAS-Domäne) mit zwei Proteinen, Per und Sim, der Fruchtfliege *Drosophila* auf und bildet zusammen mit dem Ah-Rezeptor-Kerntranslokationsprotein (Arnt = ah receptor nuclear translocation) die sogenannte PAS-Familie. Ein strukturelles Kennzeichen des Ah-Rezeptors und des Arnt-Proteins ist darüber hinaus ein Proteinbereich, der sowohl für die Zusammenlagerung des Ah-Rezeptors mit Arnt, als auch für die Bindung an die DNA wichtig ist, und der aufgrund seiner Tertiärstruktur als basisches Helix-Schleifen-Helix-Motiv (bHLH = basic helix-loop-helix) bezeichnet wird.

Die aktuellen Vorstellungen zum Ablauf der zellulären Signaltransduktion durch Dioxine können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1. Vor der Bindung eines Dioxin-Moleküls setzt sich der cytosolische Rezeptorkomplex aus drei Untereinheiten zusammen: dem Liganden-bindenden Ah-Rezeptor und 2 Molekülen des 90kDa-Hitzeschockproteins (HSP90).

Nach heutigem Kenntnisstand kommt den HSP90-Untereinheiten die Funktion zu, den Ah-Rezeptor in Abwesenheit eines Liganden durch Wechselwirkung mit der Liganden- und der Arnt-Bindungsstelle in einem "inaktiven" Zustand zu halten.

2. Nach Bindung eines Dioxin-Moleküls an den Ah-Rezeptor dissoziieren die beiden HSP90-Moleküle ab und es bildet sich nach Bindung eines Arnt-Proteins ein heterodimerer Rezeptorkomplex.

Der Arnt-Untereinheit werden folgende Funktionen für die biologische Aktivität des Rezeptorkomplexes zugeschrieben:

1. "Auswahl" der Zielgene auf der DNA
2. Aktivierung der Gentranskription, d.h. Arnt fördert die Ablesung von Genen und die Bildung der dazugehörigen Genprodukte.

Darüber hinaus ist das Arnt-Protein auch möglicherweise an der Freisetzung der HSP90-Proteine im Verlauf der Ah-Rezeptoraktivierung beteiligt. Inwieweit die Arnt-Untereinheit - entsprechend ihrem Namen - eine wichtige Rolle für den Übertritt des aktivierten Rezeptorkomplexes in den Kern spielt, ist durch neuere Untersuchungsergebnisse in Frage gestellt worden.

3. Nach der Translokation in den Zellkern bindet der heterodimere Rezeptorkomplex an spezifische Basensequenzen, die sogenannten Dioxin- oder Xenobiotic- oder Ah-Rezeptor-Responsive Elements (DRE oder XRE oder AHRE), im regulatorischen Bereich verschiedener Gene. Bisher sind 26 Gene mit Ah-Rezeptorbindungsstellen im Promotorbereich bekannt.

Neuere Forschungsergebnisse in der humanen Brusttumorzelllinie MCF-7 belegen, daß die Bindung des Ah-Rezeptors an DRE-Sequenzen im 5'-Promotorbereich sowohl eine verstärkte Expression des entsprechenden Gens, als auch eine Hemmung der Gentranskription verursachen kann. Die schon länger bekannte Antiöstrogenität von Dioxinen wird (wahrscheinlich) durch die Bindung des Ah-Rezeptor/Arnt-Komplexes an die DRE im regulatorischen Bereich von Östrogen-abhängigen Genen verursacht, die eine Inhibierung der Genexpression bewirkt.

Die Dioxin-abhängige, Ah-Rezeptor-vermittelte Konzentrationsabnahme einer Reihe anderer zellulärer Rezeptoren, beispielsweise des Glucocorticoid-Rezeptors und des Epidermalen Wachstumsfaktor (EGF)-Rezeptors, scheint vermutlich - ein experimenteller Nachweis steht noch aus - auf einem analogen Mechanismus zu beruhen.

Eine Reihe von Untersuchungsergebnissen deuten darauf hin, daß die Aktivierung des Ah-Rezeptors und auch des Arnt-Proteins zusätzlich über enzymatische Phosphorylierungs-/Dephosphorylierungsreaktionen gesteuert wird. Einzelheiten zum genauen Ablauf dieser Modulation der Rezeptoraktivität sind noch nicht bekannt und die biologische Relevanz dieses Regulationsweges läßt sich noch nicht genau abschätzen.

Dem Ah-Rezeptor wird eine zentrale Rolle in der Vermittlung der toxischen Wirkung von Dioxinen zugesprochen. Die bisher bekannten zellulären Veränderungen, die nach heutigem Kenntnisstand in Zusammenhang mit der Ah-Rezeptoraktivität ste-

hen, können allerdings die in vivo beobachteten komplexen toxischen Effekte von Dioxinen nicht erklären. Unter Berücksichtigung seines biochemischen Wirkungsspektrums kann eine Beteiligung des Ah-Rezeptors an grundlegenden Vorgängen zur Regulation des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung nur indirekt abgeleitet werden. Mit der Annahme, daß die Bindung von Dioxinen an den Ah-Rezeptor den ersten Schritt im molekularen Wirkungsmechanismus darstellt, ist der weitere Ablauf der zellulären Ereignisse, die zur Ausprägung spezifischer, Dioxin-abhängiger Organ- oder Gewebeschädigungen führt, weitgehend unbekannt.

Die in vitro und in vivo nachgewiesenen Ah-Rezeptor-vermittelten Effekte lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Induktion von Enzymen

Die Syntheserate folgender fremdstoffmetabolisierender und anderer Enzyme kann gesteigert werden:

CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, Glutathion S-Transferase, Glucuronyltransferase, DT Diaphorase,  $\delta$ -Aminolaevulinsäure Synthase, epidermale Transglutaminase und Aldehyd-3-Dehydrogenase.

2. Hemmung der Genexpression

Die Neubildung folgender Enzyme kann gehemmt werden:

Uroporphyrinogen Decarboxylase, Phosphoenolpyruvat Carboxykinase, Glucose-6-Phosphatase und Tryptophan-2,3-Dioxygenase.

3. Modulation der Synthese und Aktivität zellulärer Rezeptoren und Wachstumsfaktoren

Die Konzentration folgender Rezeptoren und Wachstumsfaktoren kann beeinflusst werden:

Glucocorticoid-, Progesteron-, Östrogen- und EGF-Rezeptor; c-fos, EGF und transformierender Wachstumsfaktor (TGF)  $\beta$ .

Die Frage, ob außer Fremdstoffen wie Dioxinen und polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen auch körpereigene Moleküle an den Ah-Rezeptor binden, konnte bisher noch nicht beantwortet werden. Durch die erfolgreich durchgeführte

'gentechnische Konstruktion' eines Mäusestammes ohne einen intakten Ah-Rezeptorlocus ergibt sich die Möglichkeit, sowohl die normale physiologische Funktion des Ah-Rezeptors zu untersuchen, als auch die Frage nach einem möglichen endogenen Liganden zu beantworten. Erste Untersuchungsergebnisse mit dem neuen Mäusestamm zeigen (P. Fernandez-Salguero et al., Science 268, 722-726, 1995), daß der Ah-Rezeptor eine wichtige Rolle für die normale Entwicklung des Immunsystems und der Leber spielt. Die Hälfte der Mäuse ohne Ah-Rezeptor erwies sich als nicht lebensfähig, die andere Hälfte zeigte Störungen im Immunsystem und einen verstärkten Einbau von Bindegewebe in die Leber (Fibrose).

Der molekulare Vergleich der Ah-Rezeptoren verschiedener Spezies hat ergeben, daß bezüglich der Primärstruktur (Sequenz) erhebliche Unterschiede vorliegen, die beispielsweise durch unterschiedliche Molekulargewichte zum Ausdruck kommen. Funktionelle Unterschiede, z.B. in Hinblick auf die Bindungsstärke von Dioxinen, sind - von Ausnahmen abgesehen - weniger ausgeprägt. Die unterschiedlichen Ah-Rezeptorformen der Maus sind bisher am besten untersucht. Verschiedene Mäusestämme besitzen unterschiedliche (Struktur)Gene für den Ah-Rezeptor. Die unterschiedliche Ausprägung eines Gens wird auch als genetischer Polymorphismus bezeichnet, der für interindividuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit, beispielsweise gegenüber Dioxinen, von Bedeutung sein kann. In einer Untersuchung mit Betroffenen des Reaktorkesselunfalls von Seveso soll geklärt werden, ob beim Menschen auch ein genetischer Polymorphismus für das Ah-Rezeptorprotein vorliegt.

Trotz der postulierten zentralen Bedeutung des Ah-Rezeptors für alle biologischen Wirkungen von Dioxinen gibt es Hinweise, daß der Ah-Rezeptor an einigen toxischen Reaktionen nicht beteiligt ist. Dazu gehören die durch hohe Dosen ausgelösten biochemischen Veränderungen, die die hohe akute Toxizität bzw. Letalität von Dioxinen bedingen. Dieses Ergebnis steht nicht im Widerspruch zum hormonartigen Mechanismus der Dioxinwirkung. Im Falle hoher Dioxinkonzentrationen erlangen unspezifische Sekundärreaktionen das Übergewicht gegenüber der spezifischen, rezeptorkontrollierten Kaskade an zellulären Veränderungen.

Darüber hinaus scheinen auch die im Tierexperiment gezeigten Dioxin-bedingten Veränderungen des Vitamin A - Stoffwechsels und der Schilddrüsenhormonspiegel nicht im Zusammenhang mit der biologischen Aktivität des Ah-Rezeptors zu ste-

hen. Auch für einige immuntoxische Wirkungen von Dioxinen wird ein Ah-Rezeptor-unabhängiger Wirkungsmechanismus diskutiert.

## **V. Schlußfolgerungen für die Risikoabschätzung**

Das Ziel der Abschätzung des von den Dioxinen ausgehenden Risikos für den Menschen besteht darin, quantitative Aussagen zu den mit einer bestimmten Dosis verbundenen gesundheitlichen Auswirkungen zu machen. Das Hauptinteresse gilt dabei der Beantwortung der Frage, welche Gesundheitsgefahr geht von der in den Industriestaaten momentan vorhandenen menschlichen Hintergrundbelastung durch die chronische Exposition im Niedrigdosisbereich aus. Das Ergebnis der Risikoabschätzung ist dabei auch von dem zugrunde gelegten toxischen Endpunkt abhängig und unterscheidet sich für verschiedene toxische Wirkungen. Im Fall der Dioxine bilden tierexperimentelle und epidemiologische Untersuchungen die Datengrundlage. Die Tierstudien werden allerdings - im Vergleich zur täglichen Aufnahmerate des Menschen - mit höheren Dosen durchgeführt, die dann auch keine mit der menschlichen Belastung vergleichbaren Organkonzentrationen im Versuchstier ergeben. Dies schließt nicht aus, daß sich bei tierexperimentellen Studien mit niedrigen Dosen auf der Basis der Gesamtkörperbelastung mit der humanen Belastung vergleichbare Werte ergeben könnten. Allerdings ist aufgrund der unterschiedlichen Toxikokinetik von Dioxinen beim Menschen und allen anderen bisher untersuchten Tierspezies eine Risikoabschätzung auf der Basis der Gesamtkörperbelastung nicht durchführbar. Für die Risikoabschätzung ergibt sich auf der Grundlage der tierexperimentellen Daten die Notwendigkeit einer Extrapolation der Versuchsergebnisse in den Niedrigdosisbereich, die mit Unsicherheiten verbunden ist, solange der molekulare Mechanismus der Dioxinwirkung nicht vollständig aufgeklärt wurde.

Die heute vorliegenden Erkenntnisse zur biologischen Aktivität von Dioxinen haben zu der Feststellung geführt, daß alle in den Laborversuchstieren beobachteten toxischen Wirkungen sich prinzipiell auch beim Menschen manifestieren können.

Aus den tierexperimentellen Studien könnte der Schluß gezogen werden, daß immun- und reproduktionstoxische Effekte im Vergleich zur kanzerogenen Aktivität schon durch niedrigere TCDD-Dosen ausgelöst werden. Allerdings läßt diese Aussage die hier nicht näher dargestellten Ergebnisse zu den durch TCDD ausge-

lösten präkanzerogenen Veränderungen in der Rattenleber außer Acht. In Hinblick auf den Menschen steht eine Bestätigung der größeren Empfindlichkeit - im Vergleich zu ihrem krebserzeugenden Potential - für immun- und reproduktionstoxische Wirkungen von Dioxinen noch aus.

Auch wenn derzeit über den molekularen Wirkungsmechanismus von Dioxinen international weitgehend Einigkeit besteht, erlauben es die vielen noch offenen Fragen zur Bedeutung des Ah-Rezeptors und zur Kinetik seiner Aktivierung nicht, auf dieser Grundlage ein solides biologisches Modell für die Risikoabschätzung aufzubauen. Da die Bindung von TCDD an den Ah-Rezeptor wahrscheinlich keiner 'reinen' Kinetik 1. Ordnung folgt, die prinzipiell eine lineare Abhängigkeit der Rezeptoraktivität von der TCDD-Konzentration fordern würde, ist es auf dieser Basis nicht möglich zu entscheiden, welchen Verlauf die Dosis-Wirkungskurve im niedrigen Dosisbereich zeigt. Die Bindung von TCDD an den Ah-Rezeptor läßt sich nicht durch eine einfache bimolekulare Reaktion gemäß Massenwirkungsgesetz beschreiben. Die aktuellen Vorstellungen gehen von einem biphasischen Verlauf der Bindungskurve aus:

1. TCDD oder ein anderer Agonist bindet zunächst an eine Rezeptorform, die nur eine geringe Bindungsstärke (Affinität) für den Liganden aufweist.
2. Dieser niedrig-affine Rezeptor-Ligandenkomplex wandelt sich langsam in eine Rezeptorform mit hoher Affinität für den Liganden um.

## **VI. Zusammenfassung**

Dioxine, bzw. der Prototyp dieser Verbindungsklasse, das 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD) nehmen aufgrund ihrer vielfältigen biologischen Wirkungen und aufgrund ihres hohen toxischen Potentials eine Sonderstellung in der öffentlichen und wissenschaftlichen Diskussion zur Gefährdung des Menschen durch synthetische Chemikalien ein. Zusammenfassend weisen die tierexperimentellen und epidemiologischen Studien eine krebserzeugende Wirkung von TCDD aus, die bei Vorliegen einer hohen internen Belastung auch für den Menschen bedeutsam sein kann. Es konnte keine direkte Wechselwirkung von TCDD mit dem genetischen Material der Zelle nachgewiesen werden, so daß diese Verbindung als ein nicht-genotoxisches Kanzerogen eingestuft werden muß. TCDD zeigt im Tierexperiment eine Reihe reproduktionstoxischer Effekte. In der Maus werden nach Einwir-

## **VII. Literatur**

Ausgewählte (Übersichts)Artikel zum Thema

### **EPA Reassessment**

M. Krautter: Dioxin - das unterschätzte Umweltgift. Eine Neubewertung der Dioxin-gefahr und eine Dringlichkeitsstrategie für die Dioxinminimierung. Greenpeace e.V. Hamburg, 14.09.94.

### **Allgemeine Übersichtsartikel zur Toxizität von Dioxinen**

D. Neubert, G. Golor, R. Stahlmann, R. Neubert, H. Helge: Einige Ausführungen zur Toxizität von polyhalogenierten Dibenz-p-dioxinen und Dibenzofuranen. *Organohalogen Compounds* **6**, 79-144, Eco-Inforna Press, Bayreuth 1991.

A. Zober: Dioxin - neuere Erkenntnisse zur Toxikologie und Epidemiologie. Herausgeber: Landesverband Südwestdeutschland der gewerblichen Berufsgenossenschaften, Heidelberg, 1993.

P. Cikryt: Die Gefährdung des Menschen durch Dioxin und verwandte Verbindungen. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **39**, 648-656, 1991.

P. Cikryt: Dioxine: Eine unendliche Geschichte? *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **41**, 550-559, 1993.

### **Kanzerogenität von Dioxinen:**

J. Huff, G. Lucier and A. Tritscher: Carcinogenicity of TCDD: experimental, mechanistic and epidemiologic evidence. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **34**, 343-372, 1994.

E.S. Johnson: Human exposure to 2,3,7,8-TCDD and risk of cancer. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **21**, 451-463, 1992 sowie L. Hardell: Human exposure to 2,3,7,8-TCDD and risk of cancer - a response and E.S. Johnson: Letter to the Editor, *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **23**, 337-341, 1993.

### **Reproduktionstoxische Effekte von Dioxinen:**

R.E. Peterson, H.M. Theobald and G.L. Kimmel: Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: cross-species comparisons. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **23**, 283-335, 1993.

L.A. Couture, B. A. Abbott, and L.S. Birnbaum: A critical review of the developmental toxicity and teratogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: recent advances toward understanding the mechanism. *Teratology* **42**, 619-627, 1990.

I. Chahoud, R. Krowke, A. Schimmel, H.J. Merker, and D. Neubert: Reproductive toxicity and pharmacokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: 1. Effects of high doses on the fertility of male rats. *Archives of Toxicology* **63**, 432-439, 1989.

kung von TCDD während der Schwangerschaft grobstrukturelle Mißbildungen, wie Gaumenspalten, verursacht. Die perinatale TCDD-Behandlung von Ratten vermindert die Fruchtbarkeit und verändert das Sexualverhalten männlicher Tiere. Beim Menschen konnten bisher keine eindeutig TCDD-bedingten reproduktionstoxischen Wirkungen nachgewiesen werden. TCDD beeinflusst sowohl das zelluläre, als auch das humorale Immunsystem in allen untersuchten Laborversuchstieren. Es ist unklar, ob TCDD die menschliche Immunkompetenz verändert und an der Ausbildung der Endometriose beteiligt ist. Hinsichtlich der Toxikokinetik von Dioxinen unterscheidet sich der Mensch von allen anderen bisher untersuchten Tierarten. Der Ah-Rezeptor spielt in den derzeitigen Vorstellungen zum zellulären Ablauf der biologischen Aktivität von Dioxinen die Hauptrolle. Der genaue Zusammenhang zwischen der Ah-Rezeptoraktivität und den beobachteten toxischen Effekten ist nicht bekannt. Aus diesem Grund kann die Risikoabschätzung für diese Gruppe von biologisch hochwirksamen Verbindungen nicht auf ein biochemisch / toxikologisch abgesichertes Modell zum molekularen Wirkungsmechanismus aufbauen.

I. Chahoud, R. Krowke, G. Borchert, B. Bürkle, and D. Neubert: Reproductive toxicity and toxicokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: 2. Problem of paternally-mediated abnormalities in the progeny of rat. *Archives of Toxicology* **65**, 27-31, 1991.

**Immunotoxische Wirkungen von Dioxinen:**

M.P. Holsapple, N.K. Snyder, S.C. Wood and D.L. Morris: A review of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced changes in immunocompetence: 1991 update. *Toxicology* **69**, 219-255, 1991.

M.P. Holsapple, D.L. Morris, S.C. Wood and N.K. Snyder: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced changes in immunocompetence - possible mechanisms. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **31**, 73-100, 1991.

R. Neubert, U. Jacob-Müller, R. Stahlmann, H. Helge and D. Neubert: Polyhalogenated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans and the immune system. 1. Effects on peripheral lymphocyte subpopulations of a non-human primate (*Callithrix jacchus*) after treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Archives of Toxicology* **64**, 345-359, 1990.

R. Neubert, U. Jacob-Müller, R. Stahlmann, H. Helge and D. Neubert: Polyhalogenated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans and the immune system. 2. In vitro effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on lymphocytes of venous blood from man and a non-human primate (*Callithrix jacchus*). *Archives of Toxicology* **65**, 213-219, 1991.

**Toxikokinetik von Dioxinen:**

M. van den Berg, J. De Jongh, H. Poiger and J.R. Olson: The toxicokinetic and metabolism of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) and their relevance for toxicity. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **24**, 1-74, 1994.

**Wirkungsmechanismus: Ah-Rezeptor:**

A.B. Okey, D.S. Riddick and P.A. Harper: Molecular biology of the aromatic hydrocarbon (dioxin) receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* **15**, 226-232, 1994.

H.I. Swanson and C.A. Bradfield: The Ah-receptor: genetics, structure and function. *Pharmacogenetics* **3**, 213-220, 1993.

L. Poellinger, M. Göttlicher and J.A. Gustafsson: The dioxin and peroxisome proliferator-activated receptors - nuclear receptors in search of endogenous ligands. *Trends Pharmacol. Sci.* **13**, 241-245, 1992.

J.P. Landers and N.J. Bunce: The Ah receptor and the mechanism of dioxin toxicity. *Biochem. J.* **276**, 273-287, 1991.