

u/294

Gubergric, M. Ja., Linnik, A. B., Paal'me, L. P., Šabad, L. M.

UNTERSUCHUNG DER KARZINOGENITÄT DER PHOTOOXIDATIONSPRODUKTE
VON BENZO(a)PYREN

Institut für experimentelle und klinische Onkologie der Akademie der
Med. Wiss. der UdSSR (Dir.: Mitglied der Akad.d.Med.Wiss.d.UdSSR Prof.
N.N. Blochin) und Chemisches Institut der Akademie der Estnischen SSR
(Dir.: korresp. Mitglied der Akad.d.Wiss.d.EstSSR O.G. Kirret)

Deutsche Vollübersetzung aus:

Voprosy onkologii. Leningrad, 20 (1974), Nr 1, S. 77 - 80.

Russ.: ИССЛЕДОВАНИЕ БЛАСТОМОГЕННОСТИ ПРОДУКТОВ
ФОТОИНИЦИИРОВАННОГО ОКИСЛЕНИЯ БЕНЗ(α)ПИРЕНА
Issledovanie blastomogennosti produktov fotoinducirovannogo
okislenija benz(a)pirena

The photodegradation products of benz(a)pyrene (BP) were studied for their possible carcinogenicity. Oxidation of the BP-solutions was accomplished with SWD-120 lamp irradiation. 0.5 ml of the oil solution of the BP-degradation products (equivalent to 2 mg BP) were injected into mice F₁ (C57Bl×CBA). After a year period the mice were killed and a total number of tumors at the site of inoculation (different types of sarcoma) was studied. The number of tumors correlated with the quantity of intact BP. Products of BP-degradation seem to have no carcinogenic activity, thus BP-photodegradation is supposed to be a method for its decarcinogenization.

Die induzierte Oxidation mit UV-Licht stellt einen wichtigen Aspekt beim Abbau von Umweltkarzinogenen dar. Dies trifft auf die kanzerogenen Polycyclischen Aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAH) zu, besonders auf ihren stark verbreiteten Vertreter Benzo(a)pyren (BaP). Aus heutiger Sicht ähneln die Produkte des photoinduzierten Abbaus stark denen der metabolischen Verstoffwechslung. Während die Produkte des Metabolismus hinsichtlich ihrer blasmogenen Wirkung bewertet wurden, sind die blasmogenen Eigenschaften der Benzo(a)pyren-Photooxidationsprodukte jedoch noch unbekannt und können nur durch Experimente am Lebewesen zuverlässig beantwortet werden.

**Übersetzungsstelle
der Universitätsbibliothek Stuttgart**

Mit diesem Bericht führen wir die Ergebnisse einer umfangreichen Studie auf: der erste Teil der Untersuchung widmet sich der Gewinnung der Photooxidationsprodukte von BaP; der zweite Teil beschäftigt sich mit der karzinogenen Aktivität des gesamten Produktionsgemisches aus der Bestrahlung. Als Versuchstiere dienten Mäuse.

Ausgehend von früheren physikochemischen Untersuchungen, bei denen wir feststellten, daß das verwendete Lösungsmittel sowohl die relative Produktverteilung als auch die Kinetik der Reaktion stark beeinflusst /1, 2/, wurden in dieser Studie BaP-Lösungen ($c = 50 \text{ mg}/50 \text{ ml}$, entsprechend $4 \times 10^{-3} \text{ mol}/\text{l}$) in Lösungsmitteln gewählt, die sich hinsichtlich ihrer chemischen Beschaffenheit stark unterschieden (Aceton, Benzol, Ethanol, n-Oktan wurden verwendet).

Die Photooxidationen wurden im Labor durchgeführt, nach dem in /1/ beschriebenen Verfahren, wobei die BaP-Konzentration auf das kleinstmögliche Maß reduziert wurde. Für die Bestrahlung wurde ein Quecksilberbrenner CVD-120 ($\lambda_{\text{max}} = 365 \text{ nm}$) benutzt. Die Intensität der Strahlung betrug dabei $10^{16} \text{ (Quanten/ml)} \times \text{sec}$.

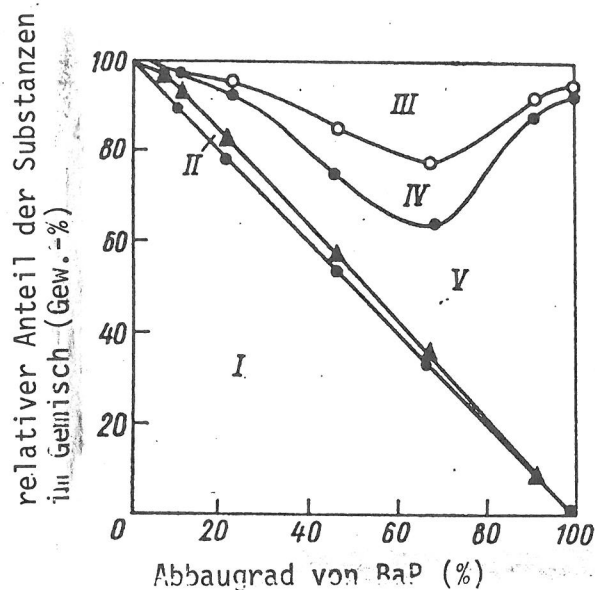


Abb. 1. Zustandsdiagramm des Reaktionsgemisches

I BaP; II 6-Methyl-BaP; III Gemisch der isomeren BaP-Chinone; IV BaP-Oxidationsprodukt; V Gemisch nicht-identifizierter Oxidationsprodukte.

Abb. 1 gibt die Verteilung der Komponenten im Reaktionsgemisch, in Abhängigkeit vom Abbaugrad von BaP, wider (Bestrahlen von BaP in Aceton). Die Hauptprodukte sind aus Abb. 1 ersichtlich:

Ein Gemisch von isomeren BaP-Chinonen (BaP-1,6-Chinon und BaP-3,6-Chinon), deren relative Menge dem Bereich III zu entnehmen ist. Bereich IV zeigt die anteilige Menge eines bislang noch nicht endgültig aufgeklärten Oxidationsproduktes. In Bereich II ist 6-Methyl-BaP zu sehen. Es ist aus einer Radikalreaktion hervorgegangen, im Verlauf derer photolytisch Methylradikale aus dem Lösungsmittel Aceton abgespalten werden, die mit BaP zu 6-Methyl-BaP reagieren. Dieses Produkt wird selbstverständlich nicht angetroffen, wenn statt Aceton Benzol als Lösungsmittel verwendet wird. Einen großen Anteil, der mit wachsender Abbaurate von BaP zunimmt, stellen die Oxidationsprodukte mit höherem Molekulargewicht dar, die bislang noch nicht identifiziert wurden. Es handelt sich hierbei um Polymerisations- und Polykondensationsprodukte zwischen BaP, seinen Photooxidationsprodukten und dem Lösungsmittel (Bereich V). In einigen Fällen steigt die Molekulargröße so stark an, daß die Löslichkeit dieser "sekundären" Produkte so stark abnimmt, daß ein beträchtlicher Teil ausgefällt wird. Um dies zu vermeiden, was die Genauigkeit des Experiments stark beeinträchtigen würde, wurde bei der Bestrahlung von BaP in Benzol und n-Okтан das UV-Licht, bis zum völligen Abbau von BaP, durch ein Farbfilter bestrahlt.

Tabelle 1 gibt die Zusammensetzung der in den Tierexperimenten verwendeten Lösungen wider.

Tabelle 1

Eigenschaften der untersuchten Lösungen (BaP-Gehalt in den Lösungen)

Ver-suchs-gruppe	Lösungs-mittel	Ausgangs-konzentr. (g/ml)	Strahlung	Konzentr. nach der Bestrahlung	Abbau-grad (%)	Dosis/Maus (mg)
K	Benzol	$1 \cdot 10^{-3}$	—	—	0	2,0
K	Aceton	ebenso	—	—	0	2,0
I	Benzol	»	+	$1,15 \cdot 10^{-4}$	89,5	0,23
II	Aceton	»	+	$0,07 \cdot 10^{-4}$	99,3	0,014
III	Ethanol	»	+	$0,02 \cdot 10^{-4}$	99,8	0,004
IV	n-Okтан	»	+	$0,24 \cdot 10^{-4}$	97,6	0,048

Für die Tierexperimente wurden Mäuse der ersten Bastargeneration F₁C57BLXCBA verwendet (36 weibl., 77 männl.). Ihr Alter betrug ca. 8 Wochen. Sie verteilten sich auf 6 Testgruppen (Tab. 2).

Die BaP-Lösungen, mit denen die Mäuse kontaminiert werden sollten, wurden bis fast zur Trockne abgedampft und der Rückstand in 12,5 ml Olivenöl aufgenommen. Den Tieren wurde einmal 0,5 ml Öllösung im Bereich des rechten Oberschenkels, in Richtung auf den Schwanz zu, eingespritzt. Ausgehend von der ursprünglichen Lösung erhielt jede Maus 2 mg BaP mit seinen Folgeprodukten. Der Kontrollgruppe wurden folglich 2 mg BaP verabreicht. Die Tiere in den Versuchsgruppen erhielten Lösungen injiziert, die 0,48 mg; 0,23 mg; 0,014 mg und 0,004 mg BaP enthielten.

Ein Jahr nach der Injektion wurden alle überlebenden Individuen getötet und untersucht, genauso wie diejenigen Tiere, die im Verlauf des Versuchs gestorben waren. Bei Versuchsabschluß wurden die Tumore untersucht, die sich an den Infektionsstellen gebildet hatten (auch mikroskopisch). Die Anzahl der entfernten Tumore (Lungenadenome und Hepatome) war nicht wesentlich größer als die Tumore, die sich bei einer Kontrollgruppe spontan gebildet hatten, weshalb diese unberücksichtigt blieben. Alle Tumore an der Injektionsstelle waren Sarkome unterschiedlicher Struktur (Tab. 2).

Die Auswertung der Daten zeigte, daß die Tumore an den Injektionsstellen der Versuchsgruppen, bei denen sie auftraten, innerhalb von 2 - 3 Monaten zum Vorschein kamen. Eine Ausnahme trat in der Versuchsgruppe III auf, wo ein einziger Tumor (Sarkom mit polymorpher Zellstruktur) erst 7,5 Monate nach der Injektion zum Vorschein kam.

Insgesamt traten die Sarkome an den Injektionsstellen bei 80,64 % der Individuen der Kontrollgruppe auf (25 von 31 Mäusen), während sie in den Versuchsgruppen überhaupt nicht zum Vorschein kamen (Versuchsgruppe II) oder in geringerer Anzahl (Versuchsgruppen I und IV) innerhalb von 5 - 37 %.

Es besteht ein Zusammenhang zwischen nicht umgesetztem BaP und dem Prozentsatz der Tumore an den Injektionsstellen (Abb. 2). Er hängt stark von der Menge ab. So kam es in der Versuchsgruppe II (0,0014 mg BaP) zu keinen

Tabelle 2.

Versuchsgruppe	Dosis/ Maus (mg)	Zahl d. Mäuse		Nachweiszeit d. 1. Tumors (Mtl.)	Zahl der Mäuse mit Tumoren (abs.) (%)		Sarkomtyp a.d. Infekt.stelle					Lungenmeta- stasen	
		Geschlecht	urspr.		bis zum 1. Tumor	(abs.)	%	polymorph- zeitlig	spindel- zeitlig	mikro- zellulär	Hämangiom- sarkom		Rhabdomyo- sarkom
Kontrollgruppe	BaP-Lösung in Benzol	♂	9	7	3	5	71,4	1	1				
		♀	10	8	2	7	87,5	1	1			1	
	Gesamt		19	15		12	80,0	2	2	1	1	1	
I	BaP-Lösung in Aceton	♂	9	8	2	6	75,0	3	3				
		♀	10	8	2	7	87,5	1	1				1
	Gesamt		19	16		13	81,2	4	4	1			1
II	BaP-Lösung in Benzol	♂	38	31		25	80,6	6	6	2			1
		♀	6	6	2	2	33,3	2	2				1
	Gesamt		15	14		5	35,7	4	4			1	1
III	BaP-Lösung in Aceton	♂	12	12		0	0						
		♀	11	11		0	0						
	Gesamt		23	23		0	0						
IV	BaP-Lösung in n-Octan	♂	19	19	7,5	1	5,3	1	1				
		♀	18	16	3,5	6	37,5	6	6			1	
	Gesamt		37	35	11	7	21,6	7	7			1	

Anmerkung. Ergebnisse der statistischen Auswertung: $t_{K-I} = 3,23$ $\chi^2 = 7,36$ $p < 0,01$
 $t_{K-II} = 19,84$ $\chi^2 = 27,56$ $p < 0,001$
 $t_{K-IV} = 3,29$ $\chi^2 = 8,34$ $p < 0,01$.

Tumoren, in der Versuchsgruppe III (0,004 mg BaP) entwickelte sich bei einem von 19 Tieren ein Tumor, während in den Versuchsgruppen I und IV (0,23 mg und 0,48 mg BaP) 35,7 % und 37,5 % der Exemplare Tumore entwickelten. Die zwischen den Tiergruppen ermittelten Unterschiede sind statistisch bedeutsam.

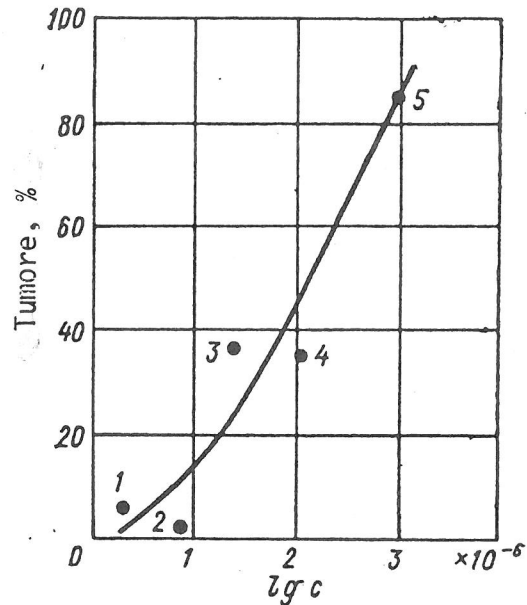


Abb. 2. Anzahl der Tumore an der Infektionsstelle in Abhängigkeit von der BaP-Konzentration im gespritzten Gemisch

- 1) 0,004 mg BaP (Versuchsgruppe III);
- 2) 0,014 mg BaP (Gruppe II);
- 3) 0,048 mg BaP (Gruppe IV);
- 4) 0,23 mg BaP (Gruppe I);
- 5) 2,0 mg BaP (Kontrollgruppe V).

Die Versuchsreihe zeigt deutlich, daß die Kanzerogenität der Lösungen vom darin enthaltenen übrigen BaP abhängt. Dies bestätigt die Tumorbildung an der Injektionsstelle in Abhängigkeit von der Dosis. Daraus folgt, daß die BaP-Photooxidationsprodukte offensichtlich keine karzinogenen Eigenschaften mehr besitzen, da die Tumoranzahl an der Injektionsstelle mit steigender Abbaurrate von BaP abnimmt und da die Tumore, die entfernt wurden, zahlenmäßig ebenfalls nicht zunehmen.

Als Ergebnis kann man aus dieser Arbeit die Schlußfolgerung ziehen, daß der photooxidative Abbau, am Beispiel von BaP, als Mittel zur Detoxifikation von PAH in der Umwelt eingesetzt werden kann.

Literatur

1. Паальме Л., Губергриц М. Изв. АН ЭССР. Хим. Геол., 1971, 20, с. 31.
Paal'me, Lia, Gubergric, M.: Kinetika fotohimičeskogo okislenija 3,4-bencpirena, rastvorennogo v acetone.
In: Izvestija. Akademija nauk Estonskoj SSR. Serija chimija, geologija. Tallinn, 20 (1971), Nr 1, S. 31 - 35.
/Kinetics of 3,4-benzopyrene photochemical degradation in aerated acetone solution; russ./
2. Паальме Л., Губергриц М. Изв. АН ЭССР. Хим. геол., 1971, 20, с. 127.
Paal'me, Lia, Gubergric, M.: Vlijanie kislороda na kinetiku fotodegradacii 3,4-bencpirena.
In: Izvestija. Akademija nauk Estonskoj SSR. Serija chimija, geologija. Tallinn, 20 (1971), Nr 2, S. 127 - 133.
/Influence of oxygen on the 3,4-benzopyrene photodegradation in various solvents; russ./
3. Berenblum, I., Schoental, R.: The metabolism of 3,4-benzopyrene in mice and rats. 1. The isolation of a hydroxy and a quinone derivative, and a consideration of their biological significance.
In: Cancer research. Washington, D.C., 3 (1943), Nr 3, S. 145 - 150.
4. Buu-Hoï, N.P., Sung, S.S.: A non-radiative photochemical model for polycyclic aromatic hydrocarbon-induced carcinogenesis.
In: Naturwissenschaften. Berlin, 57 (1970), Nr 3, S. 135 - 136.
5. Lacassagne, A., Zajdela, F., Buu-Hoï, N.P., Chalvet, O.: Activit e cancérogène  lev e des mono-, di-, et trim ethylbenzo(a)pyr nes.
In: International journal of cancer. Genf, 3 (1968), S. 238 - 243.
6. Shear, M.J., Perrault, Adrien: Studies in carcinogenesis. 7. Compounds related to 3,4-benzopyrene.
In: American journal of cancer. Lancaster, Pa., 36 (1939), S. 211 bis 228.
7. Sung, Shou-Sin, Buu-Hoï, Nguyen P.: Sur l'intervention d'un mécanisme photochimique dans le processus de cancérisation par les hydrocarbures aromatiques et leurs analogues hétérocycliques.
In: Comptes rendus hebdomaires des séances de l'Académie des sciences. Serie D: Sciences naturelles. Paris, 270 (1970), S. 2052 - 2055.

Stuttgart, den 20. August 1986

** bersetzungsstelle
der Universitätsbibliothek Stuttgart**

 bersetzt von:

Ottmar Pertschi

(Ottmar Pertschi)
Dipl.- bersetzer