

# Gentoxische Wirkung der Insektizide Pentachlorphenol und Lindan in unterschiedlichen Regionen der menschlichen Nasenschleimhaut<sup>1</sup>

M. Tisch<sup>1</sup>, A. Lohmeier<sup>1</sup>, P. Schmezer<sup>2</sup>, H. Bartsch<sup>2</sup>, H. Maier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Abteilung für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie, Bundeswehrkrankenhaus Ulm (Leiter: Prof. Dr. H. Maier, OTA)

<sup>2</sup> Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Abteilung für Toxikologie und Krebsrisikofaktoren (Leiter: Prof. Dr. H. Bartsch)

**Hintergrund und Fragestellung:** Tierexperimentelle und epidemiologische Studien haben Hinweise dafür ergeben, dass sowohl Pentachlorphenol (PCP) als auch  $\gamma$ -Hexachlorcyclohexan (Lindan), die in der Vergangenheit im zivilen Bereich, in der Forstwirtschaft und auch bei der Bundeswehr zur Imprägnation und Behandlung von Textilien und Uniformteilen eingesetzt wurden, als mögliche humane Karzinogene zu betrachten sind. Insbesondere Pentachlorphenol kann zumindest im Tierversuch DNA-Schäden, z.B. Mutationen und chromosomale Aberrationen, induzieren. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Gentoxizität von PCP und Lindan erstmals auf menschliche Schleimhautzellen aus dem Bereich der unteren und mittleren Nasenmuschel untersucht.

**Material und Methodik:** Aus Nasenmuschelschleimhaut, die im Rahmen operativer Maßnahmen zur Therapie einer chronischen Sinusitis bzw. einer Nasenmuschelhyperplasie reseziert wurde, wurden epitheliale Zellen isoliert und nach Vitalitätsbestimmungen (Trypanblau-Ausschlusstest) in Kurzzeitkultur genommen. Anschließend erfolgte eine 60-minütige Inkubation gegenüber PCP (0,3; 0,75 und 1,2 mM) und Lindan (0,5; 0,75 und 1,0 mM). Zur Bestimmung substanzinduzierter DNA-Schäden (Einzelstrang- und Doppelstrangbrüche) wurde die Einzelzell-Mikrogelelektrophorese angewandt. Die anschließende Auswertung erfolgte an einem Fluoreszenzmikroskop mit Bildbearbeitungssystem.

**Ergebnisse:** Es zeigt sich vor allem bei Zellen der mittleren Nasenmuschel nach PCP und Lindan-Exposition ein hoher prozentualer Anteil stark DNA-fragmentierter Zellen, als Ausdruck einer erheblichen gentoxischen Wirkung. Zellen der unteren Nasenmuschel reagierten signifikant ( $P < 0,001$ ) geringer: Es zeigte sich jedoch immer noch ein deutlich gentoxischer Effekt der getesteten Substanzen.

**Folgerung:** Die vorliegende Untersuchung konnte eindeutige Hinweise dafür liefern, dass eine Exposition gegenüber PCP und Lindan eine gentoxische Wirkung auf menschliche Nasenschleimhautepithelien ausübt. Daneben konnte erstmals ein Suszeptibilitätsunterschied unterschiedlicher Regionen der Nase für zwei verschiedene Pestizide aufgezeigt werden. Im Hinblick auf die biologische Plausibilität werden somit weitere Indizien für die Beurteilung möglicher PCP- und Lindan-induzierter Schleimhautkreise in dieser Lokalisation geliefert.

## Genotoxic effects induced by the insecticides pentachlorophenol and Lindane in different subsites of human nasal mucosa

**Background and Objective:** Experimental and epidemiologic studies have suggested that pentachlorophenol (PCP) and  $\gamma$ -hexachlorcyclohexane (Lindane) may pose a potential carcinogenic risk for human epithelial cells. In the past, these two substances have been used for military and non-military purposes, e. g. for impregnation of textiles and uniforms. In this study we investigated the genotoxic effect of PCP and Lindane on human mucosal tissue from the middle and lower nasal turbinate.

**Methods:** In biopsy samples obtained from nasal epithelia during surgery cell viability was evaluated by trypan-blue-staining. The specimens were incubated for 60 minutes with PCP (0.3; 0.75 and 1.2 mM) and Lindane (0.5; 0.75; and 1.0 mM). The induction of DNA-damage (single- and double-strand breaks) caused by PCP and Lindane was measured using single-cell microgel electrophoresis. Evaluation was performed by fluorescence microscopy coupled with an image analyzer.

**Results:** Especially in mucosa cells from the middle turbinate severe DNA-damage was induced after exposure to PCP and Lindane indicating a strong genotoxic effect. In cells from the lower turbinate DNA-changes caused by PCP and Lindane were significantly less ( $p < 0.001$ ) but a measurable genotoxic effect was still present.

**Conclusion:** This study could demonstrate genotoxic effects of PCP and Lindane in human nasal epithelia. We also could show for the first time a differential susceptibility of two anatomic subsites in the nose for the two pesticides. Concerning the biological plausibility, this study offers further indications for evaluating the role of PCP and Lindane in the induction of upper aerodigestive tract cancer.

Die Prävention von Infektionskrankheiten, die durch Vektoren übertragen werden, ist von hoher medizinischer Relevanz. Eine wichtige Rolle spielt hierbei der Einsatz von Insektiziden, die u.a. für die Imprägnierung von Moskitonetzen, Mückenschleiern oder auch der Kleidung eingesetzt werden. Verschiedene in der Vergangenheit eingesetzte und nationalitätenspezifisch gelistete Insektizide mussten allerdings aus

dem Handel genommen werden, weil ein erhebliches gesundheitsgefährdendes Potenzial erwiesen ist oder zumindest vermutet wird. Dies trifft in besonderem Maße für die Substanzen Pentachlorphenol (PCP) und  $\gamma$ -Hexachlorcyclohexan ( $\gamma$ -HCH; Lindan) zu.

Für PCP, das sich in Textilfasern anreichert und beim Tragen der Textilien direkt und schnell über die Haut resorbiert wird und

dann im Blut in erheblicher Konzentration nachgewiesen werden kann (6), konnte im Tierversuch eine karzinogene Wirkung nachgewiesen werden. Entsprechend wurde diese Substanz 1991 durch die IARC als mögliches Humankarzinogen in die Gruppe 2B eingestuft (7), während für  $\gamma$ -HCH (Lindan) eine mutagene Wirkung vermutet, aber bislang nicht ausreichend experimentell noch epidemiologisch bestätigt werden konnte (8).

Sowohl PCP als auch Lindan fanden zumindest bis 1980 innerhalb des zivilen Bereichs, der Forstwirtschaft und auch der Bundeswehr breite Verwendung. Alle extern beschafften Schwertextilien, aber auch Uniform- und Gummiteile wurden mit PCP imprägniert. Zur Konservierung von Schlafsäcken wurde Detmol-Tex Bw verwendet, das als Wirkstoffe u.a. Lindan und Methoxychlor enthielt.

Das Ausmaß der Kontamination wurde u.a. durch eine 1995 durchgeführte Untersuchung zur qualitativen und quantitativen Belastung von Schlafsäcken und Rucksäcken der Bundeswehr verdeutlicht. Im Rucksackgewebe fanden sich neben DDT, DDE, Methoxychlor, Permethrin, Chlorophen und Phosphorsäureester sowohl Lindan als auch PCP. Dabei wurde der gesetzlich vorgeschriebene Grenzwert für PCP (5 mg/kg) mit 400 mg/kg um das bis zu 80-fache überschritten.

In Staubproben aus einer Kleiderkammer der Bundeswehr wurden PCP-Konzentrationen im Staub von 4,0 – 16,5 mg/kg und Lindankonzentrationen im Staub von 1,5 – 3,0 mg/kg gemessen. Somit ist davon auszugehen, dass sowohl Soldaten als auch zivile Mitarbeiter der Bundeswehr wahrscheinlich gegenüber beiden Substanzen exponiert waren. Ob hieraus jedoch ein gesundheitlicher Schaden resultierte, ist bis heute nicht zuletzt aufgrund fehlender Grundlagenstudien zu dieser Thematik nicht belegt.

In der vorliegenden Untersuchung wurde die gentoxische Wirkung beider Pestizide auf menschliche Zielzellen aus unterschiedlichen Bereichen der Nase analysiert.

## Material und Methoden

Ausgangsmaterial für die einzelnen Experimente waren Anteile von Operationspräparaten von der mittleren und der unteren Nasenmuschel, die im Rahmen operativer Maßnahmen zur Therapie einer chronischen Sinusitis bzw. einer Nasenmuschelhyperplasie reseziert wurden. Die Proben wurden umgehend dem Versuchsprozess zugeführt.

PCP und  $\gamma$ -HCH wurden von der Firma Sigma, Deisenhofen bezogen. Um die störenden Einflüsse möglicher Nebenprodukte gering zu halten wurden alle Substanzen nicht in Handelsqualität, sondern als Reinsubstanz getestet. Eine Reinheit größer als 99,5% war sichergestellt.

Die Biopsieproben wurden im Operationssaal sofort in gekühltem Joklik-Medium gelagert und umgehend in das Labor überführt. Es folgte die Inkubation des Gewebes mit der vorbereiteten proteolytischen Enzymlösung für 60 min. bei 37°C im Wasserschüttelbad. Eine unkontrollierte Enzymaktivität wurde durch Zugabe von 1 ml foetalem Kälberserum (FCS) abgestoppt. Anschließendes Zentrifugieren bei 400 U/min für 10 Minuten, Abgießen des Überstandes und Resuspendieren mit 1 ml frischem Medium ergaben die endgültige Zellsuspension.

Um größere Schwankungen bei den Zellzahlen auszugleichen, erfolgte als nächster Arbeitsschritt die Bestimmung der Zellzahl und Vitalität. Dazu wurde der Trypanblau-Ausschlusstest nach Phillips durchgeführt (4). Ausgehend vom Molekulargewicht der Testsubstanz wurde die benötigte Menge der Testsubstanzen errechnet und eine entsprechende Menge davon abgewogen. Die genaue Konzentration erhielt man durch Zupipettieren von Dimethylsulfoxid (DMSO) als Solvens. Getestet wurden Pentachlorphenol in Konzentrationen von 0,3/0,75/1,2 mM Zellsuspension (in DMSO) und Lindan in Konzentrationen von 0,5/0,75/1,0 mM Zellsuspension (in DMSO).

Mit dem Ergebnis der Zellzählung konnte die nötige Menge Medium vorausgerechnet werden, um die erforderliche Zellzahl zu erhalten. Ziel war eine Anzahl von  $10^5$  Zellen in 1 ml Suspension. Um eine möglichst konstante Belastung der Zellen zu erreichen, wurde zuerst die Testsubstanz mit dem Medium gemischt und abschließend erst die Zellsuspension zuzugeben. Die Teströhrchen wurden verschlossen und eine Stunde im 37°C Wasserschüttelbad inkubiert. Kurz vor Abschluss der 60-minütigen Inkubation wurde der Trypanblau-Test mit 50  $\mu$ l Proben wiederholt. Damit konnte eine eventuelle Zytotoxizität der Substanzkonzentration erneut ausgeschlossen werden. Anschließend erfolgte ein erneutes Zentrifugieren für 10 Minuten. Die Versuchsröhrchen mit den anheftenden Zellen konnten nun als Ausgangsmaterial für die folgende Mikrogelelektrophorese (MGE) dienen. Grundsätzlich erfolgten alle Arbeitsschritte der Zellgewinnung und -inkubation bei Rotlicht. Dadurch wurden die schädlichen UV-Einflüsse minimiert. Zwischen allen Versuchsschritten erfolgte eine Kühlung bei +4°C.

Das Ausmaß der Zellschädigung wurde durch die Mikrogelelektrophorese dargestellt. Das Versuchsprotokoll orientierte sich dabei an der Übersicht von Fairbairn et al. (2). Die anschließende Auswertung erfolgte fluoreszenzmikroskopisch mit Unterstützung durch ein Bildverarbeitungssystem.

Die Ergebnisse der Versuche und der Fragebogen wurden in eine SAS lesbare Excel-Tabellenform gebracht. Die Auswertung dieser Datensätze wurde in der biostatistischen Abteilung des Deutschen Krebsforschungszentrums unter Leitung von Herrn Dr. L. Edler durchgeführt. Die statistische Modellbildung erfolgte anhand der General Linear Models Procedure (GLM). Zur Beurteilung der unterschiedlichen Effekte der Testsubstanzen auf das Nasenschleimhautgewebe wurde zusätzlich der Student-t-Test für verbundene Stichproben, sowie der Chi-Quadrat-Test angewandt.

Für diese Studie lag eine Genehmigung der Ethikkommission der Universität Ulm als Körpermaterialstudie vor (Nr. 04/97).

## Ergebnisse

Insgesamt wurden 85 Proben untersucht und ausgewertet, davon stammten 73 von männlichen, die restlichen 12 von weiblichen Spendern. Die Altersverteilung des Patientenkollektivs ist in **Abb. 1** dargestellt.

### Untersuchungen mit PCP an Schleimhaut der mittleren und unteren Nasenmuschel

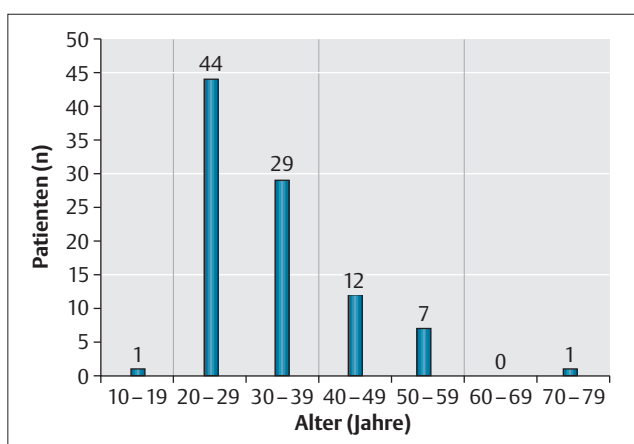
Bei den Nasenschleimhautzellen der mittleren Muschel stieg der Mittelwert der DNA-Migration von 29,1  $\mu$ m in der Lösungsmittelkontrolle signifikant ( $P < 0,001$ ) auf 81,6  $\mu$ m bei ei-

**Tab.1** Wirkung von PCP auf Nasenschleimhautzellen der mittleren und unteren Nasenmuschel (Mittelwert sowie % ungeschädigte Zellen  $\pm$  Standardabweichung).

| Konzentration [mM] | MM Mittelwert ( $\mu\text{m}$ ) | UM Mittelwert ( $\mu\text{m}$ ) | MM <35 $\mu\text{m}$ (%) | UM <35 $\mu\text{m}$ (%) |
|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| LK                 | 29,1 $\pm$ 8,64                 | 25,9 $\pm$ 5,06                 | 79,5 $\pm$ 23,22         | 85,6 $\pm$ 17,14         |
| PCP 0,3            | 40,3 $\pm$ 15,22                | 30,7 $\pm$ 8,58                 | 50,8 $\pm$ 19,08         | 74,5 $\pm$ 24,5          |
| PCP 0,75           | 63,1 $\pm$ 17,7                 | 45,3 $\pm$ 18,98                | 29 $\pm$ 17,73           | 55,2 $\pm$ 25,63         |
| PCP 1,2            | 81,6 $\pm$ 17,98                | 60,1 $\pm$ 20,48                | 8 $\pm$ 9,45             | 36,6 $\pm$ 24,6          |

( $P < 0,001$ ; für Lokalisation sowie Zunahme des Mittelwerts und Abnahme des Anteils ungeschädigter Zellen; jeweils gegen LK sowie auch alle Konzentrationen untereinander)

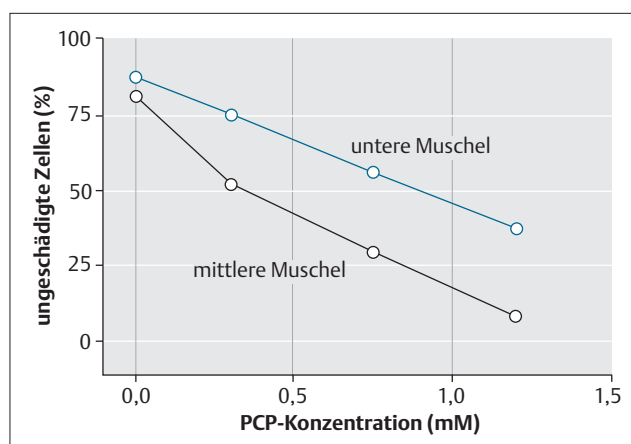
MM = mittlere Muschel, UM = untere Muschel, LK = Lösungsmittelkontrolle, Mw = Mittelwert der gemessenen DNA-Migration (Wanderungsstrecke im elektrischen Feld nach Schädigung der Kernstruktur durch Testsubstanzen) in  $\mu\text{m}$  bei je 3 ausgewerteten Objektträgern <35% Mittelwert des gemessenen Anteils ungeschädigter Zellen in Prozent, wobei Zellen mit einer DNA-Migration <35  $\mu\text{m}$  als ungeschädigt gelten.

**Abb.1** Altersverteilung des Patientenkollektivs.

ner Konzentration von 1,2 mM PCP an. Im Gegenzug sank die Zahl der ungeschädigten Zellen signifikant ( $P < 0,001$ ) von 79,5% in der Lösungsmittelkontrolle auf 8% bei einer Konzentration von 1,2 mM PCP ab. Bei den Nasenschleimhautzellen der unteren Nasenmuschel zeigte sich demgegenüber ein im Vergleich signifikant geringerer Anstieg ( $P < 0,001$ ) des Mittelwerts von 25,9  $\mu\text{m}$  in der Lösungsmittelkontrolle auf 60,1  $\mu\text{m}$  bei einer Konzentration von 1,2 mM PCP. Ebenfalls sank der Prozentsatz ungeschädigter Zellen signifikant geringer ( $P < 0,001$ ) von 85,6% auf 36,6% ab (**Tab.1, Abb.2**).

### Untersuchungen mit Lindan an Schleimhaut der mittleren und unteren Nasenmuschel

Der Mittelwert der DNA-Migration der Zellen der mittleren Nasenmuschel betrug in der Lösungsmittelkontrolle 29,1  $\mu\text{m}$ . Er stieg auf 86,2  $\mu\text{m}$  bei einer Lindankonzentration von 1,0 mM an. Der Prozentsatz ungeschädigter Zellen sank von 79,5% in der Lösungsmittelkontrolle auf 4,7% bei 1,0 mM Lindan. Im Gegensatz hierzu zeigte der Mittelwert der DNA-Migration von Zellen der unteren Nasenmuschel ebenfalls einen im Vergleich signifikant ( $P < 0,001$ ) geringeren Anstieg von 25,9  $\mu\text{m}$  in der Lösungsmittelkontrolle auf 67,3  $\mu\text{m}$  bei einer Konzentration von 1,0 mM Lindan. Analog hierzu fiel der Prozentsatz ungeschädigter Zellen signifikant geringer ( $P < 0,001$ ) von 85,6% auf 25% bei einer Konzentration von 1,0 mM Lindan ab (**Tab.2, Abb.3**).

**Abb.2** Ungeschädigte Zellen nach PCP-Exposition : mittlere und untere Muschel im Vergleich.

## Diskussion

PCP stellt eines der am weitesten verbreiteten Umweltgifte dar. Die mittlerweile gesetzlich verordneten Verwendungseinschränkungen beruhen in erster Linie auf der hohen akuten Toxizität (7, 11, 18, 20). Auf zellulärer Ebene blockiert PCP über eine Hemmung der oxidativen Phosphorylierung zahlreiche wichtige Enzymsysteme. Darüber hinaus kommt es zu schwerwiegenden Schädigungen von Mitochondrien und anderen Zellorganellen (10).

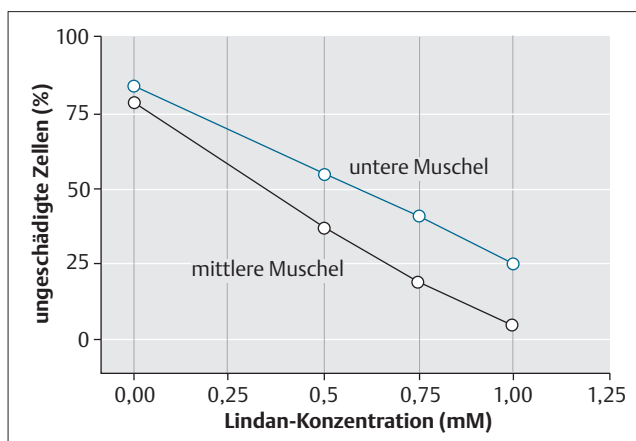
Der chronischen Toxizität für den Menschen, vor allem im Hinblick auf den Beitrag einer genotoxischen Wirkung wurde bislang wenig Aufmerksamkeit gewidmet. Dies ist umso bemerkenswerter zumal in verschiedenen In-vitro-Versuchen PCP zumindest ein geringes genotoxisches Potential zugeordnet wurde (9, 11, 15, 20) und am tierexperimentellen Modell der Ratte nach Langzeitexposition sogar Nasentumoren induziert werden konnten (14). Immerhin wurde eine Übertragbarkeit dieser Versuchsergebnisse auf menschliche Zellen und damit ein mögliches humankarzinogenes Potential dieser Substanz diskutiert (19).

Mit der vorliegenden Untersuchung wurde unter Einsatz einer hochsensitiven Methode zum Nachweis von DNA-Schäden, nämlich dem Comet-Assay (1,21) erstmals die genotoxische Wirkung von PCP auf menschliche Nasenschleimhautepitheli-

**Tab.2** Wirkung von Lindan auf Nasenschleimhautzellen der mittleren und unteren Nasenmuschel (Mittelwert sowie % ungeschädigte Zellen  $\pm$  Standardabweichung; Abkürzungen siehe Tab.1).

| Konzentration [mM] | MM Mittelwert ( $\mu\text{m}$ ) | UM Mittelwert ( $\mu\text{m}$ ) | MM <35 $\mu\text{m}$ (%) | UM <35 $\mu\text{m}$ (%) |
|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| LK                 | 29,1 $\pm$ 8,64                 | 25,9 $\pm$ 5,06                 | 79,5 $\pm$ 23,22         | 85,6 $\pm$ 17,14         |
| Lindan 0,5         | 59,8 $\pm$ 21,35                | 46,5 $\pm$ 16,6                 | 36,7 $\pm$ 20,57         | 55,2 $\pm$ 24,38         |
| Lindan 0,75        | 72,1 $\pm$ 17,03                | 57,5 $\pm$ 18,23                | 19,2 $\pm$ 11,47         | 40,9 $\pm$ 21,71         |
| Lindan 1,0         | 86,2 $\pm$ 16,68                | 67,3 $\pm$ 18,29                | 4,7 $\pm$ 7,4            | 25 $\pm$ 16,96           |

( $P < 0,001$ ; für Lokalisation sowie Zunahme des Mittelwerts und Abnahme des Anteils ungeschädigter Zellen; jeweils gegen LK sowie auch alle Konzentrationen untereinander)



**Abb.3** Ungeschädigte Zellen nach Lindan-Exposition: mittlere und untere Muschel im Vergleich.

en aus dem Bereich der unteren und der mittleren Nasenmuschel untersucht. Diese waren ausgewählt worden, da aus epidemiologischen und klinischen Untersuchungen zur Holzstaubkarzinogenese bekannt ist, dass Adenokarzinome der Nase sich ausschließlich an der mittleren Nasenmuschel manifestieren; bis heute aber unklar ist, ob es sich hierbei überwiegend um Effekte des Hartholzstaubes oder um Effekte der Holzinhaltsstoffe wie insbesondere PCP und Lindan handelt (23).

Die Gewebeproben wurden im Rahmen operativer Eingriffe zur Behandlung einer chronischen Sinusitis bzw. einer Nasenmuschelhyperplasie gewonnen. Bei der chronischen Sinusitis ist eine Teilresektion der mittleren Muschel, insbesondere beim Vorliegen einer Concha bullosa häufig erforderlich, um eine ausreichende postoperative Drainage der nachgeschalteten Nebenhöhlen zu gewährleisten. Bei der Hyperplasie der unteren Nasenmuschel ist zur Normalisierung des Nasenatmungswiderstandes ebenfalls eine Teilresektion der Muschel erforderlich. Präoperativ wurden alle Patienten in Abhängigkeit von der Grunderkrankung antibiotisch bzw. antiallergisch vorbehandelt, so dass zum Zeitpunkt der Operation keine akuten entzündlichen Schleimhautreaktionen vorlagen. Dies wurde auch durch die histologische Aufarbeitung benachbarter Schleimhautareale bestätigt. Ungeachtet dessen kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese chronisch entzündlich veränderte Schleimhaut eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber den getesteten Pestiziden aufweist. Im Rahmen der Operationsvorbereitung wurde die Schleimhaut zusätzlich gegenüber Xylocain-Spray® und Xylometazolin exponiert. Eine die Gentoxizität von Pestiziden steigende Wirkung dieser Substanzen ist nicht bekannt. Eine Vorbelas-

tung durch Tabakrauch oder sonstige Umwelteinflüsse wurden anhand des Heidelberger Fragebogens (13) dokumentiert. Hierbei ließ sich jedoch kein statistisch signifikanter Einfluss der erfassten Schadstoffe auf die gentoxische Wirkung von Lindan oder PCP nachweisen. Die untersuchten Proben stammten von Patienten unterschiedlicher Altersklassen, wobei sich – unabhängig vom Lebensalter – eine einheitliche gentoxische Wirkung der untersuchten Pestizide zeigte. Insgesamt betrachtet bestehen keine Hinweise dafür, dass die Grunderkrankung der Patienten, die prä- oder perioperative medikamentöse Behandlung, das Lebensalter oder frühere Schadstoffexpositionen die Versuchsergebnisse grundlegend beeinflusst haben könnten. Hierfür spricht auch die Tatsache, dass im tierexperimentellen Modell der Ratte ähnliche Gentoxizitätsmuster für PCP und Lindan nachgewiesen wurden, wobei keiner der oben aufgeführten potenziellen Störfaktoren vorgelegen hat (9, 14, 16, 17).

Mit überraschender Deutlichkeit konnte die vermutete gentoxische Wirkung von PCP bestätigt werden. Mit steigender PCP-Exposition resultierte eine signifikante Zunahme der registrierten DNS-Schäden im Sinne eines Dosis-Wirkungsprinzips. Bereits bei PCP-Konzentrationen von 0,3 mM bzw. 0,75 mM konnten DNS-Schäden bei durchschnittlich mehr als 50% bzw. 70% der exponierten Schleimhautzellen von der mittleren Nasenmuschel festgestellt werden. Bei einer PCP-Konzentration von 1,2 mM wiesen sogar durchschnittlich 92% der exponierten Zellen DNS-Schäden auf. Hierbei handelt es sich um PCP-Konzentrationen, wie sie durchaus bei bestimmten beruflichen Tätigkeiten auch an zivilen und militärischen Arbeitsplätzen z.B. in Kleiderkammern der Bundeswehr oder auch durch Hausstaubbelastungen auftreten könnten (22). Schleimhautzellen von der unteren Nasenmuschel reagierten weniger empfindlich. So fanden sich selbst bei einer PCP-Konzentration von 1,2 mM nur bei durchschnittlich 64% der exponierten Zellen DNA-Schäden.

Die Ursachen für dieses unterschiedliche Verhalten sind bislang unklar. Einerseits käme als Erklärung eine grundsätzlich höhere Vulnerabilität der Schleimhaut der mittleren Nasenmuschel in Frage (3, 10). Andererseits wäre es vorstellbar, dass ein unterschiedlicher Zellstoffwechsel, z.B. durch eine differente Enzymausstattung zu einer verstärkten Bildung toxischer PCP-Metaboliten wie Tetrachlorhydrochinon für die stärker ausgeprägte gentoxische Reaktion im Bereich der Schleimhaut der mittleren Nasenmuschel, verantwortlich ist (9, 15, 20).

In diesem Zusammenhang erscheint die Tatsache, dass Nasen- und Nasennebenhöhlenkarzinome bei holzstaubexponierten Arbeitern bevorzugt von der Schleimhaut der mittleren Nasenmuschel ausgehen, besonders bemerkenswert. Ne-

ben einer direkten mutagenen Wirkung von Hartholzstäuben werden Holzinhaltsstoffe wie z.B. Insektizide als tumorauslösende Noxe verdächtigt (12).

Die beobachtete Gentoxizität von PCP auf menschliche Nasenschleimhautepithelien erlaubt zwar noch keinen direkten Schluss auf ein erhöhtes Krebsrisiko, verstärkt jedoch die bislang diesbezüglich vorliegenden Verdachtsmomente. So wurde im Rahmen von epidemiologischen Untersuchungen ein gehäuftes Auftreten von Haut-, Lippen-, Nasen- und Nasenrachenkarzinomen sowie von Leukämien bei PCP-exponierten Personen berichtet (20).

Ähnlich weiträumig wie PCP wurde in der Vergangenheit Lindan als Insektizid eingesetzt. Bei dieser Substanz handelt es sich um das  $\gamma$ -Isomer der Hexachlorcyclohexane, die zur Gruppe der neutralen Organochloride gehören. Lindan wurde zur Konservierung von Getreide- und Holzprodukten sowie von Textilien eingesetzt. Obwohl der Einsatz inzwischen stark reglementiert wurde, besteht immer noch eine erhebliche Umweltbelastung durch diese schwer abbaubare Substanz (5, 16, 17).

Bislang durchgeführte In-vitro-Versuche hatten hinsichtlich der Gentoxizität widersprüchliche Ergebnisse geliefert. Bei langzeitexponierten Ratten fand sich eine erhöhte Karzinominzidenz von Mammakarzinomen. Ferner lieferten epidemiologische Untersuchungen Hinweise für ein erhöhtes Risiko für Lungen-, Leber- und Mammakarzinome bei Lindan-exponierten Personen (8).

In der vorliegenden Untersuchung konnte ähnlich wie für PCP auch für Lindan eine ausgeprägte gentoxische Wirkung auf menschliche Nasenschleimhautepithelien nachgewiesen werden. Auch hier zeigte sich eine signifikante Dosis-Wirkungsbeziehung. Ferner erwies sich die Schleimhaut von der mittleren Nasenmuschel ebenfalls als signifikant vulnerabler im Vergleich zur unteren Muschel.

## Fazit

Die vorliegende Untersuchung konnte (nachdem in einer früheren Untersuchung bereits auf das gentoxische Potential von Lindan auf humane Nasenschleimhaut hingewiesen wurde (17)) erstmals eine signifikant unterschiedliche gentoxische Wirkung sowohl von PCP als auch von Lindan auf verschiedene Lokalisationen der menschlichen Nasenschleimhaut nachweisen, wobei sich die Schleimhaut der mittleren Nasenmuschel als in besonderem Maße vulnerabel zeigte. Es handelt sich in der vorliegenden Untersuchung um eine In-vitro-Studie, die wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Exposition gegenüber Schadstoffen zur In-vivo-Situation aufweist, wobei vor allem die Wirkung lokaler Schutzmechanismen der Nasenschleimhaut (Schleimbarriere) unberücksichtigt bleiben müssen. Dennoch erhärten diese Ergebnisse zusammen mit den bereits vorliegenden tierexperimentellen und epidemiologischen Untersuchungen den Verdacht, dass durch eine Langzeitexposition vor allem gegenüber PCP und möglicherweise Lindan das Risiko, an einem Nasenkarzinom zu erkranken, ansteigen könnte.

Unter diesem Aspekt sind einerseits prospektive epidemiologische Studien bei langzeitexponierten Personen zu empfehlen. Andererseits ist zu fordern, dass möglicherweise noch vorhandene kontak-

minierte Schwertextilien und Kleidungsstücke entsorgt werden, um eine weitere Exposition betroffener Personen zu verhindern.

**Danksagung:** Wir danken Herrn Dr. L. Edler von der Abteilung Biostatistik des DKFZ Heidelberg für die statistische Betreuung und Auswertung der Messergebnisse.

## Literatur

- 1 Ashby J, Tinwell H, Lefevre PA, Browne MA. The single cell gel electrophoresis assay for induced DNA damage (comet assay): measurement of tail length and moment. *Mutagenesis* 1995; 10: 85-90
- 2 Fairbairn DW, Olive PL, O'Neill KL. The comet assay: a comprehensive review. *Mutation Research* 1995; 339: 37-59
- 3 Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. The CYP2A gene subfamily: species differences, regulation, catalytic activities and role in chemical carcinogenesis. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 123-128
- 4 Gaginella TS, Haddea AC, Go VL, Phillips SF. Cytotoxicity of rianolic acid (castor oil) and other industrial secretagogues on isolated intestinal epithelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 201: 259-266
- 5 Gopaldaswamy UV, Nair CK. DNA binding and mutagenicity of lindane and its metabolites. *Bull Environ Toxicol* 1992; 49: 300-303
- 6 Heudorf U. Hohe PCP-Blutspiegel durch PCP-belastete Lederkleidung. *Dtsch Med Wochenschr* 2000; 125: 766-768
- 7 International Agency for Research on Cancer. IARC - Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans Lyon, France, (1991); 53: 371-402
- 8 International Agency for Research on Cancer. IARC - Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans Lyon, France, 1987; Suppl 7: 220-222,
- 9 Jansson K, Jansson V. Induction of mutation in V79 Chinese hamster cells by tetrachloro-*p*-hydroquinone, a metabolite of pentachlorophenol. *Mutation Research* 1991; 260: 83-87
- 10 Jenner J, Dodd H. Xenobiotic metabolism in the nasal epithelia. *Drug Metabolism* 1988; 6: 123-148
- 11 Jorens PG, Schepens PJC. Human pentachlorophenol poisoning. *Human Exp Toxicol* 1993; 12: 411-430
- 12 Kleinsasser O, Schroeder HG. What's new in tumors of the nasal cavity? Adenocarcinomas arising after exposure to wood dust. *Path Res Pract* 1989; 184: 554-558
- 13 Maier H, Tisch M, Conradt C, Pötschke-Langer M. Alkoholkonsum und Krebs des oberen Aerodigestivtraktes bei Frauen. *Dtsch Med Wochenschr* 1999; 124: 851-854
- 14 McConnell J, Huff JE, Hejtmancik M, Peters AC, Persing R. Toxicology and carcinogenesis studies of two grades of pentachlorophenol in B6C3F1 mice. *Fundam Appl Toxicol* 1991; 17: 519-532
- 15 Naito S, Ono Y, Somiya I, Inoue S, Ito K, Yamamoto K, Kawanishi S. Role of active oxygen species in DNA damage by pentachlorophenol metabolites. *Mutation Research* 1994; 310: 79-88
- 16 Pool-Zobel BL, Guigas C, Klein R, Neudecker C, Renner HW, Schmezer P. Assessment of genotoxic effects by lindane. *Fd Chem Toxicol* 1993; 31: 271-283
- 17 Pool-Zobel BL, Lotzmann N, Knoll M, Kuchenmeister F, Lambertz R, Leucht U, Schröder HG, Schmezer P. Detection of genotoxic effects in human gastric and nasal mucosa cells isolated from biopsy samples. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 1994; 24: 23-45
- 18 Reigner BG, Bois FY, Tozer T. Assessment of pentachlorophenol exposure in humans using the clearance concept. *Human Exp Toxicol* 1991; 11: 17-26
- 19 Reigner BG, Bois FY, Tozer T. Pentachlorophenol carcinogenicity: Extrapolation of risk from mice to humans. *Human Exp Toxicol* 1993; 12: 215-225
- 20 Seiler JP. Pentachlorophenol. *Mutation Research* 1991; 257: 27-47
- 21 Singh NP. Sodium ascorbate induces DNA single-strand breaks in human cells in vitro. *Mutation Research* 1997; 375: 195-203
- 22 Walker G, Hostrup O, Hoffmann W, Butte W. Biozide im Hausstaub. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1994; 195: 450-456
- 23 Wolf J, Schmezer P, Fengel D, Schroeder HG, Scheithauer H, Woestle P. The role of combination effects on the etiology of malignant nasal tumours in the wood-working industry. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1998 (Suppl 535)

## Korrespondenz

Dr. med. Matthias Tisch  
Abteilung für  
Hals-Nasen-Ohrenheilkunde  
Kopf- und Halschirurgie  
Bundeswehrkrankenhaus Ulm  
Oberer Eselsberg 40  
89081 Ulm  
Tel.: +49/731/171-2051  
Fax: +49/731/552767  
E-Mail: Matthias.Tisch@extern.uni-ulm.de