

# FORSCHUNGSBERICHTSBLATT

Förderkennzeichen BWR 24013

Molekular-toxikologische Wirkmechanismen (poly)bromierter Flammschutzmittel

## 1. Kurzbeschreibung des Forschungsergebnisses.

In der vorliegenden Studie wurden vier einzelne Umwelt-relevante polybromierte Diphenylether (PBDE: BDE47, BDE99, BDE153 und BDE209) zunächst in 5L-Ratten-Hepatoma-Zellen auf toxische Wirkungen getestet. Für die Identifizierung der Dioxin-ähnlichen Wirkungen unter Beteiligung des Aryl-Hydrocarbon-Rezeptors (AhR) wurden die Experimente parallel dazu mit einem AhR-defizientem Subclon (BP8) durchgeführt. Neben der Induktion des Biomarkers Cyp1A1 wurden mögliche AhR-Aktivierungen auf verschiedenen Ebenen untersucht, sowie genomweite Genexpressions-Analysen durchgeführt. Das in der Umwelt dominierende 2,2',4,4'-TetrabromBDE (BDE47) zeigte anfänglich dioxinartige Wirkungen, jedoch konnte in der einfach gereinigten Probe eine Kontamination mit 2,3,7,8-Tetrabromdibenzofuran (TBDF), einem hochpotenten AhR-Liganden identifiziert werden. Ein mehrfach speziell gereinigtes BDE47<sup>hg</sup> zeigte hingegen keine dioxinartigen Effekte mehr, wie auch für die übrigen getesteten PBDE-Kongenere beobachtet. Auch Experimente mit primären Ratten-Hepatozyten und humanen Hepatomzellen zeigten keine substantielle Aktivierung des AhRs durch PBDE. Überraschenderweise hatten BDE47, BDE99 und z.T. BDE153 eher eine inhibierende Wirkung auf die durch TBDF bzw. TCDD induzierte Cyp1A1-Proteinmenge.

Entwicklungs- und Neurotoxizität sind bekannte schädliche PBDE-Wirkungen in Vertebraten. Studien der PBDE im Modell-Organismus Zebrafisch (*Danio rerio*) zeigten, dass allein BDE47 morphologische Fehlbildungen in den Embryonen des Zebrafisches induzierte, die sich von TCDD und TBDF induzierten Abnormalitäten unterschieden. Zudem wich das durch BDE47 differentiell regulierte Genexpressions-Profil stark von dem klassischer AhR-Agonisten ab. Zusammenfassend betrachtet führten die getesteten PBDE-Kongenere nicht zu einer Aktivierung des AhR-Signalweges in Vertebraten, so dass eine agonistische AhR-Interaktion als Grundlage der PBDE-Toxizität ausgeschlossen werden konnte.

Genexpressions-Profile von BDE47 in Embryonen des Zebrafisches und in 5L-Hepatoma-Zellen konnten neue Gen-Kandidaten der PBDE-Toxizität identifizieren. Die beobachtete Inhibition des AhRs durch einzelne PBDE könnte zu einer Interferenz mit den physiologischen und detoxifizierenden Funktionen des AhRs führen.

Die vorliegende Studie hat bestätigt, dass die PBDEs keine Aktivoren des Ah-Rezeptors sind und somit keiner Eingruppierung in ein Toxizitäts-Äquivalenzsystem für Dioxine bedürfen. Allerdings konnte gezeigt werden, dass bromierte Dibenzo-Furane als mögliche Kontaminanten von technischen Mischungen sehr potente dioxinähnliche Wirkungen entfalten können. Desweiteren konnten Wirkungen auf andere Regulatoren des Fremdstoffwechsels belegt werden, wie die Aktivierung der Pregnan-X-Rezeptor- (PXR) und konstitutiven Androstane Rezeptor- (CAR) abhängigen Genregulation. Eine Bewertung dieser Wirkung und die des AhR-Antagonismus steht noch aus, so dass eine endgültige Risikobewertung der PBDEs noch nicht möglich ist.

## 2. Welche Fortschritte ergeben sich für die Wissenschaft und/oder Technik durch die Forschungsergebnisse?

- Hinsichtlich dioxinartiger Wirkungen konnten für Risiko-Einschätzungen der Umweltkontaminanten PBDE eine Klärung erzielt werden. Es konnten keine dioxinartigen Wirkungen

festgestellt werden, somit tragen PBDEs nicht zur Dioxin-Körperbelastung bei. Allerdings wurden im Rahmen der Untersuchung Verunreinigungen der untersuchten PBDE-Kongeneren mit dioxinartigen Verbindungen, bromierte Furane und Dioxine (PBDF und PBDD) festgestellt. Diese wurden interessanterweise auch in den kommerziellen und technischen Mischungen (z.B. DE-71) detektiert. Daraus folgt ein möglicher zusätzlicher Eintrag von PBDF und PBDD durch Begleitung der PBDE in die Umwelt und den Menschen.

- Es konnte eine Wirkung auf weitere Regulatoren des Fremdstoffwechsels festgestellt werden: eine Aktivierung der Genregulation durch den Pregnan-X-Rezeptor (PXR) und den Konstitutiven Androstane Rezeptor (CAR), eine Wirkung die ebenfalls für einzelne PCB zutrifft.
- Das Problem einer Unterschätzung bei der Bestimmung der Dioxin-Belastung mit Bioassays, wie dem EROD-Assay (Messung der CYP1A1-Aktivität) wurde erkannt. Es kann zu Fehleinschätzungen der Dioxin-Belastung führen, wenn gleichzeitig Agonisten und Antagonisten des AhR in Proben vorhanden sind.
- Die Experimente mit Embryonen des Zebraäbrblings (*Danio rerio*) ermöglichten die Untersuchung von Entwicklungs- und Embryotoxizität in frühen Stadien der Entwicklung. Auf der Basis der erzielten Ergebnisse ist die Entwicklung neuer Alternativmethoden möglich, wie die Verwendung von Zebrafisch-Embryonen als Tierersatz-Modelle.
- Insgesamt konnte ein Erkenntnisgewinn zur Bewertung der Umweltgefahren erzielt werden. Da von einem ubiquitären Vorkommen des AhR in Wirbeltieren ausgegangen werden kann, könnte der AhR und eine Wirkung von bromierten Dibenzofuranen auch Fische und andere wildlebende Spezies betreffen.

### **3. Welche Empfehlungen ergeben sich aus dem Forschungsergebnis für die Praxis?**

- PBDEs bedürfen keiner Eingruppierung in ein Toxizitäts-Äquivalenzsystem für Dioxine.
- Die Empfehlung von WHO-Experten, polybromierte Furane und Dioxine (PBDF und PBDD) weiter zu untersuchen und diese in das Dioxin-Äquivalenz-System einzubeziehen, wird durch die Studie gestützt, denn ein möglicher zusätzlicher Eintrag von PBDF und PBDD durch Begleitung der PBDE in kommerziellen und technischen Mischungen in die Umwelt und den Menschen ist gegeben.
- Die untersuchte Aktivierung der Pregnan-X-Rezeptor- (PXR) und konstitutiven Androstane Rezeptor- (CAR) abhängigen Genregulation sowie der AhR-Antagonismus der PBDEs können in ihren Auswirkungen noch nicht beurteilt werden. Für eine endgültige Bewertung der gesundheitlichen und ökotoxikologischen Risiken, woraus sich gegebenenfalls weitergehende expositionsmindernde Maßnahmen ableiten ließen, sind vertiefende Studien notwendig.