

Forschungsberichtsblatt

Kupfer und frühkindliche Leberzirrhose: Molekulartoxikologische Untersuchungen der chronischen Kupfertoizität

Programm Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung (BWPLUS)

Forschungsbericht FZKA-BWPLUS

Förderkennzeichen PUG U 98003

Karl H. Summer^{1,2}, Josef Lichtmanegger², Sandra Michaelen² und Dominik Klein¹

Institut für Toxikologie und Umwelthygiene, Technische Universität München, 80636 München und 2)
Institut für Toxikologie, GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, 85758 Neuherberg

April 2002

1. Kurzbeschreibung der Forschungsergebnisse

Zum Mechanismus der Hepatotoxizität von Kupfer

Bis zum Auftreten der systemischen Gelbsucht im Alter von etwa 85 Tagen, stiegen die Kupfergehalte in der Leber der LEC Ratten kontinuierlich an. In der präsymptomatischen Phase akkumulierte das Metall vor allem im Zytoplasma der Hepatozyten, während mit der Progression der Hepatitis die Kupferkonzentration nur noch in den zellulären Organellen zunahm. Bei den Tieren mit schwer geschädigter Leber war Kupfer überwiegend in den Lysosomen lokalisiert.

Entgegen bisherigen Vermutungen war das überschüssige Kupfer im Zytoplasma, unabhängig vom Schweregrad der Leberschädigung, annähernd quantitativ an Metallothionein (MT) gebunden. Der gleichsinnige Verlauf der Kupfergehalte und der MT-Gehalte weist darauf hin, dass die Synthese des Proteins durch Kupfer stimuliert wurde, und, dass die Neusynthese von MT unter diesen Bedingungen nicht limitiert ist. Die vermutete „prooxidative“ Wirkung von kupferhaltigem MT spielt nach unseren Ergebnissen für die Pathogenese der Leberschädigung bei der LEC Ratte keine Rolle. Somit ist davon auszugehen, dass die Hepatotoxizität von Kupfer bei diesen Tieren nicht durch das überschüssige Metall im Zytoplasma der Leber initiiert wird.

In den Lysosomen der Hepatozyten lag Kupfer überwiegend in Form unlöslicher Partikel vor, die als oxidierte, über Disulfidbrücken vernetzte Polymere aus MT identifiziert werden konnten. Eine Folge der Oxidation der Thiolgruppen ist zwangsläufig die im Vergleich zu nativem MT schwächere Bindung von Kupfer an das Protein. Eine vergleichsweise hohe Reaktivität dieses Kupfer ist anzunehmen, da polymerassoziiertes Metall, im Gegensatz zu MT-gebundenem Kupfer im Zytoplasma, durch DPA mobilisierbar war. Polymerassoziiertes, reaktives Kupfer kann über radikalvermittelte Reaktionen zu den beschriebenen oxidativen Schäden an der lysosomalen Membran führen und so den nekrotischen oder apoptotischen Zelluntergang initiieren. Als Folge der phagozytären Aufnahme aus geschädigten Parenchymzellen akkumulierten kupferhaltige MT-Polymere auch in den Kupffer'schen Sternzellen. Möglicherweise führt dies, ähnlich wie in den Hepatozyten, zum Untergang dieser Zellen und damit zu einer weiteren Freisetzung von reaktivem Kupfer. Doch nicht nur das Metall selbst, sondern auch die Stimulierung der Kupffer'schen Sternzellen könnte über die Freisetzung zytotoxischer oder chemotaktischer Mediatoren zur Pathogenese der Kupferhepatotoxizität beitragen.

Zur Kupfertoxizität beim Neugeborenen

Von den insgesamt 40 oral mit der höchsten Dosis von 30 mg Kupfer/kg Körpergewicht und Tag exponierten Meerschweinchen starben bzw. erkrankten kupferbedingt 5 Tiere innerhalb der ersten 3 Lebenstage. Dies ist der erste experimentelle Beleg, dass Neugeborene im ersten Lebensabschnitt besonders empfindlich gegenüber Kupfer sind. Die

Mehrheit aller kupferexponierten Tiere zeigten pathologische histologische Veränderungen der Leber wie trübe Schwellung, vakuoläre Degenerationen und Sternzellhyperplasien.

Die Kupferexposition führte zu einer zumeist dosisabhängigen Anreicherung des Metalls in der Leber, insbesondere, und ähnlich wie bei der LEC Ratte, im Zytoplasma und in den Lysosomen. Im Zytoplasma war Kupfer überwiegend an MT gebunden. Auffällig war, wie bei den LEC Ratten, die hohe Beladung des Proteins mit Kupfer. Dies könnte in Analogie zu den Befunden an LEC Ratten in ursächlichem Zusammenhang mit der Toxizität des Metalls stehen. Eine weitere kausale Bedeutung für die Kupfertoxizität könnte dem nicht an MT gebundene Metall im Zytoplasma zukommen.

Auf der Basis der histologischen Befunde wurde für neugeborene Meerschweinchen ein Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL) von 10 mg Kupfer/kg KG/Tag abgeleitet. Unter Zugrundelegung eines Faktors 3 zwischen LOAEL und dem No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) ergibt sich ein NOAEL für das neugeborene Meerschweinchen von 3,3 mg Kupfer pro kg Körpergewicht und Tag. Übertragen auf die Situation des Säuglings, entspricht dies mit den Annahmen einer täglichen Aufnahme von 750 ml Flaschennahrung und einem Körpergewicht von 5 kg einer Kupferkonzentration von 22 mg Kupfer/l Flaschennahrung. Unter Berücksichtigung eines Sicherheitsfaktors von 10 auf Grund der Speziesunterschiede ergibt sich eine dem NOAEL analoge Kupferkonzentration von 2,2 mg/l Leitungswasser. Diese Konzentration entspricht dem Leitwert für Kupfer im Leitungswasser nach der bundesdeutschen Trinkwasserverordnung von 2 mg/l und den jüngsten Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation.

2. Fortschritte für Wissenschaft und Technik

Die erzielten Forschungsergebnisse haben wesentliche Beiträge zur Kenntnis der molekularen Mechanismen der Hepatotoxizität von Kupfer erbracht. Darüber hinaus konnte erstmals experimentell belegt werden, dass Neugeborene im ersten Lebensabschnitt besonders empfindlich gegenüber Kupfer sind. Auf der Basis der erzielten Erkenntnisse wurde für den Säugling ein NOAEL von 2,2 mg Kupfer pro Liter Leitungswasser abgeschätzt.

3. Empfehlungen für die Praxis

Vor dem Hintergrund der vermutlich sehr steilen Dosis-Wirkungs-Beziehung von Kupfer und der relativ häufig anzunehmenden Überschreitung der Kupfergrenzwerte in Stagnationswässern und nach Neuinstallation von Versorgungsleitungen kann für überwiegend über Formulanahrung ernährte Säuglinge ein erhöhtes Gesundheitsrisiko nicht ausgeschlossen werden. Dies sollte bei einer künftigen Festlegung des Grenzwertes für Kupfer im Trinkwasser entsprechend berücksichtigt werden.