ARBETSMILJÖ FONDENS

SAMMANFATTNINGAR

1128

Förändringar av proteinkoncentrationer i biologiska prover orsakade av exponering för kemiska ämnen

För innehållet i sammanfattningen svarar Olof Vesterberg, Institutet för arbetsmiljöforskning, Enheten för medicinsk kemi, 171 84 Solna, tel 08-730 91 00.

Pnr 82-0647 Kemiska problemområden, allmänt (10) *December 1987*

Bakgrund

Varje cell i kroppen innehåller flera tusen olika proteiner. Vissa utgör strukturelement t ex membraner och andra ombesörjer energiomsättning och syntes av nya molekyler. Normalt råder god balans. Kemikalier kan påverka cellerna på olika sätt så att koncentrationen av vissa proteiner ändras. Kemiska ämnen såsom organiska lösningsmedel kan även påverka cellmembraner så att proteiner läcker ut ur cellerna och koncentrationerna därav ökar i blodet. Studier av proteinkoncentrationer kan således ge upplysningar om toxiska effekter. Tidigare har man studerat leverpåverkan av kemiska ämnen genom enzymaktivitetsmätningar i blodprover från exponerade djur och människor. Detta har dock flera begränsningar, t ex kan endast få proteiner mätas så.

De flesta proteiner kan separeras i geler medelst isoelektrisk fokusering åtföljd av elektroforetisk separation, s k två-dimensionell elektrofores. Proteinerna föreligger därvid i en gelplatta och kan visualiseras som punktformade fläckar med färgning. Två-dimensionell elektrofores möjliggör samtidiga studier av åtskilliga proteiner t ex i ett blodprov. Tekniken har förbättrats under de senaste åren. Med speciell silverfärgning kan t ex mindre än ett nanogram protein påvisas.

Projektarbetet

Råttor exponerades för dimethylformamid, som är mycket toxisk för levern. Vi analyserade även blod från råttor exponerade för koltetraklorid, perkloretylen och trikloretylen och upptäckte proteinförändringar vid exponeringsnivåer långt under LD_{50}. När

råttor exponerades för både perkloretylen och etanol blev proteinförändringarna mindre markanta, vilket kan bero på att etanol fördröjer biotransformationen av klorerade kolväten. De senaste åren har vi arbetat med att analysera blodprover från råttor exponerade för toluen. Koncentrationen av några proteiner ökar vid ökande exponeringsintensitet (dos), vilket kan bero på induktion. Koncentrationen av andra proteiner, bl a immunglobuliner, minskar däremot vid ökande dos. Resultat sammanställes för publicering.

Vi har även analyserat åtskilliga prover från människor exponerade för t ex styren och etanol. Eftersom människor ofta exponeras samtidigt för etanol och kemiska ämnen i arbetslivet har vi även specialstuderat effekter av etanolexponering. Detta förändrar koncentrationerna av flera proteiner. Om exponeringen upphör kan förändringarna delvis normaliseras. Vi har beskrivit metodikförbättringar och mätning av blodproteinet transferrin. Kvantifiering av en viss transferrinform kan användas som en känslig indikator för leverpåverkan (= effektmarkör). Flera manuskript sammanställes nu.

Eftersom flertalet proteiner i blod syntetiseras i levern avspeglar koncentrationsförändringar av blodproteiner leverfunktionen.

Med två-dimensionell elektrofores har vi i blodprover (serum och plasma) från kraftigt styrenexponerade upptäckt förändrade halter av proteiner. Leverpåverkan vid styrenexponering har rapporterats. Hos personer exponerade under det svenska gränsvärdet kunde vi inte se förändringar. I blodsera från personer exponerade för perkloretylen under det hygieniska gränsvärdet kunde vi ej säkerställa proteinpåverkan. I blodprover från personer (32 stycken) exponerade vid tillverkning av färg och vid invändig målning av fartyg för blandningar av lösningsmedel, bl a toluen och xylen, omkring hygienisk gränsvärdesnivå kunde vi inte säkerställa påverkan. Samtidig exponering för flera ämnen är mycket vanlig i arbetslivet. Det är viktigt att söka spåra samverkanseffekter av kemiska ämnen. Enär vi i varje blodprov kan separera omkring ettusen proteiner erhålles otroligt mycket information. Det finns ingen annan metodik som kan ge tillnärmelsevis så mycket information om proteinerna i ett blodprov som tvådimensionell elektrofores. Vi har arbetat mycket intensivt huvudsakligen med blodprover men även med urinprover. Studier av proteiner i organprover har också sammanställts. Vi har även arbetat med immunologiska metoder för proteinkvantifiering och detektering efter separation i agarosgeler.

I prover från såväl människor som djur exponerade för kemiska ämnen har vi således upptäckt proteinförändringar. Mycket arbete återstår dock enär åtskilliga prover bör undersökas för att detaljstudera t ex dosresponssamband. Det är även viktigt att undersöka om proteinförändringar är reversibla.

Resultat och rekommendationer

När förändringar av proteinkoncentrationer upptäckes i blodprover bör man säkerställa hur de kan relateras till exponering för vissa kemiska ämnen. Vi måste även beakta leverfunktionsstörningar orsakade av t ex läkemedel och virus. För mätning av koncentrationsförändringar av s k effektmarkörproteiner kan immunteknik användas. Antisera måste dock ofta först framställas.

Mer direkt är att använda s k scanning, där gelerna efter proteinfärgning belyses och mängden av intressanta proteiner mätes. Undertecknad samarbetar med forskare i USA och Västtyskland som har kvalificerad sådan utrustning. Resultat av studier över effekter av PCB (polyklorerade bifenyler) har publicerats. Vi har sammanställt flera manuskript. Ett beskriver effekter av yrkesmässig exponering. Ett annat behandlar proteiner i leverceller från råttor efter kemisk exponering. Jag samarbetar med forskare vid National Cancer Institute i USA. Betydelsen av proteinstudier ökar. Separation och mätning av proteiner kan även ge unik och värdefull information om vad som störes vid exponering för kemiska ämnen. Vår princip för två-dimensionell elektrofores har stora fördelar framför

enzymanalys. Den är mera generell och universell genom att man i varje bild kan studera upp till tusen parametrar i stället för enstaka enzymer. Med tvådimensionell elektrofores kan okända effekter påvisas och även nya toxiska mekanismer upptäckas. Detta är viktigt för att upptäcka och undersöka risker vid exponering för kemiska ämnen. Resultat beskrives i många vetenskapliga publikationer.

Rapporten

Undersökningar av förändringar av proteinkoncentrationer i biologiska prover orsakade av exponering för kemiska ämnen (11 sid, ca 60 ref), kan beställas hos prof Olof Vesterberg, Enheten för medicinsk kemi, Arbetsmiljöinstitutet, 171 84 Solna, tel 08-730 91 00. Pris 60 kr.

Arbetsmiljöfonden

Box 1122, 111 81 Stockholm
Tel 08-796 47 00 (vx)

Norstedts Tryckeri, Stockholm 1987