SAMMANFATTNINGAR

1568

Samverkan mellan mineralull och cigarettrök

– TOXISKA EFFEKTER I LUNGEPITELCELLER

Reaktiva syreföreningar anses ha stor betydelse för uppkomsten av en rad olika sjukdomar. Reaktiva syreföreningar kan reagera med arvsmassan och skada denna, vilket i sin tur kan leda till cellförändringar och i förlängningen cancerutveckling.

I detta projekt utvecklades en metod för att studera hur olika typer av mineralull och naturligt förekommande mineralfibrer stimulerar de vita blodkropparna att producera reaktiva syreföreningar. Såväl stenull som glasull och keramiska fibrer stimulerar till att producera väteperoxid, som är en av de reaktiva syreföreningarna. Förmågan att skada arvsmassan hos olika typer av mineralull i kombination med cigarettrök studerades också.

Den överrisk som tidigare har konstaterats hos arbetare som tillverkar mineralull var störst i den grupp som tillverkar stenull, vilket oftast innehåller järn. En förklaring till detta skulle kunna vara att järnet, om det lakas ut ur fibern och binds till tjära, kan ge upphov till en ökad mängd skador på arvsmassan i lungcellerna och därmed också öka cancerrisken hos rökande stenullsarbetare.

Undersökningen har genomförts vid Avdelningen för yrkesmedicin vid Universitetssjukhuset i Linköping.

BAKGRUND

Reaktiva syreföreningar anses numera ha stor betydelse för uppkomsten av en rad olika sjukdomar. De är också mycket betydelsefulla för de toxiska och cancerframkallande egenskaperna hos asbest. Exempel på reaktiva syreföreningar är superoxidanjonen ($O_2^{\bullet -}$), och hydroxylradikalen ($OH^{\bullet}$) men även den av $O_2^{\bullet -}$ bildade väteperoxiden (H_2O_2) – som vid sönderfall bildar $OH^{\bullet}$ – räknas till denna grupp. Den mest reaktiva syreföreningen är hydroxylradikalen, som kan reagera med och modifiera alla typer av biomolekyler i sin närhet och som också reagerar med DNA (arvsmassan).

Förmågan att reagera med DNA medför att en rad olika typer av DNA-skador kan uppkomma. Det kan leda till en bestående DNA-skada, som i sin tur kan leda till celldöd eller cellomvandling och i förlängningen cancerutveckling. Lungcancer är en sjukdom som i grunden är orsakad av en skada på eller modifiering av en enda lungepitelcell.

Det första steget i det komplicerade händelseförlopp som ligger bakom uppkomsten av en cancer, initieringen, kännetecknas av att en skada/modifiering av DNA uppkommer. En sådan skada kan således åstadkommas genom verkan av reaktiva syreföreningar. Flera försök har visat att dessa föreningar också är involverade i det andra steget, promotionen, som följer efter initieringen och som är nödvändigt för att cancer ska kunna uppkomma.

Det har länge varit känt att rökare som exponerats för asbest löper en mångdubbelt större risk att få lungcancer. De bakomliggande orsakerna är inte helt klarlagda, men på senare år har betydelsen av reaktiva syreföreningar förts fram som en faktor som kan ha stor betydelse. Inflammation och en ökad produktion av reaktiva syreföreningar från

kroppens försvarsceller, den typ av vita blodkroppar som kallas neutrofiler, har länge varit känt som en faktor som ökar risken för cancer.

Neutrofilerna har normalt som uppgift att döda bakterier eller oskadliggöra främmande material. Avdödningen görs genom att cellerna producerar reaktiva syreföreningar. Dessa kan dock även skada de egna epitelcellernas DNA, och det är detta som man tror ligger bakom den ökade cancerrisken vid en kronisk inflammation. Såväl exponering för fibrer som cigarettrök ger upphov till en ökad koncentration av neutrofiler, och det är bl a genom sin produktion av reaktiva syreföreningar som dessa misstänks kunna öka risken för att cancerceller ska uppkomma

SYFTE

Vi har tidigare konstaterat att såväl mineralull som cigarettrök har förmåga att modifiera isolerat DNA och att cigarettrök ökar den DNA-skadande effekten hos järninnehållande mineralull på ett multiplikativt, synergistiskt, sätt när isolerat DNA använts som modell för vad som kan ske inne i en levande lungcell.

Syftet med den nu aktuella undersökningen var att studera produktionen av reaktiva syreföreningar från neutrofiler som exponerats för olika typer av fibrer, samt att undersöka den DNA-skadande förmågan hos dels olika typer av mineralull, dels mineralull i kombination med cigarettrök eller humana neutrofiler.

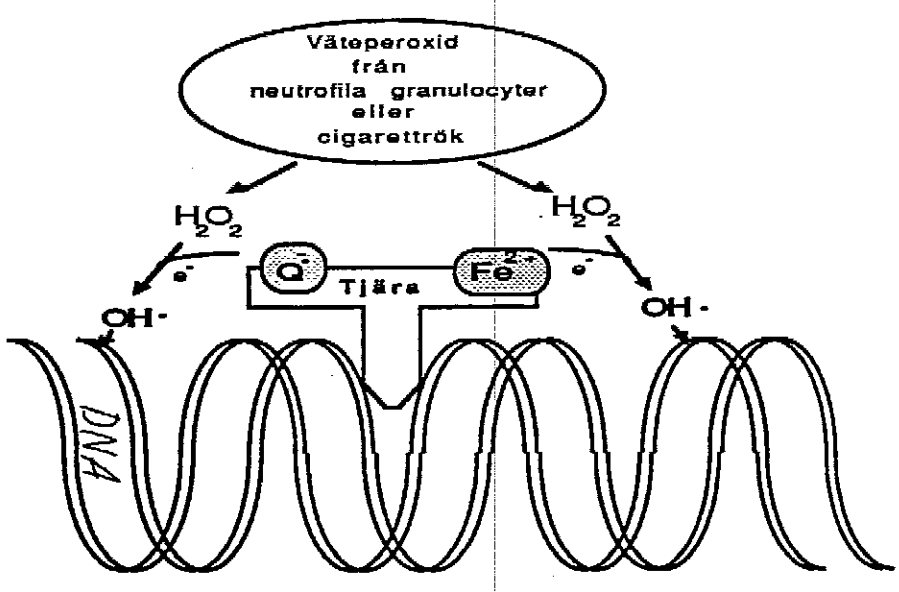
Avsikten har varit att bringa större klarhet i mekanismerna bakom de carcinogena egenskaperna hos mineralull. Vid försöken användes humana neutrofiler som togs fram ur helblod och renades varefter de stimulerades till frisättning av reaktiva syreföreningar med olika typer av fibermaterial. För studierna av skada på DNA användes odlade humana lungceller.

RESULTAT

För att studera produktionen av reaktiva syreföreningar i blandningar innehållande humana neutrofiler utvecklades en metod för att detektera bildningen av OH•. Denna metod användes sedan för att studera hur olika typer av mineralull och naturligt förekommande mineralfiber stimulerar neutrofiler att producera reaktiva syreföreningar samt hurvida fibrerna hade förmåga att katalysera bildningen av OH•. Såväl stenull och glasull som keramiska fibrer stimulerar neutrofiler att producera väteperoxid. Denna förmåga var dock mindre hos mineralull än hos naturliga mineralfibrer som krokidolit, amosit, krysotil antofyllit, wollastonit och erionit. Förmågan att både stimulera till frisättning av väteperoxid och katalysera sönderdelningen av väteperoxid till OH• konstaterades endast hos krokidolit, amosit, antofyllit, wollastonit och erionit.

När de bakomliggande mekanismerna till den DNA-skadande förmågan hos cigarettrök studerades mer i detalj på odlade lungceller, konstaterades det att bildad väteperoxid i cigarettröken och den efterföljande sönderdelningen av väteperoxid till reaktiva OH• orsakade merparten av de strängbrott på DNA som uppträdde efter en exponering för cigarettrök. Dessutom verkade endonukleaser, enzym med uppgift att klippa sönder DNA, bli aktiverade av ämnen i cigarettröken. Cigarettrök visade sig även kunna ge upphov till den hydroxylerade DNA-basen 8-hydroxydeoxyguanosin (8OHdG) i lungcellerna.

Neutrofiler som aktiverats med tumörpromotorn PMA, en kemikalie som stimulerar cellerna till frisättning av reaktiva syreföreningar, visade sig i



Figur 1. Tänkbar mekanism för uppkomsten av DNA-skada i tjärbehandlade celler.

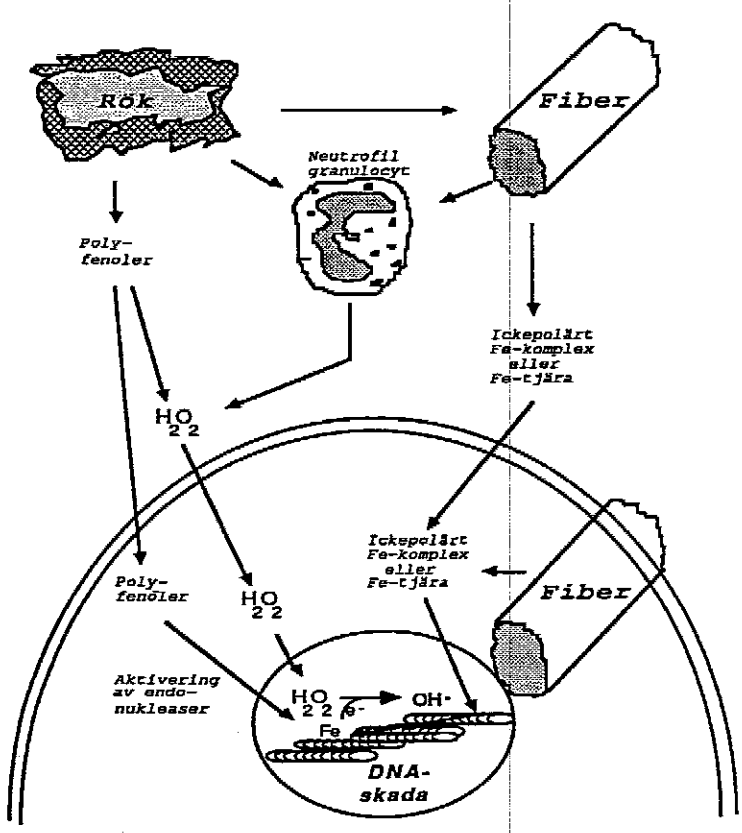
likhet med väteperoxid kunna ge upphov till DNA-strängbrott i närliggande odlade epitelceller. Celler som före själva exponeringen behandlats med tjära från cigaretter fick speciellt mycket DNA-skador efter en exponering för neutrofiler. Särskilt stor skada på DNA efter exponering för stimulerade neutrofiler sågs i de celler som blivit förbehandlade med tjära som innehöll järn. Det faktum att DNA-skadan var större i de förbehandlade cellerna kan förklaras med att i dessa celler sker katalysen av väteperoxid till hydroxylradikaler effektivare då tjäran kan avge elektroner som är nödvändiga vid katalysen. Denna elektronavgivning kan ske från semikinonradikaler eller järn bundet till tjärytan (figur 1).

DISKUSSION OCH SLUTSATSER

I figur 2 ses några tänkbara vägar för hur mineralull eller naturliga mineralfibrer i sig själva eller i kombination med cigarettrök skulle kunna tänkas orsaka skada på DNA i en lungepitelcell.

Cigarettrök kan skada DNA i odlade lungepitelceller på åtminstone två sett. En möjlighet är att väteperoxid i röken passerar cellmembranet och sönderfaller till OH•, som ger upphov till strängbrott eller hydroxylering av DNA-baser. En annan mekanism, som verkar vara involverad i bildningen av strängbrott, är att ämnen i röken (t ex polyfenolen hydrokinon) aktiverar endonukleaser som klipper av DNA. Cigarettrök med en hög koncentration av hydrokinon skulle därmed kunna vara mer DNA-skadande än cigarettrök med en lägre koncentration av hydrokinon. Cigarettrök konstaterades även ge upphov till 8OHdG i DNA vilket kan vara av betydelse för uppkomsten av mutationer och cancer. Nyligen har just bildningen av 8OHdG visat sig ge upphov till en sådan felavläsning av DNA som orsakar en mutation, vilket torde öka risken för uppkomsten av cancer.

Behandlingen av odlade lungceller med tjära gjorde att DNA-skadan efter exponering för väteperoxid eller stimulerade neutrofiler ökade. DNA-skadan var, efter det att cellerna hade exponerats för stimulerade neutrofiler, särskilt uttalad i de celler som blivit förbehandlade med tjära som innehöll järn. Cigarettrök har tidigare också visat sig kunna laka ut järn ur asbesttyper som innehåller järn. En urlakning av järn ur exempelvis stenull och därpå följande bildning av ett opolärt järn-rökkomplex med förmåga att passera cellmembranet, binda till DNA och katalysera bildningen av DNA-skadande OH• skulle delvis kunna förklara den överrisk att drabbas av lungcancer som tidigare har konstaterats hos asbestexponerade, rökande arbetare. Den överrisk som tidigare har observerats hos arbetare som tillverkar mineralull var störst i den grupp som tillverkade stenull vilket oftast innehåller järn. Man skulle kunna tänka sig att detta järn – om det lakas ut ur fibern och binds till tjära – kan



Figur 2. Tänkbara sätt genom vilka mineralfibrer, cigarettrök och neutrofila granulocyter kan tänkas ge upphov till skada på DNA i en lungepitelcell.

ge upphov till en ökad mängd DNA-skador i lungcellerna och därmed också öka cancerrisken hos rökande stenullsarbetare.

För att kunna klarlägga vilken roll järn har för fibrernas carcinogena effekt och i vilken omfattning ämnen i cigarettrök kan binda järn och underlätta att det kommer in till DNA i cellen krävs mer ingående studier. De tekniker som togs fram och användes i det nu presenterade arbetet kan utnyttjas. Det är dock nödvändigt att också utveckla nya metoder där DNA-skada efter exponering för fibrer, järn, cigarettrök och neutrofiler kan studeras ytterligare.

RAPPORTEN

Samverkan mellan mineralull och cigarettrök: Toxiska effekter i lungepitelceller, i form av en kortare introduktion (på svenska) och Per Leanderson doktorsavhandling **Mineral fibers, cigarette smoke, and oxidative DNA damage. An experimental study** (ca 150 sidor) kan beställas från Avdelningen för yrkesmedicin, Universitetssjukhuset RiL, 581 85 Linköping, tel 013-22 14 52. Pris: 200 kronor.

1568

För innehållet i sammanfattningen svarar

Per Leandersson och Christer Tagesson

Avdelningen för yrkesmedicin, Universitetssjukhuset RiL, 581 85 Linköping, tel 013-22 14 52.

Pnr 87-0898 Mineraler och mineralprodukter (17) Augusti 1993

ORD & FORM, Uppsala 1993 Best.nr. 626-1978-0

Arbetsmiljöfonden

BESÖKSADRESS Olof Palmes Gata 31
POSTADRESS Box 1122 111 81 STOCKHOLM
TELEFON 08-791 03 00 TELEFAX 08-791 85 90