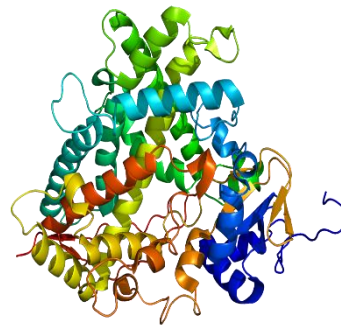
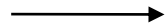
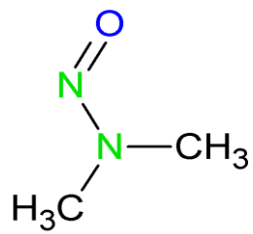
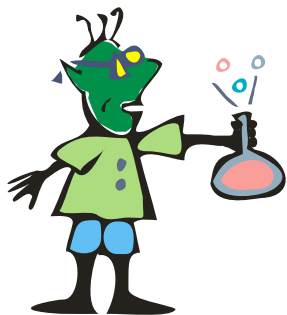
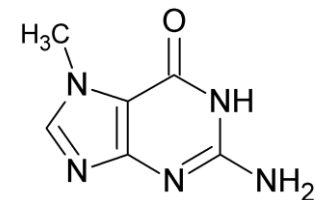
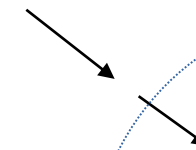
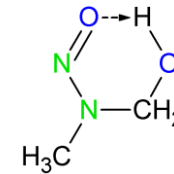


Krebserkrankungen durch N-Nitrosamine

Ursachen und Prävention am Arbeitsplatz



Cytochrom P 450



Schlema IX
21. – 23. März 2018
Groß Behnitz

Dr. Bernhard Brandt
BGRCI Hamburg

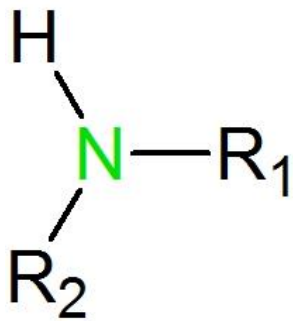
Übersicht:

- Was sind N-Nitrosamine?
- Warum sind die meisten N-Nitrosamine krebserzeugend?

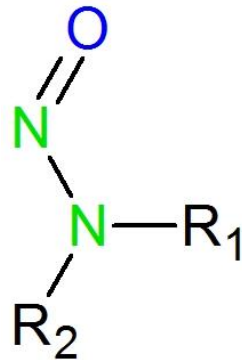
- BK-Geschehen und Prävention
- Neufassung der TRGS 552

- Vorkommen und Entstehung von N-Nitrosaminen
- Maßnahmen gegen N-Nitrosamine

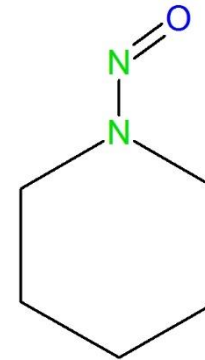
Was sind N-Nitrosamine?



Amin



Nitrosamin



Ringförmiges
Nitrosamin

Nitrosamine sind Amine, bei dem ein am Stickstoff gebundenes Wasserstoffatom „-H“ durch eine Nitrosogruppe „-NO“ ersetzt ist.

Stabil sind nur die sekundären N-Nitrosamine (R1 und R2 ≠ H).

Viele Nitrosamine gehören zu den am stärksten bekannten krebserzeugenden Verbindungen.

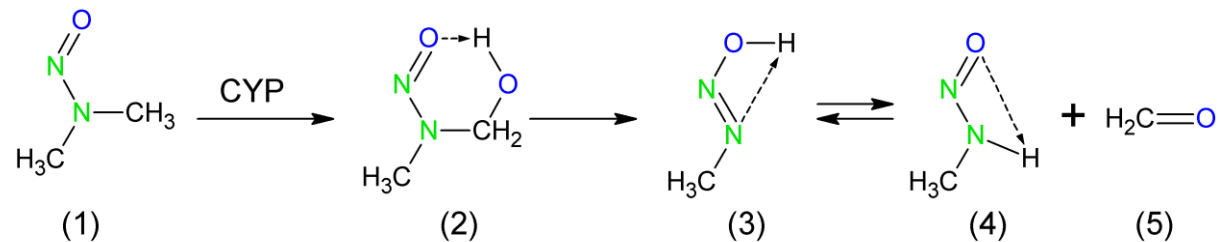
Warum sind die meisten Nitrosamine krebserzeugend?

Strategie des Körpers zur Entgiftung von fettlöslichen Fremdstoffen:

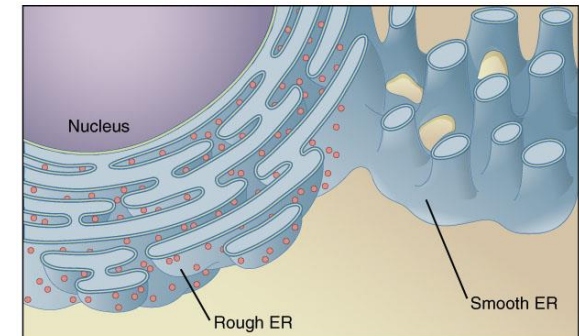
1. Oxidation durch Enzyme vom Typ Cytochrom P450 (CYP)
2. Anlagerung weiterer Moleküle zur Erhöhung der Löslichkeit
3. Ausscheidung oder Verwertung

- Bei den N-Nitrosaminen zerfallen die im ersten Schritt entstehenden Moleküle zu reaktionsfreudigen Verbindungen.
- Diese schädigen den Zellstoffwechsel und -strukturen und alkylieren schließlich die DNA.
- Ein Teil dieser Zellmutanten entwickelt sich zu Initialtumoren.
- Die Entgiftungsstrategie versagt!

Schritt 1: α -Hydroxilierung durch CYP

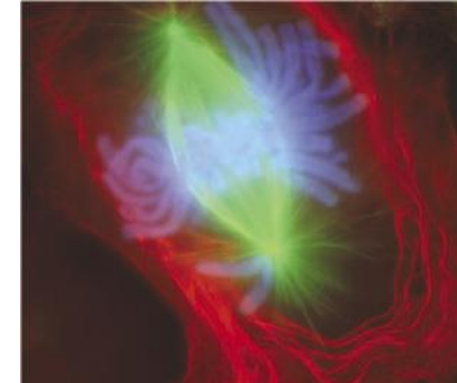
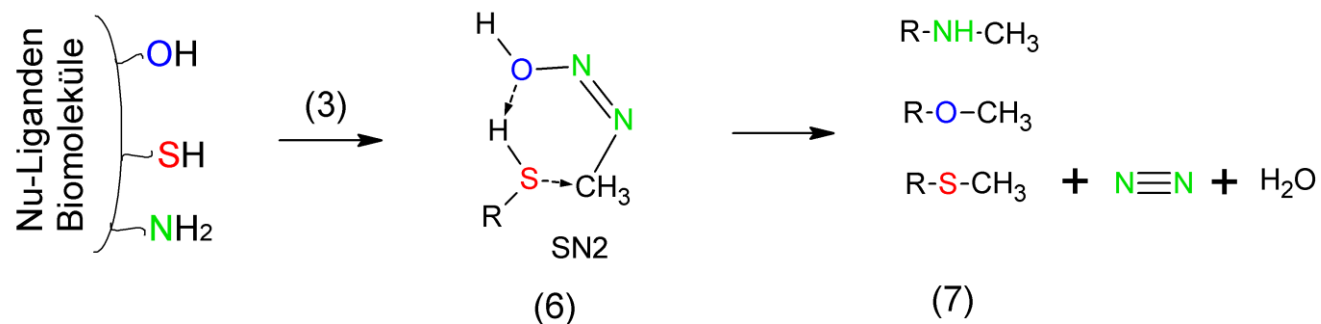


(1) Dimethylnitrosamin (DMNA) (2) α -Hydroxynitrosamin (3) Alkyldiazohydroxid
 (4) primäres Nitrosamin (5) Formaldehyd



- Nach Eindringen in die Zelle werden die Nitrosamine in α -Stellung enzymatisch im Endoplasmatischen Retikulum (ER) hydroxyliert. Die entstehenden Halbaminale (2) hydrolysieren zu Aldehyden (5).
- Die dabei freigesetzten Verbindungen (3) und (4) sind sehr reaktive Alkylierungsmittel und übertragen Methylgruppen auf andere Moleküle.
- Keine α -Hydroxilierung und damit kein Krebs bei fehlendem oder räumlich schlecht zugänglichen α -CH. Damit können Amine als Ersatzstoffe entwickelt werden, die keine krebserzeugenden Nitrosamine bilden.

Schritt 2: Alkylierung von Biomolekülen

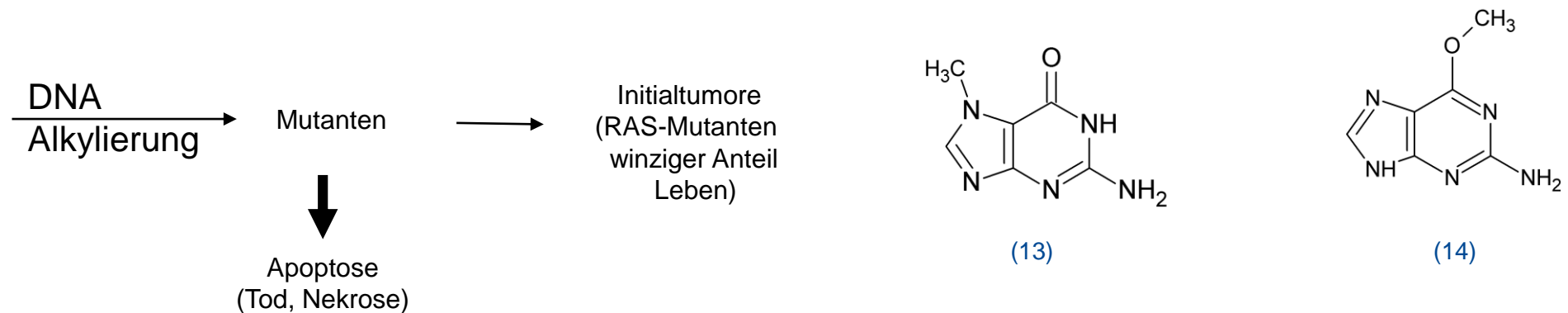


- Biomoleküle mit nukleophilen Liganden werden alkyliert.
- Die Wasserstoffbrücken verschwinden dabei und Proteine (Enzyme) verändern durch Neuausrichtung ihre Form.
- Die „Unfolded Protein Reaktion“ führt zur Auslösung des Proliferationsfaktors NF κ B.
- Die Zelle teilt sich. Dabei ist die DNA im Zellkern ungeschützt!*

Abb: Fluoreszenzaufnahme einer Zelle während der Zellteilung, DNA in Blauton

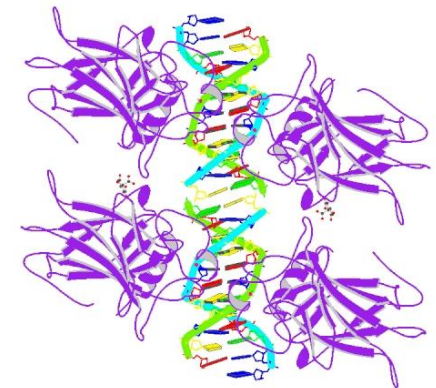
*Vereinfachte Darstellung, da auch die Schädigung von Membranen durch ROS eintritt und auch Diffusion in den Zellkern möglich ist.

Schritt 3: Alkylierung der DNA



- Bildung von DNA-Falschpaarungen, die vererbt werden
- Abschaltung von Tumor-Supressor-Genen und ihren Transkriptionsfaktoren
- Überwindung der Basalmembran und Eindringen in fremdes Gewebe
- Ungehinderte Proliferation der Krebszellen durch Mutation im RAS-Gen

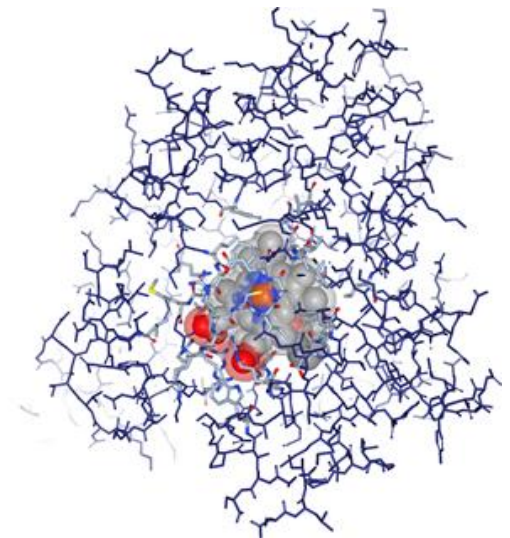
Abb: Alkylierte DNA-Bausteine 7-N-Methylguanin (13) und 6-O-Methylguanin (14)



„Wächter des Genoms“
p53 mit DNA

Ohne CYP kein Krebs!

- Es sind 57 Enzyme vom Typ CYP 450 beim Menschen bekannt.
- Das Vorkommen eines bestimmten CYP ist u.a. vom Organ abhängig, die Leber besitzt eine große Vielfalt verschiedener CYPs.
- Vereinfacht wird ein bestimmtes Nitrosamin durch ein bestimmtes CYP hydroxiliert. Fehlt dieses in einem Organ, so gibt es dort auch keinen Krebs.
- So entwickeln Mäuse, nicht aber Ratten Speiseröhrenkrebs bei der Verabreichung von Diethylnitrosamin (DENA), da nur Mäuse dort das Enzym CYP2E2 besitzen.
- Knock-Out-Mäuse, die ein bestimmtes CYP nicht bilden können, sind krebsimmun gegen Nitrosamine, die dieses CYP für die Hydroxilierung benötigen.



CYP1A2

Relative Wirkungsstärke der Nitrosamine

Reaktivität der Nitrosamine: Molekülgröße, sterische Hinderung, Polarität

Beispiel: Methyl-t-butylnitrosamin nicht krebserzeugend wegen sterischer Hinderung trotz hydroxilierbarem C-Atom in α -Stellung

Sonderstellung: NDEA deutlich krebserzeugender als NDMA

Gründe: Reperaturenzym zur Demythylierung von DNA wenig wirksam bei Deethylierung, Bildung von Ethionin

Ranking in Tierversuchen: NDEA und NDMA am stärksten kanzerogen, andere Nitrosamine nachrangig nach Reaktivität abfallend

Table 1: EPA IRIS oral slope factors and inhalative unit risks

Name	oral CSF mg/kg-day	IUR $\times 10^{-2}$ $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Kommentar
Diethylnitrosamin (DENA)	150	4,3	↑ extrem hoch wegen unzureichender DNA Reparatur (Dealkylierung)
Dimethylnitrosamin (DMNA)	51	1,4	↓ Methylalkylnitrosamine (alkyl = C2 - C12) abfallend mit steigender Molekülgröße
Methylethylnitrosamin	21		Methylierung ist gegenüber Ethylierung bevorzugt. CSF ca. halber Wert von DMNA
Dipropylnitrosamin	7		↓ Risiken sinken mit steigender Molekülgröße
Dibutylnitrosamin	5,4	0,16	↓ Risiken sinken mit steigender Molekülgröße
Diethanolnitrosamin	2,8		
Nitrosopyrrolidine	2,1	0,061	

BK-Geschehen und BK-Prävention

- Nur wenige Anerkennungen nach § 9 Abs. 2 SGB VII „wie eine BK“
- Zwischen 2005 und 2011 wurden 26 Fälle angezeigt und 2 anerkannt
- Schwierige Beweisführung wegen konkurrierenden Faktoren
- Früherkennung beruflicher Nitrosamin-Erkrankungen ist in den Kinderschuhen
- Expositionsbegrenzung ist für die Prävention zielführend

Neufassung der TRGS 552 „Krebserzeugende N-Nitrosamine“

Neu vorbehaltlich der endgültigen Fassung:

- Die Toleranzkonzentration von $0,75 \mu\text{g}/\text{m}^3$ und Akzeptanzkonzentration von $0,075 \mu\text{g}/\text{m}^3$ für DMNA. Diese werden auch als Summenwerte für krebserzeugende Nitrosamine festgeschrieben.
- Chemikalienschutzhandschuhe entfalten bei gelösten oder flüssigen Nitrosaminen kaum eine Schutzwirkung. Einsatz von Werkzeugen bei manuellen Tätigkeiten mit flüssigen nitrosaminhaltigen Medien.
- Botschaft: Bisher schlecht oder überhaupt nicht untersuchte Arbeitsbereiche mit potentieller Nitrosamin-Belastung sollen überprüft werden.

Vorkommen und Entstehung von N-Nitrosaminen

- N-Nitrosamine liegen als ubiquitäre Spurengase in der Umwelt vor
- Sie können über die Atemwege oder die Haut aufgenommen werden
- Sie entstehen hauptsächlich aus sekundären Aminen durch Nitrosierung

Sekundäre Amine und ihre Quellen:

- Prozess-Chemikalien u.a. zur Herstellung von Lösemitteln, Gummi, Medikamenten
- Chemische Erzeugnisse z.B. bestimmte Biozide
- Chemische Reaktionen z.B. Hydrolyse von Dimethylformamid
- Verbrennungsprozesse und Pyrolyse von stickstoffhaltigen Ausgangsprodukten
- Biologische Zersetzung von organischen Abfällen z.B. Gülle, Kadaver

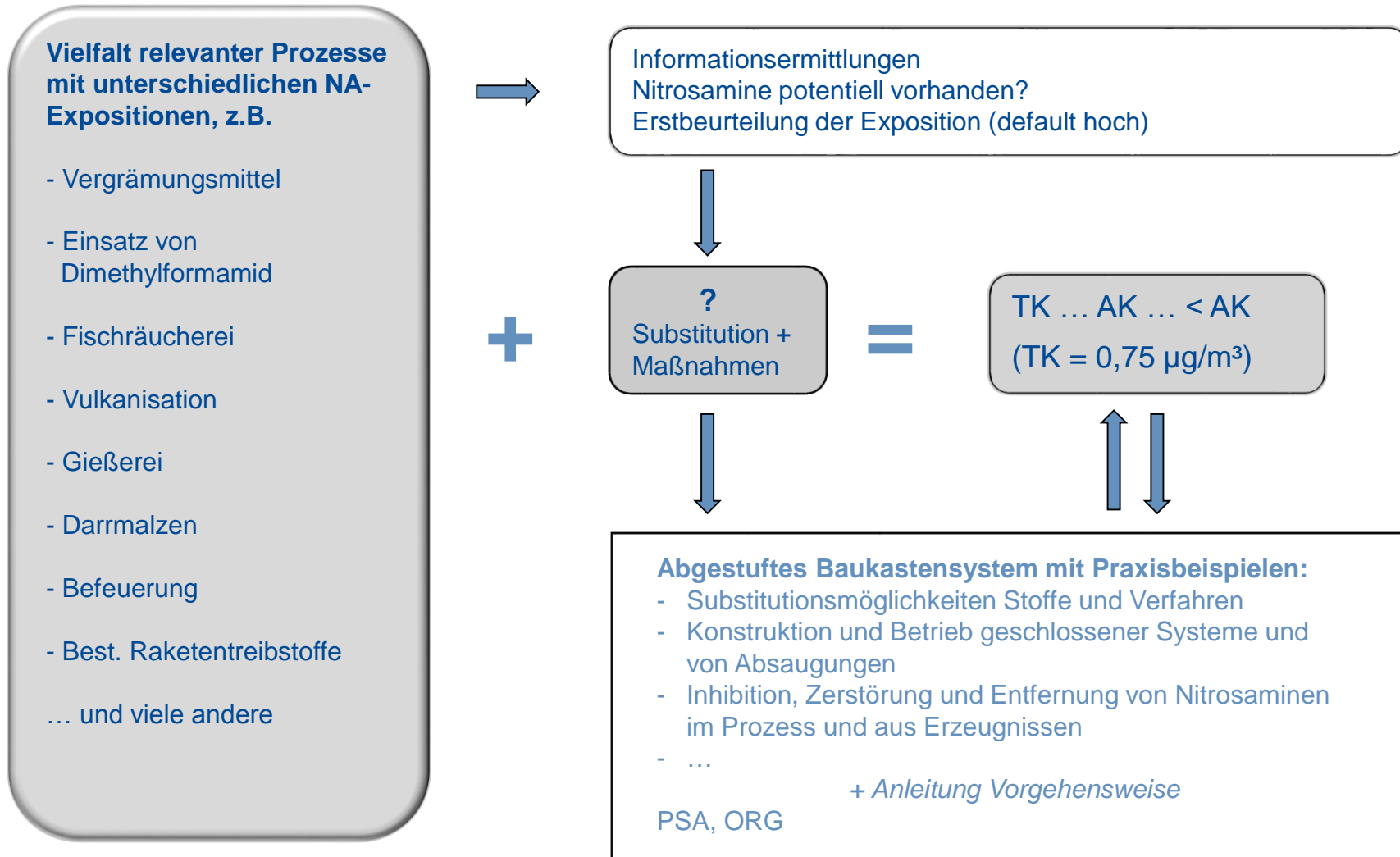
Nitrosierungsagenzien:

Nitrose Gase (meist aus Abgasen), Nitrite, Salpetrige Säure und indirekt Nitrate, Ammoniumionen, Salpetersäure ...

Vorkommen und Entstehung von N-Nitrosaminen 2

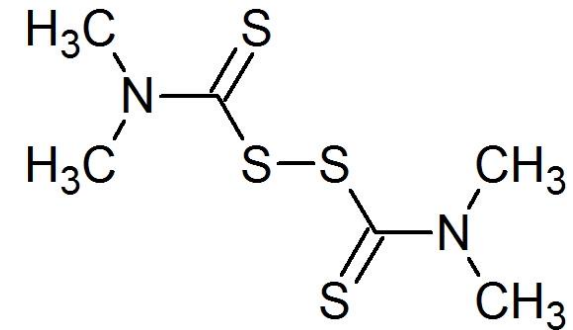
- Aus primären und tertiären Aminen unter Bildung von sekundären Aminen.
Beispiele: Pyrolyse von tertiären Aminen, Ringschlussreaktion primärer Amine
- Aus Dimethylamin und Chloraminen (Schwimmbadgeruch) in Ab- und Brauchwasser
- Freisetzung aus technischen Artikeln (Lager, Verkaufsräume) und Gebäuden mit Nitrosaminbelastung
- Für viele dieser Arbeitsbereiche liegen zu wenige oder keine Messungen für eine abschließende Beurteilung vor

Substitution und Maßnahmen

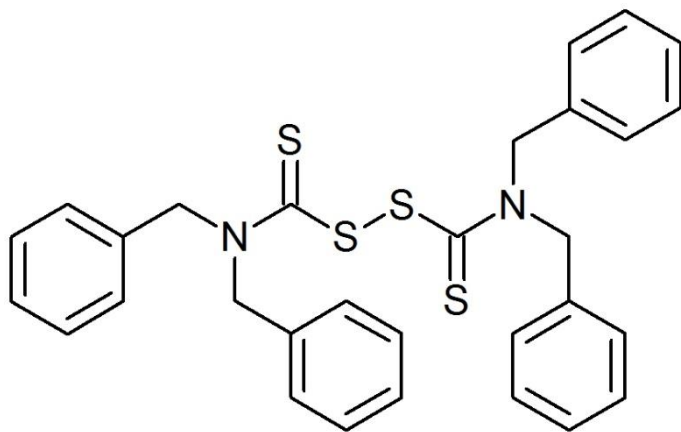


Beispiel zur Substitution von Nitrosaminen

Beispiel TMTD (Thiram)



Gummi-Industrie: Vulkanisationsbeschleuniger
 Obst-, Gemüse und Zierpflanzenanbau: Breitband-Fungizid und Vergrämungsmittel.
 Führt zur Bildung von Dimethylnitrosamin



Lösung TBzTD als Ersatzstoff:

Ersatz der Methyl- durch Benzylgruppen. Auf Grund der räumlichen Hinderung zeigt das entstehende Dibenzylnitrosamin keine krebserzeugende Wirkung mehr.

Zusammenfassung

- Die Begrenzung der Nitrosamin-Exposition ist zur Prävention von Krebserkrankungen zielführend.
- Das Verständnis der Krebsentstehung ermöglicht die Auswahl von Aminen, die keine krebserzeugenden Nitrosamine bilden.
- Die TRGS 552 führt durch die Gefährdungsbeurteilung für Nitrosamine und enthält zahlreiche neue Informationen zu Vorkommen, Entstehung und Maßnahmen.
- Die TRGS 552 wird neue Toleranz- und Akzeptanzkonzentrationen einführen. Ein Summenwert für alle Nitrosamine in Höhe der Werte für DMNA ist vorgesehen.
- Die TRGS 552 wird die Botschaft enthalten kaum oder nicht untersuchte Arbeitsbereiche mit potentieller Nitrosaminbelastung zum Schutz der Beschäftigten zu überprüfen.

Danke für Ihre Aufmerksamkeit!

Bildnachweise und Bildgenehmigungen

Abb Seite 5: Openstax College (2013) The cytoplasm and cellular organelles; [cnx.org: m46023/1.5/](https://cnx.org/m46023/1.5/)

Abb Seite 6: <http://publications.nigms.nih.gov/moleculstomeds/images/newtcells.jpg>

Abb Seite 7: RCSB RSB; Malecka, K.A., Ho, W.C., Marmorstein, R. (2009) *Oncogene* 28: 325-333; PDB-ID 3EXJ

Abb Titelblatt und Seite 8: RCSB PDB; Sansen, S., Yano, J.K., Reynald, R.L., Schoch, G.A., Griffin, K.J., Stout, C.D., Johnson, E.F. P450 1A2; (2007) *J.Biol.Chem.* 282: 14348-14355; PDB ID 2HI4