



Ny screeningsmetode

- til identifikation af brystkræftfremkaldende kemikalier

Det er vanskeligt at screene for ikke-mutagene kræftfremkaldende effekter. Opklaringen af mekanismen for, hvordan alkohol giver brystkræft, banede vejen for en ny screeningsmetode. Metoden kan bruges til at screene for, om opløsningsmidler forårsager brystkræft via samme mekanisme som alkohol.

Af Tine Iskov Kopp, Forskningscenter for Forebyggelse og Sundhed og Ulla Vogel, Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø

Brystkræft er den mest udbredte form for kræft blandt kvinder i hele verden. Nogle erhverv har en høj risiko for brystkræft sammenlignet med andre erhverv. De eneste veldokumenterede risikofaktorer for at udvikle brystkræft er associeret med et øget hormonspejl, dvs. øget niveau af de kvindelige kønshormoner, østrogenene, i blodet. Disse risikofaktorer er: tidlig første menstruation, sen overgangsalder, få eller ingen graviditeter og brug af hormonpræparater i overgangsalderen [1].

Alkoholindtag og brystkræft: PPAR- γ ?

Indtag af alkohol øger risikoen for at udvikle brystkræft [2], og flere studier tyder på, at indtag af alkohol øger hormonspejlet hos kvinder [3,4]. Men hvordan øger alkohol hormonspejlet?

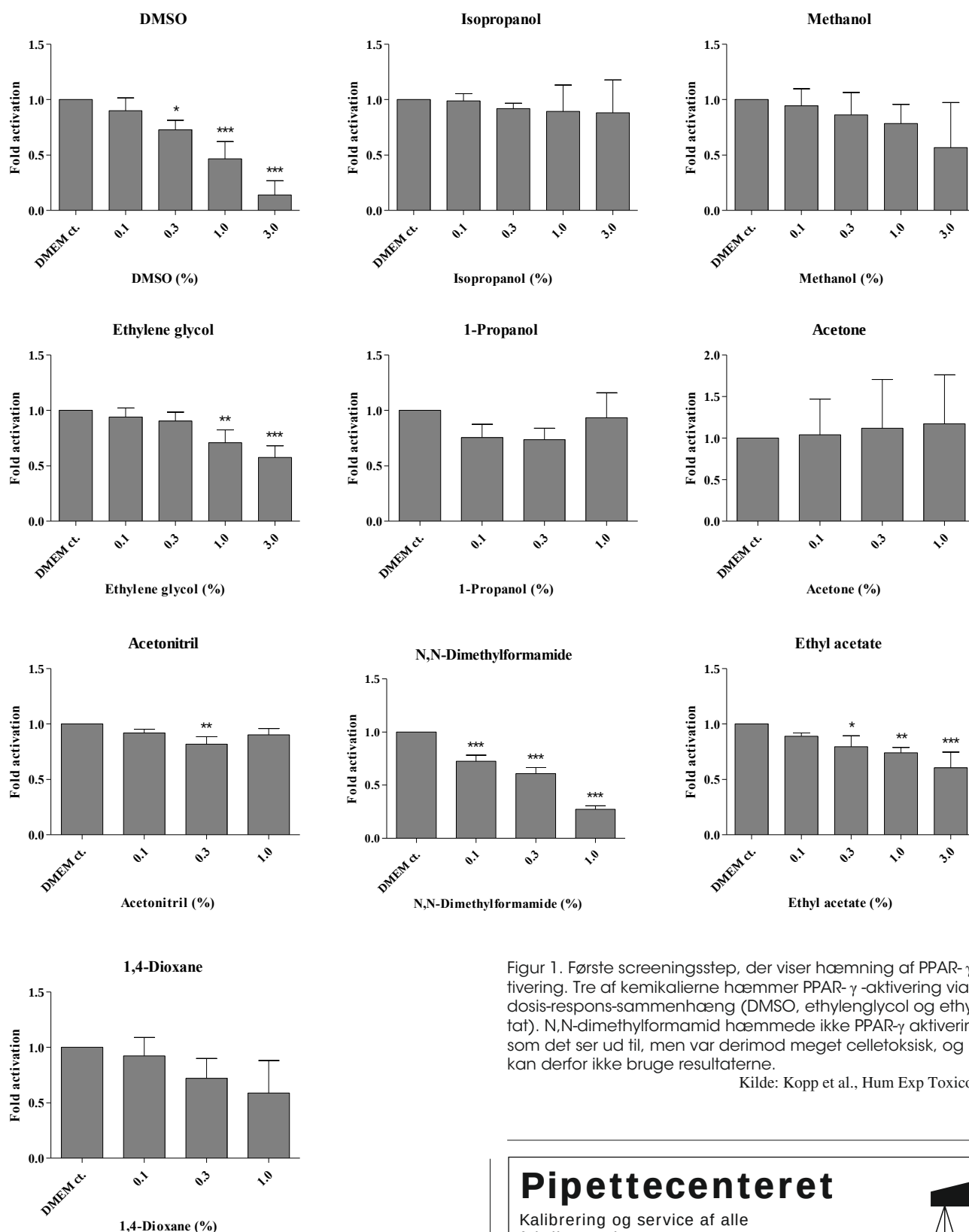
Ved at sammenligne cirka 1.000 kvinder diagnosticeret med brystkræft med 1.000 raske kvinder i den danske "Kost, kræft og helbred" kohorte fra Kræftens Bekæmpelse, fandt vi en polymorfi (en variation) i et gen, *PPARG*, som ændrede på risikoen for at få alkoholrelateret brystkræft [5]. Genvarianten, der så ud til at beskytte mod alkoholrelateret brystkræft, nedsætter aktiviteten af PPAR- γ . Det er velkendt, at kemikalier, der aktiverer PPAR- γ , virker hormonforstyrrende ved at nedsætte østrogenniveauet i blodet, der resulterer i nedsat fertilitet hos kvinder [6]. Derfor tænkte vi, at kemikalier, der *hæmmer* PPAR- γ , potentielt kunne give brystkræft ved at øge østrogenniveauet i blodet. Yderligere studier i celler viste, at alkohol hæmmer PPAR- γ , og at alkohol samtidigt øgede hormonsyntesen [7]. Vi fandt også, at hæmningen af PPAR- γ fører til en

kædereaktion i kroppen, som i sidste ende øger koncentrationen af østrogen i blodet – samme resultat som de fleste veldokumenterede risikofaktorer for brystkræft.

Test af andre organiske opløsningsmidler

Man ved, at vidt forskellige kemiske forbindelser påvirker PPAR- γ aktiviteten. Vi ville derfor undersøge, om andre organiske opløsningsmidler end alkohol har lignende effekt. Altså om de hæmmer PPAR- γ og dermed påvirker hormonsyntesen og hormonspejlet, som så igen påvirker brystkræft risikoen. Flere store studier tyder på, at nogle erhverv er associerede med en markant øget risiko for at udvikle brystkræft [8,9]. Og det er netop blandt erhverv, hvor man er udsat for forskellige kemikalier, heriblandt organiske opløsningsmidler, at risikoen er høj, dvs. blandt laboranter, frisører, printere og bogbindere, og i tekstilindustrien – også når der tages højde for de førnævnte risikofaktorer [9]. Noget kunne altså tyde på, at det at blive eksponeret for organiske opløsningsmidler på sit arbejde, kan påvirke hormonspejlet og i sidste ende øge risikoen for brystkræft. Vi gik derfor i gang med at screene nogle af de allermest brugte organiske opløsningsmidler i et 2-trins celle screenings-system for at se, om de udløser den samme kædereaktion i kroppen som alkohol [10]:

1. Første screeningstrin gik ud på at teste alle de udvalgte organiske opløsningsmidler for at se, om de hæmmer PPAR- γ -aktiviteten i et anerkendt celle-screeningssystem (HEK293).
2. Næste trin var at teste de kemikalier, der blev testet positiv i det første forsøg, i et OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) valideret hormonsyntese celletestsystem (http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-456-h295r-steroidogenesis-assay_9789264122642-en).



Figur 1. Første screeningsstep, der viser hæmning af PPAR- γ -aktivering. Tre af kemikalierne hæmmer PPAR- γ -aktivering via en dosis-respons-sammenhæng (DMSO, ethylenglycol og ethylacetat). N,N-dimethylformamid hæmmede ikke PPAR- γ aktivering, som det ser ud til, men var derimod meget celledødsig, og man kan derfor ikke bruge resultaterne.

Kilde: Kopp et al., Hum Exp Toxicol, 2015.

Valg af kemikalier

Vi udvalgte kemikalierne ud fra en række kriterier: De skulle være vandopløselige (>3% i vand); være hyppigt anvendt i danske virksomheder ifølge den danske kemikalie SPIN2000 database (www.SPIN2000.net) i kategorien "very probable exposure", som er den højeste kategori for eksponering; være mistænkt for at være et brystcarcinogen ifølge NTP (National Toxicology

Pipettecenteret

Kalibrering og service af alle fabrikater pipetter.

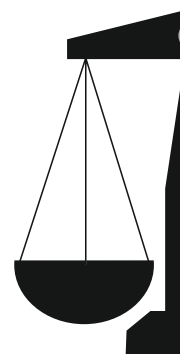
Vi kalibrerer både ved indsendelse eller på kundens adresse.

Salg af pipetter og laboratorie varer.

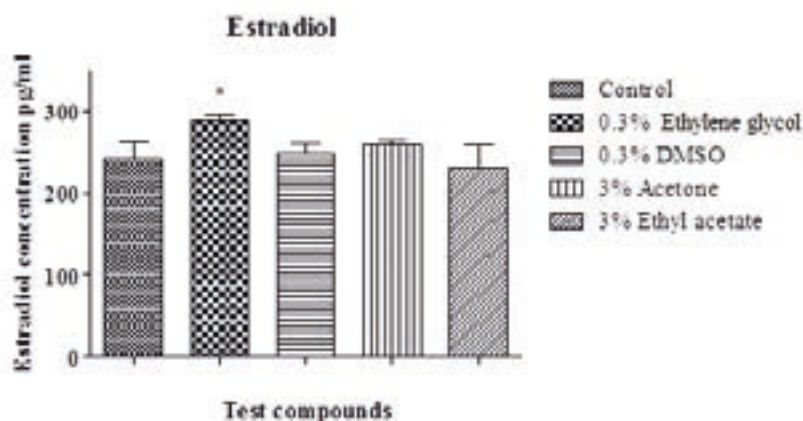


Pipettecenteret

Skovkanten 41 · 4700 Næstved
Tlf. 55 73 62 05 · Mobil 30 33 32 49
Email: nielslindgaard@stofanet.dk
www.pipettecenteret.dk



Program: <http://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/roc/index-4.html>) og/eller være blevet fundet i human brystmælk. I alt 10 organiske opløsningsmidler blev testet: Methanol, dimethylsulfoxid (DMSO), isopropanol, ethylenglycol, 1-propanol, acetone, 1,4-dioxan, acetonitril, N,N-dimethylformamid og ethylacetat. Vi har tidligere testet acetaldehyd, som også er hyppigt anvendt, men fandt ikke indikation på PPAR- γ hæmning.



Figur 2. Andet screeningsstep, der viser øget østrogensyntese (estradiol) for ethylenglycol i H295R celler. Acetone blev brugt som negativ kontrol.

Kilde: Kopp et al., Hum Exp Toxicol, 2015.

Resultater

Resultaterne viste, at ethylenglycol, ethylacetat og DMSO hæmmer PPAR- γ -receptoren i celler i første screeningstrin [10], figur 1. I andet screeningstrin fandt vi, at ethylenglycol også øgede syntesen af østrogen i cellelinjen, figur 2, mens ethylacetat påvirkede syntesen af det mandlige kønshormon, testosteron. Vi så ingen effekt på hormonsyntesen af DMSO. Altså tyder dette studie på, at ethylenglycol og muligvis ethylacetat kan være brystcarcinogener. Derudover viser studiet, at denne screeningsmetode kan bruges til at identificere potentielle brystcarcinogener. Næste skridt er at undersøge ethylenglycol og ethylacetat nærmere i dyreforsøg.

Mangel på anerkendte testsystemer for ikke-mutagene carcinogener

Det er rigtig vigtigt at identificere humane carcinogener for at forebygge især arbejdsbetinget kræft ved at forebygge fremtidig eksponering. Der findes anerkendte testsystemer til at teste for mutagene carcinogener – kemikalier, der påvirker vores arvemasse – men der findes ikke rigtig nogle anerkendte testsystemer til at teste de carcinogener, der ikke påvirker arvemassen, men som kan forårsage kræft ad andre veje. Derfor mener vi, at dette screeningssystem er et potentielt vigtigt værktøj.

Cocktaileffekt af kemikalier

Vores resultater tyder altså på, at nogle af de mest anvendte organiske opløsningsmidler i Danmark kan forårsage øget hormonsyntese og dermed øget hormonspejl. 0.3% ethylenglycol øgede østrogensyntesen i vores studie. Spørgsmålet er, om de eksponeringsniveauer man udsættes for i erhvervsmæssig sammenhæng, er store nok til at kunne påvirke hormonspejlet. Det er tvivlsomt, om man bliver eksponeret for så store mængder af ethylenglycol alene. Det er mere sandsynligt, at eksponering for flere kemikalier med samme effekt, herunder et moderat alkoholforbrug derhjemme, ville kunne medføre en cocktaileffekt. Dette ville kunne bidrage til øget risiko for brystkræft ved den foreslåede mekanisme, og derved bidrage til den observerede sammenhæng mellem eksponering for organiske opløsningsmidler og risiko for brystkræft.

Identifikation af carcinogener er vigtig for at forebygge mod brystkræft

Det er vigtigt at identificere carcinogenerne for at kunne forebygge eksponering. Erhvervsmæssig eksponering er særlig vigtig, fordi den typisk er højere end miljøeksponeringer, og fordi det typisk er de samme personer, der er eksponeret i årevis. Epidemiologiske studier af kemiske eksponeringer er ofte vanskelige, fordi de eksponerede erhvervsgrupper oftest er eksponeret for mange forskellige kemikalier.

Vi håber, at dette studie vil øge opmærksomheden om visse erhvervsgruppers eksponering for kemikalier og risiko for brystkræft, og derved skabe mere opmærksomhed om forebyggende foranstaltninger, der mindsker eksponeringen.

E-mail:

Tine Iskov Kopp: tine.iskov.kopp@regionh.dk

Referencer

1. Dumitrescu, R.G. & Cotarla, I. Understanding breast cancer risk – where do we stand in 2005? *J. Cell. Mol. Med.* **9**, 208-221 (2005).
2. Boffetta, P. & Hashibe, M. Alcohol and cancer. *Lancet Oncol.* **7**, 149-156 (2006).
3. Dorgan, J.F. *et al.* Serum hormones and the alcohol-breast cancer association in postmenopausal women. *J. Natl. Cancer Inst.* **93**, 710-715 (2001).
4. Rinaldi, S. *et al.* Relationship of alcohol intake and sex steroid concentrations in blood in pre- and post-menopausal women: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Causes Control* **17**, 1033-1043 (2006).
5. Vogel, U. *et al.* Peroxisome proliferator-activated corrected] receptor-gamma2 corrected] Pro12Ala, interaction with alcohol intake and NSAID use, in relation to risk of breast cancer in a prospective study of Danes. *Carcinogenesis* **28**, 427-434 (2007).
6. Boberg, J. *et al.* Impact of diisobutyl phthalate and other PPAR agonists on steroidogenesis and plasma insulin and leptin levels in fetal rats. *Toxicology* **250**, 75-81 (2008).
7. Petersen, R.K. *et al.* PPARgamma-PGC-1alpha activity is determinant of alcohol related breast cancer. *Cancer Lett.* **315**, 59-68 (2012).
8. Hansen, J. & Meersohn, A. Kræftsygelighed (1970-97) blandt danske lønmodtagere fordelt på Arbejdstilsynets 49 branchegrupper (2003).
9. Hansen, J. Breast cancer risk among relatively young women employed in solvent-using industries. *Am. J. Ind. Med.* **36**, 43-47 (1999).
10. Kopp, T. *et al.* In vitro screening of inhibition of PPAR-gamma activity as a first step in identification of potential breast carcinogens. *Hum. Exp. Toxicol.* (2015).