

# Kombinierte Wirkung von Methyl-tert-butylether und Kälte auf innere Organe von Versuchstieren

Beatrice Thielmann<sup>1</sup>, Igor Zavgorodnij<sup>2</sup>, Walerij Kapustnik<sup>3</sup>, Ruslan Batschinskij<sup>2</sup>, Jana Batschinskaja<sup>4</sup>, Irina Böckelmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bereich Arbeitsmedizin, Medizinische Fakultät, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

<sup>2</sup>Lehrstuhl für Hygiene und Ökologie № 2, Charkower Nationale Medizinische Universität

<sup>3</sup>Lehrstuhl für Innere- und Berufskrankheiten, Charkower Nationale Medizinische Universität

<sup>4</sup>Lehrstuhl des Marketings und der Handelsunternehmer, Charkower Handels- und Wirtschaftsinstitut, Charkow, Ukraine KNUHW

## Kurzfassung

**Zielsetzung:** Methyl-tert-butylether (MTBE) wird überwiegend als Mischkomponente bei Ottokraftstoffen zur Erhöhung der Klopfestigkeit verwendet. An bestimmten Arbeitsplätzen stellt MTBE ein Belastungsfaktor mit potenziellem Gesundheitsrisiko dar. Erfolgt die Exposition von MTBE unter Kältebedingungen, kann sich die Wirkung durch den kombinierten Einfluss von chemischem und physikalischem Belastungsfaktor ändern. Ziel dieser Untersuchungen war die histologische Untersuchung der inneren Organe von Ratten nach einer MTBE-Exposition sowohl unter thermischer Behaglichkeit als auch unter Kälte.

**Methoden:** Diese toxikologischen Experimente erfolgten an 4 Gruppen zu je 6 geschlechtsreifen WAG-Ratten-Männchen. Den beiden Testgruppen wurden 30-mal MTBE mit der Dosis 1/10 LD<sub>50</sub> (500 mg/kg des Tiergewichts) in den Magen appliziert. Die beiden Kontrollgruppen erhielten eine äquivalente Menge destilliertes Wasser. Anschließend wurden die Gruppen Temperaturen der thermischen Behaglichkeit (25 ± 2 °C) oder Kälte (4 ± 2 °C) für 4 Stunden ausgesetzt. Am 30. Tag erfolgten Gewebeproben und histologischen Untersuchungen.

**Ergebnisse:** Unsere Ergebnisse bestätigen die toxische Wirkung von MTBE auf innere Organe (z. B. Leber, Nieren inkl. Nebennieren, Lungen, Milz, Schilddrüse), die unter Kälteexposition deutlich verstärkt waren.

**Schlussfolgerungen:** Die ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe stuft MTBE als krebserzeugend aus in-vitro- und Tierversuchen ein. Unsere histologischen Untersuchungen der inneren Organgewebeproben ergaben zusätzlich ein ausgeprägtes toxisches Potential von MTBE, welche durch Kältebedingungen deutlich verstärkt wurden. Eine Übertragbarkeit auf den Menschen ist denkbar, da MTBE bei Menschen einen ähnlichen Abbauprozess hat wie bei Ratten. Daher sollten auf Schutzmaßnahmen am Arbeitsplatz besonders geachtet werden.

## Schlüsselwörter:

MTBE; Toxizität

## Einleitung

Verschiedene Umweltfaktoren wirken auf dem Menschen. Die multifaktorielle Wirkung von verschiedenen physikalischen und/oder chemischen Einflussfaktoren auf den Organismus ist in der Regel bedeutender als ein alleiniger Einfluss. Diese Kombinationsexposition kann addierende oder potenzierende Effekte hervorrufen. Die gleichzeitige Wirkung von chemischen Substanzen unter Einfluss von Hitze oder Kälte

auf den Organismus ist kaum erforscht. Negative gesundheitliche Folgen von chemischen und physikalischen Faktoren wie z. B. von Nitrobenzol und Methyl-tert-butylether unter Kältebedingungen sind bekannt [1-4].

Kälte kommt sowohl in der häuslichen Umwelt als auch an verschiedenen Arbeitsplätzen in Produktionsstätten vor. Somit besteht nach wie vor ein arbeitstoxikologisches/-medizinisches Interesse.

Methyl-tert-butylether (MTBE) oder C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O ist ein vom Methanol abgeleiteter tertiärer Butylalkohol (Stoffgruppe der Ether-Verbindungen). MTBE wird als Kraftstoffzusatz eingesetzt. Dabei kommt es zur Senkung der toxischen Emission. Durch Verwendung von Methyl-tert-butylether (MTBE) wird die CO<sub>2</sub>-Verbrennung verbessert. Aufgrund der umweltschädigenden Wirkung von MTBE verringerten die Industrieländer den Konsum des Methyl-tert-butylethers. Allerdings produzieren osteuropäische Länder sowie der asiatisch-pazifische Raum mehr MTBE als zuvor. Somit war der Weltmarkt des MTBE in den letzten Jahren stabil. Des Weiteren wird MTBE für die Synthese von Medikamenten, Polyethylen, Polypropylen oder Polyvinylchlorid verwendet [5,6].

MTBE wird nach europäischem Gefahrstoffrecht nur als „leichtentzündlich“ und als „reizt die Haut“ bezeichnet [7] und ist damit von der EU-Kommission als nicht genotoxisches Kanzerogen eingestuft worden [8]. Es wurde aber von der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) in der MAK- und BAT-Werte-Liste der Kategorie 3 B den krebserzeugenden Arbeitsstoffen zugeordnet [9]. Darin gilt als Grenzwert in Deutschland eine Konzentration in der Arbeitsluft von 180 mg/m<sup>3</sup>; 50 ppm. Die LD<sub>50</sub> bei oraler Aufnahme liegt im Rahmen von Tierexperimenten bei Ratten bei 4000 mg/kg. Eine kanzerogene Wirkung bei Ratten wurde schon bei oraler Exposition > 250 mg/kg beschrieben.

Das Ziel dieser tierexperimentellen Studie war eine vergleichende histologische Untersuchung der Wirkung von MTBE unter Kältebedingungen auf innere Organe (Leber, Niere, Lungen, Nebenniere, Milz und Schilddrüse).

## Methoden

Das Experiment erfolgte an geschlechtsreifen WAG-Ratten-Männchen und dauerte 30 Tage lang. Die Haltung der Ratten folgte Standard-Vivarium-Bedingungen mit freiem Zugang zu Trinkwasser. Die Versuchstiere teilte man wie nachfolgend auf 4 Gruppen mit je 6 Einzeltieren auf: Gruppe 4: Kontrollgruppe als Vergleichsgruppe zur Gruppe 3 unter thermischer Behaglichkeit von 25 ± 2 °C, Gruppe 3: MTBE

und Behaglichkeit von  $25 \pm 2$  °C, Gruppe 2: Kontrollgruppe als Vergleichsgruppe zur Gruppe 1 unter Kälte-Bedingungen von  $4 \pm 2$  °C sowie Gruppe 1: MTBE, Kälte von  $4 \pm 2$  °C.

Die Tiere erhielten 30-mal MTBE-Instillation in den Magen mit der Dosis 1/10 LD50 (500 mg/kg). Die Exposition der Tiere in zwei verschiedenen thermischen Regimes erfolgte 4 Stunden lang 5-mal pro Woche. MTBE wurde mit Hilfe einer speziellen Sonde als Wasserlösung in den Magen eingeführt. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten bei gleichen Untersuchungsbedingungen eine äquivalente Menge von Aqua destillata. Der Kältestress-Test erfolgte in einer 200-Liter-Verbrauchskammer. Zur Abkühlung der Temperatur auf  $4 \pm 2$  °C wurde ein thermoelektrischer Kühler des „Luft-Luft“-Typs (Modell 180-24-AA, Fa. „Krioter“, Sankt Petersburg, Russland) genutzt [10]. Am 30. Tag der Untersuchungsreihe wurden bei den Tieren aller Gruppen unter Narkose Gewebeproben von Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, Lungen und Schilddrüsen entnommen und histologisch begutachtet.

Es lag ein positives Votum der Kommission für Fragen der Ethik und Bioethik der Charkower Nationalen Medizinischen Universität vor. Ebenfalls wurden die nationalen Standards der Pflege und Fütterung eingehalten (Grundsätze des „Europäischen Übereinkommens zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere“, Straßburg, 1986) [11]. Zudem wurden die Vorschriften des ersten Nationalen Kongresses für Bioethik [12] eingehalten.

## Ergebnisse

Die Organe der Tiere der Kontrollgruppe 4 ergaben eine hohe Aktivität aller Funktionskomponenten. Stoffwechsel- und Syntheseprozesse waren im ausreichendem Maß vorhanden. Regenerative Vorgänge konnten beobachtet werden.

Die Gewebe der Tiere der Kontrollgruppe unter Kälte boten diszirkulatorische Störung der Blutes. Die Leber zeigte Umbauprozesse zu z. B. „Glykogenablagerepots“ sowie eine Zytoplasmakörnigkeit von Leberzellen und Leberepithel. Außerdem konnte hier Hinweise auf regeneratives Potential der Leber bei polyploiden Zellen nachgewiesen werden. Gefäßhyperämie mit Blutstase und Sludgephänomen fanden sich in der Lunge sowie eine mukös-eiterige Endobronchitis. Daneben konnte eine eingeschränkte Syntheseleistung der einzelnen Schichten der Nebennieren dokumentiert werden.

In den Organen beider Testgruppen konnten Entzündungsreaktionen (z. B. Glomerulonephritis, Hepatitis, Bronchitis), Dystelektasen oder Lungenemphyse oder Zytolysezeichen der Hepatozyten nachgewiesen werden. Die Schilddrüse war hypothyreot. Die Milz bot Zeichen einer reaktiven Hyperplasie. Die Grenzonen der Nebennieren waren kaum abgrenzbar und die funktionelle Aktivität der Kerne war vermindert. *Die histologischen Veränderungen waren unter Kälteexposition deutlich verstärkt darstellbar.*

## Diskussion

Die Organe, zunächst nur unter Kältebedingungen betrachtet, zeigten histologische Veränderungen der inneren Organe im Sinne von funktionellem Stress. Dies wird als

Kältereaktion des Körpers gedeutet und bietet eine reversible Zustandsänderung.

Unter Temperaturen der Behaglichkeit sowie unter Kälte konnte eine toxische Wirkung von MTBE nachgewiesen werden, die die oben aufgeführten pathologischen Veränderungen verstärkte.

Ob eine 1:1-Übertragung dieser Ergebnisse auf den Menschen möglich ist, wird derzeit diskutiert [13], weil sich bei Menschen und Ratten ein ähnlicher Abbauprozess von MTBE nachweisen lässt [14,15]. Metaboliten von MTBE sind Tertiärbutylalkohol (TBA) und Formaldehyd. Weitere im Blut nachweisbare Metabolite wie 2-Methyl-1,2-Propandiol und 2-Hydroxyisobuttersäure sind sowohl beim Menschen als auch bei Ratten identifizierbar, jedoch konnte TBA nur im Urin von Menschen bestimmt werden. Möglicherweise sind die dargestellten histologischen Veränderungen nicht nur allein durch MTBE bedingt, sondern auch Resultat von dessen Metaboliten wie TBA.

Die orale Aufnahme von MTBE am Arbeitsplatz ist eher selten und Folge von Unfällen. Auf Schutzmaßnahmen am Arbeitsplatz sollte besonders geachtet werden.

## Schlussfolgerung

Es besteht ein ausgeprägtes zelltoxisches Potential von MTBE. Dieses wurde durch Kälte noch deutlich verstärkt. Bei ähnlichem Abbauprozess wie Ratten ist die Übertragbarkeit auf den Menschen denkbar. Um diese Frage zu klären, sind weitere Forschungsstudien nötig. Vermutlich spielen die Metabolite von MTBE eine größere Rolle. Auch im Rahmen anderer Studien sollten kombinierende Expositionen (z. B. Hitze) untersucht werden

## Referenzen

- [1] Zavgorodnij I, Thielmann B, Kapustnik W, Batschinskij R, Böckelmann I. Wirkung von Nitrobenzol auf innere Organe unter Kältebedingungen. *Zbl Arbeitsmed* 2017, 67(6): 314-320
- [2] Zavgorodnij I, Thielmann B, Kapustnik W, Batschinskij R, Böckelmann I. Toxizität von Nitrobenzol auf männliche Gonaden von Ratten unter Kältebedingungen. *Umweltmed – Hygiene – Arbeitsmed* 2014, 19(3): 301–310
- [3] Zavgorodnij I, Kapustnik W, Batschinskij R, Thielmann B, Böckelmann I. Toxische Wirkung von Methyltertiärbutylether (MTBE) auf das männliche Reproduktionssystem unter Kältebedingungen. *Zbl Arbeitsmed* 2013, 63: 80-90
- [4] Zavgorodnij IB, Worontsow MP, Batschinskij RO. On the United effects of chemical factors and cold stress (analytical literature review). *Ukrainskii zhurnal s problem meditsini pratsi* 2006, 3(7): 65–70
- [5] Yavorskii OP, Paustowskij JO. Features of working environment and health of workers of methyl tertbutyl ether production and application at NPZ plants of Ukraine. *Dowkillja sdorowja* 2008, 3(46): 60–63
- [6] Biradar SA, Bhovi VK, Bodke YD, Bhavanishankar R. A novel method for the synthesis of 6-bromo-2-(3,4-dichlorophenyl)imidazo[1,2-a]pyridine using microwave irradiation. *Molbank* 2009; 1: 587
- [7] <https://www.umweltbundesamt.de/themen/wasser/gewaesser/grundwasser/nutzung-belastungen/naehr-schadstoffe#textpart-3>. Zugegriffen: 06.04.2019

- [8] Richtlinie 2004/73/EG der Kommission vom 29. April 2004; Empfehlung der Europäischen Kommission vom 07.11.2001. <https://publications.europa.eu/de/publication-detail/-/publication/7bf52e98-781e-4c0a-aec9-3795a32f5984/language-de>. Zugegriffen: 06.04.2019
- [9] Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (2018) MAK- und BAT-Werte-Liste. Mitteilung 54. [http://www.dfg.de/dfg\\_profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/index.html](http://www.dfg.de/dfg_profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/index.html). Zugegriffen: 06.04.2019
- [10] Zavgorodnij IW, Myasoedow WW, Batschinskij RO, Iwanenko TO, Wekschin WO. Patent № 39237 UA, MPK B01L 1/00, B01L 5/00. Charkiw National Medical University S. № u200812926; Sayawl. 06.11.2008; Opubl. 10.02.2009; Büll. № 3.
- [11] European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of European. – Strasbourg. 1896, 123: 51
- [12] Kundiev J. Moderne Probleme der Bioethik. Akadempriodika, Kiev 2009.
- [13] Borghoff SJ, Parkinson H, Leavens TL. Physiologically based pharmacokinetic rat model for methyl tertiary-butyl ether; comparison of selected dose metrics following various MTBE exposure scenarios used for toxicity and carcinogenicity evaluation. Toxicology 2010, 275(1-3): 79-91
- [14] Nihlén A, Wälinder R, Löf A, Johanson G. Experimental Exposure to Methyl tertiary-Butyl Ether II. Acute Effects in Humans. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1998, 148(2): 281-287
- [15] Amberg A, Roesner E, Dekant W. Biotransformation and kinetics of excretion of methyl-tert-butylether in rats and humans. Toxicol. Sci. 1999, 51: 1-8

### **Korrespondenz Adresse**

Dr. med. Beatrice Thielmann  
Bereich Arbeitsmedizin,  
Medizinische Fakultät,  
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg,  
Leipziger Str. 44,  
39120 Magdeburg,  
Germany  
[beatrice.thielmann@med.ovgu.de](mailto:beatrice.thielmann@med.ovgu.de)