

KOMMISSION DER
EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN

COMMISSION DES
COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES

UNITED STATES ENVIRONMENTAL
PROTECTION AGENCY

INTERNATIONAL SYMPOSIUM

Environmental health aspects of lead

Die gesundheitlichen Aspekte
der Umweltverschmutzung durch Blei

Les problèmes sanitaires posés par le plomb
présent dans l'environnement

SUBKLINISCHE BLEIVERGIFTUNG BEI SCHAFEN

HAPKE H.

Abteilung für Toxikologie
Tierärztliche Hochschule
HANNOVER, DEUTSCHLAND

Amsterdam, October 2 - 6, 1972

Zusammenfassung

Um den gegenwärtigen Bleigehalt in der Vegetation toxikologisch für Nutz- und Wildtiere untersuchen zu können, wurden Versuche an Schafen mit dem Ziel durchgeführt, die toxischere Bleidosis kennenzulernen.

Bleidosen von mehr als 0,5 mg/kg u. Tag hemmen die Aminosäure-Dehydrase-Aktivität im Blut und erhöhen die Ausscheidung der Aminosäure im Harn. Nach 8 bis 12 Wochen besteht die Tendenz zur Normalisierung. Die Ausscheidung von Koproporphyrin III wird erst nach höheren Bleidosen vermehrt.

Aus den Ergebnissen wird gefolgert, daß Bleimengen in der Vegetation von mehr als 10 ppm i. Tr. zu Beeinträchtigungen bei Schafen führen.

In der Gegenwart läuft eine Umverteilung des Schwermetalls Blei in der Welt ab. Dadurch kommt es zu einer Bleianreicherung in der Nabe der Haus- und Wildtiere. Hierdurch wird vermehrte Kontaminationsmöglichkeiten mit Tieren gegeben (3, 4).

Das klinische Bild bei akuten Bleivergiftungen und die verträglichen bzw. giftigen Dosen bei Haustieren sind im allgemeinen bekannt. Akute Bleivergiftungen hat es besonders bei den gegenden dieses Metall sehr empfindlichen Rindern sehr oft gegeben. Aber durch die erwähnte Umverteilung des Bleis in der Natur kommen viel geringere Mengen für eine längere Zeit zur Aufnahme, deren Auswirkungen auf das Leistungsvermögen der Nutztiere weitgehend unbekannt sind.

Es sollte daher die Frage in Tierversuchen geklärt werden, in welchen Dosen und nach welcher Zeit meßbare Schäden bei Tieren festzustellen sind, um eine toxiologische Interpretation des gegenwärtigen Bleigehalts in der Vegetation, die der Ernährung der Tiere dient, vornehmen zu können.

Um erste Beeinträchtigungen des Gesundheitszustandes von Tieren aufdecken zu können, galt es zunächst, Parameter zu finden, die im Organismus bleiempfindlich sind. Solche Parameter sind bei Haustieren bisher nicht bekannt geworden. Da aus der Arbeitsmedizin die Hemmung des Porphyrinstoffwechsels bei Menschen sich als ein bleiempfindlicher Parameter erwiesen hat, sollte geprüft werden, ob auch bei Haustieren die Feststellung einzelner Zwischenprodukte bei der Porphyrinsynthese oder durch Messung der Aktivitätsänderung einzelner bei der Hämatheese essentieller Fermente für die Diagnose einer subklinischen Bleivergiftung herangezogen werden können.

Darüber hinaus sollte dann mit Hilfe dieser Verfahren das erste Auftreten von biologischen Reaktionen des Organismus auf Blei ermittelt werden. Aus den Ergebnissen kann dann eine obere Grenze der tolerierbaren Bleimenge im Futter von Nutztieren abgeschätzt werden.

Material und Methoden

Die Versuche wurden an Schafen durchgeführt, in der Annahme, daß dann die Ergebnisse im Prinzip auch für Rinder, Ziegen und für Wild-Hierherdier (Hirsche, Kirsche) andererseits repräsentativ sind.

Die insgesamt 30 Tiere erhielten in verschiedenen Gruppen für eine Dauer von 6 Monaten verschiedene Mengen Blei als Bleisalz im Trinkwasser angeboten. Die Konzentrationen von Blei wurden so gewählt, daß die Schafe Dosierungen von 0,5 bis 10 mg pro 1 kg Körpergewicht und Tag erhielten. Dies war durch tägliche Messungen des Trinkwasserverbrauchs möglich.

Fortlaufend wurde im Harn dieser Tiere der Gehalt an delta-Aminolävulinäure (ALA) und Koproporphyrin III bestimmt. Weiterhin wurden die Aktivität der delta-Aminolävulinäure-Dehydratase und die Elektrolyte, das Auftreten von basophilen Rumpfzellen und Retikulozyten im Blut sowie der Bleigehalt im Blut und im Harn fortlaufend gemessen.

Am Ende des Versuchs wurden die Tiere getötet, der Bleigehalt in den Organen Leber, Niere und Knochen bestimmt und einzelne Organe histologisch untersucht.

Die Ermittlung der delta-Aminolävulinäure und der ALA-Dehydratase-Aktivität sowie des Koproporphyrins III erfolgte nach den in der Arbeitsmedizin üblichen Bestimmungsmethoden fotometrisch bzw. fluorometrisch (1, 2, 5, 6, 7).

Ergebnisse

Die Konzentration der delta-Aminolävulinäure im Harn der Versuchstiere stieg schon nach wenigen Tagen in Abhängigkeit von der Dosis über den Normalwert an, um nach etwa 20 Tagen den zwei- bis fünffachen Kontrollwert zu erreichen. Als Normalwert wurde bei diesen Tieren vor der Blei-Applikation eine Konzentration von $0,435 \pm 0,000$ bis $0,899 \text{ } \mu\text{g}$ delta-Aminolävulinäure pro 1 mg Kreatinin gemessen. Die Konzentrationen der delta-Aminolävulinäure im Harn der Tiere mit den untersten Dosierungen ($0,3$, $0,85$ und $2,29 \text{ mg}$ Blei pro kg Körpergewicht und Tag) lagen in den folgenden Wochen an der oberen Grenze des Normalbereichs oder überschritten diese Grenze an mehreren Tagen. Gegen Versuchsende nach 5 bis 6 Monaten normalisierte sich die Exkretion von Aminolävulinäure im Harn der Tiere aller Dosierungsgruppen trotz gleichbleibender Bleiexposition in diesen Versuchsgruppen.

Die Abbildung 1 gibt den Verlauf der Ausscheidung von Aminolävulinäure an. Nach einem bleidosisabhängigen Anstieg in den ersten zehn bis zwanzig Tagen kam es zu einem Wiederaufbau. Dieser Prozess des Anstiegs und Wiederaufbaus wiederholte sich im Verlaufe der Versuchszeit, wobei die höchste Dosierungsgruppe, die hier abgebildet ist, etwas protrahierter reagierte.

Die Aktivität der ALA-Dehydratase nahm bleidosisabhängig von der 1. Versuchswoche ab gegenüber der der Kontrolltiere bereits ab, um etwa 4 Wochen nach Beginn der Bleiexposition ein Aktivitäts-Minimum zu erreichen. Nach etwa 6 Wochen wurde eine Wiedernahme der Dehydratase-Aktivität im Blut trotz gleichbleibender Bleizugabe festgestellt. Diese Effekte sind in der Abbildung 2 grafisch dargestellt.

Bemerkenswert war die verhältnismäßig geringe Aktivität der ALA-Dehydratase bei Schafen. Sie lag bei dieser Tierart viel niedriger als diejenige beim Menschen, beim Kaninchen oder auch beim Rind.

Die Koproporphyrin-Ausscheidung (Normalbereich $48 \pm 2,4$ bis $95,6 \text{ } \mu\text{g}$ Koproporphyrin pro 1 mg Kreatinin) erhöhte sich während der Blei-Exposition nur bei einzelnen Tieren und bei starker Bleiblastung. In diesen Fällen waren bereits andere klinisch erkennbare Erscheinungen wie Gewichtsverlust und verändertes Allgemeinzustand vorhanden. Die Messung der Ausscheidung von Koproporphyrin III ist somit bei Tieren ein unsicheres Verfahren für die Frühdiagnose der Bleivergiftung.

Die Feststellung einer Retikulozytose im Blut von bleivergifteten Schafen ergab eine Erhöhung in den unteren Dosierungsgruppen. Bei starker Bleiexposition wurde dagegen keine Retikulozytose festgestellt. Die basophilen Rumpfzellen erschienen in nennenswerten Mengen bei mittleren Bleidosierungen ($4,4 \text{ mg}$ Blei / kg Körpergewicht und Tag) im Blut nach einer etwa 70 Tage dauernden Exposition. Bei starker Bleiaufnahme ($8,1$ und $11,0 \text{ mg}$ Blei / kg Körpergewicht und Tag) waren keine basophilen Rumpfzellen zu beobachten. Eine Frühdiagnose läßt sich also mit Hilfe dieser Parameter bei Schafen nicht stellen.

Die Feststellung des Blut-Bleispiegels und des Harn-Bleispiegels ergaben schwankende Werte. Der Normalbereich wurde nur unregelmäßig im Verlauf der Versuchszeit bei einzelnen Tieren überschritten. Eine Beziehung zur Dosis ließ sich dabei nicht sicher erkennen. Die Bleibestimmungen sind somit von wenig großer Aussagekraft über die Dauer und das Ausmaß einer Blei-Kontamination.

Klinische Vergiftungssymptome, wie Inappetenz, verminderte Gewichtsnahme oder Gewichtsverlust, spastisches Verhalten, wurden bei den Schafen beobachtet, die mehr als $4,4 \text{ mg}$ Blei / kg Körpergewicht und Tag erhielten.

In den Organen Leber und Niere wurden nach dem Töten der Tiere keine Bleikonzentrationen nachgewiesen. In den unteren Dosierungsgruppen ($0,3$ und $0,85 \text{ mg}$ Blei / kg und Tag) lagen die Bleikonzentrationen in der Leber und der Niere im Bereich der Norm bzw. der Kontrollperiode. Die Bleikonzentration in den Knochen überschritt aber bei den Tieren dieser Dosierungsgruppen erheblich die obere Normalgrenze von 20 ppm . Diese Bleispiegel könnten somit Hinweise für die Dauer und das Ausmaß der Bleikontamination geben.

Schlussfolgerungen

In den bisherigen Versuchen erwiesen sich die Bestimmungen der delta-Aminolävulinätsäure im Harn sowie der Asimolävulinätsäure-Dehydratase-Aktivität im Blut als die sichersten Verfahren, um erste biologische Wirkungen des Bleis bei Schafen festzustellen. Bleimit 1831 sich also eine Frühdiagnose einer subklinischen Bleivergiftung durchführen, bevor klinische Symptome vorhanden sind.

Allerdings muß dabei berücksichtigt werden, daß nach ein- oder mehr als drei Monate dauernden Kontamination mit Blei ein Trend zur Normalisierung der Aminolävulinätsäure-Ausscheidung im Harn der Tiere auftritt. In diesen Fällen kann die Bestimmung dieses Vorläufers bei der Porphyriasynthese für die Vergiftungsdiagnose nicht mehr herangezogen werden. Ebenso ist die ALA-Dehydratase-Aktivität nach dieser Zeit der Blei-Einwirkung wieder annähernd normal, wenn Blei in Mengen bis zu etwa 3 mg / 1 kg Körpergewicht und Tag aufgenommen wird.

Dieser Vorgang kann als ein Prozeß der Gewöhnung der Schafe an kleine Bleimengen aufgefaßt werden, wobei die durch Blei hervorgerufene Enzyminduktion die Ursache sein kann. Das Ausmaß der Enzyminduktion läßt sich durch eine Reaktivierung des Fermentes feststellen. Wird Glutathion dem Serum dieser Tiere in vitro zugesetzt, so läßt sich schon normalerweise das Enzym ALA-Dehydratase aktivieren, wahrscheinlich durch Aufhebung der teilweise dauerbesetzenden mit den ubiquitären Blei. Ist bei normal erscheinender ALA-Dehydratase-Aktivität der größte Teil aber durch eine erhöhte Blei-Kontamination blockiert, so ist durch den Dehydratase-Aktivierungs-Test das Ausmaß der Blockade zu erkennen, was in der Abbildung 3 schematisch dargestellt ist.

Ob der Zustand der Adaptation als Vergiftung im klinischen Sinne zu interpretieren ist, hängt von der Beantwortung der Frage ab, was eine Vergiftung ist. Es ist auf jeden Fall ein pathologischer Zustand, der durch kompensatorische Mechanismen des Organismus ausgeglichen ist.

Weiter ist anzunehmen, daß die Verdrängung der Ausscheidung von Aminolävulinätsäure im Harn oder die Abnahme der Aktivität der Aminolävulinätsäure-Dehydratase im Blut bei Schafen die ersten Anzeichen einer Beeinträchtigung biologischer Funktionen darstellen. Kann nach den bisher vorliegenden Ergebnissen eine Dosis von 0,5 mg Blei pro 1 kg Körpergewicht und Tag als diejenige Menge angesehen werden, die schon zu biochemisch nachweisbaren Veränderungen im Organismus der Schafe führt.

Diese Bleimenge wird aber von Tieren bereits aufgenommen, wenn sie die Vegetation verzehren, die aus der Nähe von Autostraßen stammt. Nach den oben angeführten Untersu-

chungen führen solche Bleimengen zwar nicht zu akuten Vergiftungen, ergeben aber eine Hemmung von Fermenten und eine verstärkte Akkumulation von Blei in den Knochen. Nach Änderung der Stoffwechselwege, wie in Hungerperioden (Wild!), Fruchtbarkeit und Laktation sowie Krankheiten, kann es durch Mobilisation dieser Depots aus den Knochen zu einer Erhöhung der Bleikonzentration im Blut und damit zu Vergiftungsschüben kommen.

Die Verteilung des ubiquitären Schwermetalls Blei ist zur Zeit so, daß die Futteraufnahme durch Tiere mit einer Konzentration von höchstens 10 ppm Blei in der Trockensubstanz zu einer täglichen Bleiaufnahme von etwa 0,1 mg / 1 kg Körpergewicht führt. Die Konzentration von Blei in der Nähe der Autostraßen beträgt aber 50 bis 100 (bis 300) ppm Blei in der Trockensubstanz (3). Daher ist zu folgern, daß aus toxischologischen Gründen je die Erhöhung der Bleiaufnahme über das physiologische Maß hinaus für Schafe gesundheitsschädlich sein kann. Das Verfüttern von Futtermitteln, die aus der Nähe von Autostraßen stammen, ist vom toxischologischen Standpunkt aus nicht zu vertreten.

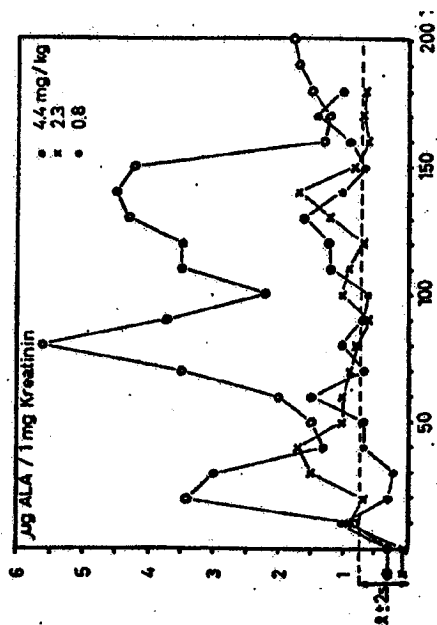


Abbildung 1

Die Änderungen der Konzentrationen der delta-Aminolävulinat-Säure im Harn von Schafen, die 200 Tage lang mit drei verschiedenen Bleidosen behandelt wurden. Die Konzentration $\bar{x} \pm 2s$ gibt den Normalbereich an.

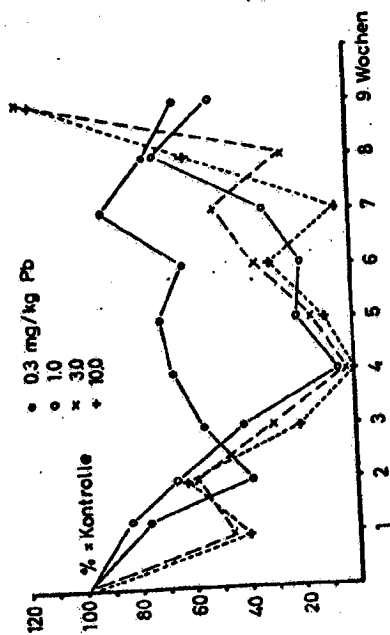
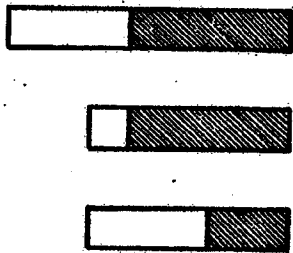


Abbildung 2

Änderungen der Aminolävulinat-Dehydratase-Aktivität im Blut von bleivergifteten Schafen.

ALA - D.



normal Pb-Einwirkung
1. Phase 2. Phase
(Adaptation)

Abbildung 3

Schematische Darstellung der ALA-Dehydrase-Aktivität. Der schattierte Teil gibt den durch Blei blockierten Anteil an, der nach der durch Glutathion vermittelten Re-Aktivierung erkannt werden kann. Die Zunahme dieses Anteils in der 1. Phase der Blei-Einwirkung bedeutet aufgrund der akkumulierenden Aminoalkylsäure einen Grund, den freien Teil der Dehydrase (weiße Stellen) zu vermehren (= Adaptation), so daß die ursprüngliche Dehydrase-Aktivität wieder hergestellt ist.

Literaturhinweise

- (1) HABER-ARONSON, B.: Studies on the urinary excretion of delta-aminolevulinic acid and other haem precursors in lead workers and in lead intoxicated rabbits. Scand. J. clin. Lab. Invest. 12, (suppl. 47), 1-128 (1960)
- (2) HERBERG, S.; J. MIKANEN, S. TOLA, S. VALKONEN and G.H. NORMAN, Erythrocyte ALA-dehydrase as a test of lead exposure. Int. Conf. on Chem. Poll. and Hum. Ecology Prague Oct. 1970
- (3) KLOKE, A. und K. RIEBARTSCH, Verunreinigung von Kulturpflanzen aus Kraftfahrzeuggasen. Naturwissenschaften. 51, 367-368 (1964)
- (4) LIGBOIS, P., J. DERIVANX et A. DREYERCHIV, L'intoxication saturnine chez les animaux. Ann. Med. vet. 2, 57-81 (1961)
- (5) MAPPE, R., Standortbestimmung und Verbesserung von Siebuntersuchungen bei Bleiarbeitern. Arbeitsmed., Sozialmed. Arbeitshyg. 5, 221-224 (1961)
- (6) SCHWARTZ, S., L. ZIEVE and C.J. WATSON, An improved method for the determination of urinary coproporphyrin and an evaluation of factors influencing the analysis. J. Lab. Clin. Med. 57, 843-859 (1951)
- (7) WADA, O., K. TOYOKAWA, S. URATA, Y. YANO and K. YAKAO, A simple method for the quantitative analysis of urinary delta-aminolevulinic acid to evaluate lead absorption. Brit. J. Industr. Med. 26, 240-243 (1969)